

## Bazı Organik Fosforlu İsektisitlerin Drosophila Melanogaster'in Yaşama Yüzdesi Üzerine Etkisi

### Effects of Some Organophosphate Insecticides on Percentage of Survival of Drosophila Melanogaster

Şükran ÇAKIR

Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kırıkkale-TÜRKİYE

Rabia SARIKAYA

G.Ü, Gazi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE  
erabia@gazi.edu.tr

#### ÖZET

*Bu çalışmada bazı organik fosforlu pestisitlerin (methyl parathion, azamethypos, dichlorvos ve diazinon) farklı konsantrasyonlarının Drosophila melanogaster'in yaşama yüzdesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Deneylerde D. melanogaster'in mwh-flr3 çaprazı kullanılmıştır. 3. dönem larvalara 5 ml test solüsyonu eklenmiş, Drosophila hazır besi ortamı ile kronik olarak beslenmiştir. Beslenme sinekler pupadan çıkınca sonlandırılmıştır. Kullanılan kimyasalların öldürücü dozları belirlenmiştir. Deneyler 3 kez tekrarlanmıştır. Kontrol grubu için 5 ml su kullanılmıştır. Kullanılan organik fosforlu insektisitler için yaşama yüzdeleri belirlenmiştir. Methyl parathion, azamethypos, dichlorvos ve diazinon'dan oluşan deney gruplarının yaşama yüzdeleri ile kontrol grubunun yaşama yüzdeleri istatistiksel olarak  $X^2$  testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.*

**Anahtar kelimeler:** Drosophila melanogaster, organik fosforlu pestisit, yaşama yüzdesi

#### ABSTRACT

*In this study, different concentrations of some organophosphate insecticides (methyl parathion, azamethypos, dichlorvos ve diazinon) were investigated for effects on survival percentage of Drosophila melanogaster. The mwh-flr3 Drosophila cross was used. Third-instar larvae were chronically fed with the Drosophila instant medium to which 5 ml test solutions were added. Feeding ended with pupation of the surviving larvae. Lethal doses of the chemicals used in the experiment were determined. The experiments were repeated 3 times. 5 ml water was administered to the control group. Percentages of survival of the flies were determined for organophosphate insecticides used in the experiment. Survival percentage of experiment groups, which contain*

*methyl parathion, azamethypos, dichlorvos, diazinon, and survival percentage of control group were statistically compared by the use of chi-square test.*

**Key words:** *Drosophila melanogaster*, organophosphate insecticide, percentage of survival.

## 1. Giriş

Pestisitler pest adı verilen zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal ve biyolojik maddelerdir. Veteriner hekimlikte ve tarımsal mücadelede çeşitli pestisitler iç ve dış parazitlere karşı koruyucu amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır. Doğada kimyasal kirlenmeye neden olan bu maddeler, canlılar arasındaki besin zincirini veya direkt kontaminasyon ile insan sağlığını tehdit etmektedir (Ekebaş ve arkadaşları, 1999).

Meyva veya sirke sineği olarak bilinen *Drosophila melanogaster* basit besin ihtiyacı, hızlı üremesi ve kısa sürede yavru vermesi, az sayıda ve büyük kromozomlara sahip oluşu, değişik ekolojik koşullara uyum gösterebilmesi ve küçük yapılı oluşu gibi avantajları nedeniyle genetik çalışmalarda çok tercih edilen bir organizmadır. *D. melanogaster*'de gelişmiş hayvanlar ve insan gibi ökaryotik bir canlıdır. Bilindiği gibi ökaryotik canlılarda genel hücre metabolizması aynıdır. Bu nedenle yaygın olarak kullanılan bazı kimyasalların mutajenik ve rekombinantik etkisini test etmek için uygun bir deney hayvanıdır. *D. melanogaster* sitogenetik, populasyon genetiği ve genetiğin çeşitli alt dallarında, moleküler genetik ve hatta gen mühendisliği gibi moleküler biyoloji dallarında da üzerinde en çok çalışılan organizmalardandır.

Kimyasalların mutajenik ve genotoksik etkilerinin araştırılmasında prokaryotik ve ökaryotik sistemler kullanılmaktadır. Prokaryotik ve ökaryotik canlılarda genel hücre metabolizması birbirinden büyük farklılıklar içerir. Bu nedenle kimyasalların prokaryotik bakteri sistemleri ile test sonuçları ökaryotik canlılarda aynı kimyasalların olası etkileri konusunda güvenilir bilgiler veremez. Ökaryotik canlı olan *Drosophila* hakkında genetik bilgi birikimi ve uygun deney hayvanı olma özellikleri nedeni ile kimyasalların genotoksik etkisini araştırmada sıklıkla kullanılmaktadır (Velazquez ve arkadaşları, 1990; Würbler ve Vogel, 1989).

Bu çalışmanın amacı Türkiye'de yaygın olarak kullanılan bazı pestisitlerin *Drosophila melanogaster*'in yaşama yüzdesi üzerine etkilerini araştırmak, böylece insan ve diğer canlılara olan olası etkileri hakkında ön bilgi edinmektir.

## 2. Materyal ve Metot

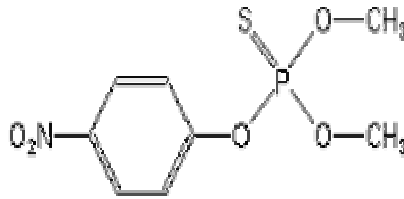
### 2.1. *Drosophila* stokları

Deneylerde kullanılan *Drosophila melanogaster*'in sık kanat kıllılığı (multiple wing hair, *mwh/mwh*) ve düzensiz kanat kıllılığı (flare, *flr<sup>3</sup>/In (3LR), TM3 Bd*) genlerine sahip iki mutant ırkı Zürih Üniversitesi Toksikoloji Enstitüsünden temin edildi.

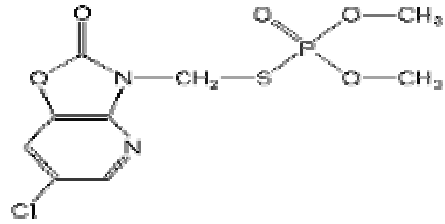
### 2.2. Uygulamada kullanılan kimyasallar

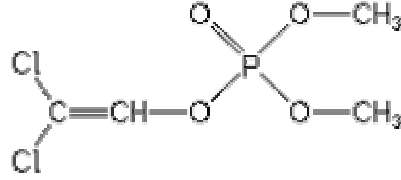
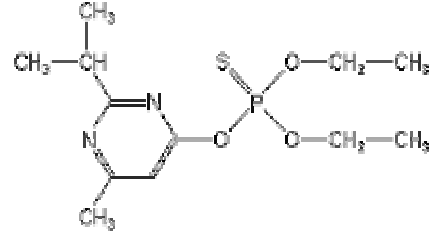
Bu çalışmada toksik etkisi test edilen kimyasallardan methyl parathion, azamethypos, dichlorvos ve diazinon organik fosforlu pestisitler grubundadır (Charles ve arkadaşları, 1991; Öztürk, 1997). Bütün organik fosforlu bileşikler antikolinesteraz etkili insektisitlerdir. En önemli özellikleri hedef enzim niteliğindeki kolinesteraz enzimi ile yapısal bütünleşmeye giderek enzimi inhibe etmeleridir. Bunlar kolinesteraz enziminin substratı olan asetilkolini taklit ederler. Bu organik fosforlu pestisitlerin kimyasal formülleri şöyledir:

Parathion-methyl: C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>5</sub>PS



Azamethypos: C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>PS



Dichlorvos:  $C_4H_7Cl_2O_4P$ Diazinon:  $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ 

### 2.3. Uygulama

Stoklar ve deney sistemleri  $25^{\circ}C$  ve % 40-60 bağıl neme ayarlanmış etüvlerde tutuldu ve standart *Drosophila* besiyeri (Instant *Drosophila* Medium, Carolina Biological Supply Company, Burlington, N.C.) kullanıldı. Mutant soylardan 5 günlük *mwh* virjin dişilerle, aynı yaştaki *flr<sup>3</sup>* erkeklerinin çaprazlanmasından 3 gün sonra 4'er saat aralıklarla toplanan yumurtalardan trans-heterozigot üçüncü dönem larvalar elde edildi. Standart besi ortamından alınarak yıkanan larvalar 100'erli gruplar halinde 1,5 g besi ortamı 5 ml belirlenen dozdaki kimyasal ile ıslatılarak ortama gömüldü (Graf ve arkadaşları., 1989). Kimyasal içeren standart besi ortamına alınan larvalar gelişmelerini tamamlamaya bırakıldı. Pupadan çıkan ergin bireyler hafif eterle bayıltılarak diseksiyon mikroskobu altında cinsiyet ve fenotiplerine göre ayırt edildi. Her doz uygulaması üç kez tekrarlandı ve bu tekrar gruplarından alınan sonuçların farklılığının önemi  $\chi^2$  testi yapılarak kontrol edildi. Pupadan çıkan birey sayıları tespit edildi (Graf ve arkadaşları., 1984).

### 2.4. Laboratuvar Koşulları

Stoklar ve deney grupları  $25 \pm 1^{\circ}C$  ve %40-60'lık nem ortamında özel iklim dolaplarında muamele edildi. Sinekler standart besi ortamı ile beslendi.

### 3. Bulgular

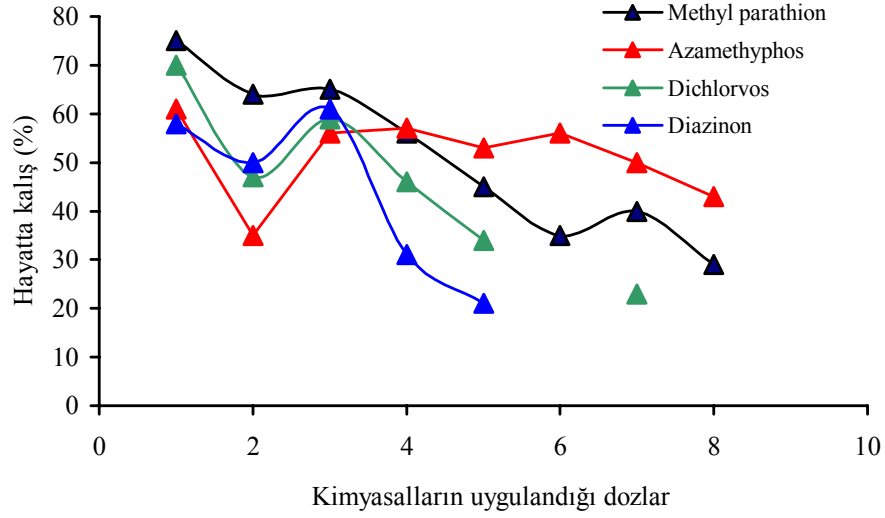
Bu çalışmada bazı organik fosforlu insektisitlerin (methyl parathion, azamethypos, dichlorvos ve diazinon) farklı konsantrasyonlarının *Drosophila melanogaster* üzerindeki toksik etkisi saptanmış ve *D. melanogaster* bireyleri için yaşama yüzdeleri belirlenmiştir. Multiple wing hair., (mwh / mwh) ve flare., (flr / In (3LR), TM3 Bd) çaprazından elde edilen transheterozigot larvalara organik fosforlu pestisitlerin farklı konsantrasyonları üçer kez uygulandı ve sonuçlar birbirleriyle karşılaştırıldı. Ayrıca kimyasalları çözmeye kullanılan su ile kontrol deneyleri yapıldı. Deneylerden elde edilen yaşama yüzdesi sonuçları Tablo-1'de gösterilmiştir. Kimyasallar kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve  $X^2$  değerleri parantez içinde verilmiştir. Kullanılan organik fosforlu insektisitlerin uygulandığı farklı konsantrasyonlar, uygulama süreleri ve hayatta kalış yüzdeleri arasındaki ilişki Şekil 1'de gösterilmiştir. Kimyasal uygulamalarında letal etki yüksek bulunmuştur. Deneylerde kullanılan organik fosforlu insektisitlerden toksik etkisi en yüksek olan Diazinon olup 5 ppm'lik konsantrasyonda hayatta kalış %21 olarak bulunmuştur. Deneylerde kullanılan dört insektisit toksisitesi yüksek olandan düşük olana doğru Diazinon > Dichlorvos > Methyl parathion > Azamethyphos şeklinde sıralanabilir. Ayrıca her bir insektisit için konsantrasyon arttıkça yaşama yüzdesinin azaldığı belirlenmiştir.

### 4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada organik fosforlu pestisitlerden methyl parathion, azamethypos, dichlorvos ve diazinon'un farklı konsantrasyonlarının *Drosophila melanogaster* üzerindeki toksik etkisi araştırılmış ve sonuçlar kontrol grubunun değerleriyle karşılaştırılmıştır. Deney grubuyla kontrol grubu arasındaki fark  $X^2$  testi ile hesaplanmıştır. Uygulamalarda her bir insektisit için konsantrasyon arttıkça yaşama yüzdesinin azaldığı belirlenmiştir. Deneylerde kullanılan dört insektisit *Drosophila melanogaster* bireylerinin hayatta kalışları üzerindeki toksik etkisi Diazinon > Dichlorvos > Methyl parathion > Azamethyphos şeklinde belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları pestisitlerle yapılan diğer çalışmalarla da uygunluk göstermektedir.

Tablo-1: Araştırmada kullanılan kimyasalların farklı doz-süre ilişkisinin  $X^2$  testi ile öneminin belirtilmesi (\*  $p < 0.05$  önemli) K: Kronik uygulama

UYGULAMA			
Kimyasallar	Doz (ppm)	Süre (saat)	Hayatta Kalma (%)
Methyl parathion	1	4	75 (0. 31)
		Kronik	64 (3. 20)
	3	2	65 (2. 81)
		4	56 (7. 20*)
	5	2	45 (15. 31*)
		4	35 (25. 31*)
	7	2	40 (20. 00*)
	10	2	29 (32. 51*)
Azamethyphos	1	4	61 (4. 51*)
		Kronik	35 (25. 31*)
	3	2	56 (7. 20*)
		4	57 (6. 61*)
	5	2	53 (9. 11*)
		4	56 (7. 20*)
	7	2	50 (11. 25*)
	10	2	43 (17. 11*)
Dichlorvos	1	4	70 (1. 25)
		Kronik	47 (13. 61*)
	3	2	59 (5. 51*)
		4	46 (14. 45*)
	5	2	34 (26. 45*)
	7	2	23 (40. 61*)
Diazinon	1	4	58 (6. 05*)
		Kronik	50 (11. 25*)
	3	2	61 (4. 51*)
		4	31 (30. 31*)
	5	2	21 (43. 51*)
Kontrol	Su	4	80



Şekil-1: Kullanılan kimyasalların uygulandığı doz ve sürelerde elde edilen hayatta kalış yüzdesi değerleri

*Drosophila*'da birçok kimyasalın eşeye bağlı çekinik letal testi (Sex-linked recessive lethal test, SLRL) ile genotoksik etkileri araştırılmıştır (Lee ve arkadaşları, 1983). Test edilen klasik karsinojenlerden %85'inin *Drosophila*'da toksik ve mutajen olduğu görülmüştür.

Guzman ve arkadaşları (1998), nitrozasyon prosesi tarafından üretilen genotoksik etkiyi de yine bu test ile araştırmışlardır. Kronik uygulamalarda sodium azide'in toksik etkisinin olduğu bu test ile gösterilmiştir (Gonzales ve Ramos, 1997).

Ekebaş ve arkadaşları (1999), pestisitlerden azamethifos, dichlorvos ve metil parathionun mutajenik etkisini SMART ile araştırmışlar ve toplam mutasyon ve mutasyon gözlenen kanat sayısı arasında pozitif bir korelasyon bulmuşlardır

Kaya ve arkadaşları (2000), beş herbisit (amitrole, metribuzin, prometryn, terbuthryn ve diquat dibromide) genotoksik etkisini SMART ile araştırmışlar ve amitrole ve terbuthryn'in genotoksik olduğunu tespit etmişlerdir.

*Drosophila melanogaster*'de, captan, maneb, zineb ve ETU (ethylenethiourea) fungusitlerinin genotoksik etkileri wing spot testi ile araştırılmıştır. Captan ve zineb mutajenik etki göstermezken, maneb standart çaprazlarda mutajen, ETU ise hem

standart hem de yüksek bioaktivasyon çaprazında pozitif sonuç vermiştir (Osaba ve arkadaşları 2002).

Tiburi ve arkadaşları (2002), vincristine, vinblastine ve vinorelbine isimli alkaloidlerin genotoksik etkisini wing spot test (SMART) ile araştırmışlar ve üç alkaloidin de genotoksik etkisinin yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Pestisitlerin olası genotoksik etkilerini araştırmada da bu teste sıklıkla başvurulmaktadır. Osaba ve arkadaşları (1999), pyrethroid allethrin, chlorinated hidrokarbonlar dieldrin ve endrin ve organophosphate dimethoate ve malathion gibi pestisitlerin genotoksik etkisini araştırmış ve kullanımları hızla artmakta olan pestisitlerin genotoksik etkilerinin araştırılmasında bu testin uygunluğunu bir kez daha göstermişlerdir.

Geniş spektrumlu insektisitlerden olan sumithion'un *Drosophila*'da genotoksik etkisi SMART ve SLRL testi ile gösterilmiştir. Bütün bu ve benzeri çalışmalar bu testin kimyasalların genotoksik etkilerini araştırmada güvenilir ve kolay bir test olduğunu göstermiştir (Graf ve arkadaşları, 1996; Frolich ve Wüergler 1990; Graf ve Ramirez, 1991).

Kullanılan pestisitlerin toksik etkileri, hayatta kalma oranları uygulanan süre ve doza bağlı olarak değişmektedir. Doz ve kimyasala maruz kalma süresi arttıkça toksisite artmaktadır. Pestisitlerin tümü fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle hedef alınandan farklı ekosistemlerde de etkili olmakta, canlılar ve çevre üzerinde olumsuz etkiler göstermektedir. Bu çalışma sonuçları, pestisitlerin Türkiye'de hedef zararlılara yönelik yaygın kullanımında insan ve çevre sağlığının da önemle göz önüne alınmasının gereğini vurgulamaktadır.



**Kaynaklar**

- Charles, R., Worthing, C. R. and Hance J. (1991). *The pesticide Manual (9<sup>th</sup> Edition)*. British Corp Protection Council.
- Ekebas, S., Cakir, S., Ertugrul, O. and Kence, A. (2000). "The detection of mutagenic activity of some chemicals (azamethypos, dichlorvos, methyl parathion, aflatoxin B1) by the SMART test in *Drosophila melanogaster*", *Turk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 24: (6) 563-569.
- Frolich, A., and Wüergler, F. E. (1990). "Drosophila wing-spot test: improved detectability of genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons", *Mutation Research*, 234, pp.71-80.
- Graf, U., F. E. Wüergler, A. J. Katz, H. Frei, H. Juan, J. V. Hall and P. G. Kale. (1984). "Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*". *Enviromental Mutagenesis*, 6:153-188.
- Graf, U., H. Frei, A. Kagi, A. J. Katz and F. E. Wüergler, (1989). "Thirty compounds tested in the *Drosophila* wing spot test". *Mutation Research*. 22: 359-373.
- Graf, U., Heo, O.S. and Ramirez, O.O. (1991). "The genotoxicity of chromium (VI) oxide in thr wing spot test of *Drosophila melanogaster* is over %90 due to mitotic recombination". *Mutation research*, 266, 197-203.
- Graf, U., Spano, M.A., Rincon, J.G., Abraham, S.K. and Andrade, H.H., (1996). "The wing Somatic Mutation and Recombination Test (SMART): An efficient tool for the detection of genotoxic activity of pure compounds or complex mixtures as well as for studies on antigenotoxicity". *African Newslett. Occup. Hlth. Safety*, 6 (1): 9-13.
- Gonzales-Cesar, E., Ramos-Morales, P., (1997). "Sodium azide induces mitotic recombination in *Drosophila melanogaster*". *Mutation Research*, 389(2-3): 157-165.
- Guzman-Rincon, J., Espinosa, J., and Graf, U. (1998). "Analysis of the in vivo nitrosation capacity of the larvae used in the wing somatic mutation and recombination test of *Drosophila melanogaster*", *Mutation Research*, 412(1): 69-81.
- Kaya B, Yanikoglu A, Creus A. and Marcos R. (2000). "Genotoxicity testing of five herbicides in the *Drosophila* wing spot test", *Mutation Research*, 16:465(1-2):77-84.
- Lee, W. R., S. Abrahamson, R. Valencia, E. S. Von Halle, F. E. Wüergler and S. Zimmering, (1983). "Sex-linked recessive lethal test for motugenesis in *Drosophila melanogaster*". *Mutation Research*, 123:183-279.
- Osaba, L., Aguirre, A., Alonso, A., and Graf, U. (1999). "Genotoxicity testing of six insecticides in two crosses of the *Drosophila* wing spot test". *Mutation Research*, 439(1): 49-61.

- Osaba, L., rey, M.J., Aguire, A., Alonso, A. and Graf, U. (2002). "Evaluation of genotoxicity of captan, maneb and zineb in the wing spot test *Drosophila melanogaster*: role of nitrosation", *Mutation Research*, 518: 95-106.
- Öztürk, S. (1997). "Tarım ilaçları, Pestisitlerin sınıflandırılması", s. 57-60. Ak Basımevi, Ankara.
- Tiburi, M., Reguly, M., Schwartzmann, G., Cunha, K., Lehmann, M. and Andrade, H. (2002). "Comparative genotoxic effect of vincristine, vinblastine, and vinorelbine in somatic cells of *Drosophila melanogaster*", *Mutation Research*, 26:519(1-2):141.
- Velazquez, A., N. Xamena, A. Creus and R. Marcos, (1990). "Mutagenic evaluation of the organophosphorus insecticides in *Drosophila melanogaster*". *J. Toxicol. Environ. Health*, 31:313-325.
- Würgler, E. F. and Vogel, E. W. (1989). Chemical *Mutagenes: In Vivo Mutagenicity Testing Using Somatic Cells of Drosophila melanogaster, Principles and Methods for Their Detection*. 10. 1-72. Plenum Press, New York and London.