



Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün *Drosophila melanogaster* ' in eşey oranı ve bazı gelişimsel özellikleri üzerine etkileri

Ayla KARATAŞ^{1*}, Zafer BAHÇECİ²

^{1*}Kocaeli Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Kocaeli
²Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Kırşehir

ÖZET

Bu çalışmada, sodyum arsenit ve krom (III) klorürün, *Drosophila melanogaster* ' in ergin bireylerinde, eşey oranı, larva gelişimi ve başkalaşım süresi üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırmada, LC₅₀ değerinin altında olan beş konsantrasyon (0.05, 0.5, 1.0, 2.5 ve 5.0 ml) denenmiştir. Metal çözeltisi *Drosophila melanogaster* ' e beslenme yoluyla uygulanmıştır. Metal çözeltisi içeren besi yerinde gelişen ergin bireyler, dişi ve erkek eşey ayrımı yapılarak incelenmiştir. Toplam 45163 birey cinsiyet ayrımı yapılarak sayılmıştır. Her iki maddenin hem ayrı hem de birlikte uygulanmasıyla bazı konsantrasyonlarda eşey oranında beklenen 1:1 oranından sapma gözlenmiştir. Eşey oranı, dişi bireylerin oranında artışı ile değişmiş ve erkek bireylerin gelişim sürecinde toksik etkiye karşı daha hassas olduğu bulunmuştur. Larva gelişimi konsantrasyonla doğru orantılı olarak aksamıştır. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda gelişim oranı % 35-40 oranına kadar düşmüştür. Fakat başkalaşım süresinde iki nesilde de aksama gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler

Drosophila
Gelişimsel özellikler
Toksik metaller
Eşey oranı

Effects of sodium arsenite and chromium (III) chloride on sex ratio and some development properties of *Drosophila melanogaster*

ABSTRACT

In this research the effects of sodium arsenite and chromium (III) chloride on sex ratio, larval development and metamorphosis duration of *Drosophila melanogaster* adults have been investigated. In the research five concentrations below LC₅₀ value (0.05, 0.5, 1.0, 2.5, and 5.0 ml) have been tested. Metallic solution has been applied by feeding to *Drosophila melanogaster*. Adults which developed in medium containing metallic solution have been studied through separating them as females and males. Totally 45163 individuals were counted by gender separation. With application of the two substances both separately and together, deviation from expected 1:1 sex ratio has been observed at some concentrations. Sex ratio has changed as an increase in ratio of female individuals and it has been found that male individuals were more sensitive to toxic effect during development. Larval development failed directly proportional to the concentration. Particularly in high concentrations, development ratio has decreased to 35-40 %. However, in metamorphic duration, no failure has been observed in both generations.

Keywords

Drosophila
Developmental
properties Toxic metals
Sex ratio

* Sorumlu yazar (corresponding author) e-posta: karatasayla@gmail.com

1. GİRİŞ

Toksik metaller artan sanayi faaliyetleri ve modern yaşamın sentetik ürünleri nedeniyle çevre kirliliğinde önemli bir yer oluşturmaktadır. Bu çalışmada sodyum arsenit ve krom (III) klorürün *Drosophila melanogaster*' in bazı gelişimsel özellikleri ve eşey oranı üzerine etkisi araştırılmıştır.

Arsenik suda doğal olarak bulunmasının yanı sıra, su ortamlarına sanayi artıklarından ve pestisitlerden karışmakta [1, 2], sucul ortamda tür çeşitliliğini azaltmakta ve mutasyona neden olmaktadır [2-5]. Arsenik bileşiklerinin somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile genotoksik olmadığı [4, 6], fakat metilenmiş arsenik bileşiklerinin genotoksik olduğu gösterilmiştir [7]. Normalden fazla arsenik içeren doğal sularla sulanmış tarım ürünlerinin tüketimiyle, besin zincirinde birikerek insana kadar ulaşmaktadır [8].

Krom elementinin memelilerde karbonhidrat ve lipid metabolizmasında önemli bir rolü vardır [9]. Fakat artan miktarı toksik etkiye neden olur. Krom bileşiklerinin fizikokimyasal özellikleri, endüstride kullanımı için uygundur ve bu nedenle çok yaygın olarak kullanılır. Fakat kromun işlenmesi ve üretimi alanında çalışan işçilerde akciğer, üst solunum yolları ve mesane kanseri oranı yüksektir [10]. Cr (VI) bileşiklerinin, bakteri, böcek ve kültür ortamında yaşatılan hayvan hücrelerinde; hücre döngüsünde değişikliğe, DNA sentezinin ve onarımının durmasına, programsız DNA sentezine, DNA hasarlarına, kromozomal aberasyonlara, gelişimsel ve morfolojik değişikliklere neden olduğu De Flora [11] ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Hekzavalent krom tuzları bileşiklerinin karsinogenik olduğu ve bakterilerden insanlara kadar [12] birçok organizmada mutagenik oldukları rapor edilmiştir [13]. Krom içeren gıda katkısı kromium pikolinat, *Drosophila melanogaster*' e uygulanmış, genç evrelerde daha fazla toksik etki gözlenmiştir. Ayrıca ergin birey sayısında azalma ve pupadan çıkmayı başaramayan birey sayısında artış gözlenirken, yumurta bırakma oranında fark gözlenmemiştir. Krom pikolinatın ömür uzunluğunda düşmeye, kromozomlarda anormallığe neden olduğu [14] ve gelişimi olumsuz etkilediği bulunmuştur [9]. Krom (VI) tuzlarının *Drosophila*' da genotoksik olmasına rağmen krom (III) tuzlarının aynı etkiyi göstermediği ifade edilmiştir.

Endüstriyel faaliyetler sonucu çevreye yayılan metaller kendi aralarında çeşitli toksik ilişkiler ortaya

çıkabilirler. Etkileri sinerjistik (tek başlarına etkilerinden daha yüksek toksik etki) ya da antagonistik (tek başına etkiden daha düşük toksik etki) olabilir [15]. Fakat bu konuda araştırma sayısı azdır. Bu nedenle bu çalışmada iki toksik maddenin kombine etkisi de incelenmiştir.

Arsenik ve kromun *Drosophila*' da somatik ve eşey hücreleri [6, 7, 16], krosing over üzerine etkisi araştırılmıştır [17], ayrıca krom kaplama sanayi atık suyunun *Drosophila*' da sıcak şoku proteinleri, üreme performansı ve yumurta bırakma oranı üzerine etkileri [15] incelenmiştir, fakat bu iki maddenin *Drosophila*' nın gelişimi, eşey oranı ve başkalaşım süresi üzerine etkisine dair bir araştırma yapılmamıştır. Bu çalışmada, sodyum arsenit ve krom (III) klorürün hem ayrı ayrı hem de birlikte *Drosophila melanogaster*' e uygulanarak; başkalaşım süresi, larva gelişimi ve eşey oranında herhangi bir değişimin olup olmadığı incelenmiştir.

2. MATERYAL METOT

Çalışmalarda arseniğin "sodyum arsenit" (NaAsO_2), kromun ise "krom (III) klorür" (CrCl_3) formu kullanılmıştır. Çalışmalarda, ileri derecede kendileşmiş *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae)'in yabancıl tip Oregon soyu kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan tüm ağır metal çözeltileri için letal (ölümcül) konsantrasyon (Lethal Concentration; LC_{50}) tespiti yapılmıştır. Buna göre 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. Deneylerde her üçü için ortak olan ve LC_{50} 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_1 nesline ait ergin bireyler, ilk ergin bireyin gözlendiği günden itibaren, sekiz gün boyunca stereo mikroskobu altında, dişi ve erkek birey ayrımı yapılarak, morfolojileri incelenmiştir. Gözlenen anormallikler not edilmiştir [14, 15, 18, 19].

Başkalaşım süresini gözlemek için, deney ve kontrol grubuna ait kültür şişelerinde yumurta, larva, pupa ve erginlerin ilk gözlendikleri gün kaydedilmiştir. F_2

neslinde başkalaşım süresinin karşılaştırılması için, F₁ neslinde elde edilen bireyler, normal besi yerine başlangıç konsantrasyonlarına bağlı kalınarak aktarılmış ve başkalaşım süreleri, aynı şekilde günlük olarak kaydedilmiştir. İstatistik hesaplar için Khi kare testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR

Araştırmada toplam 45163 birey, morfolojileri gözlenerek ve eşey ayırımı yapılarak incelenmiştir. Yapılan çaprazlamalarda sodyum arsenitin etkisini görmek için 12931 birey elde edilmiştir. Krom (III) klorür için ise 17572 birey incelenmiş ve eşey ayırımına göre sayılmıştır. Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün kombine uygulandığı deney grubunda ise 14660 birey incelenmiştir. İncelemeler esnasında ayrıca ergin bireylerin kanat, bacak, toraks ve abdomenlerinde çok sayıda anormallik saptanmıştır, fakat veriler sunulmamıştır.

Larva gelişiminin araştırıldığı bölümde ise toplam 300 larvanın gelişimi, erginleşmesi ve erginleştikten sonra morfolojileri incelenmiştir.

3.1 Eşey oranı üzerine etkiler

Sodyum arsenit iki deney grubunda eşey oranını dişi bireyler lehine değiştirmiştir (Tablo 3.1). 1 ml ve 5 ml sodyum arsenit çözeltisi içeren besi yerlerinde, dişi birey sayısının erkek birey sayısından daha fazla olduğu gözlenmiş ve aradaki farkın kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$).

Krom (III) klorür de 0.50 ml ve 2.5 ml çözelti içeren besi yerinde beklenen 1:1 eşey oranını dişiler lehine değiştirmiştir (Tablo 3.2). Dişi (sırasıyla 1451 ve 2001) ve erkek (sırasıyla 1288 ve 1630) birey sayısı arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Erkek bireylerin toksik etki nedeniyle gelişimi tamamlamadıkları düşünülebilir. Dişi bireyler ise erkeklerden farklı olarak toksik etkiyi atlatmış ve gelişimlerini tamamlamış görünmektedir. Bu nedenle dişi bireylerin oranı daha yüksek çıkmış olabilir.

Tablo 3.1. Sodyum arsenitin eşey oranı üzerine etkisi

Gruplar	Dişi	(%)	Erkek	(%)	Toplam
0.05 ml	1041	51.71	972	48.28	2013
0.50 ml	1471	49.98	1472	50.01	2943
1.00 ml	1266	52.18*	1160	47.81*	2426
2.50 ml	942	48.23	1011	51.76	1953
5.00 ml	912	53.86*	781	46.13*	1693
Kontrol	946	49.71	957	50.28	1903

* $p < 0.05$ seviyede önemli

Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün birlikte deneğinde elde edilen bulgular Tablo 3.3'de özetlenmiştir. 1 ml ve 2.5 ml sodyum arsenit ve krom (III) klorür çözeltisi içeren gruplardan beklenen 1:1 eşey oranı gözlenmiştir. Kontrol grubu ile aralarında eşey oranı açısından istatistik olarak fark yoktur ($p > 0.05$). Fakat 0.50 ml ve 5 ml çözelti içeren gruplarda erkek birey sayılarında (1487 ve 579) dişilere göre (1663 ve 728) azalma görülmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aradaki fark önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Fakat diğer deney gruplarından farklı olarak, 0.05 ml çözelti içeren

grupta ise dişi birey (1108) oranında (%39.01), erkek birey (1732) oranına göre (% 60.98) azalma gözlenmiş olup, kontrol grubu ile arasındaki fark istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). En düşük konsantrasyonda iki metalin kombine etkisinden dolayı, diğer deney gruplarından farklı olarak, dişilerde gelişimin aksadığı bulunmuştur. Eşey oranının değiştiği deney gruplarında dişi eşey oranının artması görülürken, sadece bu deney grubunda erkek eşey oranı artmıştır.

Tablo 3.2. Krom (III) klorür çözeltisinin eşey oranı üzerine etkisi

Gruplar	Dişi	(%)	Erkek	(%)	Toplam
0.05 ml	1692	50.96	1628	49.03	3320
0.50 ml	1451	52.97*	1288	47.02*	2739
1.00 ml	1589	51.54	1494	48.45	3083
2.50 ml	2001	55.10*	1630	44.89*	3631
5.00 ml	1169	51.31	1109	48.68	2278
Kontrol	1278	50.69	1243	49.30	2521

* $p < 0.05$ seviyede önemli

Tablo 3.3. Sodyum arsenit ve krom (III) klorür çözeltilerinin birlikte eşey oranı üzerine etkisi

Gruplar	Dişi	(%)	Erkek	(%)	Toplam
0.05 ml	1108	39.01*	1732	60.98*	2840
0.50 ml	1663	52.79*	1487	47.20*	3150
1.00 ml	1599	51.79	1488	48.20	3097
2.50 ml	1036	48.93	1081	51.06	2117
5.00 ml	728	55.70*	579	44.29*	1307
Kontrol	1112	51.74	1037	48.25	2149

* $p < 0.05$ seviyesinde önemli

Bu iki metalin kombine uygulandığında farklı konsantrasyonlarda farklı etki gösterdiği söylenebilir.

3.2 Larva gelişimi üzerine olan etkiler

Metal içeren besi yerinde larva gelişimi gözlenmiştir. Erginleşen bireylerin sayılarak besi yerinden uzaklaştırılma işlemi bittikten sonra besi yerinde gelişimini aksayan bireyler de incelenmiştir. Besi yerlerinde larva ve pupa devresinde görülen bazı anormallikler tespit edilmiştir. Bu anormallikler; bazı larvaların siyahlaşmış ve boyca uzamış olmaları, bazı bireylerin pupadan çıktıktan sonra kanatları tamamen açılıp erginleşmeden ölmüş olmaları, bazı bireylerin ya pupadan tamamen çıkmayı başaramamış olmaları ya da pupada kalmış olmaları şeklinde sınıflandırılabilir.

Beş ml'lik sodyum arsenit çözeltisi içeren besi yerinde 100 larvadan 31 tanesi ergin birey haline gelebilmiştir (Tablo 3.4). 11 larvanın boyca uzayıp siyahlaştığı gözlenmiştir. Pupa evresinde kalmış birey gözlenmemiştir. Besi yerinde 29 bireyin pupadan tam bir ergin olarak çıkmayı başaramadığı ve öldüğü tespit edilmiştir. Gözlemi yapılamayan 29 bireyin ise muhtemelen 2. ya da 3. instar (larva) devresinde kaldığı ve besi yerine karışmış olduğu tahmin edilmiştir. Deney grupları ve kontrol grubu erginleşemeyen bireylerin oranı açısından

karşılaştırıldığında tüm gruplarda fark önemli bulunmuştur ($p > 0.05$). Bütün bunlardan görülmektedir ki konsantrasyon artışına bağlı olarak ergin birey çıkışı azalmaktadır. Ayrıca larvaların birçoğu konsantrasyon artışına bağlı olarak larva safhasından sonraki safhalara ulaşamamış, yani başkalaşımını tamamlayamamıştır.

Tablo 3.4. Sodyum arsenitin larva gelişimi üzerine toksik etkileri

Gruplar	Erginleşen birey sayısı	Erginleşemeyen birey (%)	Toplam m
0.05 ml	42	58*	100
0.50 ml	51	49*	100
1.00 ml	54	46*	100
2.50 ml	42	58*	100
5.00 ml	31	69*	100
Kontrol	73	27	100

* $p < 0.05$ seviyesinde önemli

Tablo 3.5. Krom (III) klorürün larva gelişimi üzerine toksik etkileri

Gruplar	Erginleşen birey sayısı	Erginleşemeyen birey (%)	Toplam
0.05 ml	47	58*	100
0.50 ml	42	58*	100
1.00 ml	51	49*	100
2.50 ml	52	48*	100
5.00 ml	38	62*	100
Kontrol	75	25	100

* $p < 0.05$ seviyesinde önemli

Krom (III) klorüre ait veriler ise Tablo 3.5' de verilmiştir. Kontrol grubunda, 100 ikinci instar larvadan, 75 tanesi erginleşebilmiştir. 14 bireyin pupadan tam bir ergin olarak çıkamamış ve ölmüş olduğu, 2 larvanın siyahlaşıp uzadığı, 1 bireyin pupadan çıkmayı başaramadığı tespit edilmiştir. 5 ml krom (III) klorür çözeltisi içeren besi yerinde ise 38 birey erginleşebilmiştir. 7 larvanın siyahlaşmış ve uzamış, 26 larvanın pupadan çıkınca ölmüş olduğu gözlenmiştir. Erginleşemeyen birey sayısı kontrol grubu ve 5 ml krom (III) klorür çözeltisi içeren deney grubu ile istatistik olarak karşılaştırıldığında, aradaki fark önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 2.5 ml krom (III) klorür çözeltisi içeren deney setinde ise 52 birey erginleşebilmiş, 9 larvanın siyahlaşıp uzadığı, 2 bireyin pupadan çıkmayı başaramadığı, 23 bireyin de pupadan çıktıktan sonra öldüğü gözlenmiştir. 2.5 ml krom (III) klorür çözeltisi içeren besi yeri ve kontrol grubu erginleşemeyen bireyler açısından karşılaştırıldığında aradaki fark önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 1 ml krom (III) klorür çözeltisi içeren besi yerinde ise 51 birey erginleşmiş, 21 birey pupadan tam bir ergin olarak çıkmayı başaramamıştır. Kontrol grubu ve bu grup erginleşemeyen bireyler açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 0.50 ml krom (III) klorür çözeltisi içeren besi yerinde 100 larvanın 42 tanesi erginleşmiştir. 1 larvanın siyahlaşıp uzadığı, 4 bireyin pupada kaldığı, 18 bireyin de pupadan tam bir ergin olarak çıkamayıp öldüğü gözlenmiştir.

Bu deney grubu erginleşemeyen birey sayısı açısından karşılaştırıldığında, aradaki fark önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 0.05 ml krom (III) klorür çözeltisi içeren besi yerinde ise 47 birey erginleşmiştir. 3 larvanın siyahlaşıp uzamış, 2 bireyin pupada kalmış, 17 bireyin de pupadan tam bir ergin olarak çıkamayıp ölmüş olduğu gözlenmiştir. Bu deney grubu erginleşemeyen birey oranı açısından

kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Bütün bunlardan görülmektedir ki krom (III) klorürün etkisiyle, konsantrasyon artışına bağlı olarak ergin birey çıkışı azalmakta, gelişim aksamaktadır.

Sodyum arsenit ve krom III klorür birlikte uygulandığında da anormallikler gözlenmiştir. Bunlar pupadan kısmen çıkmayı başarmış ya da tamamen pupada kalmış olmaları, bazı bireylerin pupadan tam bir ergin olarak çıkmayı başaramamış ve ölmüş olduklarıdır. 5 ml sodyum arsenit ve krom (III) klorür çözeltisini birlikte içeren besi yerinde gelişimini tamamlayan birey sayısı 36'dır (Tablo 3.6). 14 larvanın boyca uzayıp siyahlaştığı, 26 bireyin de pupadan tam bir ergin olarak çıkmayı başaramayıp öldüğü tespit edilmiştir. 2.5 ml çözelti içeren deney grubunda 47 birey başkalaşımını tamamlamayı başarıp ergin birey olmuştur. 9 larva siyahlaşmış ve boyca uzamış, 2 birey pupadan çıkmayı, 25 birey pupadan tam olarak çıkmayı başaramamıştır ve başkalaşımını tamamlayamamıştır. 1 ml' lik çözelti içeren deney grubunda 49 birey erginleşmiştir. Bunun yanında 3 birey siyahlaşmış ve boyca uzamış, 19 birey pupadan tam olarak çıkmayı başaramamış ve ölmüş, pupada kalmış bireye rastlanmamıştır. 0.5 ml sodyum arsenit ve krom (III) klorür çözeltisini birlikte içeren deney grubunda 50 birey erginleşmiştir. 1 larva siyahlaşmış ve uzamış, 3 birey pupada kalmış ve 17 birey de pupadan tam bir ergin olarak çıkamamış ve ölmüştür. 0.05 ml çözelti içeren deney grubunda ise 58 birey ergin hale gelmiştir. Erginleşen bütün bireyler besi yerinden uzaklaştırıldıktan sonra besi yeri incelendiğinde, 2 larvanın siyahlaşıp boyca uzadığı, 1 bireyin pupadan çıkmayı başaramayıp öldüğü ve 17 bireyin de pupadan tam bir ergin olarak çıkmayı başaramadığı gözlenmiştir. Tüm deney grupları ve kontrol grubu erginleşemeyen birey oranı açısından karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Kontrol grubunda erginleşen birey sayısı 77'dir. Aynı besi yerinde 2 larvanın siyahlaşıp boyca uzadığı, 2 bireyin pupada kaldığı, 10 bireyin pupadan tam bir ergin olarak çıkmayı başaramadığı ve öldüğü tespit edilmiştir.

Bütün bunlardan görülmektedir ki konsantrasyon artışına bağlı olarak ergin birey çıkışı azalmaktadır. Ayrıca larvaların bir çoğu konsantrasyon artışına bağlı olarak larva safhasından sonraki safhalara ulaşamamakta, yani başkalaşımını tamamlayamadan ölmektedir.

Tablo 3.6. Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün birlikte larva gelişimi üzerine etkileri

Gruplar	Erginleşen birey sayısı	Erginleşemeyen birey (%)	Toplam
0.05 ml	58	42*	100
0.50 ml	50	50*	100
1.00 ml	49	51*	100
2.50 ml	47	53*	100
5.00 ml	36	64*	100
Kontrol	77	23	100

* $p < 0.05$ seviyesinde önemli

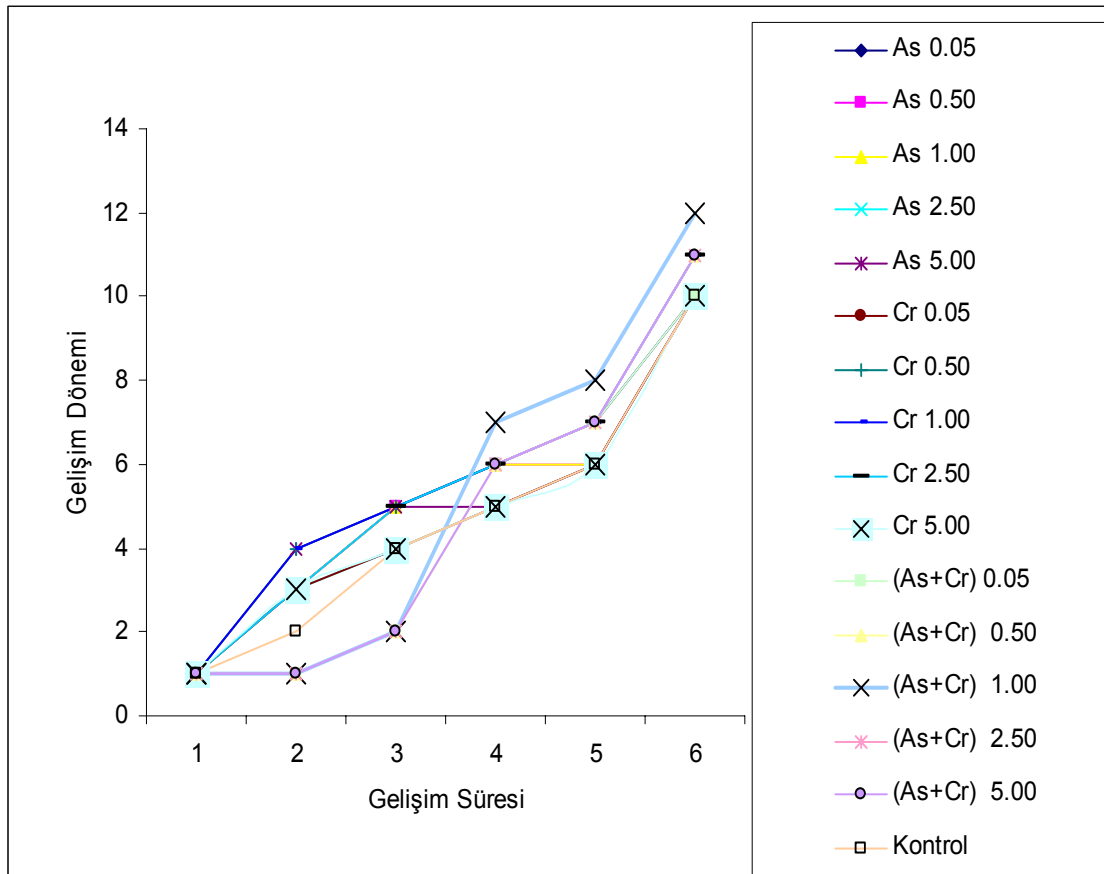
3.3. Başkalaşım Süresi Üzerine Etkiler

Başkalaşım süresi hem F_1 hem de F_2 neslinde incelenmiştir. Çünkü F_1 neslinde sadece bir günlük fark gözlenmiştir (Tablo 3. 7- 12, Şekil 1). Fakat F_1 neslinde gözlenmeyen etkinin bir sonraki nesilde

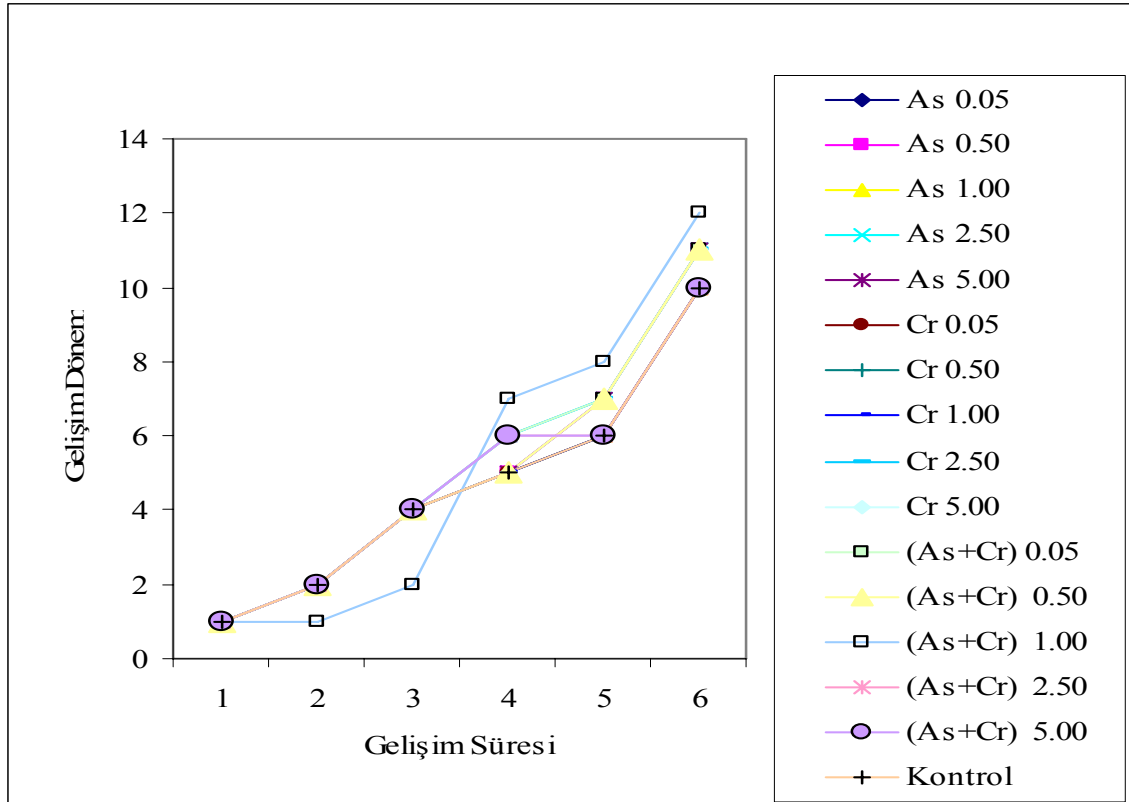
açığa çıkabileceği ihtimaliyle F_2 neslinde de başkalaşım süresi gözlenmiştir (Şekil 2).

Üç deney grubunun hem F_1 hem de F_2 neslinde sadece birer günlük değişiklikler (gecikme ya da erken ortaya çıkma) gözlenmiştir. Bu nedenle başkalaşım süresinin değişmediği söylenebilir.

Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün birlikte F_1 neslinde başkalaşım süresini etkilememiş olmasına rağmen, F_2 neslinde etkiler olabilir ihtimalinden hareketle F_1 neslinden elde edilen bireyler, normal besi yerlerine ayrı ayrı aktarılmış ve başkalaşım süresi günlük olarak kaydedilmiştir (Tablo 3.8). Tüm tablolar incelendiğinde deney gruplarında olduğu kadar kontrol gruplarında da günlük farklılıklar gözlenmiş olduğu için, bu kısa farklılıklar önemsiz kabul edilmiştir.



Şekil 1. Toksik metallerin F_1 neslinde başkalaşım süresi üzerine etkileri



Şekil 2. Toksik metallerin F₂ neslinde başkalaşım süresi üzerine etkileri

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, sodyum arsenit ve krom (III) klorürün *Drosophila melanogaster*' in, eşey oranı, larva gelişimi ve başkalaşım süresi üzerine etkileri incelenmiştir.

Arsenik ve krom, bazı konsantrasyonlarda *Drosophila melanogaster*' de eşey oranında beklenen 1:1 oranından sapmaya neden olmuştur. Sodyum arsenit 1 ve 5 ml' lik deney gruplarında; krom (III) klorür, 0.5 ve 2.5 ml' lik deney gruplarında; birlikte uygulandıklarında ise 0.05, 0.50 ve 5 ml' lik deney gruplarında, eşey oranında beklenen 1:1 oranından sapmaya neden olmuştur. Eşey oranı dişi cinsiyet lehine kaymıştır. Bu durumda erkek bireyler gelişimi tamamlayamamış, dolayısıyla dişi eşey oranı yükselmiştir. Bu bulgumuzu destekleyen bir araştırmada, gıda katkı maddesi olan krom pikolinatın, *Drosophila*' da erkek bireylerin gelişim oranında düşmeye neden olduğu bulunmuştur. Bunun nedeni olarak, dişilerin sahip olduğu çift X kromozomunun, resesif mutasyonların etkisinin ortaya çıkmasını engellemiş olabileceği ve erkeklerde ise tek X kromozomu nedeniyle resesif mutasyonların kolayca açığa çıktığı için böyle bir sonuç gözlemlendiği

ifade edilmiştir [9]. Bu bulgular bizim araştırmamızda elde ettiğimiz bulguları destekler niteliktedir. Benzer bir durum, absisik asit ve kinetin uygulanan *Drosophila melanogaster* gruplarında da gözlemlenmiştir. Kinetin ve metanol kontrol gruplarında dişi birey sayısı erkeklerden yüksek bulunmuştur [20] ve buna neden olarak; mayozdaki kromozom sapmaları, herhangi bir nedenle X veya Y kromozomunu taşıyan gametlerden birinin yaşayamaması, erkek veya dişi embriyonun farklı yaşama yeteneğine sahip olması, sıcaklık veya ebeveynin yaşına bağlı olarak ortaya çıkan farklılıklar olabileceği ileri sürülmüştür. *Drosophila*' da eşey oranı X/A oranı ile saptanmaktadır. Bizim ve diğer araştırmacıların bulgu ve değerlendirmeleri sonucu, eşey oranında görülen sapma, X kromozomunda bulunan gelişimsel genlerde meydana gelmiş olan resesif mutasyonlara, eşey kromozom kayıplarına ya da eşeye bağlı resesif mutasyonlara dayandırılabilir. Bu nedenle erkek bireylerin daha hassas olup gelişimini tamamlayamadıkları düşünülebilir. Nitekim hegzavalent krom bileşiklerinden potasyum dikromatın, *Drosophila melanogaster*' de eşey kromozom kayıplarına ve eşeye bağlı resesif letaliteye neden olduğu, kromyum trioksitin ise bu etkiyi göstermediği bulunmuştur. Her iki bileşik de

eşeye bağlı resesif mutasyonlara neden olmuşlardır [13].

Ayrıca bu iki metal birlikte uygulandıklarında özellikle eşey oranında daha yüksek toksik etki görülmüştür. Etkilerinin sinerjik olduğu ifade edilebilir. Arseniğin mutagenik etkisinin mekanizması olarak, kimyasal bakımdan fosfora benzemesi ve bazı reaksiyonlarda kısmen fosforun yerini almasına bağlanmıştır. Arseniklerin sülfidril gruplarıyla reaksiyona girdiği ve sülfidril grubu içeren enzim sistemlerini engellediği bildirilmiştir [2, 21]. Yüksek konsantrasyonlarda inorganik arseniklerin proteinlerin koagülasyonuna neden olduğu da ifade edilmiştir [22]. Krom iyonları, farklı zincirler arasındaki çapraz bağlantılar ile DNA, RNA ve çeşitli proteinlere kuvvetli bir şekilde bağlanmakta ve bu bağlanma bir fosfat grubunun varlığında gerçekleşmektedir [23]. Dolayısıyla, arseniğin fosforun yerini alması durumunun, krom varlığında gerçekleştiği düşünülürse toksik etkinin sinerjik oluşu açıklanabilir. Bu nedenle iki madde bir araya geldiğinde daha toksik etki göstermiş olabilir. Nitekim kromun sucul canlılarda tek başına toksik olduğu gibi, suyun pH'sı, sertliği, içerdiği ağır metaller ile de sinerjik veya antagonistik etkiye gösterebileceği ifade edilmiştir [24].

Bulgularımızdan elde ettiğimiz bir başka sonuç ise, sodyum arsenit, krom (III) klorür ve iki metalin kombine uygulandığında larva gelişiminin gerilemesidir. Kontrol grubuna göre erginleşebilen birey sayısı, her üç grubun tüm konsantrasyonlarında (0.05 ml, 0.50 ml, 1 ml, 2.5 ml ve 5 ml) oldukça düşüktür ($p>0.05$). Bu bulgumuzu destekleyen bir araştırmada, gıda katkı maddesi olan krom pikolinatın, *Drosophila*' da pupadan çıkmayı geriletmediği, ergin birey sayısında azalmaya neden olduğu gözlenmiştir [14]. Ayrıca krom kaplama sanayi atık suyunun yüksek konsantrasyonlarda *Drosophila*' da üreme performansı ve yumurta bırakma oranını düşürdüğü ve stres proteinleri ekspresyonunda gerilemeye neden olduğu gözlenmiştir [15]. Bu araştırma sonuçları bizim bulgularımızı destekler niteliktedir. Yine bir başka araştırmada, bakır ve demir sülfatın farklı dozlarının *Drosophila melanogaster*' de yavru verimini azalttığı rapor edilmiştir [25]. Bulgularımızı destekleyen başka araştırmalar da vardır. Pascow ve arkadaşları [26] kadmiyumun *Chironomus* larvalarında, larva gelişimini geciktirdiğini, Helliävaara ve Väisänen farklı hava kirletici çıkaran kaynakların yakınında bulunan çam ibreleri üzerinde yaşayan *Diprinoid* (Hymenoptera) larvalarında, gelişim gerilemesi olduğunu bildirmişlerdir [27].

Araştırmada elde ettiğimiz bir başka bulgu metallerin etkisi ile başkalaşım süresinin değişmemiş olmasıdır. Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün hem ayrı ayrı hem de birlikte *Drosophila melanogaster*' e uygulanması ile F₁ ve F₂ neslinde başkalaşım süresini değiştirmedeği tespit edilmiştir. Aynı şekilde, uygulanan metallerin etkisiyle meydana gelen normal ve anormal fenotipli bireyler kendi aralarında çaprazlanmış, bu bireylerin bıraktıkları yumurtaların gelişiminde de başkalaşım süresinin değişmediği görülmüştür (sonuçlar sunulmamıştır). Cohn ve arkadaşları [28] tarafından yapılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda kurşunun *Drosophila melanogaster*' e uygulanması ile başkalaşım süresinin değişmediği gösterilmiştir. Timmermans ve arkadaşları [29] tarafından yapılan bir başka çalışmada çinko, kadmiyum ve bakırın *Chironomus* larvalarının başkalaşım süresini etkilemediği, fakat larva ağırlığında önemli bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç çalışmamızda başkalaşım süresi için elde ettiğimiz bulgularla benzerlik göstermektedir. Öte yandan, Conrad [30], farklı konsantrasyonlarda kurşuna maruz bıraktığı gastropod embriyonlarında, gelişimin yavaşladığını ya da durduğunu ve veliger larvalarında anormallikler meydana geldiğini tespit etmiştir. Yine benzeri bir çalışmada kadmiyum, civa ve kurşunun *Drosophila melanogaster*' de başkalaşım süresini geciktirdiği Uysal ve Bahçeci [31] tarafından rapor edilmiştir. Chang ve Hartmann'a göre, organizmaya alınan ağır metaller önce hücre içinde plazma membranı, lizozom, endoplazmik retikulum, golgi aygıtı, mitokondri ve nükleus zarına bağlanır. Çeşitli araştırmacılara göre de ağır metallerin genotoksik etkisi, bu maddelerin nükleus içine membran üzerindeki Ca²⁺ kanallarından girişiyle meydana gelmektedir. Nükleus içine giren bu metaller DNA' ya fosfat grubunun yerine geçerek bağlanırlar ve bu şekilde DNA sentezi inhibe edilir [32]. Toksik metallerin bu ve benzeri yollarla hücre ve hücre içindeki işleyişi değiştirip, gelişimsel programı aksatmış olabilir.

Çalışmanın bütününden çıkan sonuçlar özetlenecek olursa; sodyum arsenit ve krom (III) klorür hem ayrı olarak hem de birlikte *Drosophila melanogaster*' e uygulandığında, başkalaşım süresini değiştirmedeği, larva gelişimini geriletmediği, eşey oranında sapmalara neden olduğu görülmüştür. Bu değişiklikler, resesif ya da eşeye bağlı resesif mutasyonlardan, kromozom kayıplarından ya da larval gelişim esnasında, söz konusu metal bileşiklerinin gelişimle ilgili gen ya da enzimler üzerine olumsuz etki yapmasından kaynaklanmış olabilir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Gazi Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Friberg L., Nordberg G.F., Vouk, VB., Handbook on The Toxicology of Metals, 2.ed., General Aspects, Elsevier, Amsterdam, 1986.
2. Berman E., Toxic Metals and Their Analysis, Heyden and Son Ltd., London, 1980.
3. Ortiz JGM., 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.
4. 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.
5. Alekperov İ., Aliyev E., Hazar denizi pelajik siliat toplulukları üzerine bazı ağır metallerin toksik etkilerinin araştırılması, Turk. J. Zool., 20 (1996) 11.
6. 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.
7. 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.
8. Calvo C., Bolado S., Alvarez-Benedí J., Andrade MA., Arsenic uptake and accumulation in curly endives (*Cichorium endivia* L.) irrigated with contaminated water. J. Environ. Sci. Health B., 41 (4) (2006) 459.
9. Hepburn DD., Xiao J., Bindom S., Vincent JB., O'Donnell J., Nutritional supplement chromium picolinate causes sterility and lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. Proc. Natl. Acad. Sci., 100(7) (2003) 3766.
10. Katz AJ, 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.
11. De Flora S., Bennecelli C., Bagnasco M., Genotoxicity of mercury compounds. A review. Mutat. Res., 238 (1994) 99.
12. Stella M., Montaldi A., Rossi A., Clastogenic effects of chromium on human lymphocytes in vitro and in vivo. Mutat. Res., 101 (1982) 151.
13. Rodriguez – Arnaiz R., Martinez, Genetic effects of potassium dichromate and chromium trioxide in *Drosophila melanogaster*. Cytologia, 51 (1986) 421.
14. Stallings DM, Hepburn DD, Hannah M, Vincent JB, O'Donnell J., Nutritional supplement chromium picolinate generates chromosomal aberrations and impedes progeny development in *Drosophila melanogaster*. Mutat. Res. 610 (2006) 101.
15. Mukhopadhyay I, Saxena DK, Chowdhuri DK, 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.
16. 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.
17. Ahmed ZU, Walker GW, The effects of urethane, sodium monohydrogen arsenate and selenocystine on crossing-over in *Drosophila melanogaster*. Can. J. Genet. Cytol., 17 (1) (1975) 55.
18. Uysal H., Kaya Y., Toxicity of *Eupharbia canariensis* latex to some developmental stages of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 72 (2004) 45.
19. Mirabolghasemi G, Mahnaz A, Developmental changes in *Drosophila melanogaster* following exposure to alternating electromagnetic fields, Bioelectromagnetics, 23 (2002) 416.
20. Yeşilada E., Bozcuk AN., Bozcuk S., Topcuoğlu F., Absisik asit ve kinetinin *D. melanogaster*' in eşey oranı ve ergin morfolojisi üzerine etkisi. Turk. J. Biol., 20 (1996) 171.
21. Ochi T., Kaise T., Oya-Ohta Y., Glutathione plays different roles in the induction of the cytotoxic effects of inorganic and organic arsenic compounds in cultured BALB / C 313 cells. Experientia, 50 (1994) 115.
22. Ware WG., Pesticides Theory and Application, University of Arizona (1983).
23. Liu D., Jiang W., Li M., Effect of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell

- division of *Allium cepa*. Hereditas, 117 (1992) 23.
24. Yalçın Ş., Özcan B., Kadayıfçı D., Yavuz A., Asi nehrinde toplam krom ve siyanür konsantrasyonlarının tespiti, III. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Kırşehir, 518 (1997) 3-7 Eylül.
 25. Islam MS., Khan MAR., Barman PC., Ali, SI., Effect of copper and ferrous sulphates on offspring production in *D. melanogaster*. Drosophila Information Service, 63 (1986) 68.
 26. Pascow D., Williams KA., Green DWJ., Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* (Meigen) effects upon larval development and adult emergence. Hydrobiologia, 175 (1989) 109.
 27. Helliävaara K., Väisänen R., Kemppi E., Change in pupal size of *Panalis flammea* and *Bupalus piniarius* in response to concentration of industrial pollutants in their food plant. Oecologia, 79 (1989) 179.
 28. Cohn J., Widzowski, DV., Cory-Slechts, DA., Lead retards development of *Drosophila melanogaster*. Comp. Biochem. Physiol., 102 (1) (1992) 45.
 29. Timmermans KR., Walker PA., The fate of trace metals during the metamorphosis of *Chironomids* (Diptera, Chironomidae), Environ. Pollut., 62 (1989) 73.
 30. Conrad G.W., Heavy metals effects on cellular shape changes, cleavage and larval development of the marine gastropod mollusc (*Ilyanassa obsoleta* Say), Bull. Environ. Contam. Toxicol., 41 (1988) 79.
 31. Uysal H., Bahçeci Z., Kurşun nitratın *Drosophila melanogaster*' in gelişimi üzerine etkileri, Turk. J. Biol., 21 (1997) 1.
 32. Uysal H., Bahçeci Z., Kurşun nitratın *Drosophila melanogaster*' in üçüncü instar larvalarının tükürük bezi politen kromozomları üzerine etkileri, Turk. J. Biol., 20 (1996) 199.