



## Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün *Drosophila melanogaster*' in politen kromozomlarına etkisi

\*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,

### ÖZET

#### Anahtar Kelimeler

Kromozomal  
Anomaliler,  
*Drosophila*,  
Politen Kromozom,  
Toksik Metaller

Bu çalışmada sodyum arsenit ( $\text{NaAsO}_2$ ) ve krom (III) klorürün ( $\text{CrCl}_3$ ), *Drosophila melanogaster*' in politen kromozomları üzerine etkisi araştırılmıştır. Organizmaya madde uygulaması beslenme yoluyla yapılmıştır. Metal içeren besiyerinde gelişen üçüncü instar larvaların politen kromozomları incelenmiştir. Uygulanan maddelerin etkisiyle, kromozom kollarında uçtan parça kaybı, ektopik uzantılar, bazı bant bölgelerinde hairpin adı verilen saç tokası benzeri yapılar, homolog kromozomların bazı bant bölgelerinde birbirinden ayrılması (asinapsis), weak point adı verilen bölgesel daralmalar, tam veya yarı kırılmalar gibi bazı anomaliler gözlenmiştir. Her iki madde hem ayrı ayrı hem de birlikte uygulanmış ve politen kromozomlarda çok sayıda kromozomal anomaliye neden olmuştur. Kontrol grubunda % 14 olan anomali oranı, krom (III) klorür uygulanan deney grubunda % 62, sodyum arsenit uygulanan deney grubunda % 65 ve iki maddenin birlikte uygulandığı deney grubunda % 53 olarak gözlenmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen bulguların lokasyonu, politen kromozomlarda ifadesi aydınlatılmış gen bölgeleri ile ilişkilendirilerek, gelişimsel aksamanın olası nedenleri tartışılmıştır.

## Effect of sodium arsenite and chromium (III) chloride on the polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*

### ABSTRACT

#### Keywords

Chromosomal  
Anomalies,  
*Drosophila*,  
Polytene  
Chromosomes,  
Toxic Metals.

In this study the effect of sodium arsenite ( $\text{NaAsO}_2$ ) and chromium (III) chloride ( $\text{CrCl}_3$ ) on *Drosophila melanogaster*'s polytene chromosomes has been investigated. Substance application has been performed through feeding to the organism. Polytene chromosomes of third instar larvae which developed in medium contained metal have been examined. Due to the effects of the applied substances, a number of anomalies such as segment loss from tips, ectopic extensions, hairpin-like structures on some band regions, separation of homologous chromosomes from each other at some band regions (asynapsis), regional contractions called weak point, full or half fractions on chromosome arms have been observed. Both substances have been applied separately and together, and lead to a large number of chromosomal anomalies on polytene chromosomes. The anomaly rate of 14% observed in the control group was 62% in the experimental group treated with chromium(III) chloride, 65% in the experimental group treated with sodium arsenite, and 53% in the experimental group treated with both. The probable causes of the disruption of development were discussed by associating the location of findings of this research with the elucidated expression of gene regions on polytene chromosomes.

## 1. Giriş

Politen kromozomlar devasa interfaz kromozomlarıdır. Bu nedenle genomun ve kromozomların genetik organizasyonunu ve analizini gözlemek için oldukça önemli bir modeldir. Ayrıca gen aktivitesinin, mikroskopta puff formasyonu ile gözlenebildiği eşsiz bir deneysel materyaldir [1]. Politen kromozom morfolojisi yoluyla yapılan çalışmalar, belirli bölgelerdeki genlerin aktivasyonu ve o bölgedeki bantların puflara yoğunlaşması arasındaki ilişkiyi ve gelişimle ilgisini açıkça ispatlamıştır [2]. Bu nedenle herhangi bir maddenin etkisini interfaz kromozomlarında görmek için oldukça önemli bir materyaldir. Politen kromozomlarda gözlenecek olası değişikliklerin morfolojiye yansımaları da beklemek olasıdır. Bu çalışmada sodyum arsenit ve krom (III) klorürün politen kromozomlar üzerine etkisi araştırılmıştır.

Arsenik ve krom endüstride oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır [3]. Arsenik ve metillenmiş türevlerinin *Drosophila melanogaster*' de mutajenik etki gösterdiği belirlenmiştir [4- 7]. Leonard ve Lauwerys [8], sodyum arsenitin *Drosophila melanogaster*' de krossing-over oranını arttırdığını bildirmiştir [9]. Cr (VI) bileşiklerinin; hücre siklusunda değişikliğe, DNA sentezi ve onarımının durmasına, programsız DNA sentezine, kromozomal anomalilere, gelişimsel ve morfolojik değişikliklere neden olduğu De Flora ve arkadaşları [10] tarafından bildirilmiştir. Hekzavalent krom tuzu bileşiklerinin karsinojenik olduğu ve bakterilerden insana kadar [11] birçok organizmada mutagenik oldukları rapor edilmiştir [12]. Krom içeren bir gıda katkısı olan kromium pikolinatın *Drosophila melanogaster*' de politen kromozomlarda anormallığe neden olduğu [13] ve gelişimi olumsuz etkilediği bulunmuştur [14].

Arsenik ve kromun *Drosophila*' da somatik hücreler, eşey hücreleri [5, 7, 15] ve krossing-over üzerine etkisi araştırılmıştır [16]. Krom kaplama sanayi atık suyunun *Drosophila*' da sıcak şoku proteinleri, üreme performansı ve yumurta bırakma oranı üzerine etkileri [17] incelenmiştir. Sözü edilen araştırmalardan görüldüğü gibi, arsenik ve krom bileşiklerinin, *Drosophila melanogaster*' in çeşitli özellikleri üzerine çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen, politen kromozomlara etkisi araştırılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada, sodyum arsenit ve krom (III) klorürün politen kromozomlar üzerine etkileri, hem ayrı hem de birlikte incelenmiştir. Endüstriyel faaliyetler sonucu çevreye yayılan metallerin kendi aralarındaki ilişkileri, sinerjistik (tek başlarına etkilerinden daha yüksek toksik etki) ya da antagonistik (tek başına etkiden daha düşük toksik etki) olabilir [17]. Fakat kombine etkinin incelendiği araştırma sayısı azdır. Bu nedenle bu çalışmada iki toksik maddenin kombine etkisi de incelenmiştir.

## 2. Materyal ve metod

Bu çalışmada *Drosophila melanogaster*' in ileri derecede kendilemiş yabanıl tip Oregon-R soyunun, üçüncü instar larvaları kullanılmıştır. Üçüncü instar larvaları elde etmek için, ergin bireylerin çaprazlaması standart bira mayası ve mısır unu içeren besiyerinde yapılmıştır. Larvaların seçiminde erkek ve dişi ayrımı göz önünde tutulmamıştır. Kontrol ve deney grupları, 25±1 °C sıcaklık ve sürekli

karanlık koşul taşıyan inkübatörde yaşatılmıştır. Madde uygulaması yapmak için, kontrol ve deney grubu olmak üzere iki deney seti hazırlanmıştır. Deney grubunu oluşturan besiyerlerine, 100 ppm' lik standart sodyum arsenit veya krom (III) klorür çözeltisi (5.0 ml/100 ml) ilave edilmiştir. Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün birlikte uygulandığı deney grubunda eşit oranda standart çözelti kullanılmıştır. Hem deney hem de kontrol grubunu oluşturan besiyerine *Drosophila melanogaster*' in ergin bireylerinden 7 erkek ve 7 dişi birey konulmuştur. Yumurtlama gerçekleştikten sonra ergin bireyler besiyerinden uzaklaştırılmıştır. Döllenen yumurtadan gelişen 1., 2. ve 3. evre larvalar deri değişiminin tüm safhalarını bu besiyeri içinde geçirmişlerdir. Çaprazlamanın başlangıcından itibaren ortalama 5 gün sonra 3. evre larvalar oluşmaktadır. Kültür şişesinden alınan larva, petri kabı içindeki bir miktar *Drosophila Ringer Solüsyonu*'na konulmuştur. Diseksiyon mikroskopunda diseksiyon iğneleri yardımıyla, larvanın başı vücudundan ayrılarak, tükrük bezleri çıkarılıp bir lam üzerine alınmış ve lakto aseto-orsein boyası ile boyanarak ezme preparat hazırlanmıştır. Kolları iyi açılmış ve iyi boyanmış olan kromozomlar incelenmiş ve birden fazla anormallik gösteren kromozom kollarının fotoğrafları çekilmiştir. Bir başka araştırmamızda, çalışmalarda kullanılan ağır metal çözeltileri için letal konsantrasyon (LC<sub>50</sub>) tespiti yapılmış ve 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 [18]. Yine aynı çalışmada, sodyum arsenit ve krom (III) klorürün, aynı organizmanın gelişimsel ve morfolojik özelliklerine etkisi üç farklı konsantrasyonda araştırılmış ve en yüksek oranda toksik etki, en yüksek konsantrasyon olan 5 ml / 100ml' da gözlenmiştir [18, 19]. Bu nedenle aynı maddelerin politen kromozomlara etkisinin araştırıldığı bu çalışmada bu konsantrasyon kullanılmıştır.

Kromozom kollarının teşhisinde yararlanılan yapısal işaretler; X kromozomunun uç kısmında 2B bant bölgesindeki "büyük puf", 11 A bant bölgesindeki "daralma = zayıf benek"; 2L kromozom kolunda 21 A bant bölgesindeki "topuz yapısı", 30 A bant bölgesindeki "kalkan biçimli yapı", 31 BF bant bölgesinde "kaz boynu"; 2R kromozom kolunun başlangıç kısmı olan 60 EF bant bölgesinde "soğan kaidesi benzeri yapı", 3L kromozom kolunda 68 BC bant bölgesinde "balerin eteği", 74-75 bant bölgelerinde "şeytan feneri" olarak ifade edilen bir çift yapısal puf, 79 CE bant bölgesinde "kapsül tabakası" ve 3R kromozom kolunun 85 EF bant bölgesindeki "eşkenar üçgen şeklindeki yapı" ile 100 EF bant bölgesindeki "mantar şeklindeki yapı"lardır. Ayrıca kromozom kollarının serbest uçlarının biçimlerinden de yararlanılmıştır [13, 20, 21].

Boyanmış kromozomlarda bantlar koyu kırmızı, interbantlar ise açık sarı renktedir. Kromozomların teşhisleri, Bridges tarafından hazırlanan ve geliştirilen kromozom haritasına göre [22] yapılmıştır. Üçüncü instar larvalarının tükrük bezleri boyanmış ve sitolojik olarak gözlenmiştir. Kolları iyi açılmış ve iyi boyanmış olan kromozomlar incelenmiş ve birden fazla anormallik gösteren kromozom kollarının fotoğrafları çekilmiştir. Fotoğraflar 5x100X büyütmede; 5.5 ışık şiddetinde ve manuel programda 4 saniye süre ile çekilmiştir.

Araştırmanın istatistik hesapları bölümünde, deney ve kontrol grupları arasında anormal hücre oranı karşılaştırılmıştır. Grupların istatistiksel karşılaştırması non parametrik Z testi uygulanarak yapılmıştır.

### 3. Bulgular

İyi açılmış ve iyi boyanmış kromozomlar olmak üzere, deney grupları ve kontrol grubu için ortalama yüzer hücre incelenmiştir (Tablo 1). Kontrol grubunda anormal oranı % 14 olarak gözlenmiştir. Kromozomal anomali gösteren hücreler ve anomaliler kaydedilmiş ve en yüksek oranda anomali, sodyum arsenit uygulanan deney grubunda gözlenmiştir. Bu gruptaki kromozomal anomali oranı % 64' tür. Krom (III) klorür uygulanan deney grubunda ise anomali oranı kontrol grubuna göre oldukça yüksek olmasına rağmen,

sodyum arsenit uygulanan deney grubuna göre düşük bulunmuştur (% 61) ( $p < 0.0001$ ). Ayrıca, bu iki madde birlikte uygulandıklarında toksik etki azalmıştır. Yani ayrı ayrı uygulandıklarında kromozomal anomali oranı % 60' ların üstünde çıkarken, birlikte uygulandıklarında % 52 oranında gözlenmiştir, fakat ayrı ve birlikte uygulama sonucu görülen bu farklılık istatistik açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Anomali oranlarına ait verilerin karşılaştırılması yapılmış ve Z testine ait oranlar tablo 1' de sunulmuştur. Buna göre, tüm deney gruplarındaki kromozomal anomali oranı kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ). Öte yandan deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı bir istatistik farklılık bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ).

Tablo 1. Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün politen kromozomlara etki

	Gözlenen Hücre Sayısı	Anormal Hücre Sayısı	Anormal Hücre Oranları	Oranlar Arasındaki Farklar		
Kontrol (A)	100	14	0.14	0.1400	-	-
Cr (B)	112	69	0.62	-0.4761*** (A-B)	-	-
As (C)	108	70	0.65	-0.5081***(A-C)	-0.0321(B-C)	-
As+ Cr (D)	102	54	0.53	-0.3894***(A-D)	0.0867 (B-D)	0.1187 (C-D)

\*\*\*  $p < 0.0001$  (Oranlar açısından karşılaştırılan gruplar parantez içinde verilmiştir)

Araştırmamızın diğer bölümünde, kromozomal anomali oranına ilave olarak, gözlenen anomalilerin tipleri de kaydedilmiştir. Bunun için her hücrede, kromozom kolları tek tek incelenmiş ve yoğun olarak şu anomaliler tespit edilmiştir: 1- Kromozom kollarında uçtan parça kaybı. 2- Aynı kromozomun farklı bant bölgeleri veya farklı kromozom kolları arasında ektopik uzantılar. 3- Bazı bant bölgelerinde saç tokası (hairpin) olarak ifade edilen yapılar. 4- Homolog kromozomların bazı bant bölgelerinde birbirinden ayrılması (asinapsis). 5- Weak point denilen bölgesel daralmalar. 6- Tam veya yarı kırılmalar. 7- Shift olarak isimlendirilen kırılan bölge üzerinde yapılar.

#### 3.1. Kontrol grubunda gözlenen kromozomal anomaliler

Kontrol grubunda anomali oranının düşük (% 14) olmasına ilave olarak gözlenen anomali tipi de az sayıdadır. Bu anomaliler; kromosenterde parçalanma, yarı kırılma ve kırılma şeklinde gözlenmiştir. Kırılmaların gözlendiği bölgeler, X kromozomunun 9DE bant bölgesi, 2R kromozom kolunun 41EF ve 46EF bant bölgesi, 3L kromozom kolunun 76BC bant bölgesi ve 3R kromozom kolunun 99AB bant bölgesi olmak üzere oldukça az sayıdadır. Ayrıca belirlenemeyen bir kromozom kolunda da iki kez kırılma tespit edilmiştir. Kromosenterde parçalanma 13 kez gözlenmiştir. Gözlenen anomaliler az sayıda olduğu ve metinde açıklanmış olduğu için tablo olarak verilmemiştir.

#### 3.2. Sodyum arsenitin neden olduğu kromozomal anomaliler

Gözlenen kromozomal anomaliler tablo 2' de özet olarak sunulmuştur. İncelenen hücrelerin % 65' inde kromozomal anomali görülmüştür. Uçtan parça kayıpları X kromozomunun 1C bant bölgesinde; ikinci kromozomun 22EF, 23DE, 60A bant bölgesinde ve belirlenemeyen bir bölgede; üçüncü kromozomun 99BC bant bölgesinde ve ayrıca teşhisi yapılamayan iki kromozom kolunda gözlenmiştir. Ektopik uzantı, gözlenen bir başka anomali tipidir. Ektopik uzantılar, hem aynı kromozom kolunun farklı bant bölgeleri arasında hem de farklı kromozom kolları arasında gözlenmiştir. X kromozomunun 3A ve 4F bölgesi ile 14B ve 14F bölgesi arasında, 3L kromozom kolunun 66B ve 67EF bölgesi arasında gözlenen ektopik uzantı aynı kol üzerinde görülenlerdir. 2L kromozom kolunun 26B ve 2R kromozom kolunun 52B bölgeleri arasında görülen ektopik uzantı ise farklı kromozomlar arasında meydana gelmiştir. Ayrıca arsenik uygulaması ile on iki bölgede asinapsis gözlenmiştir. Bunlar, 56BC ile 57F bant bölgesi arasında (Şekil 1), 67D ile 69C bölgeleri arasında ve 61F ile belirsiz bir kol arasında (Şekil 2) tespit edilmiştir. Ayrıca kromozom kollarının teşhis edilip, bant bölgelerinin tespit edilemediği dokuz asinapsis gözlenmiştir. X kromozomunda iki, 2L kromozomunda bir, 3R kromozomunda iki ve teşhis edilemeyen kollarında dört asinapsis gözlenmiştir (Tablo 2). Saç tokası (hairpin) yapısına sekiz kez rastlanmıştır. Bunlardan dördünün kromozom kolu teşhis edilememiştir.

Diğer dördü ise 11BCD, 30BC, 50F-51A bant bölümlerinin tamamında ve 94BCD bant bölgesindedir. Teşhisi yapılan bölgesel daralmalar ise 7AB, 14B, 14F, 65EF ve 71AB bant bölgelerinde gözlenmiştir. Yarı kırılmalar 9BC, 13A, 52BC, 52EF, 64B, 75C, 91F ve 88F bant bölgelerinde gözlenmiştir. Tam kırılmalar ise 13AB, 17CD, 71B ve 63DE bant bölgelerinde teşhis edilmiştir. Ayrıca kromozom kolu belli gözlenmiştir. Kromosenter bölgesinde parçalanmaya ise 13 kez rastlanmıştır.

### 3.3. Krom (III) klorürün neden olduğu kromozomal anomaliler

Krom (III) klorürün etkisiyle meydana gelen anomaliler tablo 3' te verilmiştir. Hücrelerde % 62 oranında kromozomal anomali gözlenmiştir. Uçtan parça kaybı 2L ve 3R kromozom kollarında gözlenmiş, fakat bant bölgeleri teşhis edilememiştir. 2R kromozom kolunda ise 60 BC bant bölgesinde uçtan parça kaybı gözlenmiştir. Ektopik uzantıya ise X kromozomunda 6AB bölgesi ve belirsiz bir kol arasında ve ayrıca 2R kromozom kolunun 43A ve 43F bant bölgeleri ile 52BC ve 49A bant bölgeleri arasında rastlanmıştır. Asinapsis tipi kromozomal anomali ise X kromozom kolunun

olup bant bölgeleri belli olmayan üç, hem kromozom kolu hem de bant bölgesi belli olmayan dört kırılmaya rastlanmıştır. Shift yapısı ise 1F, 13E, 37C, 45DE ve 71CD bant bölgelerinde gözlenmiştir. Ayrıca kromozom kolları teşhis edilen üç ve belirsiz kolda teşhis edilemeyen bir olmak üzere toplam sekiz bölgede shift yapısı

13A ve 13F bant bölgeleri ve 2R kromozom kolunun 30A ve 31BC bant bölgeleri ile 21EF ve 26B bant bölgeleri (Şekil 3) arasında gözlenmiştir. Buna ilave olarak, 3L kromozom kolunun 62F bant bölgesinden başlayıp kromozom ucuna kadar sürecek biçimde (Şekil 4) ve 3R kromozom kolunun 90AB bant bölgesinde gözlenmiştir. Hairpin olarak adlandırılan anomali ise X kromozom kolunun 10ABC bant bölgesinde, 2L kromozom kolunun 21AB ile 25BC bant bölgelerinde (Şekil 3) ve 2R kromozom kolunun 96CDEF bant bölgelerinde gözlenmiştir. Buna ilave olarak bant bölgesi ya da kromozom kolu teşhis edilemeyen hairpin tipi anomaliler tablo 6' da verilmiştir. Bölgesel daralma X kromozom kolunun 14A ve 14F bant bölgeleri arasında, 2R kromozom kolunun 51B bant bölgesinde, 3L kromozom kolunun 65BC bant bölgesinde ve 3R kromozom kolunun 88B, 96A ve 96C bant bölgeleri arasında gözlenmiştir.

Tablo 2. Sodyum arsenitin neden olduğu kromozomal anomaliler

Kromozom kolu	Uçtan parça kaybı	Ektopik uzantı		Asinapsis	Hairpin	WeakPoint			
		Aynı kolda	Farklı kolda			Bölgesel daralma	Yarı kırılma	Tam kırılma	Shift
X	1C	3A ve 4F 14B ve 14F	-	**	11BCD 14B ve 14F	7AB	13A 9BC	13AB 17CD *	1F ve 13E *
2L	23DE 22EF	-	26B ve 2L 52B	*	30BC	-	*	*	37C
2R	60A *	*	-	56BC ve 57F	50F-51A	*	52BC 52EF	-	45DE
3L	-	66B ve 67EF	-	67D ve 69C 61F ve *	-	65EF 71AB	64B 75C *	71B 63DE *	71CD
3R	99BC	-	-	**	94BCD	-	91F 88F	-	**
Belirsiz kol	**	*	-	****	****	**	**	****	*
Kromosenter bölgesinde parçalanma *****									

\*Teşhisi yapılamayan bant bölgesindeki anomali için \* işareti kullanılmıştır, işaretin sayısı gözlenen anomalinin tekrar sayısıdır.

Kromozom kırılmalarına ise X kromozomunda 9CD ve 11D bölgesinde, 2L kromozom kolunun 22BC, 28AB ve 31AB bant bölgelerinde, 2R kromozom kolunda ise dört ayrı bölgede rastlanmış ama bant bölgeleri teşhis edilememiştir. 3L kromozom kolunda 71D ve 80BC bant bölgeleri ile teşhis edilemeyen iki ayrı bant bölgesinde kırılma gözlenmiştir. 3R kromozom kolunda ise 87B, 92A ve ayrıca iki bant bölgesinde kırılma gözlenmiştir. Shift yapısı gözlenen kromozom kolları teşhis edilmiş, fakat bant bölgeleri teşhis edilememiştir (Tablo 3). Sadece 3R kromozom kolunun 96CDEF bant bölgesindeki shift

teşhis edilebilmiştir (Şekil 5). Kromosenterde parçalanmaya 18 kez rastlanmıştır.

### 3.4. Sodyum arsenit ve krom (III) klorür birlikte uygulandığında gözlenen kromozomal anomaliler

Gözlenen kromozomal anomaliler tablo 4' de özet olarak sunulmuştur. İki metalin birlikte uygulanması, gözlenen kromozomal anomali oranını bir miktar düşürmüştür, fakat deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında bu fark istatistik olarak anlamlı çıkmamıştır ( $P>0.05$ ). Hücrelerde % 53 oranında kromozomal anomaliye

rastlanmıştır. İki metalin birlikte uygulanması sonucu, uçtan parça kaybı ikinci kromozomun 24DE ve 58AB bant bölgesinde gözlenmiştir. Ektopik uzantı, X kromozomunun 10B bant bölgesi ile ikinci kromozomun 30C bant bölgesi arasında; ayrıca 2R kromozom kolunun 44EF bant bölgesi ile teşhisi yapılamayan bir kromozom kolu arasında saptanmıştır. Aynı kromozom kolunda gözlenen ektopik uzantılar ise ikinci kromozomun 21A ve 40F bant bölgeleri arasında, 60F ve 57C bant bölgeleri arasında, üçüncü kromozomun 85E ve 87B bant bölgesi arasında gözlenmiştir. Farklı kromozomlarda olmak üzere

dokuz kez asinapsis gözlenmiştir. Hairpin ise 54BC ve 55CD bant bölgeleri arasında (Şekil 6), 65ABC ve 83AB bant bölgelerinde gözlenmiştir. Teşhisi yapılan kırılma ve yarı kırılmalar 91CD, 13E, 36CD, 90E ve 82F bant bölgelerinde gözlenmiştir. Shift ise 5B ve 91B bant bölgesinde gözlenmiştir. Ayrıca teşhisi yapılamayan altı ayrı bant bölgesinde shift gözlenmiştir.

Tablo 3. Krom (III) klorürün neden olduğu kromozomal anomaliler

Kromozom kolu	Uçtan parça kaybı	Ektopik uzantı		Asinapsis	Hairpin	WeakPoint			
		Aynı kolda	Farklı kolda			Bölgesel daralma	Yarı kırılma	Tam kırılma	Shift
X	-	-	6AB ve *	13A ve 13F	10ABC*	14A ve 14F	11D	9CD *	**
2L	**	-	*	30A ve 31BC** 21EF ve 26B	25BC, 21AB	*	31AB	28AB 22BC	*
2R	60BC	43A ve 43F, 52BC ve 49A	-	-	96CDEF	51B	***	*	96CDEF
3L	-	*	-	62F ve *	*	65BC	71D	80BC **	-
3R	**	-	-	90AB ve *	**	88B 96A ve 96C	**	87B 92A	**
Belirsiz kol	**	-	****	**	*	***	***	****	**

Kromosenter bölgesinde parçalanma

\*\*\*\*\*

\*: Teşhisi yapılamayan bant bölgesindeki anomali için \* işareti kullanılmıştır, işaretin sayısı gözlenen anomalinin tekrar sayısıdır.

Tablo 4. Sodyum arsenit ve krom (III) klorür birlikte uygulandığında gözlenen kromozomal anomaliler

Kromozom kolu	Uçtan parça kaybı	Ektopik uzantı		Asinapsis	Hairpin	Weak Point			
		Aynı kolda	Farklı kolda			Bölgesel daralma	Yarı kırılma	Tam kırılma	Shift
X	-	*	10B ve 30C	10A ve 10D, 5B ve 6A	**	12EF 4 AB	-	* 13E	5 B *
2L	24DE	21A ve 40F	-	24DE ve 25AB*	-	*	**	36CD	-
2R	58AB	60F ve 57C	44EF ve *	53C ve *	54BC ve 55CD	51B *	-	-	-
3L	-	76A ve *	-	63EF ve 68DE	65ABC	75EF, 70DE ve 73BC, 63C ve 66A	*	*	*
3R	-	85E ve 87B	-	84D ve 85E 95C ve 96A	83AB	*	91CD	90E 82F	9 1 B *

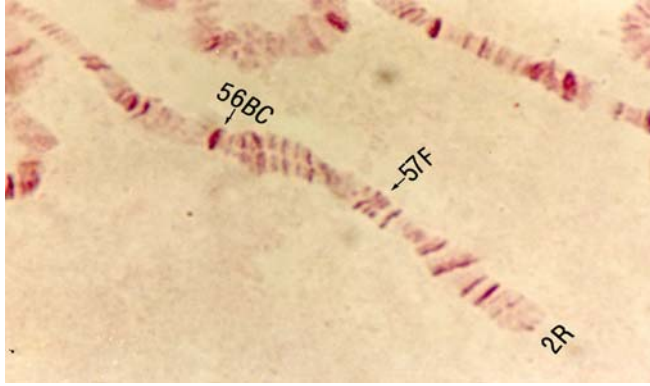


Belirsiz kol \*\* \* \*\*\*\* \*\* - \*\*\* \*\* \*\*\*\* \*

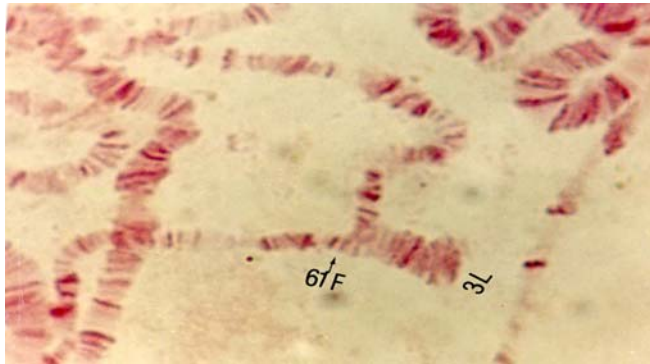
Kromosomlar bölgesinde parçalanma

\*\*\*\*\*

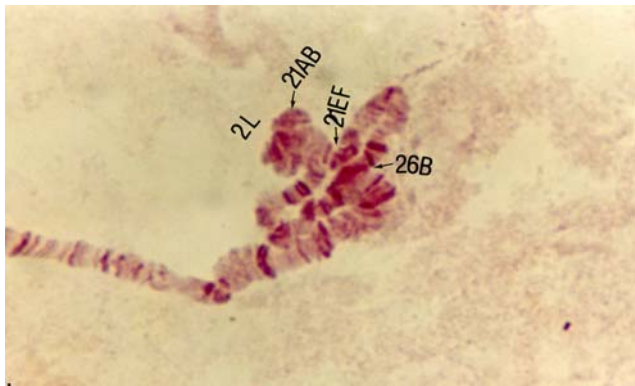
\*: Teşhisi yapılamayan bant bölgesindeki anomali için \* işareti kullanılmıştır, işaretin sayısı gözlenen anomalinin tekrar sayısıdır.



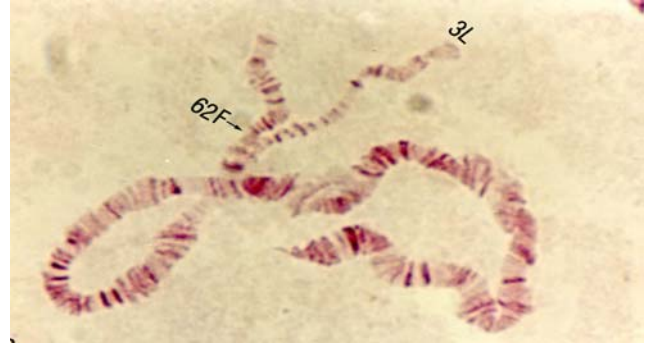
Şekil 1. 2R kromozom kolunun 56BC ve 57F bant bölgeleri arasında asinapsis



Şekil 2. 3L kromozom kolunun 61F bant bölgesinde başlayıp sonu teşhis edilemeyen asinapsis



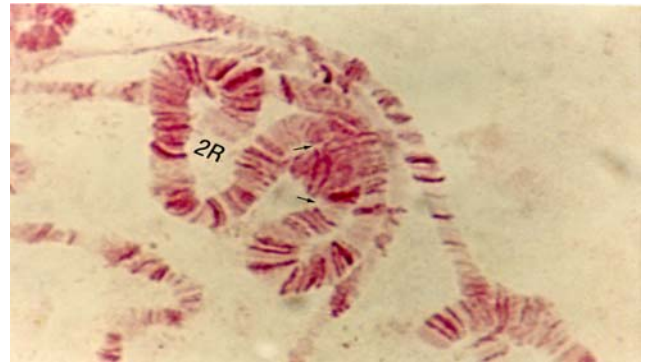
Şekil 3. 2L kromozom kolunun 21AB bant bölgesinde hairpin ve 21EF ve 26B bant bölgesi arasında asinapsis



Şekil 4. 3L kromozom kolunda 62F bant bölgesinde başlayıp uca kadar devam eden asinapsis



Şekil 5. 2R kromozom kolunda 96CDEF bant bölgelerinde shift



Şekil 6. 2R kromozom kolunun 54BC ve 55CD bant bölgeleri arasında hairpin

#### 4. Tartışma

Sodyum arsenit ve krom (III) klorür hem tek başına hem de birlikte uygulandıklarında, *D. melanogaster*' in politen kromozomlarında çok sayıda ve çeşitte kromozomal anomaliye neden olmuştur. Tek başına ve kombine uygulamalar arasında, anomali oranında fark gözlenmemiştir (Tablo 1). Gözlenen bu anomaliler, aynı kromozomun farklı

bant bölgeleri veya farklı kromozom kolları arasındaki uzantılar (ektopik uzantı); herhangi bir bant bölgesinde bulunan bazların bir kaç defa tekrarlanması ile oluşan hairpin yapılar; homolog kromozom kolları üzerinde bölgesel daralmalar, parça kaybı, tam kırılma veya yarı kırılmalar. Bizim bulgularımızı destekleyen çeşitli araştırmalar bulunmaktadır [13, 18, 20, 21].

Benzer sonuçlar kurşun nitratın politen kromozomlara uygulanmasıyla elde edilmiştir [20]. Kurşun nitrat politen kromozomlarda, uçtan parça kaybı, inversiyon, ektopik uzantı, hairpin, kırılma, yarı kırılma, bantlar arası daralma ve shift olarak değerlendirilen çok sayıda anomaliye neden olmuştur. Aynı araştırmacılar bir başka araştırmada kadmiyum klorür ve civa klorürün politen kromozomlarda benzer anomalilere neden olduğunu bulmuşlardır [21]. Politen kromozomlarda meydana gelen bu anomalilerin, klastojenik etki gösterdikleri ve malformasyonlu bireylerin oluşuma neden oldukları ifade edilmiştir. Nitekim sodyum arsenite ve krom üç klorürün morfolojik yapıya etkisinin araştırıldığı diğer araştırmamızda [18], kanat, bacak ve torakta morfolojik anormallikler tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada [18], benzer biçimde kombine uygulama yapıldığında, morfolojik anormallik oranı tek başına uygulamaya göre daha düşük oranda ortaya çıkmıştır. Yine benzer bir araştırmada, gıda katkı maddesi olan krom pikolinatın politen kromozomlara etkisi araştırılmış ve kontrol grubunda anomali gözlenmemişken, deney grubundaki 47 kromozom kolunun %53'ünde inversiyon, translokasyon ve defisiyans gibi kromozomal anomaliler gözlenmiştir [13]. Bu sonuçlar da bizim sonuçlarımızı desteklemektedir.

Araştırmamızda gözlenen kromozomal anomalilerin, politen kromozomların puflaşma modelini de etkileyeceği açıktır. Bu açıdan değerlendirme yapılırsa geniş bölgeleri kapsayan kromozomal anomalilerin, belli bant ve puf bölgelerini de etkileyeceği düşünülmelidir. Bu açıdan bakıldığında, bant bölgelerine özgü sonuçlar da değerlendirilebilir. Örneğin 62E pufunda ekdizon hormonunu düzenleyen bir genin varlığı teşhis edilmiştir [23]. Bizim araştırmamızda bu bant bölgesine bitişik 62F bant bölgesinde asinapsis gözlenmiştir (Şekil 4). Yine çok yakın bir bant bölgesi olan 63EF bant bölgesinde de asinapsis gözlenmiştir. Uygulanan metallerin etkisiyle meydana gelen anomalilerin politen kromozomlarda pufuları ve aktivitesini değiştirebileceği düşünülebilir.

Yine, *Drosophila melanogaster*'de Sgs 1 proteini (salgı proteini) geni, ikinci kromozomda bulunmaktadır ve üçüncü instar larvanın politen kromozomlarında, 25B bölgesinde lokalize olmuştur. Bu proteinin ekdizon konsantrasyonunun düzenlenmesinde rolü olduğu düşünülmektedir [24]. Araştırmamızda 25BC bant bölgesinde hairpin saptanmıştır (Tablo 3). Ayrıca Spt4, Spt5 ve Spt6 (Spt: Suppressor of Ty) olarak isimlendirilen üç tip proteinin, *Drosophila*'da politen kromozomlarındaki lokasyonu tespit edilmiştir [25]. Bu proteinlerin aktif transkripsiyonla ilişkili oldukları ve uzatma faktörleri özelliklerine sahip oldukları, ayrıca maya, memeli ve *Drosophila*'da ortak özellikler gösterdikleri de ifade edilmiştir [25]. Bu proteinlerin politen kromozomlarda 5E, 49B, 56D, 75B, 63BC, 64F, 68C, 71E, 87A, 87C, 90B, 93D, 95A, 23DEF ve 25AB bant bölgelerinde kodlandığı tespit edilmiştir. Ayrıca Spt5' in RNA Polimeraz II ile ve Spt6'nın

da histonlarla etkileşim içerisinde olduğu belirtilmiştir [25]. Bizim çalışmamızda, sözü edilen proteinlerin kodlandığı bu bölgelerin bazılarında anomaliler gözlenmiştir. Bu anomalilere ya sözü edilen bant bölgelerinde ya da bitişik bant bölgelerinde rastlanmıştır. Bunlar; 23DE, 56BC, 71AB, 71B, 75C (Tablo 2), 5B, 75EF, 63C, 63EF, 68DE ve 87B (Tablo 4) bant bölgeleridir. Bu sonuçlar, uygulanan metallerin etkisiyle bu ya da benzer bölgelerde gen işleyişinin değişebileceğini düşündürmektedir. Steroid hormon olan ekdizonun kademeli artışı, *Drosophila*'da metamorfozun başlamasını düzenler. Bunun sonucunda da sürünen bir larvadan, oldukça hareketli ve üreyebilen ergin sinekler ortaya çıkar. Larval tükrük bezlerinde politen kromozomların puflaşma modellerinin gözlenmesi, ekdizonun düzenlediği mekanizmayı ortaya çıkarmıştır [26]. Politen kromozomlarda ekdizon pufuları olarak bilinen pufalar 2B, 8EF, 10EF, 12DE, 13E, 21C, 22C, 23E, 27C, 28A, 29F, 42A, 43E, 44A, 46A, 46F, 47A, 47BC, 48B, 49E, 50CD, 50F, 62E, 63F, 67B, 70C, 70E, 72D, 73B, 74EF, 75B, 75D, 76A, 76D, 78C, 86E, 87F, 89B, 98F, 99B ve 100E bant bölgelerinde yer alır [26]. Çalışmalarımız sonucu, yukarıda adı geçen bölgelerden 23DE, 99BC (Tablo 2), 21AB, 22BC, 28AB, 43F, 50F, 62F (Tablo 3), 70DE ve 73BC (Tablo 4) bant bölgelerinde anomali gözlenmiştir. Bunlar ekdizon lokuslarında ya da bitişik bantlarda gözlenen anomaliler olup, gelişim programını etkileyeceğini düşündürmektedir.

Politen kromozomlarda ifadesi aydınlatılmış olan genler ve bu genlerin işleyişi ile ilgili bilgiler ışığında diyebiliriz ki, uygulanan metallerin etkisi nedeniyle meydana gelen anomaliler genlerin işleyişini değiştirebilir. Bu değişiklikler sonucu gelişim programında aksaklıklar olabilir. Söz konusu metallerin neden olduğu bu tip etkiler, insan da dahil olmak üzere bir çok ökaryot canlıda görülebilir.

**Teşekkür:** Bu araştırma Gazi üniversitesi Araştırma Fon saymanlığı tarafından desteklenmiştir (14 / 97 - 2). Ayrıca istatistik hesapları yapan Prof. Dr. Ensar Başpınar'a teşekkür ederiz.

#### Kaynaklar

1. Zhimulev I.F., Belyaeva E.S., Semeshin V.F., Koryakov D.E., Demakov S.A., Demakova O.V., Pokholkova G.V., Andreyeva E.N., Polytene chromosomes: 70 years of genetic research. International Review of Cytology, 241 (2004) 203.
2. Semeshin V.F., Demakov S.A., Shloma V.V., Vatolina T.Y., Gorchakov A.A., Zhimulev I.F., Interbands behave as decompacted autonomous units in *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes. Genetica, 132 (2008) 267.
3. Katz A.J., Chiu A., Beaubier J., Shi X., Combining *Drosophila melanogaster* somatic-mutation-recombination and electron-spin-resonance-spectroscopy data to interpret epidemiologic observations on chromium carcinogenicity. Mol. Cell Biochem., 222 (2001) 61.
4. Ortiz J.G.M., Opoka R., Kane D., Cartwright IL., Investigating arsenic susceptibility from a genetic perspective in *Drosophila* reveals a key role for glutathione synthetase. Toxicological Sciences, 107(2) (2009) 416.

5. Rizki M., Kossatz E., Velazquez A., Creus A., Farina M., Fortaner S., Sabbioni E., Marcos R., Metabolism of arsenic in *Drosophila melanogaster* and the genotoxicity of dimethylarsinic acid in the *Drosophila* wing spot test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 47 (2006) 162.
6. Rizki M., Kossatz E., Xamena N., Creus A., Marcos R., Influence of sodium arsenite on the genotoxicity of potassium dichromate and ethyl methanesulfonate: studies with the wing spot test in *Drosophila*. *Environ. Mol. Mutagen.*, 39 (2002) 49.
7. Ramos-Morales P., Rodriguez-Arnaiz R., Genotoxicity of two arsenic compounds in germ cells and somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mol. Mutagen.*, 25 (1995) 288.
8. Léonard A., Lauwerys R.R., Carcinogenicity, teratogenicity and mutagenicity of arsenic *Mutat. Res.*, 75(1) (1980) 49.
9. Tripathy N.K., Würzler F.E., Frei, H., Genetic toxicity of six carcinogenes and six noncarcinogenes in the *Drosophila* wing spot test. *Mutat. Res.*, 242, (1990) 169.
10. De Flora S., Bennecelli C., Bagnasco M., Genotoxicity of mercury compounds, A review. *Mutat. Res.*, 238 (1994) 99.
11. Stella M., Montaldi A., Rossi A., Clastogenic effects of chromium on human lymphocytes in vitro and in vivo. *Mutat. Res.*, 101 (1982) 151.
12. Rodriguez – Arnaiz R., Martinez R.M., Genetic effects of potassium dichromate and chromium trioxide in *Drosophila melanogaster*. *Cytologia*, 51 (1986) 421.
13. Stallings D.M., Hepburn D.D., Hannah M., Vincent J.B., O'Donnell J., Nutritional supplement chromium picolinate generates chromosomal aberrations and impedes progeny development in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 610(1-2) (2006) 101.
14. Hepburn D.D., Xiao J., Bindom S., Vincent J.B., O'Donnell J., Nutritional supplement chromium picolinate causes sterility and lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 100(7) (2008) 3766.
15. Rasmuson A., Mutagenic effects of some water-soluble metal compounds in a somatic eye-color test system in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 157 (2-3) (1985) 157.
16. Ahmed Z.U., Walker G.W., The effects of urethane, sodium monohydrogen arsenate and selenocystine on crossing-over in *Drosophila melanogaster*. *Can. J. Genet. Cytol.*, 17(1) (1975) 55.
17. Mukhopadhyay I., Saxena D.K., Chowdhuri D.K., Hazardous effects of effluent from the chrome plating industry: 70 kda heat shock protein expression as a marker of cellular damage in transgenic *Drosophila melanogaster* (*hsp70-lacZ*). *Environmental Health Perspectives*, 111(16) (2003) 1926.
18. Karataş A., Bahçeci Z., Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün *Drosophila melanogaster* ' in ergin bireylerinin morfolojisi üzerine etkileri. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 31(2) (2010) 1.
19. Karataş A., Bahçeci Z., Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün *Drosophila melanogaster* ' in eşey oranı ve bazı gelişimsel özellikleri üzerine etkileri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 26(2) (2010) 102.
20. Uysal H., Bahçeci Z., Kurşun nitratın *Drosophila melanogaster* ' in üçüncü instar larvalarının tükrük bezi politen kromozomları üzerine etkileri. *Tr. J. of Biology*, 20 (1996) 199.
21. Uysal H., Bahçeci Z., Kadmiyum klorür ve civa klorürün *Drosophila melanogaster* ' in üçüncü evre larvalarının politen kromozomları üzerine etkileri. *Tr. J. of Biology*, 21 (1997) 257.
22. Lindsley D.L, Zimm G.G., *The Genome of Drosophila melanogaster*. Academic Press, California, (1992) 1133.
23. Keegan J., Schmerer M., Ring B., Garza D., The 62E early-late puff of *Drosophila* contains D-spinophilin, an ecdysone-inducible PDZ-domain protein dynamically expressed during metamorphosis. *Genet. Res.*, 77 (2001) 27.
24. Velissariou V., Ashburner M., The secretory proteins of the larval salivary gland of *Drosophila melanogaster*. *Chromosoma (Berl.)*, 77 (1980) 13.
25. Kaplan D.C., Morris R.J., Wu C.T., Winston F., Spt5 and Spt6 are associated with active transcription and have characteristics of general elongation factors in *D. melanogaster*. *Genes and Development*, 14 (2000) 2623.
26. Lam G.T., Jiang C., Thummel C.S., Coordination of larval and prepupal gene expression by the DHR3 orphan receptor during *Drosophila* metamorfosis. *Development*, 124 (1997) 1757.