

## **Sodyum Arsenit ve Krom (III) Klorürün *Drosophila melanogaster*'in Ergin Bireylerinin Morfolojisi Üzerine Etkileri**

**Ayla KARATAŞ<sup>1</sup>, Zafer BAHÇECİ<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, 41380, Kocaeli, Türkiye

<sup>2</sup>Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, 40100, Kırşehir, Türkiye

<sup>1</sup>[karatasayla@gmail.com](mailto:karatasayla@gmail.com)

Received: 24.09.2009, Accepted: 26.11.2009

**Özet:** Bu araştırmada sodyum arsenit ve krom (III) klorürün, *Drosophila melanogaster*'in morfolojik özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Metal çözeltileri *D. melanogaster*'e beslenme yoluyla uygulanmıştır. Toplam 45163 bireyin morfolojisi incelenmiştir. Özellikle kanatlarda ve üçüncü çift bacaklarda çok sayıda fenotipik anormallik gözlenmiştir. F<sub>1</sub> dölünün fenotipik anormallik oranı her iki metal için, deney gruplarında (arsenik için %7.78, krom için %5.48) kontrol grubuna (%2.64 ve %1.62) göre oldukça yüksektir. Fakat F<sub>2</sub> dölündeki anormallik oranı, sodyum arsenit için yüksek (%5.59) bulunmuştur. Her iki metal de ergin birey sayısında yüksek konsantrasyonlarda azalmaya, düşük konsantrasyonlarda artmaya neden olmuştur. İki madde kombine uygulandığında daha düşük toksik etki göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Drosophila*, Toksik metaller, Morfoloji, Mutasyon

## **Effects of Sodium Arsenite and Chromium (III) Chloride on Morphology of *Drosophila melanogaster*'s Adults**

**Abstract:** In this study effects of sodium arsenite and chromium (III) chloride on *Drosophila melanogaster*'s morphological properties have been investigated. Metallic solution has been applied by feeding to *D. melanogaster*. Morphology of total 45163 individuals has been examined. A large number

of abnormalities have been observed particularly on wings and third pair legs. F<sub>1</sub> generation's phenotypic abnormality rate is fairly higher in experimental groups (7.78% for arsenic and 5.48% for chromium) in comparison with control group (2.64% and 1.62%). But abnormality rate in F<sub>2</sub> generation has been found higher (5.59%) for sodium arsenic. Either metal caused a decrease at high concentrations and an increase at low concentrations in number of adult individuals. When either substance was applied in combination they caused lower toxic effect.

**Key Words:** *Drosophila*, Toxic metals, Morphology, Mutation

## 1. Giriş

İçinde bulunduğumuz yüzyılda, artan sanayi faaliyetleri, tarımsal faaliyetler ve modern yaşamın sentetik ürünleri nedeniyle, toksik kirleticiler çevreye giderek artan biçimde yayılmaktadır. Artan çevre kirliliği insan ve diğer türler için risk oluşturma boyutuna gelmiştir. Bu nedenle çevre kirliliğine neden olan unsurların, deney organizmaları üzerinde etkilerinin araştırılması, diğer canlı türleri ve insan üzerinde görülebilecek olası toksik etkilerin göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Arsenik, hem suda doğal olarak bulunur hem de su ortamlarına sanayi artıklarından ve pestisitlerden karışır [1, 2]. *Drosophila*' da somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile arsenik bileşiklerinin genotoksik olmadığı [3, 4], fakat metillenmiş arsenik bileşiklerinin genotoksik olduğu gösterilmiştir [5]. Bazen doğal sular normalden fazla oranda arsenik içerir, bu tip sularla sulanmış tarım ürünlerinde, arseniğin birikimi yoluyla besin zinciriyle insana kadar ulaştığı ifade edilmiştir [6]. Arseniğin ayrıca mutajenik etkileri olduğu da gösterilmiştir [2, 3, 7].

Krom bileşiklerinin fizikokimyasal özellikleri, endüstride kullanımı için çok uygundur, bu nedenle çok yaygın olarak kullanılır. Fakat kromun işlenmesi ve üretimi alanında çalışan işçilerde, akciğer, üst solunum yolları ve mesane kanseri oranının yüksek olduğu gösterilmiştir [8]. Yapılan bir araştırmada, Cr (VI) bileşiklerinin; hücre siklusunda değişikliğe, DNA sentezinin ve onarımının durmasına, programsız DNA sentezine, DNA hasarlarına, kromozomal aberasyonlara, gelişimsel ve morfolojik değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir [9]. Hekzavalent krom tuzu bileşiklerinin karsinojenik olduğu ve bakterilerden insanlara kadar [10] birçok organizmada mutagenik oldukları gösterilmiştir [11]. Kromium pikolinat (krom içeren gıda katkısı) *Drosophila melanogaster*' de uygulandığında, ergin birey sayısında azalmaya, ömür uzunluğunda düşmeye ve politen kromozomlarda anormalliğe neden olduğu [12] ve gelişimi olumsuz etkilediği bulunmuştur [13].

Çevresel kirleticilerin toksik etkileri, genellikle tek başına incelenmektedir. Endüstriyel ya da tarımsal faaliyetler sonucu çevreye karışan maddeler, aralarında çeşitli ilişkiler geliştirerek canlılara etki edebilir. Metallerin ve çevreye verilen diğer atık maddelerin kendi aralarındaki ilişkileri sonucu ortaya çıkan toksik etki, tek başlarına gösterdikleri etkiden daha yüksek (sinerjistik) ya da tek başına gösterdikleri etkiden daha düşük (antagonistik) olabilir [14]. Fakat kombine etkinin incelendiği araştırma sayısı azdır. Bu nedenle bu çalışmada iki toksik maddenin kombine etkisi de incelenmiştir. Kombine etkinin araştırıldığı bir başka çalışmada [15], sodyum arsenit hem tek başına, hem de X ışını ile birlikte periferik kan lenfositlerine uygulanmış, hücre siklusunu durdurduğu, kromatitlerde aberasyonlara ve kardeş kromatit ayrılmalarına neden olduğu gözlenmiştir.

Arsenik ve krom bileşiklerinin *Drosophila melanogaster* üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar vardır. Sodyum arsenitin *D. melanogaster*'de crossing-over oranını arttırdığını bildirilmiştir [16]. Yine arsenik ve kromun *Drosophila*'da somatik ve eşey hücreleri [4, 5, 17] ile crossing-over üzerine etkileri araştırılmıştır [18]. Ayrıca krom kaplama sanayi atık suyunun *Drosophila*'da sıcak şoku proteinleri, üreme performansı ve yumurta bırakma oranı üzerine etkileri [14] incelenmiştir, fakat sodyum arsenit ve krom (III) klorürün *Drosophila*'nın morfolojik karakterleri üzerine etkisi araştırılmamıştır. Bu çalışmada sodyum arsenit ve krom (III) klorürün, hem ayrı hem de birlikte, F1 ve F2 dölünde morfolojik karakterleri üzerine etkileri incelenmiştir.

## 2. Materyal ve Metod

Çalışmalarda arseniğin “sodyum arsenit” ( $\text{NaAsO}_2$ ), kromun ise “krom (III) klorür” ( $\text{CrCl}_3$ ) formu kullanılmıştır. Çalışmalarda, ileri derecede kendileşmiş *D. melanogaster* (Diptera: Drosophilidae)'in yabancı tip Oregon soyu kullanılmıştır. *Drosophila* kültürleri,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanmış soğutmalı inkübatörde yaşatılmıştır. Metal uygulaması besiyerine karıştırarak, beslenme yoluyla yapılmıştır. Deney grubunda metal çözeltileri, besi yerine ilave edilmiş, kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

Toksikoloji araştırmalarında kullanılacak maddenin hangi konsantrasyonda mutajenik olduğunun bilinmesi gereklidir. Bu nedenle  $\text{LC}_{50}$  (Lethal Concentration) değerleri hesaplanmıştır. Bu değer üzerindeki miktarlar toksik etki yaptığı için, diğer etkilerinin araştırılmasına olanak vermemektedir [19]. Buna göre  $\text{LC}_{50}$  konsantrasyonu

sodyum arsenit için 9.3 ml/100 ml; krom (III) klorür için 13.8 ml/100 ml; sodyum arsenit ve krom (III) klorür birlikteliği için 16.2 ml/100 ml olarak bulunmuştur. Deneyleerde her üçü için ortak olan ve LC<sub>50</sub> değerinin altında olan 0.05, 0.50, 1.00, 2.5 ve 5.00 ml/100 ml olmak üzere beş farklı konsantrasyon denenmiştir.

Deney grubunu oluşturan besi yerlerine 1 ml metal çözeltisi, 50 ml besi yerine karıştırılarak ilave edilmiştir. Hem deney hem de kontrol grubu şişelerine yedi erkek ve yedi dişi birey konulmuştur. Pupa oluşumu gözlendikten sonra ergin bireyler besi yerinden uzaklaştırılmıştır. F<sub>1</sub> dölüne ait ergin bireyler, ilk ergin bireyin gözlendiği günden itibaren, sekiz gün boyunca diseksiyon mikroskobu altında, dişi ve erkek birey ayrımı yapılarak, morfolojileri incelenmiştir. Gözlenen anormallikler not edilmiştir [12, 14, 20, 21, 22].

Araştırmanın bir başka bölümünde meydana gelen fenotipik anormalliklerin kalıtsal olup olmadığı araştırılmıştır. F<sub>2</sub> dölü metal çözeltisine direk maruz kalmadan elde edilmiştir. Bu amaçla yeterli sayıda anormal fenotipli birey elde etmek için, metal çözeltisi içeren çok sayıda besi yeri hazırlanıp çaprazlama yapılmıştır. Ortalama 15 gün sonra besi yerlerinde gelişen anormal ve normal fenotipli bireyler toplanıp, 10 dişi ve 10 erkek birey, metal çözeltisi içermeyen normal besi yerine aktarılmıştır. 10 gün sonra ortaya çıkan F<sub>2</sub> dölü bireylerinin fenotipleri incelenmiştir.

Verilerin değerlendirilmesinde kullanılan istatistik test khi-kare testidir.

### **3. Bulgular**

Metal çözeltilerinin etkilerini gözlemek için F<sub>1</sub> dölünde toplam 45153, F<sub>2</sub> dölünde ise 24891 ergin birey elde edilmiş ve morfolojileri incelenmiştir. Kanat, bacak, toraks ve abdomenlerinde, morfolojik anormallik gösteren çok sayıda birey gözlenmiştir. Anormalliklere en sık olarak kanatlarda rastlanmıştır.

Kanatlarda gözlenen anormallikler: Sağ ya da sol kanatta veya her iki kanatta (Şekil 1) gözlenmiştir. Bu anormallikler; kanadın kıvrık olması (Şekil 2), kanat ucunun püskül biçimini almış olması, kanadın mızrak biçimini almış olması, körelmiş olması, vücuda yapışmış olması ve içi sıvı dolu topuz biçimini almış olması şeklindedir.

Bacaklarda görülen anormallikler: Çoğunlukla üçüncü sağ ya da sol bacakta, çok nadiren de ikinci sağ ya da sol bacakta görülmüştür. Bunlar; femurda kütleleşme, tarsusta kütleleşme (Şekil 3), bacağın tamamen körelmesi, femur, tibia ve tarsusta çengel yapı

oluşumu (Şekil 4), alfa bacak yapısı, femur ve tibiada anormal gelişim (Şekil 5), tarsus segmentinin sayısında azalma ve femur ve tibianın kaynaşmış olması şeklindedir. Ayrıca aynı bireyde kanat ve bacak anormallikleri birlikte de gözlenmiştir (Şekil 3 ve 6).



**Şekil 1.** Her iki kanat gelişiminde deformasyon



**Şekil 2.** Sağ kanat kıvrık

**Toraks anormallikleri:** Genellikle kanatlarda görülen anormallikler ile birlikte gözlenmiştir. Toraksta gözlenen anormalliklerin kökeni toraks segmentinin gelişiminden sorumlu imajinal disklerden kaynaklandığı ve torakstaki yapılarda deformasyonuna neden olduğu düşünülebilir.

**Abdomen anormallikleri:** Abdomen segmentlerinin kaynaşması ve özellikle dişi bireylerde nadiren görülen abdomen ucunun siyahlaşması biçimindedir.



**Şekil 3.** Sol üçüncü çift bacağın tarsus segmentleri körelmiş



**Şekil 4.** Bacakta çengel yapı oluşumu



**Şekil 5.** Sol üçüncü çift bacağın tibia segmenti anormal



**Şekil 6.** Femurda kütleşme ve kanat anormalliği

### 3.1. Metallerin F<sub>1</sub> Dölünde Etkileri

#### 3.1.1. Sodyum arsenitin etkileri

Sodyum arsenitin etkisiyle meydana gelen fenotipik anormalliklerin oranları tablo1' de özetlenmiştir. Fenotipik anormallik oranı düşük konsantrasyonlarda kontrol grubundan istatistik açıdan farklı çıkmamıştır. Fakat 1 ml'lik deney grubu ve üstündeki konsantrasyonlarda istatistik açıdan önemli çıkan oranda fenotipik anormallik gözlenmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda (1.00, 2.50 ve 5.00 ml) anormallik oranı da yüksek (%5.27, %6.19 ve %7.08) bulunmuştur. Birey sayısı açısından bir başka bulgu da düşük konsantrasyonlarda birey sayısının kontrol grubundan yüksek olmasıdır.

Eşeye göre bir farklılık olup olmadığını görmek amacıyla, veriler dişi ve erkek bireyler açısından ayrıca değerlendirilmiştir. Dişi bireylerde de aynı konsantrasyonlarda fenotipik anormallik oranı yüksek çıkmıştır (Tablo 2). Fakat dişi bireylerin fenotipik anormallik oranı erkek bireylerle karşılaştırıldığında (Tablo 3) daha yüksektir. Dişilerde 6578 birey gelişimini tamamlarken (Tablo 2), aynı şartlarda toplam 6353 erkek birey gelişimini tamamlamıştır (Tablo 3). Bazı deney gruplarında (5.00 ml) erkek birey sayısı (781) dişi sayısından düşük (912) bulunmuştur (Tablo 2 ve 3).

**Tablo 1.** Sodyum arsenitin F<sub>1</sub> dölünde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
0.05 ml	1942	96.47	71	3.52a	2013
050 ml	2836	96.36	107	3.63a	2943
1.00 ml	2298	94.72	128	5.27b	2426
2.50 ml	1832	93.80	121	6.19b	1953
5.00 ml	1573	92.91	120	7.08b	1693
Kontrol	1867	98.10	36	1.89a	1903
Toplam	12348		583		12931

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

**Tablo 2.** Sodyum arsenitin F<sub>1</sub> dölünde dişi bireylerde fenotipe etkisi

<b>Gruplar</b>	<b>Normal</b>	<b>(%)</b>	<b>Anormal</b>	<b>(%) Anormal Birey Yüzdesi</b>	<b>Toplam</b>
0.05 ml	992	95.29	49	4.70a	1041
0.50 ml	1401	95.24	70	4.75a	1471
1.00 ml	1177	92.96	89	7.03b	1266
2.50 ml	869	92.25	73	7.74b	942
5.00 ml	841	92.21	71	7.78b	912
Kontrol	921	97.35	25	2.64a	946
Toplam	6201		377		6578

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

Özet olarak tablo 1 ve 2'den dişi bireylerin erkek bireylere nazaran daha fazla anormallik gösterdiği görülmektedir. Öte yandan konsantrasyon artışına bağlı olarak, birey sayısında azalma olduğu da tespit edilmiştir. Erkek birey sayısında azalmanın dişi bireylere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

**Tablo 3.** Sodyum arsenitin F<sub>1</sub> dölünde erkek bireylerde fenotipe etkisi

<b>Gruplar</b>	<b>Normal</b>	<b>(%)</b>	<b>Anormal</b>	<b>(%) Anormal Birey Yüzdesi</b>	<b>Toplam</b>
0.05 ml	950	97.73	22	2.26a	972
0.50 ml	1435	97.48	37	2.51a	1472
1.00 ml	1121	96.63	39	3.36b	1160
2.50 ml	963	95.25	48	4.74b	1011
5.00 ml	732	93.72	49	6.27b	781
Kontrol	946	98.85	11	1.14a	957
Toplam	6147		206		6353

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05



### 3.1.2. Krom (III) klorürün F<sub>1</sub> dölünde etkileri

Krom (III) klorür sadece en yüksek konsantrasyonda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda (5.48) fenotipik anormalliğe neden olmuştur (Tablo 4). Diğer deney gruplarında oranlar arasındaki fark istatistik açıdan önemsiz bulunmuştur. Ayrıca en yüksek konsantrasyon hariç (5.00 ml), ergin birey sayısı kontrol grubundan yüksek bulunmuştur.

Krom (III) klorürün etkileri erkek ve dişi bireyler açısından ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Hem dişi (Tablo 5) hem erkek bireylerde (Tablo 6) fenotipik anormallik oranı sadece 5.00 ml krom (III) klorür çözeltisi içeren deney grubunda yüksek bulunmuştur. Anormallik oranı dişilerde (%6.58) erkeklere göre (%4.32) daha yüksektir. Ayrıca ergin birey sayısı aynı konsantrasyonlar karşılaştırıldığında, yine dişi bireylerde daha yüksektir. Örneğin 0.50 ml'lik deney grubunda dişi birey sayısı 1451 iken, erkek birey sayısı 1288' dir. Benzer durum hemen hemen tüm konsantrasyonlar için geçerlidir.

**Tablo 4.** Krom (III) klorürün F<sub>1</sub> dölünde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
0.05 ml	3248	97.83	72	2.16a	3320
0.50 ml	2659	97.07	80	2.92a	2739
1.00 ml	3003	97.40	80	2.59a	3083
2.50 ml	3503	96.47	128	3.52a	3631
5.00 ml	2153	94.51	125	5.48b	2278
Kontrol	2480	98.37	41	1.62a	2521
Toplam	17046		526		17572

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

**Tablo 5.** Krom (III) klorürün F<sub>1</sub> dölünde dişi bireylerde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
0.05 ml	1641	96.98	51	3.01a	1692
0.50 ml	1403	96.69	48	3.30a	1451
1.00 ml	1535	96.60	54	3.39a	1589
2.50 ml	1926	96.25	75	3.74a	2001
5.00 ml	1092	93.41	77	6.58b	1169
Kontrol	1255	98.20	23	1.79a	1278
Toplam	8852		328		9180

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

**Tablo 6.** Krom (III) klorürün F<sub>1</sub> dölünde erkek bireylerde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
0.05 ml	1607	98.71	21	1.28a	1628
0.50 ml	1256	97.51	32	2.48a	1288
1.00 ml	1468	98.25	26	1.74a	1494
2.50 ml	1577	96.74	53	3.25a	1630
5.00 ml	1061	95.67	48	4.32b	1109
Kontrol	1225	98.55	18	1.44a	1243
Toplam	8194		198		8392

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

### **3.1.3. İki metal çözeltisinin (sodyum arsenit+krom(III) klorür) F<sub>1</sub> dölünde kombine etkisi**

Sodyum arsenit ve krom (III) klorür arasında, sinerjetik ya da antagonistik ilişkiyi belirlemek için tasarlanmış olan deneme sonuçları, tablo 7, 8 ve 9' da sunulmuştur. Eşey ayrımı gözetmeden veriler değerlendirildiğinde (Tablo 7), deney gruplarında kontrol grubundan farklı bir sonuç gözlenmemiştir. Anormallik oranı tüm deney gruplarında istatistik açıdan kontrol grubundan farklı değildir. Bu iki metal bileşiğinin reaksiyona girmesiyle ortaya çıkan bileşiğin etkisi, tek başına gösterdikleri toksik etkiyi

göstermemiştir. Fakat en yüksek konsantrasyonda ergin birey sayısı kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur.

Fakat aynı veriler cinsiyet ayrımına göre düzenlendiğinde, dişi bireylerin üç deney grubunda (0.05, 2.50 ve 5.00 ml) kontrol grubundan yüksek oranda anormallik gösterdiği bulunmuştur (Tablo 8).

Erkek bireylerin ise sadece 5.00 ml' lik en yüksek konsantrasyonda anormallik oranının yüksek çıktığı bulunmuştur (Tablo 9).

**Tablo 7.** Metallerin F<sub>1</sub> dölünde fenotipe kombine etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
0.05 ml	2779	97.85	61	2.14a	2840
0.50 ml	3091	98.12	59	1.87a	3150
1.00 ml	3024	97.95	63	2.04a	3087
2.50 ml	2065	97.54	52	2.45a	2117
5.00 ml	1268	97.01	39	2.98a	1307
Kontrol	2123	97.79	26	1.20a	2149
Toplam	14350		300		14650

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

**Tablo 8.** Metallerin F<sub>1</sub> dölünde dişi bireylerde fenotipe kombine etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
0.05 ml	1064	96.02	44	3.97b	1108
0.50 ml	1620	97.41	43	2.58a	1663
1.00 ml	1552	97.06	47	2.93a	1599
2.50 ml	1000	96.52	36	3.47b	1036
5.00 ml	704	96.70	24	3.29b	728
Kontrol	1094	98.38	18	1.16a	1112
Toplam	7034		212		7246

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

En yüksek konsantrasyonda ergin birey sayısı hem dişilerde (728) hem de erkeklerde (579) kontrol grubuna göre (sırasıyla 1112 ve 1037) düşük çıkmıştır (Tablo 8 ve 9).

**Tablo 9.** Metallerin F<sub>1</sub> dölünde erkek bireylerde fenotipe kombine etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
0.05 ml	1715	99.01	17	0.98a	1732
0.50 ml	1471	98.92	16	1.07a	1487
1.00 ml	1472	98.92	16	1.07a	1488
2.50 ml	1065	98.51	16	1.48a	1081
5.00 ml	564	97.40	15	2.59b	579
Kontrol	1029	99.20	8	0.77a	1037
Toplam	7316		212		7404

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

### 3.2. F<sub>2</sub> dölünde fenotipik anormallikler

F<sub>1</sub> dölünden toplanan normal ve anormal fenotipli ergin bireyler normal besiyerine aktarılarak F<sub>2</sub> dölü elde edilmiştir.

#### 3.2.1. Sodyum arsenitin etkileri

Sodyum arsenit içeren besiyerinde elde edilen F<sub>1</sub> dölünden gelişen F<sub>2</sub> dölünün verileri tablo 10'da özetlenmiştir. Normal fenotipli bireylerden gelişen F<sub>2</sub> dölünde anormal fenotipli birey oranı (%2.13) kontrol grubundan (%2.33) farklı çıkmamıştır (Tablo 10). Fakat anormal fenotipli bireylerin çaprazlaması sonucu gelişen F<sub>2</sub> dölü bireylerinde anormallik oranı (%5.59), kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.

Aynı sonuç cinsiyet ayırımına göre değerlendirme yapıldığında da bulunmuştur. Hem dişilerde (Tablo 11) hem de erkeklerde (Tablo 12) anormal fenotipli bireylerden gelişen F<sub>2</sub> dölünde, kontrol grubundan istatistik açıdan anlamlı farklılık gösteren anormallik oranı bulunmuştur. Ergin birey sayısı açısından ise fark gözlenmemektedir.

**Tablo 10.** Sodyum arsenitin F<sub>2</sub> dölünde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
Anormal x Anormal	2702	94.40	160	5.59b	2862
Normal x Normal	2665	97.86	58	2.13a	2723
Kontrol	2557	97.66	61	2.33a	2618
Toplam	5424		279		8203

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

**Tablo 11.** Sodyum arsenitin F<sub>2</sub> dölünde dişi bireylerde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
Anormal x Anormal	1377	93.48	96	6.51b	1473
Normal x Normal	1360	96.79	45	3.20a	1405
Kontrol	1296	97.51	33	2.48a	1329
Toplam	4033		174		4207

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

**Tablo 12.** Sodyum arsenitin F<sub>2</sub> dölünde erkek bireylerde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
Anormal x Anormal	1325	95.39	64	4.60b	1389
Normal x Normal	1305	99.01	13	0.98a	1318
Kontrol	1261	97.82	28	2.17a	1289
Toplam	3891		105		3996

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

Bu sonuçların tamamı bir arada değerlendirildiğinde, sodyum arsenitin morfolojik özellikler açısından etkisinin F<sub>2</sub> dölünde de devam ettiği görülmektedir. Fakat ergin birey sayısında bir farklılık gözlenmemiştir. Bu nedenle beslenme yoluyla sadece F<sub>1</sub> dölünde, birey sayısı kontrol grubuna göre artmış ya da azalmış olmaktadır.

### 3.2.2. Krom (III) klorürün F<sub>2</sub> dölünde fenotipe etkisi

F<sub>1</sub> dölünde krom (III) klorüre maruz kalmış bireylerin F<sub>2</sub> dölünde fenotipik anormallik gözlenmiş ama bu oranın (%2.57) kontrol grubundan farklı olmadığı bulunmuştur. Anormal birey yüzdesi her iki deney grubunda da istatistik açıdan anlamsız çıkmıştır.

**Tablo 13.** Krom (III) klorürün F<sub>2</sub> dölünde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
Anormal x Anormal	2571	97.42	68	2.57a	2639
Normal x Normal	2810	98.70	37	1.29a	2847
Kontrol	2668	98.16	50	1.83a	2718
Toplam	8049		155		8204

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

Sonuçlar dişi ve erkek bireyler ayrı değerlendirildiğinde de (Tablo 14 ve 15) anormallik oranı kontrol grubundan anlamlı farklılık göstermemiştir. Ergin birey sayısı bu grupta da kontrol grubuna yakındır.

**Tablo 14.** Krom (III) klorürün F<sub>2</sub> dölünde dişi bireylerde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
Anormal x Anormal	1344	96.20	53	3.79a	1397
Normal x Normal	1412	98.46	22	1.53a	1434
Kontrol	1267	97.61	31	2.38a	1298
Toplam	4023		106		4129

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

**Tablo 15.** Krom (III) klorürün F<sub>2</sub> dölünde erkek bireylerde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
Anormal x Anormal	1227	98.79	15	1.20a	1242
Normal x Normal	1398	98.93	15	1.06a	1413
Kontrol	1401	98.66	19	1.33a	1420
Toplam	4026		49		4075

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

### 3.2.3. Metal bileşiklerinin F<sub>2</sub> dölünde kombine etkisi

İki metal çözeltisi F<sub>1</sub> dölünde birlikte uygulanmış ve F<sub>2</sub> dölünde etkinin devam edip etmediği gözlenmiştir. Araştırmanın bu bölümünden elde edilen sonuçlar eşey ayrımı yapmadan (Tablo 16) değerlendirildiğinde anormal birey oranının kontrol grubuna çok yakın olduğu görülmektedir. Fakat istatistik açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

**Tablo 16.** Metallerin F<sub>2</sub> dölünde fenotip üzerine kombine etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
Anormal x Anormal	2813	98.18	52	1.81a	2865
Normal x Normal	2777	98.40	45	1.59a	2822
Kontrol	2756	98.53	41	1.46a	2797
Toplam	8346		138		8484

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

Sonuçlar cinsiyete göre değerlendirildiğinde de (Tablo 17 ve 18) durum aynıdır. Zaten iki madde kombine uygulandığında, F<sub>1</sub> dölünde gözlenen toksik etki sadece cinsiyet ayrımı yapıldığında ortaya çıkmış (Tablo 8 ve 9), veriler toplu değerlendirildiğinde (Tablo 7) anormal fenotipli birey oranı kontrol grubundan farklı çıkmamıştır. Yine bu deney grubunda da F<sub>2</sub> dölünde ergin birey sayısı kontrol grubuna yakındır. Bu konuda pozitif ya da negatif bir etki gözlenmemiştir.

**Tablo 17.** Metallerin F<sub>2</sub> dölünde dişi bireylerde fenotip üzerine kombine etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
Anormal x Anormal	1436	97.88	31	2.11a	1467
Normal x Normal	1476	98.79	18	1.20a	1494
Kontrol	1360	98.12	26	1.87a	1386
Toplam	4272		75		4347

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

**Tablo 18.** Metallerin F<sub>2</sub> dölünde erkek bireylerde fenotip üzerine kombine etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam
Anormal x Anormal	1337	98.49	21	1.50a	1398
Normal x Normal	1301	98.71	17	1.28a	1318
Kontrol	1396	98.93	15	1.06a	1411
Toplam	4034		53		4127

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen yüzdeler arası fark önemsizdir, p>0.05

Tüm üç tablo bir arada değerlendirildiğinde, kombine etkilerinin bireysel etkileri kadar toksik olmadığı görülebilir.

#### 4. Tartışma

Sodyum arsenit ve krom (III) klorür, beslenme yoluyla *D. melanogaster*'e uygulandığında çok sayıda fenotipik anormalliğe neden olmuştur. Bu anormallikler çoğunlukla, ikinci toraks segmentinden köken alan kanatlar ve üçüncü toraks segmentinden köken alan üçüncü çift bacaklarda gözlenmiştir. Ayrıca kanatlarda gözlenen anormallikler bacak anormallik oranına göre yüksektir. Çok nadiren de ikinci çift bacaklarda anormallik gözlenmiştir. Mutajenik maddeler, canlıda hem kromozomal düzeyde sayısal değişikliklere, hem de gen seviyesinde nokta mutasyonlara neden olabilmektedir. Sayısal kromozom değişikliklerini sitolojik olarak gözlemek mümkündür, fakat nokta mutasyonlar ancak fenotipte bir değişikliğin ortaya çıkmasıyla anlaşılabilir [23]. Çalışmalarımız esnasında çok sayıda ve çok farklı biçimlerde



gözlenen anormallikler (Şekil 1, 2, 3, 4), çeşitli gelişimsel genlerde meydana gelen nokta mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkmış olabilir. Bir araştırmada, sodyum arsenat heptahidratın da içinde bulunduğu on ayrı kimyasal maddenin, *D. melanogaster*' de, toraks kilları ve kanat uçlarında morfolojik anormalliklere neden olduğu gözlenmiştir [24]. Arseniğin kimyasal bakımdan fosfora benzediği ve bazı reaksiyonlarda kısmen fosforun yerini aldığı ifade edilmiştir [25]. Ayrıca trivalent arsenik bileşiklerinin, sülfidril gruplarıyla hücrelerde reaksiyona girdiği, hücre metabolizmasında önemli olan ve sülfidril grubu içeren enzim sistemlerini engellediği bildirilmiştir [2]. Bir diğer araştırmada, inorganik arseniklerin biyolojik materyaller ile kolayca reaksiyona girdiği ve enzim çeşitlerinin, özellikle sülfidril enzimlerinin aktivitesini durduğu bulunmuştur [26]. Hekzavalent krom bileşiklerinin, bakterilerde baz çiftlerinin yer değiştirmesine ve *Salmonella typhimurum*'da nokta mutasyonlara neden olduğu tespit edilmiştir [11]. Krom iyonlarının, farklı zincirler arasındaki çapraz bağlantılar ile DNA, RNA ve çeşitli proteinlere kuvvetli bir şekilde bağlandığı ifade edilmiştir [27]. Bu bilgilere dayanarak, arseniğin fosforun yerine geçerek DNA ve RNA'da fosforik asitin yapısına; kromun ise çapraz bağlantılar ile DNA ya da RNA yapısına katılarak mutasyona neden olduğu düşünülebilir. Eğer bu olay somatik bir hücrede meydana gelmiş ise etki F<sub>1</sub> dölünde, gametik bir hücrede meydana gelmişse, o zaman bu etki F<sub>2</sub> dölünde ortaya çıkacaktır. Sodyum arsenit çözeltisi içeren besi yerinde gelişen anormal fenotipli bireylerin normal besi yerine aktarıldıktan sonra, F<sub>2</sub> dölünde anormalliklerin kontrol grubuna göre önemli çıkmasının moleküller mekanizması bu şekilde açıklanabilir. Bu nedenle etkinin kalıtsal bir mutasyondan kaynaklandığı söylenebilir. Bu bulgumuzu destekleyen bir araştırmada, *D. melanogaster*'in Antenapedia kompleksinde bir delesyon mutasyonunun, fenotipte dominant ya da resesif fonksiyon kayıplarına neden olduğu gözlenmiştir. Bu mutasyonun, ayrıca dominant torasik defektlerle de ilişkili olduğu ifade edilmiştir [28]. Oldukça sık görülen toraksın ikinci segmentinden köken alan kanat ve üçüncü segmentinden köken alan bacak anormallikleri, bu ve benzeri homeotik gen mutasyonlarının sonucu olabilir. Metal bileşiklerinin ya da metabolitlerinin homeotik genlerle ya da bu genlerin regülasyonundan sorumlu proteinlerle kurduğu kovalent bağ, gelişimsel bozukluklar sonucu morfolojik anormalliklere neden olabilir. Bulgularımızı destekleyen bir başka çalışmada, malathionun *D. melanogaster*'e uygulanmasıyla, fenotipik anormalliklere neden olduğu gözlenmiştir [29]. Yine bir

başka araştırmada [30], *D. melanogaster*'in ergin ve larvalarına DDVP'un uygulanmış, düşük konsantrasyonlarda herhangi bir mutajenik etki gözlenmemiş, fakat yüksek konsantrasyonlarda larva ve erginde resesif letal mutasyonlar gözlenmiştir. Çalışmalar esnasında ortaya çıkan anormalliklerin hem dişi hem de erkeklerde görülmesi, eşeye bağlı resesif mutasyon olmadığını göstermektedir. Bu bulgular Uysal [20] ve Ertürk' ün [31] bulgularıyla uyumaktadır. Ortaya çıkan bu anormalliklerin, arsenik ve kromun, özellikle gelişimsel genlerde genotoksik veya mutajenik etkilerden kaynaklanmış olabilir.

Ayrıca, deney gruplarının özellikle yüksek konsantrasyonunda (5.00 ml), yaşayan ergin birey sayısı (arsenik için 1693, krom için 2278) kontrol grubuna göre (arsenik için 1903, krom için 2521) oldukça düşüktür (Tablo 1, 4.). *Drosophila* genlerinin %30' unun vital genler olduğu ve bu genlerden birinin ya da bir kaçının fonksiyon kaybının ölümle sonuçlanacağı ifade edilmiştir [32]. Dolayısıyla yüksek konsantrasyonlarda vital genlerde meydana gelen olası mutasyonlar ergin birey sayısındaki düşmeyi açıklayabilir.

Krom, arsenik kadar yüksek oranda toksik etki göstermemiştir. Bu sonuç özellikle F<sub>2</sub> dölüne ait verilerin özetlendiği tablo 10 ve 13 karşılaştırıldığında belirgin olarak görülebilir. Ayrıca F<sub>1</sub> dölünde de sadece en yüksek konsantrasyonda toksik etki gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak krom bileşiklerinin, özellikle krom (III) formunun, hücrede vakuolde biriktirilerek [33] toksik etkinin tolere edilmesine bağlanabilir.

Araştırmamızda ortaya çıkan bir başka bulgu ise, F<sub>1</sub> dölünde sodyum arsenit ve krom (III) klorür içeren düşük konsantrasyonlarda ergin birey sayısında artış gözlenmiş olmasıdır. F<sub>2</sub> dölünde ise böyle bir fark gözlenmemiştir. Aslında bu iki sonuç deneysel yöntem göz önünde bulundurulduğunda, birbirini destekler niteliktedir. Çünkü F<sub>1</sub> dölü bireyleri arsenik ya da kroma direkt maruz kalmıştır. Bu nedenle düşük konsantrasyonlar beslenme yoluyla üremeyi artırmış olabilir. Oysa F<sub>2</sub> dölünde bireyler arsenik ve krom ile direkt etkileşim göstermemiştir. Bu nedenle üremeyi teşvik edici bir etki de gözlenmemiştir. Bu sonuç ve yorumu destekleyen bulgular vardır. Arsenilik asit, besicilikte domuz ve kümes hayvanları yemine, gelişme ve büyümeyi hızlandırıcı ajan olarak ilave edilmektedir [1]. Bu nedenle düşük konsantrasyonların, gelişim ve fertilizasyonu aktive ettiği düşünülebilir. Benzer bir durum krom için de geçerlidir. Kromun normal glukoz metabolizmasının sürmesi için gerekli olduğu bilinmektedir [2].

Aktive edici etkinin bu yüzden krom için de geçerli olduğu düşünülebilir. Ayrıca düşük miktarlarda Cr (VI) içeren ortamda gelişen Chlorophyta filumuna ait bir alg türü *Scenedesmus acutus* üzerinden beslenen planktonik bir krustase olan *Daphnia magna*' da kromun verimlilik ve büyüme üzerine pozitif etkiler yaptığı açıklanmıştır [33]. Bu araştırmacıların bulguları, düşük konsantrasyonlarda gelişimi pozitif yönde etkilediği yönündeki bulgularımızı önemli derecede destekler niteliktedir.

Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün birlikte uygulandığı deney gruplarında daha fazla fenotipik anormallik beklenirken, sodyum arsenit ve krom (III) klorürün ayrı ayrı uygulandığı diğer gruplardan daha az oranda fenotipik anormallik gözlenmiştir. Kromun sucul canlılarda tek başına toksik olduğu gibi, suyun pH' sı, sertliği, içerdiği ağır metaller ile de sinerjetik veya antagonistik etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir [34]. İki metal çözeltisi birlikte uygulandığında toksik etki tek başlarına uygulandıklarına göre daha düşüktür. Hatta bazı deney gruplarında görülmemiştir. Bu nedenle iki bileşiğin etkileşimi sonucu ortaya çıkan üçüncü bileşik ( $3\text{NaAsO}_2 + \text{CrCl}_3 \rightarrow \text{Cr}(\text{AsO}_2)_3 + 3\text{NaCl}$ ), çökelmiş [35] ve bu nedenle toksik etki gözlenmemiş olabilir. Diğer bir deyişle sodyum arsenit ve krom (III) klorür arasında antagonistik bir ilişki bulunmuştur.

Araştırmanın bütününden çıkan sonuçlar özetlenecek olursa, sodyum arsenit ve krom (III) klorür, mutasyon oluşturarak F<sub>1</sub> dölünde çok sayıda fenotipik malformasyona neden olmuştur. Fakat sodyum arsenitin mutajenik etkisinin F<sub>2</sub> dölünde de devam ettiği için, meydana gelen mutasyonların kalıtsal olduğu düşünülebilir. Ayrıca her iki maddenin bireysel etkisi, kombine etkilerinden daha toksik bulunmuştur. Bir başka bulgu da iki maddenin düşük konsantrasyonlarda ergin birey sayısını yükseltmiş, yüksek konsantrasyonlarda düşürmüş olmasıdır. Ergin birey sayısındaki düşme özellikle erkek bireylerde daha belirgindir. Bu nedenle erkek bireylerin gelişimsel süreçte toksisiteye karşı daha hassas olduğu ifade edilebilir.

Teşekkür: Bu araştırma Gazi Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiştir.

## **Kaynaklar**

[1] L. Friberg, G.F. Nordberg, V.B. Vouk, *Handbook On The Toxicology Of Metals*, 2<sup>rd</sup> ed., Elsevier, Amsterdam, 1986, p. 1024.

- [2] E. Berman, *Toxic Metals and Their Analysis*, Heyden and Son, London, 1980, p. 304.
- [3] M. Rizki, E. Kossatz, N. Xamena, A. Creus, R. Marcos, *Environ. Mol. Mutagen.*, 2002, 39, 49–54.
- [4] P. Ramos-Morales, R. Rodriguez-Arnaiz, *Environ. Mol. Mutagen.*, 1995, 25, 288–299.
- [5] M. Rizki, E. Kossatz, A. Velazquez, A. Creus, M. Farina, S. Fortaner, E. Sabbioni, R. Marcos, *Environ. Mol. Mutagen.*, 2006, 47, 162-168.
- [6] C. Calvo, S. Bolado, J. Alvarez-Benedí, M.A. Andrade, *J. Environ. Sci. Health. B.*, 2006, 41(4), 459-70.
- [7] J.G.M. Ortiz, R. Opoka, D. Kane, I.L., *Toxicol. Sci.*, 2009, 107(2), 416–426.
- [8] A.J. Katz, A. Chiu, J. Beaubier, X. Shi, *Mol. Cell Biochem.*, 2001, 222, 61-68.
- [9] S. De Flora, C. Bennecelli, M. Bagnasco, *Mutat. Res.*, 1994, 238, 99-107.
- [10] M. Stella, A. Montaldi, A. Rossi, *Mutat. Res.*, 1982, 101, 151-164.
- [11] R. Rodriguez – Arnaiz, R. Martinez, *Cytologia*, 1986, 51, 421-425.
- [12] D.M. Stallings, D.D. Hepburn, M. Hannah, J.B. Vincent, J. O'Donnell, *Mutat. Res.*, 2006, 610(1-2), 101-13.
- [13] D.D. Hepburn, J. Xiao, S. Bindom, J.B. Vincent, J. O'Donnell, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2003, 100(7), 3766-71.
- [14] I. Mukhopadhyay, D.K. Saxena, D.K. Chowdhuri, *Environ. Health Perspec.*, 2003, 111(16), 1926-1932.
- [15] A.N. Jha, M. Noditi, R. Nilsson, A.T. Natarajan, *Mut. Res.*, 1992, 284, 215-221.
- [16] N.K. Tripathy, F.E. Würigler, H. Frei, *Mut. Res.*, 1990, 242, 169-180.
- [17] A. Rasmuson, *Mutat Res.*, 1985, 157 (2-3), 157-62.
- [18] Z.U. Ahmed, G.W. Walker, *Can. J. Genet. Cytol.*, 1975, 17(1), 55-66.
- [19] M.B. Alentorn, N Xamena, A.Velazquez, A. Creus, R. Marcos, *Environ. Res.*, 1987, 43, 117-125.
- [20] H. Uysal, Z. Bahçeci, *Tr. J. of Biology* , 1997, 21,1-10.
- [21] H. Uysal, *Doktora Tezi*, Atatürk Üniversitesi, Fen Bil. Ens., 1994, 104-111.
- [22] G. Mirabolghasemi, A. Mahnaz, *Bioelectromagnetics*, 2002, 23, 416-420.
- [23] J.D. Watson, N.H. Hopkins, J.W. Roberts, J.A. Steitz, A.M. Weiner, *Molecular Biology of The Gene*, The Benjamin-Cummings, California, 1987, pp. 27.

- [24] D.W. Lynch, R.L. Schuler, R.D. Hood, D.G. Davis, *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, 1991, 11, 147-173.
- [25] G.W. Ware, *Pesticides Theory and Applications*, Freeman, San Francisco, 1983, 3-219.
- [26] T. Ochi, T. Kaise, Y. Oya-Ohta, *Experientia*, 1994, 50, 115-120.
- [27] D. Liu, W. Jiang, M. Li, *Hereditas*, 1992, 117, 23-32.
- [28] D.L. Cribbs, A.M. Pattatucci, M.A. Pultz, T.C. Kaufman, *Genetics*, 1992, 132, 699-711.
- [29] D. Bahçeci, *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi, Fen Bil. Ens., 2000, 5, pp. 53-58.
- [31] H. N. Ertürk, H. Ünlü , *Tr. J. Of Zoology*, 1991, 15, 76-83.
- [30] E.Ü. Bağrıaçık, *Bilim Uzmanlığı Tezi*, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bil. Ens., 1988, pp. 4-12.
- [32] G.L.C. Miklow, G.M Rubin, *Cell*, 1996, 86, 521-529.
- [33] G. Gorbi, M.G. Corradi, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 1993, 25, 64-71.
- [34] Ş. Yalçın, B. Özcan, D. Kadayıfçı, A. Yavuz, *III. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi*, Kırşehir, 1997, pp. 518.
- [35] R. H. Petrucci, W.S. Harwood, Editör T. Uyar, *Genel Kimya 1-2 İlkeler ve Modern Uygulamalar*, Palme Yayınevi, 2007, 316+674.