

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI TEKSTİL BOYALARININ *DROSOPHILA MELANOGASTER*
ÜZERİNE TOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

LÜTFİYE ÖZATA

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MALATYA
OCAK 2006

Tüm özlemimle anneme tüm sevgimle eşime ve oğluma...

ÖZET

Doktora Tezi

BAZI TEKSTİL BOYALARININ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ÜZERİNE TOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Lütfiye ÖZATA

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
87 + x sayfa

2006

Danışman: Doç. Dr. Elif YEŞİLADA

Bu çalışmanın ilk bölümünde altı tane tekstil boyası (astrazon sarı GL-E, astrazon siyah FDL, chrocion kırmızı, chrocion sarı, remazol mavi, remazol kırmızı RR) ve tekstil fabrikası atık suyunun mutajenik ve rekombinojenik aktivitesi *Drosophila* kanat benek testi (somatik mutasyon ve rekombinasyon testi, SMART) ile araştırılmıştır. Bu amaçla standart çapraz (ST) ve promutajen ve prokarsinojenler için yüksek duyarlılıkla karakterize olan yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazı kullanılmıştır. *mwh* (3- 0.3) ve *flr*³ (3-38.8) genleri için transheterozigot olan üç günlük larvalar test bileşiklerinin farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri ile kronik olarak beslendi. Hayatta kalan larvaların pupaya geçişi ile beslenmeleri sonlandı ve kanat imaginal disklerinin somatik hücrelerinde indüklenen genetik değişiklikler kanat yüzeyinde mutant kolonların oluşmasına neden oldu. İkili benekler mitotik rekombinasyon ile oluşturulurken nokta mutasyon, kromozom kırılması ve mitotik rekombinasyon tekli benekleri oluşturdu. Genel olarak bilinen mutajenler (etil metan sülfonat ve üretan) pozitif kontrol olarak kullanıldı. Tekstil boyalarının, tekstil atık suları ile EMS ve üretanın bütün konsantrasyonları hayatta kalış oranını azalttı. EMS ve üretan ST ve YB çaprazların her ikisinde de bütün benek tiplerinin sayısında artışa neden oldu. Üretan uygulanan YB çaprazdaki indüklenen benek sayısı ST çaprazdaki ile karşılaştırılınca oldukça yüksekti. Astrazon sarı GL-E, astrozon siyah FDL, chrocion kırmızı, chrocion sarı, remazol mavi, remazol kırmızı RR ile ST ve YB çaprazının uygulamaları tekli benek ve ikili beneklerin frekansındaki artış ile ortaya çıkan pozitif sonuçlar verdi. Chrocion kırmızı her iki çaprazda da yetersiz olarak değerlendirilen sonuçlar verdi. Tekstil atık suyu her iki çaprazda da tüm benek tiplerinin sayısını arttırdı ve YB çaprazda ST çapraza kıyasla daha genotoksikti. Çalışmanın ikinci kısmında *Drosophila melanogaster*'in redükte glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (Cat) ve glutatyon redüktaz (GR) ile glutatyon-S-transferaz (GST), aktivitelerinden oluşan antioksidan savunma sisteminin tekstil boyalarının maruziyetine karşı oldukça duyarlı olduğu görüldü. Bu parametrelerdeki değişiklikler oksidatif stresin varlığını ve *Drosophila* tarafından oksiradikallerin üretiminde bir artışın olduğunu göstermektedir.

Elde edilen bu sonuçlar boya ürünlerinin mutajenik etkilerini in vivo testlerde göstermek için yeteri kadar test edilmeden pazarlandığını belirten diğer çalışmalar ile uyumludur. Ayrıca tekstil boyalarının toksik ve genotoksik etkilerini ortaya koyan bu

Çalışma diğ er boyalar ve ekosisteme kontrols  z olarak verilen diğ er bazı genotoksik kirleticilerin belirlenmesinde bir belirteç olarak *Drosophila melanogaster* kanat benek testinin kullanılabileceğini  ne s  rm  şt  r.

ANAHTAR KEL  MELER: *D.melanogaster*, genotoksisite, SMART test, tekstil boyaları, tekstil atık suyu, oksidatif stres, antioksidan savunma sistemi.

Ek: JPEG formatında 6adet resim içeren JPEG dosyası.

ABSTRACT

PhD. Thesis

THE INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME TEXTİLE DYE STUFFS ON THE *Drosophila melanogaster*

Lütfiye ÖZATA

Inonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

87 + x pages

2006

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Elif YEŞİLADA

In the first part of this study, six textile dyes namely Astrazon goldgelb GL-E, Astrazon schwarz FDL, Chrocion scarlet, Chrocion yellow, Remazol turquoise blue, remazol red RR and textile wastewater were evaluated for the mutagenic and recombinagenic effects using the wing spot test of *Drosophila melanogaster* (somatic mutation and recombination test, SMART). Two crosses were used, the standard cross (ST) and the improved high-bioactivation cross (HB) were used, the latter cross is characterised by a high sensitivity to promutagens and procarcinogens. Three-day-old larvae, transheterozygous for the multiple wing hairs (*mwh*, 3–0.3) and flare (*flr*³, 3–38.8) genes, were chronically fed with different concentrations of test compounds. Feeding ended with pupation of the surviving larvae and the genetic changes induced in somatic cells of the wing's imaginal discs lead to the formation of mutant clones on the wing blade. Point mutation, chromosome breakage and mitotic recombination produce single spots; while twin spots are produced only by mitotic recombination. Commonly known mutagens (Ethyl methanesulfonate and urethane) were applied as positive controls. All concentrations of textile dyes and textile wastewater, Ethyl methane sulfonate (EMS) and urethane caused a decrease in survival proportional to concentration used. EMS and urethane caused increase in the number of all types of spots in both standard and high-bioactivation crosses. Compared to ST crosses, the number of induced spots in the HB cross treated with urethane was considerably high. Treatment of the standard and the high-bioactivation crosses with Astrazon goldgelb GL-E, astrazon schwarz FDL, chrocion yellow, remazol turquoise blue and remazol red RR gave positive results, apparent from increase in the frequency of the single spots or tween spots. Chrocion scarlet gave inconsistent result in both crosses. Textile wastewater increased the number of all spots type in both crosses and proved to be more genotoxic in the HB cross than in the ST cross.

In the a second part of this study, it was shown that the antioxidant defens parametres of *D. melanogaster*, including the contents of reduced glutathione (GSH) and activities of superoxid dismutse (SOD), catalase (CAT) and glutatione reductase (GR) with glutatione S-tranferase (GST), were higly sensitive to textile dyes exposure.

Changes of these parameters indicated that there was an increase in the production of oxyradicals by *Drosophila* and the presence of oxidative stress.

The results confirm previous findings testing for their mutagenic effects that dye products are marketed without a sufficiently tested and that show mutagenic effects in vivo tests. And this study proved the genotoxicity and toxicity of these textile dyes, and suggested that further studies should be made on other dyes and some other toxic industrial pollutant discharges in ecosystems, using *Drosophila melanogaster* wing spot test as an indicator to monitor pollutant genotoxicity.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, SMART test, genotoxicity, textile dye, textile wastewater, antioxidant defenses, oxidative stress.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanmasında, hazırlanmasında, hem deneysel hem de teorik çalışmalarım sırasında değerli katkılarda bulunan, yardım, öneri ve desteğini esirgmeden beni yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elif YEŞİLADA'ya;

Deneysel Çalışmalar boyunca fikir ve önerileri ile yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Murat ÖZMEN'e;

Çalışmalarımız için gerekli olan tekstil boyalarını sağlayan ve değerli fikirleriyle her zaman yardımını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA'ya;

Enzim aktivite çalışmalarının hem deneysel hem de teorik aşamalarında yardım eden Yrd. Doç. Dr. Dilek ASMA'ya;

Deneysel çalışma sonuçlarının istatistiksel analizinde yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. Saim YOLOĞLU'na;

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Araştırma Görevlisi arkadaşlarım Eylem Eroğlu DOĞAN'a, Abbas GÜNGÖRDÜ'ye;

Ayrıca tezin deneysel ve yazılım aşamalarında bana destek olan değerli eşim Dr. Naim ÖZATA'ya ;

Ve desteklerini hissettiğim tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma;

Ayrıca bu çalışmayı 2003 / 77 numaralı projeyle destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığına;

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tekstil ve Boya Fabrikası Atık Suları.....	2
1.2. Boyar maddeler.....	2
1.3. Çalışmada Kullanılan Organizma ile İlgili Genel Bilgiler.....	3
1.3.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Sistematikteki Yeri.....	3
1.3.2. <i>Drosophila melanogaster</i> ' in Yaşam Döngüsü.....	4
1.4. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi.....	6
1.4.1. Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi	7
1.5. Serbest Oksijen Radikalleri ve Detoksifikasyon Sistemleri.....	11
1.6. Detoksifikasyon Enzimleri ve Glutasyonun genel Yapısı ve İşlevleri..	12
1.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	12
1.6.2. Katalaz.....	13
1.6.3. Glutasyon Redüktaz.....	13
1.6.4. Glutasyon S- Transferaz.....	14
1.6.5. Glutasyon.....	15
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	16
2.1. Tekstil Atık Suları ve Boyar Maddelerin Çeşitli Organizmalardaki Toksik ve Genotoksik Etkileri ile İlgili Çalışmalar	16
2.2. <i>Drosophila</i> Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinin (SMART) Kullanıldığı Çalışmalar.....	19
3. Materyal ve Yöntem.....	23
3.1. Kullanılan Organizma.....	23
3.2. Çalışmada Kullanılan Çaprazlamalar.....	24
3.3. Kullanılan Tekstil Boyar Maddeleri.....	24
3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	24
3.5. Deney Koşulları.....	24
3.5.1. Besiyerinin Hazırlanması.....	25
3.5.2. Bayıltma Yöntemi.....	26
3.5.3. Boya Çözeltilerinin Hazırlanması ve Besiyerine Eklenmesi.....	26
3.6. Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinin uygulanması...	27
3.7. SMART Testi Sonuçlarının İstatistiksel Analizi.....	28
3.8. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi İle İlgili Çalışmalar.....	28
3.8.1. Homojenizasyon ve Santrifüjasyon.....	28
3.8.2. Enzim Aktivite Tayini.....	28
3.8.2.1. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini ve Hesaplanması.....	29
3.8.2.2. Katalaz Aktivitesinin Tayini.....	29
3.8.2.3. Glutasyon Redüktaz Aktivite Tayini ve Hesaplanması.....	30
3.8.2.4. Glutasyon S-Transferaz Aktivite Tayini.....	30
3.8.2.6. Total Protein Tayini.....	31
3.8.2.7. Enzim Aktivitesi Çalışmalarında İstatistiksel Analiz.....	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	33
4.1. <i>Drosophila</i> Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinden	33

	Elde Edilen Bulgular.....	
4.1.1.	Etil Metan Sülfonatın (EMS) Genotoksik Etkisinin Araştırılması.....	36
4.1.2.	Üretan'ın Genotoksik Etkisinin Araştırılması.....	39
4.1.3.	Astrazon Siyah FDL Boyasının Genotoksik Etkisinin Araştırılması....	41
4.1.4.	Astrazon Sarı GELB-GLE Boyasının Genotoksik Etkisinin Araştırılması.....	44
4.1.5.	Chrocion kırmızı boyasının genotoksik etkisinin araştırılması.....	47
4.1.6.	Chrocion sarı boyasının genotoksik etkisinin araştırılması.....	50
4.1.7.	Remazol mavi boyasının genotoksik etkisinin araştırılması.....	53
4.1.8.	Tekstil fabrikası atık suyunun genotoksik etkisinin araştırılması.....	56
4.2.	Tekstil Boyar Maddelerine Maruz Kalan <i>Drosophila</i> Erginlerinde ve GST Aktivitelerve GST İleRedükteGlutasyon Miktarı Bulguları ...	62
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	67
5.1.	Tekstil Boyar Maddeleri ve Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Genotoksik Etkisi.....	67
5.2.	Tekstil Boyar Maddelerinin antioksidan enzimler ve redükte glutasyon seviyesi üzerine etkisi.....	72
6.	KAYNAKLAR.....	76

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	<i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü	5
Şekil 1.2.	Tekli ve ikili beneklerin oluşumuna neden olan farklı genetik mekanizmalar [46]. A: Normal kanat kıllarının oluşumu, B: Delesyon sonucu tekli benek oluşumu, C: Mitotik rekombinasyon sonucu ikili benek oluşumu, D: Mitotik rekombinasyon sonucu tekli benek oluşumu	10
Şekil 4.1.	<i>mwh</i> fenotipindeki küçük tekli benek.....	34
Şekil 4.2.	<i>mwh</i> fenotipindeki büyük tekli benek.....	34
Şekil 4.3.	<i>flr</i> fenotipindeki küçük tekli benek.....	35
Şekil 4.4.	<i>flr</i> fenotipindeki büyük tekli benek.....	35
Şekil 4.5.	İkili Benek.....	36
Şekil 4.6.	Standart çaprazdan elde edilen ve EMS uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	37
Şekil 4.7.	Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve EMS uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	38
Şekil 4.8.	EMS uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak ST ve YB çaprazlarında karşılaştırılması.....	38
Şekil 4.9.	Standart çaprazdan elde edilen ve üreten uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	40
Şekil 4.10.	Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve üreten uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	40
Şekil 4.11.	Üreten uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak ST ve YB çaprazlarında karşılaştırılması.....	41
Şekil 4.12.	Standart çaprazdan elde edilen ve astrazon siyah uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	43
Şekil 4.13.	Yüksek bioaktivasyon çaprazdan elde edilen ve astrazon siyah uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	43

Şekil 4.14.	Astrazon siyah uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.....	44
Şekil 4.15.	Standart çaprazdan elde edilen ve astrazon sarı uygulanan ($mwh\ flr^+ /mwh^+flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	46
Şekil 4.16.	Yüksek bioaktivasyon çaprazdan elde edilen ve astrazon sarı uygulanan ($mwh\ flr^+ /mwh^+flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek,BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	46
Şekil 4.17.	Astrazon sarı uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.....	47
Şekil 4.18.	Standart çaprazdan elde edilen ve chrocion kırmızı uygulanan ($mwh\ flr^+ /mwh^+flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	49
Şekil 4.19.	Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve chrocion kırmızı uygulanan ($mwh\ flr^+ /mwh^+flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	49
Şekil 4.20.	Chrocion kırmızı uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.....	50
Şekil 4.21.	Standart çaprazdan elde edilen ve chrocion sarı uygulanan ($mwh\ flr^+ /mwh^+flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	52
Şekil 4.22.	Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve chrocion sarı uygulanan ($mwh\ flr^+ /mwh^+flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	52
Şekil 4.23.	Chrocion sarı uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.....	53
Şekil 4.24.	Standart çaprazdan elde edilen ve remazol mavi uygulanan ($mwh\ flr^+ /mwh^+flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	55
Şekil 4.25.	Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve remazol mavi uygulanan ($mwh\ flr^+ /mwh^+flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	55

Şekil 4.26.	Remazol mavi uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.....	56
Şekil 4.27.	Standart çaprazdan elde edilen ve remazol kırmızı uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	58
Şekil 4.28.	Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve remazol kırmızı uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	58
Şekil 4.29.	Remazol kırmızı uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.....	59
Şekil 4.30.	Standart çaprazdan elde edilen ve atık uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	61
Şekil 4.31.	Yüksek bioaktivasyon çaprazdan elde edilen ve atık suyu uygulanan (<i>mwh flr⁺ /mwh⁺flr³</i>) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek.....	61
Şekil 4.32.	Atık su uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.....	62
Şekil 4.33.	Bazı boyar maddelerin spesifik enzim aktiviteleri (SOD, katalaz, GR ve GST) ile GSH düzeylerine etkisi bakımından ST ve YB çaprazlarının karşılaştırılması.....	66

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3.1	<i>Drosophila</i> besiyerinin içeriği (Bozcuk, 1976).....	25
Çizelge 3.2	<i>Drosophila</i> besiyerinde kullanılan asit karışımı (Bozcuk 1976)...	26
Çizelge 4.1.	EMS gruplarında <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler.....	37
Çizelge 4.2.	Üretan gruplarında <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler.....	39
Çizelge 4.3	Astrazon siyah boyasında <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler.....	42
Çizelge 4.4.	Astrazon sarı boyasında <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler.....	45
Çizelge 4.5	Chrocion kırmızı boyasında <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler...	48
Çizelge 4.6.	Chrocion sarı boyasının <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler.....	51
Çizelge 4.7.	Remazol mavi boyasında <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler.....	54
Çizelge 4.8	Remazol kırmızı boyasında <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler.....	57
Çizelge 4.9	Atık suda <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler.....	60
Çizelge 4.10	72±4 saatlik larvaların %30'nun ölümüne neden olan boyar madde konsantrasyonları.....	63
Çizelge 4.11	Kullanılan tekstil boyalarının süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon redüktaz (GR), ve glutatyon S-transferaz (GST) aktiviteleri ile redükte glutatyon miktarı üzerine etkileri.....	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

BOİ	Biyolojik Oksjen İstemi
SMART	Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
<i>mwh</i>	Çoklu kanat kılı mutasyonunu taşır
<i>flr³</i>	Flare mutasyonunu taşır, <i>flr³</i> kanat kıllarının şeklini etkileyen resesif bir mutasyondur
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
GR	Glutasyon redüktaz
GPX	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutayon S- transferaz
EPA	Amerikan Çevre Koruma Kurumu
ST	Standart çapraz
YB	Yüksek Bioaktivasyon Çaprazı
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
NO ₂	Nitro grubu
GSSG	Okside glutasyon
GSH	Redükte glutasyon
DTNB	5-5'ditiyobis (2-nitrobenzoik asid)
NADPH	Nikotinamid Adenin dinükleotid
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asid
EMS	Etil metan sülfonat
DHA	Dehidroaskorbik asit
ANOVA	Varyans analizi
LD50	Populasyonun %50' sinin ölümüne neden olan doz
CDNB	1-kloro, 2,4 dinitrobenzen
BSA	Bovine Serum Albumi (Sığır serum albumini)
OD	Optik desite
ppm	Miligram/litre
µmol/ µg t.p./ml	Mikromol/mikrogram total protein/mililitre
ETAD	Boyar Madde Üretim Endüstrisi Ekoloji ve Toksikoloji Birliği
TRI	Toksik madde salınım kayıtları

1.GİRİŞ

Günümüzde endüstrileşmenin artması sonucunda endüstriyel kaynaklı atık sular çevre kirliliğini de beraberinde getirmiştir. Hava, su ve toprak gibi kaynaklardaki mevcut doğal dengenin fiziksel, kimyasal, biyolojik etkenlerle bozularak, ortamın yaşanmayacak hale dönüşmesine çevre kirliliği denir [1]. Kirleticiler çok çeşitli olup bir çok kaynaktan meydana gelerek çevreyi kirletmekte ve dolayısıyla ekolojik dengeyi olumsuz etkilemektedir. Bu sorunlardan biri de ülkemizde hızla gelişen tekstil endüstrisinden kaynaklanmaktadır. Tekstil fabrikası atık suları yüksek oranda boyar maddeler, beyazlatıcı ajanlar, tuzlar ve ağır metaller içermektedir [2]. İlave olarak yüksek pH ve sıcaklık, atık suyun boşaltıldığı su kaynağında ekolojik dengeyi olumsuz yönde etkilemektedir. Tekstil atık sularının ortak özelliklerinden diğeri ise yüksek Biyolojik Oksijen İstemi (BOİ) değeridir. Organik madde miktarının bir göstergesi olan BOİ, alıcı ortamda çeşitli kimyasal ve biyolojik değişmeler sonucunda ortamın çözünmüş oksijenini tüketerek canlıların ölmesine, kötü kokuların oluşmasına ve su kalitesinin genel olarak bozulmasına neden olmaktadır [1].

Günümüzde mevcut tekstil ve boya fabrikalarının pek çoğunun arıtım sistemleri olmadığından atık sular doğrudan alıcı ortamlara verilmektedir. Kullanım amaçlarına uygun olarak tekstil sanayisinde kullanılan boyaların doğal bozunma süreçleri uzun olduğundan doğadaki kalıcılıkları da artmaktadır [3]. Bu da atık suların olası toksik ve genotoksik etkilerini gündeme getirmektedir.

Herhangi bir etmenin ekosistem ya da organizma üzerine olumsuz etkilerini belirlemek için öncelikle laboratuvar ortamında model organizmalar kullanılarak kontrollü çalışmalar yapılmaktadır. Farklı organizmalar ile elde edilecek benzer sonuçlar olası riski ortaya koymak açısından oldukça önemlidir.

Bu çalışmada ülkemizde de yaygın olarak kullanılan bazı tekstil boyaları (astrazon siyah, astrazon sarı, remazol mavi, remazol kırmızı, chrocion kırmızı, chrocion sarı) ile tekstil fabrikası atık suyunun toksik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç ile sağladığı bir çok avantaj nedeni ile model organizma olarak *Drosophila melanogaster* seçilmiştir. Çalışma kapsamında tekstil boyası ve tekstil fabrikası atık sularının genotoksik etkisini belirlemek için *Drosophila melanogaster*' in kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi kullanılmıştır. İlave olarak tekstil boyası ve tekstil fabrikası atık sularının antioksidan enzimler ve Glutatyon S-tranferaz enzimi üzerine etkilerini belirlemek de amaçlanmıştır. Literatür bilgilerimize göre

Drosophila melanogaster'de test edilen boyar maddeler ile ilgili olası riskler ilk kez bu çalışma ile ortaya konulacaktır.

1.1. Tekstil ve Boya Fabrikası Atık Suları

Tekstil atık sularının kimyasal madde yükünün yanı sıra boyar madde içeriğindeki zenginlik, alıcı ortama doğrudan verilmesini eko-toksikolojik açıdan olduğu kadar estetik açıdan da sakıncalı hale getirmektedir. Kullanım amaçlarına uygun olarak tekstil sanayisinde kullanılan boyaların doğal bozunma süreçleri uzun olduğundan doğadaki kalıcılıkları da artmaktadır. Bu da atık suların toksik ve genotoksik etkilerinin daha da artabileceğini gündeme getirmektedir. Çalışmalar, tekstil fabrikası atık sularının mutajenik maddeler de içerdiklerini göstermiştir [4].

Tekstil endüstrisinden çevreye yayılan atıkların biyolojik ve kimyasal transformasyona uğrayarak kompleks bir kimyasal karışım haline geldikleri belirtilmektedir. Günümüzde bu karışımların kimyasal kompozisyonu ve karakterizasyonunun belirlenmesi ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır ve bunların olası genotoksik ve kanserojenik etkilerini belirlemede yeterli değildir [5].

1.2. Boyar Maddeler

Kumaş elyaf, deri, plastik, bazı gıda maddeler vb.'ni renklendirmek için uygulanan maddelere “boyar madde” denir [6]. Boyar maddeler çözünürlüklerine, kimyasal yapılarına, boyama özelliklerine ve kullanım yerlerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. Boya kimyasında genelde kullanılan boyar maddeler; asit boyaları, direkt boyalar, dispers boyalar, sülfür boyaları, reaktif lif boyaları, bazik boyalar, oksidasyon boyaları, keskin (krom) boyaları, geliştirme boyaları, vat boyaları, pigmentler, optik/floresan parlaticılar ve solvent boyalar olmak üzere gruplandırılmışlardır [7].

Kimyasal yapıları ile ilişkili olarak boyar maddelere baktığımızda ise farklı gruplar ile karşılaşırız. Boyar madde içerisindeki en önemli renklendiriciler azo ($-N=N-$), kabonil ($C=O$), metil ($-CH=$) ve nitro (NO_2) gruplarıdır. Bazen boyalara uygulamayı güçlendirmek için metal iyonları bağlanmaktadır. Bu boyalara metal kompleks azo boyası ya da mordan boyalar denilmektedir [8]. Fitallosiyanin boyalar ise metal içiren ya da içermeyen olmak üzere iki gruptur. Reaktif boyalar ise boya molekülünün bir C

atomu ile polimerdeki bir hidroksi amino ya da tiol grubunun bir oksijen, nitrojen ya da sülfür atomu arasında kovalent bağla oluşmaktadır.

Günümüzde artan miktarlarda (3000'den fazla) sentetik boya üretilmektedir. Tekstil endüstrisinde kullanılanların ise önemli bir kısmını (%60-70) azo boyalar oluşturmaktadır [8,9,10]. Azo boyalarının metabolizması oldukça karmaşıktır [11,12]. Oral yoldan alındıklarında azo boyaları bağırsak mikroflorası veya karaciğer azoredüktaz enzimleri tarafından aromatik aminlere dönüştürülür. Bu aminler de daha sonra memeli mikrozomal enzimleri aracılığıyla genotoksik bileşiklere dönüşürler [13,14].

1.3. Çalışmada Kullanılan Organizma ile İlgili Genel Bilgiler

Bu çalışmada *Drosophila melanogaster*'in farklı mutant soyları kullanılmıştır. İlk kez 1911 yılında Thomas Morgan tarafından deneysel çalışmalarda kullanılmış olan *Drosophila melanogaster* çok sayıda yavru döl vermesi, kısa ömürlü olması, arı döl olarak saklanabilmesi, kullanım kolaylıkları [15], erginlerin tüm somatik hücrelerinin postmitotik olması [16], kolayca tanınabilen ve genetik olarak kontrol edilebilen çok çeşitli morfolojik karakterlere ve ve mutant soylara sahip olması gibi nedenlerden dolayı günümüzde de tercih edilen bir organizmadır.

İlave olarak memelilere genetik mekanizmalar bakımından büyük benzerliği onu genetik toksikoloji çalışmaları için çok uygun bir organizma olmasını sağlamıştır [17].

Daha önce birçok çalışmada gösterildiği gibi *Drosophila* birçok kimyasal ve kimyasal karışımın metabolize edilmesi için gerekli metabolik yolların çok büyük bir bölümüne sahiptir. Ayrıca insanlar için kanserojenik olan pek çok madde *Drosophila* testlerinde de pozitif sonuçlar vermiştir [18,19,20]. *Drosophila* çalışmalarında promutajen ve prokarsinojenleri test etmek için ilave metabolik enzimlere gerek yoktur. Oysa kültüre alınan mikro organizmalar ve memeli hücreleri, bir memelinin metabolik aktivasyon sistemlerinin bir çoğundan yoksundur. Bu nedenle mutajenite testlerinde kültür ortamında mikroorganizmalar ve memeli hücreler kullanılırken kültür ortamına alternatif metabolik aktivasyon sistemlerinin de eklenmesi gerekir [21,22,23].

1.3.1. *Drosophila melanogaster*'in Sistematikteki Yeri

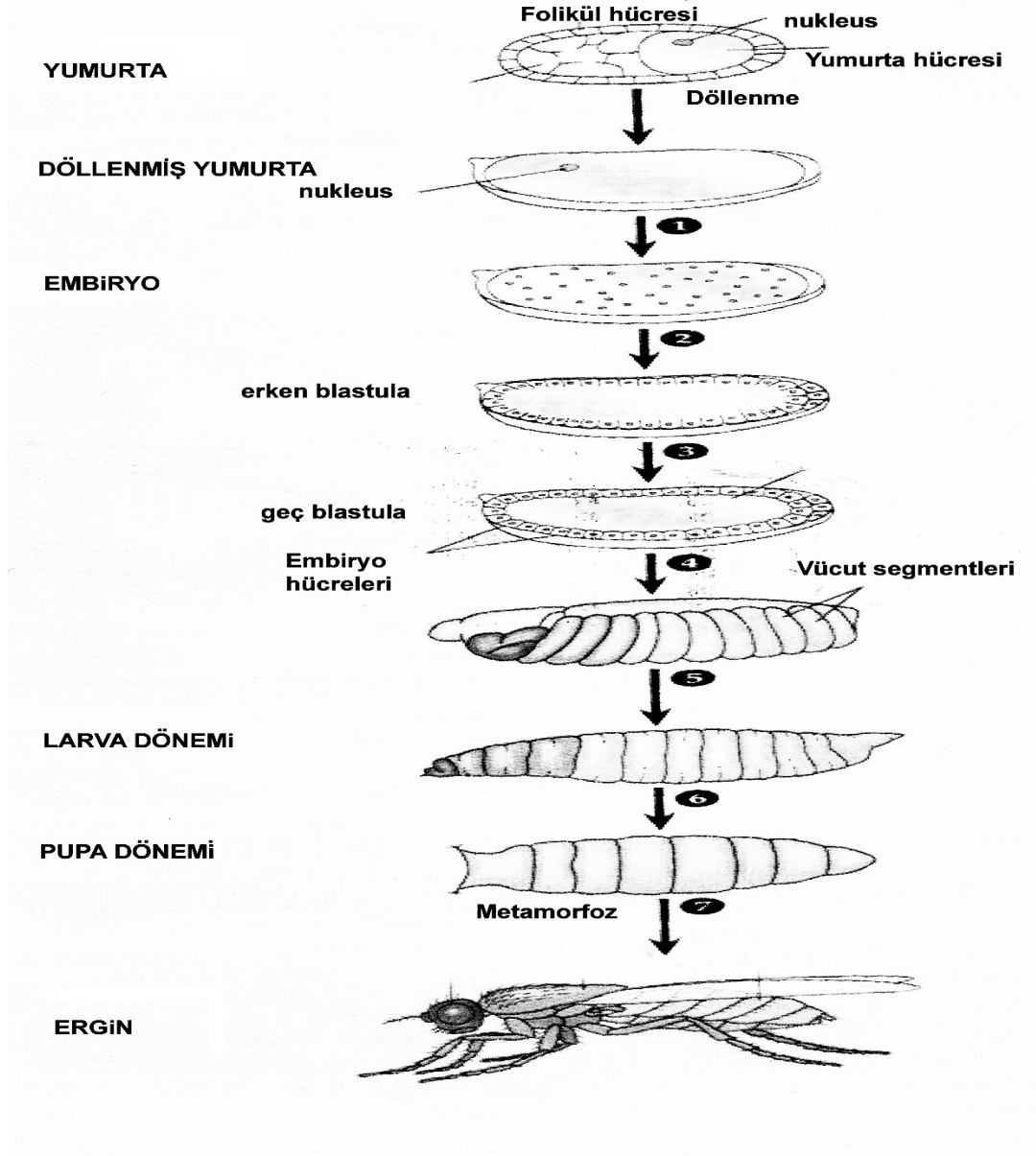
Hayvanlar aleminin *Insecta* sınıfına dahil olan *Diptera* takımının *Drosophilidae* familyası içinde yer alır. Larvaları ekşimiş meyveler üzerinde geliştiği için meyve sinekleri de denilen bu familya, genetikte deney hayvanı olarak kullanılan pek çok türü kapsar. Bunlardan biri de *Drosophila melanogaster* türüdür [24].

Alem	:Animalia
Şube	:Arthropoda
Altşube	:Mandibulata-Antennata
Sınıf	:İnsecta-Hexapoda
Alt sınıf	:Pterygota
Üst takım	:Mecopteroidea
Takım	:Diptera
Alt takım	:Brachycera
Aile	: <i>Drosophilidae</i>
Cins	: <i>Drosophila</i>
Tür	: <i>Drosophila melanogaster</i>

1.4.2. *Drosophila melanogaster*' in Yaşam Döngüsü

Drosophila melanogaster'in döllenme ve zigot oluşumunu takiben ergine gelişmesi süre bakımından ortam sıcaklığına bağımlılık gösterir. 25 °C' de bu süre 7-8 gündür. Bir ergin dişi yaşamı boyunca 300' e kadar varan sayıda yumurta bırakabilir. Genelde bunların %95' i olgunlaşıp açılabilir. Optimum şartlarda bir genetikçi yılda maksimum 30 generasyon elde edebilir. Yumurtayı takiben holometabol oluşlarından dolayı bütün dipterler için aynı olan larva, pupa ve ergin dönemleri tüm hayat çemberini oluşturur [25]. Diğer böceklerde olduğu gibi, *Drosophila*' da da gelişme iki aşamada olur. Birincisi embriyonik dönemdir. Bu dönem, yumurtanın döllenmesi ile başlar ve genç larvaların yumurtadan çıkmasına kadar devam eder. Bütün embriyonik gelişmeler yumurta zarları içinde meydana gelir. İkinci dönem ise post-embriyonik dönemdir ve genç larvanın yumurtadan çıktığı andan itibaren başlayarak, larvanın ergin hale

gelineye kadar geçirdiği bütün değişiklikleri içerir. *Drosophila*'nın yaşam döngüsü Şekil 1.1.' de gösterilmektedir.



Şekil 1.1. *Drosophila melanogaster*' in yaşam döngüsü

Yumurtalar, yaklaşık 0.5 mm uzunluğunda olup beyaz renklidir. Yumurtanın dış tarafı korion adı verilen bir zarla kaplıdır. Anterior ucunda dorsalden uzanan bir çift filament, yumurtanın bırakıldığı yumuşak besin ortamına batmamasını sağlar [26]. Post-embriyonal gelişme, larva, pupa ve ergin olmak üzere üç döneme ayrılır. Yumurta açılmasını takiben çıkan larva, pupa oluşumuna kadar iki defa deri değiştirir ve böylece üç instar dönemi geçirilmiş olur. Larva üçüncü döneminde yaklaşık 4-4.5 mm uzunluğunda olabilir. Larvanın her deri değiştirmesinde kutikula özel yapıları ile (ağız dahil) birlikte değişir. İç organların büyümesi, deri değiştirmelerine bağlı olan tedrici ve sürekli şekilde devam eder [27]. Üçüncü instar döneminin sonuna doğru larva içinde bulunduğu kabın duvarındaki kuru bir bölgeye kadar tırmanır ve burada koyu sarı-kahve renkte pupalara gelişir. Gelişimin tamamlanması ile ergin sinekler pupa kılıfının anteriorunu delerek dışarı çıkarlar. Yeni çıkan ergin bireyler ilk önce açık renkli, uzun vücutludur. Fakat hemen birkaç saat içinde koyulaşırlar. Başlangıçta kırışık olan kanatları açılır ve normal ergin görünümüne ulaşırlar. Türler gereği değişmekle birlikte bakire dişiler, pupadan çıktıktan 3.5-4 saat sonra eşeyssel olgunluğa erişebilir ve 12 saat sonra ise yumurtlayabilirler. Erkekler ise pupadan çıktıktan birkaç saat sonra çiftleşebilirler [28].

1.5.Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi

Günümüzde genetik çalışmaların önemli bir bölümü genetik toksikoloji alanındadır. Bu bağlamda gen mutasyonları ile kromozomların sayısında ve yapısında meydana gelen değişimler başlıca ilgi odaklarını oluşturmaktadır. Bu mutasyonların herhangi birini belirlemek amacı ile çok çeşitli *in vivo* ve *in vitro* test sistemleri geliştirilmiştir [29]. Sıklıkla kullanılan genotoksikite testleri arasında allium testi [30], salmonella testi [31], mikronükleus testi [32], kardeş kromatid değişimi testi (SCE) [33], tek hücre jel elektroforezi (SCGE) [34] ile çeşitli *Drosophila* testlerini [35,36] sayabiliriz. Model organizma olarak *Drosophila*'yı kullanan testler arasında son yıllarda oldukça popüler olan testlerden bir de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)' dir [37].

SMART üreme hücrelerindeki mutasyonları hedef alan testlerle karşılaştırıldığında çok sayıda avantaj sunar [38]. Bu test sistemleri için sadece bir generasyon süresi yeterlidir. Bu amaçla kullanılan kanat ve gözlerdeki genetik işaretleri fark etmek

oldukça kolaydır ve tek bir bireyde çok sayıda hücrenin analizine olanak sağlar. Çalışma süresi kısa olup oldukça ekonomiktir ve yapılan çok sayıdaki çalışma ile güvenilirliği kanıtlanmıştır. Bu testlerle nokta mutasyon, delesyonlar, kromozom bozuklukları ve mitotik rekombinasyonlar belirlenebilmektedir [38].

SMART, göz benek testi ve kanat benek testi olmak üzere iki çeşittir. Somatik test yöntemleri larvanın imaginal disklerinde mitotik olarak çoğalan büyük hücre gruplarını hedef almaktadır. İmaginal diskler larval gelişim sırasında mitozla çoğalır ve metamorfozla ergin bireyin farklı vücut yapılarını oluşturur. Eğer bu imajinal disk hücrelerinin herhangi birinde bir genetik değişiklik olursa bundan sonraki oğul hücrelere bu değişiklik aktararak mutant hücre grupları oluşur. Bu genetik değişiklik fenotipte gözlenebilen bir değişikliğe neden olursa, mutant hücre grupları ergin sineğin kanatlarında ve gözlerinde mutant hücre benekleri olarak ortaya çıkar. SMART, uygun gen işaretlerinin heterozigotluğunun kaybını temel alınarak geliştirilmiştir. Böylece heterozigotluğun herhangi bir mutasyonla kaybedilmesi mutant fenotipin ortaya çıkmasına neden olur [39,40]. Bu çalışmada *Drosophila melanogaster*' in kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ya da diğer adıyla kanat benek testi kullanılmıştır.

1.4.1.Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi

Bu testte fenotipik etkisi kanat üzerinde gözlenebilen iki işaret gen kullanılmaktadır. Bu genlerden ilki çoklu kanat kılı (*mwh*) genidir. Bu mutant gen üçüncü kromozomun sol kolunun uca yakın bölümünde lokalize olmuştur (3-0.3). Resesif bir gen olup homozigot (*mwh/mwh*) olarak *mwh* stokları olarak yaşatılabilir. Homozigot olarak bulunduğu zaman hücre başına bir kanat kılı yerine çoklu kanat kıllarının oluşumuna neden olur [41]. Diğer işaret geni *flare* (*flr*³) ise kanat kıllarının şeklini etkileyen resesif mutant bir gendir. Bu gen de yine üçüncü kromozomun sol kolunda fakat sentromere daha yakın (3-38.8) olarak yer alır. *Flare* geninin üç mutant alleli bilinmektedir ve hepsi de homozigot letaldır (*flr* için homozigot olan zigotlar ergine gelişemez). Fakat heterozigot bir bireyin kanat imajinal disklerindeki homozigot hücreler yaşayabilir ve mutant kanat hücrelerine gelişir. Homozigot letalite nedeni ile *flr* allelleri birçok inversiyonlar ve yine homozigot letal olan dominant işaret gen taşıyan dengeleyici bir kromozomla birlikte *flr*³/*TM3*, *Bd*^S stok olarak tutulur. Bu stokta kanat kenarları testere dişi şeklindedir [42].

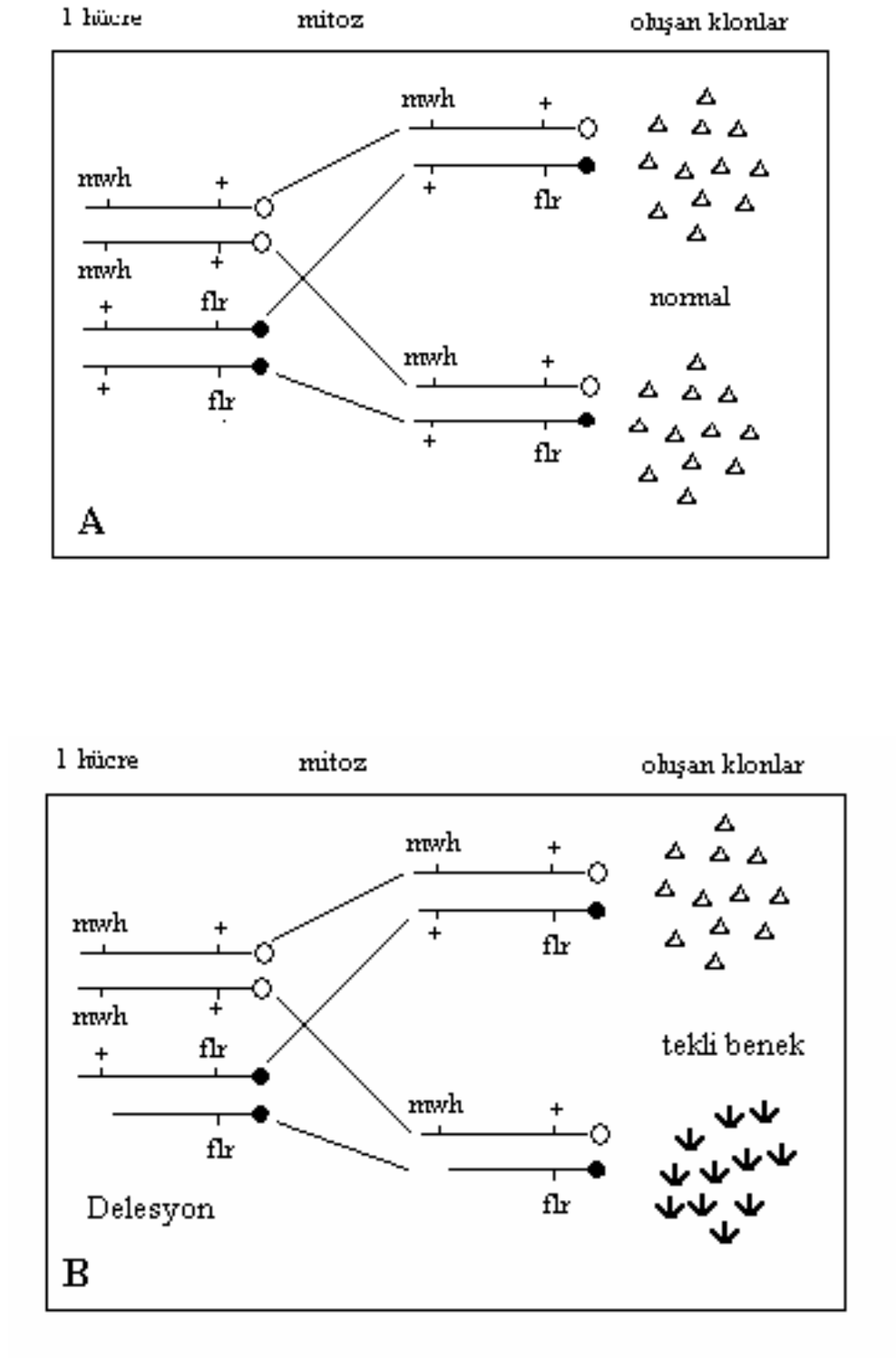
Kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde farklı mutant soyları içeren iki ayrı çaprazlama kullanılmaktadır. Bunlardan biri standart çapraz (ST) ve diğeri yüksek biyoaktivasyon (YB) çaprazıdır. Standart çapraz için $flr^3/TM3, Bd^S$ soyundan toplanan bakire dişiler *mwh* erkekleri ile çaprazlanır. Yüksek biyoaktivasyon çaprazında ise $ORR/ORR; flr^3/TM3, Bd^S$ soyunun bakire dişileri ve $NORR/NORR; mwh$ erkekleri kullanılır. Yüksek biyoaktivasyon çaprazında kullanılan bu soylar *Drosophila melanogaster*'in DDT' ye dirençli Oregon-R soyundan geliştirilmiştir. Diğer mutant soylara ($flr^3/TM3, Bd^S$ ve *mwh*) kıyasla daha yüksek sitokrom P 450 seviyesine sahiptir. Yüksek biyoaktivasyon çaprazı ile birçok pro-mutajenin artan genotoksitesi gösterilmiştir [42,43,44,48].

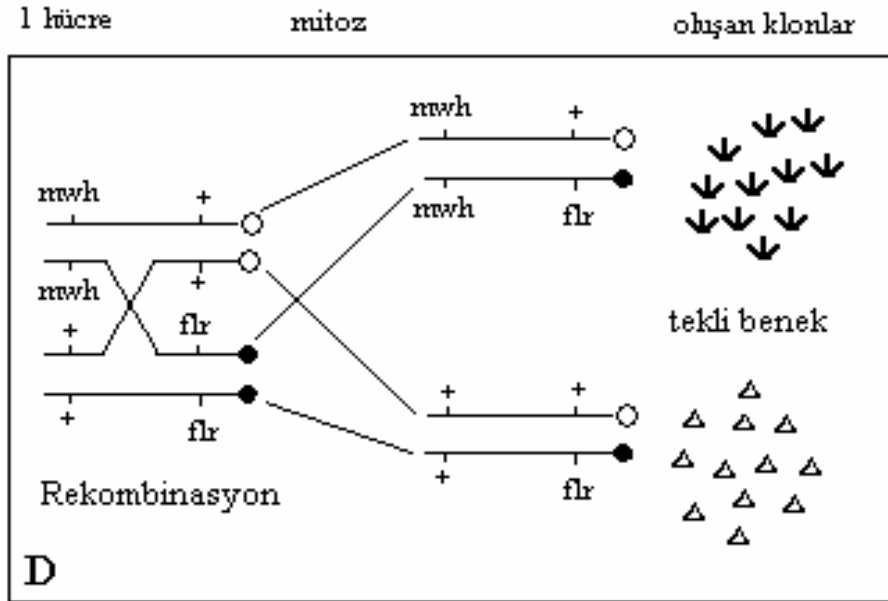
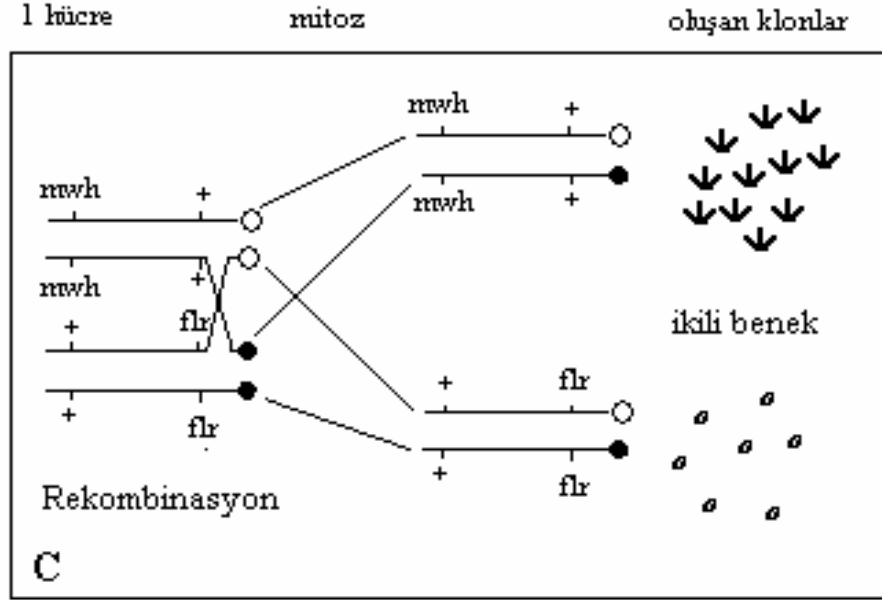
Her iki çalışmada da heterozigot larvalara olası mutajen uygulanır. Bu larvalardan gelişen ergin bireyler kanatlarda beklenen somatik mutasyonu belirlemek amacı ile analiz edilir. Erginler fenotipik olarak ayırt edilebilen iki farklı fenotipe sahiptir. (a) Trans-heterozigot bireyler ($mwh flr^+/mwh^+ flr^3$; yabancı tip kanatlara sahiptir). (b) Dengeleyici-heterozigot bireyler ($mwh flr^+/ TM3, Bd^S$; kanat kenarları testere dişlidir). Dengeleyici-heterozigot bireylerde çok sayıdaki inversiyonlar nedeni ile rekombinasyonlar engellenmiştir [45].

Kanat kıllarında beklenen somatik mutasyonu belirlemek amacı ile kanatlar kesilerek mikroskop altında taranır. Böylece mutasyon ya da mitotik rekombinasyon sonucu heterozigotluğun kaybedilmesi ile ortaya çıkan mutant hücre klonları araştırılır. Mutant hücre klonları farklı benek gruplarına ayrılarak kaydedilir. Tekli benekler *mwh* veya *flr* fenotipinde iken ikili benekler *mwh* ve *flr* fenotiplerini birlikte taşımaktadır. Tekli benekler arasında 1-2 hücreli olanlar küçük tekli benek olarak isimlendirilirken 3 ve daha fazla sayıda hücre gruplarından oluşan beneklere ise büyük tekli benekler denir. Ayrıca somatik hücrelerde genetik değişikliğin indüksiyon zamanı ve beneklerin büyüklüğü arasında pozitif bir ilişkinin olduğu belirtilmektedir. Eğer mutasyon, hücre bölünmesinin yoğun olduğu erken dönemde olursa bu mutant hücreden köken alan benekler daha fazla hücre içerecek ve daha büyük olacaktır [46,47].

İstatistik analizlerde kanat beneklerinin içerik ve büyüklüğüne göre sınıflandırılması (küçük tekli benek, büyük tekli benek ve ikili benek) ile oluşturulan veriler kullanılmaktadır. Tekli benekler *mwh* veya *flr* fenotipindeki hücrelerden oluşurken ikili benekler ise *mwh* ve *flr* fenotipini gösteren hücre gruplarının birlikte bulunduğu beneklerdir [48]. Beneklerin farklı tipleri farklı genetik mekanizmalar nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Tekli benekler, nokta mutasyon, delesyon ve iki işaret gen (*mwh* ve *flr*)

arasındaki mitotik rekombinasyonla oluşurken ikili benekler 3. kromozomun sentromeri ve *flr* geni arasındaki mitotik rekombinasyon sonucu oluşmaktadır (Şekil 1.2. A, B, C, D).





Şekil 1.2. Tekli ve ikili beneklerin oluşumuna neden olan farklı genetik mekanizmalar [46]. **A:** Normal kanat kıllarının oluşumu, **B:** Delesyon sonucu tekli benek oluşumu, **C:** Mitotik rekombinasyon sonucu ikili benek oluşumu, **D:** Mitotik rekombinasyon sonucu tekli benek oluşumu

1.5. Serbest Oksijen Radikalleri ve Detoksifikasyon Sistemleri

Serbest radikaller veya reaktif oksijen türevleri yaşamın önemli bir gerçeğidir. Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Moleküler oksijenin tek elektron ile kısmi indirgenmesi sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin

başlıcaları; süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroperoksit ($HO_2^{\cdot}$) ve peroksit ($O_2^{2\cdot-}$) radikalleridir. Normal metabolizma sırasında oluşturulduğu gibi UV, X ışınları, ilaçlar, kirleticiler, metal iyonları ve ksenobiyotikleri içeren çeşitli çevresel etmenler nedeni ile de indüklenmektedir [49]. Serbest radikaller protein inaktivasyonuna ve membranda lipid peroksidasyonuna neden olarak hücrenin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü bozmaktadır. Ayrıca DNA ya bağlanarak kardiovasküler hastalıklar ve çeşitli kanser tiplerini de içine alan bir çok hastalığa ve yaşlanmaya neden olmaktadır [50]. İlave olarak çevresel kirleticilere uzun süre maruz kalmalar, oksidatif strese neden olabilmektedir. Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir [52]. Oksidatif stres, toksisitenin olası bir mekanizması olarak son yıllarda toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir.

Organizma serbest radikallere karşı savunma mekanizması geliştirmiştir. Bu savunma mekanizması süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GPX) gibi enzim sistemleri ile glutatyon gibi enzim olmayan bileşikler içermektedir. Bu sistemlerin birçoğunun sağlıklı çalışması askorbik asit, beta karoten, vitamin E, çinko, demir, manganez ve selenyum gibi antioksidanların yeterli düzeyde alınmasına bağlıdır [51]. Bununla ilişkili olarak antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinogenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir.

1.6. Detoksifikasyon Enzimleri ve Glutatyonun Genel Yapısı ve İşlevleri

Bütün aerobik organizmalarda makromoleküllere zararlı olan serbest radikaller, normal metabolizma boyunca sürekli olarak üretilmektedirler [53]. Antioksidan enzimleri serbest radikal türevlerini temizleyen enzimlerdir. [56]. Bu enzimler günlük yaşamdaki serbest radikal ürünlerine karşı koymak için yeterlidirler. Stresli koşullar için güçlü bir savunma mekanizması oluşturduklarından stres enzimleri olarak da tanımlanırlar [57].

Drosophila melanogaster, sitozolik Cu/Zn ve mitokondrial Mn bağımlı mikokondrial SOD, katalaz, glutatyon (GSH) ve glutatyon redüktaza (GR) sahiptir ama glutatyon peroksidaza sahip değildir. Bu enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD),

süperoksit radikallerini hidrojen perokside dönüştürürken, katalaz ve GSH peroksidaz, hidrojen peroksidi suya dönüştürür. GR redüktaz ise okside glutasyonu redükte forma dönüştürür.

1.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Antioksidatif savunmayı sağlayan enzimlerden biri olan SOD, bütün aerobik hücrelerde oldukça zararlı olan oksijen radikali ($O_2^{\bullet}$) karşı interselüler savunma yapmaktadır [58]. SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürün, oksijenin toksik ürünlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir. Bu yüzden katalaz ile birlikte incelenmelidir [59]. SOD bir metalloenzimdir ve mikroorganizmalardan en yüksek yapılı canlılara kadar, aerobik koşullarda yaşayan canlıların bütün doku, hücre ve hücre organelleri SOD içerirler [60].

SOD enzimi, kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre, bakır ve çinko içeren, mangan içeren demir içeren dismutazlar olmak üzere üçe ayrılır. Cu ve Zn içeren dismutazlar, bu üç grup içerisinde en yüksek katalitik etkiye sahip olanlardır. Dismutasyon bakır ile $O_2^{\bullet}$ radikali arasındaki etkileşimle yapılmaktadır. Bu enzim tüm ökaryotik hücrelerin mitokondri matriksleri hariç bütün organellerinde bulunur. Mangan içeren dismutazlar, bütün prokaryotik hücrelerde bulunan, molekül ağırlığı 40 000 olan ve iki alt birimden oluşan dismutazlardır. Bu alt birimlerin her biri birer atom mangan içerir. Mitokondri dismutazı, 80 000 molekül ağırlığında ve tetramer yapıya sahiptir ve diğer prokaryotik hücrelerdeki dismutazlarla benzerdir. Aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında primer yapıları da birbirine çok benzemektedir. Mn-SOD ile Cu-Zn-SOD yapısal özellik bakımından birbirine benzemezler [61,62].

1.6.2. Katalaz

Katalaz bütün memeli hücrelerinde, bitkilerde ve aerobik mikroorganizmalarda bulunan ve hücreden serbest radikal türevlerini ve serbest oksijen radikallerini uzaklaştıran bir antioksidan sistem enzimidir. Hücrede karaciğer peroksizomları, böbrek veya beyin mikropersizomları gibi subselüler organellerin iç kısmında ve rat kalbi mitokondri matriksinde yer almaktadır. Aktif merkezinde 4 tane “ferrihem” grubu bulunmaktadır. Tetramerik bir yapıya sahip olup, molekül ağırlığı 240 000’ dir [63].

Katalaz hücre için toksik olan hidrojen peroksiti suya ve moleküler oksijene katalizler. Katalaz aktivitesini, hidrojen peroksitin katalitik reaksiyonu veya alifatik alkollerin peroksidasyonu yoluyla gerçekleştirir. Substrat olarak etanol, metanol, civa buharı ve L- dopa, quaiacol, pyrogelol gibi aromatik bileşikler kullanır [63].

Drosophila katalaz enziminin yapısal geni 3. kromozomun sol kolu üzerinde 75D1-76A konumundadır. Katalaz aktivitesi, *Drosophila* gelişimi süresince iki geniş pik yapar. Bu dönemler üçüncü geç instar larva ve pupa aşamalarıdır. Ergin bireyler oluştuktan sonra katalaz aktivitesi durgun hale geçmektedir [64].

Yapılan bir araştırmada, yaşlanan *Drosophila melanogaster* erkeklerinde katalaz enzim aktivitesinin azaldığı tesbit edilmiştir. Deney ortamına dietle hidrojen peroksit eklenen gruplarda ise yaşlanan sineklerde ölüm artmıştır. Bu sonuç bize yaşlanan sineklerde katalaz aktivite kaybına bağlı olarak hidrojen peroksite duyarlılığın arttığını belirtmektedir [65].

1.6.3. Glutasyon Redüktaz

Okside glutayonu (GSSG) redükte glutatyon (GSH) NADPH'ya bağımlı olarak katalizleyen bir flavoproteindir. Elektronlar FAD' e sadece NADPH' dan transfer edilirler. Sonra alt unitelerde iki sistein rezidüsü arasında bir disülfid köprüsü kurulur ve sonuçta okside glutatyon meydana gelir (GSSG). Her bir alt ünite bir FAD bağlayıcı domain, bir NAD bağlayıcı domain ve bir interfeys domaini olmak üzere üç yapısal domain içermektedir. Okside glutatyon için bağlayıcı taraf, bir subünitin FAD domaini ve diğer altunitin domainleri tarafından şekillenmiştir [66].

Bu reaksiyon glutatyon seviyesinin korunumu için önemlidir. Glutatyon redüktaz, fotosentetik siyanobakteriler gibi çok sayıda farklı organizmalardan elde edilmektedir [67].

GSSG olmadığı durumlarda NADPH' ın hücre içi seviyesinin düşmesi glutatyon redüktazı inaktive etmektedir. Bu yüzden fizyolojik GSH-GSSG oranı önemlidir. Oksidatif bir stres sonucu GSSG'nin hücre içi seviyesi artınca glutatyon redüktaz yeniden aktive olmaktadır [68].

1.6.4. Glutasyon S- Transferaz

Glutasyon S- transferaz (GST) insanda bir çok dokuda geniş dağılıma sahip, geniş işlevli ve geniş spektrumlu substrat özgülüğü olan bir enzimdir. Sitozolik glutasyon S transferaz (GST) pek çok kuvvetli çevresel karsinojeni detoksifiye eder ve bu özelliği ile GST, potansiyel toksik kimyasallara maruz kalan organizmalarda savunma görevini üstlenir. Bu görevini, GSH'ın -SH grubuyla, ilgili bileşiklerin elektrofilik bölgelerini nötralize ederek gerçekleştirir. Oluşan ürün merkaptürik asittir ve vücuttan idrar ile atılır.

Glutasyon S-transferaz tripeptid glutasyonun thiol grubu ile reaktif bir elektrofilik merkeze sahip organik moleküllerin konjugasyonunu katalize eden bir enzim grubudur [69].

Nükleofil glutasyon ile birlikte ksenobiotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadır. Ayrıca sitokrom P-450 tarafından üretilen reaktif ara ürünlerin detoksifikasyonunda ve lipid peroksidasyonuna karşı hücre membranlarının korunmasında görev almaktadır. Glutasyon S transferaz izoenzimleri ksenobiotik metabolizmasındaki önemli enzimlerdendir [70].

Drosophila melanogaster' de GST' ın başlıca iki formu vardır. Bunlar GST D ve GST 2'dir. *Drosophila stimulans'* da ise GST' ın üçüncü bir formu daha vardır [71].

GST D (Delta sınıfı), *Drosophila'* da üçüncü form ile birlikte insektisitlere direnci arttırmaktadır. GST 2 ise daha çok böceğin özellikle uçuş kaslarında bulunduğu tesbit edilmiştir [72].

Herbisit olarak kullanılan oxadiazolone ile 1-chloro-2,4-dinitrobenzenin *Drosophila melanogaster'* de çeşitli gelişimsel dönemlerdeki GST aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda enzim aktivitesinin ergin ve pupa aşamalarında arttığı gözlenmiştir [73].

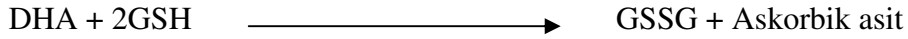
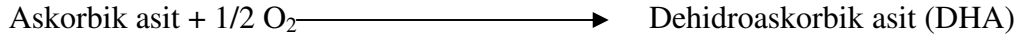
1.6.5. Glutasyon

Serbest radikallere ve ksenobiotik zarara karşı hücresel savunmada önemli bir rol oynayan glutasyon, doğada çok yaygın olarak bulunan sülfürlü bir bileşiktir.

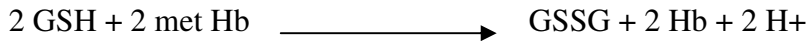
1921 yılında Hopkins tarafından keşfedilmiş ve daha sonra 1935 yılında Harrington ve Mead tarafından δ -L-glutamil-L-sistein-glisin halinde sentezlenmiştir [74].

Glutasyon aerobik yaşamın zararlı yan ürünlerinden hidrojen peroksit ve organik peroksitler ile reaksiyona girerek detoksifikasyonda anahtar bir rol oynar. Bir tripeptid olan glutasyon, aminoasit taşıyıcısı ve sülfidril tamponu olarak görev yapan, önemli bir endojen antioksidanttır. Proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halinde tutar ve böylece bu grupları oksidasyona karşı koruyarak fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Ayrıca oksidasyon-redüksiyon işlemlerinde önemli bir redüktant role sahiptir [73].

Glutasyon proteolitik enzimlerin çoğundan etkilenmez. GSH olarak gösterilen redükte glutasyon, bitkilerde oksijenin alınmasında önemli rol oynamaktadır. Oksijen askorbik asitle birleşerek dehidroaskorbik asit (DHA) oluşur. DHA glutasyon ile redüklenerek askorbit asit meydana gelir ve iki glutasyon molekülü disülfid bağı ile birbirine bağlanır yani oksitlenir ve GSSG oluşur.



Glutasyon, kofaktörü NADPH olan glutasyon redüktaz enzimi tarafından indirgenerek GSH formunda alyuvarlarda tutulur ve alyuvarları oksidatif zarardan korur. Ayrıca GSH methemoglobinin, tekrar hemoglobine indirgenmesinde görev alır.



GSH çevredeki oksidant maddelerin etkisini üzerine çekerek hücrenin fonksiyonel proteinlerinin oksidasyonunu engeller. Bunun için kendisi oksitlenir ve iki glutasyon molekülü disülfid bağı ile birbirine bağlanır (GSSG). Bu molekülün fonksiyonunu yapabilmesi ancak, indirgenmiş NADPH + H⁺ ların kullanılması ve glutasyon redüktaz (GSSG redüktaz) enzimi aracılığıyla glutasyonun tekrar indirgenmesi gerekmektedir.

Ayrıca GSH, redükte durumda E ve C vitamini gibi antioksidantlar ve diğ er serbest radikal süpürücülerinin çalışmasında önemli bir role sahiptir [73].

GSH' ın diğ er bir fonksiyonu da oksidatif strese karşı eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini korumaktır [74].

2- KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Tekstil Atık Suları ve Boyar Maddelerin Çeşitli Organizmalardaki Toksik ve Genotoksik Etkileri ile İlgili Çalışmalar

U.S. çevresel koruma ajansı (EPA) (TRI: toksik madde salınım kayıtları) tarafından 1994 yılı boyunca kaydedilen verilere göre U.S’ de 2.26 milyar pound (pound= 454 gr) toksik madde çevreye salınmıştır. Bu toksik maddelerin salınım oranlarının %68.8’i havaya, %12.8’ i toprağa %15.4’ ü yeraltına sızma ve %2.9’ u yüzey sularına olduğu tesbit edilmiştir. Bu maddelerin çoğu kompleks karışım bileşenleri olarak, sıvı atık formunda ve katı atık formunda olmak üzere havaya ve suya yayılmaktadırlar. Bu yayılım sonrasında, kimyasal ve biyolojik transformasyon nedeniyle daha önceden tanımlanmamış, yeni toksikantlar da meydana gelmektedir. Standart kimyasal analizler, bu karışımların kimyasal kompozisyonunun ve karakterizasyonunun tesbit edilmesinde yeterli değildir. Dolayısıyla çevre ve insan sağlığını her geçen gün daha da fazla tehdit eden bu maddelerin, kanserojenik ve genotoksik zararlarının belirlenmesine ilişkin çalışmalara olan gereksinim her geçen gün artmaktadır [75].

Endüstriyel atıkların genotoksitesisi üzerine yapılan çalışmalar Houk (1992) tarafından derlenmiştir. Buna göre çalışmaların yaklaşık olarak %60’ında Salmonella testi, %22’ sinde diğer gen mutasyon deneyleri, %10’ unda kromozomal deneyler, %7’ sinde DNA hasar deneyleri, %2,5’ inde *in vivo* hayvan deneyleri yapılmıştır. Salmonella testinin yüksek oranda çalışılmasının sebebi, kolay ve ucuz olması, kompleks karışımların değerlendirilmesi için kullanışlı olması, genotoksik aktiviteyi kapsayan kimyasal kısımların izolasyonu ve tanımlanmasına olanak sağlamasıdır [76].

Mc.George vd. (1985) Salmonella testini kullanarak, petrol rafinerisi, organik bileşik endüstrisi, reçine imalathanesi ve boya imalathanesi gibi 27 endüstriyel alanı kapsayan bir çalışma yapmışlardır. Özellikle boya ve organik madde üretiminden salınan atıkların genotoksik etkiye sahip olduklarını rapor etmişlerdir [77].

White vd. (1996) geniş bir endüstriyel yerleşimden salınan 42 atığın genotoksitesisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, metal rafineri işletmelerinin, petrol rafinerilerinin, kağıt ve kağıt hamuru imalathanelerinin atıklarının mutajenik olduğunu belirlemişlerdir [78].

Sarma vd. (2000) Hindistan’ da yaygın olarak kullanılan, Sulphur Red Brown 360 (SRB), Jade Gren 2G (JG), Reactofix Turquoise Blue 5GFL (RTB) ve Direct Scarlet

4BS (DS) boyalarının, *Bacillus subtilis* üzerinde doz artışına bağlı olarak büyümeyi inhibe ettiğini gözlemişlerdir [79].

Popüler bir tekstil boyası olan Omega Red ME' nin, bir siyano bakteri olan *Nostoc calcicola* üzerine etkileri araştırılmıştır. *N. calcicola*' nın büyümesi, kullanılan yüksek dozlarda (10-20 ppm) baskılanmıştır [80].

Halı, yün ve tekstil endüstrisinde çok geniş bir kullanım alanı olan Metamega chrome turuncu GL'nin, siyanobakteri olan *Nostoc muscorum* üzerine toksik etkileri araştırılmıştır. Düşük konsantrasyonlarda protein ile pigment içeriği ve fotosentetik oksijen gelişimi üzerine etkisi önemsiz bulunurken, yüksek konsantrasyonlarda çok önemli bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda protein, klorofil a, fikosiyanın ve karotenoid içeriğinin sırası ile % 72, 76, 54 ve 17 oranında azaldığı belirtilmiştir [81].

Jager vd. (2004) farklı tekstil boyalarının mutajenik etkilerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, farelerde fare lenfoma hücre yöntemi (MLA) testi ve *Salmonella typhimurium*' da Ames testini kullanmışlardır. Kullanılan dokuz boyanın, her iki deney grubunda da mutajenik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir [82].

Diğer bir çalışmada pek çok alanda yaygın olarak kullanılan azo boyalarının kimyasal yapısı ile mutajenik aktivitesi arasında bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Bu boyaların ağız yoluyla alınımını takiben, bağırsak mikroflorası ya da karaciğer azoredüktazları ile aromatik aminlere, aromatik aminlerin ise memeli mikrozom enzimleri tarafından daha genotoksik bileşiklere metabolize edildikleri belirtilmektedir. Bu aromatik aminlerin pek çoğunun Ames Salmonella/ mikrozom deney sistemlerinde yapılan deneyler sonucunda mutajenik özelliğe sahip olduğu bulunmuştur. Karboksilasyon, deaminasyon ya da alkol veya asetil grubunun amino grubundaki hidrojenle yer değiştirmesinin mutajenik aktiviteyi azalttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda azo boyaların kimyasal yapısı ile mutajenite arasında bir ilişki olduğu tesbit edilmiştir [83].

Diğer bir çalışmada, reaktif boya ortamında büyüme ve bioakümülyasyon özelliğine sahip olan *Saccharomyces cerevisiae*, ile remazol mavi, remazol siyah B, remazol kırmızı RB olmak üzere üç diazo reaktif boya ile çalışılmıştır. Tüm boyalarda, bioakümülyasyon için optimum pH:3 olarak tanımlanmıştır. Tüm boyalarda konsantrasyon düştükçe bioakümülyasyon yüzdesi artmıştır. Boya konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak, mayanın üremesi inhibe edildiği için lag safhasında uzama rapor edilmiştir. İncelenen boyalar içinde en yüksek bioakümülyasyon remazol siyah B

grubunda gözlenmiştir. Bu çalışma, çeşitli tipteki reaktif boyaların uzaklaştırılmasında kullanılabilir. Fakat bir endüstriyel alanda, uzun süreli bioakümülyasyon sağlanamayacağından dolayı bu teknik üzerinde iyice çalışılarak geliştirilmelidir [84].

Khanna ve Saeville (2001) hava alanı personeline yaptıkları araştırmada, azo boyası olan disperse blue dyes 106 ve 124'ün mesleki kontak dermatite neden olduğu bulunmuştur [85].

Ayrıca toplam 788 hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada, disperse blue 106 ve disperse blue 124 tekstil boyalarının kontak dermatite neden olduğu bulunmuştur [86].

İsrail'de yapılan bir araştırmada, tekstil boyası olan disperse kırmızı, disperse mavi, basic kırmızı boyalarının değişik grupları çalışılmıştır. 36' sını kadın, 19' u erkek olan 55 hasta üzerinde yapılan araştırmada bu boyaların kontak dermatite neden olduğu bulunmuştur. En yüksek alerjik etki disperse mavi 124 boyasında gözlenmiştir [88].

Diğer bir çalışmada, 1921-1951 yılları arasında, mesane kanseri nedeniyle ölen 127 hastanın dördünün azo boyası üretim tesislerinde çalıştığı saptanarak azo boyalarının mutajenik etkiye neden olabileceği belirtilmiştir [87].

Diğer bir çalışmada Suryavathi vd. (2005) tekstil fabrikası atık sularının albino rat ve farelerde erkek üreme sistemleri üzerine toksik etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada atık su 15 gün süresince oral yolla verilmiştir. Bu uygulama sonucunda vücut ağırlığında %7-25; testis, prostat bezi gibi organların ağırlığında ise %1-48 azalma gözlenmiştir. Ayrıca total protein (%14-70), kolesterol (%14-91) ve total lipid (%10-30) düzeyleri de azalmıştır. Bununla beraber prostattaki asit fosfataz aktivitesinin ise %11-44 oranlarında arttığı belirlenmiştir. Bu hayvanlardaki histopatolojik çalışma sonucunda sperm anormalliklerinde artış gözlenirken sperm sayısında ise %10-59 oranında azalma gözlenmiştir [89].

Ayrıca Przybojewska (1996), azo boyalarından direkt mavi 74, direkt mavi 296, direkt mavi 297 ve direkt yeşil 98' in genotoksik etkilerini BalbC farelerinde mikronukleus testi ile araştırmıştır. Çalışılan boyalardan hiçbir mikronukleus testinde genotoksik aktivite göstermemiş ancak, direkt mavi 297' nin her iki dozunun ve direkt yeşil 98' in yüksek dozunun farelerin kemik iliğindeki kan hücrelerinin çoğalmasını etkilediğini saptamışlardır [90].

Przybojewska vd. (1988), tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan direct siyah 19:1, direct kırmızı 81 ve acid mavi 62 boyalarının mutajenik etkilerini farelerde mikronukleus ve dominant letal testleri kullanarak araştırmışlardır. Yapılan deneyler

sonucunda tüm boyaların mikronükleus sıklığını arttırdığı ancak erkek farelerin germ hücrelerinde dominant letal mutasyon meydana gelmediği rapor edilmiştir [91].

Azo grubu bir boya olan Orange II' nin, sıçanlar üzerindeki etkilerini belirlemek için yapılan araştırmalar sonucunda, dalakda büyüme, kırmızı kan hücrelerinin sayısında ve hemoglobininde azalma görülmüştür. Ayrıca enzim aktiviteleri üzerinde önemli bir değişim olmadığı tesbit edilmiştir [92].

Sumathi vd. (2001) tekstil boyası atıklarının balıklar üzerindeki (*Cyprinus carpio*) genotoksik etkilerini SCGE (Single Cell Gel Electrophoresis) test sistemini kullanarak araştırmışlardır. Yapılan deneyler sonucunda, tekstil boyası atıklarının, balıkların eritrositlerinde ve karaciğer hücrelerinde DNA hasarını indükleyici etkiye sahip oldukları ve her iki dokuda da atık konsantrasyonun artışına paralel olarak DNA kırılmalarının da arttığını ortaya koymuşlardır [93].

Tekstil atık sularının balıklar üzerine yaptığı histopatolojik ve histokimyasal değişikliklerin araştırıldığı bir çalışmada ise oogeneze başlangıcında oogonium nükleuslarının karyolizise uğradığı, çekirdekçiklerinin kaybolduğu, oositlerde RNA ve protein miktarının azaldığı tesbit edilmiştir [94].

Khan vd. (1995) yaptıkları araştırmalarda, tekstil atık sularının *Triticum aestivum* büyümesini olumsuz yönde etkilediğini görmüşlerdir [95].

Çeşitli atık suların genotoksik etkilerinin soğan (*Allium cepa*) kök hücrelerinde araştırıldığı bir çalışmada, özellikle kağıt sanayi atık sularının en çok toksik etki gösterdiği ancak tekstil atık suyunun bu hücreler üzerinde önemli bir genotoksik etkisinin bulunmadığı gözlenmiştir [96].

2.2. *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinin (SMART) Kullanıldığı Çalışmalar

Drosophila uzun yıllardır genetik çalışmalarda model organizma olarak kullanılmaktadır. Bu süreç içerisinde herhangi bir etmenin genotoksik etkisini test etmek üzere *Drosophila*'nın kullanıldığı çeşitli testler de geliştirilmiştir. Bunlardan biri olan SMART birçok araştırmacı tarafından güvenilir standart bir test olarak önerilmektedir. Bu çalışmalardan bazılarını burada özetleyebiliriz.

Amaral ve arkadaşları (2005), Brezilya' daki kanalizasyon ve endüstriyel atıkların büyük bir kısmının, hiçbir uygulamaya maruz bırakılmadan direk olarak boşaltıldığı Cai nehrinden çeşitli dönemlerde aldıkları örneklerin genotoksik etkisini SMART testi

ile analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda atık sulara somatik hücrelerde DNA ile etkileşime girerek mitotik rekombinasyonu indükleyen genotoksinlerin bulunduğu sonucuna varılmıştır [97].

Brezilya’ daki başka bir çalışmada endüstri, şehir ve lağım sularının etkisi altındaki bir bölgeden alınan yüzey sularının mutajenik ve rekombinajenik etkileri, *Drosophila melanogaster*’ de SMART test kullanılarak araştırılmıştır. Alınan örneklerin genotoksik etkiye sahip olduğu ve mitotik rekombinasyonu indüklediği kaydedilmiştir [98].

Yeşilada vd. (1999) zeytinyağı fabrikası atık suyunun genotoksik etkisini *Drosophila* kanat benek testi ile araştırmışlardır. Zeytinyağı fabrikası atık suyunun kontrol grubu ile olan karşılaştırmaları sonucunda yüksek konsantrasyonlarda letaliteyi artırdığı ve tüm dozlarda genotoksik etki gösterdiği saptanmıştır [99].

Başka bir çalışmada dört tane prokanserojenin (potasyum kromat, siklofosamid, p-dimetilaminoazobenzen ve 9,10-dimetilantrasen) genotoksik etkisi araştırılmıştır. Deneyde standart çaprazı ile promutajen ve prokanserojenlere daha duyarlı olan yüksek bioaktivasyon çaprazı birlikte kurulmuştur. Çalışmalar sonucunda bu dört bileşiğin doz artışına bağlı olarak rekombinajenik aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur [100].

İnsan meme kanserini önlemek için antiöstrojen olarak kullanılan fakat rahim kanseriyle ilişkisi olan Tamoxifen’ in genotoksik etkisi araştırılmış ve zayıf genotoksik etkili olduğu rapor edilmiştir [101].

Diğer bir çalışmada lösemi tedavisinde kullanılan 1-D arabinofuranosilotozin (araC) ve 5-azo 2 deoksistidin (5-azo-dC) ilaçlarının genotoksik etkisinin araştırıldığı çalışma sonucunda ara-C’ nin %77 ve 5-azo-dC’ nin %81 oranında rekombinasyona neden olduğu belirlenmiştir [102].

Frei ve Würigler (1997), kimya endüstrisinde birçok sentezde giriş maddesi olarak kullanılan 1,3-dikloro-2-propanol ve besin endüstrisinde çeşitli soslar ve hazır çorbaların üretiminde kullanılan 3-kloro-1,2-propandiol ile 2-kloro-1,3-propandiol bileşiklerinin genotoksisitesini kanat benek testi ile araştırmışlardır. Sonuçta her üç maddenin de bu *in vivo* testte genotoksik etkiye neden olmadığını saptamışlardır [103].

Herbisid olan bentazon, molinat, tiobencarb ve trifluralin’ in genotoksik etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise standart çapraz ve yüksek bioaktivasyon çaprazlarından farklı sonuçlar alınmıştır. Buna göre bentazonun yalnızca yüksek bioaktivasyon çaprazında, tiokarbamat ve tiobencarb’ in ise standart çaprazda ve yüksek dozlarında pozitif sonuç verdiği belirtilirken molinatın hem yüksek bioaktivasyon hem de standart çaprazda pozitif sonuç verdiği rapor edilmiştir [104].

Bakterilerde mutasyonları indükleyici olarak bilinen nükleosid analogu olan N4-aminositidinin *Drosophila melanogaster*' de de wing spot test sonucunda somatic mutasyonları indüklediği, hem ikili beneklerin hem de küçük tekli beneklerin oluşumunu artırdığı gözlenmiştir [105].

Ayrıca reaktif oksijen türevlerinin toksik ve genotoksik etkisi somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile araştırılmıştır. Bu amaçla diquat, paraquat, menadione, juglone, plumbagin, streptonigrin, tert-butyl hidroperoksit, 4-nitroquinoline 1-okside, isimli sekiz reaktif oksijen türü kullanılmıştır. Çalışma sonucunda bu kimyasalların toksik ve genotoksik etkiye sahip oldukları bulunmuştur [108].

SMART testi çeşitli etmenlerin genotoksik etkilerini belirlemenin yanında antigenotoksik aktiviteyi belirlemek için de kullanılmaktadır. Aşağıda bu kapsamda yapılan bazı çalışmalar özetlenmiştir.

Lassmar vd. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada (*Apis mellifera*)' nın tomurcuklarından elde edilen halk arasında iltihap iyileştirici olarak kullanılan doğal reçineli bir maddenin (propolis) antigenotoksik aktivitesini araştırmışlardır. Standart ve yüksek bioaktivasyon çaprazlarının her ikisinden de benzer sonuçlar elde edilmiş ve bu maddenin anti-rekombinajenik etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca kullanılan dozların artışına bağlı olarak bu anti-rekombinajenik etkinin arttığı rapor edilmiştir [110].

Diğer bir çalışmada genisteinin antimutajenik etkileri *Drosophila melanogaster*' de wing spot test kullanılarak araştırılmıştır. Deneyler sonucunda genisteinin antimutajenik etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Özellikle Trp-P-2 ile indüklenen mutajenite, besiyerine eklenen genisteinin konsantrasyonunun arttırılması ile dikkate değer bir oranda inhibe edilmiştir [111].

Üretan bir promutajendir ve SMART ile yapılan antigenotoksisite çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda antigenotoksik olduğu düşünülen maddelerin bu etkisi üretan ile oluşturulan mutasyona karşı kullanılmaktadır. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada üç tane esansiyel yağın antigenotoksik etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak her üç yağın da üretandan kaynaklanan mutasyonların sayısını azaltarak antigenotoksik etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca bu üç yağdan eşit oranlarda oluşturulan bir karışımın antigenotoksik etkisinin en yüksek olduğu da bulunmuştur. Bu yağların antigenotoksik etkisinin; bileşenlerinin sitokrom P-450 aktivasyon sistemi ile etkileşerek oluşan aktif metabolitlerin sayısını azaltmasından kaynaklanabileceği belirtilmektedir [112].

Karekar vd. (2000) vitamin E, kafeik asit ve glutatyonun antimutajenik etkilerini *Drosophila melanogaster*' de wing spot test kullanarak araştırmışlardır. Bu amaçla mutajen olarak aflatoksin B₁ kullanmışlardır. E vitamininin herhangi bir antimutajenik etkisi görülmezken kafeik asit ve glutatyonun aflatoksin B₁ tarafından indüklenen mutasyonlara antimutajenik etki gösterdikleri tesbit edilmiştir [113].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Organizma

Bu çalışmada *Drosophila melanogaster* türüne ait farklı mutant soylar kullanılmıştır. Bu stoklar ve özellikleri aşağıda özetlenmiştir [39,43].

(1) $flr^3/ln(3LR)TM3, ri p^p sep l(3)89Aa bx^{34s} e^S Bd^S$: Bu mutant soy flare (flr^3) mutasyonunu taşımaktadır. flr^3 kanat kıllarının şeklini etkileyen resesif bir mutasyondur ve üçüncü kromozomun sol kolunda fakat sentromere daha yakın olarak yer alır (3-38.8). flr^3 'ün üç mutant alleli bilinmektedir ve hepsi de homozigot letaldır. Fakat kanat imajinal disklerindeki homozigot hücreler yaşayabilir ve mutant kanat hücrelerine gelişir. Homozigot letalite nedeni ile kanat kenarlarının testere dişi şeklinde olmasına neden olan dominat bir mutasyon olan Bd^S ile heterozigot olarak tutulur.

(2) $NORR/NORR; flr^3/ln(3LR)TM3, ri p^p sep l(3)89Aa bx^{34s} e^S Bd^S$: Bu mutant soyun genotipi yukardaki mutant soya benzerdir. Bu mutant soy yukarıdakinden farklı olarak DDT'ye dirençli Oregon-R' den geliştirilmiştir ve daha yüksek sitokrom P-450 seviyesine sahiptir.

(3) mwh/mwh : Bu mutant stok mwh (çoklu kanat kılı) mutasyonunu taşımaktadır. mwh mutasyonu üçüncü kromozomun sol kolunun uca yakın bölümünde lokalize olmuştur (3-0.3). Homozigot mwh soyu olarak yaşatılabilir ve bu durumda kanat hücrelerinde hücre başına bir kanat kılı (trikom) olması gerekirken çok sayıda kanat kılı oluşur.

(4) $NORR/NORR; mwh/mwh$: Bu mutant soyun genotipi yukardaki mutant soya mwh/mwh benzerdir. Ondan farklı olarak DDT'ye dirençli Oregon-R'den geliştirilmiştir ve daha yüksek sitokrom P-450 seviyesine sahiptir.

Bu stoklar üniversitemize 1996 yılında Zürich Üniversitesinden Dr. Ulrich Graf (Swiss Federal Institute of Technology) tarafından gönderilmiş ve Üniversitemize getirildikleri tarihten itibaren kendileştirilerek genetik yönden homojen olarak yaşatılmaktadır.

3.2. Çalışmada Kullanılan Çaprazlamalar

Çalışmada biri standart çapraz (ST) diğeri yüksek bioaktivasyon çaprazı (YB) olmak üzere farklı seviyelerde sitokrom-P450 aktivitesine sahip iki ayrı çapraz kuruldu. Standart çaprazı kurmak için mwh erkekleri ile $flr^3/TM3, Bd^S$ soyunun bakire dişileri

kullanıldı. Yüksek bioaktivasyon çaprazı için ise *NORR/NORR*; *mwh* erkekleri ile *NORR/NORR*; *flr³/TM3*, *Bd^S* soyunun bakire dişileri kullanıldı.

3.3. Kullanılan Tekstil Boyar Maddeleri

Deneylerimizde tekstil sanayinde yaygın olarak kullanılan altı boya test edilmiştir. Seçilen boya maddeleri astrazon sarı GL-E, astrazon siyah FDL, chrocion sarı H-E4G, chrocion kırmızı H-E3G remazol turkuaz mavisi G-A ve remazol kırmızı RR, boyalarıdır. Ticari karakterdeki bu boyar maddeler İPAŞ Tekstil A.Ş. (Malatya)' dan temin edilmiştir. Bu boyalardan astrazon sarı GL-E, metil içeren bir boyadır. Astrazon siyah FDL oxazin, azosiyanin, azo ve metil karışımından oluşan bir boyadır. Remazol turkuaz mavisi G-A bakır içeren %2.3 reaktif fitalloşiyenin bir boyadır. Remazol kırmızısı RR reaktif azo boyadır. Chrocion sarı H-E4G ve chrocion kırmızı H- E3G boyalar ise yine reaktif boyalarıdır. Bu boyalardan üçü (remazol kırmızısı RR, chrocion sarı H-E4G, chrocion kırmızı H-E3G) reaktif özelliktedir. Bu boyalar elyaf yapısındaki fonksiyonel gruplar ile kovalent bağ oluşturabilen reaktif gruplar içerirler [114]. Astrazon sarı ve astrazon siyah, azo grubu içeren boyalardır. Kimyasal yapısı esas alınarak yapılan sınıflandırmada astrazon boyar maddeleri, polimetil boyar maddeleri sınıfında yer alır. Ayrıca tekstil fabrikası atık suyu Malatya Gap Tekstil Sanayinden alınmıştır.

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Agar agar, dietil eter, propionik asit, gliserol, kloral hidrat Merck' ten; ortofosforik asit Atabay Kimya Sanayi Ltd. şirketinden; arap zımkı (gum arabic) Sigma' dan; tekstil boya maddeleri İPAŞ' tan; hazır *Drosophila* besiyeri; Ward' s Biology' den temin edildi. Enzim çalışmalarında kullanılan sitokrom-c, ksantin, ksantin oksidaz, GSSG (okside glutatyon), GSH (Redükte glutatyon), DTNB{(5-5'ditiyobis (2-nitrobenzoik asid))}, GSSG-redüktaz, SOD (süperoksid dismutaz), NADPH (B-Nikotinamid Adenin dinükleotid (redükte) Sigma Chemical Company' den, NaOH, KH₂PO₄, K₂HPO₄, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, EDTA (Etilen diamin tetra asetik asid) H₂O₂ Merck firmasından temin edildi.

3.5. Deney Koşulları

Deneyde kullanılan bütün stok kültürler ve kurulan deney sistemleri $25\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve %40-60 bağıl nem ve sürekli karanlık koşullarda Biyoloji Bölümü' ndeki kültür odasında tutuldu. Çalışmalar sırasında sinekler sadece, eşleştirme, aktarma, virjin toplama, larva toplama ve preparat hazırlama işlemleri için aydınlık ortama alındılar.

3.5.1. Besiyerinin Hazırlanması

Laboratuvarımızda stok kültürler standart *Drosophila* besiyerinde tutulmaktadır [115]. Standart *Drosophila* besiyerini hazırlamak için gerekli maddeler; mısır unu, toz şeker, bira mayası, agar, asit karışımı ve distile sudur (Çizelge 3.1). Anti-fungal amaçlı olarak kullanılan asit karışımı ise ortofosforik asit, propionik asit ve distile sudan oluşmaktadır (Çizelge 3.2).

Besiyerini hazırlamak için asit karışımı dışındaki tüm maddeler, belirtilen ölçülerde karıştırılarak kaynatılır ve kısık ateşte 5-10 dakika pişirilir. Sonra bu karışım ateşten indirilip gerekli miktarda asit karışımı ilave edilerek iyice karıştırılır. Besiyeri henüz sıcakken stok yapmak için kullanılan ve önceden steril edilmiş 250 ml' lik şişelere 1,5-2 cm kalınlığında dökülür. Daha sonra bu şişelerin üzerleri temiz kurutma kağıdı ile kapatılarak kurumaya bırakılır. Besiyeri yeteri kadar katılaştığında şişelerin ya da tüplerin ağızları hidrofob pamuk ve gazlı bezden yapılmış ve steril edilmiş tampon ile kapatılır. Hazırlanan besiyeri en fazla iki gün içinde kullanılmalıdır, aksi takdirde bozulur. Bu yüzden larva aşamasına kadar yapılan deneyler için, her seferinde taze besi yerleri hazırlandı ve stok şişelerine konuldu. Larva toplama aşamasında ise, hazır besiyeri (Ward' s Biology) kullanıldı. Bunun için 2.5 x 7.5 cm boyutlarında, düz tabanlı ve steril olarak hazırlanan tüplere 0.5' er gram hazır besiyeri konuldu. Bu besiyeri daha sonra distile su ya da boya çözeltileri eklenerek kullanıldı.

Çizelge 3.1. *Drosophila* besiyerinin içeriği (Bozcuk, 1976)

Kullanılan madde	Miktar
Mısır Unu	104 (gr)
Toz Şeker	94 (gr)
Bira Mayası	19 (gr)
Agar Agar	6 (gr)
Distile su	1020 ml
Asit Karışımı	6 ml*

*Asit karışımının içeriği Çizelge 3.2’ de verilmiştir.

Çizelge 3.2. *Drosophila* besiyerinde kullanılan asit karışımı (Bozcuk 1976)

Kullanılan madde	Miktar (ml)
Ortophosphorik Asit	83
Propionik Asit	836
Distile su	1081

3.5.2. Bayıltma Yöntemi

Deneyimiz sırasında virjin toplama, eşey ayrımı, ve kanatların kesilmesi gibi aşamalarda, sineklerin uçmasını önlemek ve kolay çalışabilmek için sinekler bayıltıldı. Bu işlem için kolay uygulanabilir ve ucuz olması nedeni ile eterizasyon yöntemi kullanıldı. Bayıltma işlemi yapmak için, boş bir stok şişesi içine birkaç damla eter damlatılmış pamuk kondu. Şişenin ağzına tülbent bezi ile kapatılmış huni yerleştirilerek bayıltıcı ortam hazırlandı. Pamuk tamponu çıkartılan kültür şişesi ani bir hareketle bayıltıcının ağzına ters çevrilerek kapatıldı ve hafifçe vurularak içerisindeki sineklerin huniye geçmesi sağlandı. Sinekler şişeye boşaltıldıktan sonra huninin ağzına bir kapak

kapatıldı. Damlatılan eter bir grup sineği uzun süre baygın tutmaya yeterli olduğundan kısa sürede eter buharı ile bayıltılan sinekler temiz bir cam levha ya da fayans üzerine alınarak gerekli işlemler uygulandı.

3.5.3. Boya Çözeltilerinin Hazırlanması ve Besiyerine Eklenmesi

Çalışmamızda, tekstil fabrikalarında kullanılan astrazon sarı, astrazon siyah, remazol mavi, remazol kırmızı, chrocion sarı ve chrocion kırmızı boyalarının ön doz tarama sonuçlarına göre, uygulama dozları belirlendi. Her doz için gereken miktarlar, elektronik, hassas terazide tartılarak uygun büyüklükteki erlenlere konuldu ve üzerlerine saptanan hacimde distile su eklendi. Bu çözeltiler +4°C' de ve ışıktan korunarak saklandı. Ayrıca tekstil fabrikası atık suyunun genotoksik etkisini belirlemek için yapılan çalışmalarda atık suyu değişen oranlarda (0, 1/4, 1/2, 3/4, 1/1) içeren test çözeltileri elde edildi. Diğer taraftan önceden steril edilmiş 2.5×7.5 cm boyutlarındaki yeterli sayıdaki deney tüplerine 0.5 gr hazır besi yeri konuldu. Daha sonra farklı deney grupları (negatif kontrol, pozitif kontrol, atık su ve boya grupları) oluşturmak amacı ile her tüpe 2.5 ml olmak üzere gruplara özgü test çözeltilerinden eklendi. Bu amaçla negatif kontrol grubunda yalnızca distile su kullanılırken, pozitif kontrol grubunda farklı konsantrasyonlarda EMS (etil metan sülfonat) ve üretan kullanıldı. Boya gruplarında ise ön çalışmalarla belirlenmiş olan, farklı dozlar kullanıldı.

3.6. Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinin Uygulanması

Seçilen tekstil boyalarının genotoksik etkilerini kanat benek testi ile araştırmak için, standart (ST) ve yüksek biyoaktivasyon (YB) olmak üzere iki ayrı çapraz kuruldu. Her iki çaprazın atasal soyları sekiz saat süreyle taze besiyerine alınarak yumurtlamaları sağlandı. Sekiz saatin sonunda atasoylar besiyerinden uzaklaştırıldı ve bu yumurtalardan çıkan 72±4 saatlik larvalar toplanarak, önceden gruplara özgü olarak hazırlanmış olan ve besiyeri içeren tüplere sayılarak transfer edildi. Böylece negatif kontrol, pozitif kontrol olarak EMS (etil metan sülfonat), üretan, atık su ve boya grupları oluşturuldu. Negatif kontrol grubu distile su ile hazırlanırken, pozitif kontrol grubu farklı konsantrasyonlarda EMS ve üretan içeren çözeltiler ile hazırlandı. Boya gruplarında ise, boyaların değişik konsantrasyonlarını içeren çözeltiler besiyeri hazırlamada kullanıldı. Bu şekilde yeterli sayıdaki larvalar gruplara ayrılarak ergine

gelişmeleri izlendi. Böylece çalışmalarımızın birinci bölümünde larvaların hayatta kalış oranı her grup için ayrı ayrı olmak üzere, larvadan ergine gelişen bireylerin oranı olarak hesaplandı.

Hazırlanan test tüplerindeki larvalardan ergine gelişen bireylerden normal kanatlı olan trans-heterozigot ($mwh\ flr^+ / mwh^+ flr^3$) bireyler kanat benek testi için kullanıldı. Bu sineklerin kanatları kesilerek Faure solusyonunun (30 gr arap zambkı, 20 ml gliserol, 50 gr kloralhidrat ve 50 ml distile su) damlatıldığı lamalar üzerine yerleştirildi [39]. Kanatların dorsal ve ventral yüzeyleri tekli beneklerin ve ikili beneklerin varlığını araştırmak için ışık mikroskopunda 400X büyütme ile tarandı.

Mikroskop incelemesinde gözlenen tekli benekler *mwh* ya da *flr* fenotipine sahip hücrelerden oluşurken, ikili beneklerde her iki işaret genin fenotipleri yan yana olan hücrelerde bulunur [39]. Mikroskopik incelemeler sırasında 1-2 hücreli tekli benekler küçük tekli benek ve ikiden daha fazla hücreli benekler ise büyük tekli benekler olarak kaydedildi.

3.7. SMART Testi Sonuçlarının İstatistiksel Analizi

Mikroskopik tarama sonucuna göre gözlenen kanat benekleri; küçük tekli benekler, büyük tekli benekler ve ikili benekler olmak üzere sınıflandırılarak kaydedildi. Olası genotoksik etkilerin değerlendirilmesi için deney gruplarının kanat başına düşen benek sayıları, negatif kontrol gruplarının değerleri ile karşılaştırıldı. Elde edilen sonucun pozitif, kısmen pozitif, yetersiz veya negatif olup olmadığına karar vermek için ise çoklu karar verme prosedürü izlendi [116]. Bunun için SPSS for Windows 10.0 paket programı kullanılarak tek yönlü Kastenbaum-Bowman testi Frei ve Würger 1988' e göre yapıldı [117].

3.8. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi İle İlgili Çalışmalar

3.8.1. Homojenizasyon ve Santrifügasyon

Enzim çalışmaları boyar madde grupları için yapıldı. Bu amaç ile her boya için her iki çaprazdan (ST ve YB) da elde edilen 72 ± 4 saatlik larvaların boya içeren besi yerlerinde ergine gelişimleri izlenerek her boya için letal konsantrasyon taraması yapıldı. Böylece her boya grubunda LD30 değeri belirlendi. Her boya için ayrı olan bu değeri içeren besi yerlerinde hayatta kalarak ergine gelişebilen erkek bireyler pupadan çıktıkları ilk 2-3 saat içerisinde toplanarak enzim çalışmaları için kullanılmak üzere derin dondurucuda -80°C ' de saklandı.

Enzim aktivitelerinin belirlenmesi için -80°C ' da saklanan bu ergin bireyler tartıldı. Tartılan sinekler 1/5 oranında PBS (Na_2HPO_4 2,8834gr, NaH_2PO_4 0,6gr, NaCl 8.2gr, pH:7) tamponuyla karıştırılarak, cam- teflon homojenizatörde (2000 rpm devirde) 10-15 vuruş ile, 30 sn. aralıklarla 2 kez homojenize edildi. Homojenat eppendorf tüplerine alınarak, 0°C ' de 20 000 rpm'de 10dk. santrifüj (Dich Instrument markers, Microcentrifuge) edildi. Tüm enzimatik çalışmalar buz içinde yapılmıştır. Elde edilen süpernatant mikropipet yardımı ile temiz eppendorf tüplerine alındıktan sonra -80°C ' de derin dondurucuda enzim aktiviteleri ölçülene kadar saklandı.

3.8.2. Enzim Aktivite Tayini

Çalışmalarımızda enzim kaynağı olarak Bölüm 3.8.1' de anlatıldığı gibi hazırlanan süpernatant kullanılmış olup enzim aktiviteleri spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür [118].

3.8.2.1. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini ve Hesaplanması

Antioksidatif savunma mekanizmasının en önemli enzimi olan SOD, süperoksit radikallerinin dismutasyonunda görev almaktadır. Ksantin-ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin sitokrom C' yi indirgemesinin SOD tarafından inhibisyonu temeline dayanan enzim aktivite tayini McCord ve Fridovich 1969 yöntemine göre yapıldı [119].

Enzim aktivite tayini için pH: 7,8' lik 50 mM K₂HPO₄ tamponu (0,1 mM EDTA içeren fosfat tamponu), 0.2 U/ml ksantin oksidaz, 10 mM ksantin ve 1 mM sitokrom-c çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiler kullanılarak A ve B çözeltileri hazırlandı.

A Çözeltisi için 0,76 mg (5 mol) ksantin'in 10 ml 0,001 N NaOH' daki çözeltisi ve 24,8 mg (2 mol) sitokrom c'nin 100 ml 50 mM pH: 7.8 ve 0,1 mM EDTA içeren fosfat tamponundaki çözeltisi karıştırıldı. Bu çözelti +4 °C' de 3 gün kararlıdır.

B Çözeltisi için taze olarak hazırlanan ksantin oksidazın (0,2 u/ml) 0,1 mM EDTA' daki çözeltisi hazırlandı. 3 ml' lik spektrofotometre küvetine 2,9 ml A çözeltisi konulup 50 µl örnek ilave edildi. Tepkime 50 µl B çözeltisinin eklenmesiyle başlatıldı. Hızlı bir şekilde karıştırıldıktan sonra 550 nm' deki absorbans değişimi okundu. Kör okuması yapılırken örnek yerine 50 µl distile su kullanıldı. Kalibrasyon grafiği çizmek için belli bir konsantrasyondaki (5.10⁻⁷ M) SOD çözeltisinin 5 µl, 10 µl ve 15 µl' deki bilinen değerlerine karşılık elde edilen % inhibisyon değerleri grafiğe geçirildi. Bu işlem saf SOD enzimiyle yapıldı. % inhibisyon aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \text{OD(örnek)} / \text{OD(kör)} \times 100$$

3.8.2.2. Katalaz Aktivitesinin Tayini

Katalaz enziminin aktivite tayini Luck (1963) yöntemine göre yapıldı [120]. Katalaz aktivite tayini için pH 7' de 1/15 M' lık Sodyum-Potasyum (KH₂PO₄–Na₂HPO₄) tamponu hazırlandı ve daha sonra tamponun 100 mililitresine 160 µl H₂O₂ eklendi. Enzim aktivite tayininde kullanılacak kör için sadece hazırlanan tampon-H₂O₂ karışımı kullanıldı. Enzim aktivitesinin ölçümü için ise yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan tampon + H₂O₂ çözeltisine uygun miktarda süpernatant eklendi ve 240 nm' de 1 dakika boyunca absorbans değişimi (Shimadzu-UV-1601, UV/Visible) belirlendi. Absorbans belirlendikten sonra mililitredeki enzim ünite sayısı Luck 1963 yöntemiyle hesaplandı. Elde edilen değerler süpernatanın mililitresindeki miligram proteine bölünerek spesifik aktivite hesaplandı.

$$C = \text{OD} \times \text{toplam hacim (ml)} \times 1000 / 0,036 \text{ mM} \times \mu\text{l süpernatant}$$

3.8.2.3. Glutasyon Redüktaz Aktivite Tayini ve Hesaplaması

Glutasyon Redüktaz aktivite tayini Carlberg ve Mannervik (1985) yöntemine göre yapıldı [121]. Bunun için şu çözeltiler hazırlandı; PH:7.0'lık 0.2 M Potasyum fosfat tamponu (K_2HPO_4 - KH_2PO_4 2 mM EDTA içinde), 2 mM NADPH/Tris HCL PH:7.0 (enzim aktivitesi ölçülürken taze olarak hazırlandı) ve distile su içinde 20 mM GSSG (okside glutasyon).

Glutasyon redüktaz için 340 nm' deki absorbans değerleri ölçüldü. Bu amaç ile bir miktar potasyum-fosfat tamponu deney tüpüne alındı ve 30°C' de bir süre inkübe edildi. İnkübe edilen bu tampondan 1ml' lik küvete 0,5 ml pipetlendi, üzerine 50 µl NADPH/Tris HCL (2 mM, enzim aktivitesi ölçülürken taze olarak hazırlandı.) ve 50 µl GSSG (20 mM distile su içerisinde hazırlandı) eklendikten sonra 1ml' ye distile su ile tamamlandı. Bu tüp kör olarak kullanıldı. Absorbansı okunacak küvete ise kör tüpten farklı olarak uygun miktarda süpernatant konulup bir kez karıştırdıktan sonra 340 nm'de 1 dakika süresince absorbans okundu. Daha sonra ml'deki enzim ünite sayısı I. Carlberg ve B. Mannervik yöntemi ile saptanmıştır [121].

$C = OD \times \text{toplam hacim (ml)} \times 1000 / 6,22 \text{ mM} \times \mu\text{l süpernatant}$ formülüyle mililitredeki enzim ünite sayısı hesaplandıktan sonra, ünite aktivite, Bradford Yöntemi (1976) ile milimetrede saptanan mg total proteine bölündü ve spesifik aktivite saptandı [122].

$\text{Spesifik aktivite} = \text{ünit aktivite} / \text{Bradford}(\mu\text{mol} / \text{mg total protein}) \times \text{SF}$

3.8.2.4. Glutasyon S-Transferaz Aktivite Tayini

Glutasyon S-transferaz aktivitesini ölçmek için Habig ve arkadaşları (1974) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı [123]. Öncelikle %96' lık etanol içerisinde hazırlanmış (0,15 M) 1-kloro, 2-4 dinitrobenzen (CDNB) substrat olarak hazırlandı. Enzim aktivitesinin ölçümü sırasında potasyum fosfat tamponu (pH: 6.5; 0,1 M) ve kofaktör olarak redükte glutasyon (0,002 M) kullanıldı. Enzim aktivitesinin saptanması için mikrolaka çukurlarına sırasıyla 10 µl süpernatant, 100 µl fosfat tamponu + 100 µl GSH karışımı pipetlenerek 25 °C' de 3 dak. inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, çukurlara 10 µl CDNB pipetlenerek, karışım 15 sn süre ile mikrolaka okuyucuda karıştırıldı. Absorbans değişimi 344 nm' de 1dak. süresince okunarak kaydedildi.

$C = OD \times \text{toplam hacim (220 } \mu\text{l)} \times 1000 / 9,6. 10^3 \text{ M} \times \text{örnek hacim} / 10 \mu\text{l} \times 0,552 / \text{bradford} \times \text{SF formülü ile aktivite tayini hesaplandı.}$

3.8.2.5. Redükte Glutasyon Miktar Tayini ve Hesaplanması

Glutasyon miktar tayini Theodorus P.M. Akerboom ve Helmut Sies (1981) yöntemine göre yapılmıştır [124]. Bunun için, 6.3 mM EDTA içeren 125 mM'lık sodyum difosfat tamponu (Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4) hazırlandı. Tampon total glutasyon tayininden hemen önce mililitresinde 0.248 mg NADPH olacak şekilde taze olarak hazırlandı (PH: 7,5). Ayrıca 11,89 mg DTNB, 5 ml. tampon içerisinde hazırlandı.

Yöntemde belirtilen miktarda taze olarak hazırlanan NADPH'lı tampondan deney tüplerine 700 μl ve DTNB' den 100 μl konuldu. Kör tüp için 200 μl , örnek tüpler için 180 μl distile su deney tüplerine eklenip vortex ile karışması sağlandıktan sonra 10 dakika 30°C' deki sıcak su banyosunda bekletildi. Kör tüpe 5 μl GSH-redüktaz eklendikten sonra absorbansı 412 nm' de sıfırlandı. Örneklerin okunması şu şekilde yapıldı. Deney tüplerindeki karışım 1ml'lik spektrofotometre küvetine alındıktan sonra, küvetin bir kenarına 5 μl glutasyon redüktaz hemolten enjektörü ile konuldu. Küvetin diğer tarafına da önce 10 μl süpernatant eklendi. Karıştırılıp 412 nm' de absorbans okundu. Daha sonra total glutasyon tayini yapmak amacıyla bir standart grafik çizildi ve 412 nm' de okunan absorbans değerine karşılık gelen değerler süpernatanın milimetresindeki mg. proteine bölündü.

3.8.2.6. Total Protein Tayini

Enzim aktivite ölçümü amacıyla hazırlanan süpernatant örneklerinde total protein miktarı Bradford (1976) yöntemine göre, mikrolaka okuyucu sistem için modifiye edilerek saptandı [122]. Bunun için 5 μl 1/5 oranında sulandırılmış süpernatant örneklerine 250 μl bradford çözeltisi eklenerek 15 dakika inkübasyon için karanlıkta bekletildi. Inkübasyon sonrasında 595 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Elde edilen değerler mikrolaka okuyucu sisteminde 595 nm dalga boyunda okunarak hazırlanmış olan Bovin Serum Albumin (BSA) standart eğrisi değerleri ile karşılaştırılarak, örnekteki total protein değerleri, Slide programı ile hesaplandı. Sulandırma faktörüne bağlı olarak, daha sonra süpernatanttaki total protein değeri saptandı.

3.8.2.6. Enzim Aktivitesi Çalışmalarında İstatistiksel Analiz

Doz tarama çalışmalarından elde edilen bulguların analizi için SPSS programı (SPSS INC., USA) kullanıldı. LD30 değerlerinin saptanması için probit regresyon analiz yöntemi uygulandı.

Enzim aktivitelerinin uygulama gruplarına bağlı olarak test edilmesi amacıyla varyans analizi (ANOVA) yöntemi uygulandı. Gruplar arası farklılık düzeyi en az %95 olasılık ile ($p < 0,05$ için) önemli olarak değerlendirildi. Buna bağlı olarak, gruplar arası farklılığın önemli olup olmadığı $p < 0,05$ düzeyinde önemlilik derecesine göre saptandı. Gruplar arası farklılığın önemli olduğu saptandığında, örnekler ikili karşılaştırma ile Mann Whitney-U testine göre kontrol grubu verileri ile karşılaştırıldı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

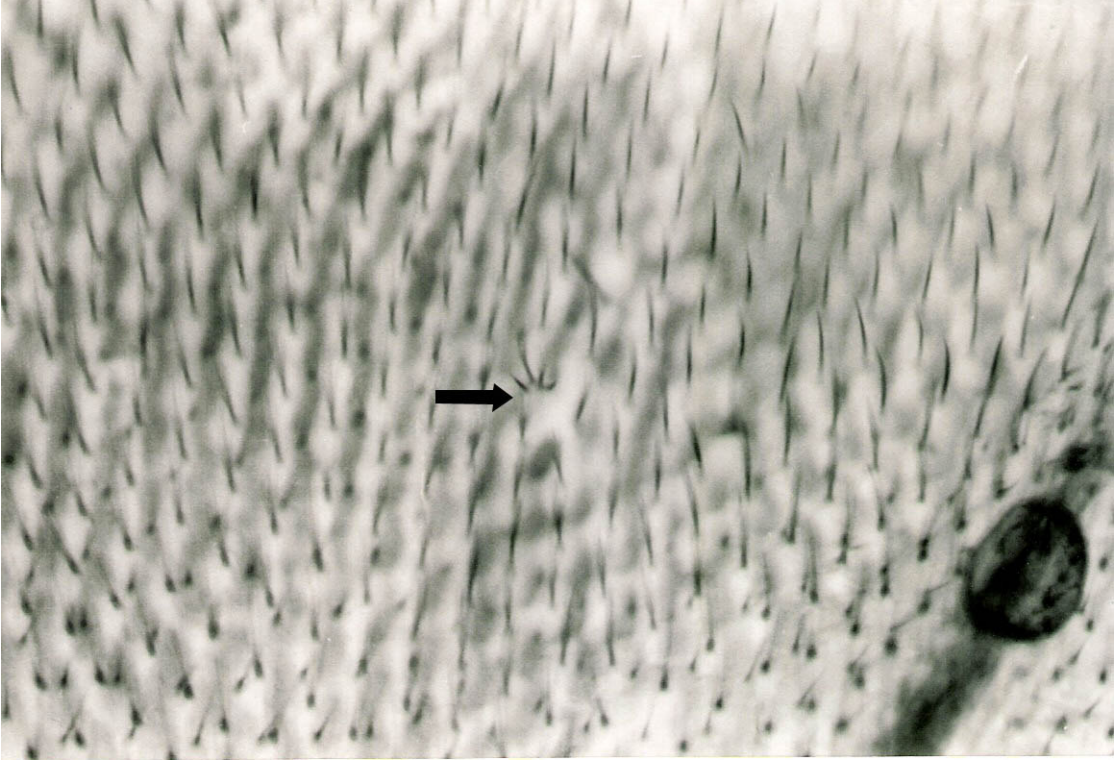
Çalışmamızda tekstil fabrikalarında sıklıkla kullanılan astrazon sarı GL-E, astrazon siyah FDL, chrocion sarı H-E4G, chrocion kırmızı H-E3G remazol turkuaz mavisi G-A ve remazol kırmızı RR boyaları ile tekstil fabrikası atık suyunun genotoksik etkileri ile antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz, ile redükte glutatyon düzeyi üzerine etkileri araştırılmıştır.

4.1. *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinden Elde Edilen Bulgular

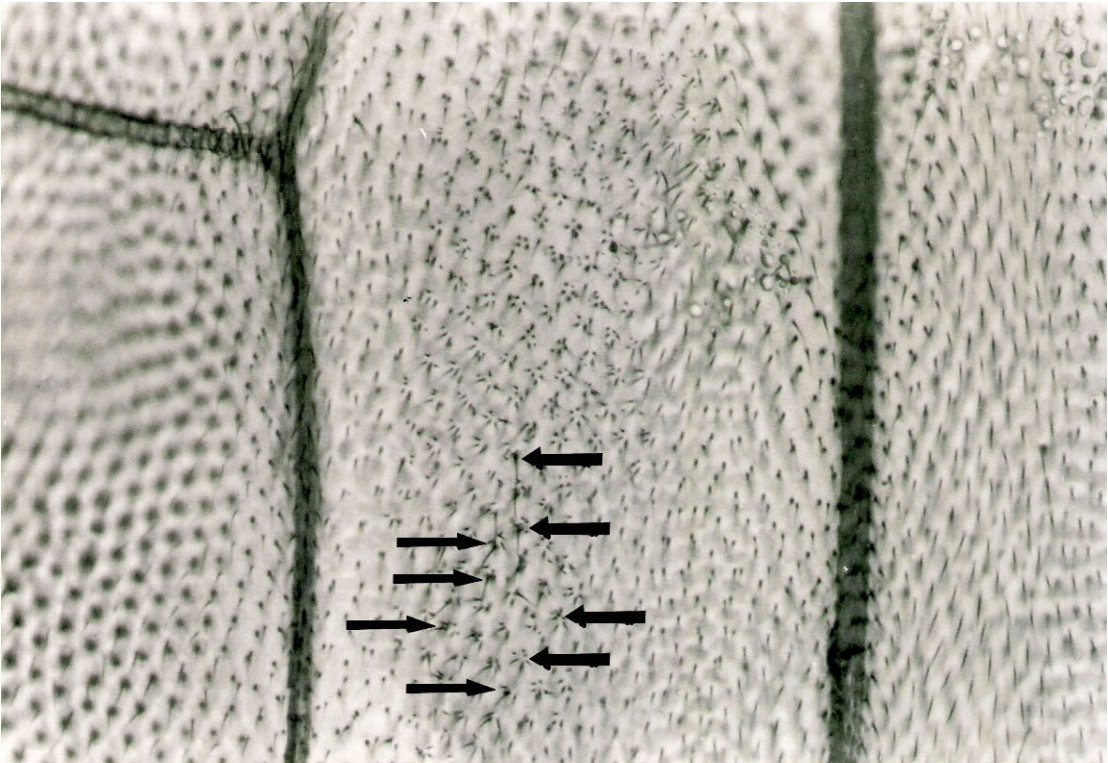
Bu amaçla Bölüm 3' te anlatılan deney sistemleri kurulmuştur. Deneylerde negatif kontrol grubu olarak distile su, pozitif kontrol grubu olarak da mutajenik etkisi bilinen EMS ve bir promutajen olan üretan kullanıldı.

Çalışmaların ilk aşamasında 72±4 saatlik larvalardan ergine gelişen bireylerin hayatta kalış oranları hesaplanmış ve trans-heterozigot ergin bireylerin kanatları beneklerin varlığını belirlemek için ışık mikroskopunda 400X büyütme ile taranmıştır. Çalışmalar sırasında gözlenen kanat benekleri sınıflandırılarak kayıt edilmiştir. Buna göre yalnızca *mwh* veya *flr* fenotipinde olan hücreler tekli benek ve *mwh* ve *flr* fenotipindeki hücrelerin yan yana bulunduğu ise ikili benek olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca tekli beneklerde kendi aralarında küçük tekli benek (1-2 hücreli) ve büyük tekli benek (üç ve daha fazla hücreli) olmak üzere ayrılmıştır.

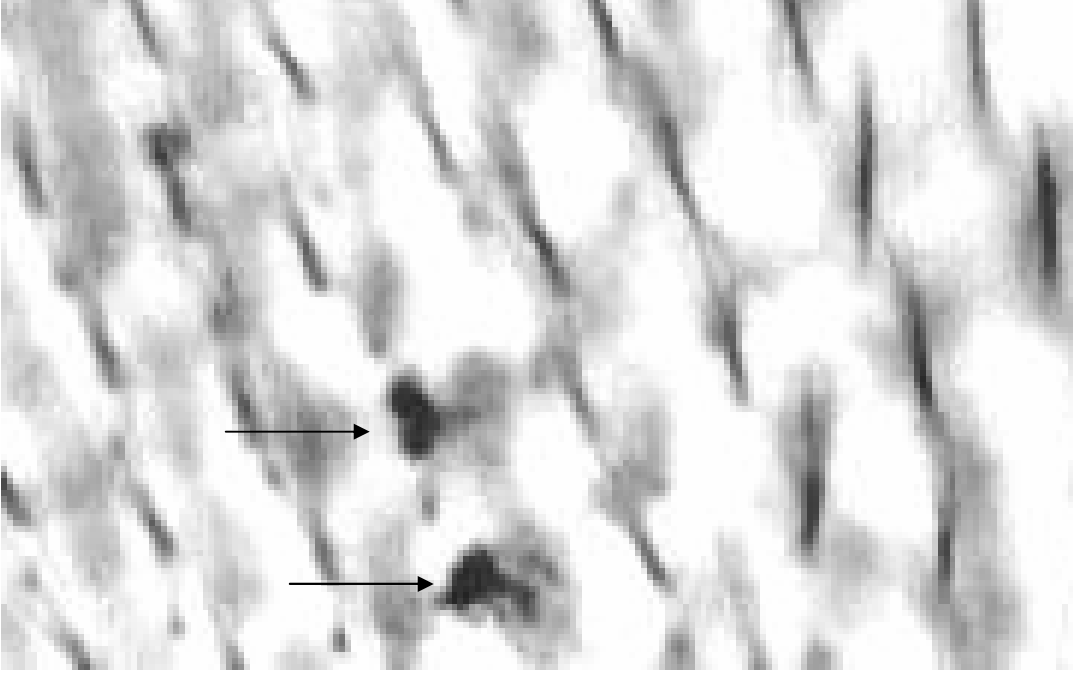
Çalışmalarımız sırasında seçilen bazı preparatlardaki beneklerin fotoğrafları çekilmiş ve Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5' de verilmiştir.



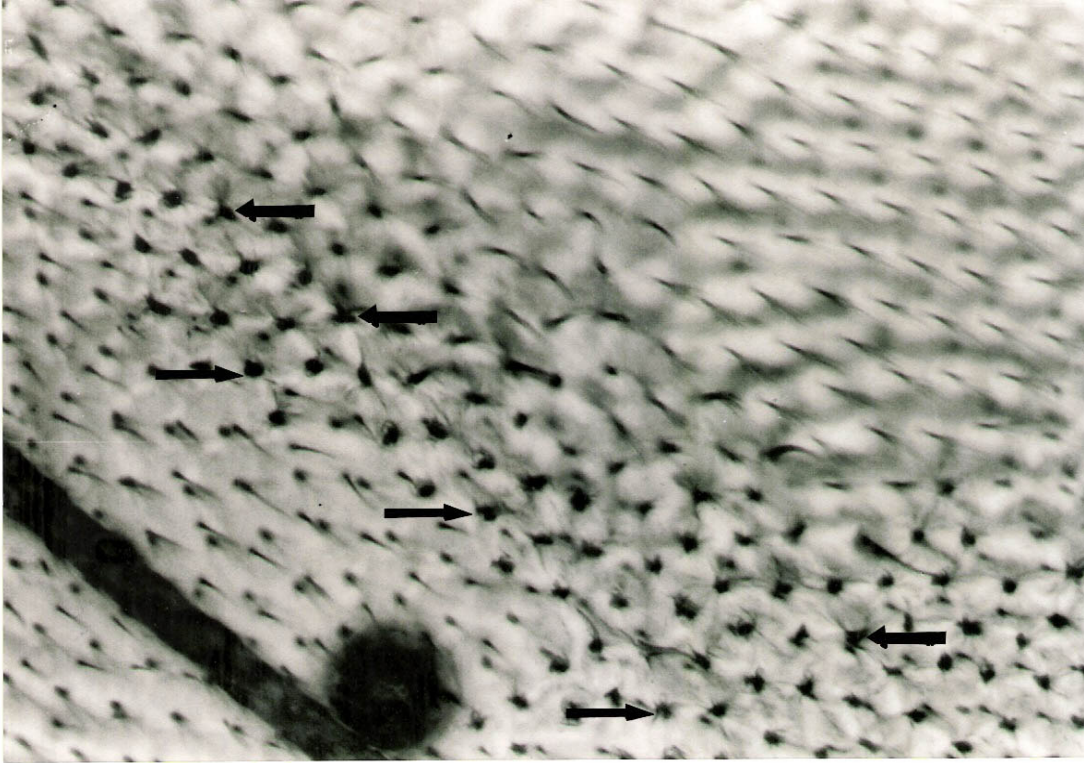
Şekil 4.1. *mwh* fenotipindeki küçük tekli benek



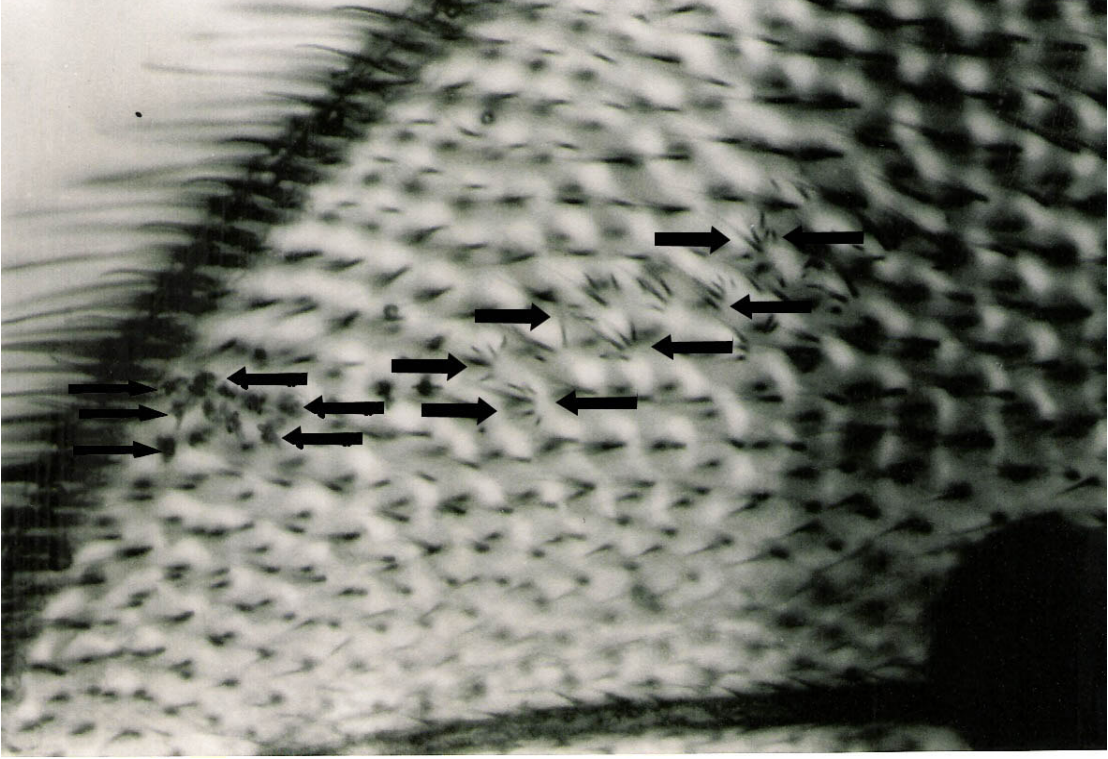
Şekil 4.2. *mwh* fenotipindeki büyük tekli benek



Şekil 4.3. *flr* fenotipindeki küçük tekli benek



Şekil 4.4. *flr* fenotipindeki büyük tekli benek



Şekil 4.5. İkili Benek

4.1.1 Etil Metan Sülfonatın (EMS) Genotoksik Etkisinin Araştırılması

Çalışmamızda pozitif kontrol grubu olarak kullanılan EMS' nin 5 mM, 10 mM ve 20 mM' lik çözeltilerin kullanıldığı gruplarında standart çapraz (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarından elde edilen bulgular Çizelge 4.1' de verilmiştir. Kontrol gruplarında larvaların hayatta kalış oranı standart çapraz için %97 yüksek bioaktivasyon çaprazında ise buna benzer olup %98 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. EMS gruplarında *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler

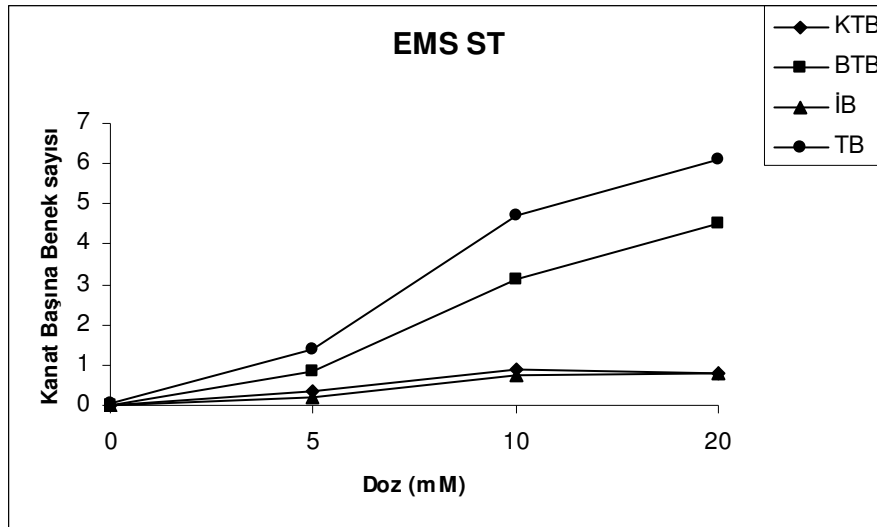
Grup adı ve Doz (mM)	Hayatta kalış (%)	Kanat sayısı	Kanat/Benek*		İstatistiksel Bulgular**		
			Küçük tekli benekler (1-2 hücre)	Büyük tekli benekler (>2 hücre)	İkili benekler	Toplam benek sayısı	
			[m=2]	[m=5]	[m=5]	[m=2]	
ST							
0	97	140	0.02 (3)	0.01 (2)	0.007 (1)	0.04 (6)	
5	70	50	0.34 (17) +	0.86 (43) +	0.20 (10) +	1.40 (70) +	
10	58	30	0.87 (26) +	3.13 (94) +	0.73 (22) +	4.73 (142) +	
20	29	25	0.80 (20) +	4,52 (113) +	0.80 (20) +	6.12 (153) +	
YB							
0	98	160	0.01 (2)	0.02 (3)	0.006 (1)	0.04 (6)	
5	68	45	0.22 (10) +	1.06 (48) +	0.20 (9) +	1.48 (67) +	
10	43	24	0.71 (17) +	3.29 (79) +	0.75 (18) +	4.73 (114) +	
20	17	21	0.67 (14) +	5.33 (112) +	0.81 (17) +	6.81 (143) +	

ST: Standart çapraz, YB: Yüksek biyoaktivasyon çaprazı

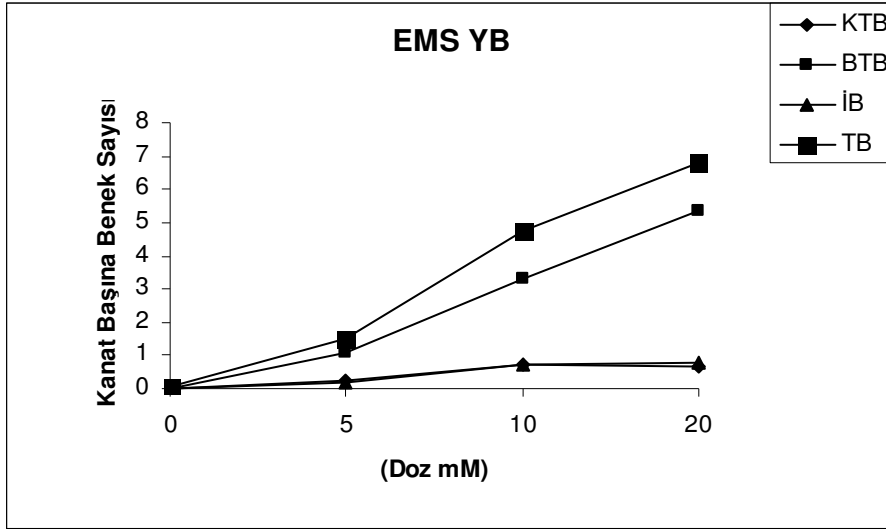
*Parantez içinde verilenler benek sayısıdır.

**Tek Yönlü Kastenbaum-Bowman Testi, Frei ve Würgler (1988), +: pozitif, -: negatif, i:yetersiz, m:çok değişkenli faktör, Olasılık seviyeleri: $\alpha=\beta=0.05$

Her iki çaprazda da EMS uygulaması ile larvaların ergine gelişme (hayatta kalışı) oranını doz artışına bağlı olarak azaltmıştır. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında kullanılan tüm dozlarda yine doz artışı ile ilişkili olarak küçük tekli benekler, büyük tekli benekler, ikili benekler ve toplam benek sayıları bakımından her iki çaprazda da pozitif sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.6 ve 4.7).

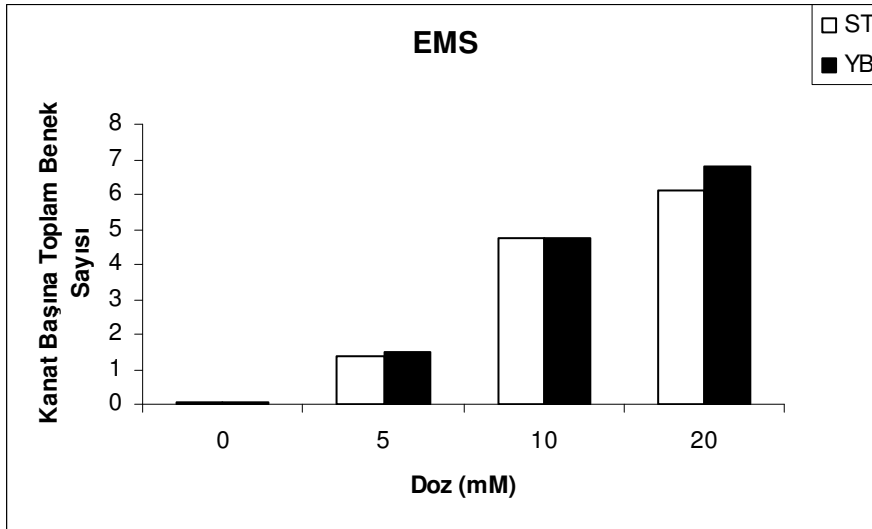


Şekil 4.6. Standart çaprazdan elde edilen ve EMS uygulanan ($mwh\ flr^+ / mwh^+ flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek



Şekil 4.7. Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve EMS uygulanan (*mwh flr⁺ / mwh⁺ flr³*) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek

EMS' nin standart ve yüksek bioaktivasyon çaprazlarında doza bağlı olarak kanat başına düşen toplam benek sayıları karşılaştırıldığında; EMS' nin 10mM' lik dozu hariç diğer dozları yüksek bioaktivasyon çaprazında daha fazla genotoksik bulunmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. EMS uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak ST ve YB çaprazlarında karşılaştırılması.

4.1.2. Üretan'ın Genotoksik Etkisinin Araştırılması

Çalışmamızda bir promutajen olarak bilinen üretanın 5 mM, 10 mM, 20 mM dozlarının kullanıldığı gruplarından elde edilen bulgular Çizelge 4.2' de görülmektedir. Kontrol gruplarında hayatta kalış oranı ST çaprazında % 97, YB çaprazında ise buna benzer olark %96 olarak bulunmuştur. Ürethan, her iki çaprazda da doz artışına paralel olarak tüm gruplarda larvaların hayatta kalış oranının azalmasına neden olmuştur. Her iki çaprazda da kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında kullanılan tüm dozlarda küçük tekli benekler, büyük tekli benekler, ikili benekler ve toplam benek sayıları bakımından pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 4.2: Üretan gruplarında *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler

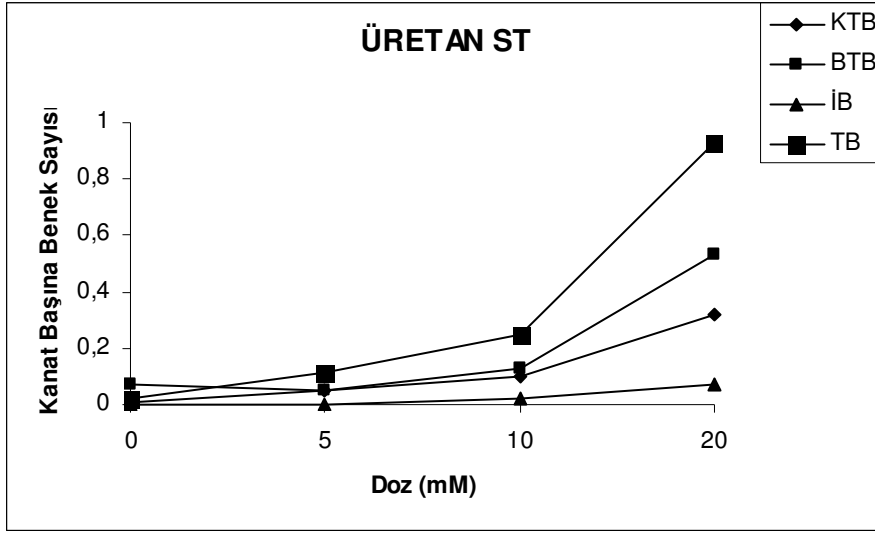
Grup adı ve Doz (mM)	Hayatta kalış (%)	Kanat sayısı	Kanat/Benek*		İstatistiksel Bulgular**	
			Küçük tekli benekler (1-2 hücre) [m=2]	Büyük tekli benekler (>2 hücre) [m=5]	İkili benekler [m=5]	Toplam benek sayısı [m=2]
ST						
0	97	136	0.01 (2)	0.07 (1)	0.00(-)	0.02(3)
5	80	56	0.05 (3) +	0.05 (3) +	0.00(-) i	0.11(6) +
10	56	52	0.10 (5) +	0.13 (7) +	0.02 (1) +	0.25 (13) +
20	46	56	0.32 (18) +	0.53 (30) +	0.07 (4) +	0.93 (52) +
YB						
0	96	155	0.01 (2)	0.00 (-)	0.00 (-)	0.04 (20)
5	79	48	0.04 (20) +	0.03 (16) +	0.00 (-) i	0.25 (36) +
10	53	52	0.79 (41) +	0.58 (30) +	0.02 (1) +	0.75(13) +
20	42	54	1.48 (80) +	1.74 (94) +	0.65 (35) +	3.87 (209)+

ST: Standart çapraz, YB: Yüksek biyoaktivasyon çaprazı

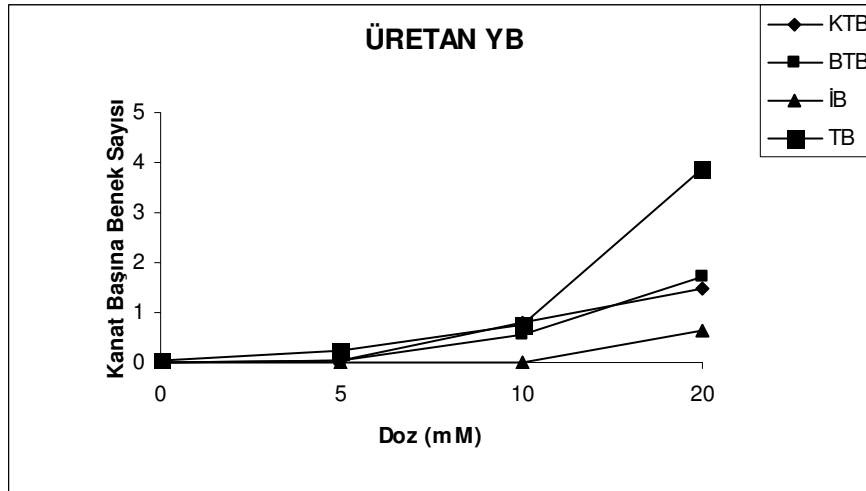
*Parantez içinde verilenler benek sayısıdır.

**Tek Yönlü Kastenbaum-Bowman Testi, Frei ve Würzler (1988), +: pozitif, -: negatif, i:yetersiz, m:çok değişkenli faktör, Olasılık seviyeleri: $\alpha=\beta=0.05$.

Üretanın çeşitli dozlarına bağlı olarak kanat başına düşen tekli benek, büyük tekli benek, ikili benek ve toplam benek sayılarının standart çapraz (ST) sonuçları Şekil 4.9' de, yüksek biyoaktivasyon (YB) çaprazı sonuçları ise Şekil 4.10' de verilmiştir.

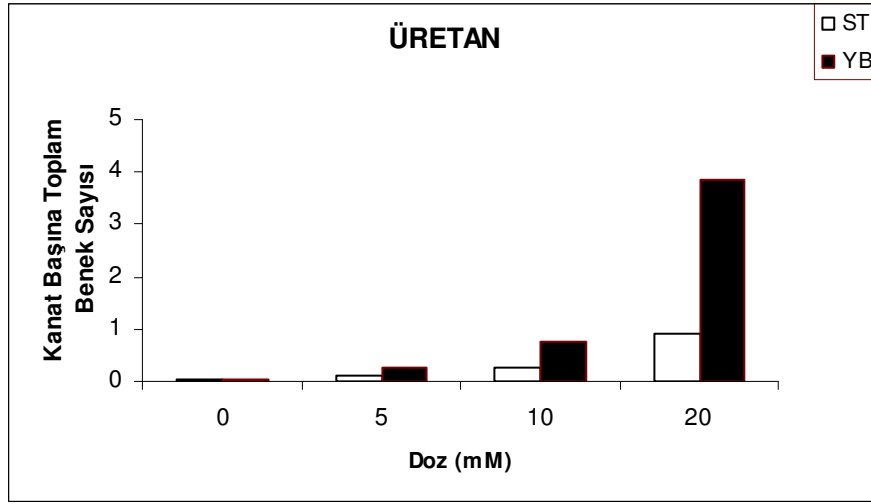


Şekil 4.9. Standart çaprazdan elde edilen ve üretan uygulanan (*mwh flr⁺ /mwh⁺flr³*) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek



Şekil 4.10. Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve üretan uygulanan (*mwh flr⁺ /mwh⁺flr³*) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek

Üretanın standart ve yüksek bioaktivasyon çaprazlarında doza bağlı olarak kanat başına düşen toplam benek sayıları karşılaştırıldığında; üretanın genotoksik etkisi tüm dozlarda yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazında standart çaprazına (ST) göre daha fazladır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Üretan uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak ST ve YB çaprazlarında karşılaştırılması.

4.1.3 Astrazon Siyah FDL Boyasının Genotoksik Etkisinin Araştırılması

Çalışmada astrazon siyah FDL boyasının genotoksik aktivitesi 350 mg/l, 500 mg/l, 750 mg/l ve 1000 mg/l olmak üzere dört farklı dozda araştırıldı. Elde edilen sonuçlar ve istatistik değerlendirmeler Çizelge 5.3’ de verilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre her iki çaprazda da larvaların hayatta kalış oranının boya konsantrasyonunun artışına bağlı olarak azaldığı gözlemlendi. Larvaların ergine gelişme oranı kullanılan en düşük (350 mg/l) ve en yüksek (1000 mg/l) dozlarda sırasıyla standart çapraz için %57 ve %26, yüksek bioaktivasyon çaprazı için %72 ve %18 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Astrazon siyah boyasında *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler

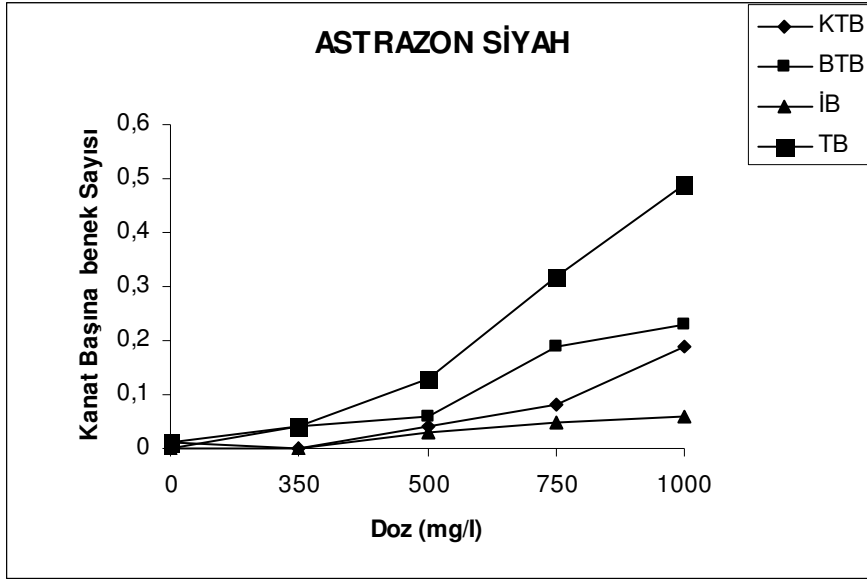
Grup adı ve Doz (mg/l)	Hayatta kalış (%)	Kanat sayısı	Kanat/Benek*		İstatistiksel Bulgular**	
			Küçük tekli benekler (1-2 hücre)	Büyük tekli benekler (>2 hücre)	İkili benekler	Toplam benek sayısı
			[m=2]	[m=5]	[m=5]	[m=2]
ST						
0	95	160	0.01 (1)	0.00 (-)	0.00 (-)	0.01 (1)
350	57	82	0.00 (-) i	0.04 (3) i	0.00 (-) i	0.04 (3) i
500	49	80	0.04 (3) i	0.06(5) +	0.03 (2) +	0.13 (10) +
750	29	79	0.08 (6) +	0.19 (15) +	0,05 (4) i	0.32 (25) +
1000	26	80	0,19 (15) +	0.23 (19) +	0.06 (5) +	0.49 (39) +
YB						
0	98	140	0.01 (2)	0.01 (1)	0.00 (-)	0.02 (3)
350	72	79	0.10 (8) +	0.14 (11) i	0.01 (1) i	0.25 (20) +
500	48	75	0.16 (12) +	0.24 (18) +	0.01 (1) i	0.41 (31) +
750	21	74	0.20 (15) +	0.29 (22) +	0.08 (6) +	0.60 (43) +
1000	18	78	0.23 (18) +	0.32 (25) +	0.09 (7) +	0.64 (50) +

ST: Standart çapraz, YB: Yüksek biyoaktivasyon çaprazı

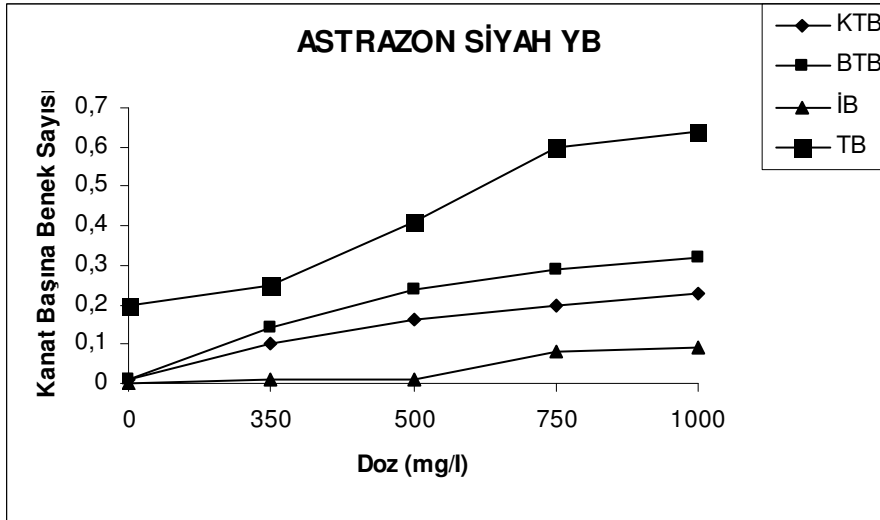
*Parantez içinde verilenler benek sayısıdır.

**Tek Yönlü Kastenbaum-Bowman Testi, Frei ve Würger (1988), +: pozitif, -: negatif, i:yetersiz, m:çok değişkenli faktör, Olasılık seviyeleri: $\alpha=\beta=0.05$.

Küçük tekli benek ve büyük tekli benek ve toplam benek sayıları her iki çapraz için de kontrol gruplarına göre artmış (kullanılan en düşük doz olan 350 mg/l grubu dışında) ve bu artış her iki çapraz da da önemli olduğundan sonuçlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. İkili beneklerdeki artış özellikle yüksek dozlarda elde edilmiştir. Astrazon siyah boyasının genotoksik aktivitesinin ST ve YB çaprazlarındaki doza bağlı olarak artışı Şekil 4.12 ve 4.13' de verilmiştir.

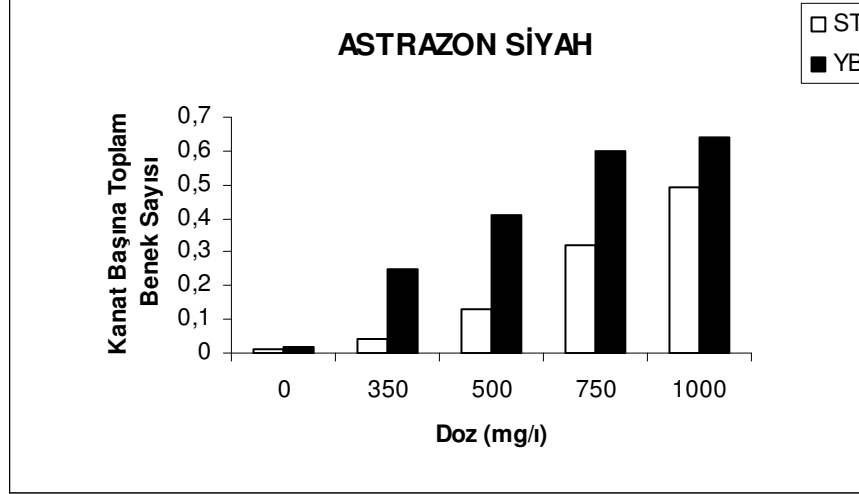


Şekil 4.12. Standart çaprazdan elde edilen ve astrazon siyah uygulanan ($mwh\ flr^+$ / $mwh^+ flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek



Şekil 4.13. Yüksek bioaktivasyon çaprazdan elde edilen ve astrazon siyah uygulanan ($mwh\ flr^+$ / $mwh^+ flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek

Toplam benek sayısı bakımından her iki çapraz (ST ve YB) karşılaştırıldığında astrazon siyahın tüm dozlarının yüksek bioaktivasyon çaprazında daha genotoksik olduğu görülmektedir (Şekil 4.9).



Şekil 4.14. Astrazon siyah uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.

4.1.4. Astrazon Sarı GELB-GLE Boyasının Genotoksik Etkisinin Araştırılması

Çalışmada astrazon sarı boyasının genotoksik aktivitesi ön çalışmalar ile belirlenen 350 mg/I, 500 mg/I, 750 mg/I ve 1000 mg/I olmak üzere dört farklı dozda araştırıldı. Elde edilen sonuçlar ve istatistik değerlendirmeler Çizelge 5.3’ de verilmiştir.

Elde edilen verilere göre her iki çaprazda da hayatta kalış yüzdelerinin konsatrasyon artışına bağlı olarak azaldığı gözlemlendi. Kullanılan en düşük (350 mg/I) ve en yüksek (1000 mg/I) dozlarda hayatta kalış yüzdesi sırasıyla standart çapraz için %95 ve %14, yüksek bioaktivasyon çaprazı için %98 ve %21 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Astrazon sarı boyasında *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler

Grup adı ve Doz (mg/l)	Hayatta kalış (%)	Kanat sayısı	Kanat/Benek*		İstatistiksel Bulgular**	
			Küçük tekli benekler (1-2 hücre)	Büyük tekli benekler (>2 hücre)	İkili benekler	Toplam benek sayısı
			[m=2]	[m=5]	[m=5]	[m=2]
ST						
0	95	170	0.01 (2)	0.01 (1)	0.00 (-)	0.01 (3)
350	63	80	0.00 (-) i	0.06 (5) +	0.00(-) i	0.06 (5) +
500	49	84	0.01 (1) i	0.08 (7) +	0.01 (1) i	0.11 (9) +
750	34	82	0.04 (3) +	0.12 (10) +	0.02 (2) +	0.18 (15) +
1000	14	79	0.06 (5) +	0.15 (12) +	0.04 (3) +	0.25 (20) +
YB						
0	98	150	0.01 (2)	0.01 (1)	0.00 (-)	0.02 (3)
350	66	76	0.07 (5) +	0.13 (10) +	0.00 (-) i	0.20 (15) +
500	50	74	0.14 (10) +	0.22 (16) +	0.01 (1) i	0.40 (27) +
750	20	69	0.20 (14) +	0.28 (19) +	0.03 (2) +	0.51 (35) +
1000	21	65	0.25 (16) +	0.35 (23) +	0.06 (4) +	0.66 (43) +

ST: Standart çapraz, YB: Yüksek biyoaktivasyon çaprazı

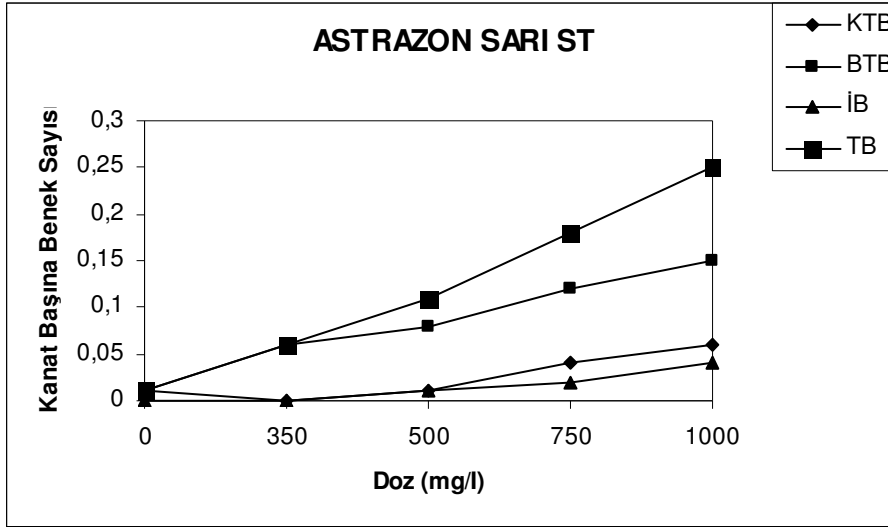
*Parantez içinde verilenler benek sayısıdır.

**Tek Yönlü Kastenbaum-Bowman Testi, Frei ve Würzler (1988), +: pozitif, -: negatif, i:yetersiz, m:çok değişkenli faktör, Olasılık seviyeleri: $\alpha=\beta=0.05$.

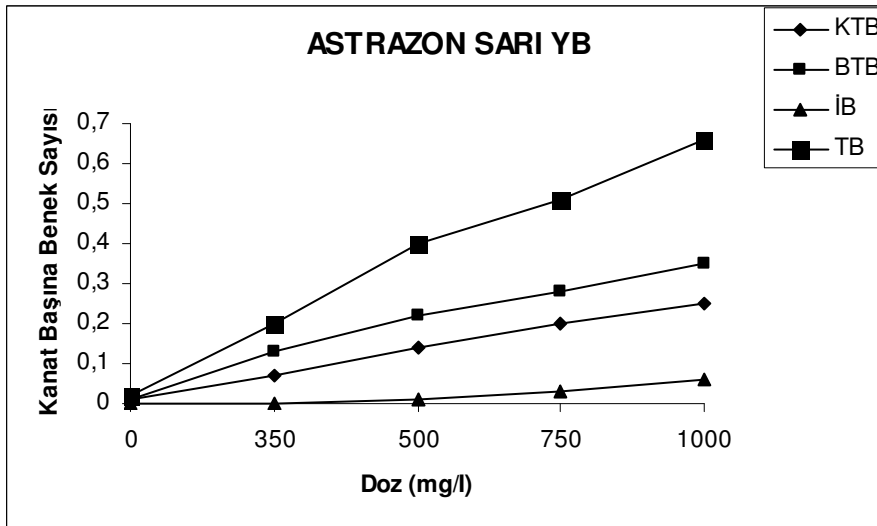
Küçük tekli benek ve toplam benek sayıları her iki çapraz için de kontrol gruplarına göre artmıştır. Standart çaprazda küçük tekli benek ve ikili benek sayıları 350 mg/I ve 500 mg/I dozlarında istatistiksel olarak yetersiz bulunmuştur. Bu dozların dışındaki tüm gruplarda benek sayılarında artış gözlenmiş ve bu sonuç pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Yüksek biyoaktivasyon çaprazında tekli benek sayıları bakımından tüm gruplarda kontrole kıyasla artış gözlenmiş ve bu artış istatistiksel açıdan pozitif olarak değerlendirilmiştir. İkili benek sayıları bakımından ise 350 mg/I ve 500 mg/I grupları hariç diğer gruplarda pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

Astrazon sarının kullanılan dozlarına bağlı olarak kanat başına düşen küçük tekli benek, büyük tekli benek, ikili benek ve toplam benek sayılarının artışı ST ve YB çaprazlar için sırası ile Şekil 4.15 ve 4.16' da verilmiştir.

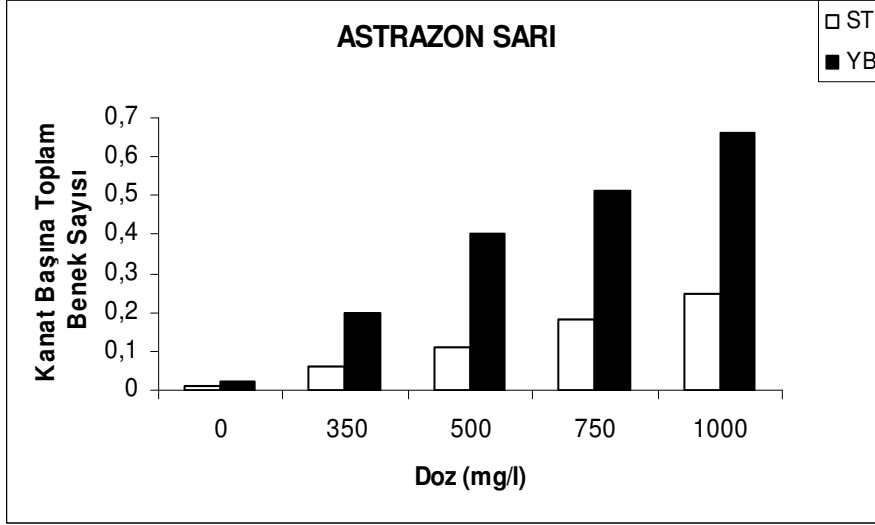


Şekil 4.15. Standart çaprazdan elde edilen ve astrazon sarı uygulanan (*mwh flr⁺ / mwh⁺ flr³*) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek



Şekil 4.16. Yüksek bioaktivasyon çaprazdan elde edilen ve astrazon sarı uygulanan (*mwh flr⁺ / mwh⁺ flr³*) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek

Toplam benek sayısı bakımından her iki çapraz (ST ve YB) karşılaştırıldığında astrazon sarının tüm dozlarının yüksek bioaktivasyon çaprazında daha genotoksik olduğu görülmektedir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Astrazon sarı uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.

4.1.5. Chrocion kırmızı boyasının genotoksik etkisinin araştırılması

Çalışmada chrocion kırmızı boyasının genotoksik aktivitesini araştırmak için 750mg/l, 5000 mg/l, 7500 mg/l, olmak üzere üç farklı dozda çalışıldı. Elde edilen sonuçlar ve istatistik değerlendirmeler Çizelge 4.5' de verilmiştir.

Her iki çaprazda da larvaların hayatta kalış oranının konsatrasyon artışına bağlı olarak azaldığı gözlemlendi. Kullanılan en düşük (750 mg/l) ve en yüksek (7500 mg/l) dozlarda standart çapraz için sırası ile %73 ve %69, yüksek bioaktivasyon çaprazı için de yine sırası ile %88 ve %62 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Chrocion kırmızı boyasında *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler

Grup adı ve Doz (mg/l)	Hayatta kalış (%)	Kanat sayısı	Kanat/Benek*		İstatistiksel Bulgular**	
			Küçük tekli benekler (1-2 hücre)	Büyük tekli benekler (>2 hücre)	İkili Benekler	Toplam benek sayısı
			[m=2]	[m=5]	[m=5]	[m=2]
ST						
0	95	145	0.01 (1)	0.01 (1)	0.01 (1)	0.01 (3)
750	73	67	0.00 (0) i	0.00 (0) i	0.00 (0) i	0.00 (0) i
5000	69	78	0.01 (1) i	0.01 (1) i	0.00 (-) i	0.03 (2) i
7500	69	71	0.01 (1) i	0.03 (2) i	0.01 (1) i	0.06 (4) +
YB						
0	99	130	0, 1 (1)	0.00 (0)	0.01 (1)	0.01 (2)
750	88	65	0.00 (0) i	0.00 (0) i	0.00 (0) i	0.00 (0) i
5000	65	75	0.04 (3) i	0.03 (2) i	0.01 (1) i	0.08 (6) +
7500	62	69	0.04 (3) i	0.04 (3) i	0.01 (1) i	0.10 (7) +

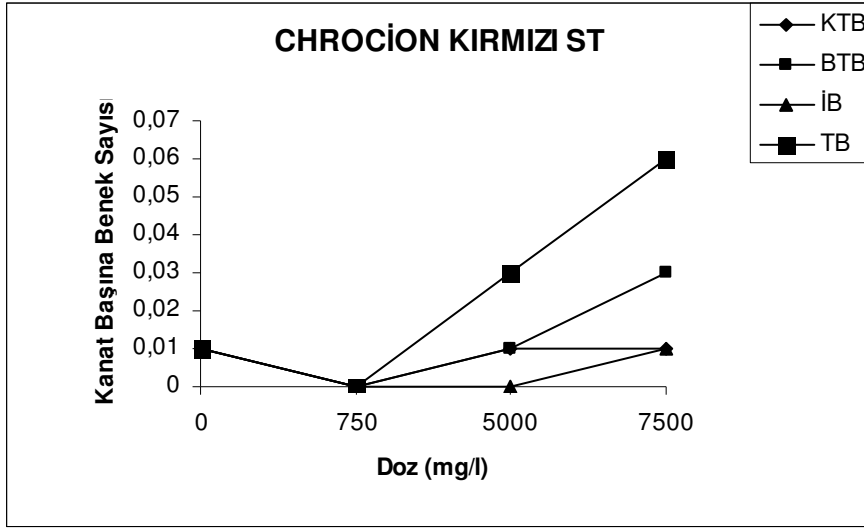
ST: Standart çapraz, YB: Yüksek biyoaktivasyon çaprazı

*Parantez içinde verilenler benek sayısıdır.

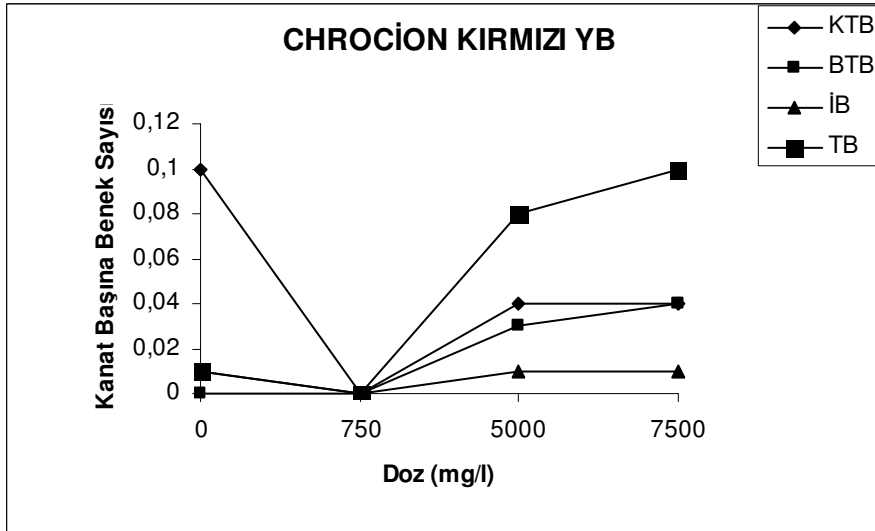
**Tek Yönlü Kastenbaum-Bowman Testi, Frei ve Würzler (1988), +: pozitif, -: negatif, i:yetersiz, m:çok değişkenli faktör, Olasılık seviyeleri: $\alpha=\beta=0.05$.

Her iki çapraz için de tüm benek tipleri bakımından kontrol gruba kıyasla önemli bir artış gözlenmemiş ve bu sonuç istatistiksel olarak yetersiz olarak değerlendirilmiştir. Toplam benek sayıları bakımından ise ST çaprazında en yüksek doz olan 7500mg/I ve YB çaprazında ise yine yüksek dozlar olan 5000 mg/I ve 7500 mg/I gruplarında pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

Chrocion kırmızının çeşitli dozlarına bağlı olarak kanat başına düşen küçük tekli benek, büyük tekli benek, ikili benek ve toplam benek sayılarının ST ve YB çaprazları için doz bağlı olarak artışları Şekil 4.18 ve 4.19' de verilmiştir.

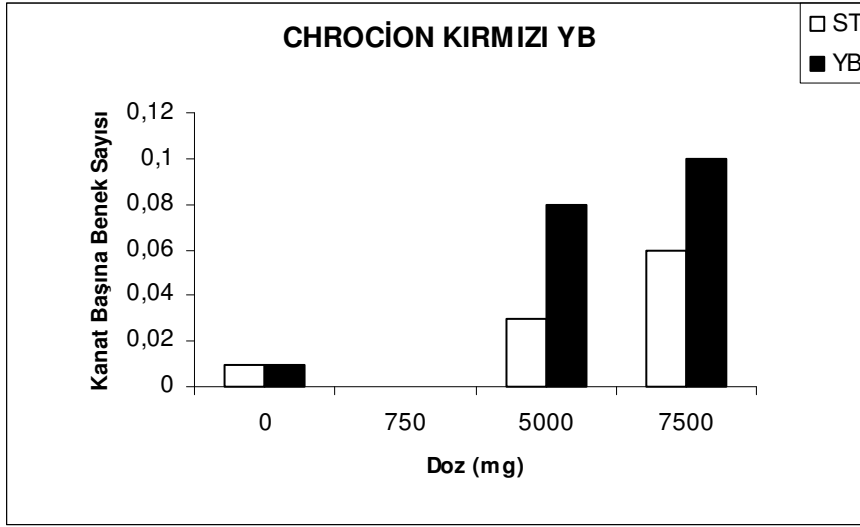


Şekil 4.18. Standart çaprazdan elde edilen ve chrocion kırmızı uygulanan ($mwh\ flr^+$ / $mwh^+ flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek



Şekil 4.19. Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve chrocion kırmızı uygulanan ($mwh\ flr^+$ / $mwh^+ flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek

Kanat başına düşen toplam benek sayıları bakımından ST ve YB çaprazlarının karşılaştırılması sonucunda Chrocion kırmızısının genotoksik etkisinin yüksek bioaktivasyon çaprazında daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Chrocion kırmızı uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.

4.1.6. Chrocion sarı boyasının genotoksik etkisinin araştırılması

Çalışmada Chrocion sarı boyasının genotoksik aktivitesini araştırmak için 1500 mg/I, 3500 mg/I, 5000 mg/I ve 7500 mg/I olmak üzere dört farklı dozu çalışıldı. Elde edilen sonuçlar ve istatistik değerlendirmeler Çizelge 4.6' da verilmiştir.

Her iki çaprazda da larvaların hayatta kalış oranının boya konsatrasyonunun artışına bağlı olarak azaldığı gözlemlendi. Larvaların ergine gelişebilme oranının kullanılan en düşük (1500 mg/I) ve en yüksek (7500 mg/I) dozlarda sırasıyla standart çapraz için %79 ve %66, yüksek bioaktivasyon çaprazı için %70 ve %68 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Chrocion sarı boyasının *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler

Grup adı ve Doz(mg/l)	Hayatta kalış (%)	Kanat sayısı	Kanat/Benek*		İstatistiksel Bulgular**	
			Küçük tekli benekler (1-2 hücre)	Büyük tekli benekler (>2 hücre)	İkili Benekler	Toplam benek sayısı
			[m=2]	[m=5]	[m=5]	[m=2]
ST						
0	97	140	0.01 (2)	0.00 (-)	0.01 (1)	0.02 (3)
1500	79	60	0.02 (1) i	0.05 (3) +	0.00 (-) i	0.07 (4) +
3500	70	60	0.07 (4) +	0.07 (4) +	0.02 (1) i	0.15 (9) +
5000	71	64	0.08 (5) +	0.06 (4) +	0.02 (1) i	0.16 (10) +
7500	66	62	0.05 (3) +	0.08 (5) +	0.02 (1) i	0.15 (9) +
YB						
0	99	140	0.01 (2)	0.01 (1)	0.01 (1)	0.02 (4)
1500	70	65	0.03 (2) i	0.06 (4) +	0.00 (-) i	0.09 (6) +
3500	70	62	0.05 (3) i	0.10 (6) +	0.02 (1) i	0.16 (10) +
5000	71	60	0.07 (4) i	0.12 (7) +	0.02 (1) i	0.20 (12) +
7500	68	63	0.08 (5) +	0.10 (6) +	0.02 (1) i	0.19 (12) +

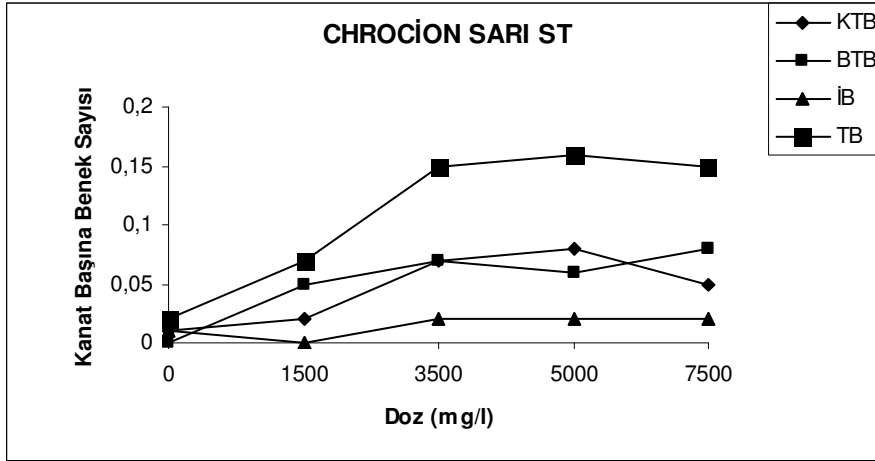
ST: Standart çapraz, YB: Yüksek biyoaktivasyon çaprazı

*Parantez içinde verilenler benek sayısıdır.

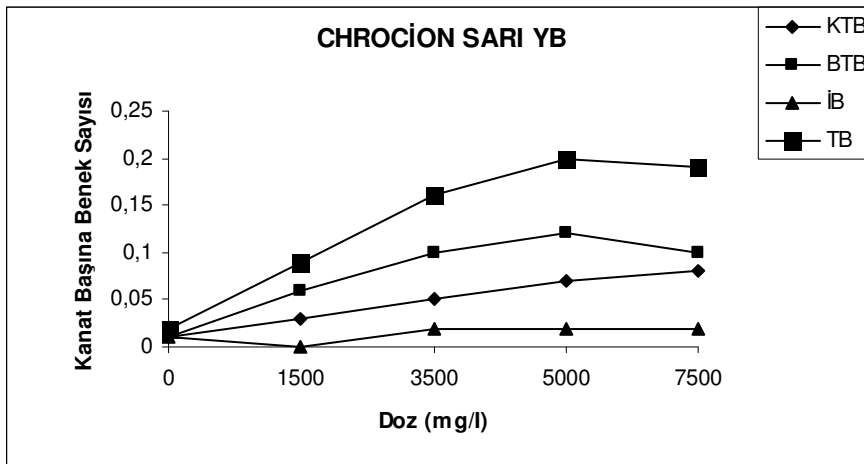
**Tek Yönlü Kastenbaum-Bowman Testi, Frei ve Würzler (1988), +: pozitif, -: negatif, i:yetersiz, m:çok değişkenli faktör, Olasılık seviyeleri: $\alpha=\beta=0.05$.

Elde edilen sonuçlara göre bu boya ST çaprazda tekli beneklerin (1500 mg/I konsantasyonda küçük tekli benek sayısı hariç) sayısını arttırırken ikili benek sayıları bakımından belirgin bir artış gözlenmemiştir ve bu sonuç istatistiksel olarak yetersiz olarak değerlendirilmiştir. Yüksek bioaktivasyon çaprazında ise büyük tekli benek sayıları tüm boya gruplarında artarken küçük tekli benek sayısı yalnızca en yüksek konsantrasyon olan 7500 ppm grubunda artmıştır. İkili benek sayılarındaki artış da yine istatistiksel olarak yetersiz olarak değerlendirilmiştir.

Chrocion sarının çeşitli dozlarına bağlı olarak kanat başına düşen tekli benek, büyük tekli benek, ikili benek ve toplam benek sayılarının standart çapraz sonuçları Şekil 4.21'de ve YB çapraz sonuçları ise Şekil 4.22' de verilmiştir. Şekiller incelendiğinde büyük tekli benek ve toplam benek sayılarının her iki çaprazda da doz artışına paralel olarak arttığı, ikili benek sayılarının ise kontrol grubuna göre önemli bir artış göstermediği görülmektedir.

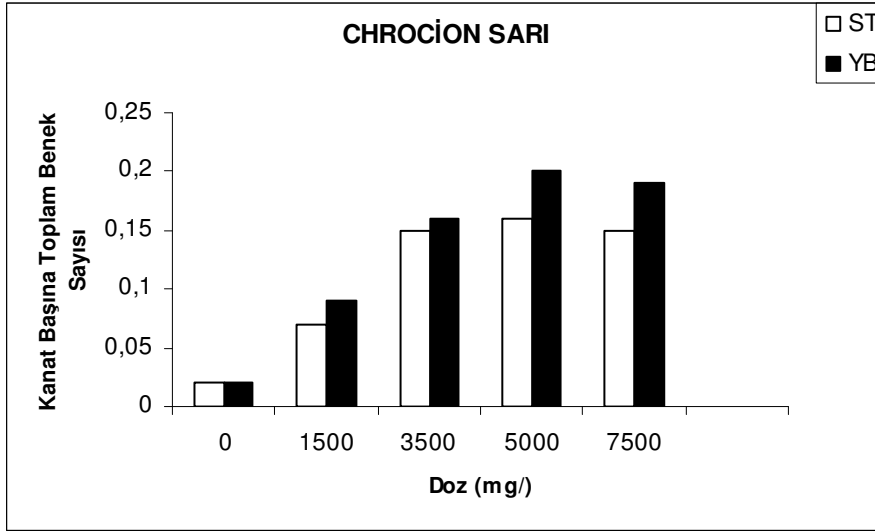


Şekil 4.21. Standart çaprazdan elde edilen ve chrocion sarı uygulanan ($mwh\ flr^+ / mwh^+ flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek



Şekil 4.22. Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve chrocion sarı uygulanan ($mwh\ flr^+ / mwh^+ flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek

Kanat başına düşen toplam benek sayıları bakımından ST ve YB çaprazlarının karşılaştırılması sonucunda chrocion sarısının genotoksik etkisinin yüksek bioaktivasyon çaprazında daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Chrocion sarı uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.

4 .1.7. Remazol mavi boyasının genotoksik etkisinin araştırılması

Çalışmada Remazol mavi boyasının genotoksik aktivitesini araştırmak için 1500 mg/l, 3500 mg/l, 5000 mg/l ve 7500 mg/l, olmak üzere dört farklı dozda çalışıldı. Elde edilen sonuçlar ve istatistik değerlendirmeler Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Her iki çaprazda da remazol mavi boyasının larvaların hayatta kalış oranını konsantrasyon artışına bağlı olarak azalttığı gözlemlendi. Kullanılan en düşük (1500 mg/l) ve en yüksek (7500 mg/l) dozlarda sırasıyla standart çapraz için %72 ve %61, yüksek bioaktivasyon çaprazı için %81 ve %51 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Remazol mavi boyasında *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler

Grup adı ve Doz (mg/l)	Hayatta kalış (%)	Kanat sayısı	Kanat/Benek*		İstatistiksel Bulgular**	
			Küçük tekli benekler (1-2 hücre)	Büyük tekli benekler (>2 hücre)	İkili Benekler	Toplam benek sayısı
			[m=2]	[m=5]	[m=5]	[m=2]
ST						
0	95	155	0.01 (1)	0.01 (1)	0.00 (-)	0.01 (2)
1500	72	72	0.01 (1) i	0.04 (3) +	0.00 (-) i	0.05 (4) +
3500	62	65	0.08 (5) +	0.06 (4) +	0.02 (1) i	0.15 (10) +
5000	66	64	0.05 (3) +	0.08 (5) +	0.03 (2) +	0.16 (10) +
7500	61	60	0.05 (3) +	0.08 (5) +	0.02 (1) i	0.15 (9) +
YB						
0	97	150	0.01 (1)	0.01 (1)	0.00 (-)	0.01 (2)
1500	81	73	0.01 (1) i	0.07 (5) +	0.01 (1) i	0.10 (7) +
3500	68	63	0.08 (5) +	0.10 (6) +	0.02 (1) i	0.19 (12) +
5000	70	62	0.06 (4) +	0.08 (5) +	0.02 (1) i	0.16 (10) +
7500	51	59	0.07 (4) +	0.12 (7) +	0.02 (1) i	0.20 (12) +

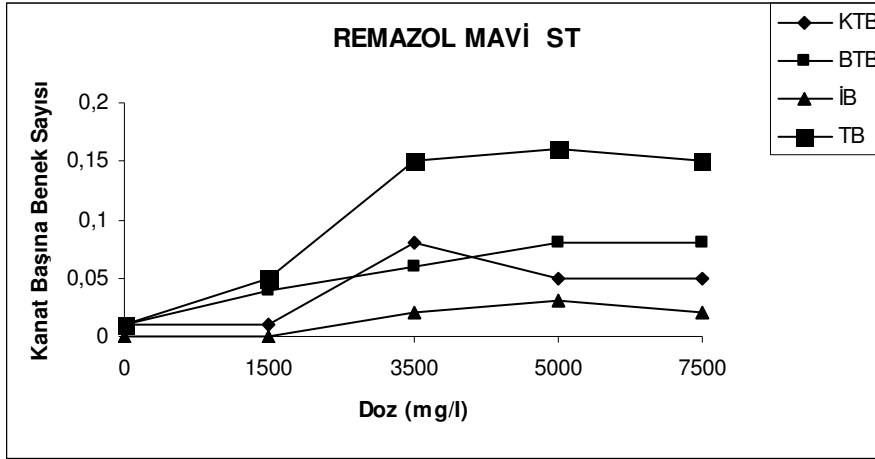
ST: Standart çapraz, YB: Yüksek biyoaktivasyon çaprazı

*Parantez içinde verilenler benek sayısıdır.

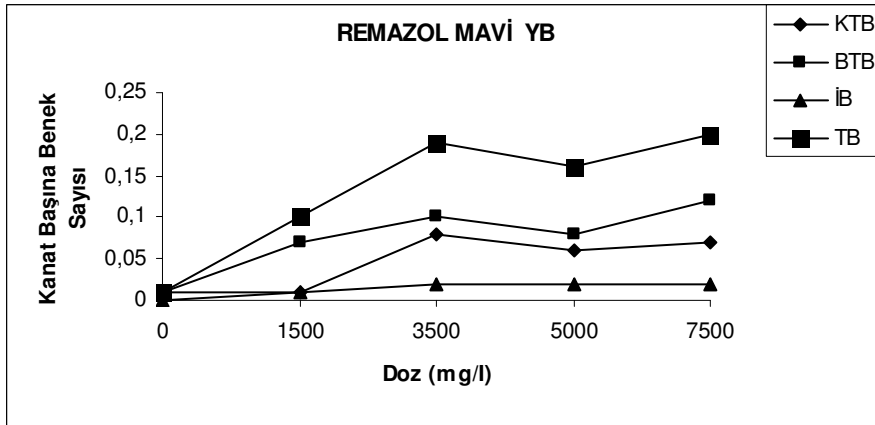
**Tek Yönlü Kastenbaum-Bowman Testi, Frei ve Würzler (1988), +: pozitif, -: negatif, i:yetersiz, m:çok değişkenli faktör, Olasılık seviyeleri: $\alpha=\beta=0.05$.

Elde edilen sonuçlara göre bu boya ST çaprazda tekli beneklerin (1500 mg/l konsantasyonda küçük tekli benek sayısı hariç) sayısını arttırırken ikili benek sayıları bakımından ise yalnızca bir grupta (500 mg/l) artış gözlenmiştir. Yüksek bioaktivasyon çaprazında ise tekli benek sayıları bakımından ST çapraz ile benzer artışlar gözlenirken ikili benek sayıları bakımından ise kontrol grubuna kıyasla belirgin bir artış gözlenmemiştir.

Remazol mavisinin çeşitli dozlarına bağlı olarak kanat başına düşen küçük tekli benek, büyük tekli benek, ikili benek ve toplam benek sayılarına etkisi ile ilişkili olarak ST çaprazı sonuçları Şekil 4.24 ve YB çaprazı sonuçları ise Şekil 4.25’ de verilmiştir. Bu şekiller incelendiğinde büyük tekli benek ve toplam benek sayılarının her iki çaprazda da doz artışına paralel olarak arttığı, ikili benek sayılarının ise kontrol gruplarına göre önemli bir artış göstermediği görülmektedir.

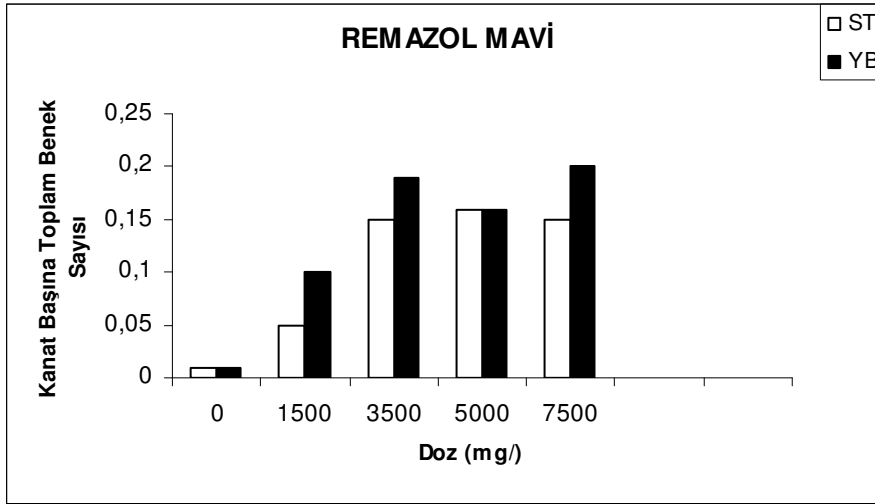


Şekil 4.24. Standart çaprazdan elde edilen ve remazol mavi uygulanan (*mwh flr⁺ /mwh⁺flr³*) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek



Şekil 4.25. Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve remazol mavi uygulanan (*mwh flr⁺ /mwh⁺flr³*) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek

Remazol mavi boyasının doza bağlı olarak kanat başına düşen toplam benek sayıları üzerine etkisi bakımından ST ve YB çaprazları karşılaştırıldığında 5000 mg/l hariç diğer dozlarda YB çaprazında ST çaprazına göre daha fazladır (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Remazol mavi uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.

4.1.8. Remazol Kırmızı boyasının genotoksik etkisinin araştırılması

Çalışmada remazol kırmızı boyasının genotoksik aktivitesini araştırmak için 1500 mg/I, 3500 mg/I, 5000 mg/I ve 7500 mg/I olmak üzere dört farklı dozu kullanıldı. Elde edilen sonuçlar ve istatistik değerlendirmeler Çizelge 4.8’ de verilmiştir.

Remazol kırmızı boyası her iki çaprazda da larvaların hayatta kalış oranını konsantrasyon artışına bağlı olarak azalttığı gözlemlendi. Hayatta kalış oranı kullanılan en düşük (1500 mg/I) ve en yüksek (7500 mg/I) dozlarda sırasıyla standart çapraz için %64 ve %49, yüksek bioaktivasyon çaprazı için %61 ve %46 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Remazol kırmızı boyasında *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler

Grup adı ve Doz (mg/l)	Hayatta kalış (%)	Kanat sayısı	Kanat/Benek*		İstatistiksel Bulgular**	
			Küçük tekli benekler (1-2 hücre)	Büyük tekli benekler (>2 hücre)	İkili benekler	Toplam benek sayısı
			[m=2]	[m=5]	[m=5]	[m=2]
ST						
0	97	140	0.01 (1)	0.01 (1)	0.00 (-)	0.01 (2)
1500	64	80	0.00 (-) i	0.01 (1) i	0.00 (-) i	0.01 (1) i
3500	58	85	0.01 (1) i	0.02 (2) i	0.00 (-) i	0.04 (3) i
5000	54	79	0.01 (1) i	0.03 (2) i	0.00 (-) i	0.04 (3) i
7500	49	72	0.01 (1) i	0.04 (3) +	0.01 (1) i	0.07 (5) +
YB						
0	98	130	0.02 (2)	0.01 (1)	0.00 (-)	0.00 (3)
1500	61	65	0.02 (1) i	0.03 (2) i	0.00 (-) i	0.05 (3) i
3500	54	60	0.02 (1) i	0.07 (4) i	0.00 (-) i	0.08 (5) +
5000	51	60	0.02 (1) i	0.08 (5) +	0.02 (1) i	0.12 (7) +
7500	46	61	0.03 (2) i	0.10 (6) +	0.02 (1) i	0.15 (9) +

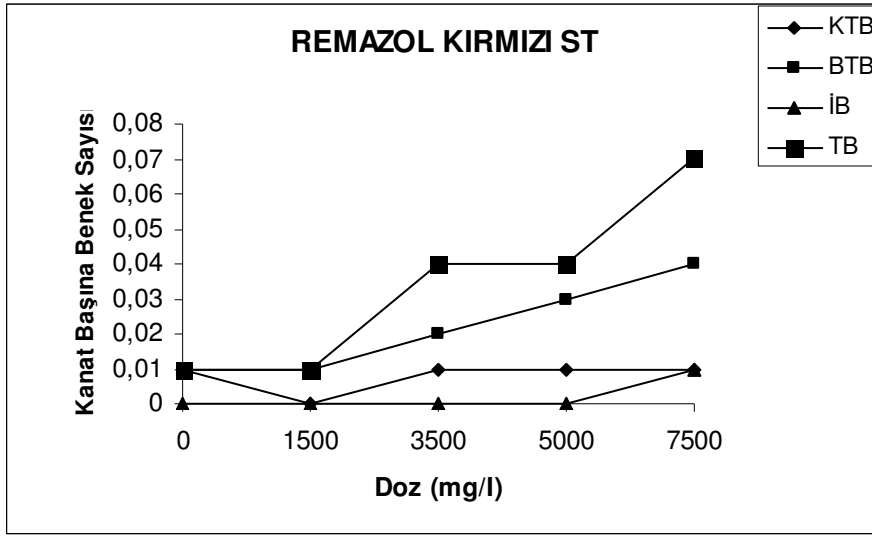
ST: Standart çapraz, YB: Yüksek biyoaktivasyon çaprazı

*Parantez içinde verilenler benek sayısıdır.

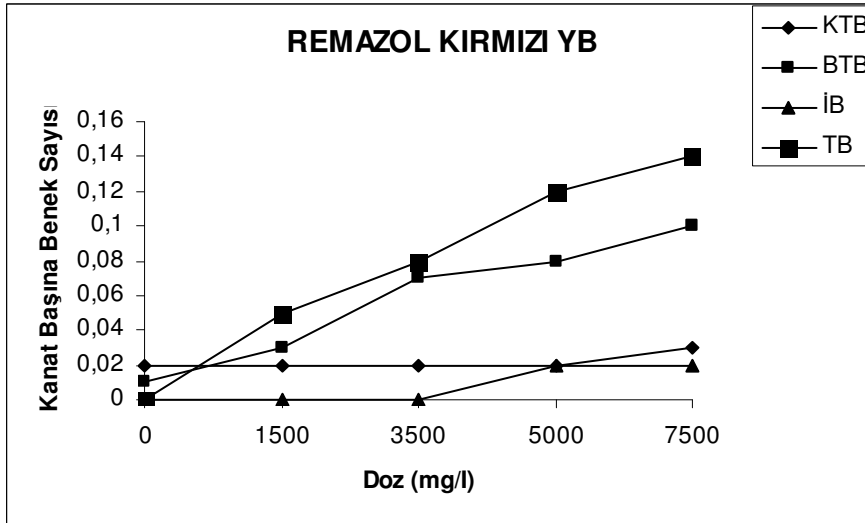
**Tek Yönlü Kastenbaum-Bowman Testi, Frei ve Würglers (1988), +: pozitif, -: negatif, i:yetersiz, m:çok değişkenli faktör, Olasılık seviyeleri: $\alpha=\beta=0.05$.

Remazol kırmızı boyasının ST çaprazında yalnızca en yüksek doz olan 7500 mg/I' da büyük tekli beneklerin artmasına neden olmuştur, diğer çalışma gruplarda ise belirgin bir artış gözlenmemiş ve istatistiksel bakımdan yetersiz olarak değerlendirilmiştir. Yüksek biyoaktivasyon çaprazında en yüksek iki dozda (5000 mg/I 7500 mg/I) yine yalnızca büyük tekli benek sayısı bakımından artış gözlenmiştir.

Remazol kırmızının çeşitli dozlarına bağlı olarak kanat başına düşen küçük tekli benek, büyük tekli benek, ikili benek ve toplam benek sayılarının ST ve YB çaprazları için elde edilen bulgular sırası ile Şekil 4.27 ve 4.28' de verilmiştir. Bu şekiller incelendiğinde büyük tekli benek ve toplam benek sayılarının her iki çaprazda da doz artışına paralel olarak arttığı, ikili benek sayılarının ise kontrol gruplarına göre önemli bir artış göstermediği görülmektedir.

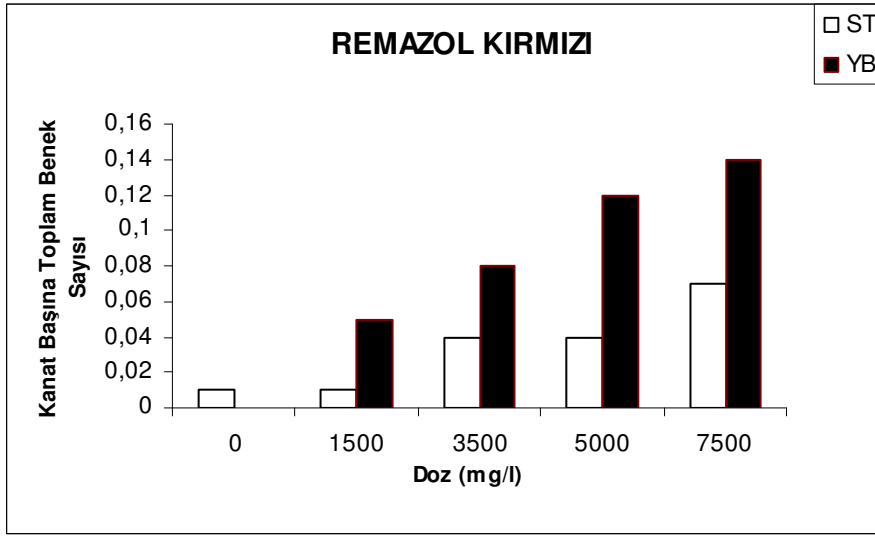


Şekil 4.27. Standart çaprazdan elde edilen ve remazol kırmızı uygulanan ($mwh\ flr^+$ / mwh^+flr^3) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek



Şekil 4.28. Yüksek bioaktivasyon çaprazından elde edilen ve remazol kırmızı uygulanan ($mwh\ flr^+$ / mwh^+flr^3) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek

Remazol kırmızı boyasının standart ve yüksek bioaktivasyon çaprazlarında doza bağlı olarak kanat başına düşen toplam düşen benek sayıları karşılaştırıldığında, Remazol kırmızı boyasının genotoksik etkisinin YB çaprazında ST çaprazına göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. Remazol kırmızı uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması

4.1.8. Tekstil fabrikası atık suyunun genotoksik etkisinin araştırılması

Çalışmada tekstil fabrikası atık suyunun genotoksik aktivitesini araştırmak için, tekstil fabrikası atık suyunu değişen oranlarında (1/4 v/v, 1/2 v/v, 3/4 v/v ve 1/1 v/v) içeren test çözeltileri distile su ile hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlar ve istatistik değerlendirmeler Çizelge 4.9' da verilmiştir. Tekstil fabrikası atık suyu her iki çaprazda da larvaların hayatta kalış oranını konsantrasyon artışına bağlı olarak azalttığı gözlemlendi. Tekstil fabrikası atık suyuna maruz kalan larvalar kullanılan en düşük (1/4 v/v) ve en yüksek (1/1 v/v) oranlarında sırasıyla ST çaprazda %64 ve %49, YB çaprazda ise %79 ve %35 oranında hayatta kalarak ergine gelişebilmiştir.

Çizelge 4.9. Atık suda *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulguları ve istatistik değerlendirmeler

Grup adı ve Sulandırım Oranı (v/v)	Hayatta kalış (%)	Kanat sayısı	Kanat/Benek*		İstatistiksel Bulgular**	
			Küçük tekli benekler (1-2 hücre)	Büyük tekli benekler (>2 hücre)	İkili benekler	Toplam benek sayısı
			[m=2]	[m=5]	[m=5]	[m=2]
ST						
0	99	140	0.01 (2)	0.01 (1)	0.01 (1)	0.02 (4)
1/4	64	85	0.01 (1) i	0.02 (2) i	0.00 (-) i	0.04 (3) i
1/2	63	82	0.04 (3) +	0.12 (10) +	0.02 (2) +	0.18 (15) +
3/4	59	40	0.1 (4) +	0.15 (6) +	0.03 (1) i	0.3 (11) +
1/1	49	38	0.24 (9) +	0.29 (11) +	0.05 (2) +	0.57 (22) +
YB						
0	97	140	0.01 (2)	0.00(-)	0.01 (1)	0.02 (3)
1/4	79	60	0.02 (1) i	0.08 (5) +	0.02 (1) i	0.12 (7) +
1/2	72	69	0.20 (14) +	0.28 (19) +	0.03 (2) +	0.51 (35) +
3/4	66	35	0.23 (8) +	0.34 (12) +	0.11 (4) i	0.70 (24) +
1/1	35	40	0.40 (15) +	0.40 (15) +	0.13 (5) +	0.88 (35) +

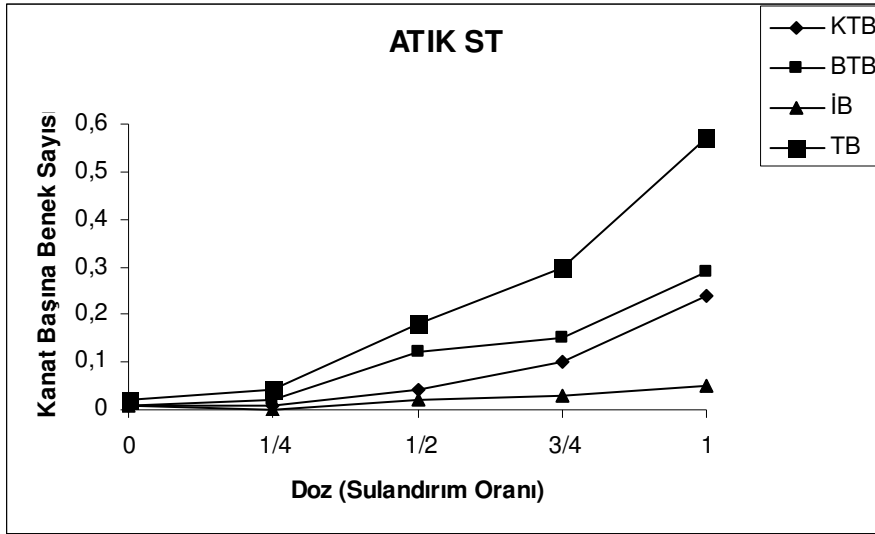
ST: Standart çapraz, YB: Yüksek biyoaktivasyon çaprazı

*Parantez içinde verilenler benek sayısıdır.

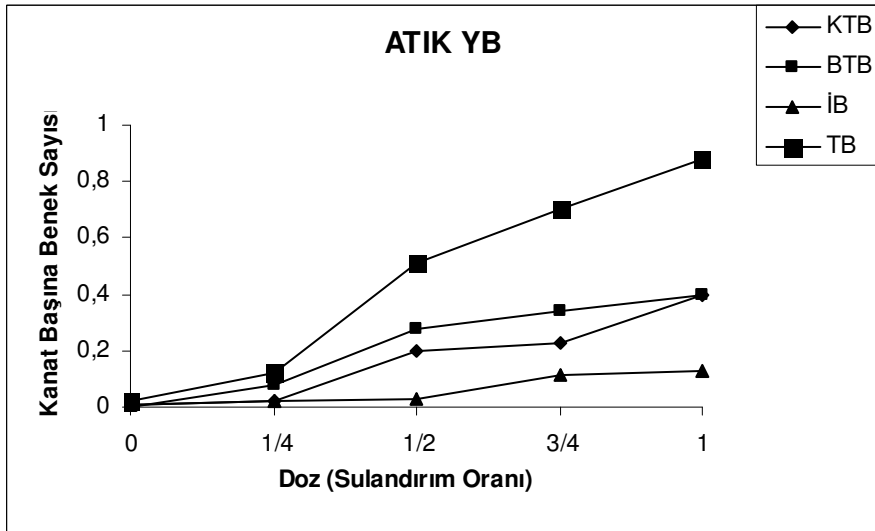
**Tek Yönlü Kastenbaum-Bowman Testi, Frei ve Würger (1988), +: pozitif, -: negatif, i:yetersiz, m:çok değişkenli faktör, Olasılık seviyeleri: $\alpha=\beta=0.05$.

Tekstil fabrikası atık suyu ST çaprazda en düşük konsantrasyon (1/4) hariç tüm gruplarda pozitif sonuçlar alınmıştır. Yüksek biyoaktivasyon çaprazında ise 1/4 dozunda büyük tekli benek ve toplam benek gruplarının dışındaki diğer gruplardan elde edilen veriler yetersiz olarak değerlendirilmiştir. İkili benek grubunun 1/4 ve 3/4 dozlarından elde edilen veriler yetersiz olarak bulunmuştur. Yüksek biyoaktivasyon çaprazında diğer bütün gruplardaki dozlar istatistiksel açıdan pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Atığın çeşitli dozlarına bağlı olarak kanat başına düşen küçük tekli benek, büyük tekli benek, ikili benek ve toplam benek sayılarının ST ve YB çaprazları için elde edilen bulguları sırası ile Şekil 4.30 ve 4.31' de verilmiştir.

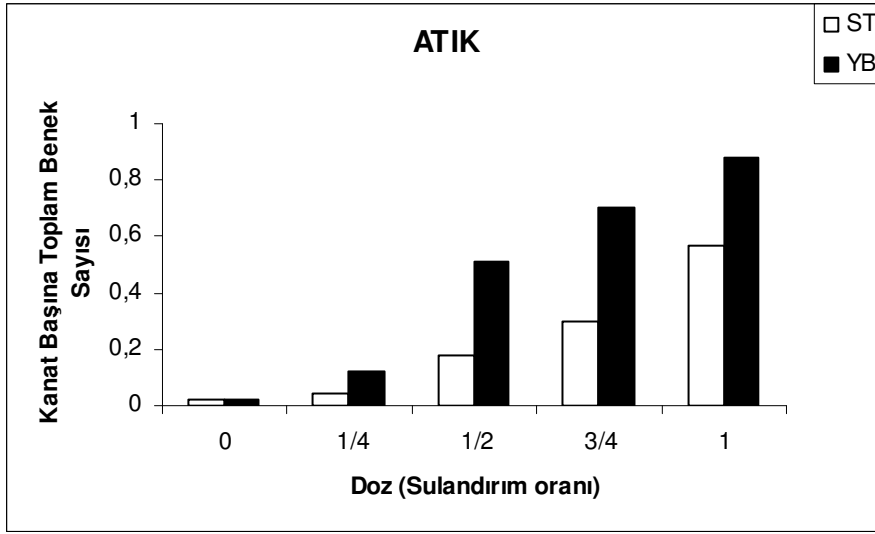


Şekil 4.30. Standart çaprazdan elde edilen ve atık uygulanan ($mwh\ flr^+ / mwh^+ flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek



Şekil 4.31. Yüksek bioaktivasyon çaprazdan elde edilen ve atık suyu uygulanan ($mwh\ flr^+ / mwh^+ flr^3$) larvalarda çeşitli benek tiplerinin doza bağlı olarak indüksiyonu. KTB; küçük tekli benek, BTB; büyük tekli benek, İB; ikili benek, TP; toplam benek

Tekstil fabrikası atık suyunun standart ve yüksek bioaktivasyon çaprazlarında doza bağlı olarak kanat başına düşen toplam benek sayıları karşılaştırıldığında, tekstil fabrikası atık suyunun genotoksik etkisinin YB çaprazında ST çaprazına göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. (Şekil 4.32).



Şekil 4.32. Atık su uygulaması sonucunda kanat başına düşen toplam benek sayısının doza bağlı olarak standart (ST) ve yüksek bioaktivasyon (YB) çaprazlarında karşılaştırılması.

4.2. Tekstil Boyar Maddelerine Maruz Kalan *Drosophila* Erginlerinde SOD, Katalaz, GR ve GST Aktiviteleri İle Redükte Glutasyon Miktarı Bulguları

Çalışmaların bu bölümünde öncelikle tüm boyar maddeler için Bölüm 3.8.1’ de anlatılan şekilde belirlenen konsantrasyonlarda (LD30) boyar maddenin eklendiği besi yerlerinde ergine geliştirilen erkek bireyler kullanıldı. Bu konsantrasyonlar tüm boyalar için Çizelge 4.10’ da verilmiştir.

Çizelge 4.10. 72±4 saatlik larvaların %30'nun ölümüne neden olan boyar madde konsantrasyonları

Boyar Maddeler	Doz (mg/l)	
	ST	YB
Astrazon siyah	745	726
Astrazon sarı	1222	657
Chrocion kırmızı	7703	7720
Chrocion sarı	9776	65085
Remazol mavi	9866	7615
Remazol kırmızı	5882	5221

Astrazon sarı GLE, astrazon siyah FDL, chrocion sarı H-E4G, chrocion kırmızı H-E3G remazol turkuaz mavisi G-A ve remazol kırmızı RR, boyalarının belirlenen dozlarında hayatta kalarak ergine gelişebilen erkek bireylerinde SOD, katalaz, GR ve GST aktiviteleri ile redükte glutatyon miktarı araştırıldı. Çalışmalar sırasında bazı gruplarda yeterli miktarda ergin elde edilemediği için çalışma yapılamamıştır. Elde edilen tüm sonuçlar Çizelge 4.11' de verilmiştir.

Grup	Enzim Aktivitesi									
	SOD (ng/ mg tp)± SH		KAT (μmol/ mg tp)± SH		GR (μmol/ mg tp/ml)± SH		GST (μmol/mg tp/ml)± SH		Red.Glutatyon (μmol/mg tp/ml)± SH	
	ST	YB	ST	YB	ST	YB	ST	YB	ST	YB
Kontrol	301,39±8,36	151,42±4,07	3369,45±28,43	2752,03±13,52	0,22± 0,02	0,27±0,01	7,74±1,91	2,78±0,17	3,0±0,10	1,50±0,05
Astrozon Siyah	378,7±20,01*	173,21±1,15*	5995,67±193,45*	2511,7±27,60	0,22± 0,01	0, 22±0,02	10,82±0,08	4,38±0,09*	2,99±0,04	1,62±0,05
Astrozon Sarı	-	861,38±19,82*	-	4566,2±110,76*	-	0,40±0,04*	-	10,22±0,98*	-	7,52±0,34*
Chrocion kırmızı	-	644,70±27,47*	-	7024,99±218,6*	-	0,35±0,09	-	8,53±0,27*	-	5,71±0,02*
Remazol Mavi	152,67±1,95*	189,92±0,53*	2726,07±11,82*	2073,46±44,25*	0,17±0,001	0,12±0,04*	4,59±0,08	4,41±0,08*	1,97±0,09*	1,85±0,07*
Remazol kırmızı	298,02±0,92	112,34±0,27*	3435,88±30,25	-	0,21±0,02	0,18±0,005*	8,84±1,85	3,98±0,30*	2,42±0,008*	1,49±0,03

*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farklılık $p \leq 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

Çizelge 4.11.Kullanılan tekstil boyaalarının süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon redüktaz (GR), ve glutatyon S-transferaz (GST) aktiviteleri ile redükte glutatyon miktarı üzerine etkileri

SOD aktivitesi bakımından tüm boya gruplarına bakıldığında ST ve YB çaprazlarında tüm gruplar arası farklılığın önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Kontrol grubunun ST ve YB çaprazlarından elde edilen erginlerde SOD aktivitesi sırası ile $301,39 \pm 8,36$ ve $151,42 \pm 4,07$ ng/ μ g total proteindir. Boya gruplarına göre değişen sonuçlar alınmış olup enzim aktivitesinin YB çaprazda özellikle astrazon sarı ve chrocion kırmızı boyalarında önemli düzeyde arttığı görülmektedir. ST çaprazında ise enzim aktivite değerlerinin, remazol kırmızı boyası ile değişmediği gözlenirken, diğer boyalar ile kontrol grubu arasında ki farkın önemli olduğu gözlemlendi ($P \leq 0.05$).

Katalaz aktivitesi bakımından tüm boya gruplarına bakıldığında ST ve YB çaprazlarında tüm gruplar arası farklılığın önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Kontrol grubunda ST ve YB çaprazlarından elde edilen erginlerde katalaz aktivitesi sırası ile $3369,45 \pm 28,43$ ve $2752,03 \pm 13,52$ μ mol/mg total proteindir. ST çaprazında astrazon siyah enzim aktivitesini arttırırken remazol mavi boyasının baskıladığı gözlenmiştir. YB çaprazında ise astrazon sarı ve chricon kırmızı enzim aktivitesini arttırmış ve remazol mavi ise baskılamıştır.

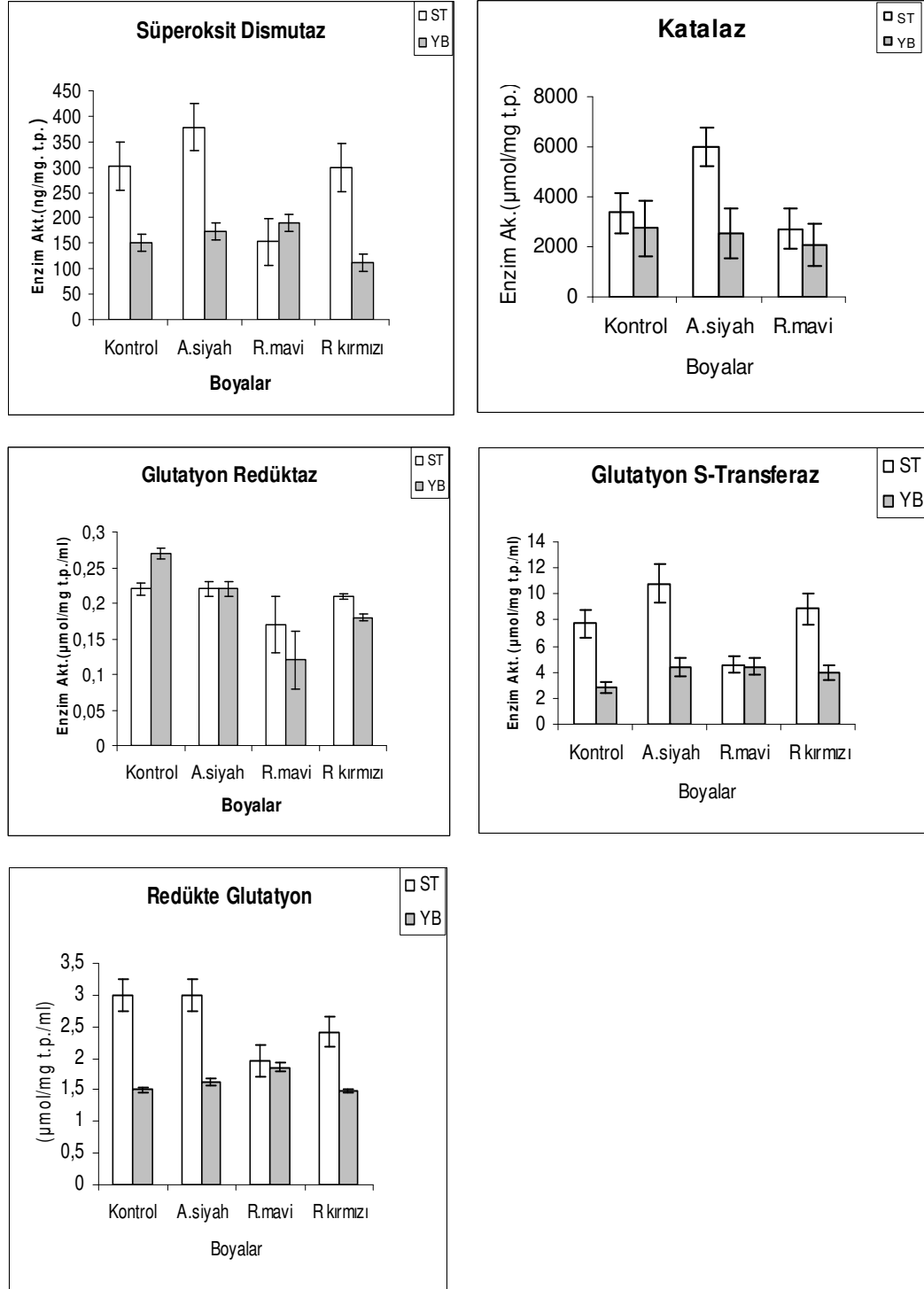
Glutasyon redüktaz üzerine boyar maddelerin etkisine bakıldığında ise ST çaprazda gruplar arasında istatistiksel bakımdan önemli fark gözlenmezken ($P > 0.05$) YB çaprazda gruplar arasındaki farkın önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$). ST ve YB çaprazlarından elde edilen erginlerde kontrol grubunda GR aktivitesi sırası ile $0,22 \pm 0,02$ ve $0,27 \pm 0,01$ μ mol/mg total proteindir. YB çaprazında asrazon sarı GR aktivitesini arttırırken remazol kırmızı baskılamıştır.

GST aktivitesi üzerine boyar maddelerin etkisine bakıldığında ise ST çaprazda gruplar arasında fark gözlenmezken ($P > 0.05$) YB çaprazda gruplar arasındaki farkın istatistiksel bakımdan önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$). ST ve YB çaprazlarından elde edilen erginlerde kontrol grubunun GST aktivitesi sırası ile $7,74 \pm 1,91$ ve $2,78 \pm 0,17$ μ mol/mg total proteindir. YB çaprazında tüm boya grupları enzim aktivitesinin artışına neden olmuştur.

Redükte gulutasyon (GSH) miktarı üzerine boyar maddelerin etkisi bakımından tüm boya gruplarına bakıldığında hem ST ve hem de YB çaprazlarında tüm gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$). ST ve YB çaprazlarından elde edilen erginlerde kontrol grubu glutasyon miktarı sırası ile $3 \pm 0,1$ ve $1,50 \pm 0,05$ μ mol/mg total proteindir. ST çaprazda remazol kırmızı glutasyon miktarını baskılarken, diğer boyaların önemli bir etkisi gözlenmemiştir. YB çaprazda ise astrazon

sarı ve chricon kırmızı uygulaması ile glutasyon düzeyinde önemli ölçüde artışa neden olmuştur ($P \leq 0.05$).

Bazı boyar maddelerin spesifik enzim aktiviteleri ile glutasyon düzeylerine etkisi bakımından ST ve YB çaprazlarının karşılaştırılmasını içeren grafikler Şekil 4.33'de verilmiştir.



Şekil 4.33. Bazı boyar maddelerin spesifik enzim aktiviteleri (SOD, katalaz, GR ve GST) ile GSH düzeylerine etkisi bakımından ST ve YB çaprazlarının karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tekstil endüstrisinin hızla geliştiği ülkemizde çok sayıdaki tekstil fabrikasında her geçen gün artan sayı ve çeşitte sentetik boyar madde kullanılmaktadır. Çoğu kez doğrudan ya da yeteri kadar arıtılmadan doğaya verilen söz konusu boyar maddeler ve tekstil atık sularının olası toksik ve genotoksik etkileri ise birçok çalışmaya konu olmuştur [75, 77,125,126].

Bu çalışmada, tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bazı boyar maddeler (astrazon sarı GL-E, astrazon siyah FDL, chrocion sarı H-E4G, chrocion kırmızı H-E3G, remazol turkuaz mavisi G-A ve remazol kırmızı RR) ile tekstil fabrikası atık sularının olası genotoksik etkisi ile antioksidan sistem ve glutatyon S transferaz sistemlerine olan etkileri araştırılmıştır.

5.1. Tekstil Boyar Maddeleri ve Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Genotoksik Etkisi

Genetik toksikolojide yaygın olarak kullanılan genotoksisite testlerinden biri de *Drosophila melanogaster*'in kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)'dir. Bu test çeşitli avantajları nedeniyle tercih edilen standart bir testtir [47]. Test farklı P-450 enzim seviyelerine sahip iki ayrı sistem ile çalışma olanağı da sağlamaktadır. Bununla ilişkili olarak standart (ST) ve yüksek biyoaktivasyon (YB) çaprazları paralel olarak yapılmış ve bu çaprazlardan elde edilen larvalar eşit koşullarda çalışmaya alınmıştır. Boya ya da tekstil atık suyunun değişik konsantrasyonlarına maruz bırakılan larvaların ergine gelişmeleri izlenmiştir. Böylece ergine gelişme süreci içerisinde boyaların ve tekstil atık suyunun olası genotoksik etkilerinin yanında larvaların hayatta kalışı (yaşayabilirlik yüzdesi) (ergine gelişebilen larvaların oranı olarak) üzerine etkisi de araştırılmıştır. Herhangi bir etmenin olası toksik etkileri ile ilgili olarak, *Drosophila*' da yaşayabilirlik yüzdesi çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır [99, 127,128].

Boya grupları ve tekstil atıklarının yanında pozitif kontrol grupları da çalışmaya dahil edilmiştir. Pozitif kontrol gruplarında EMS ve üretanın çeşitli dozları (5 mM, 10 mM ve 20 mM) kullanılmıştır. EMS'nin, DNA' nın yapısına doğrudan etki edebilen etilleyici ürünler ürettiği ve bu yolla nokta mutasyonlar, küçük delesyonlar ve kromozom kırılmaları ile rekombinajenik aktivitelere neden olduğuna yönelik çalışmalar vardır [129,130]. Bu çalışmada EMS bilinen genotoksik etkileri nedeniyle

kendi koşullarımızda SMART' ın çalıştığını göstermek amacı ile pozitif kontrol grubu olarak seçilmiştir. EMS' nin pozitif kontrol grubu olarak kullanıldığı birçok çalışma rapor edilmiştir [99,127,131]. Diğer pozitif kontrol olan üretan ise iyi bilinen bir promutajendir ve sitokrom P-450 enzim sistemi ile metabolik olarak aktive olabilmektedir. Üretanın çalışılan dozları daha önce yüksek biyoaktivasyon çaprazlamalarından elde edilen sonuçlar temel alınarak seçilmiştir [125]. Bu çalışmada kullanılan tüm boyalar, tekstil atık suyu, EMS ve üretanın tüm dozları her iki çaprazda da uygulama dozuna bağlı olarak larvaların hayatta kalış oranını azaltmıştır. ST ve YB çaprazlardan elde edilen larvaların hayatta kalış oranları arasında belirgin bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir. Çizelge 4.1.5 ve 4.1.6' da görüldüğü gibi en az toksik olan boya chrocion grubu (sarı ve kırmızı) boyalardır. Bunların en yüksek dozu (7500 mg/l) dahi her iki çaprazda larvaların yalnızca %31-38' nin ölümüne neden olmuştur. En toksik boya ise astrazon grubu boyalar (sarı ve siyah) olup (çizelge 4.3 ve 4.4.) kullanılan en düşük doz (350 mg/l) dahi her iki çaprazda larvaların % 28-43' ünün ölümüne neden olmuştur. Astrazonun toksik etkisi konsantrasyon artışına paralel olarak artmış ve kullanılan en yüksek dozda (1000 mg/l) ise ölüm oranı % 74-86 olarak bulunmuştur. Tekstil atık suyunu değişen oranlarda içeren besiyerinde gelişen larvalarda da ölüm oranı konsantrasyon artışına paralel olarak artmış olup 1/1 oranında atık içeren besi yerinde larvaların %51-65' nin ergine gelişemediği gözlenmiştir (Çizelge 4.9.). Bu toksisite ekosistem için büyük bir problemdir [127,131].

Sonuçlarımıza benzer şekilde tekstil boyalarının ve tekstil atık sularının toksik olduğu bir çok test sisteminde yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [132,133]. *Xenopus* embriyoları üzerine astrazon kırmızı, astrazon mavi, remazol kırmızı, remazol turkuaz mavi, cibacron kırmızı ve cibacron mavinin toksik etkisi Birhanlı ve Özmen (2005) tarafından rapor edilmiştir [134]. Ayrıca, bu çalışmada test edilen tüm boyaların embriyo gelişimini baskıladığı ve *Xenopus* leavis iribaşlarında çeşitli tipte yapısal bozuklukların ortaya çıktığı belirtilmiştir. Moawad vd. (2003) ise bazı boyaların fitotoksik potansiyelini belirtmiş ve yüksek konsantrasyonlardaki boyaların çeşitli türdeki bitkilerde tohumların çimlenmesini inhibe ettiğini belirtmiştir [135]. Sarı G-GELB-GLE, kırmızı FBL, mavi FGRL ve siyah FDL boyalarının farklı konsantrasyonları kullanılarak yapılan bir başka çalışmada fungus (*F. trogii*) ve bakterilerin (*S. aureus*) üremesinin bu boyalar tarafından tümüyle inhibe edildiği saptanmıştır [114]. Ayrıca reaktif boyaların farklı çeşitlerinin toksik etkileri Wang vd. (2002) tarafından ortaya konulmuştur [136].

SMART, somatik hücrelerinde, heterozigotluğun kaybedilmesi ilkesine dayanan, somatik mutasyon ve rekombinasyonlara duyarlı, hızlı, ekonomik ve güvenilir *in vivo* bir testtir [48,137]. Olası mutajenlerin neden olacağı genotoksik etkiler mutant hücre klonları olarak belirlenir. Mutant hücre klonları, ergin sineğin kanat hücrelerinde delesyonlar, nokta mutasyonlar ve mitotik rekombinasyon nedeni ile ortaya çıkabilir. *mwh* veya *flr* genetik işaretleri taşıyan mutant hücre klonları 1-2 hücrede bulunuyorsa küçük tekli benek, 3 ve daha fazla hücrede bulunuyorlarsa büyük tekli benek, *mwh* ve *flr* genetik işaretlerin her ikisini yan yana bulunduran mutant hücre klonları ise ikili benek olarak adlandırılır [40]. *flr* tekli benekleri nokta mutasyonlar veya delesyonlar sonucu, *mwh* tekli benekleri delesyonlar veya *mwh* ve *flr* lokusları arasındaki mitotik rekombinasyon sonucu [138] oluşurken, ikili benekler ise *flr* lokusu ve sentromer arasındaki mitotik rekombinasyonla oluşurlar. *mwh* ve *flr* lokusları arasındaki uzaklık, *flr* lokusu ve sentromer arasındaki uzaklıktan daha fazla olduğu için mitotik rekombinasyon sonucu oluşan ve *mwh* taşıyan tekli beneklerin sayısı ikili beneklerin sayısından fazladır. Birçok etmenin bu beneklerin büyüklüğünü ve sayısını etkilediğine yönelik çalışmalar vardır [47,48,139].

Çalışmamızda pozitif kontrol olarak aldığımız EMS' in üç farklı dozu (5, 10 ve 20 mM) her iki çapraz grubunda da tüm beneklerin sayısını kontrole kıyasla attırmıştır. Bu sonuç, önceki çalışmalara [140, 40, 127, 141] uygun olarak EMS'nin mutajenik ve rekombinojenik aktivitesini göstermektedir. Diğer pozitif kontrol grubunu oluşturan üretan gruplarında ise yine her iki çaprazda da konsantrasyon artışına bağlı olarak benek sayılarının arttığı gözlenmiştir. Bu artış üretanın bir promutajen olmasından dolayı YB çaprazda ST çaprazla kıyasla oldukça belirgindir ve daha önce yapılan çalışmalar ile uyumludur [112]. Tekstil boyalarının çeşitli test sistemlerinde yapılan çalışmalarda toksik, genotoksik ve mutajenik etkilerinin olduğu belirtilmektedir [91,142-146]. Yapılan çalışmalar bazen çelişkili sonuçlar da vermektedir. Bunlardan birinde Moawad vd. (2003), [135] azo boyalarının güçlü mutajenik etkisinin olduğunu belirtirken Przybojewska (1996), ise tekstil boyalarının genotoksik olmadığını rapor etmiştir [90]. Jager vd. (2004), Ames testi kullanarak yaptıkları çalışmada 53 tekstil boyasının 15 tanesinin genotoksik olduğunu bulmuşlardır. Aynı çalışmanın ikinci bölümünde ise Ames testinde pozitif bulunan boyalar fare lenfoma hücrelerinde test edilmiştir ve iki tanesi hariç diğerlerinin bu testte de genotoksik olduğu bulunmuştur [82].

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre genotoksik etkisi en fazla olan boyanın yine astrazon grubu boyalar olduğunu söyleyebiliriz. Tüm benek çeşitlerinde artışa

neden olan bu boya azo boyalar arasındadır. Azo boyalarının mutajenik, kanserojenik ve toksik etkisi doğrudan veya biyotransformasyon sırasında oluşan aril amin türevleri nedeniyledir. Bu aromatik aminlerin bazıları Ames testinde mutajenik bulunmuştur [145]. Bir çok sentetik boya özellikle sülfürlü azo boyalar yine Ames testinde (direct black 38, direct red 2, direct blue 15 vb.) [143,144], fare kemik iliği mikronükleus testinde [145,147] ve kurbağa iribaşlarının kan hücrelerinde yapılan comet assay [146]'de mutajenik bulunmuştur.

Remazol turkuaz mavisi remazol kırmızıya kıyasla daha genotoksik bulunmuştur. Genotoksik etki özellikle tekli benek sayılarındaki artış ile ilişkili bulunmuştur. Bazı araştırmacılar *mwh* fenotipine sahip küçük tekli beneklerin kalitatif olarak büyük tekli beneklerden farklı olduğunu belirtmektedir [40,148].

Choricon kırmızının genotoksik etkisi sadece yüksek dozda (7500 mg/l) YB çaprazında gözlenirken, choricon sarı ise her iki çaprazda da tekli beneklerin sayısında artışa neden olmuştur.

Çalışmada kullandığımız tekstil atık suyu ise tüm benek tiplerinin artışına neden olduğundan genotoksik bulunmuştur. Benzer sonuçlar çeşitli çalışmalarda farklı tekstil endüstrisi atıkları veya tekstil boyalarına maruz bırakılan organizmalarda yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda kromozom ya da kromozom fragmentlerinden oluşan mikronükleuslu eritrositlerin frekansının arttığı belirtilmektedir. [142, 145, 149]. Yine başka bir çalışmada Sumathi vd. (2001) tekstil atıklarına maruz bırakılan *Cyprinus carpio*'nun karaciğer ve eritrositlerinde DNA kırıklarının oluştuğunu rapor etmiştir [93]. İkili beneler *flr*³ geni ile 3. kromozomun sentromeri arasında oluşan mitotik rekombinasyon ile oluşmaktadır [40]. Çalışmamızda kanat başına düşen ikili benek sayılarına bakıldığında astrazon boyalar ile tekstil atık suyunun yüksek dozları hariç diğer boya gruplarında elde edilen sonuçlar kontrol gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel anlamda yetersiz olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuç boyaların mitotik rekombinasyona neden olmadığını söylemek için yeterli değildir. Genetik toksikoloji çalışmalarında etkisiz demek pozitif etkili demekten çok daha zor ve benek sayılarının mümkün olduğunca fazla ve eşit olmasını gerektirmektedir [116,117]. Kanat başına düşen toplam benek sayısı göz önüne alındığında remazol kırmızı boyasının ST çaprazı hariç (bu gruplarda yalnızca çok yüksek doz olan 7500 mg/l'de pozitif sonuç vardır) tüm gruplarda pozitif sonuçlar alınmıştır. İlave olarak toplam benek sayıları bakımından standart ve yüksek biyoaktivasyon çaprazları karşılaştırıldığında tüm boya ve tekstil atık suyu gruplarında

ST apraza göre YB çaprazda artan genotoksisite gözlenmiştir. Bu artış yüksek dozlarda daha fazla gözlenmiştir. Standart apraz sınırlı bir biyoaktivasyon kapasitesi ile karakterize edilmiştir. Artan sitokrom P-450'ye bağlı enzim aktivitelerine sahip yüksek biyoaktivasyon çaprazı promotajen ve prokarsinojenlerin tespiti için daha duyarlıdır [160,45].

5.2. Tekstil Boyar Maddelerine Maruz Kalan *Drosophila* Erginlerinde SOD, Katalaz, GR ve GST Aktiviteleri İle Redükte Glutasyon Miktarına Etkisi

D. melanogaster radikal süpürücü enzimler olarak bilinen SOD, CAT ve GR' a sahipken glutasyon peroksidaza (GPX) sahip değildir [54]. SOD $O_2^{\cdot-}$ yi H_2O_2 'ye dönüştürürken CAT ve GPX, H_2O_2 ' yi H_2O ' ya dönüştürür. GR ise glutasyonu okside formdan redükte forma dönüştürür.

Normal fizyolojik koşullarda reaktif oksijen türleri, antioksidan savunma sistemi tarafından kontrol edilmekte ve bir denge sağlanmaktadır. Bu enzimlerin özelliği oksidatif stres altında indklenebilmeleridir. Böylece indüksiyon yeni duruma adaptasyon için önemli bir rol oynar. şiddetli oksidatif stres ise onların aktivitesini baskılayabilir. Bu enzimlerin aktivitesindeki azalma serbest oksijen radikallerinin birikimine ve bu da çoğu kez tamir edilemeyen ve biriken moleküler bozulmalara neden olmaktadır. Kirleticiler tarafından oluşturulan oksidatif stresi göstermek için antioksidan savunma sistemindeki değişimleri temel alan çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır [126,161-166]. Bu enzimlerin aktivitesinin birçok nedenle azaldığı ya da indklenebildiği çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir [54,143,157,162].

Çalışmalarımız sonucunda SOD ve katalaz aktivitelerindeki değişimin bazı boya gruplarında benzerlikler gösterdiği gözlenmiştir (izelge 4.11). ST çaprazlardan gelişen gruplara baktığımızda astrazon siyah her iki enzimin aktivitesini de önemli düzeyde arttırırken remazol mavi baskılamıştır. YB aprazdan gelişen erginlerde de yine her iki enzim için benzer sonuçlar alınmıştır. Buna göre astrazon sarı ve chrocion kırmızı her iki enzimin aktivitesini de arttırmıştır. Katalaz aktivitesinin artışı ise organizma için yararlıdır ve belirleyicidir. *Drosophila*' da katalazın artan aktivitesinin hidrojen peroksit ile oluşturulan oksidatif strese karşı koruyucu olduğu ama bu durumun ömür uzunluğunu etkilemediği belirtilmektedir [168]. Ksenobiyotiklerin SOD ve katalaz aktivitelerini indklediklerine yönelik bir çok çalışma vardır. Bunlardan biri Anisimov

vd. (1999) tarafından rapor edilmiştir. Buna göre epithalaminin *Drosophila*' da SOD ve katalaz aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir [143]. Nicolosi vd. (2003) yaptığı bir çalışmada ise bir herbisit olan 3-amino-1,2,4-triazole'ün *Drosophila*' da katalaz aktivitesini arttırdığı belirtilmektedir [162]. Bunun yanında Amstad vd. (1991) paraquatın *E.coli*' de Fe-SOD ve MN-SOD' ın sentezini artırdığı saptanmıştır [157].

Kullanılan tekstil boyalarının süperoksit radikallerinin üretimine neden olarak oksidatif strese yol açtığını ve bu yüzden süperoksit radikallerinin süpürülmesinde önemli role sahip olan SOD ve katalaz aktivitesinin arttığını söyleyebiliriz.

Katalaz aktivitesinin az ya da hiç olmadığı mutant *Drosophila melanogaster*' in H_2O_2 ' ye çok duyarlı olduğu ve yaşayabilirliği ve ömür uzunluğunun kontrol grubuna kıyasla azaldığı belirtilmektedir [143].

Söz konusu enzim aktivitelerinin ksenobiotikler nedeni ile inhibe edildiğini belirten çalışmalar da vardır. Bu çalışmaların birinde bir herbisit olan 3-amino-1,2,4-triazole uygulamasının katalazın %95 oranında indirgenmesine neden olduğu belirtilmektedir [167]. SOD aktivitesinin inhibe edildiği mutant sineklerin ise kontrol grubuna kıyasla %80 daha kısa yaşadığı ve $O_2^{\bullet-}$ ın oluşumuna neden olan paraquata karşı daha hassas olduğu belirtilmektedir [169].

Glutasyon (GSH) bir radikal süpürücüdür ve antioksidan savunmada önemli bir yeri vardır. Böylece GSH düzeyindeki bir değişiklik bir organizmanın detoksifikasyon yeteneğinin önemli bir göstergesi olabilir. GSH sıklıkla oksidatif strese karşı savunmanın ilk basamağını oluşturur. Laboratuvar koşullarında bir çok etmene karşı GSH düzeylerindeki değişim çeşitli organizmalarda çalışılmıştır. Bunlardan birinde 2,4-dichlorophenol uygulamasının *Carassius auratus*' da GSH düzeyini azalttığı belirtilmektedir [170]. Bunun tersine olarak bazı organik bileşiklerin ise GSH düzeyini artırdığı rapor edilmektedir [171,172].

Bu çalışmada ise ST çaprazdan elde edilen erginlerde GR aktivitesi bakımından gruplar arasında gözlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemli değilken ($P>0.05$) GSH düzeyleri bakımından remazol mavi ve remazol kırmızı boyalarında kontrol grubuna kıyasla azalma gözlenmiştir ($P<0.05$). YB çaprazdan elde edilen erginlerde ise astrazon sarı hem GR aktivitesinin ve hem de GSH miktarının artmasına neden olmuştur ($P<0.05$).

Glutayon S-transferaz, potansiyel alkileyici ajanlar ve diğer ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda ve biyotransformasyonunda önemli rol oynayan sitozolik çok

fonksiyonlu ve çok bileşenli bir enzimdir [159,173,174]. GST' nin en önemli görevi oksidatif bozukluklar ve peroksidatif ürünlere karşı DNA ve lipitleri korumaktır. [175]. GST aktivitesinin kimyasal karsinogenezisi modüle ettiğine dair veriler vardır [176]. *Drosophila*'da GST'ın genetiği ile ilişkili birçok çalışma vardır [177,178,173]. Durusoy ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada GST aktivitesinin *Drosophila* Oregon R soyu ile eboni ve bu iki soyun çaprazı ile oluşan F₁'melezlerinde yaşa bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. Buna bağlı olarak detoksifiye edici enzim düzeyleri ile antioksidan düzeyleri arasında bir bağlantı olduğu belirtilmiştir [173].

Yapılan bir çok çalışmada bir çok ksenobiyotiğin GST aktivitesini arttırdığı belirtilmektedir. Bu çalışmaların birinde tekstil boyar maddelerine maruz kalan *Xenopus* iribaşarında GST aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir [126]. Yine başka bir çalışmada ise insektisit uygulamasının yine *Xenopus* embriolarında GST aktivitesini arttırdığı belirtilmektedir [179]. Çalışmamızdan elde edilen bulgular yukarıdaki sonuçları destekler niteliktedir. Çalışmalarımızda ST çaprazdan gelişen bireylerin tekstil boyalarına maruz kalması sonucu GST aktivitelerinde ortaya çıkan değişikliklerin istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunurken YB çaprazında ise tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla önemli artışlar gözlenmiştir ($P<0.05$). Bu sonuç YB çaprazı ile oluşan erginlerin daha yüksek sitokrom P450 seviyesine sahip olması ile açıklanabilir. Sitokrom-P450 sistemi, yabancı bileşiklerin biotransformasyonunu katalizleyen reaksiyonların birinci kademesinde (faz I) yer almaktadır. Bu faz I reaksiyonları, yabancı bileşiği türevleri haline dönüştürerek suda daha iyi çözünbilmelerini sağlarlar. Daha sonra bu fonksiyonel gruplar Faz II reaksiyonlarına katılırlar. Faz II reaksiyonları ise Glutatyon S transferazlar, sülfotransferazlar gibi pek çok enzimatik reaksiyonu içermektedir [159]. Bu yüzden yaptığımız çalışmada kullandığımız toksik etkiye sahip tekstil boya, önce faz I de bileşik türevlerine ayrıldıktan sonra faz II reaksiyonlarına katıldıkları için faz II'deki antioksidan enzim aktiviteleri artmıştır. YB çaprazında sitokrom p-450 seviyesi standart çaprazdakinden çok daha fazla olduğu için Faz II'de görev alan antioksidan enzimlerin aktiviteleri de standart çapraza göre daha fazladır.

Tüm enzimlere genel olarak bakıldığında bulgularımıza benzer bir sonuç Y. Sun vd. (2005) tarafından rapor edilmiştir [161]. Bu çalışmada HC Orange No.1' nin *Carassius auratus*'da CAT, SOD, GST aktivitesi ile ve GSH düzeyinin etkilendiğini ve bunun da oksidatif stresin ortaya çıkmasına bağlı olarak artan oksiradikallerinin sitotoksik etkisine karşı savunma mekanizmasını güçlendirmek amacıyla yönelik olduğu vurgulanmaktadır.

Çalışmalarımıza benzer bir başka bulgu ise dispers kırmızı 11 ve dispers 3 boya ile yapılan çalışmadan elde edilmiştir. Bu çalışmada söz konusu boyar maddelerin glikoz 6 fosfatdehidrojenaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz ve sitokrom P-450 enzimlerini indükledikleri rapor edilmiştir [154].

Genel bir değerlendirme ile astrazon boyaların remazol ve chrocion boyalara göre daha toksik ve genotoksik olduğunu söyleyebiliriz. Çalışma gruplarımız içerisinde değerlendirilen boyalardan astrazon siyah ve remazol kırmızı, azo grubu içeren boyalardandır. Bazı azo boyaların insanlar ve hayvanlar için potansiyel mutajen veya karsinojen oldukları belirtilmektedir. Bu boyaların mutajenik, karsinojenik ve toksik etkileri; ya doğrudan mutajen olmalarından ya da enzimlerle redüktif biotransformasyonları sonucu ortaya çıkan aril amin türevlerinden kaynaklanabildiği ileri sürülmüştür [151,152]. İnsan ve hayvan barsak mikroflorasının, azo redüktaz enzim aktivitesinin başlıca kaynağı olduğu, buradaki yıkım ürünlerinin karaciğerde sitokrom P-450 enzim sistemi tarafından parçalandığı ve bu parçalanma ürünlerinin organizmada toksik ve genotoksik etkilere neden olduğu ifade edilmiştir [145].

Sonuç olarak tekstil boyar maddelerinin toksik ve genotoksik etkilerini göstermek için *in vivo* test sistemlerinde yeterli düzeyde araştırılmadan pazarlandığını ve kullanıldığını söyleyebiliriz. Tekstil endüstrisinde binlerce boya kullanıldığını ve bu boyaları içeren atıklara çevremizin her geçen gün daha fazla maruz kaldığını düşünürsek olası riskleri ortaya koymak için çeşitli test sistemleri ile yapılacak ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır. Sahip olduğu enzim sistemleri ve genetik mekanizmaları nedeni ile en çok tercih edilen model organizmalardan bir olan *D. melanogaster* ile yapılan bu çalışmanın insan ve çevre sağlığı açısından gözönüne alınması gerektiği kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

- [1] A. Samsunlu, “ *Türkiye’de Çevresel Etki Değerlendirilmesi*” , Çevre’ 85 Bildiri Kitabı, İzmir, 1985.
- [2] N. Mathur, P. Bhatnagar, P. Nagar and M.K. Bijarnia, *Mutagenicity assessment of Sanganer, Jaipur (India): a case study. Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol: 61, (2005), 105-113.
- [3] A. Mishra, M. Bajpai, *Flocculation behavior of model textile a wastewater treated with a food grade polysaccharide*, **Journal of hazardous Materials B**, 118, (2005), 213-217.
- [4] I. Jager, C.Hafner K.Schneider, *Mutagenicity of different textile dye products in Salmonella typhimurium and Mouse lymphoma cells*, **Mutation Research**, 561, (2004), 35-44.
- [5] L.D. Claxton, V.S. Houk, T.J. Hughes, *Genotoxicity of industrial wastes and effluents*, **Mutation Research**, 410, (1998), 237-243)
- [6] İ. Başer, Y. İnancı, “ *Boyar Madde Kimyası*”, İstanbul, (1990), s.7.
- [7] U. G. Doğan, “*Bazı Tekstil Boyalarının Amfibi İrbaşlarına Toksik Etkileri*”, Yüksek lisans Tezi Malatya, 2002.
- [8] K. Al K. Al-Sapti, *Cholorotriazine reaktive azo red 120 texile dye induces micronuclei in fish*, **Ecotox. Environ. Safety**, (2000), 47: 149-155.
- [9] T-L. Hu, S.C. Wu, *Assessment of effect of azo dye RP₂B on the growth of a nitrojen fixing cyanobacterium-Anabaena sp.*, **Biores., Technol.**, (2000), 77: 93-95.
- [10] T. Robinson, G. Mc Mullan, R. Marchant, P. Nigam, *Remediation of Dyes in Textile Effluent: A Critical review on Current Treatment Technologies with a Proposed Alternative*, **Bioresource Technology**, 77, (2001), 247-255.
- [11] K.T. Chung ve C.E. Cerniglia, *Mutagenicity of azo dyes: structure- activity relationships*, **Mutation Research**, 277: 3, (1992), 201-220.
- [12] A.R. Khatri, *Reaktive dyes and dyeing process*, **Pakistan Textile Journal**, (1996), pp.22-25.
- [13] H.A.Lub, *The Chemistry of Synthetic Dyes and pigments*”, Florida, (1982) s. 144.
- [14] O.Yeşilada, s. Cing ve D. Asma, *Decolourasition of the textile dye Astrazon Red FBL by Funalia trogii pellets*, **Bioresource Technology**, 81, (2002), 155-157.
- [15] A.M. Clark, M.Rockstein, *Aging in insect. Physiology of Insecta*, (1964), I. 227-281.
- [16] A.N. Bozcuk, *DNA Synthesis In The Absence of Somatic Cell Division Associated With Agingin D. subobscura*, (1972), **Exp. Geront.**: 147-156.
- [17] M. Tiburi, M.L. Reguly, G. Schwartsmann, G.Cunha, L.M.Rodrigues de Andrade, *Comparative genotoxic effect of vincristine, vinblastin and vinorelbine in somatic cells of Drosophila melanogaster*, **Mutat.Res.**, (2002), 519(1-2):141-149.
- [18] M. Idaomar, R. El Hamss, F. Bakkali, N. Mezzoug, A. Zhiri, D. Baudoux, A. Liemans, A. Alonso-Moraga, *Genotoxicity and antigenotoxicity of some essentila oils evaluated by wing spot test of Drosophila melanogaster*, **Mutat. Res.**, 513: 61-68.
- [19] M. Lehmann, A. Franco de Souza Prudente Vilar, K.S.P. Reguly, M. L., Andrade, H. H. R. *Doxorubicin and two of its analogues are preferential inducers of homologous recombination compared with mutation*, **Mutat.Res.**, (2003), 539, 167-175.
- [20] L.Osaba, M.J. Rey, A.Aguirre, , A. Alonso, U. Graf, *Evaluation of genotoxicity of*

- captan, maneb and zineb in the wing spot test of Drosophila melanogaster: role of nitrosation.* (2002), **Mutat. Res.** 518:95–106.
- [21] F.E Würgler ve E.W.Vogel, *in vivo mutagenicity testig using somatic cells of Drosophila melanogaster Chemical mutagenes, Principles and methods for their detection*, **Plenum Pres**, New york, (1986), s.1-72.
- [22] U.Graf ve D. Singir, *Genotoxicity testing of promutagens in the wing somatic mutation and recombination test in Drosophila melanogaster*, **Revista internacional de Contamination Ambiental**, 8(1992) 15-27.
- [23] G.R. Hoffman, “*Casarett and Doull’s Toxicology The Basic Science of Poisons*” , **Pergoman Pres** , :New York , (1991), s.201-217.
- [24] M.R. Wheeler, *The Drosophilidae : A Taxonomic overview. In : The Genetics and Biology of Drosophila*, A. Ashburner, H.L. Carsen, J. Thompson, J.N.**Academic Pres INC.Ltd.** London , (1981), Vol.3a , a 1-84.
- [25] W.W. Doane, *Drosophila: Methods in Developmental Biology*, Edited by F.H. Wilt, N.K. Vessels, (1967) 214-219.
- [26] I. McMillan, M. Fitz-Earl ve D.S. Rabson, *Quantitative Genetics of Fertility !. Life Time Egg Production of Drosophila melanogaster. Theoretical. Genetics*, 65, (1970), 349-353.
- [27] A. Demirsoy, *Yaşamın Temel Kuralları: Omurgasızlar, cilt II”* , **Hacettepe Üniversitesi Yayını**, Ankara, 1982, 41.
- [28] M. Ashburner, J.R. Thompson, *The Laboratory Culture of Drosophila*, In: *The genetics and Biology of Drosophila*, M.Ashburner, T.R.F. Wright, **Academic Pres IMC. Ltd.** London,(1978), vol 2a., s,2-81.
- [29] V.S. Houk, *The genotoxicity of industrial wastes and effluents*, **Mutation Research**, 277 (1992) 91-139.
- [30] A. Levan, *The effect of colchicine on root mitosis in allium*, **Hereditas** 24 (1938), 471-486.
- [31] B.N. Ames, J. McCann and E. Yamasaki, *Models for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/ mammalian-microsome mutagenicity test*, **Mutation Research**, 31 (1975) 347-364.
- [32] J.T. MacGregor, J.A. Heddle, M. Hite, B. H. Margolin, *Guide lines for the conduct of micronucleus assay in bone marrow erythrocytes*, **Mutation Research**, 189 (1987) 103-112.
- [33] S. Latt, J. Allen, S. Bloom vd., *Sister-chromatid Exchange: A report of the Gene-Tox program*, **Mutation Research**, 57 (1981) 17-62.
- [34] D.W. Fairbairn, P.L. Olive, K.L. O’Neill, *The Comet assay: A comprehensive review*, **Mutation research**, 339 (1995) 37-59.
- [35] N. K. Tripathy, R.K. Mishra, A. Anandkumar ve G.P. Sahu, *Lack of genotoxicity of saccharin studied in the Drosophila wing spot and sex-linked recessive lethal tests*, **Revista Internacional de Contamination Ambiental**, 10 (1994) 89-98.
- [36] E.R. Munoz ve B.M. Barnett, *The rodent carcinogens 1,4- dioxane and thiourea induce meiotic non disjunction in Drosophila melanogaster females*, **Mutation Research**, 517 (2002), 231-238.
- [37] E.W. Vogel ve J.A. Zijlstra, *Mechanistic and methodological aspect of chemically induced somatic mutation and recombination in Drosophila melanogaster*, **Mutation Research**, 182 (1987) 243-264.
- [38] U. Graf ve F.E.Würgler, *The somatic white ivory eye spot does not detect the some spectrum of genotoxic events as the wing somatic mutation and recombinational test in Drosophila melanogaster*, **Environmental and Molecular Mutagenesis**, 27 (1996), 219_226

- [39] J.G.Rincon,U.Graf, *Drosophila melanogaster somatic mutation and recombination test as a biomonitor,biomonitors and biomarkers as indicators of environmantal change* edited by F.M. butter worth et.al, **Plenum Pres**, NEW YORK,1995, S.169_179
- [40] U.Graf, F.E.Würgler, A.J.Kartz, H.Frei ve ark,somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, **Environmantel and Molecüler Mutagenesis**, G, (1984), 153-188
- [42] U.Graf ve D. Singer, *Genotoxicity testing of promutagens in the wing somatic mutation and recombination testi in Drosophila melanogaster*, **Revistan internacional de Contamination Ambiental**, 8 (1992)15_27
- [43] D.L. Lindsley ve G.G. Zimm, *The Genome of Drosophila melanogaster*, **Academic Pres.**, SAN DİEGO, (1992), s.1133
- [44] E.Yeşilada, L. Özata, E.E.Dogan, *Evaluation of the genotoxicity of some textile dyes and textile wastewater in two crosses of Drosophila melanogaster using wing somatic mutation and recombination Test*, Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) North America 26th Annual Meeting, Baltimore, Maryland, USA, (2005).
- [45] U: Graf ve N.Van Schaik, *Improved high bioaktivasyon cross for the wing somatic mutation and recombiration test in Drosophila melanogaster*, **Mutation Research** 271 (1992) 59-67.
- [46] J.G.Rincon, U. Graf, *Drosophila melanogaster somatic mutation and recombination test as a biomonitor,biomonitors and biomarkers as indicators of environmantal change* edited by F.M. butter worth et.al, **Plenum Pres**, NEW YORK, (1995), S.169-179.
- [47] F.E Würgler ve E.W.Vogel, *in vivo mutageticity testig using somatic cells of Drosophila melanogaster Chemical mutagenes, Principles and methods for their detection*, **plenum pres**, new york, (1986), s.1-72.
- [48] F.Marec and R. Socha, *Dose- response analysis of data obtained in the Drosophila wing spot test after ethyl methanesulfonate treatment*, **Acta. Entomol. Bohemoslov**, 84, (1987).
- [49] H Sies, *Role of reactive oxigen species ib Biological Processes*, **Klin. Wochenschr.** (1991). 69, 965-968.
- [50] R. Ian, *Record, Mary Jannes Iron, a-tocopherol, oxidative damage and micronucleus formation in rat splenocytes*, **Cancer Letters** 160 (2000), 125±131.
- [51] I.Reveillaud, A.Niedzwiecki, K.G., Bensch, J.E Fleming, *Expression of Bovine Süperoxide Dismutase in Drosophila melanogaster. Augments Resistance to Oxidative Stres.*, **Mol. And Cell. Biol.**, (1991), 632-640.
- [52] M. Abdollahi, A. Ranjbar, S Shadnia, S. Nikfar, A. Rezaie, *Pesticides and oxidative stress : a review*. **Med. Sci. Monit.**, 10, (2004), 141-147.
- [53] F.Missirlis, J.P. Phillips and H. Jackle, *Cooperativ e actoion of antioksidant defense systems in Drosophila*, **Current Biology**, vol.11, (2001), 1272-1277.
- [54] E.L. Bourg, *Oxidative stres, aging and longevity in Drosophila melanogaster*, **FEBS letters**, Vol.498, (2001), 183-186.
- [55] I.Reveillaud, A.Niedzwiecki, K.G. Bensch, J.E Fleming, *Expression of Bovine Süperoxide Dismutase in Drosophila melanogaster. Augments Resistance to Oxidative Stres*. **Mol. And Cell. Biol.**, (1991), 632-640.
- [56] R.J. Mockett, W.C.Orr, J.J. Rahmandar, B.H. Sohal, R. S. Sohal, *Antioksidant status and stres resistance in long and short-lived lines of Drosophila melanogaster*. **Experimental Gerontoloji**, 36, (2001), 441-463.
- [57] R.S.Sohal, L,Arnold, W.C. Orr, *Effect of on superoxide dismutase, catalase,*

- glutathione reductase, inorganic peroxides, TBA- reactive material, GSH/GSSG, NADPH/NADP⁺ and NADH/NAD⁺ in Drosophila melanogaster*, **Mechanisms of Ageing and Development**, Vol.56, (1990), 223-235.
- [58] A. Breckta, C.L. Greenstock, M.Tamba, *Advances on oxygen radicals and radioprotectors* Mavelli, I. Rotilio, G. : *Enzymatic Protection Against Intracellular Oxidative Processes*, (1984), 65-80.
- [59] G.F., Weber, H.P. Bruch, *Die pharmakologie der superoxid dismutase*, **Pharmazie** 47, H.3, (1992), 159-167.
- [60] Y. Sun, L.W. Oberley, Y.Li ,*A simple method for clinical assay of superoxide dismutase*, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, (1998), 34/3,497-500.
- [61] K.Kılınc, *Oksijen radikalleri, üretimleri, fonksiyonları ve toksik etkileri*, **Biyokimya Dergisi** (1985), sayı 2 , 60-89D.İ. 25.
- [62] D.D. Mruk, B. Silvestrini, M.M Mo, C.Y. Cheng, *Antioxidant superoxide dismutase a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility*, **Contraception** 65 (2002), 305-311.
- [63] W.C.Orr, L.A. Arnold, R.S. Sohal, *Relationship between catalase activity, life span and some parameters associated with antioxidant defenses in Drosophila melanogaster*, **Mechanisms of Ageing and Development**, Vol. 63, (1992), 287-296.
- [64] H.V. Samis, B.J. Rubenstein, L.A. Zajac, S. M. Hargen. **Experimental Gerontoloji**, Vol. 16, (1981) 109-117.
- [65] R.J. Nicolosi, M.B. Baird, H.r. Massie and H.V. Samis, *Senescence in Drosophila-II. Reneval of catalase activity in flies of different ages*, **Experimental Gerontoloji**, Vol.8, (2003) 101-108.
- [66] A.L. Lehninger, *Biochemistry* New York. Worth Publisher, Inc. 1976 436-437.
- [67] Reveillaud, I.: Niedzwiecki, A.: Rensch, K.G.: Fleming, J.E.: *Expression of Bovine Superoxide Dismutase in Drosophila melanogaster Augments Resistance to Oxidative stress*. *Molecular and Cellular Biology*, (1991), 632-640.
- [68] R. Candas, S. Sohal, S.N. Radyuk, V.I. Klickhko, and W.C.Orr, *Molecular organization of the Glutathione Reductase Gene İn Drosophila melanogaster*, **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Vol. 339, (1997), 323-334.
- [69] G.L. Goff, J.M. Bride, A. Cuany, J.B. Berge, M. Amichot, *The sibling species Drosophila melanogaster and Drosophila simulans differ in the exprssion profile of glutathione S- transferases*, **Comparative Biochemistry and Physicology Part B** 129 (2001), 837-841.
- [70] G.L. Goff, J.M. Bride, A. Cuany, J.B. Berge,M. Amichot, *The sibling species Drosophila melanogaster and Drosophila stimulans differ in the expression profile of glutathione S-transferases*, **Comparative Biochemistry and Physicology Part B** 129, (2001), 837-841.
- [71] B. Agianian, P.A. Tucker, A. Schouten, K. Leonard, B. Bullard, P. Gros, *Structure of a Drosophila sigma class glutathione S- transferase reveals a novel active site topography suited for lipid peroxidation products*, **J. Mol. Biol.** (2003) 326, 151-165.
- [72] A.a. Hunaiti, A.M. Elbetieha, m.A. Obeidat, W.M. Owais, *Developmental studies on Drosophila melanogaster “glutathione” s-transferase and its induction by oxadiazolone*, **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, 25 (1995) 1115-1119.
- [73] M.D. Scott, B.H. Lubin, L. Zuo, F.A Kuypers, *Erythrocyte defense against. hydrogen perovide preeminent importance of catalase*, **Lab. Clin Meal.**, (1991).
- [74] M.Tien, D:S: Aust, *The involment of hidroxy radical derived from hyroxgen*

- peroxide in lignin deratation by the white rot fungus phanerochaete chrysosporium*. **J. Biol. Chem.**, (1982), 257.19: 11455 – 11462
- [75] D. Larry Claxton, S.Houk, J. Thomas Hughes, *Genotoxicity of industrial wastes and effluents*, **Mutation Research**, 410 (1998), 237-243.
- [76] V.S.Houk, *The genotoxicity of industrial wastes and effluents*, **Mutat.Res.** 277 (1992) 91-138.
- [77] L.J. McGeorge, J.B. Louis, T.B. Atherholt, G.J. McGarrity, *Mutagenicity analyses of industrial effluents: results ad considerations for integration into water pollution control programs*, (1985), 247-257.
- [78] P.A. White, J.B. Rasmussen, C.Blaise, *Comparing the presence, potency, and potential hazard of genotoxins extracted from a broad range of industrial effluents*, **Environ.Mol. Mutagen.**, 27 (1996), 116-139.
- [79] M. Kaushal Sharma, R.C. Sobti, *Rec effect of certain textile dyes in *Bacillus subtilis**, **Mutation Research**, 465, (2000), 27-38.
- [80] S.p. Shukla, G.S. Gupta, *Toxic effects of omega chrome red ME and its treatment by adsorption*, **Ecotoxicology and Environmental safety**, 24, (1992), 155-163.
- [81] S. P. Shukla, A.Kumar, D.N. Tiwari, B.p. Mishra, G.S. Gupta, *Assessment of the effect of the yoxicity of a textile dye on *Nostoc muscorum* ISU, a diazotrophic cyanobacterium*, **Environmental pollution**, 84, (1994), 23-25.
- [82] I.Jager, C.Hafner, K.Schneider, *Mutagenity of different textile dye Products In *Salmonella typhimurium* and Mouse lymphoma cells*, **Mutation Research**, 561 (2004), 35-44.
- [83] K.T. Chung, C. Cerniglia, *Mutagenicity of azo dtes: Structure- activity relationships*, **Mutation research / Rewiews in Genetic Toxicology**, 27 (1992), 201-220.
- [84] Z. Aksu, *Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae**, **Process Biochemistry**, 38 (2003), 1437-1444.
- [85] M. Khanna and D. Sasseville, *Occupational Contact Dermatitis to Textile Dyes in airline Personel*, **American journal of Contact Dermatitis**, 12 (2001), 208-210.
- [86] M.Pratt, V. Taraksa, *Disperse blueDyes 106 and 124 are Common Causes of Textile Dermatitis and Should Serve as Screening Allergens for This Condition*, **American journal of Contact Dermatitis**, 11, (2000), 30, 41.
- [87] R.A. Cartwright, *Historical and modern epidemiological studies on populations exposed to N- substituted aryl compounds*, **Environ.Health Perspective**, 1983, 49: 13-19.
- [88] A.Lazarow, A. Trattner, M. David, A.Ingber, *Textile dermatitis in Israel: A Retrodpective Study*, **Americen Journal of Contact Dermatitis**, 11, (2000), 26-29.
- [89] V.Suryavathi, S. Sharma, P.Saxena, S.Pandey, R.Grover, S. Kumar, k.P.Sharma, *Acute toxicity of textile dye wastewaters (untreated and treated) of Sanganer on male reproductive systems of albino rats and mice*, **Reproductive Toxicology**, 19 (2005), 547-556.
- [90] B. Przybojewska, *An evaluation of the genotoxic properties of some chosen dyes using the micronucleus test in vivo*, **Mutation Research**, 367, (1996), 93-97.
- [91] B. Przybojewska, B. Baranski, E. Spiechhowicz, K. Sitarek, *Mutagenik activity of some Textile dyes in different test systems*. **Toxicology letters**, (1988), 183-192.
- [92] R.L. Sing, S.K. Khanna, G.B. Singh, *Acute and Short –Term Toxicity Studies on Orange II*, **Vet.Hum. Toxicol.**, (1987), 29(4): 300-304.
- [93] M. Sumathi, K. Kalaiselvi, M. Palanivel, P.Rajaguru, *Genotoxicity of Textile Dye Effluent on Fish *Cyprinus carpio* Measured Using the Comet Assay*, **Bull.**

- Environ. Contam. Toxicol.** (2001), 66: 407-414.
- [94] A.G. Murugesan, M.A. Haniffa, *Histopathological and histochemical changes in the oocytes of the air-breathing fish Heteropneustes Fossilis (bloch) exposed to textile- mill effluent*, **Bull.Environ. Contam.Toxicol.**, (1992), 48: 929-936.
- [95] T.I. Khan, N. Kaur and P.C. Vyas, *Effects of industrial effluents on physicochemical characteristics of Amani Shah Ka Nallah: a case study*, **J.Environ. Pollut.**, 2 (1995), (3), pp. 147-150.
- [96] M.H. Nielsen, J. Rank, *Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the Allium test*, **Hereditas**, (1994), 121: 249-254.
- [97] V.S. Amaral, R. M. Silva, M.L.Reguly and H.H. Rodriguese Andrade, *Drosophila wing –spot test for genotoxic assessment of pollutants in water samples from urban and industrial origin*, **Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, (2005), vol:583, 67-74.
- [98] V.S. Amaral, M.Sinigaglia, M.L. Reguly, H.H. Rodrigues de Andrade, *Genetic Toxicity in surface water from Guaiba Hydrographic Region under the influence of industrial, urban and agricultural sewage in the Drosophila Wing-Spot Test*, **Environmental pollution**, (2005).
- [99] E. Yeşilada, M.Özmen ve Ö. Yeşilada, *Studies on the toxic and genotoxic effect of olive oil mill wastewater*, **Fresenius Environ. Bull.**, 8 (1999) 732-739.
- [100] M.A.Spano, H.Frei, F.E.Würgler, and U.Graf, *Recombinogenic activity of four compounds in the standard and high bioactivation crosses of Drosophila melanogaster in the wing spot test*, **Mutagenesis**, (2004), Vol. 16, 385-394.
- [101] M.E. herePulido, I. Duenas-Garcia, L. Cataneda Partida, Antonio sanchez-Garcia, M. Contreras- Sousa, A. Duran-Diaz and U.Graf, *Genotoxicity of tamoxifen citate and 4-nitroquinolin-1-oxide in the wing spot test of Drosophila melanogaster*, **Mutagenesis**, (2004), vol:19,187-193.
- [102] K.S.Cunha, M.L.Reguly, U.Graf ve H.H.R. Andrade, *Somatic recombination: a major genotoxic effect of two pyrimidine antimetabolic chemotherapeutic drugs in Drosophila melanogaster*, **Mutation Research**, 514, (2002), 95-103.
- [103] H. Frei ve F.E. Würgler, *The vicinal chloroalcohols 1,3-dichloro-2-propanol (DC2P), 3- chloro-1,2-propanediol (3CPD) and 2-chloro-1,3-Propanediol(2CPD) are not genotoxic in vivo in the wing spot test of Drosophila melanogaster*, **Mutation Research**, 394 (1997) 59-68.
- [104] B. Kaya ve ark., *Evaluation of the genotoxicity of four herbicides in the wing spot test of Drosophila melanogaster using two different strains*, in PubMed, **Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences**, Akdeniz University, Antalya, 557 (1) 53-62, 2004.
- [105] N. Negishi, K.Negishi, H. Ryo, S. Kondo, H. Hayatsu, *The genotoxicity of N4-aminocytidine in the Drosophila wing spot test*, **Mutagenesis** (1988), 3: 11-3.
- [106] Negishi vd., *Somatic-cell mutation induced by UVA and monochromatic Uv radiation in repair-proficient and deficient Drosophila melanogaster*, **Photochemistry and Phoyobiology**, (2001), 73,493-498.
- [107] M. Dolores, M. Bermudo, *Animals and their organs grow to predetermined size. But what governs this set point? In the fly wing, it seems to be competition for a cell survival factor. And those cells surplus to requirements die by apoptosi*, (2002), **ELS**, 10..
- [108] I. Gaivao, L. M. Sierra, M.A. Comendador, *The w/w+ SMART assay of Drosophila melanogaster detect the genotoxic effect of reactive oxygen species inducing compounds*, **Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, Vol. 440, (1999), 139-145.

- [109] U. Graf, A. Mario, J.G. Spano, S.K.Abraham H. Heloisa de Andrade, *The wing somatic mutation and Recombination Test (SMART) in Drosophila melanogaster: An efficient tool for the detection of the genotoxic activity of pure compounds or complex mixtures as well as for studies on antigenotoxicity*, **Information**, (1996).
- [110] B. Lassmar, B.Valadares, *Antirecombinagenic activity of propolis against recombinagenic activity of doxorubicin in Drosophila melanogaster*, **Genetics and Molecular Biology**, (2002), 25, 3-5.
- [111] H.,S. Yun, K.Y. Park and w.H.Lee, *Antimutagenik Effect of genistein in Drosophila somatic Mutation assays*. **Department of Biology** 122-704.
- [112] M.Idaomar, R.El Hamss, F.Bakkali, N. Mezzoug, A. Zihiri, D. Baudouks, A. Munoz- Serrano, V.Liemans and Alonso Moraga, *Genotoxicity and antigenotoxicity of some essential oils evaluated by wing spot test of Drosophila melanogaster*, **Mutation Research/Genetics Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 2002, 513:61-66.
- [113] V. Karekar, S. Joshi, S.L. Shinde, *Antimutagenic profile of tree antioxidant in the Ames assay and the Drosophila melanogaster wing spot test*, **Mutation Research**, 468, (2000), 183-194.
- [114] E. Apohan, “*Bioteknolojik işlemden geçmiş ve geçmemiş tekstil fabrikası boyalarının çeşitli organizmalar üzerine toksik etkisinin araştırılması*”, Yüksek Lisans Tezi, Malatya, (2001).
- [115] A.N. Bozcuk, *Drosophila melanogaster Meig (Diptera: Drosophilidae) yaşlanması ve Orgel hipotezi üzerinde araştırmalar*, Doçentlik Tezi, Ankara, (1976).
- [116] H.Frei ve F.E. Würglar, *Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from Drosophila assays indicate a positive, negative or inconclusive result*, **Mutation Research**, negativite or inconclusive result, **Mutation Research**, 203 (1988), 297-308.
- [117] M.A. Kastenbaum ve K.O. Bowman , *Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies*, **Mutation Research**, (1970), 527-549.
- [118] E.Gözükara, Biyokimya, İnönü Üniversitesi Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı,. Ankara (1989).
- [119] J.M McCord, I. Fridovich, *Superoxide Dismutase: An Enzymic Function for Erythrocyte (Hemoerythrocyte)* **The Journal of Biological Chemistry**, Vol. 244, No. 22, 6049-6055, (1969), November 25.
- [120] H. Luck, *Catalase. Methods of Enzymatic Analysis*, (1963), 885-888.
- [121] I. Carlberg, B. Mannervik, *Glutathione Reductase. Meth. Enzymol*, (1985), 113, 484-490,
- [122] M.M. Bradford, *A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein*, **Anal. Biochem.** 72 (1976), p. 248.
- [123] W.H. Habig, M.J. Pabst, W.B. Jakoby, *The first Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation Glutathione S- Transferases*, **J. Bio. Chem.**, (1974), 249: 7130-7139.
- [124] Akerboom, T. P. M., Sies, H., *Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in Biological samples*. **Methods in Enzymology**, 77, (1981), 373-382.
- [125] E.E. Doğan, *Bazı astrazon grubu tekstil boyalarının genotoksik etkisinin Drosophila melanogaster somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Malatya, (2002).
- [126] A. Birhanlı, *Bazı tekstil boyar maddelerinin Xenopus leavis üzerinde toksik etkilerinin araştırılması*, Doktora Tezi, Malatya, (2003).

- [127] E. Yeşilada, *Genotoxicity Testing of some Metals in the Drosophila Wing Somatic Mutation and Recombination Test*, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 66, (2001), 464-469.
- [128] K.S. Cunha, M. L. Reguly, U. Graf ve H. H. R. Andrade, Taxannes: *the genetic toxicity of paclitaxel and docetaxel in somatic cells of Drosophila melanogaster*, Mutagenesis. 16: 1 (2001), 79-84.
- [129] F. Marec ve R. Socha, *Dose- response analysis of data obtained in the Drosophila wing spot test after ethyle methanesulfonate treatment*, Acta Entomol. Bohemoslov., 84 (1987), 401-407.
- [130] G.A. Sega, *A review of the genetic effects ethyl methanesulfonate*, Mutation Research, 134, (1984), 113-142.
- [131] E.Yeşilada, *The effect of Kinetin, Gibberellic acid and Indole acetic acid on EMS-Induced somatic mutation and recombination in Drosophila melanogaster*, Tr. J. Of Biology., 24 (2000), 279-284.
- [132] K.S. Rao, S.Shrivastava, S. Dhanobar, *Acute toxicity of reactive textile dyes to eggs and early life history stages of Cyprinus carpio*, Geobios. (1988), 15 (2/ 3), 111-113.
- [133] M.K. Sharma, R.C. Sobti, *Rec effect of certain textile dyes in Bacillus subtilis*. **Mutat. Res.** (2000), 465 (1-2), 27-38.
- [134] A. Birhanlı, M. Özmen, *Evaluation of the toxicity and teratogenity of six commercial textile dyes using the frog embryo teratogenesis assay-Xenopus*, **Drug Chem. Toxicol.** (2005), 28; (1),51-65.
- [135] H. Moawad, W.M. Abd El-Rahim, M.A. Khalafallah, *Evaluation of biotoxicity of textile dyes using two bioassay tests*. **J. Basic Microbiol.** 2003, 43 (3), 218-229.
- [136] C. Wang, A.Yediler, D.Lienert, Z.Wang, A. Kettrup, *Toxicity evaluation of reactive dyestuffs, auxiliaries and selected effluents in textile finishing industry to luminescent bacteria Vibrio fischeri*. Chemosphere, (2002), 46, (2), 339-344.
- [137] E. Yeşilada, *Genotoxic activity of vinasse and its effect on fecundity and longevity of Drosophila melanogaster*, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 63 (1999), 560-566.
- [138] A. Surjan, Z. Kocsis, M. Csik vd. *Analysis of the genotoxic activity of four N-nitroso compounds by the Drosophila mosaic test*, **Mutation Research**, 144 (1985), 177-181.
- [139] A. Garcia- Bellido ve J. Dapena, *Induction, detection and characterizatio of cell differentiation mutants in Drosophila*, **Molec. Gen. Genet.**, 128, (1974), 117-130.
- [140] B Kaya, R. Markos, A.Yanikoglu, A.Creus, *Evaluation of the genotoxicity of four herbicides in the wing spot test of Drosophila melanogaster using two different strains*. **Mutat. Res.** (2004), 557, 53-66.
- [141] E.E. Doğan, E. Yeşilada, L. Özata, S. Yoloğlu, *Genotoxicity testing of four textile dye sintwocrossess of Drosophila using wing somatic mutation and recombination test*, **Drug and Chemical Toxicology**, (2005), 28: 289-301.
- [142] K. Al-Sabti, *Chlorotriazine reactive azo red 120 textile dye induces micronuclei in fish*. **Ecotox. Environ. Safety.** (2000), 47, 149-155.
- [143] F.Joachim, A. Burrell, J.Andersen, *Mutagenicity of azo dyes in the Salmonella /microsome assay using in vitro and in vivo activation*. **Mutat. Res.** (1985), 156, 131-138.
- [144] G. Krishna, J. Xu, J.Nath, *Comparative mutagenicity studies of azo dyes and their reduction products in Salmonella typhimurium*, **J. Toxicol. Environ. Health.** (1986), 18, 111-119.
- [145] P.Rajaguru, L.J. Fairbairn, J.Ashby, M.A.Willington, S.Turner, L.A.Woolford, N.

- Chinnasamy, J.A. Rafferty, J.A. *Genotoxicity studies on the azo dye Direct Red 2 using the in vivo mouse bone marrow micronucleus test. **Mutat. Res.** (1999), 444, 175-180.*
- [146] M. Sumathi, K.Kalaiselvi, M. Palanivel, P.Rajaguru, *Genotoxicity of textile dye effluent on fish (Cyprinus carpio) measured using the comet assay. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** (2001), 66 (3), 407-414.*
- [147] E. Westmoreland, D.G. Gatehouse, *The differential clastogenicity of solvent Yellow No. 14 and FD&C Yellow No. 6 in vivo in the rodent micronucleus test (observations on species and tissue specificity). **Carcinogenesis.** (1991), 12, 1403–1407.*
- [148] A.J.Katz, T.A. Foley, *Effect of temperature on frequencies of spots in Drosophila Wing-Spot Assay. **Environ. Mol. Mutagen.** (1993), 22, 54-58.*
- [149] T. Cavas, S. Ergene-Gozukara, *Micronuclei, nuclear lesions and interphase silver-stained nucleolar organizer regions (AgNORs) as cyto-genotoxicity indicators in Oreochromis niloticus exposed to textile mill effluent. **Mutat. Res.** (2003), 538, 81–91.*
- [150] W.J. Mackay, G.C. Bewley, *The genetics of catalase in Drosophila melanogaster, isolation and characterization of acatalasemic mutants. **Genetics**, (1989), 122: 643-652.*
- [151] F.Rafii ve C.E. Cerniglia, *Reduction of azo dyes and nitroaromatic compounds by bacterial enzymes from the human intestinal tract, **Environ. Health. Perspect.**, 103 (1995) 17-19.*
- [152] K.T. Chung, S.E. Stevens ve C.E. Cerniglia, *The reduction of azo dyes by the intestinal microflora, **Crit. Rev. Microbiol.**, 18 (1992) 175-190.*
- [153] S. Ramchandani, M. Das, K. Khanna, *Effect of metanil yellow, orange II and their blend on hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in rats, **Fd. Chem. Toxicol.**, 326, (1994), 559-563.*
- [154] R.H. Jaskot, D.L. Costa, *Toxicity of an anthraquinone violet dye mixture following inhalation exposure, intracheal instillation or gavage, **Fundamental and Applied Toxicology**, 22 (1994), 103-112.*
- [155] K.D. Miller, G.P.Irzyk, E.P. Fuerst, *Benoxacor treatment increases glutathione S-transferase Activity in Suspension cultures of Zea mays. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, (1994). 48, 123-134.*
- [156] A.A. Hunaiti, A.M. Elbetieha, M.A. Obeidat, W.M. Qwais, *Developmental studies on Drosophila melanogaster glutathione s- transferase and its induction by oxadiazolone, **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, (1995), 25, 1115-1119.*
- [157] P.Amstad, A.Peskin, A.Shah,G.Mirault, M.E. Moret, R.Zbinden, and p. Cerutti: *The balance between Cu/Zn- Superoxide Dismutase and Catalase affect the Sensitivity of Mouse Eoidermal Cells to Oxidative Stres. **Biochemistry**, (1991),30, 93059313.*
- [158] Y.Sun, H.YU, J. Zhang, Y. Ying, H. Shen, H. Liu, X. Wang, *Bioaccumulation and antioxidant response in goldfish Carassius auratus under HC Orange No. 1 exposure, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, (2005)*
- [159] C.D. Klaassen (Ed.), *Caserett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons*, 6 th edition .McGraw-Hill, Medical pub. Division, 1236, 2001.
- [160] A. Frölich, F.E. Würgler, *Drosophila wing spot test: improved detectability of genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons, **Mutation Research**, 234, (1990) 71-80.*
- [161] Y.Sun, H.YU, J. Zhang, Y. Ying, H. Shen, H. Liu, X. Wang, *Bioaccumulation and*

- antioxidant response in goldfish Carassius auratus under HC Orange No. 1 exposure*, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, (2005).
- [162] R.J. Nicolosi, M.B. Baird, H.R. Massie and H.V. Samis, *Senescence in Drosophila-II. Renewal of catalase activity in flies of different ages*, **Experimental Gerontoloji**, Vol.8, (2003) 101-108.
- [163] D.R. Livingstone, L. George, S.G., *Molecular biomarkers and toxic consequences of impact by organic pollution in aquatic organisms*. In: Sutcliffe, D.W. (Ed.), *Water quality and Stress Indicators in Marine and Freshwater Ecosystems: Linking Levels of organization (Individuals, Populations, Communities)*. Freshwater Biological Association, (1994), U.K., pp. 154-171.
- [164] F. Regoli, M. Nigro, E. Orlando, *Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic Scallop Adamussium colbecki*, *Aquat. Toxicol.* 40, (1998), 375-392.
- [165] J.M. Mate's, *Effect of antioksidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology*. **Toxicology**, (2000), 153,83-104.
- [166] M. Kasapoğlu, T. Özben, *Alterations of antioksidant enzymes and oxidative stress markers in aging*. **Exp. Gerontol.** 36, (2001), 209-220.
- [167] Nicolosi, R.J., Baird, M.B., Massie, H.R. and Samis, H.V. (1973) **Exp. Gerontol.** 8, 101-108.
- [168] W.C. Orr, R.S. Sohal, *The effects of catalase gene overexpression on life span and resistance to oxidative stress in transgenic Drosophila melanogaster*. **Arch Biochem. Biophys.** (1992), 297:35-41.
- [169] J.P. Phillips, S.D. Campbell, D. Michaud, and M. Charbonneau, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, (1989), 2761-2765.
- [170] J.F. Zhang, H. Shen, X.R. Wang, J.C. Wu, Y.Q. Xue, *Effect of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the antioksidant system in liver of freshwater goldfish Carassius auratus*, **Chemosphere** **55**, (2004a), 167-174.
- [171] J.E. Stein, T.K., Collier, W.L. Reichert, E. Cassillas, E., T. Hom, U. Varanasi, *Bioindicators of contaminant exposure and sublethal effects: studies with benthic goldfish in Puget Sound, Washington*. **Environ. Toxicol. Chem.** **11**, (1992), 701-714.
- [172] D.M.E. Otto, T.W. Moon, *3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl effects on antioksidant enzymes and glutathione status in different tissues of rainbow trout*. **Pharmacol. Toxicol.** **77**, (1995), 281-287.
- [173] M. Durusoy, N. Diril, A.N. Bozcuk, *Age related activity of glutathione S transferase in three different genotypes of Drosophila melanogaster* **Tr. J. Of Biology**, **19**, (1995), 337-342.
- [174] M. Das, D.R. Bickers, D.R. Mukthar, *H. Plant phenols as in vitro inhibitors of glutathione S- transferase(s)*. **Biochem. Biophys. Res. Comm.**, (1984), 120: 427-433.
- [175] S.G. George, *Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic-conjugating enzymes in goldfish*. In: Malins, D., C. Ostrander, G.K. (Eds) *Aquatic Toxicology; Molecular, Biochemical and Cellular perspectives*, Lewis, C.R.C Press Boca Raton, F.L., (1994), pp. 37-85.
- [176] U. Varanasi, J.E. Stein, M. Nishimoto, W.L. Reichert, T.K. Collier, *Chemical carcinogenesis in feral goldfish: uptake, activation, and detoxification of organic xenobiotics*. *Environ. Health Perspect.* (1987), **71**, 155-170.
- [177] J.A. Ottea, A. Harsman, L.G. Hammock, *Patterns of epoxide metabolism by epoxide hydrolase and glutathione S transferase associated with age and genotype in Drosophila melanogaster*, **Mutantl. Res.** (1987), **177** (2): 247-254.
- [178] C. Beall, C. Fyrberg, S. Song, E. Fyrberg, *Isolation of a Drosophila gene encoding*

- glutathione S transferase*, **Biochem Genet.**, (1992), 30 (9-10): 515-527.
- [179] O.L. Anguiano, A.C. Castro, A.M.P. D. Angelo, *The role of glutathion conjugation in the regulation of early toad embryos tolerance to pesticides*, Comp. **Biochem. Physiol.**, Part C , (2001), 128: 35-43.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Adı ve Soyadı: Lütfiye ÖZATA

Doğum Yeri ve Tarihi: Malatya- 23.02.1972

Yaptığı İş ve Ünvanı: Sınıf Öğretmeni, Biyolog.

Eğitim:

İlkokul: Fırat ilkokulu

Ortaokul: Kız Meslek Lisesi

Lise: Kız Meslek Lisesi

Lisans: İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümü

Doktora: İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümü

Çalıştığı Kurumlar: İnönü Üniversitesi Kampüs İlkokulu; Sınıf Öğretmeni, İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü; Araştırma Görevlisi.

Bilimsel Faaliyetler:

- 1- Lütfiye Gelegen, *Drosophila melanogaster*'in Gelişim Biyolojisi Üzerine Kadmiyumun Etkisi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1997, Malatya.
- 2- E. Yeşilada, L. Gelegen, *Drosophila melanogaster*'in Ömür Uzunluğu Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi, Türk Journal Bioloji, 24 (2000) 593-599.
- 3- E. Yeşilada, E.E. Doğan, L. Özata, Yüksek Sıcaklığın Genotoksik Etkisi, Çukurova Üniversitesi Biyoloji Kongresi, 2004, Adana.
- 4- E. Yeşilada, E.E. Doğan, L. Özata, Bazı Astrozon Grubu Tekstil Boyalarının Genotoksik Etkisinin *Drosophila melanogaster* Somatik Muasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) İle Araştırılması, XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, 4-7 Eylül 2002, Malatya.
- 5- E. Yeşilada, L. Özata, E.E. Doğan, Evaluation of the Genotoxicity of Some Textile Dyes And Textile Wastewater in Two Crosses of *Drosophila melanogaster* Using Wing Somatic Mutation and Recombination Test, Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) North America 26th Annual Meeting; November 13-17, 2005, Baltimore, Maryland, USA.
- 6-E.E. Doğan, E. Yeşilada, L.Özata, Genotoxicity Testing of Four Textile Dyes In Two Crosses Of *Drosophila* Using Wing Somatic Mutation And recombination Test, Drug and Chemical Toxicology, 28: 289-301, 2005.

