

**BAZI PESTİSİTLERİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* HATLARINDA
MUTAJENİK VE REKOMBİNOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bülent KAYA

**DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
2000**

**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ**

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI PESTİSİTLERİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* HATLARINDA
MUTAJENİK VE REKOMBİNOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Bülent KAYA

T-7136

Anabilim Dalı: Biyoloji

Ekim 2000

T C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI PESTİSİTLERİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* HATLARINDA
MUTAJENİK VE REKOMBİNOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Bülent KAYA

DOKTORA TEZİ

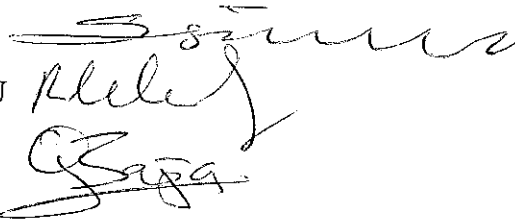
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez ... / ... /2000 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (...) not takdir edilerek
Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Atila YANIKOĞLU

Prof. Dr. Rahmi BİLALOĞLU

Prof. Dr. Gülseren BAĞCI



ÖZET

BAZI PESTİSİTLERİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* HATLARINDA MUTAJENİK VE REKOMBİNOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Bülent KAYA

Doktora Tezi Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof Dr Atila YANIKOĞLU

Ekim 2000 xiv+134 Sayfa

Bu çalışmada Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak kullanılan 5 herbisit (1 Grup) ile ülkemizde en çok kullanılan 8 herbisit (2 Grup) *Drosophila melanogaster*'in kanatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile genotoksikolojik etkileri iki grup halinde araştırıldı. Bu test için 3 kromozom üzerinde resesif flare (flr^3) ve multiple wing hair (mwh) genlerini taşıyan 3 günlük trans-heterozigot larvalar herbisitlerin farklı derişimlerini içeren besinlerle kronik olarak beslendiler. Kullanılan herbisitlerin etkisi kanat imajinal disk hücrelerinde meydana gelen genetik değişimlerin (nokta mutasyon, delesyon, ayrılmama, rekombinasyon) sonucunda oluşan mutant trikomlara göre değerlendirildi. Değerlendirme, Graf ve arkadaşları tarafından (1984) belirtilen sınıflandırma (küçük tek tip, büyük tek tip, ikiz, mwh ve toplam klonlar) esas alınarak yapıldı.

Birinci gruptaki herbisitler (Amitrol, Metribuzin, Prometrin, Terbutrin ve Dikuat dibromid) dört farklı derişimde ve sadece normal metabolik aktiviteye sahip (mwh/mwh ve $flr^3/TM3, Bd^S$) bireylerde çalışıldı. Bu gruptaki herbisitler içinde Amitrol dışındaki herbisitlerde 1, 2, 5 ve 10 mM derişimler çalışılırken, Amitrol'ün yüksek derişimlerde *Drosophila* larvalarına toksik etki göstermesi nedeniyle bu herbisit için 0,05, 0,1, 0,5 ve 1 mM derişimler çalışıldı. İkinci grup herbisitler (Bentazon, Bentiokarb, Glifosat, 2,4,5-T izooktilester, Maleik hidrazit, Molinat, Propanil ve Trifluralin) ise hem normal hem de sitokrom P-450 aktivitesinin yüksekliği ile karakterize olmuş yüksek metabolik aktiviteye sahip (NORR/NORR; mwh/mwh ve NORR/NORR; $flr^3/TM3, Bd^S$) bireylerde altı farklı derişimde çalışıldı. İkinci gruptaki bütün herbisitler normal

metabolik aktiviteye sahip bireylerde 0,1, 0,5, 1, 2, 5 ve 10 mM derişimlerde çalışılırken yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerde 2,4,5-T izooktilester ve Bentazon'un 10 mM derişimde toksik etki göstermesi nedeniyle bu iki herbisit için çalışılacak altı derişim 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2 ve 5 mM olarak belirlendi

Birinci gruptaki herbisitlerden Amitrol 0,5 ve 1 mM'lık derişimleri mutajenik ve rekombinojenik etki gösterirken, diğer herbisitlerin bütün derişimlerinden elde edilen sonuçların istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı olmadığı saptandı

İkinci grupta kullanılan herbisitlerin hem normal hem de yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerde çalışılmasıyla bu herbisitlerin doğrudan kendileri mi yoksa parçalanma ürünlerinin mi genotoksik olduğu elde edilen sonuçlara göre değerlendirildi. Bu gruptaki herbisitlerden Maleik hidrazit, Molinat, Propanil ve Trifluralin hem normal hem de yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerde mutajenik ve rekombinojenik olduğu saptandı. Yine bu gruptaki herbisitlerden Bentazon normal metabolik aktiviteye sahip bireylerde Bentiokarb ise yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerde mutajenik ve rekombinojenik özellik gösterdi. 2,4,5-T izooktilester ve Glifosattan elde edilen sonuçların sadece normal metabolik aktiviteye sahip bireylerde sadece dengeleyici kromozom taşımayan flr3/mwh genotipindeki bireylerde istatistiksel olarak önemli düzeyde çıkmıştır

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, Somatik Mutasyon, Mitotik Rekombinasyon, Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi, Biyoaktivasyon

Prof Dr. Atila YANIKOĞLU (Danışman)

Prof Dr. Rahmi BİLALOĞLU

Prof Dr. Gülseren BAĞCI

ABSTRACT

STUDY OF MUTAGENIC AND RECOMBINAGENIC EFFECTS OF SOME HERBICIDES ON THE LINES OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Bülent KAYA

Ph D. Thesis in Biology

Advisor: Prof.Dr. Atila YANIKOĞLU

October 2000 xiii+134 Pages

In this study, the genotoxic effects of extensively used 5 herbicides in Mediterranean countries (Group I) and intensively used 8 herbicides in Turkey (Group II) were investigated in two groups using wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. In this test, 3-day old larvae trans-heterozygous for the third chromosome recessive markers flare (flr^3) and multiple wing hair (mwh) were reared using the medium containing different concentrations of herbicides. The effects of herbicides were evaluated according to genetic changes (point mutation, deletion, non-disjunction, recombination) in wing imaginal disc cells that lead to the formation of mutant trichomes. Classification was based on the classification (small single spot, large single spot, twin spot, multiple wing hair and total spot) developed by Graf et al (1984).

The herbicides in the first group (amitrole, metribuzine, prometryne, terbutryne and diquat dibromide) were applied at four different concentrations and studied only in the normal metabolic activity line (mwh/mwh and $flr^3/TM3, Bd^S$). Four herbicides were applied at 1, 2, 5 and 10 mM concentrations for each, while amitrole was applied at 0.05, 0.1, 0.5 and 1 mM concentrations, because it showed the lethal effect in *Drosophila* larvae at high concentrations. The second group of herbicides (Bentazone, Benthocarb, Glyphosate, 2,4,5-T isooctylester, Maleic hydrazide, Molinate, Propanil ve Trifluralin) were tested both in the normal metabolic activity line and the high metabolic activity line that is characterised by an increased cytochrome P-450

dependent capacity (NORR/NORR; mwh/mwh and NORR/NORR; flr³/TM3,Bd^S) at six different concentrations. All herbicides were applied to normal metabolic activity line at 0.1, 0.5, 1, 2.5 and 10 mM concentrations in the second group, while, the concentrations were determined as 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 and 5 mM for 2,4,5-T isooctylester and Bentazone. Because these herbicides showed toxic effect at 10 mM concentration to high metabolic activity line.

Amitrole from the first group showed mutagenic and recombinagenic effects at 0.5 and 1 mM concentrations, but the effects of other herbicides were not statistically different from control group at all concentrations.

The second group herbicides showed their genotoxic effects either themselves or as their metabolites according to the results obtained from both the normal and the high metabolic activity lines. Maleic hydrazide, molinate, propanil and trifluralin from second group herbicides were determined that they have mutagenic and recombinagenic activity in both the normal and the high metabolic activity lines. Bentazone showed mutagenic and recombinagenic effects in the normal metabolic activity line while benthocarb had mutagenic and recombinagenic effects only in the high metabolic activity line. The results from 2,4,5-T isooctylester and glyphosate were statistically significant in the normal metabolic activity line only for the wild type wing phenotype, flr³/mwh genotype adults.

Key Words: *Drosophila melanogaster*, Somatic Mutation, Mitotic Rekombination, Somatic Mutation and Rekombination Test, Biyoactivation

Prof Dr. Atila YANIKOĞLU (Advisor)

Prof Dr. Rahmi BİLALOĞLU

Prof Dr. Gülseren BAĞCI

ÖNSÖZ

Modern tarımda hastalık, zararlı böcek, yabancı otlar gibi ürün verimini olumsuz yönde etkileyen zararlılara karşı pestisit denen bir çok kimyasal kullanılmaktadır. Pestisitler içerisinde en fazla kullanılan kimyasallar yabancı otların kontrolünde kullanılan herbisitlerdir.

Herbisitler ürün verimini artırarak tarımsal üretimde önemli bir fayda sağlamakla beraber, doğada çevre ve insan sağlığını tehdit edici boyutlarda zararlar da oluşturabilmektedir. Bu zararların en önemlilerinden biri canlılarda görülen genetik hasarlardır. Canlı sistemde çeşitli kimyasalların etkisiyle oluşan genetik hasarların neler ve ne kadar oluştuğunu belirlemek için gerek prokaryotik gerekse ökaryotik model organizmalar kullanılarak çeşitli testler kullanılmaktadır. Genetik hasarın belirlenmesi için yapılan testlerin bir çoğu *in vitro* koşullardadır. Halbuki *in vivo* testler organizmanın bütünlüğü içinde olduğunda daha büyük bir önem taşımaktadır. Buna karşın *in vivo* testler genellikle bitkilerde yapılmaktadır. Bazı herbisitler ve bunların metabolitlerinin genellikle *in vitro* koşullarda yapılan çalışmalarda mutajenik ve rekombinojenik olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle bu çalışmada *in vivo* olarak *Drosophila melanogaster*'de kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi uygulanarak 13 herbisit mutajenik ve rekombinojenik etkileri araştırıldı. Yapılan bu çalışmanın gelecekte bu konuda yapılacak çalışmalara ışık tutmasını dilerim.

Bana bu konuda çalışma olanağı veren danışmanım sayın Prof. Dr. Atila YANIKOĞLU'na (Ak Ün. Biyoloji Bölümü), çalışma sürecinde fikir alış-verişinde bulunduğum Prof. Dr. Ricardo MARCOS ve Prof. Dr. Amadeu CREUS'a (Autonoma Üniv., Mikrobiyoloji ve Genetik Bölümü, Barselona-İspanya), çalışmada kullandığım herbisitleri hibe eden KORUMA Tarım A.Ş. (İstanbul) ve AGROSAN A.Ş. (Lüleburgaz)'ya ve gerek tez çalışmalarım sırasında ve gerekse yazım aşamasında yardımlarını gördüğüm eşim Nuray KAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bu Çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu (Proje no: 98 01 0121 08), TÜBİTAK Alt Yapı Destek Projesi (Proje no: TBAG-AY/186), TÜBİTAK Yurt içi-Yurt dışı Bütünleştirilmiş Doktora Bursu ve NATO A2 Yurt dışı Araştırma Bursu ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL ve METOT	12
2.1 <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Yaşam Döngüsü	15
2.2 Kullanılan Hatların Genetik Yapısı	16
2.3 Deney Grupları	22
2.4 <i>Drosophila</i> Hatlarının Kültürü	25
2.5 Çaprazlama İçin Birey Seçimi	26
2.6 Herbisitlerin Uygulanması	27
2.7 Ergin Bireylerin Toplanması ve Kanat Preparatlarının Hazırlanması	29
2.8 Kanat Preparatlarının Mikroskoptaki Analizi	30
2.9 Klon İndüksiyon Frekansı ve Rekombinasyon Frekansının Hesaplanması	34
2.10 Verilerin Değerlendirilmesi	36
3. BULGULAR	38
3.1 Birinci Grup Herbisitler	38
3.1.1 Amitrol	38
3.1.2 Metribuzin	39
3.1.3 Prometrin	39
3.1.4 Terbutrin	40
3.1.5 Dikuat dibromid	40
3.2 İkinci Grup Herbisitler	50
3.2.1 Bentazon	50
3.2.2 Bentiokarb	50

3 2 3. Glifosat	59
3 2 4. 2,4,5-T izooktilester	60
3 2 5. Maleik hidrazit	69
3 2 6. Molinat	74
3 2 7. Propanil	79
3 2 8. Trifluralin	84
4 TARTIŞMA	90
5 SONUÇ	102
6 KAYNAKLAR	105
ÖZGEÇMİŞ	133

ADIBESİR ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

ADIBESİR ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

ADIBESİR ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Bd ^S	Beaded Serrate
cm	Santimetre
flr	Flare
gr.	Gram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mwh	Multiple wing hair
W ⁱ	White ivory

Kısaltmalar

C.A.S.	Chemical Abstract Service
EMS	Etil Metan Sülfonat
SMART	Somatic Mutation and Recombination Test

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2 1: <i>Drosophila</i> Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinin şematik olarak gösterilmesi	13
Şekil 2 2: <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü	15
Şekil 2 3: İmajinal disk hücrelerinin larvadaki pozisyonları	16
Şekil 2 4: İmajinal disk hücrelerinin gelişim zamanına göre sayıları	16
Şekil 2 5: Kanat trikomlarının görünümü a) normal b) farklılaşmış fakat ne flare ne de mwh olarak sınıflandırılmayacak trikomlar c) mwh trikomlar d) flare genotipe ait trikomlar	18
Şekil 2 6: Flr ³ / TM3, Bd ^S bireylerindeki homozigot letal etkiler	18
Şekil 2 7: Dengeleyici kromozomu taşımayan normal ve dengeleyici kromozomu taşıyan Bd ^S bireylerinin kanat fenotipleri	19
Şekil 2 8: <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde kullanılan belirleyici genlerin üçüncü kromozom üzerindeki yerleşimleri	20
Şekil 2 9: Dengelenmiş heterozigot mwh/Bd ^S ve transheterozigot mwh/flr3 bireylerin elde edilebilmesi için mwh/mwh ve flr ³ /TM3, Bd ^S bireyleri arasındaki çaprazlamalar	26
Şekil 2 10: Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için farklı uygulama şekilleri	28
Şekil 2 11: Kanat Sektörlerinin Şematik Görünümü	31
Şekil 2 12: Büyük tek tip mwh mutant klonların görünümü	32
Şekil 2 13: Küçük tek tip mwh mutant klonların görünümü	32
Şekil 2 14: İkiz mutant klonların görünümü	33
Şekil 2 15: Büyük tek tip flr mutant klonların görünümü	33
Şekil 2 16: mwh/flr3 genotipindeki bireylerde görülebilecek genetik anomalilikler	34
Şekil 3 1: Amitrol'un (normal kanat) klon frekans dağılımı	45
Şekil 3 2: Amitrol'un (Serrat kanat) klon frekans dağılımı	45
Şekil 3 3: Metribuzin'in (normal kanat) klon frekans dağılımı	46

Şekil 3 4: Metribuzin'in (Serrat kanat) klon frekans dağılımı	46
Şekil 3 5: Prometrin'in (normal kanat) klon frekans dağılımı	47
Şekil 3 6: Prometrin'in (Serrat kanat) klon frekans dağılımı	47
Şekil 3 7: Terbutrin'in (normal kanat) klon frekans dağılımı	48
Şekil 3 8: Terbutrin'in (Serrat kanat) klon frekans dağılımı	48
Şekil 3 9: Dikuat dibromid'in (normal kanat) klon frekans dağılımı	49
Şekil 3 10: Dikuat dibromid'in (Serrat kanat) klon frekans dağılımı	49
Şekil 3 11: Bentazon'un (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	53
Şekil 3 12: Bentazon'un (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	53
Şekil 3 13: Bentazon'un (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	54
Şekil 3 14: Bentazon'un (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	54
Şekil 3 15: Bentiokarb'ın (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	57
Şekil 3 16: Bentiokarb'ın (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	57
Şekil 3 17: Bentiokarb'ın (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	58
Şekil 3 18: Bentiokarb'ın (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	58
Şekil 3 19: Glifosat'ın (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	63
Şekil 3 20: Glifosat'ın (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	63
Şekil 3 21: Glifosat'ın (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	64
Şekil 3 22: Glifosat'ın (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	64
Şekil 3 23: 2,4,5-T izooktilester'in (NMA'ye sahip normal kanatlı	

bireylerde) klon frekans dağılımı	67
Şekil 3 24: 2,4,5-T izooktilester'in (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	67
Şekil 3 25: 2,4,5-T izooktilester'in (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	68
Şekil 3 26: 2,4,5-T izooktilester'in (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	68
Şekil 3 27: Maleik hidrazit'in (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	72
Şekil 3 28: Maleik hidrazit'in (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	72
Şekil 3 29: Maleik hidrazit'in (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	73
Şekil 3 30: Maleik hidrazit'in (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	73
Şekil 3 31: Molinat'ın (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	77
Şekil 3 32: Molinat'ın (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	77
Şekil 3 33: Molinat'ın (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	78
Şekil 3 34: Molinat'ın (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	78
Şekil 3 35: Propanil'in (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	82
Şekil 3 36: Propanil'in (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	82
Şekil 3 37: Propanil'in (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	83
Şekil 3 38: Propanil'in (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	83
Şekil 3 39: Trifluralin'in (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon	

frekans dağılımı	88
Şekil 3.40: Trifluralin'in (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	88
Şekil 3.41: Trifluralin'in (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	89
Şekil 3.42: Trifluralin'in (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı	89

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2 1: Çalışmada kullanılan herbisitler	23
Çizelge 2 2: Orijinal ve alternatif hipotezlerin değerlendirilmesi	36
Çizelge 3 1: <i>Drosophila melanogaster</i> 'in <i>mwh/flr³</i> Genotipinde, Herbisitlerin (Amitrol, Metribuzin, Prometrin, Terbutrin ve Dikuat dibromid) Somatik Mutasyon ve Rekombinasyona Etkileri	42
Çizelge 3 2: <i>Drosophila melanogaster</i> 'in <i>mwh/TM3</i> Genotipinde, Herbisitlerin (Amitrol, Metribuzin, Prometrin, Terbutrin ve Dikuat dibromid) Somatik Mutasyon ve Rekombinasyona Etkileri	44
Çizelge 3 3: Bentazon'un Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	51
Çizelge 3 4: Bentazon'un Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	52
Çizelge 3 5: Bentiokarb'ın Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	55
Çizelge 3 6: Bentiokarb'ın Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	56
Çizelge 3 7: Glifosat'ın Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	61
Çizelge 3 8: Glifosat'ın Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	62
Çizelge 3 9: 2,4,5-T izooktilester'in Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	65
Çizelge 3 10: 2,4,5-T izooktilester'in Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	66
Çizelge 3 11: Maleik Hidrazit'in Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	70
Çizelge 3 12: Maleik Hidrazit'in Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	71
Çizelge 3 13: Molinat'ın Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	75

Çizelge 3.14: Molinat'ın Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	76
Çizelge 3.15: Propanil'in Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	80
Çizelge 3.16: Propanil'in Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	81
Çizelge 3.17: Trifluralin'in Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	86
Çizelge 3.18: Trifluralin'in Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri	87

DEÜZ İNİVERSİTESİ
KİTAP KÜTÜPHANESİ
KONAK KÜTÜPHANESİ

1. GİRİŞ

Günümüzde sürekli artan Dünya nüfusunun artan besinsel ihtiyaçlarını karşılamak için tarımsal üretimde seracılık, gübreleme, bitki ıslahı, doku kültürü, hormon ve pestisit kullanımı gibi değişik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden tarımda zararlılara karşı pestisitlerin kullanımı, yüzlerce yıl öncesine kadar gitmektedir. Pestisitlerin M.Ö. 1000 yıllarında Çin'de kükürtün bitki hastalıklarına karşı koruyucu etkisinden yararlanma ile başlamış olduğuna ilişkin bazı kanıtlar bulunmuştur. 16. yüzyılda düşük kaliteli balina yağı sirke ile karıştırılarak zararlı böceklere karşı bir çeşit insektisit olarak kullanılmıştır. Yine aynı yüzyılda Arsenik içerikli bileşikler Çin'de insektisit olarak kullanılmıştır. 17. Yüzyılda tütün yapraklarının su özütleri böcek öldürücü olarak, karabügen (*Strychnos nox-vomica*) bitkisinin tohumlarının da kemirgenlerin öldürülmesinde kullanıldığı bilinmektedir. 19. yüzyılın ortalarında *Derris eleptica* bitkisinin kökleri ve krizantem bitkisinin çiçekleri insektisit olarak kullanılmıştır. Yine 19. Yüzyılın sonlarına doğru arsenik trioksit yabancı otlarla mücadele amacıyla kullanılmıştır. Aynı dönemlerde, günümüzde halen kullanılmakta olan bordo karışımı (Bakır sülfat ve kireç) Fransa'da üzüm hastalığına neden olan *Plasmopora viticola*'ya karşı kullanılmıştır. İlerleyen dönemlerde de Bakır arsenit ve Paris yeşili gibi pestisitler kullanılmıştır.

Pestisitlerin gerçek anlamda yaygın olarak kullanılması 1939 yılında DDT'nin böcek öldürücü etkisinin bulunmasından sonra başlamıştır. Bu tarihten sonra pestisit çeşidi gittikçe artmış ve günümüzde organik klorlu, organik fosforlu, karbamat, sentetik preteroidler gibi çeşitli gruplar altında toplanan çok fazla sayıda pestisit ortaya çıkmıştır. Tarımda hastalık, zararlı böcek, kemirici, yabancı ot gibi bir çok zararlının yol açtığı ürün kayıplarını ortadan kaldırmak amacıyla kullanılan pestisitlerin ürün verimini 1/3 oranında artırdığı tahmin edilmektedir (Ware 1983). Bu nedenle de pestisitlerin kullanımı günden güne yaygınlaşmıştır. Tarım üreticilerinin pestisit talebine cevap verebilmek için çalışan bir çok firmada binlerce araştırmacı daha etkin pestisit üretimi için araştırmalar yapmaktadır. Günümüzde geliştirilmiş binlerce pestisit formülasyonundan 1500'den fazlası halen büyük ölçüde kullanılmaktadır (Wilkinson 1990).

Tarımda zararlılara karşı pestisit dışında dirençli bireylerin seçimi, fiziksel ve biyolojik mücadele gibi bazı yöntemler de kullanılmaktadır (Yeğen 1993) Ancak bu gibi mücadele yöntemlerinin daha uzun vadede sonuç vermesi ve pratik olmaması nedeniyle zararlılarla mücadelede pestisitlerin kullanımı halen birinci sırada yer almaktadır. Pestisitlerle yapılan kimyasal mücadele ile bir çok zararlıya karşı tam veya kısmen başarı sağlanabilmektedir. Fakat pestisitlerin bu başarılarına karşın zararlı hedef organizma dışındaki organizmaları da etkilemesi çevre ve insan sağlığı bakımından olumsuzluklara yol açmaktadır. Toprağa karışan pestisit, toprağın doğal bakteri florasını bozarak madde enerji döngüsünde önemli yeri olan ayrıştırıcıları ortadan kaldırmakta, suya karışarak akarsu, göl ve denizlerde besin zinciri yoluyla insana kadar ulaşmaktadır (Gustafson ve Jansson 1993, Kuroda vd 1992). Ayrıca beslendiğimiz sebze ve meyvalarla insan, pestisitlerin direk etkileri ile karşı karşıya kalabilmektedir. Hatta bu etki, sebze ve meyvalarda pestisitler için hasat aralığına dikkat edilmez ise insan sağlığını tehdit edici boyutlarda olmaktadır. Tarımda zararlılara karşı pestisit kullanımı, ürün veriminde kayıpları önlerken yararlı olmakla birlikte, ne yazık ki doğal çevre ve insan sağlığında olumsuz etkileri nedeniyle küçümsenemeyecek zararlar oluşturmaktadır.

Bir canlının ortak birimi hücredir. Canlılar hücre veya hücrelerden oluştuğuna göre, bir canlı türüne etki eden pestisit diğer bir canlı türünü de az veya çok etkileyebilir. Bu nedenle, pestisitlerin hedef aldıkları organizmalar için kesin seçici olarak formüllendirilmesi veya kullanılması arzulanır. Bu konuya pestisit üreten imalatçılar ne kadar özen gösterirse gösterecek yine de pestisitlerden etkilenmeyen canlı grubu yok gibidir. Doğada pestisitlerden etkilenen bir canlı grubu da tür sayısı en fazla olan böceklerdir. Böcekler çiçeklerde tozlaşmayı artırarak ürün verimini olumlu yönde etkiledikleri gibi diğer taraftan predatör ve parazitoid yaşam şekillerine sahip olanları da zararlılarla mücadelede önemli biyolojik kontrol ajanlarıdır. Pestisitler nedeniyle böceklerin yaşama, gelişme, ömür uzunluğu ve yumurta veriminde düşüşler gözlenmiştir (Charlisle vd 1969, Chrominski vd 1982, Visscher 1980, 1982, 1983, Coffelt ve Schults 1988, Önder ve Çınarlı 1988, Yücel ve Geldiay 1988, Kaya ve Yanıkoğlu 1999). Ayrıca yine pestisitlerin böcekler üzerinde eşey oranını değiştirme, glikojen seviyesini düşürme, gelişimin erken evrelerinde ölümcül etki, direnç

mekanizmalarının gelişmesi, düzensiz hücre bölünmeleri, ve değişik kromozomal hasar oluşumu şeklindeki etkileri yapılmış olan bir çok araştırma ile gösterilmiştir (Dover ve Croft 1986, Kence ve Kence 1988, Koca ve Bilaloğlu 1988, Valencia vd 1989, Yanıkoğlu ve Bilaloğlu 1989, Miyakawa vd 1980, Bağrıaçık ve Ünlü 1991, Rodriguez ve Amin 1991, Uysal ve Bahçeci 1992). Bu gibi etkilerin sonucunda bir taraftan zararlı böcekler de direnç mekanizmaları geliştirerek kullanılan pestisitlerin zamanla etkisiz hale gelmesi söz konusu iken, diğer taraftan çevrede biyolojik mücadele için önemli bir çok böcekde glikojen seviyesindeki düşüş, gelişimin engellenmesi ve kromozomal hasarlar nedeniyle olumsuz koşullardan çok daha fazla etkilenmektedir. Pestisitlerin etkisiyle ölümlere kadar varabilen sonuçlar ortaya çıkabilmekte ve doğada ekolojik denge için önemli bir çok yararlı böceğin de zarar görmesi nedeniyle denge olumsuz yönde bozulmaktadır. Kullanılan pestisitlerin biyolojik açıdan uygunluğu çevreye ve hedef organizma dışındaki yararlı canlılara olan olumsuz etkilerine bağlıdır. Bununla birlikte, kullanılan bazı pestisitler zararlı türlerin doğal düşmanlarını ve polinatörleri olumsuz yönde etkilemektedir (Graham-Bryce 1975). Doğal polinatörlerden bal arılarının pestisitlerden etkilenmesi nedeniyle arıların ölümü, bal verimindeki düşüş ve pestisitlerin balın kokusunda yarattığı istenmeyen kokular nedeniyle ekolojik ve ekonomik açıdan olumsuz sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Diğer taraftan pestisitler kuşları (Bauer vd 1989, Duffard vd 1993), balıkları ve göl ekosistemlerini (Pimentel vd 1991, Berg vd 1992) olumsuz yönde etkileyerek doğal dengenin bozulmasına neden olmaktadır.

Tarımda ürün verimini artırmak amacıyla kullanılan pestisitler çoğu kez kültür bitkilerinde de istenmeyen hasarlara neden olmaktadır. Bazı çalışmalarda, pestisitlerin etkileriyle kültür bitkisinin genetik yapısında bir çok hasarların oluştuğu gösterilmiştir. (Scott 1968, Swietlinska ve Zuk 1978, Derridj vd 1986). Pestisit bitki bünyesine herhangi bir yolla girmesinden sonra kendisi veya parçalanma ürünleri bitkinin bünyesinde uzun süre kalabilmektedir. Bitki bünyesine alınan pestisitler insan tarafından bitkinin doğrudan besin olarak alınması veya bu bitkiyi besin olarak tüketen hayvanların besinsel ürünlerinin yenilmesi suretiyle insana geçebildiği, toprakta biriken pestisit, çeşitli yollarla sulara karışarak akarsu, göl ve denizlerden besin zinciri yoluyla da insana ulaşabilmektedir (Frank vd 1988, Biradar ve Rayburn 1995). Besin zinciri yoluyla mikro canlılardan makroya doğru gittikçe artan pestisit miktarı, besin

piramidinin en tepesindeki insan için yüksek değere ulaşır. Bu nedenle de pestisitlerin doğrudan ya da dolaylı olarak insana olan zararı en fazladır denilebilir. Pestisitlerin insana olası etkilerini saptamak için memeli sınıfından fare, sıçan, kobay ve tavşan gibi çeşitli hayvanların değişik dokularında, histolojik, fizyolojik, embriyolojik, biyokimyasal ve genetiksel bir çok çalışma yapılmaktadır. Bu gibi memeli deney hayvanlarının akciğer, kemik iliği, ovaryum gibi değişik doku ve organlarında bazı pestisitlerin embriyo toksik ve genotoksik hasara neden olduğu gösterilmiştir (Seiler 1976, Carere vd 1978a, b, Carere ve Marpurgo 1981, Hansen vd 1984, Hoffman ve Albers 1984, Dean vd 1985, Yoo vd 1985, Katz 1987, Salem ve Olajos 1988, Adler vd 1989, Fan ve Jackson 1989, Tanaka ve Amano 1989, Kuroda vd 1992, Barale 1993, Bolognesi vd 1993, Manno 1996, El-Rahaem vd 1997, Tate vd 1997)

Tarımda zararlılara karşı kullanılan pestisitler, zararlıların tamamen ortadan kaldırılmasını sağlayamamakta ancak belli bir süre için zararlıların popülasyon yoğunluğunu düşürmektedir. Zararlı bireyler, doğrudan kullanılan pestisite karşı zamanla direnç kazanabilmektedir. Diğer taraftan bu bireyler benzer yapıda kullanılan diğer pestisitlere de çapraz direnç oluşturabilmektedir. Bu nedenle gerek kullanılan gerekse kullanılabilecek benzer yapıdaki diğer pestisitler zamanla zararlı için etkisiz hale gelebilmektedir. Pestisitlere karşı direnç mekanizmasının gözlenmesine en çarpıcı örnek olarak DDT (Diklorodifeni trikloroetan) gösterilebilir. DDT insektisit olarak faydalı etkisi dolayısıyla nobel ödülü dahi kazandırmasına karşın zaman içerisinde böceklerin bu pestisite karşı geliştirdikleri direnç mekanizmaları sayesinde etkisiz hale gelmiş ve yapılan çalışmalarla çevre ve insan için olumsuz etkilerinin gösterilmesiyle kullanımı bazı ülkelerde sınırlandırılmış bazı ülkelerde de tamamen yasaklanmıştır. Georghiou ve Mellon (1983)'un böceklerin kullanılan pestisitlere karşı kazandıkları direnç üzerine yaptıkları çalışmaya göre; 1973 yılında çeşitli pestisitlere karşı dirençli olduğu belirlenen tür sayısı 313 iken sonraki on yıl boyunca kullanılan pestisitler nedeniyle bu sayı % 165 oranında artarak 829'a ulaşmıştır. Zararlılarda zamanla direnç mekanizmalarının gelişmesiyle zirai mücadelede daha fazla çeşit ve miktarlarda pestisit kullanımı gereği doğmuştur. Bunun sonucunda ise çevrede daha fazla miktarlarda biriken pestisit kalıntıları, çevreye de zarar vererek besin zinciri yoluyla insana kadar ulaşmakta, insanın maruz kaldığı pestisit miktarı arttıkça mutasyon oranını artırarak

mutajenik ve embriyonun normal gelişimini engelleyerek teratojenik etkiler ve hatta ölümle sonuçlanan zehirlenmeler meydana gelebilmektedir. (Garret vd 1986, Frank vd 1988, IARC 1991, Winter 1992, Yang 1992, Litchfield 1999)

Tarımda ürün verimini en fazla etkileyen zararlılar, kültür alanında istenmeyen bitkiler olan yabancı otlardır. Yabancı ot; kültür alanında hasat edilmesi amaçlanan bitki dışında kalan, faydadan çok zarar veren bitkilerin tamamıdır (Klingman vd 1975). Yabancı otlar; toprağın su düzenini bozması, kültür bitkilerinin besinini paylaşması, ışıklanmalarını engellemesi, toprak sıcaklığına olumsuz etki yapması ve bazı hastalık etmenleri için iyi bir konak olmaları nedenleriyle kültür bitkilerinin gelişimlerini engellemektedirler (Yeğen 1993). Hasat alanında istenmeyen bitkilerin öldürülmesi, tahrip edilmesi, kullanılması sonucu gelişiminin durdurulması veya bir kısmının öldürülmesini sağlayan pestisitlere herbisit adı verilmektedir (Özmen 1996). Herbisitlerin kullanımı 1895-1897 yılları arasında yaban hardalına (*Sinapsis arvensis*) karşı bakır sulfatın seçici etki gösterilmesinin tesbit edilmesiyle başlamıştır (Manno 1996). Bu alandaki ilgi 1930'ların ortalarında selektif özellik gösteren yeni bileşiklerin bulunması yönüne doğru kaymıştır. 1950'lerde düşük akut toksisite gösteren diğer grup bileşikler üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. 1962 yılında bulunan Parakuat seçici olmayan ilk herbisit olmasıyla önemlidir. Son on yıl içerisinde herbisitlerin pestisitler içerisindeki oranı çok hızlı bir şekilde artmıştır. Dünyada üretilen herbisit miktarı şu anda insektisitlerin iki, fungusitlerin de üç katından daha fazladır. Herbisitlerin bu aşırı oranda üretilmesi ve kullanılması bir çok sorunu da beraberinde getirmektedir. Herbisitlerin doğrudan bitkilerin üremesini kontrol etmek için üretilmiş olmasından dolayı memelilere olan toksisiteleri insektisitlerden daha düşüktür (Kurtz vd 1989, Amer ve Ali 1983, Aroyo vd 1988). Buna rağmen bir çok herbisit bakterilerde (Imamura ve Talcott 1985, Kumari ve Krishnamurth 1984), bitkilerde (Kumari ve Vaidyanath 1989, Pavlica vd 1991, Rahem ve Ragap 1989, Nicoloff vd 1991), böceklerde (Kaya vd 1999), ve memeli sistemlerde (Turkula ve Jalal 1985, Pavlica vd 1991, Zhong vd 1992, Kumari ve Krishnamurt 1986) değişik hasarlara neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca bazı herbisitler insanlarda sperm bozukluklarına da neden olabilmektedir (Lerda ve Rizzi 1991)

Reaktif kimyasallar olan pestisitlerin gerek kendileri ve gerekse parçalanma ürünleri bir çok canlı türünde ve insanda çeşitli genetik hasarlaroluşturabilmektedir. Genetik hasarların saptanmasında hem prokaryotik hem de ökaryotik organizmalarda farklı bir çok test sistemi kullanılmaktadır (Ames vd 1973, Alp vd 1985, Öner 1989, Moro vd 1996, Kaya vd 1999). Bu testlerden Ames testi 1973 yılından itibaren *Salmonella typhimurium*'un TA 1535, TA 1536, TA 1537 ve TA 1538 hatlarıyla 1978 yılına kadar çalışılmıştır (Ames vd 1973). Bu tarihten sonra R plazmidi içeren TA 98 ve TA 100 hatlarıyla mutajenik etkiler üzerine çalışmalar yapılmıştır. Aynı dönemlerde bu testde fare karaciğer mikrozomal fraksiyonları da kullanılarak metabolik aktivite sonucu oluşan metabolitlerin etkileri araştırılmaya başlanmıştır (Ames vd 1975). Daha sonraki iki yıl boyunca yine aynı bakteri ile değişik testler uygulanmıştır (Shopek vd 1978, Bignami ve Crebelli 1979, Bignami vd 1977). İlerleyen yıllarda *S typhimurium* dışındaki bakterilerde kullanılarak yapılan testler uygulanmaya başlanmıştır (Carere vd 1978 a, b, Bignami vd 1980).

Ökaryotik bir organizma olan *Aspergillus nidulans* genetik testlerde çok yaygın olarak kullanılan diğer bir model organizmadır. *A. nidulans* kullanılarak yapılan testler yardımıyla mitotik krosing over, ayrılmama (non-disjunction), nokta mutasyon, çerçeve kayması (frame shift), kromozomdan parça kopması (delesyon) ve kromozomun bir parçasının yer değiştirmesi (translokasyon) gibi bir çok genetik hasar belirlenebilmektedir (Lilly 1965, Bignami vd 1977, Crebelli vd 1986). Bununla birlikte *A. nidulans* ile yapılan testler için klasik mikrozomal aktivasyon sistemi kullanılarak biyoaktivasyonun belirlenmesinde bazı zorluklar vardır. Bu nedenle de bu amaca yönelik değişik testler geliştirilmiştir. Bu testlerden bitkilerin model organizma olarak seçildiği testlerde mitoz ve mayoz bölünmeler sırasında oluşan mutasyonların tespit edilmesi uzun yıllardır kullanılmaktadır (Povolotskaya 1961, Evans ve Scott 1964, de Serres ve Shelby 1978, Constain ve Owens 1982). Ancak bu çalışmalarda bitkilerin model organizma olarak kullanılması nedeniyle, pestisitlerin hayvanlar üzerindeki etkilerini tespit edebilmek için hayvansal hücrelerin kullanılması düşüncesi ön plana çıkmıştır. Bu nedenle, bitkilerle yapılan testler hayvanların değişik hücreleri kullanılarak yapılmaya başlanmıştır. Bu testlerden kromozom bozuklukları, mikronükleus oluşumu ve kardeş kromatidlerdeki parça değişimi testleri bir çok

araştırmacı tarafından yıllardır kullanılmaktadır (King ve Lunford 1950, Paton ve Allizon 1972, Kroda vd 1992, Zhong vd 1992, Vaglenov ve Karadjov 1997, Vaglenov vd 1997 a, b, c) Bu çalışmalardan başka son yıllarda memeli, böcek, deniz kabukluları, bitki gibi ökaryotik organizmaların bazı hücreleri ile DNA düzeyindeki hasarların tespit edilebildiği tek hücre jel elektroforezi (COMET) testi çok yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Anderson vd 1998, Ginchner ve Plewa 1998, Handerson vd 1998, Ralph ve Petros 1998, Singh ve Stephens 1998, Speit vd 1998, Steinert vd 1998, Tsuda vd 1998, Wagner vd 1998). Tek hücre jel elektroforezi testinin son yıllarda çok yaygın olarak kullanılmasının nedeni uygulama alanının çok geniş, DNA düzeyindeki hasarların çok hassas olarak tespit edilebilmesi ve az sayıdaki ökaryotik hücrenin bu test için yeterli olmasıdır. Ancak bu testin de diğer bir çok mutasyon testleri gibi *in vitro* koşullarda yapılıyor olması araştırmacıları bu testin, ökaryotik canlılarda *in vivo* koşullarda yapılan testlerle desteklenmesine yönelmiştir. *In vitro* testlerde izole edilmiş olan hücreler ya doğrudan ya da belli bir süre kültür ortamında çoğaltıldıktan sonra teste tabi tutulmaktadır. Bu izole edilmiş hücreler birbirlerinden bağımsız olarak remektedirler. *In vitro* koşullardaki hücrelerin birbirleriyle olan haberleşmeleri *in vivo* koşullardaki kadar gcl değildir. Bu nedenle de *in vitro* alışmaların sonuçları *in vivo* koşullarda yapılan çalışmaların sonuçlarından farklı olabilmektedir. Bu yüzden son yıllarda mutajenik etkilerin saptanabilmesi için *in vivo* koşullarda yapılan *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu test çeşitli genetik hasarları aynı anda saptayabilmesi açısından da önemli bir avantaj sağlamaktadır.

Kullanılan pestisitler, vücuda herhangi bir yolla girdikten sonra zararlı etkilerinin ortadan kaldırılması için hücrelerde bir takım değişikliklere uğratılmaktadır. Pestisitlerin zararlı etkilerini gidermek için gerçekleşen bu olaya detoksifikasyon adı verilmektedir. Detoksifikasyon; vücuda alınan yabancı maddelerin suda daha kolay çözünebilir hale getirilerek atılmasını kolaylaştırmak veya suda çözülebilen bir madde ise atılmasını sağlamaktır. Faz 1 ve faz 2 olarak iki kısımda incelenen detoksifikasyon reaksiyonlarında bir çok enzim görev yapmaktadır. Detoksifikasyondan sorumlu önemli bir enzim sistemi de sitokrom P-450 (polisubstratlı monooksijenaz sistemi)'dir. Bu enzim sisteminin detoksifikasyondaki önemi adındanda anlaşılacağı gibi substrat

çeşitliliğinin fazla olması ve bitkiden memeli sisteme kadar bir çok organizmada ortak olmasından ileri gelmektedir. Sitokrom P-450, iki enzimin birleşmesiyle oluşan bir sistem olup, NADPH sitokrom P-450 reduktaz ve hem içeren sitokrom P-450 dir. Yabancı maddelerin (ksenobiyotikler) olumsuz etkilerini yok etmek amacıyla sitokrom P-450 tarafından katalizlenen hidroksilasyon, dealkilasyon, epoksidasyon gibi bir çok reaksiyon vardır. Bu reaksiyonların asıl amacı zararlı etkinin ortadan kaldırılmasıdır. Ancak bazen detoksifikasyon reaksiyonları sonucu oluşan bazı metabolik ürünler daha toksik özellik kazanabilmektedir. Bu ara ürünlerin organizmada hücre ölümleri, kanser, teratogenik etkiler ve mutasyonlar gibi istenmeyen sonuçlar ortaya çıkardığı gösterilmiştir (Plewa ve Gentile 1982, Plewa vd 1984, Kappas 1988, Plewa ve Wagner 1993). Biyoaktivasyon sonucu oluşan bazı metabolitleri yarı ömürleri çok uzun olduğu için bu metabolitler uzunca bir süre zararlı etkilerini gösterebilmektedirler. DDT'in parçalanma ürünlerinden olan DDE de yarı ömrü onlarca yıl olan zararlı bir parçalanma ürünüdür. DDE'in mutajenik ve kanserojenik etkileri yapılan çalışmalarla da belirlenmiştir (IARC 91). Diğer taraftan, DDT'nin uzun yıllar boyunca çok yaygın olarak yüzlerce ülkede kullanılmış olması ve yarı ömrünün de çok uzun olması nedeniyle halen bir çok canlının tehlike altında olduğunu göstermektedir.

Bir canlıda bir kimyasalın genotoksik etkilerini belirlemede kullanılan testlerin bazıları için sirke veya meyve sineği olarak da bilinen *Drosophila melanogaster* en sık başvurulan bir model organizmadır. *D. melanogaster*'in bu testler için kullanılması 1927'de Müller'in eşeye bağlı resesif letal mutasyon testini bulmasıyla başlamıştır (Müller 1927). *Drosophila*'nın mutajenite testlerinde tercih edilmesinin nedenleri; ökaryotik bir organizma olması, generasyon süresinin 9-11 gün gibi kısa bir süre olması, bir nesilde çok fazla sayıda birey elde edilebilmesi, biyoaktivasyondan sorumlu enzim sistemlerinin memelilerin enzim sistemleriyle büyük benzerlik göstermesi ve ökaryotik bir canlıda *in vivo* çalışma olanağı vermesi şeklinde sıralanabilir (Valencia vd 1984, 1989). Son yıllarda da özellikle meyve sineğinin farklı imajinal disk hücrelerinden yararlanarak bazı testler kullanılmaya başlanmıştır. Bu testlerden "white ivory" testinde eşey kromozomu üzerinde taşınan white ivory (W^i) geni belirleyici gen olarak kullanılmaktadır. Bu belirleyici gen üzerinde meydana gelen bir mutasyon nedeniyle göz omotidyum hücrelerinde pigment oluşup oluşmamasına göre

değerlendirme yapılmaktadır. Bu mutasyon testinin 1986 yılında Green ve arkadaşları tarafından geliştirilmesinden sonra bir çok araştırmacı genotoksik etkilerin tespitinde bu testi kullanmıştır (Würgler ve Kagi 1991, Ferreiro vd 1995). White ivory testinin temel prensibi kromozom içi rekombinasyonun ve tekrarlanan W^i geninin duplikasyonunun kaybolmasının fenotipe farklı yansımalarıdır. Bu testte mutajene maruz kalan göz ommotidyum hücrelerinin sayısının fazla olmaması, *Drosophila*'nın eşey kromozomu üzerindeki belirleyici genlerin kullanılması nedeniyle çalışılan bölgenin dar kapsamda olması ve sınırlı sayıdaki mutasyonların test edilebilmesi araştırmacıları mutasyonları daha geniş spektrumda inceleyen başka testlerin kullanılmasına yöneltmiştir.

1984 yılında Graf ve arkadaşları'nın *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testini geliştirmesiyle mutasyonların daha geniş bir spektrumda incelenmesi olanağı elde edilmiştir. Bu test ile elektronegatiflik ile genotoksisite arasındaki ilişkinin araştırılması (Rozenkranz ve Klopman 1996), antiviral, anti-kanser ve anti-depresant ilaçlarının (Frei vd 1992, Marec ve Gelbic 1994, van Schaik ve Graf 1991), anti-parazitik nitrofuranların (Alonso-Moraga ve Graf 1989), ökaryotik topoizomeraz inhibitörlerinin (Frei ve Würgler 1996) ve bazı insektisitlerin (Batiste-Alentorn vd 1995) mutajenik ve rekombinojenik (rekombinasyon oranının normalden daha fazla artıran) etkilerinin araştırılması gibi yapılan bazı çalışmaların yanı sıra son yıllarda, oluşturulan özel hatlar sayesinde tamir bozukluklarının saptanması (Graf vd 1990) ve kimyasalların parçalanma ürünlerini mutajenik ve rekombinojenik etkileri (Guzman-Rincon ve Graf 1995) gibi yeni çalışmalar da yapılmıştır. Bu test, ökaryotik canlıda daha fazla sayıda hedef hücreyi içine alan *in vivo* bir test olup aynı anda çeşitli mutasyonlar (delesyon, nokta mutasyon ve ayrılmama) ve rekombinasyonun fenotipte kolaylıkla gözlenebilmesine olanak vermektedir. Bu testin önemli bir avantajı da rekombinasyonun baskılanmasına neden olan dengeleyici kromozomun (TM3) kullanılan hatlardan birinin genomuna yerleştirilmiş olmasıdır. Herhangi bir faktörün etkisiyle gerçekleşen uygun olmayan bir rekombinasyon tümör baskılayıcı (supresör) genleri inaktive ederek veya proto-onkogenlerin uygunsuz bir şekilde aktive olmasını sağlayarak kanserin başlamasına neden olabilmektedir (Sengstang 1994). Bu nedenle, bazı faktörlerin etkisiyle gerçekleşen rekombinasyonlar bazen hiç istenmeyen sonuçlar doğurabilmektedir. Bu test için kullanılan hatlardan birinin genomuna yerleştirilmiş

olan dengeleyici kromozomun (TM3) varlığı bu kromozom üzerindeki baskın bir mutant gen (Serrate) ile tespit edilebilmektedir. Bu baskın mutant gen sayesinde bireylerin fenotipine bakarak genomunda dengeleyici kromozomun var olup olmadığı kolaylıkla belirlenebilmektedir. Sonuçlar değerlendirilirken iki farklı fenotipteki (dengeleyici kromozomu taşıyan ve taşımayan bireyler) bireyler ayrı ayrı değerlendirilerek dengeleyici kromozomun rekombinasyonu baskılama özelliğinden dolayı kullanılan herbisitlerin rekombinojenik etkisinin olup olmadığı veya gerçekleşen rekombinasyonun oranı ayrıca tespit edilebilmektedir. Testin bu özellikleri sayesinde yapılacak bir çalışma ile oluşan mutasyonlar geniş bir spektrumda incelenebildiği gibi rekombinasyonun da hangi oranda gerçekleştiği belirlenebilmektedir. Böylece kullanılan mutajenin sadece mutajenik etkisi değil aynı zamanda rekombinojenik etkisi hakkında da bilgi sahibi olunabilmektedir. Diğer bir çok testde, sadece belli bir mutasyonun incelenebilmesi nedeniyle *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi tercih edilen bir test olmuştur. Bu testin bilim dünyasının kullanımına sunulmasından bu yana belirleyici genleri taşıyan hatlara başka özellikler de kazandırılarak testin işlevi daha da artırılmıştır. Bazı kimyasalların detoksifikasyon sonucu oluşan parçalanma ürünleri kendilerinden daha genotoksik olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, son yıllarda bu test için kullanılan hatlara, ilaçlar, çevresel kirlenmeler ve pestisitler gibi bir çok ksenobiyotikler ve steroidler, yağ asitleri ve kolesterol gibi endojen bileşiklerin detoksifikasyonda çok önemli bir enzim sistemi olan sitokrom P-450'yi daha fazla oranda ve aktif olarak üreten bireylerden çaprazlamalarla aktarılmıştır. Bu çaprazlamalar ile oluşturulan yüksek metabolik aktiviteye sahip bireyler ve normal metabolik aktiviteye sahip olan bireyler kullanılarak yapılan çalışmaların sonuçları karşılaştırılarak kullanılan kimyasalın doğrudan kendisinin mi? yoksa parçalanma ürünlerinin mi? daha mutajen ve/veya rekombinojenik olduğu tespit edilmeye başlanmıştır. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bütün bu avantajları nedeniyle son yıllarda Dünyada bir çok laboratuvarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Son on yıl içerisinde gerek bütün dünyada gerekse ülkemizde herbisitlerin diğer pestisitlere göre çok yoğun olarak üretilmesi ve kullanılması bu kimyasalların genotoksikolojik etkilerinin daha ayrıntılı olarak bilinmesi gereğini doğurmuştur. Bu

nedenle bu çalışmada Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak kullanılan triazinlerden; Amitrol, Metribuzin, Prometrin ve Terbutrin ve bipridil bileşiklerinden Dikuat dibromid (I. Grup) ve ülkemizde en yaygın kullanılan farklı gruplardan olan bentazon, bentiyokarb, glifosat, izooktilester, maleik hidrazit, molinat, propanil ve trifluralin herbisitleri, *D. melanogaster*'de kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi kullanılarak mutajenik ve/veya rekombinojenik etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın birinci kısmında Akdeniz ülkelerinde çok yaygın olarak kullanılan 5 herbisit mutajenik ve rekombinojenik etkileri sadece normal metabolik aktiviteye sahip mwh/mwh ve flr³/TM3 Ser bireyler kullanılarak çalışıldı. Çalışmanın ikinci kısmında ise ülkemizde en çok kullanılan 8 herbisit hem normal metabolik aktiviteye sahip mwh/mwh ve flr³/TM3 bireyler hem de detoksifikasyonun önemli bir enzim sistemi olan sitokrom P-450 aktivitesi yüksek NORR/NORR;mwh/mwh ve NORR/NORR;flr³/TM3 bireyler kullanılarak bu herbisitlerin olası mutajenik ve rekombinojenik etkilerini doğrudan kendilerinin mi? yoksa parçalanma ürünlerinin mi? gösterip göstermediği araştırıldı

2. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, 13 herbisit in *D. melanogaster* hatlarında genotoksikolojik etkilerini saptamak üzere Graf ve arkadaşları (1984) tarafından ayrıntılı olarak tanımlanan kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (S M A R T) kullanıldı. Bu test ile herhangi bir etkenin mutajenik ve/veya rekombinojenik özellikleri saptanabilmektedir. Testin ökaryotik sistemde *in vivo* bir test olması, bir çok mutasyonun aynı anda tespit edilebilmesi ve rekombinojenik özelliklerin de belirlenebilmesi nedeniyle Würbler ve arkadaşları (1985) ve Graf ve Würbler (1986) tarafından genetik toksikoloji alanında kullanılması önerilmiştir.

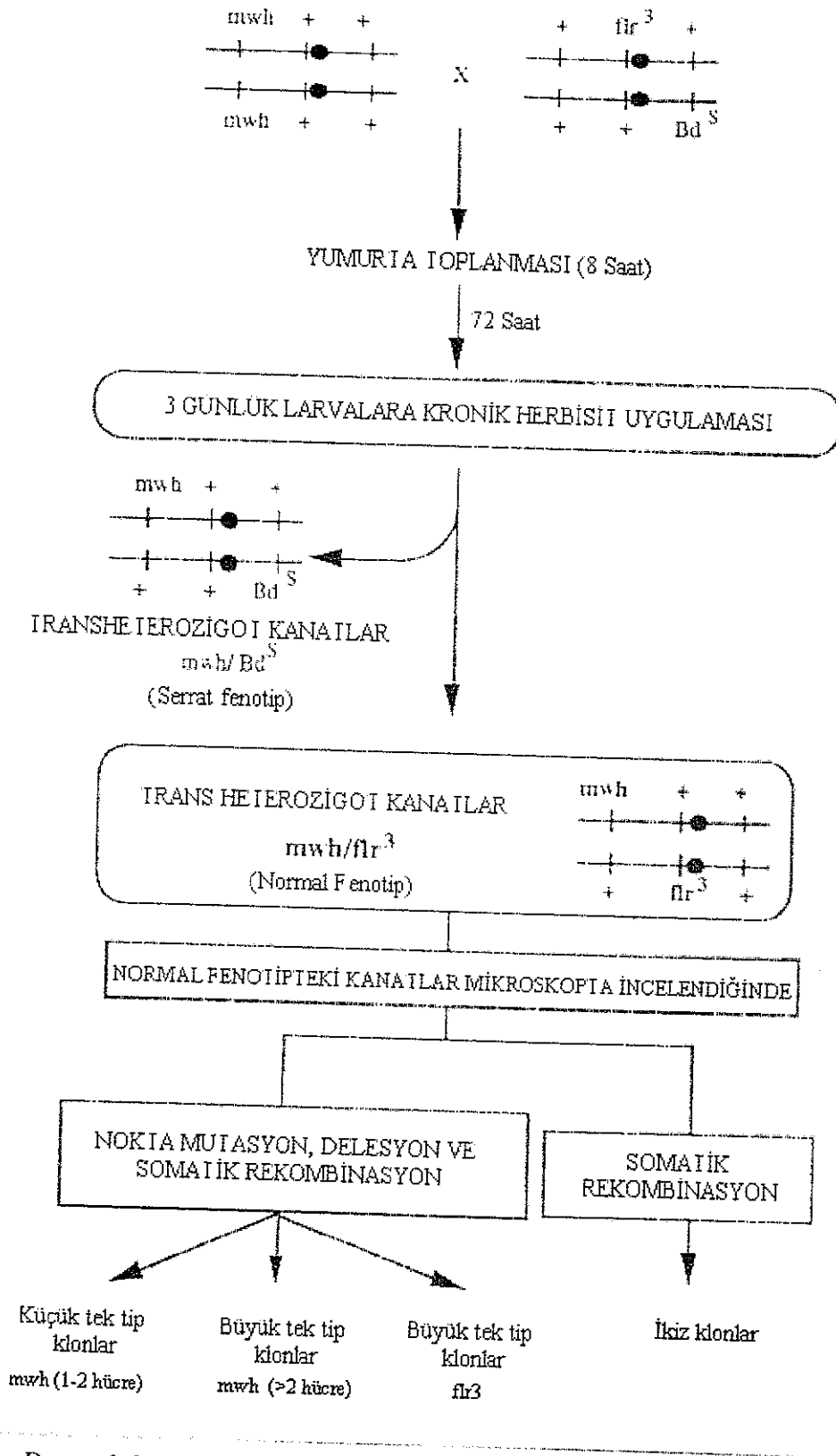
Bu test temel olarak transheterozigot larvalarda delesyon, nokta mutasyon, ayrılmama ve rekombinasyon ile kanat imajinal disk hücrelerinde oluşan genetik değişimlerin fenotipte gözlenmesi esasına dayanır (Graf vd 1984, 1989). Bu tür genetik değişimlerin fenotipte gözlenebilmesi için *Drosophila melanogaster*'de kanat trikomlarının fenotipini belirleyen *mwh* (multiple wing hair) ve *flr*³ (flare) genleri belirleyici (marker) gen olarak kullanılmıştır.

D. melanogaster'in kanatlarındaki somatik mutasyon ve rekombinasyonun saptanabilmesi şematik olarak şekil 21' de gösterilmektedir. *D. melanogaster*'in üçüncü kromozomu üzerinde bulunan belirleyici genlerdeki değişimler; hazırlanan kanat preparatlarının ışık mikroskobu yardımıyla 10X40 büyütmede incelenmesi ile mutant klonlar olarak saptanabilmektedir.

2.1 *Drosophila melanogaster*'in Yaşam Döngüsü

D. melanogaster'in genetik çalışmalar için model organizma olarak kullanılması ilk defa 1909 yılında Morgan tarafından önerilmiştir (Falakalı 1990). *Drosophila*'nın beslenmesinin kolay ve ucuz olması, kısa sürede üremesi, genetik çalışmalar için kullanılacak bir çok mutant hatta sahip olması ve rahat çalışabilecek kadar büyük olması, model bir organizma olarak kullanılmasını yaygınlaştırmıştır. (Roberts 1986,

DROSOPHILA KANAT SOMATİK MUTASYON VE REKOMBİNASYON TESTİ



Şekil 2.1: *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinin şematik olarak gösterilmesi

Graf vd 1992) Ayrıca *Drosophila*'nın çalışması kolay bir ökaryotik sistem olması da genetik çalışmalar açısından önemlidir

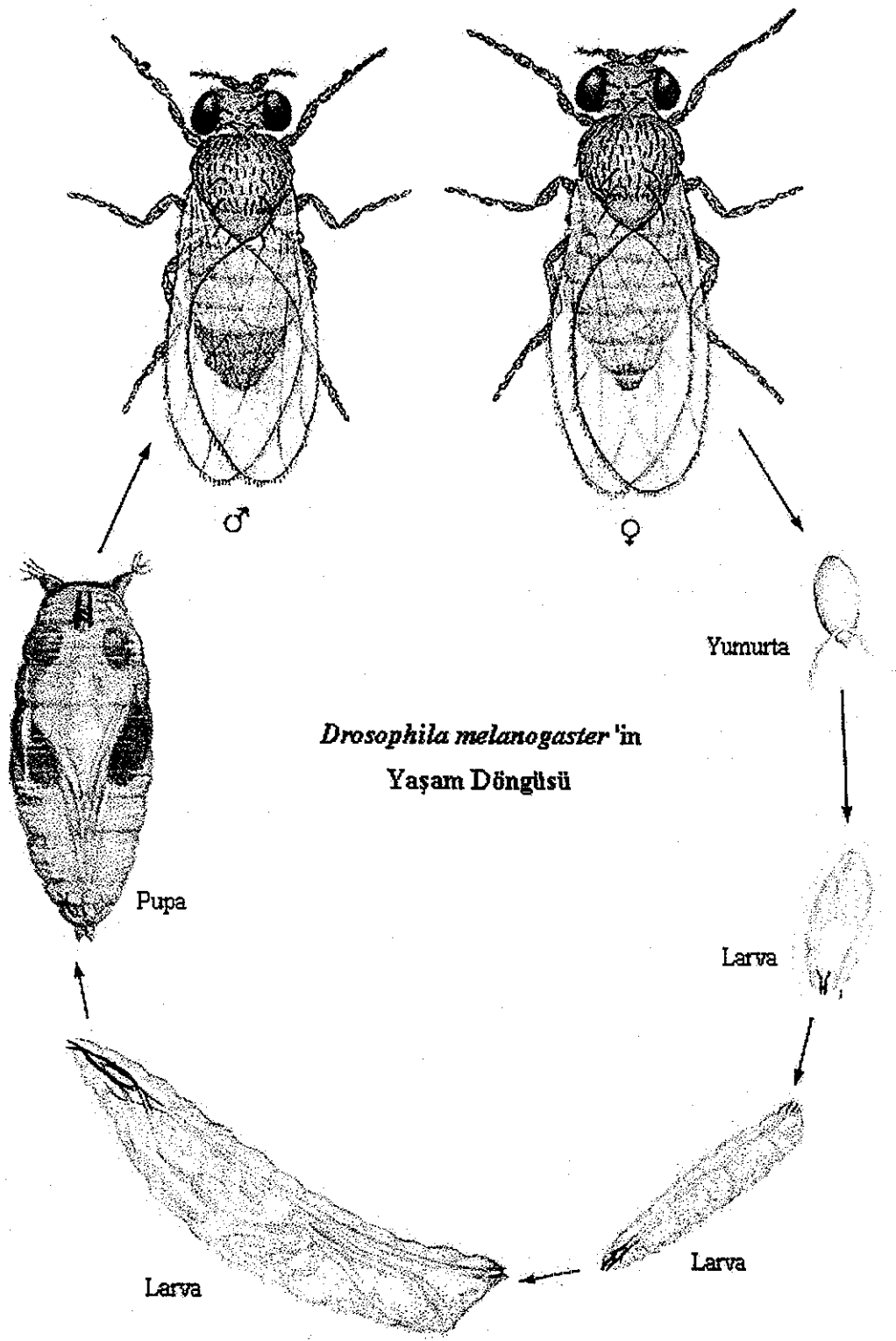
Diploid kromozom sayısına sahip olan *Drosophila*'da dört çift kromozom vardır; bir telosentrik X kromozomu (birinci kromozom), bir submetasentrik Y kromozomu, iki metasentrik kromozom (ikinci ve üçüncü kromozomlar) ve nokta kromozom şeklinde gözlenen, sentrometri bir uca çok yakın olan en küçük kromozom çifti (dördüncü kromozom) (Rothwell 1993)

Diptera ordosundan olan *Drosophila melanogaster* tam başkalaşım gösteren (holometabol) bir böcektir. *Drosophila* gösterdiği başkalaşım evreleri ve bu evrelerin süreleri 25 °C de aşağıdaki gibidir.

Embriyonik gelişim:	1 gün
Birinci larval evre (L1):	1 gün
Birinci larval evre (L2):	1 gün
Birinci larval evre (L3):	2 gün
Prepupa evresi:	4 saat
Pupa evresi:	4-5 gün
Yetişkin evresi:	40-50 gün

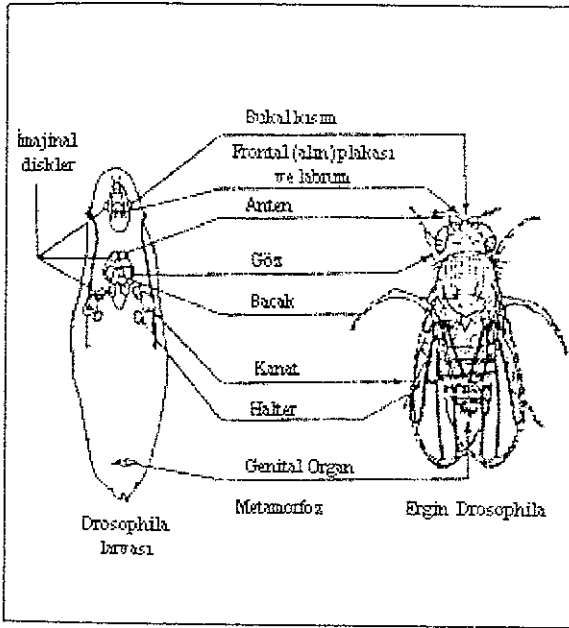
Drosophila için ideal yaşam koşulları 25 °C de % 60 bağıl nem ortamıdır. Bu koşullar altında yaşam döngüsü 9-11 gündür. *Drosophila*'nın yaşam döngüsü şekil 2.2 de şematik olarak gösterilmiştir.

Drosophila'nın erkek bireyleri pupadan çıktıktan sonra eşeyssel olgunluğa erişmiş durumdadır. Ancak dişi bireylerin eşeyssel olgunluğa erişmesi 6-12 saat arasında değişmektedir. *Drosophila* bireylerinin ortalama yaşam süreleri 40-50 gün arasında olmasına karşın 80-90 gün yaşayan bireyler de gözlenmiştir (Graf vd 1992).

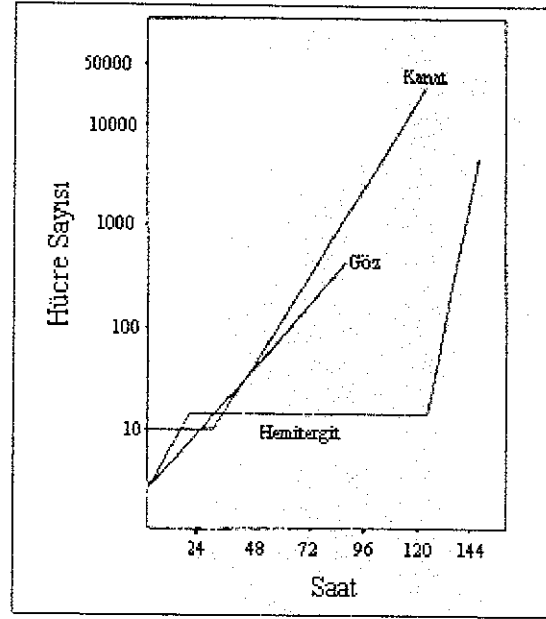


Şekil 2.2: *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü

Genellikle 2.1-2.2 mg ağılığında olan üçüncü larva evresinde olan bireyler yaşama ortamlarında kuru bir yer bularak pupa evresine geçerler (Ashburner 1989, Würzler ve Vogel 1986). Pupa içerisinde imajinal disk hücrelerinin bölünerek çoğalmasından sonra metamorfoz geçirerek oluşan ergin bireyler pupayı üst kısmından yırtarak çıkmaktadırlar. Pupadan ilk çıktıklarında vücut uzun ve açık renkte, kanatlar kısa ve kıvrık görümlü bir durumdadır ilerleyen bir kaç saat içerisinde yeni çıkan bireyler normal görümlü ergin bireyler gibi olmaktadır. İmajinal disk hücrelerinin larvadaki pozisyonları ve sayıları Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'de görülmektedir.



Şekil 2.3: İmajinal disk hücrelerinin larvadaki pozisyonları (Markert ve Ursprung 1977)



Şekil 2.4: İmajinal disk hücrelerinin gelişim zamanına göre sayıları (Würzler ve Vogel 1986)

2.2. Kullanılan Hatların Genetik Yapısı

Bu çalışmada kullanılan normal metabolik aktiviteye sahip hatlar, Prof. Dr. Ricardo MARCOS (Barselona-İspanya)'un laboratuvarından ve yüksek metabolik aktiviteye sahip hatlar Prof. Dr. Friedrich E. WÜRGLER (Zürich-İsviçre)'in laboratuvarından getirtilip bölümümüz *Drosophila* kültür laboratuvarında standart

Lewis besin ortamında (Lewis ve Bacher 1968), drosophila için ideal yaşama koşullarında (25 °C de % 60 bağıl nem) kültüre alındı.

Bu çalışmada normal ve yüksek metabolik aktiviteye sahip iki hat kullanıldı. Somatik mutasyon ve rekombinasyonları belirlemek için bu hatların üçüncü kromozomları üzerinde bulunan iki belirleyici gen kullanıldı. Normal metabolik aktiviteye sahip bireylerin genetik yapısı aşağıdaki gibidir (Lindsley ve Zimm 1992, Garcia-Bellido ve Dapena 1974, Lindsley ve Grell 1968).

- mwh / mwh
- flr3 / ln (3LR) TM3, ri p^p sep bx^{34e} e^s Bd^s
- kısaca;
- flr3 / TM3, Bd^s olarak gösterilmektedir.

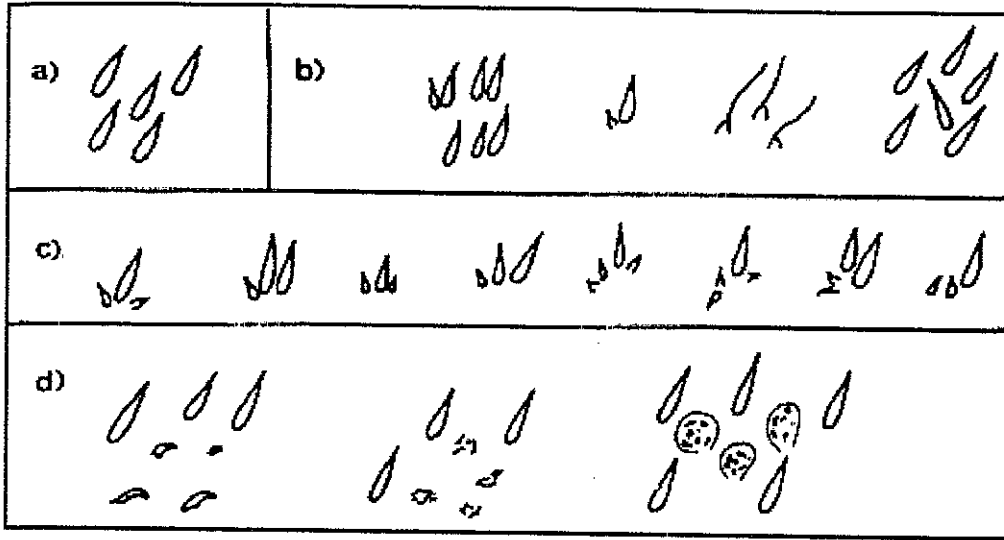
Graf ve van Schaik (1992) tarafından genetik çaprazlamalarla oluşturulan yüksek metabolik aktiviteye sahip hatların genetik yapısı da şu şekildedir;

- NORR / NORR; mwh/mwh
- NORR / NORR; flr3 / ln (3LR) TM3, ri p^p sep bx^{34e} e^s Bd^s
- kısaca;
- NORR / NORR; flr3 / TM3, Bd^s olarak gösterilmektedir.

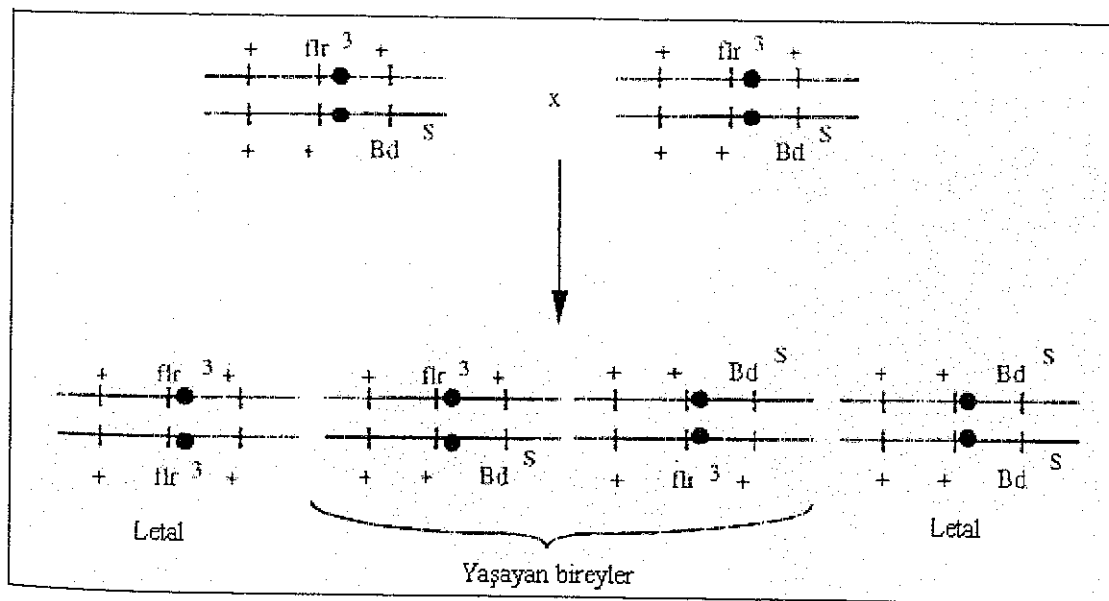
Belirleyici genlerden biri olan flare (flr 3-38.8) geni, kanatlardaki normal düz ve uzun kıllar yerine kısalmış, nokta şeklinde, koyu renkli balon şeklinde veya kalın ve düzgün olmayan bir şekilde olmak üzere çok fazla çeşitlilik göstermektedir (Şekil 2.5)

Flare geni homozigot halde iken embriyonik evrede letal etki göstermektedir (Şekil 2.6) Hem bireyleri flare geninin embriyonik letal etkisinden korumak hem de rekombinasyonu baskılamak için dengeleyici TM3 kromozomu kullanılmaktadır. Sonuçların güvenilirliği için gerçek mutant klonların olası varyasyonlardan ayrılması gerekmektedir. Bu nedenle, daha önce yapılan çalışmalarda flare klonlar için dörtten daha az sayıda gözlenen sadece flare fenotipteki trikomların oluşturduğu

klonların varyasyon nedeniyle olduğu, bu yüzden flare fenotipteki klonlar için dörtten daha fazla sayıdaki hücrelerin sayıma dahil edilmesi tavsiye edilmektedir (Szabad vd 1983) Bu çalışmada da kayıtlar bu tavsiye dikkate alınarak tutuldu.



Şekil 2.5: Kanat trikomlarının görünümü a) normal b) farklılaşmış fakat ne flare ne de mwh olarak sınıflandırılmayacak trikomlar c) mwh trikomlar d) flare genotipe ait trikomlar

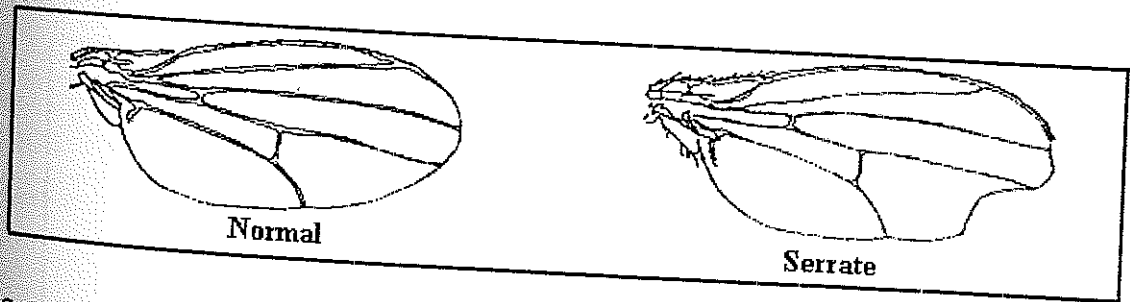


Şekil 2.6: $Flr^3 / TM3, Bd^S$ bireylerindeki homozigot letal etkiler

Diğer bir belirleyici gen olan *mwh* (multiple wing hair, 3-0.3) geni, kanat kıllarının aynı hücreden üç veya daha fazla çıkması şeklinde kendini göstermektedir (Şekil 2.5).

Birbirine komşu iki mutant klonun sayımda iki ayrı klon olarak mı yoksa aynı klon içerisinde mi değerlendirileceği tartışma konusu olmuştur. Baker ve arkadaşlarının (1978) yaptıkları çalışmada böyle klonları görmediklerini kaydetmişlerdir. Ancak, Graf ve arkadaşlarının (1984) yaptıkları çalışmada bu tür klonlarla karşılaşmışlardır. Bu gibi klonları sınıflandırırken eğer iki klon arasında üç yada daha fazla sayıda yabancı tip trikoma sahip hücre sırası varsa iki farklı klon olarak değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada Graf ve arkadaşlarının (1984) uyguladığı değerlendirme şekli göz önüne alınarak klonların kayıtları tutulmuştur.

Dominant gen olan Bd^S (Beaded-Serrate, 3-91.9) homozigot halde letal etki göstermektedir (Şekil 2.6). Normal kanatlardaki kanatlar düzgün bir şekilde iken Bd^S genini taşıyan bireylerde kanat kenarları düzgün değildir (Şekil 2.7). Bd^S geni TM3 dengeleyici kromozomunun üzerinde yer aldığı için TM3 dengeleyici kromozoma sahip bireyler kanat fenotiplerinin incelenmesiyle diğer (dengeleyici kromozom taşımayan) bireylerden kolaylıkla ayrılabilir.

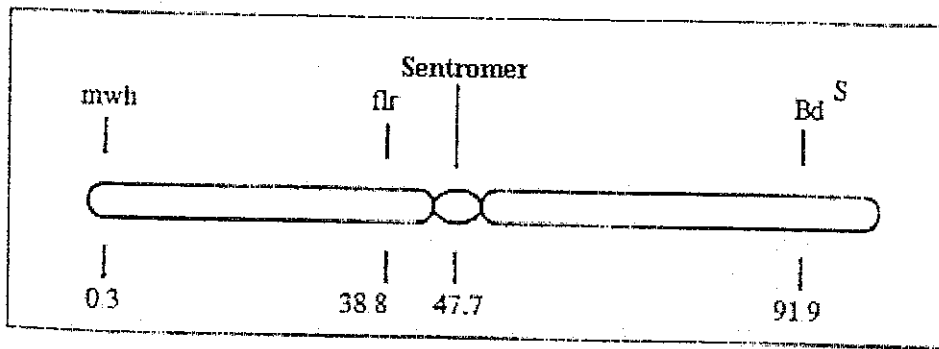


Şekil 2.7: Dengeleyici kromozomu taşımayan normal ve dengeleyici kromozomu taşıyan Bd^S bireylerinin kanat fenotipleri

Dengeleyici kromozom bazen tam bir kromozom olabildiği gibi bazen de bir kromozomun parçası olarak bulunabilmektedir (Lindsley ve Zimm 1992). Dengeleyici kromozom, letal etkisinden kurtulmak istenen genin bulunduğu homolog kromozomlardan birinde bulunmaktadır. Dengeleyici kromozomlar sayesinde

homozigot durumda embriyonik evrede letal etki gösteren genlerin bu öldürücü etkisinden o hattı korumak mümkün olabilmekte. Diğer taraftan bu kromozomların rekombinasyonu baskılaması nedeniyle mutasyon veya rekombinasyon ile oluşan fenotipik değişimlerin hangi oranda mutasyon ve hangi oranda rekombinasyonun etkisiyle olduğu belirlenebilmektedir. Bu kromozomların rekombinasyonu baskılama özelliklerinden yararlanılırken amaca uygun dengeleyici kromozomun seçilmesi sonuçlar bakımından önemlidir. Sayıları yirminin üzerinde dengeleyici kromozom bulunmaktadır. Ancak bunların bazıları belli bir kromozom üzerindeki rekombinasyonları baskımlarken bazıları da bütün kromozomlardaki rekombinasyonları baskımlamaktadır (Lindsley ve Zimm 1992). Bu özellikleri nedeniyle dengeleyici kromozom seçiminde ayrı bir dikkat gerekmektedir. Bu çalışmada kullanılan genetik hatların taşıdığı dengeleyici kromozom (TM3) çalışılan kromozom olan üçüncü kromozom üzerindeki rekombinasyonları baskılaması açısından önemlidir.

Çalışmada belirleyici olarak kullanılan flr, mwh ve Bd^S genleri *Drosophila*'nın en büyük kromozomu olan üçüncü kromozom üzerinde bulunmaktadır (Şekil 2.8). Üçüncü kromozomun en büyük kromozom olması ve belirleyici genler arasındaki mesafenin de oldukça uzak olması gerek rekombinasyonun ve gerekse mutasyonların büyük bir aralıkta incelenmesi açısından bir avantaj oluşturmaktadır.



Şekil 2.8: *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde kullanılan belirleyici genlerin üçüncü kromozom üzerindeki yerleşimleri

Bu çalışmada iki farklı çaprazlama ile elde edilen transheterozigot larvalar kullanılarak değerlendirme yapıldı. Bu çaprazlamalar aşağıdaki gibidir.

1-) Normal metabolik aktiviteye sahip bireylerle yapılan çaprazlama (Standart çaprazlama)

♀ flr³ / TM3, Bd^S X ♂ mwh / mwh

2-) Yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerle yapılan çaprazlama

♀ NORR / NORR; flr³ / TM3, Bd^S X ♂ NORR / NORR; mwh / mwh

Yapılan çaprazlamalarda flr³ / TM3, Bd^S hattının yüksek yumurta verimi dolayısıyla dişi bireyler olarak tercih edildi. Daha önce yapılan çaprazlamalarda bu iki hattın erkek veya dişi olarak seçilmesinin sonucu etkileyip etkilemediği de çalışılmış ancak her iki çaprazlamada da hemen hemen aynı sonuçlar elde edilmiştir (Torres vd 1992, 1998)

Yüksek metabolik aktiviteye sahip olan hatlar sitokrom P 450 seviyesinin bu bireylerde yüksek olmasıyla karakterize olmuşlardır (Hallström vd 1984, Hallström 1985, Hallström ve Blanck 1985). Yüksek metabolik aktiviteye sahip olan hatlar değişik araştırmacılar tarafından değişik çalışmalarda kullanılmış (Frölich 1989, Frölich vd Würzler 1989, 1990 ve 1991) ancak ilk oluşturulmuş olan yüksek metabolik aktiviteli hatlarda mutant klonların belirlenmesinde bazı sorunlarla karşılaşmıştır. Bu sorunları ortadan kaldırmak amacıyla Graf ve Schaik (1992) tarafından oluşturulan yüksek metabolik aktiviteye sahip yeni bireylerde, hem metabolik aktiviteleri bakımında daha önce oluşturulmuş bireylerden daha yüksek hem de daha önceki bireylerde klonların gözlenememe sorunu ortadan kaldırılmıştır. Bu çalışmada, Ülkemizde en yaygın olarak kullanılan sekiz herbisit mutajenik ve rekombinojenik etkilerinin değerlendirilmesinde Graf ve Schaik (1992) tarafından oluşturulan yeni yüksek metabolik aktiviteye sahip bireyler kullanıldı.

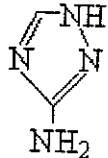
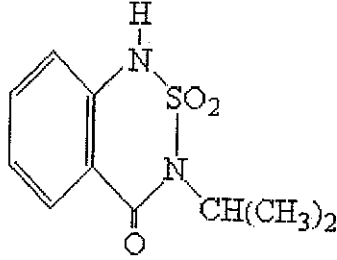

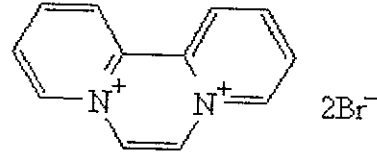
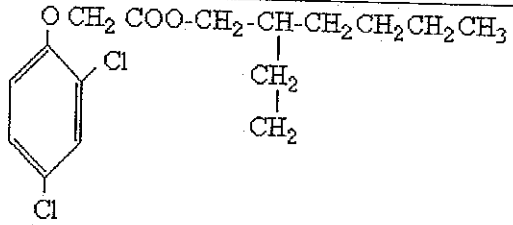
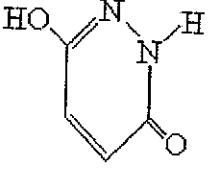
2.3. Deney Grupları

Bu çalışmada herbisitler iki grup halinde denendi Birinci grupta Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak kullanılan triazinlerden Amitrol, Metribuzin, Prometrin ve Terbutrin ve bir bipridil bileşik olan Dikuat dibromid sadece normal metabolik aktiviteye sahip fir³/TM3, Bd^s ve mwh/mwh hatları kullanılarak mutajenik ve rekombinojenik etkileri test edildi. Bu herbisitlerden sadece Amitrol Sigma şirketinden satın alındı Diğer dört herbisit (Metribuzin, Prometrin, Terbutrin, Dikuat dibromid) ise Dr. Ehrenstorfer'in laboratuvarından (Ausborg, Almanya) temin edildi

İkinci grupta ise ülkemizde en çok kullanılan 8 herbisit(Bentazon, Bentiyokarb, Glifosat, 2,4,5-T izooktilester, Maleik hidrazit, Molinat Propanil ve Trifluralin,) hem normal metabolik aktiviteye hem de yüksek metabolik aktiviteye sahip genetik hatlar kullanılarak denendi Bu herbisitlerden molinat AGROSAN Sanayii ve Ticaret A.Ş. (Lüleburgaz)' den ve diğer 7 herbisit ise KORUMA TARIM Sanayii ve Ticaret A.Ş. (İstanbul)' den hibe yoluyla alındı. Her iki deney grubunda da negatif kontrol olarak herbisit çözündüğü solusyon (aseton, metanol ve distile su) pozitif kontrol olarak ise EMS (etil metansülfonat) kullanıldı EMS, aseton ve metanol Sigma kimyasal şirketinden (St, Louis, MO ABD) temin edildi

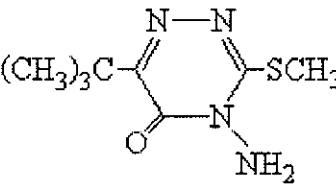

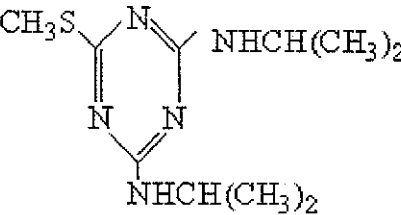
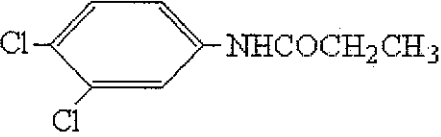
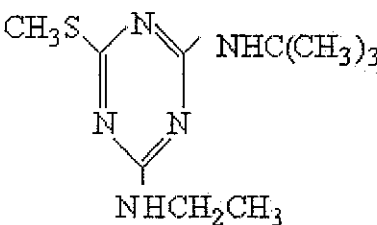
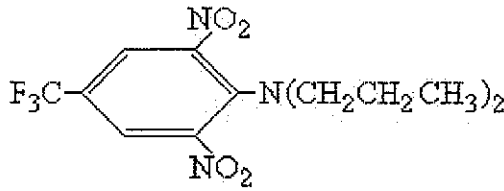
Çalışmada kullanılan bütün herbisitlerin CAS (Chemical Abstract Service) numaraları, kimyasal yapıları, dahil oldukları gruplar, ismi ve saflık dereceleri Çizelge 2.1 'de ayrıntılı olarak gösterilmektedir

Çizelge 2.1 Çalışmada kullanılan Herbisitler

Kimyasal adı (Grubu), CAS no Saflık Derecesi	Kimyasal Yapısı
AMİTROL (Triazinler) 3-amino-1,2,4-triazole 61-82-5 % 95	
BENTAZON (Diazinler) 3-(1-methylethyl)1H-2,1,3-benzothiadiazine- 4(3H)-one-2,2-dioxide 25057-89-0 % 95	
BENTİOKARB (Karbamatlar) S-p-chlorobenzyldiethylthiocarbamate 28249-77-6 % 98	$(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2\text{NHCOSCH}_2$ 
DİKUAT (Bipridil bileşikleri) 1,1'-ethylene-2,2'-bipridillium dibromide monohydrate 63-85-2 % 95	
GLİFOSAT (Aminofosfatlar) N-(phosphonomethyl)glycine 38541-94-0 % 96	$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{NHCH}_2\text{P}(\text{OH})_2$
2,4,5-T İZOOKTİLESTER (Fenoksi bileşikler) 93-76-5 % 96	
MALEİK HİDRAZİT (İnhibitörler ve büyüme gerileticiler) 1,2-dihydro-3,6-pyridazinedione 123-33-1 % 98	

Devamı arka sayfadır

Çizelge 2.1'in devamı

<p>METRİBUZİN (Triazinler) 4-amino-6-terbutyl-4,5-dihydro-3-methylthio- 1,2,4,-triazin-5-one 21087-64-9 % 95</p>	
<p>MOLİNAT (Karbamatlar) S-ethyl-N,N-hexamethylenethiokarbamate 2212-67-1 % 96</p>	
<p>PROMETRİN (Triazinler) N,N',diisopropyl-6-(methylthio)-1,3,5-triazine- 2,4-diamine 7287-19-6 % 98.8</p>	
<p>PROPANİL (Amidler ve Anilidler) N-(3,4-dichlorophenyl) propan-amid 709-98-8 % 98</p>	
<p>TERBUTRİN (Triazinler) N-(1,1-dimethylethyl)-N'-ethyl-6-(methylthio)- 1,3,5-triazine-2,4-amine 886-50-0 % 99.5</p>	
<p>TRİFLURALİN (Anilinler) 2,6-dinitro-N,N-dipropyl-4-(trifluoromethyl) benzenamide 1582-09-8 %98</p>	

2.4. *Drosophila* Hatlarının Kültürü

Çalışmada kullanılan bütün hatlar Zürih Üniversitesi, Toksikoloji Enstitüsü (İsviçre)'nden ve Barselona Otonom Üniversitesi, Genetik ve Mikrobiyoloji Bölümü (İspanya)'nden getirildi. Hatlar bölümümüzde *Drosophila* kültürü için yaptırılmış olan iklim odasında 200 ml hacimdeki cam şişelerde standart *Drosophila* besini ile kültüre alındı. Standart besinin içeriği (1020 ml Distile su için) aşağıdaki gibidir;

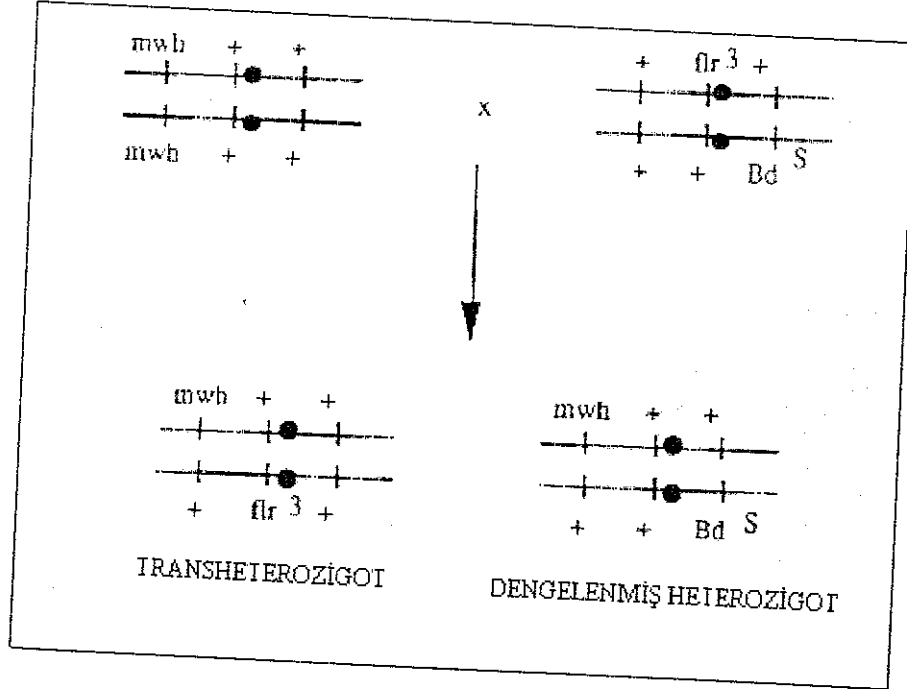
Mısır unu	104 g
Şeker	94 g
Maya	19 g
Agar	5-6 g
Asit karışımı	6 ml
Distile su	1020 ml

Besin ortamındaki asit karışımında Propionik asit (Merck), Ortofosforik asit (Carlo Erba) ve distile su bulunmaktadır. Bu asit karışımı besinin kontaminasyonunu engellemek amacıyla kullanılmaktadır. Aksi halde besin fungus ile kontamine olduğunda yumurta verimi ve bireylerin gelişimi olumsuz yönde etkilenmektedir.

Asit hariç diğer maddelerin karıştırılmasıyla oluşan solusyonun ateş üzerinde karıştırılarak kaynaması sağlandı. Karışım kaynamaya başladıktan sonra kısık ateş üzerinde 1-2 dakika daha kaynatıldı ve ateşten indirilerek asit karışımı eklenerek asitin eşit olarak dağılması için iyice karıştırıldı. Hazırlanan bu standart *Drosophila* besini şişelere yaklaşık olarak 1-1.5 cm kalınlığında döküldü ve şişelerin ağızları kurutma kağıtlarıyla kapatılarak kurumaya bırakıldı. Hazırlanmış olan besinler yeterince kuruduktan sonra (yaklaşık 1-2 gün) yeterli sayıda döllenenmiş dişi toplayabilmek için kültür zenginleştirildi. Kültür iklimlendirilmiş kültür ortamında 25 ± 0.5 ° C de % 60 bağıl nem ortamında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olan ortamda yetiştirildi.

2.5. Çaprazlama İçin Birey Seçimi

Uygulamaların yapılacağı transheterozigot larvaların elde edilebilmesi için flare dişiler döllenmeden önce toplandı. Döllenmemiş dişilerin toplanabilmesi için 4'er saat aralıklarla yeni çıkan dişi bireyler toplanarak yeni bir besin ortamına alındı. Yeterince birey toplandıktan sonra uygulamaların yapılacağı transheterozigot larvaların elde edilebilmesi için her şişede 40 ♂ ve 40 ♀ birey olacak şekilde çaprazlama yapıldı. Bireylerin yaşı üreme verimi üzerinde oldukça etkili olduğundan, üreme verimliliği için en ideal yaş olan 3-7 günlük bireyler tercih edildi. Döllenme ve embriyogenezin gerçekleşmesi için erkek ve dişi bireyler en az bir gün süre ile aynı ortamda bırakıldılar. Uygulama yapılacak olan larvaların aynı evrede olabilmesi için döllenme ve embriyogenezi gerçekleştirmiş olan bireylerin 8 saat boyunca yeni bir besin ortamına alınarak bu süre boyunca yumurta bırakmaları sağlandı. Aynı bireyler yumurta toplama işlemi için defalarca kullanıldı. Transheterozigot larvaların elde edilebilmesi için yapılan çaprazlama şekil 2.8'de gösterilmektedir (Graf vd 1984, 1989, Schaik ve Graf 1991)



Şekil 2.9: Dengelenmiş heterozigot *mwh/Bd^S* ve transheterozigot *mwh/flr3* bireylerin elde edilebilmesi için *mwh/mwh* ve *flr³/TM3, Bd^S* bireyleri arasındaki çaprazlamalar

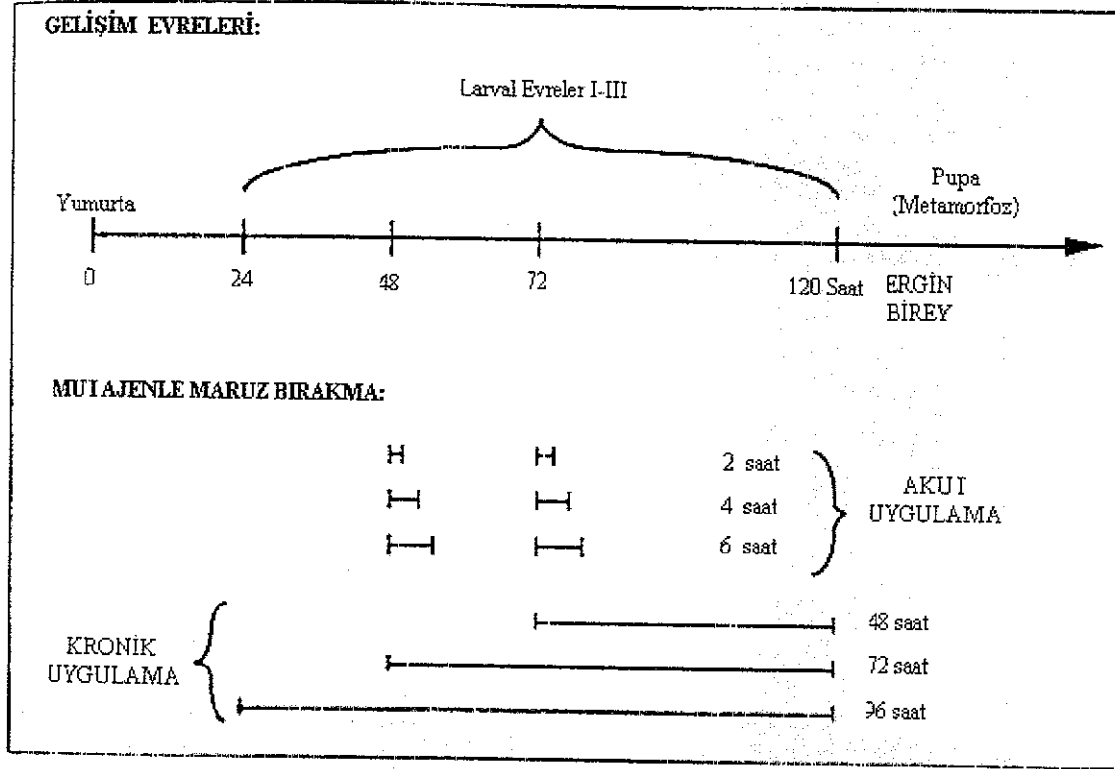
2.6. Herbisitlerin Uygulanması

Çalışmanın birinci bölümünde genotoksikolojik etkileri test edilen 5 herbisit her birinin dört derişimi çalışıldı. Bu derişimler ilk başta genotoksikolojik etkileri geniş bir spektrumda incelemek için daha önceki çalışmalarda kullanıldığı gibi 1, 2, 5, 10 mM derişimleridir (Torres vd 1992). Ancak amitrol'ün *Drosophila* larvalarına çok toksik olması nedeniyle sadece 1 mM derişimdeki larvalar yaşayabilmiştir. Bu nedenle de amitrol'ün 1, 0.5, 0.1 ve 0.05 mM derişimleri çalışılmıştır. Çalışmanın ikinci kısmında ülkemizde en yaygın kullanılan 8 herbisit genotoksikolojik etkileri test edilirken ise 6 derişim çalışıldı. Bu derişimler 0.1, 0.5, 1, 2, 5 ve 10 mM derişimleridir ancak bentazon ve izooktil ester herbisitlerinin 10 mM'lık derişimleri yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerde toksik etki gösterdiği için bu bireyler için derişimler; 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 ve 5 mM olarak belirlenmiştir.

Sekiz saat süresince bırakılmış olan döllenmiş yumurtalardan çıkan bireyler üçüncü larva evresine eriştiğinde (72 saat sonra) musluk suyu altında besinler yıkandıktan sonra ince gözenekli elekten geçirilerek ayrıldı. Uygulamanın üçüncü larva evresinde yapılmasının nedeni; daha önce Graf (1995) tarafından yapılan çalışmada *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için uygulama yapılacak en ideal zaman olarak tespit edilmiş olması nedeniyle dir. 72 ± 4 saatlik larvaların uygulama ortamı olarak kullanılan cam tüpler içerisine yaklaşık 4.5 g kadar hazır *Drosophila* besini (*Drosophila* Instant Medium) (Formül 4-24, Carolina Biological Supply Co., Burlington, NC, ABD) konuldu ve besinler uygulamadan hemen önce hazırlanmış kimyasalların 9 ml'si ile nemlendirildi. Musluk suyu altında ince gözenekli elek yardımıyla toplanmış larvalardan her bir cam tüp içerisine 1-2 spatül dolusu (yaklaşık 100 larva) konuldu. Larvaların uygulama ortamına konulmasından sonra tüplerin ağızları sünger tıkaçlarla kapatıldı. Uygulanmış olan herbisit ve bu herbisit derişimlerine göre tüpler gruplar halinde bir arada toplanarak 25 ± 0.5 °C'deki inkübatöre (Sanyo) konuldu. Uygulama ortamına konulan larvalar, 48 saat süresince ortama konulan herbisitler ile nemlendirilmiş hazır besinle beslenerek kimyasala maruz kalmaları sağlandı. Bu test için uygulama zamanı ve süresi açısından farklı uygulama

şekilleri vardır (Şekil 2 10). Ancak daha önce de belirtildiği gibi uygulama için en ideal evre olan üçüncü larva evresindeki (72 saat) larvalar kronik uygulamaya bırakıldı

Çalışılan her bir derişim için hem flr^3/mwh ve hem de $flr^3/TM3$ bireylerden 80 kanat (40 birey) tesadüfi olarak seçilerek kanat preparatları hazırlandı Her bir derişim için 80 kanadın istatistiki değerlendirmeler için yeterli olduğu Frei ve Würgler (1995) tarafından belirlenmiştir



Şekil 2 10: Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için farklı uygulama şekilleri

Kanatları oluşturacak imajinal disk hücreleri birinci dönem larvalarda yaklaşık olarak 50-100 kadardır. Larvaların gelişmesiyle birlikte üçüncü larva evresinde (72 saat larva) bu sayı yaklaşık olarak 24.400'e ulaşmaktadır (Graf 1995). Uygulama yapılan her bir larvada bulunan yaklaşık 24.400 hedef hücre, larvaların gelişimiyle birlikte daha da çoğalmaktadır. Bu hedef hücrelerden birinde oluşacak olan mutasyon bu hücrenin bölünmesiyle birlikte mutant klon olarak gözlenmektedir

2.7. Ergin Bireylerin Toplanması ve Kanat Preparatlarının Hazırlanması

Uygulama ortamında herbisite maruz bırakılan larvaların pupa evresini takiben çıkan ergin bireyler günlük olarak, eterle bayılarak toplandı ve kanat preparatlarını hazırlamak için yeterli birey elde edilene kadar toplanan bireyler % 70'lik etil alkole alınarak +4 derecedeki buzdolabında tutuldu.

Kanat preparatlarının hazırlanmasından önce alkol içerisinde +4 derecede tutulan bireyler saat camına alındı. Saat camındaki bireyler kanat morfolojilerine göre normal kanatlı (transheterozigot mwh/flr^3) ve serrat kenarlı (Dengelenmiş heterozigot $mwh/TM3, Bd^S$) olarak iki gruba ayrıldı. Bu kanatlardan normal fenotipe sahip (mwh/flr^3) kanatlar hem mutasyon hem de rekombinasyon sonucu oluşan mutant klonları içermesine karşın düzgün olmayan kenarlı ($mwh/TM3, Bd^S$) kanatlar dengeleyici kromozomun rekombinasyonu baskılaması nedeniyle sadece mutasyon sonucu oluşan klonları içermektedir (Zordan vd 1994, Kaya vd 1999). Bu nedenle her iki fenotipteki kanatların da preparatları ayrı ayrı hazırlanarak değerlendirildi.

Kanat preparatlarını hazırlamak için Negishi ve arkadaşları (1988) ve van Schaik ve Graf (1991)'in çalışmalarında belirttiği gibi "Faure solusyonu" hazırlandı. Bu solusyonun içeriği aşağıdaki gibidir

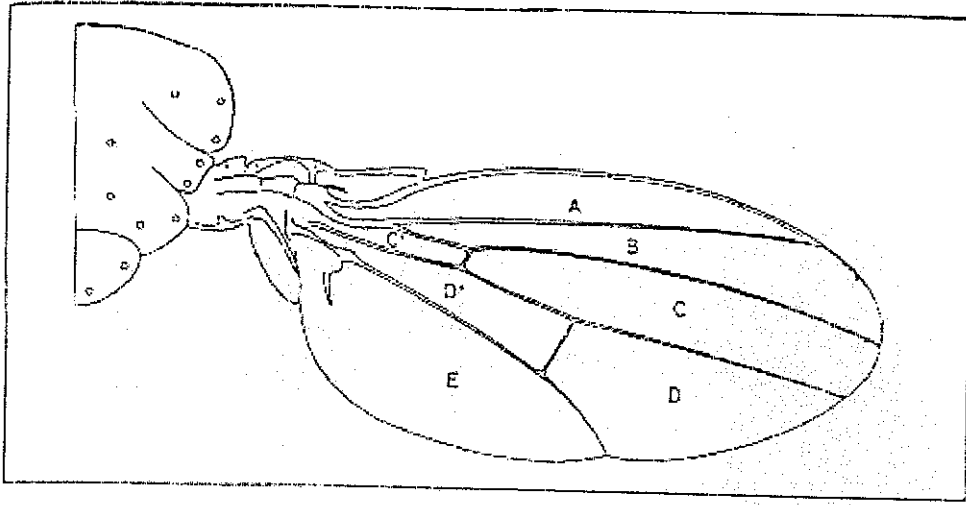
Gum Arabic	30 g
Gliserol	20 ml
Kloral hidrat	50 g
Distile Su	50 ml

Kanat preparatları hazırlanırken çukur lam üzerine hazırlanmış olan faure solusyonundan 1-2 damla konuldu. % 70 etanol içerisinde + 4 derecede bekletilen bireyler, daha önce de belirtildiği gibi kanat morfolojilerine göre dengeleyici kromozom içerip içermemesine göre ayrılarak distile su içerisine alındılar. Distile su içerisindeki bireyler birer birer çukur lam üzerine damlatılmış faure solusyonu içerisine alınarak sterio mikroskop altında ince uçlu pens ve iğne yardımıyla kanatlar vücuttan dikkatlice

ayrıldı. Kanatların vücuttan ayrılması işleminde, kanatların vücuda bağlandığı yerden tutularak kanada ve üzerindeki kıllara zarar vermeden ayrılmasına dikkat edildi. Her bireyin kanatları ayrıldıktan sonra aynı bireye ait kanatlar çift olarak yine kıllara zarar vermeden düzgün bir şekilde lam üzerine yerleştirildi. Lam üzerine uygun aralıklarla yeterince kanat çifti yerleştirildikten sonra bu preparatların kuruması için bir gün süre ile petri kabı içerisinde tozsuz bir ortamda bekletildi. Preparatlar kuruduktan sonra üzerine 1-2 damla faure solusyonundan damlatıldı ve üzeri lamel (24X60 mm) ile hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatıldı. Bu arada lam ve lamel arasından taşan fazla faure solusyonu kurutma kağıdı yardımıyla temizlendi. Kanatların düzgün bir şekilde olması için 30-40 g ağırlığındaki metal bloklar hazırlanan preparatlar üzerine konarak bu şekilde iki gün bekletildi. İki gün sonunda ağırlıklar alındıktan sonra yine taşmış olan fazla faure solusyonu distile su ve kurutma kağıdı yardımıyla temizlenerek preparatlar sayıma hazır hale getirildi.

2.8. Kanat Preparatlarının Mikroskoptaki Analizi

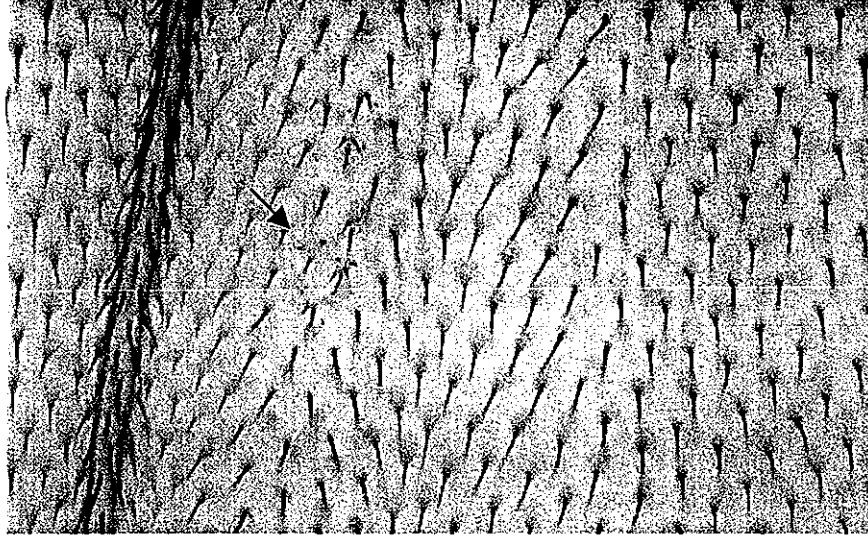
Hazırlanmış olan kanat preparatları 10X40 büyütmede ışık mikroskobunda incelendi. Kanatların iki yüzündeki (dorsal ve ventral) hücre tabakaları da mikrovida yardımıyla mutant klonların olup olmadığı incelendi. Kanat üzerindeki sektörler incelemede kolaylık sağlaması açısından A, B, C, C¹, D, D¹ olarak bölümlere ayrıldı (Şekil 2.11) Kanatlar mikroskopta incelenirken her bir sektör ayrı ayrı taranarak mwh ve /veya flr mutant fenotipler sayılarak kayıtları tutuldu.



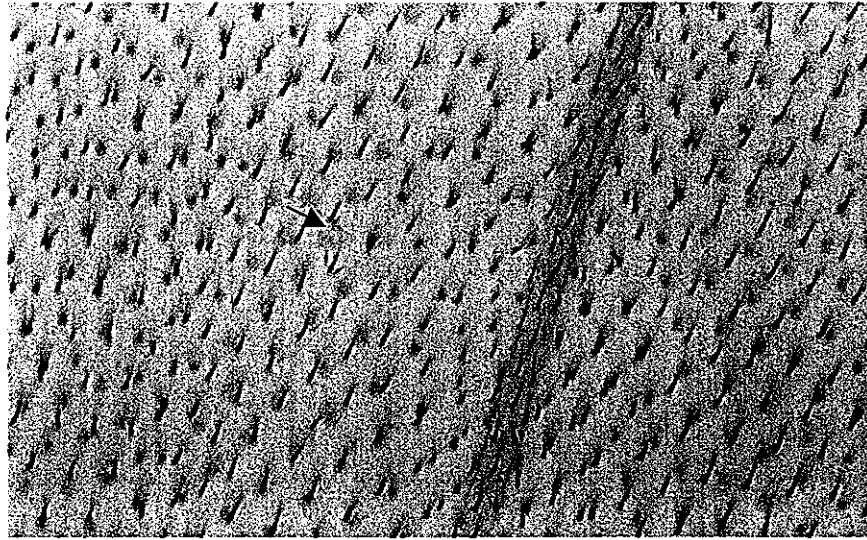
Şekil 2.11: Kanat Sektörlerinin Şematik Görünümü

Sayımda kayıtları tutulan mutant klonlar, Küçük tek tip klon (1-2 mwh hücre) (Şekil 2.13), büyük tek tip klon (> 3 mwh veya flr hücre) (Şekil 2.12 ve Şekil 2.15) ve ikiz klon (aynı klonda hem mwh hem de flr hücreleri içeren klonlar) (Şekil 2.14) olmak üzere üç kategoride değerlendirildi. Bu sınıflandırmanın biyolojik açıdan anlamlı olduğu Graf ve arkadaşları (1984) tarafından gösterilmiştir. Sınıflandırmada küçük tek tip klonlar sadece mwh hücrelerden oluşmaktadır. Daha önce de açıklandığı gibi varyasyonla oluşan flare gibi görünen hücreleri mutantlardan ayırmak için 4'den daha az sayıda gözlenen flare hücreler sayıma dahil edilmedi (Graf vd 1984). Bu nedenle küçük tek tip klonlar sadece mwh hücrelerden oluşmaktadır.

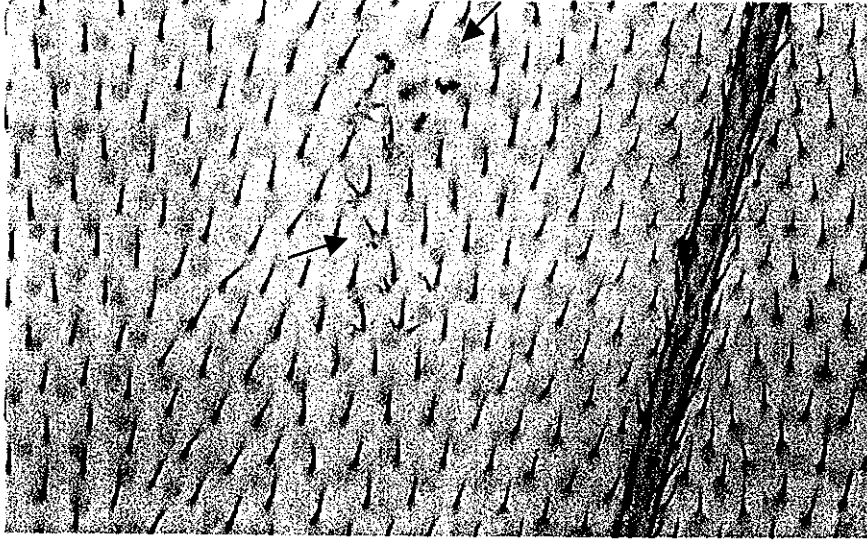
Büyük tek tip klonlar 3 veya daha fazla mwh ya da flare mutant hücrelerin oluşturduğu klonlardır (Şekil 2.12). Diğer bir kategori olan ikiz klonlar ise mwh ve flr hücreler aynı klon içerisinde dağılmış olarak bulunabildiği gibi yan yana iki ayrı klon olarak da bulunabilir, ancak aralarındaki yaban tip trikominin sırası üç'ü geçmiyorsa aynı klon içerisinde değerlendirildi. Mwh klonların oluşması nokta mutasyon, delesyon, ayrılmama ve rekombinasyon sonucu olmaktadır (Şekil 2.16). Buna karşın, gerek flare klonlar gerekse ikiz klonlar flare geni ile sentromer arasındaki gerçekleşen bir rekombinasyon sonucu ortaya çıkmaktadır (Şekil 2.16)



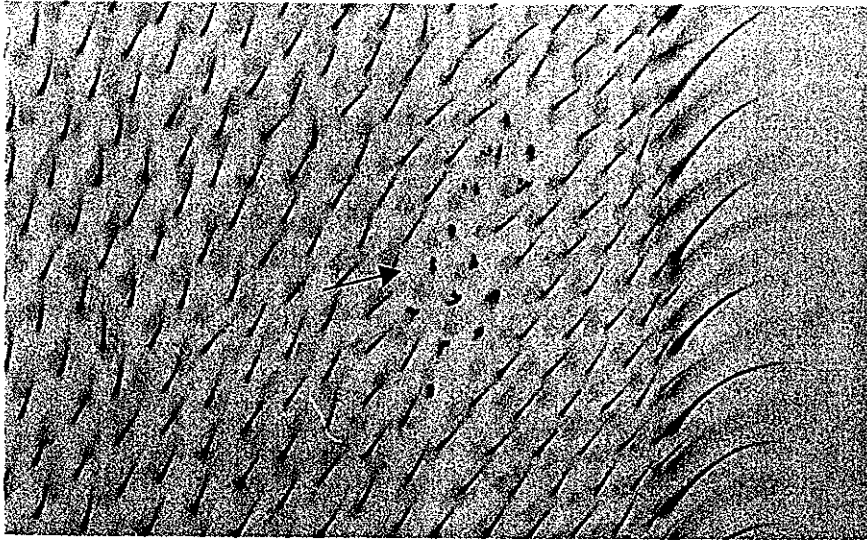
Şekil 2.12: Büyük tek tip mwh mutant klonların görünümü



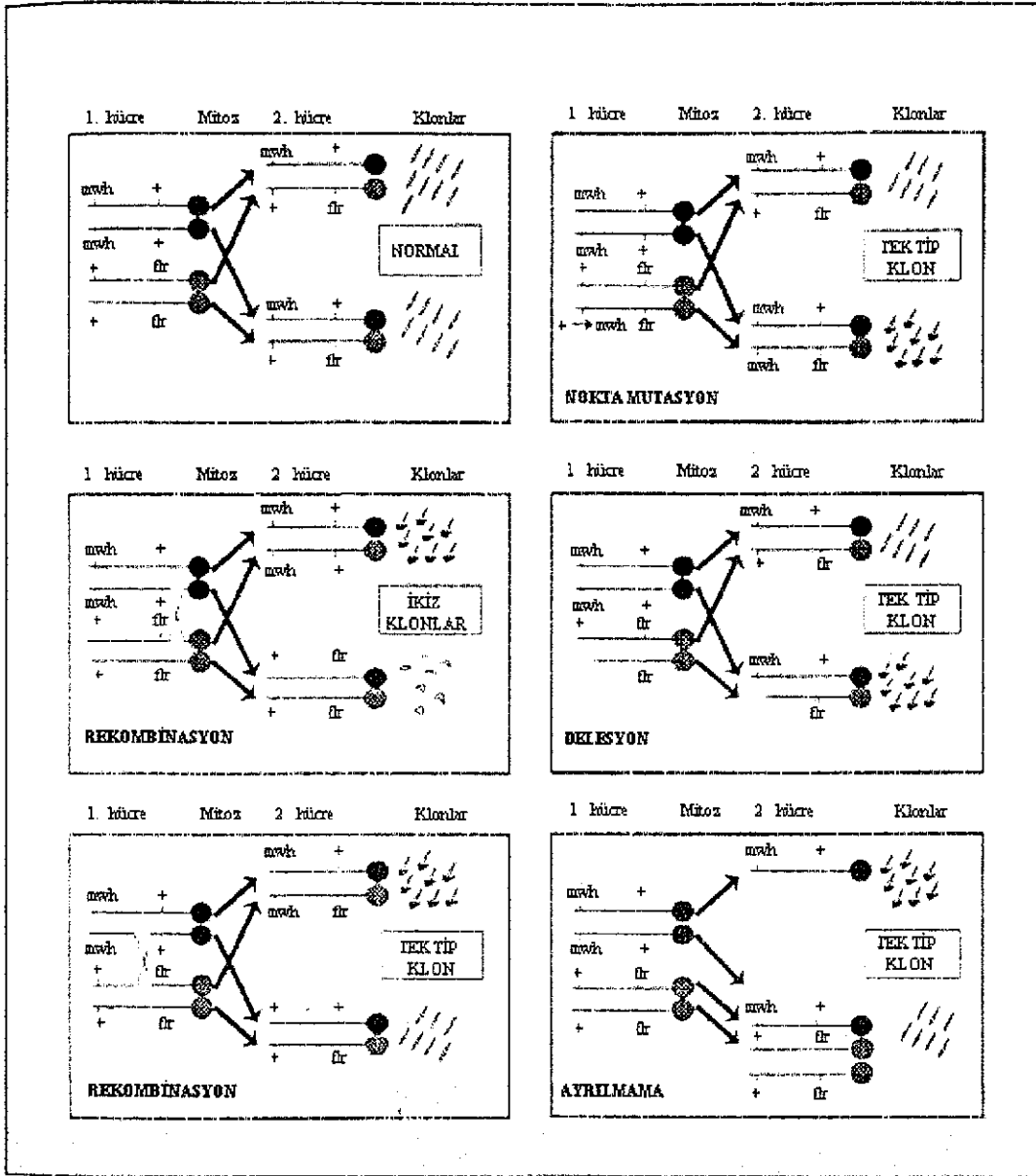
Şekil 2.13: Küçük tek tip mwh mutant klonların görünümü



Şekil 2.14: İkiz mutant klonların görünümü



Şekil 2.15: Büyük tek tip flr mutant klonların görünümü



Şekil 2.16: mwh/flr3 genotipindeki bireylerde görülebilecek genetik anomalilikler

2.9. Klonların İndüksiyon Frekansı ve Rekombinasyon Miktarının Hesaplanması

Kronik uygulamada her hücrede ve her hücre bölünmesindeki ortalama indüksiyon frekansı aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır (Szabad vd 1983).

$$f = \frac{n}{NC} \times 10^{-5}$$

Eğer sadece mwh klonlar gözönüne alınırsa, denklemdeki "f" mwh klonların indüksiyonunun ortalama frekansını, "n" gözlenmiş olan toplam mwh klon sayısını, "N" analiz edilmiş olan kanat sayısını ve "C" bir kanat üzerindeki incelenebilecek hücre sayısını göstermektedir. Bir kanat üzerinde incelenebilecek hücre sayısının önceki çalışmalarla 24.400 olduğu bilinmektedir (Garcia-Bellido ve Merriam 1971)

Yapılan çaprazlamalar sonucunda oluşan bireyler kanat bakımından normal ve serrat kenarlı olmak üzere iki farklı fenotipte gözlenmektedir. Serrat kenarlı kanatlara sahip bireylerde bulunan dengeleyici (balancer) kromozomun varlığı, bu kromozom parçası üzerine yerleştirilmiş dominant mutant bir gen olan Serrate (Ser) sayesinde tespit edilebilmektedir. Dengeleyici kromozomun (TM3) rekombinasyonu baskılaması nedeniyle bu fenotipe sahip bireylerde gözlenen mutant klonlar sadece mutasyon sonucu meydana gelmektedir. Böylece serrat kenarlı kanatlardan elde edilen verilerle normal kenarlı kanatlardan elde edilen verilerin karşılaştırılmasıyla çalışılan etmenin mutajenik ve/veya rekombinojenik etkileri ayrı ayrı tespit edilebilmektedir (Frei vd 1985, Pimentel vd 1991, Tripaty vd 1991, Zordan vd 1991, 1994, Vogel 1992, Chiesa ve Narvaez 1993, Katz ve Foley 1993, Rodriguez-Arnaiz vd 1993, Marec ve Gelbic 1994, Rozenkranz ve Klogman 1996, Perez-Frei ve Würzler 1996, Gonzales-Cezar ve Ramos-Morales 1997)

Normal ile serrat kanatlardan elde edilen verilerin karşılaştırılmasıyla gerçekleşen rekombinasyon yüzdesi şu şekilde hesaplanmaktadır

$$\% \text{ rekombinasyon} = \frac{a - b}{b} \times 100$$

formülde;

a: normal fenotipteki kanatlarda gözlenen mwh sektörlerinin frekansı

b: serrat fenotipteki kanatlarda gözlenen mwh sektörlerinin frekansı

2.10. Verilerin Değerlendirilmesi

Sayımlar sonucunda elde edilen veriler değerlendirilirken orijinal (null) hipotez (H_0)'de uygulamalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark olmadığı varsayıldı. Alternatif hipotez (H_A) de ise uygulama grubundaki indüklenen mutasyon oranının kontrol grubundan m defa daha fazla olduğu varsayıldı. Orijinal ve alternatif hipotezlerin Binomial Şartlı Test kullanılarak hesaplanmasıyla sonuçlar; pozitif (+), zayıf pozitif (z), önemsiz fark (i) ve negatif (-) olarak gösterildi. Değerlendirmenin nasıl yapıldığı Çizelge 7'de gösterilmiştir (Selby ve Olsen 1981, Frei ve Würger 1988)

HİPOTEZLER		H_A	
		KABUL ($1-\beta$)	RED (β)
H_0	KABUL ($1-\alpha$)	ÖNEMSİZ FARK $P=(1-\alpha)(1-\beta)=1-\alpha-\beta+\alpha\beta$	NEGATİF $P=(1-\alpha)\beta=\beta-\alpha\beta$
	RED (α)	POZİTİF $P=\alpha(1-\beta)=\alpha-\alpha\beta$	ZAYIF POZİTİF $P=\alpha\beta$

Çizelge 2 2: Orijinal ve alternatif hipotezlerin değerlendirilmesi

Orijinal ve alternatif hipotezlerin kabul veya red edilmesinde karar verilirken Kastenbaum ve Bowman (1970) çizelgesinden yararlanıldı. Hipotezlerin karşılaştırılması için yapılan hesaplamalarda kullanılan parametreler aşağıdaki gibidir.

N_c = Kontrol grubunda incelenen kanat sayısı

N_t = Uygulama grubunda incelenen kanat sayısı

n_c = Kontrol grubunda gözlenen mutant klon sayısı

n_t = Uygulama grubunda gözlenen mutant klon sayısı

$n = n_t + n_c$ = Toplam mutant klonların sayısı

P_o = Kontrol grubunda beklenen mutant klon frekansı, Orijinal hipotez (H_0) için

$P_o = N_c / (N_c + N_t)$

q_o = Uygulama grubunda beklenen mutant klon frekansı, Orijinal hipotez (H_0) için

$$q_o = Nt / (Nc + Nt)$$

P_A = Kontrol grubunda beklenen mutant klon frekansı, Alternatif hipotez (H_A) için

$$P_A = Nc / (Nc + mNt)$$

q_A = Uygulama grubunda beklenen mutant klon frekansı, Alternatif hipotez (H_A) için

$$q_A = mNc / (Nc + mNt)$$

$P_{o,n}$ = Kontrol grubunda beklenen mutant klon sayısı, Orijinal hipotez (H_o) için

$q_{o,n}$ = Uygulama grubunda beklenen mutant klon sayısı, Orijinal hipotez (H_o) için

$P_{A,n}$ = Kontrol grubunda beklenen mutant klon sayısı, Alternatif hipotez (H_A) için

$q_{A,n}$ = Uygulama grubunda beklenen mutant klon sayısı, Alternatif hipotez (H_A) için

m = Çarpım sabiti

Yukarıdaki parametreler *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için hazırlanmış bilgisayar programı (Microsta) yardımıyla hesaplandı. Hesaplama sonucunda eğer uygulama grubundaki (n_t) mutant sektör sayısı çizelge değerine eşit veya büyükse H_o red edildi.

$$P_o = \sum_{i=0}^{nt} \binom{n}{i} p_o^i q_o^{n-i} = \sum_{r=nt}^n \binom{n}{r} q_o^r p_o^{n-r} \leq \alpha$$

aynı şekilde, kontrol grubundaki (n_c) mutant sektör sayısı eğer çizelge değerine eşit veya büyükse H_A red edildi

$$P_A = \sum_{i=0}^{nt} \binom{n}{i} q_A^i p_A^{n-i} = \sum_{r=nct}^n \binom{n}{r} p_A^r q_A^{n-r} \leq \beta$$

Bu değerlendirmelerle sonuçlar; H_o ve H_A 'nın kabul veya red edilmesine göre Çizelge 2.2 kullanılarak pozitif (+), zayıf pozitif (z), önemsiz fark (i) veya negatif (-) olarak değerlendirildi

3. BULGULAR

Drosophila kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile genotoksikolojik özellikleri değerlendirilen herbisitlerden elde edilen bütün sonuçlar Çizelge 1-18 ve Şekil 3.1-3.42'de gösterilmiştir. Herbisitlerin genotoksikolojik özellikleri değerlendirilirken her bir derişim için, dengeleyici kromozom (TM3) taşıyan serrat kanatlı bireylerden ve dengeleyici kromozom taşımayan normal kanatlı bireylerden 80 kanadın preparatı hazırlanarak incelenmiştir. Bu çalışmada toplam 20.000 kanadın mikroskop altında incelenmesi yapılmıştır.

3.1. Birinci Grup Herbisitler

3.1.1. Amitrol

Triazinler grubundan olan amitrol, *Drosophila* larvalarına aşırı toksik etki göstermiştir. Bu nedenle, ön çalışmalarda denenen 2, 5 ve 10 mM'lık amitrol derişimleri larvaların yaşamasını engellediği için en yüksek derişim olarak 1 mM çalışıldı. Negatif kontrol olarak kullanılan distile suda kendiliğinden oluşan (spontan) mutasyon frekansı mwh/flr^3 genotipindeki bireyler için 0.18, $mwh/TM3$ genotipindeki bireyler için ise 0.12 olarak bulunmuştur. Bu oranlar daha önceki distile suyun negatif kontrol olarak kullanıldığı çalışmalarda da yaklaşık bir değerde bulunmuştur (Tripaty vd 1990, Torres vd 1998). Amitrol herbisitinin çalışılan dört derişiminin (0.05, 0.1, 0.5, 1 mM) artan dozuna bağlı olarak gerek mwh/flr^3 gerekse $mwh/TM3$ genotipindeki bireylerde gözlenen mutant klon sayısı da artmaktadır (Şekil 1 ve 2). Bu artışın sonucu olarak da çalışılan en yüksek iki derişim (0.5 ve 1 mM) hem mwh/flr^3 hem de $mwh/TM3$ genotipindeki bireylerde pozitif sonuçlar vermiştir (Çizelge 1 ve 2). Sonuçlara genel olarak bakıldığında mwh/flr^3 genotipindeki bireylerde ikiz klonlarda $mwh/TM3$ genotipindeki bireylerde de büyük tek tip klonlarda pozitif sonuçlar görülmemektedir. Klon indüklenme frekansına bakıldığında yine artan doza bağlı olarak bir artış görülmektedir. mwh/flr^3 ve $mwh/TM3$ genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlar mwh klonlar açısından karşılaştırıldığında her iki genotipte de pozitif sonuçlar görülmektedir. Bu nedenle artan doza bağlı olarak mutasyon oranıyla birlikte

rekombinasyon oranı da artmaktadır denilebilir. Oluşan mutant klon frekansındaki doza bağlı olarak artışta olduğu gibi mwh/flr^3 ve $mwh/TM3$ genotipindeki bireylerde klon indüklenme frekansında da doza bağlı olarak artış görülmektedir (Çizelge 1 ve 2).

3.1.2. Metribuzin

Triazinler grubundan olan metribuzinin çalışılan bütün derişimlerinden (1, 2, 5 ve 10 mM) elde edilen sonuçlar metribuzinin negatif kontrolü olan metanolden elde edilen sonuçlarla istatistiksel olarak karşılaştırıldığında fark önemsiz görülmektedir (Çizelge 1 ve 2). mwh/flr^3 genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlara 1, 2 ve 5 mM derişimlere toplam mutant klon frekansına bakıldığında sonuçlar birbirine yakın olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, 10 mM'lık derişimde küçük tek tip klon, mwh ve toplam klon frekansında biraz daha fazla oranda mutant klon gözlenmiş ancak bu artışın kontrolden farklı olmadığı bulunmuştur. Bu genotipte büyük tek tip klon frekansında ise bütün derişimler için birbirine çok yakın sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçların klon indüklenme frekansına da olduğu gibi yansıdığı Çizelge 1' de görülmektedir. Diğer taraftan dengeleyici kromozoma sahip $mwh/TM3$ genotipindeki bireylerde mutant klonların frekansı bütün derişimlerde, çalışılan bütün kategorilerde yaklaşık olarak aynı oranda bulunmuştur (Çizelge 2).

3.1.3. Prometrin

Prometrinin çalışılan bütün derişiminde, gerek mwh/flr^3 gerekse $mwh/TM3$ genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı çıkmamıştır (Çizelge 1 ve 2). mwh/flr^3 genotipindeki bireylerde çalışılan kategorilerden büyük tek tip klonlarda en düşük derişim olan 1 mM biraz daha yüksek oranda görülmektedir. Ancak bu sapmanın istatistiksel önemde olmadığı tespit edilmiştir. Diğer kategorilere bakıldığında ise gözlenen klon frekansı hemen hemen aynı oranda olduğu görülmektedir. Çalışılan diğer genotipte ($mwh/TM3$) ise küçük tek tip klon ve toplam klon frekanslarında 1, 2 ve 5 mM derişimlerde gözlenen mutasyon frekansı birbirine çok yakın iken 10 mM derişimde biraz daha yüksek oranda gözlenmiş ancak bu artışın kontrol grubundan farklı olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 1). Bu

genotipte çalışılan büyük tek tip klonların frekansları da 0.01 olarak birbirinin aynı olduğu görülmektedir.

3.1.4. Terbutrin

Triazinler grubundan olan terbutrin'in çalışılan bütün derişimlerinde gerek mwh/flr^3 gerekse $mwh/TM3$ genotipine sahip bireylerde pozitif sonuçlar bulunamamıştır (Çizelge 1 ve 2) mwh/flr^3 genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlarda küçük tek tip, ikiz, mwh ve toplam klonların frekansları bütün derişimler bakımından birbirine yakın olarak bulunmuştur. Büyük tektip klonların frekansında ise en yüksek derişim olan 10 mM'lık derişimde bir miktar daha fazla artış gözlenmiş ancak bu artışın istatistiki önemde olmadığı tespit edilmiştir. Çalışılan diğer genotipte ($mwh/TM3$) ise çalışılan bütün derişimlerden elde edilen sonuçlardaki klon frekanslarının birbirine yakın olduğu gözlenmiştir. Her iki genotipteki bireylerden de elde edilen klon frekanslarının birbirine yakın çıkmış olması klon indüklenme frekansına da yansımış ve yaklaşık olarak aynı oranda bulunmuştur.

3.1.5. Dikuat dibromid

Bipridil bileşiklerinden olan dikuat dibromid'in mutajenik ve rekombinojenik etkilerinin çalışıldığı 4 derişiminde de hem mwh/flr^3 hem de $mwh/TM3$ genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlarda kontrole göre istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır (Çizelge 1 ve 2) Dikuat dibromid'in transheterozigot larvalara uygulanmasından sonra elde edilen mwh/flr^3 genotipindeki bireylerin kanat preparatlarının incelenmesi sonucu, küçük tek tip, mwh ve toplam klonlarda 1, 2 ve 5 mM'lık derişimler için birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Ancak 10 mM derişimde bu 3 derişime göre mutant klonların frekansında biraz daha artış gözlenmiş fakat bu artışın istatistiksel önemde olmadığı hesaplanmıştır. Aynı genotipte büyük tek tip ve ikiz klonlar kategorisinde ise bütün derişimle için bir birine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Transheterozigot larvalardan oluşan $mwh/TM3$ genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlarda ise çalışılan bütün kategorilerde (Büyük tek tip, Küçük tek tip ve

mwh klonlar) etkileri denenen derişimlerden elde edilen sonuçlar birbirine yakın ve istatistiksel önemde olmadığı görülmektedir (Çizelge 2)

Deneilerde negatif kontrol olarak kullanılan aseton, metanol ve distile su'dan elde edilen sonuçların birbirine çok yakın olduğu bu yüzden de kullanılan çözücülerin mutasyon ve rekombinasyonu artırmadığı söylenebilir Diğer taraftan *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinin bu çalışmada sağlıklı çalışıp çalışmadığını göstermek için daha önceki çalışmalarımızdan mutajenik ve rekombinojenik etkilerini bildiğimiz pozitif kontrol olarak kullanılan EMS (Etilmetan sülfonat) uygulamalarının sonuçlarına genel olarak bakıldığında hem mwh/flr³ hem de mwh/TM3 genotipindeki bireylerde pozitif sonuçlar göstermektedir

Çizelge 3. 1: *Drosophila melanogaster*'in mwh/ft_1^3 Genotipinde, Herbisitlerin (Amitrol, Metribuzin, Prometrin, Terbutrin ve Dikuat dibromid) Somatik Mutasyon ve Rekombinasyona Etkileri

Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 cells) (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon indüksiyon Frekans (10 ⁵ hücre)
		No.	Fr. D.	No.	Fr. D.	No.	Fr. D.	No.	Fr. D.	No.	Fr. D.	
Dist. Su	80	13	0.16	0	0.00	0	0.00	13	0.16	13	0.16	0.67
% 5 Aseton	80	13	0.16	3	0.04	0	0.00	16	0.20	16	0.20	0.82
% 3 Metanol	80	15	0.19	0	0.00	1	0.01	15	0.19	16	0.20	0.77
Amitrol												
0.05	80	10	0.13	0	0.00	1	0.01	10	0.13	11	0.14	0.51
0.1	80	20	0.25	3	0.04	0	0.00	23	0.29	23	0.29	1.18
0.5	80	80	1.00	6	0.08	1	0.01	86	1.08	87	1.09	4.41
1	80	169	2.11	8	0.10	1	0.01	177	2.21	178	2.23	9.07
Metribuzin												
1	80	13	0.16	3	0.04	0	0.00	16	0.20	16	0.20	0.82
2	80	14	0.18	3	0.04	1	0.01	17	0.21	18	0.23	0.87
5	80	14	0.18	0	0.00	1	0.01	14	0.18	15	0.19	0.72
10	80	27	0.34	1	0.01	0	0.00	28	0.35	28	0.35	1.43

Devamı arka sayfadır

Çizelge I'in devamı

Prometrin																	
1	80	14	0.18	+	8	0.10	-	2	0.03	-	22	0.28	-	24	0.30	-	1.13
2	80	19	0.24	+	3	0.04	-	1	0.01	-	22	0.28	-	23	0.29	-	1.13
5	80	18	0.23	+	5	0.06	-	2	0.03	-	23	0.29	-	25	0.31	-	1.18
10	80	19	0.24	+	2	0.03	-	1	0.01	-	21	0.26	-	23	0.29	-	1.08
Terbutrin																	
1	80	18	0.23	+	4	0.05	-	2	0.03	-	21	0.26	-	24	0.30	-	1.76
2	80	22	0.28	+	3	0.04	-	1	0.01	-	25	0.31	-	26	0.33	-	1.28
5	80	25	0.31	+	1	0.01	-	2	0.03	-	26	0.33	-	28	0.35	-	1.33
10	80	20	0.25	+	7	0.09	-	0	0.00	-	27	0.34	-	27	0.34	-	1.38
Dikuat dibromid																	
1	80	16	0.20	+	1	0.01	-	0	0.00	-	17	0.21	-	17	0.21	-	0.87
2	80	15	0.19	+	0	0.00	-	0	0.00	-	15	0.19	-	15	0.19	-	0.77
5	80	16	0.20	+	1	0.01	-	1	0.01	-	17	0.21	-	18	0.23	-	0.87
10	80	21	0.26	+	2	0.03	-	2	0.03	-	23	0.29	-	25	0.31	-	1.18
EMS																	
1	80	28	0.35	+	15	0.19	+	6	0.08	+	43	0.54	+	49	0.61	+	2.20

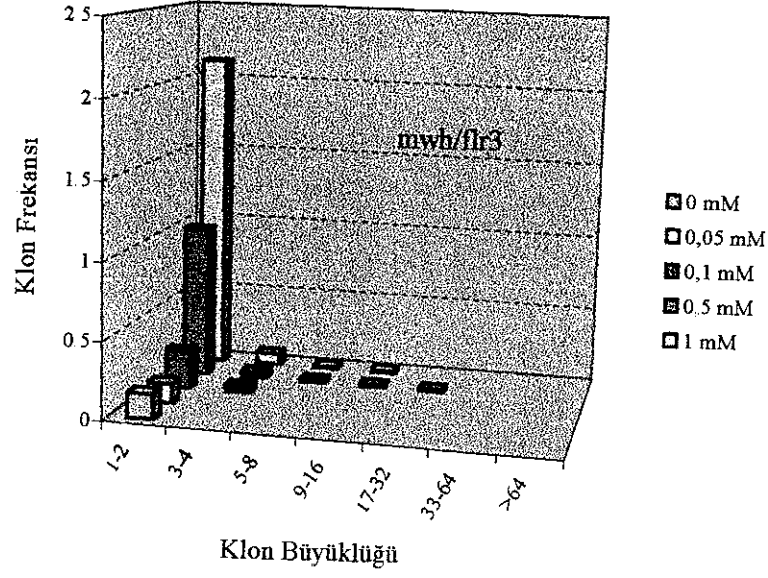
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının göstergisi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; $m = \text{çarpım faktörü}$; olasılık düzeyi = 0.05.

Çizelge 3.2: *Drosophila melanogaster*'in *mwh/TM3* Genotipinde, Herbisitlerin (Amitrol, Metribuzin, Prometrin, Terbutrin ve dikuat dibromid) Somatik Mutasyon ve Rekombinasyona Etkileri

Değişimler (mM)	Kanat sayısı	Küçük tek tip klonlar (1-2 cells) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)			Toplam klonlar (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (10 ⁵ hücre)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
		% 3 Metanol	80	9	0.11		0	0.00		9	
Distile Su	80	8	0.10		0	0.00		8	0.10		0.41
% 5 Aseton	80	13	0.16		0	0.00		13	0.16		0.67
Terbutrin											
1	80	17	0.21	i	0	0.00	i	17	0.21	i	0.87
2	80	16	0.20	i	4	0.05	i	20	0.25	i	1.02
5	80	19	0.24	i	1	0.01	i	20	0.25	i	1.02
10	80	17	0.21	i	0	0.00	i	17	0.21	i	0.87
Prometrin											
1	80	11	0.14	-	1	0.01	i	12	0.15	-	0.61
2	80	13	0.16	i	1	0.01	i	14	0.18	i	0.72
5	80	13	0.16	i	1	0.01	i	14	0.18	i	0.72
10	80	17	0.21	i	1	0.01	i	18	0.23	i	0.92
Metribuzin											
1	80	14	0.18	i	0	0.00	i	14	0.18	i	0.72
2	80	15	0.19	i	2	0.03	i	17	0.21	i	0.87
5	80	13	0.16	i	0	0.00	i	13	0.13	i	0.67
10	80	15	0.19	i	0	0.00	i	15	0.19	i	0.77
Dikuat dibromid											
1	80	10	0.13	i	1	0.01	i	11	0.14	i	0.56
2	80	11	0.14	i	0	0.00	i	11	0.14	i	0.56
5	80	11	0.14	i	0	0.00	i	11	0.14	i	0.56
10	80	12	0.15	i	0	0.00	i	12	0.15	i	0.61
Amitrole											
0.05	80	10	0.13	i	0	0.00	i	10	0.13	i	0.51
0.1	80	15	0.19	i	2	0.03	i	17	0.21	i	0.87
0.5	80	41	0.51	+	0	0.00	i	41	0.51	+	2.10
1	80	75	0.94	+	4	0.05	i	79	0.99	+	4.05
EMS											
1	80	31	0.39	+	2	0.03	i	33	0.41	+	1.69

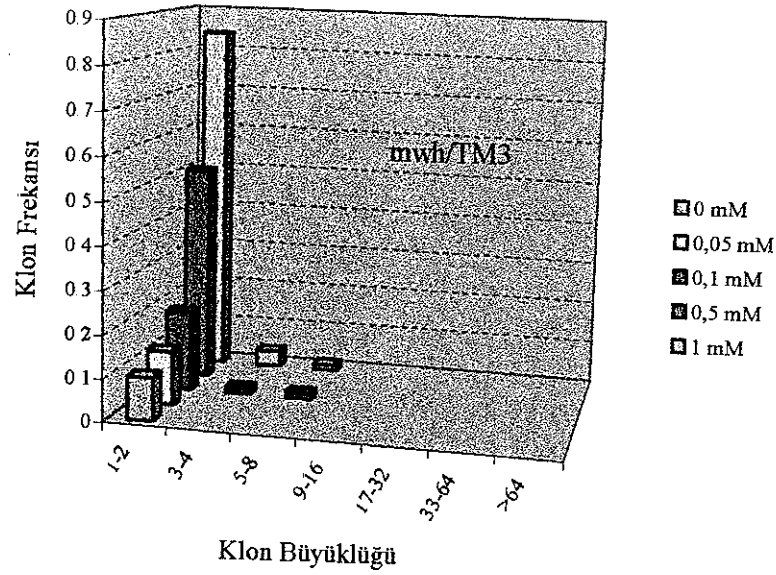
Fr, frekans; D, istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark;
m=çarpım faktörü, olasılık düzeyi= 0.05

AMİTROL

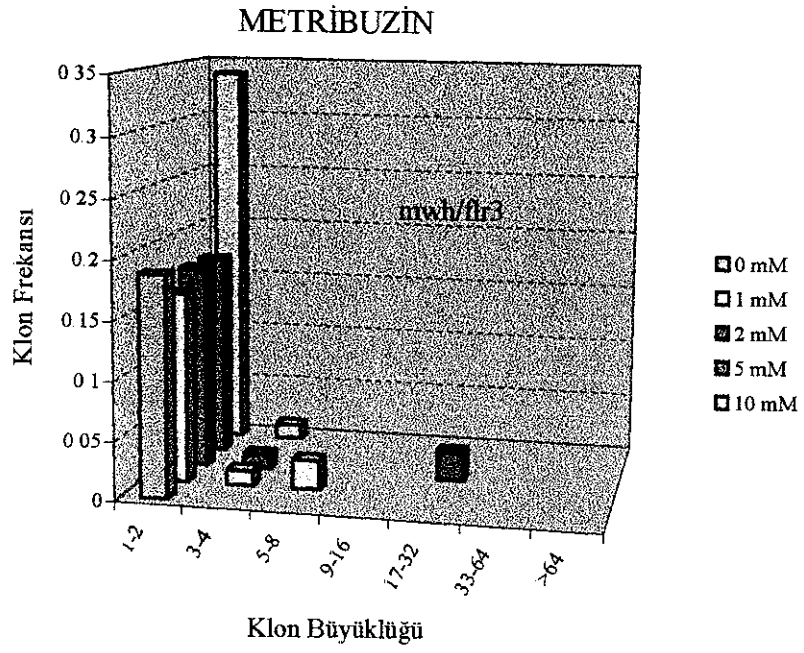


Şekil 3.1: Amitrol'ün (normal kanat) klon frekans dağılımı

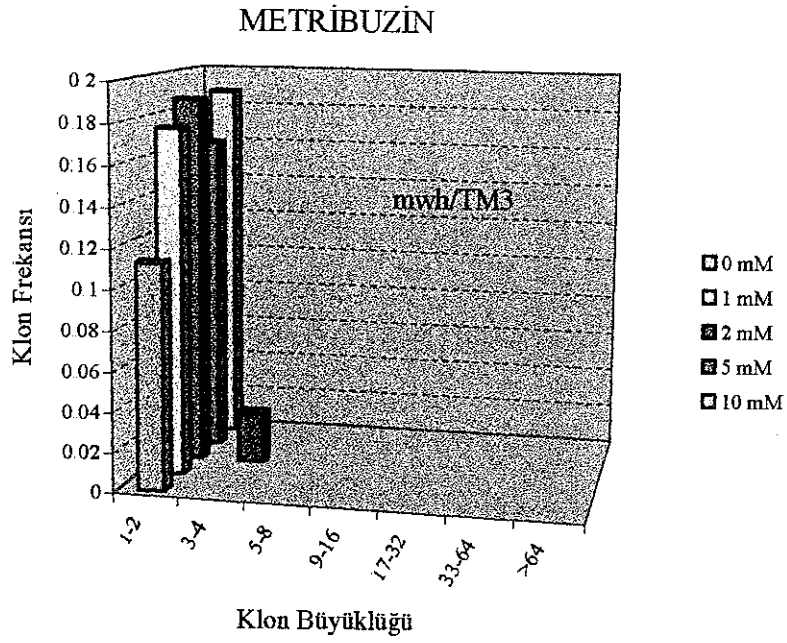
AMİTROL



Şekil 3.2: Amitrol'ün (Serrat kanat) klon frekans dağılımı

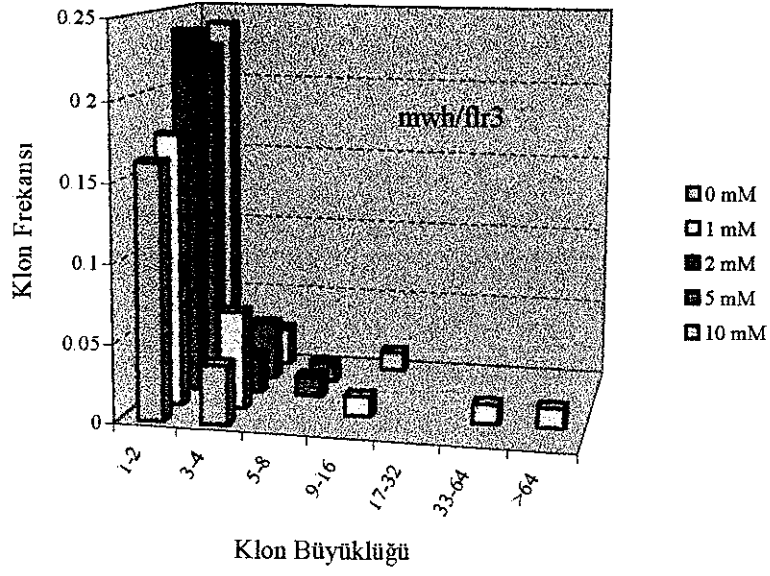


Şekil 3 3: Metribuzin'in (normal kanat) klon frekans dağılımı



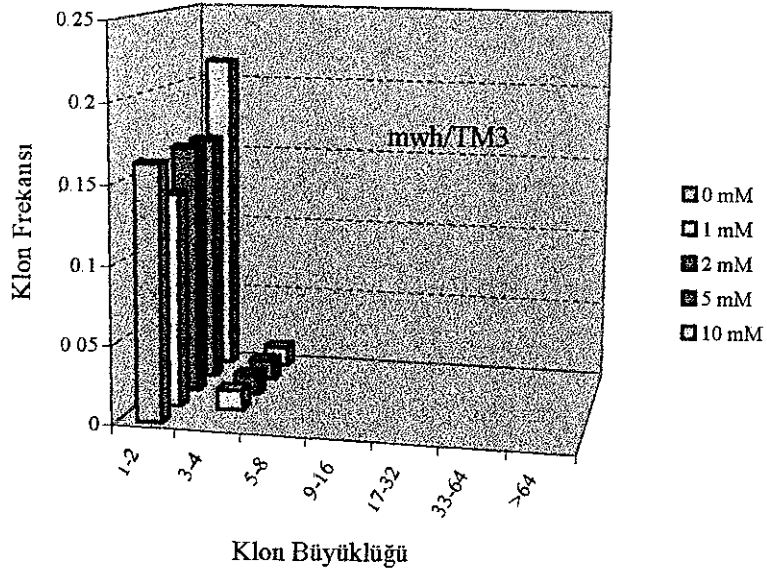
Şekil 3 4: Metribuzin'in (Serrat kanat) klon frekans dağılımı

PROMETRİN



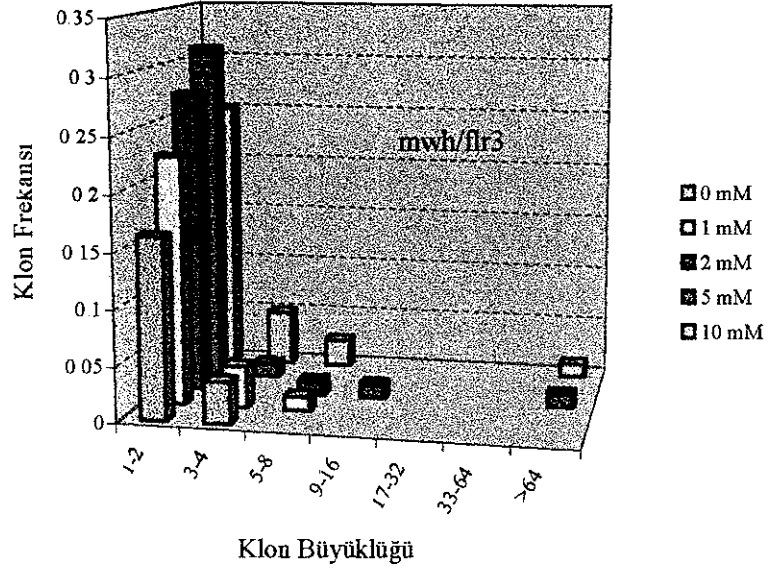
Şekil 3.5: Prometrin'in (normal kanat) klon frekans dağılımı

PROMETRİN



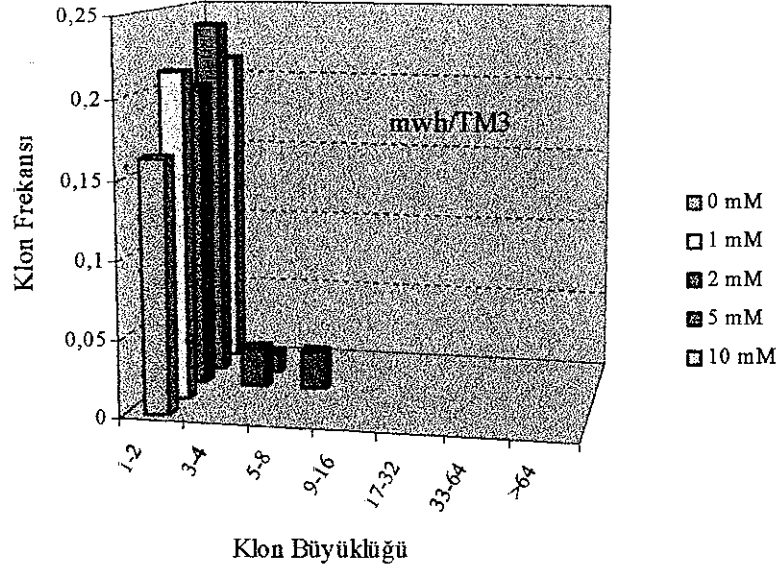
Şekil 3.6: Prometrin'in (Serrat kanat) klon frekans dağılımı

TERBUTRİN



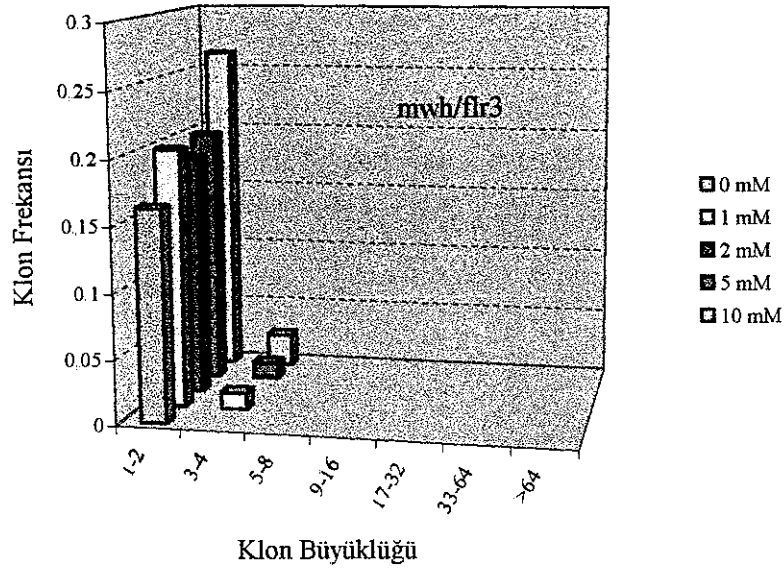
Şekil 3.7: Terbutrin'in (normal kanat) klon frekans dağılımı

TERBUTRİN



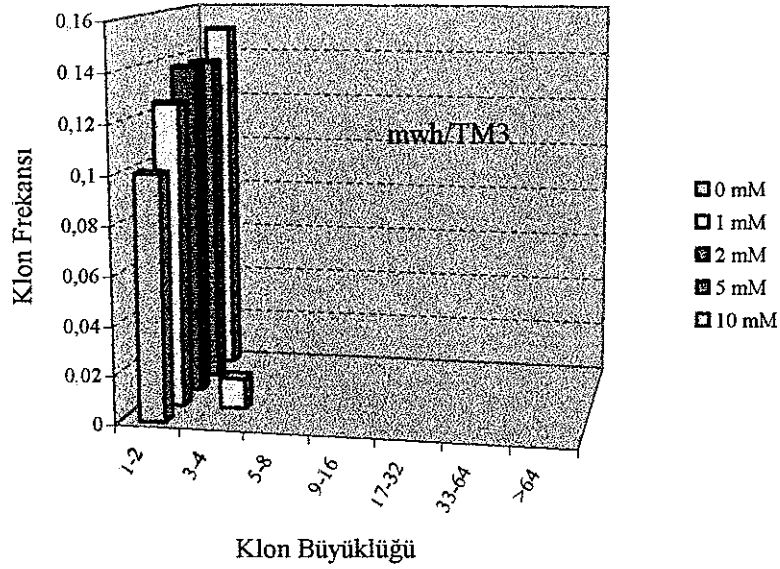
Şekil 3.8: Terbutrin'in (Serrat kanat) klon frekans dağılımı

DİKUAT DİBROMİD



Şekil 3.9: Diquat dibromid'in (normal kanat) klon frekans dağılımı

DİKUAT DİBROMİD



Şekil 3.10: Diquat dibromid'in (Serrat kanat) klon frekans dağılımı

3.2. İkinci Grup Herbisitler

3.2.1. Bentazon

Bentazon, daha çok geniş yapraklı yabancı otların kontrolünde kullanılan bir herbisittir. Bentazon'un normal metabolik aktiviteye sahip hatlara uygulanması ile elde edilen verilerde hiç bir derişim için pozitif sonuç gözlenmemektedir (Çizelge 3). Normal kanatlara sahip mwh/flr³ genotipindeki bireylerinde küçük tek tip ve ikiz klonlarda bütün derişimlerden elde edilen sonuçlar birbirine çok yakın olarak bulunmuştur. Diğer kategorilerde ise, yüksek derişimlerde biraz daha yüksek klon frekansları görülmektedir. Ancak frekanstaki bu yükseklik istatistiki düzeyde önemli değildir. Diğer taraftan serrat kanatlı mwh/TM3 genotipindeki bireylerde bütün kategorilerden elde edilen sonuçlar kontrol grubuna yakın frekansta olduğu Çizelge 3'de görülmektedir.

Yüksek metabolik aktiviteye sahip hat için 10 mM derişimin toksik etki göstermesi nedeniyle bu grupta 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 ve 5 mM derişimler çalışılmıştır. Bu hatların normal kanatlı bireylerinde küçük tek tip, mwh ve toplam klonların frekansları bütün derişimler bakımından kontrole göre istatistiksel olarak yüksek çıkmıştır (Çizelge 4). Ancak büyük tek tip klonların frekansları 0.1, 0.5 ve 1 mM derişimlerde kontrole göre istatistiksel olarak farklı çıkarken ikiz klonların frekanslarının istatistiksel önemde olmadığı görülmektedir. Bu hatların mwh/TM3 genotipindeki bireylerinden elde edilen sonuçlara bakıldığında 1 ve 5 mM derişimlerin küçük tek tip ve toplam klonların frekanslarını istatistiksel önemde artırdığı görülmektedir. Büyük tek tip klonlarda ise istatistiksel farklılık bulunmamıştır (Çizelge 4).

3.2.2. Bentiokarb

Bentiokarb, yabancı ot kontrolünde çok yaygın olarak kullanılan bir thiokarbamat herbisittir. Standart çaprazlama sonucunda elde edilen transheterozigot larvalara bentiokarb'ın uygulanması sonuçları Çizelge 5'de gösterilmiştir. Normal

Çizelge 3: *Bentazon'un Drosophila melanogaster'in Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri*

Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (m=2)		Büyük tek tip klonlar (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon İndüksiyon Frekansı (10 ³ hücre)				
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.		Fr.	D.		
Normal Kanat																
% 5Aseton	80	16	(0.20)	+	4	0.05	-	1	0.01	+	20	0.25	21	0.26	+	1.08
i mM EMS	80	40	(0.50)	+	31	(0.39)	+	16	(0.20)	+	69	(0.86)	87	(1.09)	+	3.53
0.1	80	21	(0.26)	+	1	(0.01)	-	1	(0.01)	-	22	(0.28)	23	(0.29)	-	1.13
0.5	80	21	(0.26)	+	3	(0.04)	-	1	(0.01)	-	24	(0.30)	25	(0.32)	-	1.23
1	80	24	(0.30)	+	2	(0.03)	-	2	(0.03)	-	25	(0.32)	28	(0.35)	-	1.28
2	80	22	(0.28)	+	8	(0.10)	-	0	(0.00)	-	30	(0.38)	30	(0.38)	-	1.54
5	80	23	(0.29)	+	8	(0.10)	-	3	(0.04)	-	31	(0.39)	34	(0.43)	-	1.59
10	80	20	(0.25)	+	8	(0.10)	-	2	(0.03)	-	28	(0.35)	30	(0.38)	-	1.43
Serrat Kanat																
%5 Aseton	80	13	(0.16)	+	2	(0.03)	-				15	(0.19)	15	(0.19)	-	0.77
i mM EMS	80	33	(0.41)	+	5	(0.06)	-				38	(0.48)	38	(0.48)	+	1.95
0.1	80	19	(0.24)	+	1	(0.01)	-				20	(0.25)	20	(0.25)	-	1.02
0.5	80	18	(0.23)	+	1	(0.01)	-				19	(0.24)	19	(0.24)	-	0.97
1	80	15	(0.19)	+	4	(0.05)	-				19	(0.24)	19	(0.24)	-	0.97
2	80	19	(0.24)	+	0	(0.00)	-				19	(0.24)	19	(0.24)	-	0.97
5	80	22	(0.28)	+	1	(0.01)	-				23	(0.29)	23	(0.29)	-	1.18
10	80	19	(0.24)	+	0	(0.00)	-				19	(0.24)	19	(0.24)	-	0.97

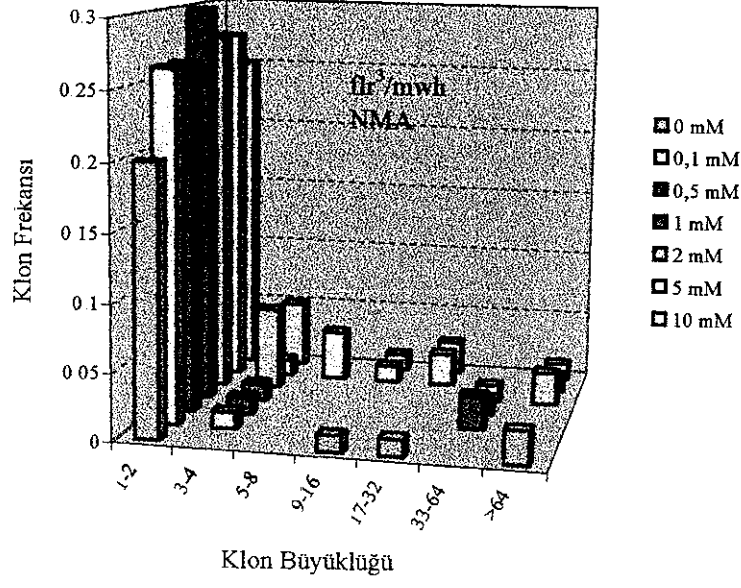
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi=0.05.

Çizelge 3. 4: Bentazon'un *Drosophila melanogaster*'in Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatların Etkileri

Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 cells) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)			İkiz klonlar (m=5)			Toplam mw h klonlar (m=2)			Toplam klonlar (m=2)			Klon İndüksiyon Frekansı (10 ⁵ hücre)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
Normal Kanat																	
% 5 Aseton	80	12	(0.15)	+	0	(0.00)	-	3	(0.04)	-	12	(0.15)	+	15	(0.19)	+	0.77
1 mM EMS	80	72	(0.90)	+	73	(0.91)	+	41	(0.51)	+	12	(1.60)	+	18	(2.33)	+	6.56
0.05	80	37	(0.46)	+	4	(0.05)	-	1	(0.01)	-	41	(0.51)	+	42	(0.53)	+	2.10
0.1	80	33	(0.41)	+	6	(0.08)	+	3	(0.04)	-	39	(0.49)	+	42	(0.53)	+	2.00
0.5	80	33	(0.41)	+	5	(0.06)	+	1	(0.01)	-	38	(0.48)	+	39	(0.49)	+	1.95
1	80	35	(0.44)	+	8	(0.10)	+	3	(0.04)	-	43	(0.54)	+	46	(0.58)	+	2.20
2	80	45	(0.56)	+	4	(0.05)	-	1	(0.01)	-	49	(0.61)	+	50	(0.63)	+	2.51
5	80	42	(0.53)	+	3	(0.04)	-	2	(0.03)	-	44	(0.55)	+	47	(0.59)	+	2.25
Serrat Kanat																	
% 5 Aseton	80	12	(0.15)	-	1	(0.01)	-	13	(0.16)	-	13	(0.16)	-	13	(0.16)	-	0.67
1 mM EMS	80	54	(0.68)	+	19	(0.24)	+	73	(0.91)	+	73	(0.91)	+	73	(0.91)	+	3.74
0.05	80	16	(0.20)	-	0	(0.00)	-	16	(0.20)	-	16	(0.20)	-	16	(0.20)	-	0.82
0.1	80	16	(0.20)	-	0	(0.00)	-	16	(0.20)	-	16	(0.20)	-	16	(0.20)	-	0.82
0.5	80	18	(0.23)	-	1	(0.01)	-	19	(0.24)	-	19	(0.24)	-	19	(0.24)	-	0.97
1	80	22	(0.28)	+	2	(0.03)	+	24	(0.30)	+	24	(0.30)	+	24	(0.30)	+	1.23
2	80	24	(0.30)	+	2	(0.03)	+	26	(0.33)	+	26	(0.33)	+	26	(0.33)	+	1.33
5	80	21	(0.26)	-	0	(0.00)	-	21	(0.26)	-	21	(0.26)	-	21	(0.26)	-	1.08

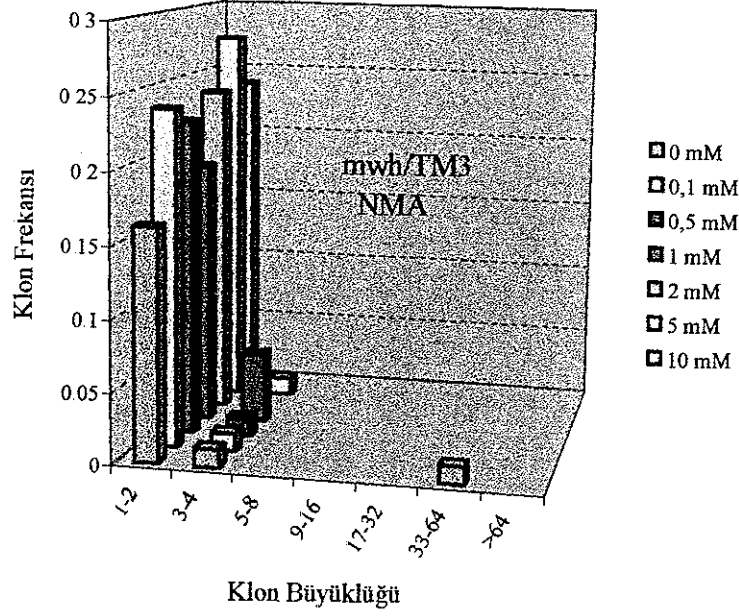
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi=0.05

BENTAZON

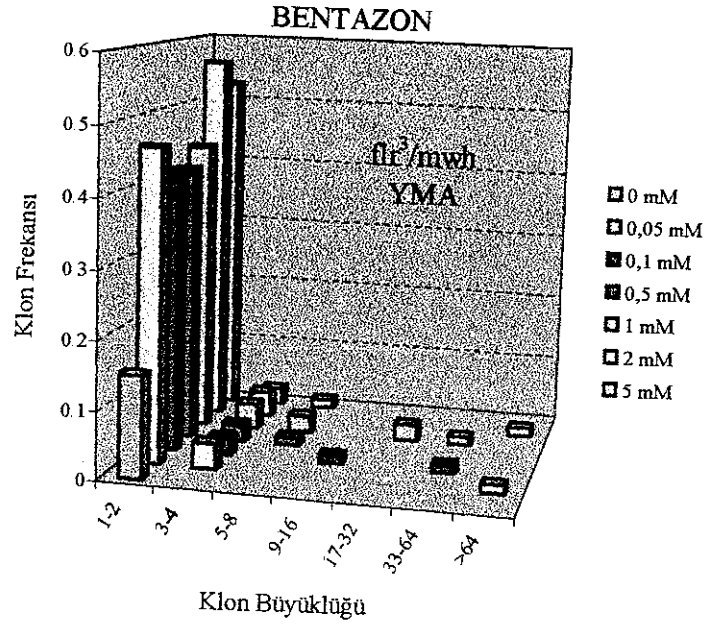


Şekil 3 11: Bentazon'un (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

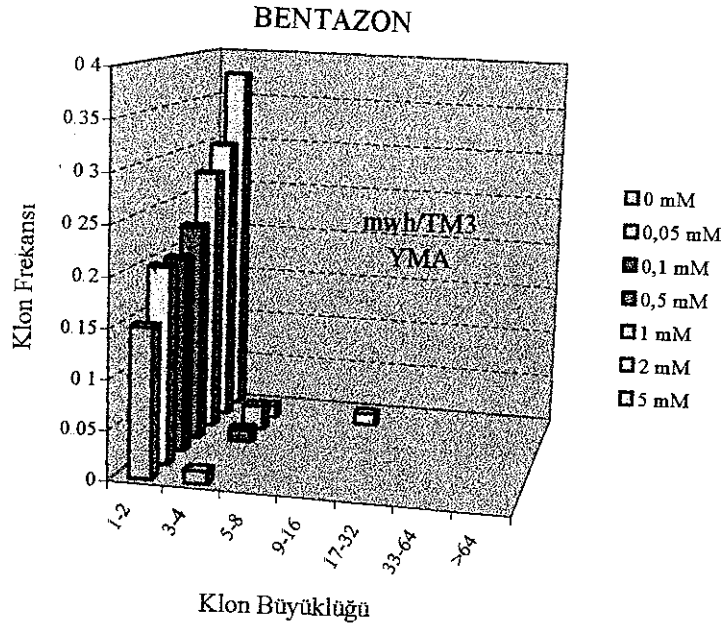
BENTAZON



Şekil 3 12: Bentazon'un (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3.13: Bentazon'un (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3.14: Bentazon'un (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

Çizelge 3. 5: Benitoyokarb'in *Drosophila melanogaster*'in Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri

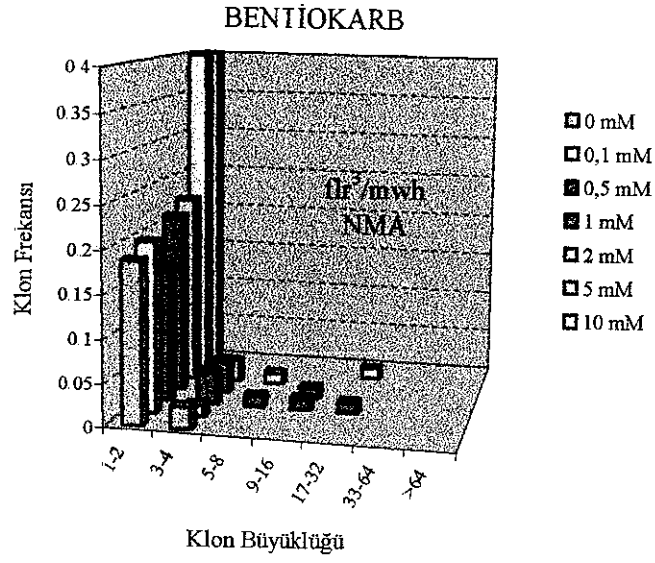
Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon İndüksiyon Frekansı (10 ⁵ hücre)				
		No.	Fr.	D	N.	Fr.	D	No.	Fr.	D	No.		Fr.	D		
Normal Kanat																
Distile su	80	9	(0.11)	+	5	(0.06)	-	2	(0.03)	-	14	(0.18)	16	(0.20)	+	0.82
i mM EMS	80	40	(0.50)	+	31	(0.39)	+	16	(0.20)	+	69	(0.86)	87	(1.09)	+	3.53
0.1	80	15	(0.19)	+	2	(0.03)	-	2	(0.03)	-	17	(0.21)	19	(0.24)	+	0.87
0.5	80	16	(0.20)	+	1	(0.01)	-	1	(0.01)	-	17	(0.21)	18	(0.23)	+	0.87
1	80	13	(0.16)	+	6	(0.08)	+	2	(0.03)	+	19	(0.24)	21	(0.26)	+	0.97
2	80	17	(0.21)	+	4	(0.05)	-	2	(0.03)	-	21	(0.26)	23	(0.29)	+	1.08
5	80	18	(0.23)	+	3	(0.04)	-	1	(0.01)	-	21	(0.26)	22	(0.28)	+	1.08
10	80	32	(0.40)	+	1	(0.01)	-	1	(0.01)	-	33	(0.41)	34	(0.43)	+	1.69
Serrat Kanat																
Distile su	80	10	(0.13)	+	0	(0.00)	-	10	(0.13)	-	10	(0.13)	10	(0.13)	+	0.51
i mM EMS	80	33	(0.41)	+	5	(0.06)	+	38	(0.48)	+	38	(0.48)	38	(0.48)	+	1.95
0.1	80	12	(0.15)	+	1	(0.01)	-	13	(0.16)	+	13	(0.16)	13	(0.16)	+	0.67
0.5	80	12	(0.15)	+	0	(0.00)	-	12	(0.15)	+	12	(0.15)	12	(0.15)	+	0.61
1	80	13	(0.16)	+	1	(0.01)	-	14	(0.18)	+	14	(0.18)	14	(0.18)	+	0.72
2	80	13	(0.16)	+	0	(0.00)	-	13	(0.16)	+	13	(0.16)	13	(0.16)	+	0.67
5	80	13	(0.16)	+	1	(0.01)	-	14	(0.18)	+	14	(0.18)	14	(0.18)	+	0.72
10	80	22	(0.28)	+	0	(0.00)	-	22	(0.28)	+	22	(0.28)	22	(0.28)	+	1.13

Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +₃ pozitif; -₃ negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

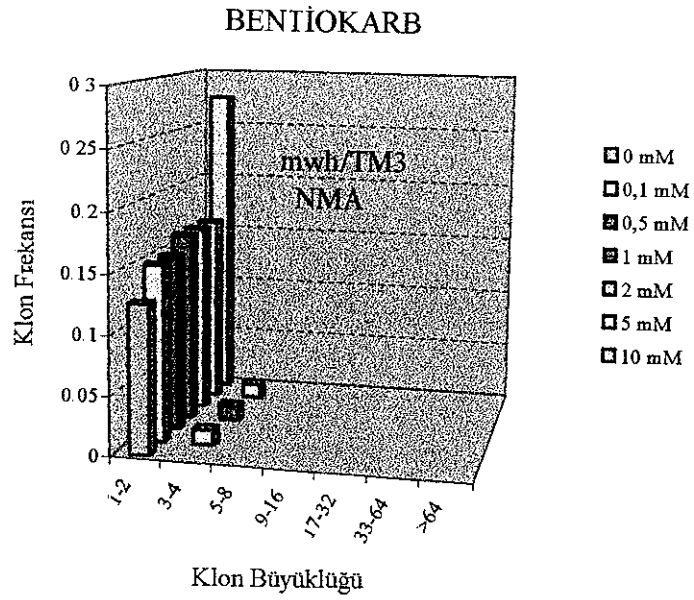
Çizelge 3. 6: Bentiyoarb'in *Drosophila melanogaster*'in Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Ekileri

Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (m=2)		Büyük tek tip klonlar (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon İndüksiyon Frekansı (10 ³ hücre)					
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.		Fr.	D.			
Normal Kanat																	
Distile su	80	19	(0.24)	+	4	(0.05)	-	0	(0.00)	23	(0.29)	23	(0.29)	1.18			
1 mM EMS	80	72	(0.90)	+	73	(0.91)	+	41	(0.51)	+	128	(1.60)	+	186	(2.33)	+	6.56
0.1	80	13	(0.16)	-	0	(0.00)	-	3	(0.04)	+	13	(0.16)	-	16	(0.20)	-	0.67
0.5	80	15	(0.19)	-	2	(0.03)	-	0	(0.00)	+	17	(0.21)	-	17	(0.21)	-	0.87
1	80	15	(0.19)	-	2	(0.03)	-	2	(0.03)	+	17	(0.21)	-	19	(0.24)	-	0.87
2	80	16	(0.20)	-	1	(0.01)	-	0	(0.00)	+	16	(0.20)	-	17	(0.21)	-	0.82
5	80	18	(0.23)	-	0	(0.00)	-	0	(0.00)	+	18	(0.23)	-	18	(0.23)	-	0.92
10	80	16	(0.20)	-	3	(0.04)	-	0	(0.00)	+	19	(0.24)	-	19	(0.24)	-	0.97
Serrat Kanat																	
Distile su	80	15	(0.19)	+	1	(0.01)	+	16	(0.20)	+	16	(0.20)	+	16	(0.20)	+	0.82
1 mM EMS	80	54	(0.68)	+	19	(0.24)	+	73	(0.91)	+	73	(0.91)	+	73	(0.91)	+	3.74
0.1	80	12	(0.15)	-	1	(0.01)	+	13	(0.16)	-	13	(0.16)	-	13	(0.16)	-	0.67
0.5	80	14	(0.18)	-	1	(0.01)	+	15	(0.19)	-	15	(0.19)	-	15	(0.19)	-	0.77
1	80	14	(0.18)	-	0	(0.00)	+	14	(0.18)	-	14	(0.18)	-	14	(0.18)	-	0.72
2	80	13	(0.16)	-	0	(0.00)	+	13	(0.16)	-	13	(0.16)	-	13	(0.16)	-	0.67
5	80	14	(0.18)	-	1	(0.01)	+	15	(0.19)	-	15	(0.19)	-	15	(0.19)	-	0.77
10	80	18	(0.23)	+	0	(0.00)	+	18	(0.23)	+	18	(0.23)	+	18	(0.23)	+	0.92

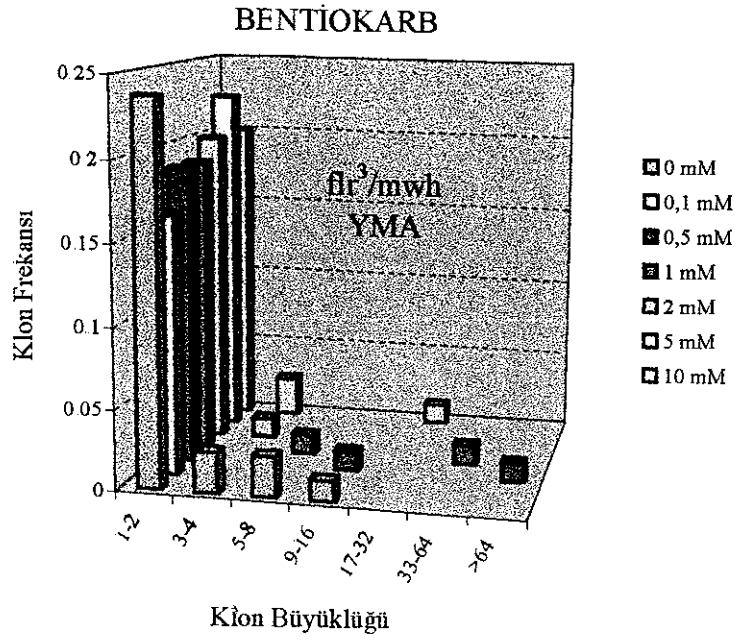
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; +, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05



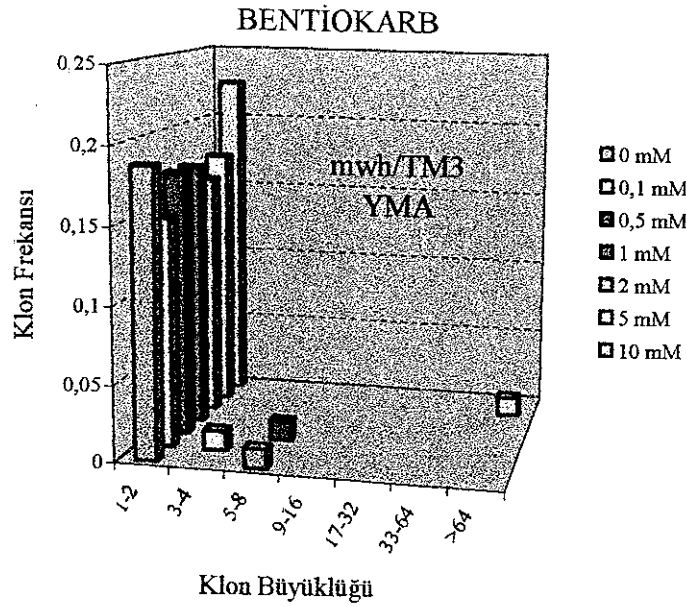
Şekil 3 15: Bentiokarb'ın (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3 16: Bentiokarb'ın (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3.17: Bentiokarb'ın (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3.18: Bentiokarb'ın (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

fenotipe sahip mwh/flr³ genotipindeki bireylerde 10 mM derişim, küçük tektip, mwh ve toplam klonların frekanslarını kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artırmıştır (Çizelge 5). Diğer derişimler için elde edilen frekanslar kontrol grubundaki ile benzerlik göstermektedir. Serrat kanatlı mwh/TM3 genotipindeki bireylerde de yine normal kanatlı bireylerde olduğu gibi 10 mM derişimin küçük tek tip, mwh ve toplam klonların frekanslarını kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artırdığı görülmektedir (Çizelge 5).

Yüksek metabolik aktiviteye sahip hatların gerek mwh/flr³ gerekse mwh/TM3 genotipindeki bireylerde gözlenen klon frekanslarını istatistiksel olarak önemli düzeyde artırmadığı görülmektedir (Çizelge 6).

3.2.3. Glifosat

Monsanto şirketi tarafından 1971 yılında herbisit olarak kullanıma sunulmuştur. Geniş spektrumlu bir herbisit olan glifosat'ın metabolik olarak parçalandığında aminometil fosfonik asit oluşmaktadır (Wagner 1983). Glifosat, normal metabolik aktiviteye sahip hatların mwh/flr³ genotipindeki bireylerde küçük tek tip klonlarda 1, 2, 5 ve 10 mM derişimlerde ve mwh ve toplam klonlarda da 2, 5 ve 10 mM derişimlerde istatistiksel olarak yüksek oranda sonuçlar elde edilmiştir. Diğer kategorilerde istatistiksel önemde fark gözlenmemiştir (Çizelge 7). Büyük tek tip ve ikiz klonlar kategorilerinde, çalışılan bütün derişimlerde klon frekansları kontrol grubuna yakın frekansta çıkmıştır. Ancak diğer kategorilerde artan doza bağlı olarak mutant klonların frekansında da artış görülmektedir (Çizelge 7). mwh/TM3 genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlarda çalışılan bütün kategoriler için denenmiş olan bütün derişimlerde istatistiksel önemde fark görülmemektedir. Bu bireylerden elde edilen sonuçlara bakıldığında hepsinin kontrolden elde edilen sonuçlara yakın olduğu Çizelge 7'de görülmektedir.

Yüksek metabolik aktiviteye sahip hatların hem mwh/flr³ hem de mwh/TM3 genotipindeki bireylerde glifosat'ın mutajenik veya rekombinojenik etkileri

görülmemektedir (Çizelge 8). Gerek mwh/flr^3 gerekse $mwh/TM3$ genotipine sahip bireylerden elde edilen sonuçlar bütün kategorilerde, denenen bütün derişimlerde negatif kontrol grubundan elde edilen sonuçlara yaklaşık çıkmıştır

3.2.4. 2,4,5-T İzookotilester

2,4,5-T izookotilester'in herbisit etkileri 1944 yılında tanımlanmıştır. Bu herbisit kullanımını ikinci Dünya savaşından sonra aşırı yaygınlaşmış ancak ilerleyen yıllarda yapılan araştırmalarla sağlık için olumsuz etkilerinin tespit edilmesinden sonra 1970'li yıllarda kullanımı sınırlandırılmıştır (Lilienfelt ve Gallo 1989). Ancak halen ülkemizde kullanımı devam etmektedir. İzookotilester fizyolojik etkileri indolasetikasite benzeyen bir fenoksi herbisittir. İzookotilester'in esas kullanım amacı geniş yapraklı yabancı otların kontrolünü sağlamaktır (Galston 1970). İzookotilester derişimlerinin uygulandığı normal metabolik aktiviteye sahip mwh/flr^3 genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlara bakıldığında sadece küçük tek tip klonların frekansında 1, 2, 5 ve 10 mM derişimlerde frekansların negatif kontrole göre istatistiki önemde olduğu görülmektedir (Çizelge 9). Pozitif sonuç veren bu derişimler mwh ve toplam klonlar kategorilerinde kontrole göre yüksek görünmektedir, ancak aradaki farkların istatistiksel önemli olmadığı tespit edilmiştir. Büyük tek tip ve ikiz klonlarda hesaplanmış olan frekanslar ise kontrole yakın oranlarda bulunmuştur. Bu hattın $mwh/TM3$ genotipine sahip bireylerinde ise çalışılan bütün derişimden elde edilen sonuçlar kontrol grubundan farksız görülmektedir. Bu genotipten elde edilen bütün sonuçlara genel olarak bakıldığında kontrol grubuna yakın frekanslar görülmektedir (Çizelge 9)

Yüksek metabolik aktiviteye sahip hatlara izookotilester uygulaması sonucu elde edilen verilerde de pozitif sonuçlar görülmemektedir. Bu hattın gerek mwh/flr^3 gerekse $mwh/TM3$ genotipindeki hatlarında bütün derişimlerde gözlenmiş olan klonların frekansları kontrol grubundan elde edilen sonuçlara yakın çıkmıştır. Bu nedenle de bu hatta pozitif sonuçlar görülmemektedir (Çizelge 10).

Çizelge 3.7 : Glifosat'ın *Drosophila melanogaster*'de Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri

Derişimler (mM)	Kanat Sayısı i (N)	Küçük tek tip klonlar (m=2)			Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)			İkiz klonlar (m=5)			Toplam mwh klonlar (m=2)			Toplam klonlar (m=2)			Klon İndüksiyon Frekans (10 ⁵ hücre)
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	
Normal Kanat																	
Distile su	80	9	(0.11)	+	5	(0.06)	-	2	(0.03)	+	14	(0.18)	+	16	(0.20)	+	0.72
1 mM EMS	80	40	(0.50)	+	31	(0.39)	+	16	(0.20)	+	69	(0.86)	+	87	(1.09)	+	3.53
0.1	80	14	(0.18)	+	2	(0.03)	-	2	(0.03)	+	15	(0.19)	+	18	(0.23)	+	0.77
0.5	80	15	(0.19)	+	6	(0.08)	+	4	(0.05)	+	22	(0.28)	+	25	(0.32)	+	1.13
1	80	23	(0.29)	+	1	(0.01)	-	2	(0.03)	+	21	(0.26)	+	26	(0.33)	+	1.08
2	80	24	(0.30)	+	4	(0.05)	-	4	(0.05)	+	28	(0.35)	+	32	(0.40)	+	1.43
5	80	27	(0.34)	+	6	(0.08)	+	2	(0.03)	+	32	(0.40)	+	35	(0.44)	+	1.64
10	80	30	(0.38)	+	6	(0.08)	+	4	(0.05)	+	36	(0.45)	+	40	(0.50)	+	1.84
Serrat Kanat																	
Distile su	80	10	(0.13)	+	0	(0.00)	-	0	(0.00)	-	10	(0.13)	+	10	(0.13)	+	0.52
1 mM EMS	80	33	(0.41)	+	5	(0.06)	+	5	(0.06)	+	38	(0.48)	+	38	(0.48)	+	1.95
0.1	80	13	(0.16)	+	0	(0.00)	-	0	(0.00)	-	13	(0.16)	+	13	(0.16)	+	0.67
0.5	80	12	(0.15)	+	1	(0.01)	+	1	(0.01)	+	13	(0.16)	+	13	(0.16)	+	0.67
1	80	13	(0.16)	+	2	(0.03)	+	2	(0.03)	+	15	(0.19)	+	15	(0.19)	+	0.77
2	80	13	(0.16)	+	2	(0.03)	+	2	(0.03)	+	15	(0.19)	+	15	(0.19)	+	0.77
5	80	13	(0.16)	+	1	(0.01)	+	1	(0.01)	+	14	(0.18)	+	14	(0.18)	+	0.72
10	80	11	(0.14)	+	1	(0.01)	+	1	(0.01)	+	12	(0.15)	+	12	(0.15)	+	0.61

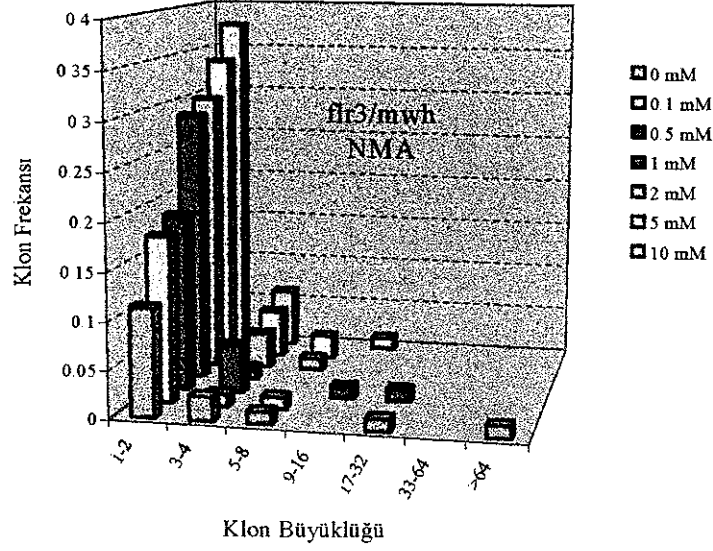
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi=0.05.

Çizelge 3. 8. Glifosat'ın *Drosophila melanogaster*'de Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarınd Etkileri

Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar* (m=2)		Klon İndüksiyon Frekansı (10 ³ hücre)		
		No	Fr.	D	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.		Fr.	D.
Normal Kanat														
Distile su	80	19	(0.24)	-	4	(0.05)	0	(0.00)	23	(0.29)	23	(0.29)	1.18	
1 mM EMS	80	72	(0.90)	+	73	(0.91)	+	41	(0.51)	+	128	(1.60)	+	6.57
0.1	80	13	(0.16)	-	4	(0.05)	-	0	(0.00)	-	17	(0.21)	-	0.87
0.5	80	18	(0.23)	-	3	(0.04)	-	0	(0.00)	-	21	(0.26)	-	1.08
1	80	22	(0.28)	-	1	(0.01)	-	0	(0.00)	-	23	(0.29)	-	1.18
2	80	22	(0.28)	-	0	(0.00)	-	0	(0.00)	-	22	(0.28)	-	1.13
5	80	19	(0.24)	-	3	(0.04)	-	1	(0.01)	-	19	(0.24)	-	0.97
10	80	22	(0.28)	-	2	(0.03)	-	1	(0.01)	-	24	(0.30)	-	1.23
Serrat Kanat														
Distile su	80	15	(0.19)	-	1	(0.01)	-	0	(0.00)	-	16	(0.20)	-	0.82
1 mM EMS	80	54	(0.68)	+	19	(0.24)	+	73	(0.91)	+	73	(0.91)	+	3.74
0.1	80	16	(0.20)	-	0	(0.00)	-	16	(0.20)	-	16	(0.20)	-	0.82
0.5	80	18	(0.23)	-	0	(0.00)	-	18	(0.23)	-	18	(0.23)	-	0.92
1	80	16	(0.20)	-	0	(0.00)	-	16	(0.20)	-	16	(0.20)	-	0.82
2	80	17	(0.21)	-	0	(0.00)	-	17	(0.21)	-	17	(0.21)	-	0.87
5	80	17	(0.21)	-	0	(0.00)	-	17	(0.21)	-	17	(0.21)	-	0.87
10	80	18	(0.23)	-	1	(0.01)	-	19	(0.24)	-	19	(0.24)	-	0.97

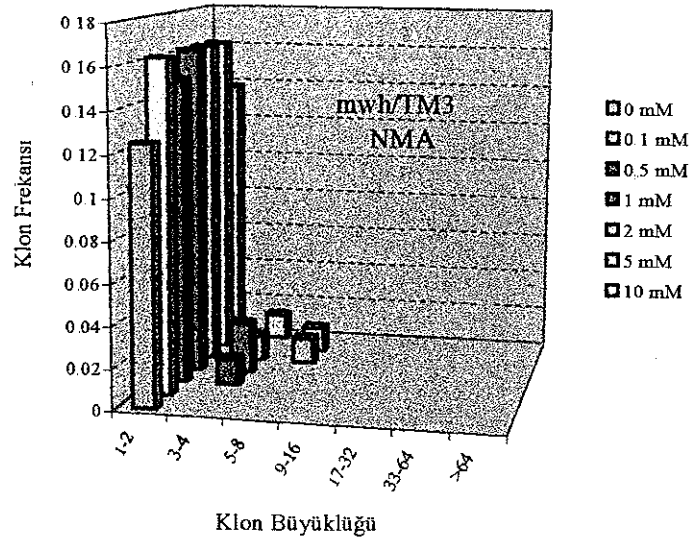
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05

GLİFOSAT



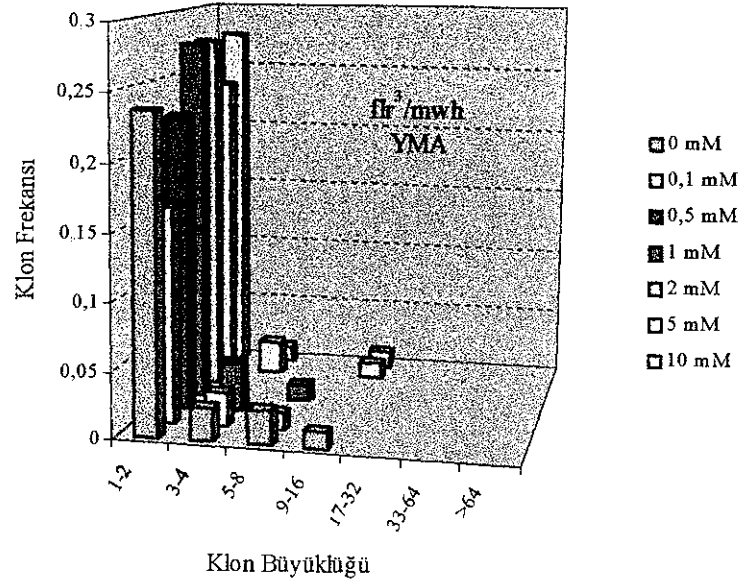
Şekil 3.19 : Glifosat'ın (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

GLİFOSAT



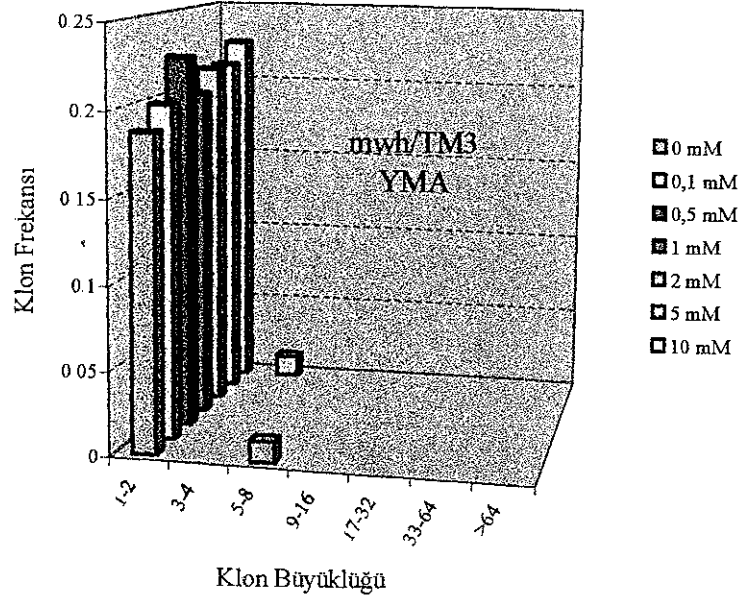
Şekil 3.20: Glifosat'ın (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

GLİFOSAT



Şekil 3.21 : Glifosat'ın (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

GLİFOSAT



Şekil 3.22 : Glifosat'ın (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

Çizelge 3. 9 : 2,4,5-T izooktillerin *Drosophila melanogaster*'de Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri

Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (m=2)		Büyük tek tip klonlar (m=5)		ikiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon İndüksiyon Frekansı (10 ⁵ hücre)
		No.	Fr.	No.	Fr.	No.	Fr.	No.	Fr.	No.	Fr.	
Normal Kanat												
Distile su	80	9	(0.11)	5	(0.06)	2	(0.03)	14	(0.18)	16	(0.20)	0.72
1 mM EMS	80	40	(0.50)	31	(0.39)	16	(0.20)	69	(0.86)	87	(1.09)	3.53
0.1	80	14	(0.18)	1	(0.01)	0	(0.00)	15	(0.19)	15	(0.19)	0.77
0.5	80	14	(0.18)	1	(0.01)	2	(0.03)	15	(0.19)	17	(0.21)	0.77
1	80	19	(0.24)	3	(0.04)	1	(0.01)	22	(0.28)	23	(0.29)	1.13
2	80	21	(0.26)	2	(0.03)	2	(0.03)	23	(0.29)	25	(0.32)	1.18
5	80	21	(0.26)	2	(0.03)	3	(0.04)	23	(0.29)	26	(0.33)	1.18
10	80	21	(0.26)	4	(0.05)	1	(0.01)	24	(0.30)	26	(0.33)	1.23
Serrat Kanat												
Distile su	80	10	(0.13)	0	(0.00)			10	(0.13)	10	(0.13)	0.51
1 mM EMS	80	33	(0.41)	5	(0.06)			38	(0.48)	38	(0.48)	1.95
0.1	80	9	(0.11)	1	(0.01)			10	(0.13)	10	(0.13)	0.51
0.5	80	10	(0.13)	1	(0.01)			11	(0.14)	11	(0.14)	0.56
1	80	12	(0.15)	1	(0.01)			13	(0.16)	13	(0.16)	0.67
2	80	9	(0.11)	1	(0.01)			10	(0.13)	10	(0.13)	0.51
5	80	10	(0.13)	0	(0.00)			10	(0.13)	10	(0.13)	0.51
10	80	11	(0.14)	1	(0.01)			12	(0.15)	12	(0.15)	0.61

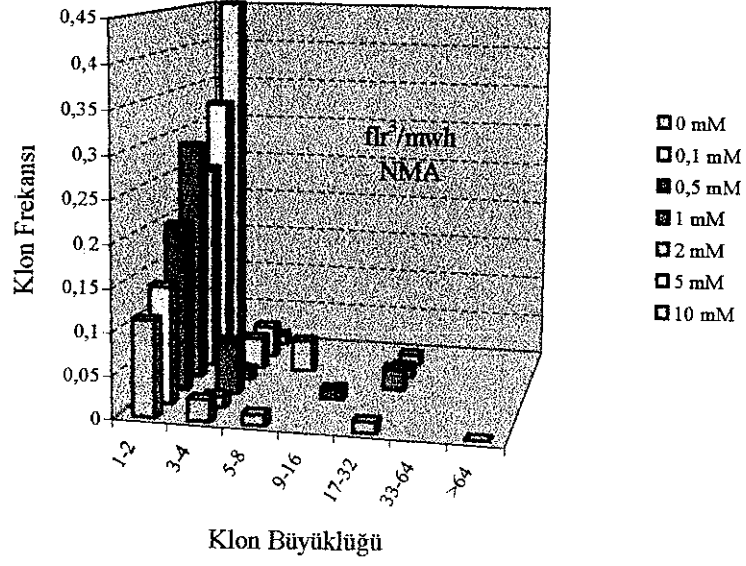
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05

Çizelge 3. 10: 2,4,5-T izooktillerin *Drosophila melanogaster* Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri

Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (m=2)		Büyük tek tip klonlar (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mw h klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon İndüksiyon Frekans (10 ³ hücre)					
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.		Fr.	D.			
Normal Kanat																	
Distile su	80	19	(0.24)	+	4	(0.05)	0	(0.00)	23	(0.29)	23	(0.29)	1.18				
1 mM EMS	80	72	(0.90)	+	73	(0.91)	+	41	(0.51)	+	128	(1.60)	+	186	(2.33)	+	6.57
0.05	80	21	(0.26)	+	0	(0.00)	-	0	(0.00)	-	21	(0.26)	-	21	(0.26)	-	1.08
0.1	80	18	(0.23)	-	9	(0.11)	-	1	(0.01)	-	26	(0.33)	-	28	(0.35)	-	1.33
0.5	80	23	(0.29)	+	4	(0.05)	+	0	(0.00)	+	27	(0.34)	+	27	(0.34)	+	1.38
1	80	22	(0.28)	+	3	(0.04)	-	1	(0.01)	-	25	(0.32)	-	26	(0.33)	-	1.28
2	80	22	(0.28)	+	4	(0.05)	+	0	(0.00)	+	26	(0.33)	+	26	(0.33)	+	1.33
5	80	27	(0.34)	+	0	(0.00)	-	0	(0.00)	-	27	(0.34)	+	27	(0.34)	+	1.38
Serrat Kanat																	
Distile su	80	15	(0.19)	+	1	(0.01)	-	16	(0.20)	-	16	(0.20)	-	16	(0.20)	-	0.82
1 mM EMS	80	54	(0.68)	+	19	(0.24)	+	73	(0.91)	+	73	(0.91)	+	73	(0.91)	+	3.74
0.05	80	13	(0.16)	-	1	(0.01)	-	14	(0.18)	-	14	(0.18)	-	14	(0.18)	-	0.72
0.1	80	13	(0.16)	-	1	(0.01)	-	14	(0.18)	-	14	(0.18)	-	14	(0.18)	-	0.72
0.5	80	15	(0.19)	+	1	(0.01)	+	16	(0.20)	+	16	(0.20)	+	16	(0.20)	+	0.82
1	80	15	(0.19)	+	0	(0.00)	+	15	(0.19)	+	15	(0.19)	+	15	(0.19)	+	0.77
2	80	15	(0.19)	+	0	(0.00)	+	15	(0.19)	+	15	(0.19)	+	15	(0.19)	+	0.77
5	80	15	(0.19)	+	0	(0.00)	+	15	(0.19)	+	15	(0.19)	+	15	(0.19)	+	0.77

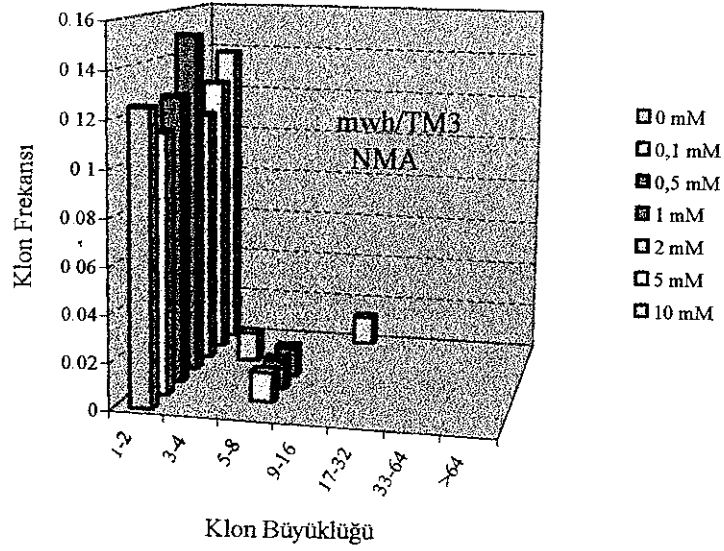
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

2,4,5-T İZOOKTİLESTER



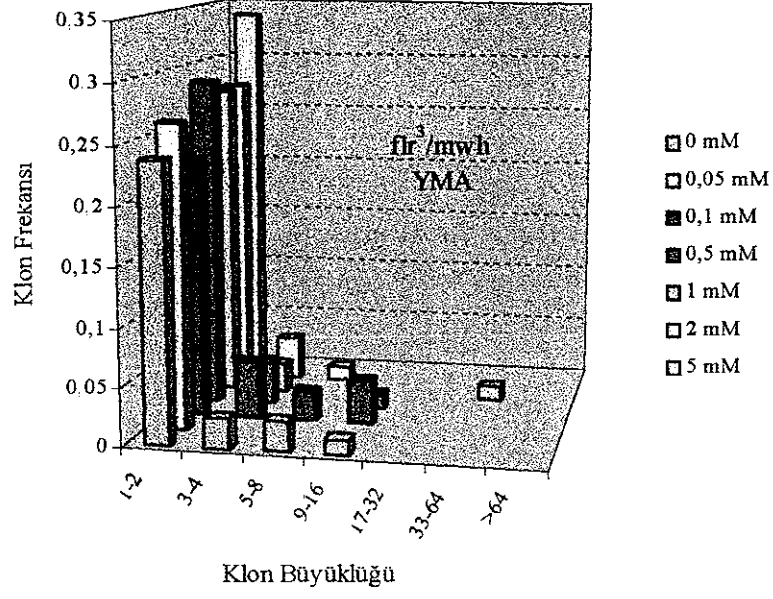
Şekil 3.23: 2,4,5- T izooktiller'in (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

2,4,5-T İZOOKTİLESTER



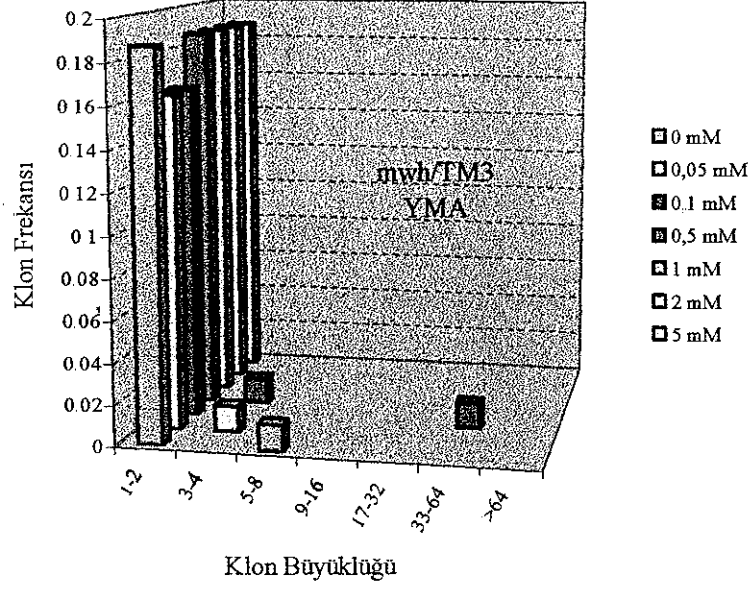
Şekil 3.24: 2,4,5- T izooktiller'in (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

2,4,5-T İZOOKTİLESTER



Şekil 3.25: 2,4,5-T izooktil ester'in (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

2,4,5-T İZOOKTİL ESTER



Şekil 3.26: 2,4,5-T izooktil ester'in (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

3.2.5. Maleik Hidrazit

Rubber şirketi tarafından 1948 yılında temel bir herbisit ve bitki büyüme inhibitörü (engelleycisi) olarak kullanıma sunulmuştur. Maleik hidrazit herbisitinin normal metabolik aktiviteye sahip transheterozigot larvalara uygulaması sonucu oluşan klon frekansları mwh/flr^3 genotipindeki bireylerde incelendiğinde küçük tek tip klonlar kategorisinde 1, 5 ve 10 mM derişimlerde pozitif sonuçlar bulunmuş, bu kategori için diğer derişimlerde ise gözlenen farkın istatistiksel önemde olmadığı bulunmuştur (Çizelge 11). Bu kategoride 2 mM derişim hariç artan doza bağlı olarak klon frekansında da artış görülmektedir. Diğer bütün kategorilerde (Büyük tek tip, ikiz ve küçük tek tip klonlar) doza bağlı olarak klon frekansında da artışlar görülmektedir. Büyük tektip ve mwh klonlar kategorilerinde ise 2, 5 ve 10 mM derişimlerde yüksek oranda gözlenen klon frekansları nedeniyle istatistiksel olarak yüksek sonuçlar bulunmuştur (Çizelge 11). Bu genotipteki bireylerden elde edilen sonuçlara toplam klonlar açısından bakıldığında ise 1, 2, 5 ve 10 mM derişimlerin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir (Çizelge 11). Dengeleyici kromozom taşıyan ve dolayısıyla rekombinasyonun baskılandığı $mwh/TM3$ genotipinden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi sonucu küçük tek tip klonlar kategorisinde 2, 5 ve 10 mM derişimlerde istatistiksel önemli fark bulunmuştur (Çizelge 11). Toplam klonların frekanslarının negatif kontrol grubu ile istatistiksel karşılaştırılması sonucu 1, 2, 5 ve 10 mM derişimlerinin bu kategoride pozitif sonuçlara sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 11). Büyük tek tip klonların frekansları ise denenen bütün derişimler için birbirine yakın olarak bulunmuştur ve bu kategoride bütün derişimler için tespit edilen farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir. Bu genotipteki bireylerde küçük tek tip ve toplam klonlar kategorilerinde artan maleik hidrazit derişimine bağlı olarak klon frekanslarında da artışlar görülmektedir.

Yüksek metabolik aktiviteye sahip hatların mwh/flr^3 genotipindeki bireylerinde yapılan kanat analizlerinde sadece toplam ve mwh klonlar kategorilerinde 10 mM'lık derişimin pozitif sonuç verdiği görülmektedir (Çizelge 12). Çalışılan diğer katagorilerde ise ya oluşan farkların istatistiksel olarak önemli olmadığı ya da kontrol grubundan

Çizelge 3. 1: Maleik Hidrazit'in *Drosophila melanogaster*'de Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri

Değişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 cells) (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon indüksiyon Frekansı (10 ⁵ hücre)				
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.		Fr.	D.		
Normal Kanat																
Distile su	80	9	(0.11)		5	(0.06)		2	(0.03)		14	(0.18)	16	(0.20)		0.72
1 mM EMS	80	40	(0.50)	+	31	(0.39)	+	16	(0.20)	+	69	(0.86)	87	(1.09)	+	3.53
0.1	80	17	(0.21)	-	0	(0.00)	-	1	(0.01)	-	17	(0.21)	18	(0.23)	-	0.87
0.5	80	16	(0.20)	-	3	(0.04)	-	2	(0.03)	-	19	(0.24)	21	(0.26)	-	0.97
1	80	20	(0.25)	+	4	(0.05)	-	4	(0.05)	-	24	(0.30)	28	(0.35)	+	1.23
2	80	14	(0.18)	-	13	(0.16)	+	8	(0.10)	-	27	(0.34)	35	(0.44)	+	1.38
5	80	27	(0.34)	+	29	(0.36)	+	26	(0.33)	+	55	(0.69)	82	(1.03)	+	2.82
10	80	60	(0.75)	+	80	(1.00)	+	50	(0.63)	+	138	(1.73)	190	(2.38)	+	7.07
Serrat Kanat																
Distile su	80	10	(0.13)		0	(0.00)					10	(0.13)	10	(0.13)		0.51
1 mM EMS	80	33	(0.41)	+	5	(0.06)	+				38	(0.48)	38	(0.48)	+	1.95
0.1	80	11	(0.14)	-	2	(0.03)	-				13	(0.16)	13	(0.16)	-	0.67
0.5	80	19	(0.24)	-	0	(0.00)	-				19	(0.24)	19	(0.24)	-	0.97
1	80	18	(0.23)	-	2	(0.03)	-				20	(0.25)	20	(0.25)	+	1.02
2	80	20	(0.25)	+	2	(0.03)	-				22	(0.28)	22	(0.28)	+	1.13
5	80	25	(0.32)	+	0	(0.00)	-				25	(0.32)	25	(0.32)	+	1.28
10	80	25	(0.32)	+	4	(0.05)	-				29	(0.36)	29	(0.36)	+	1.49

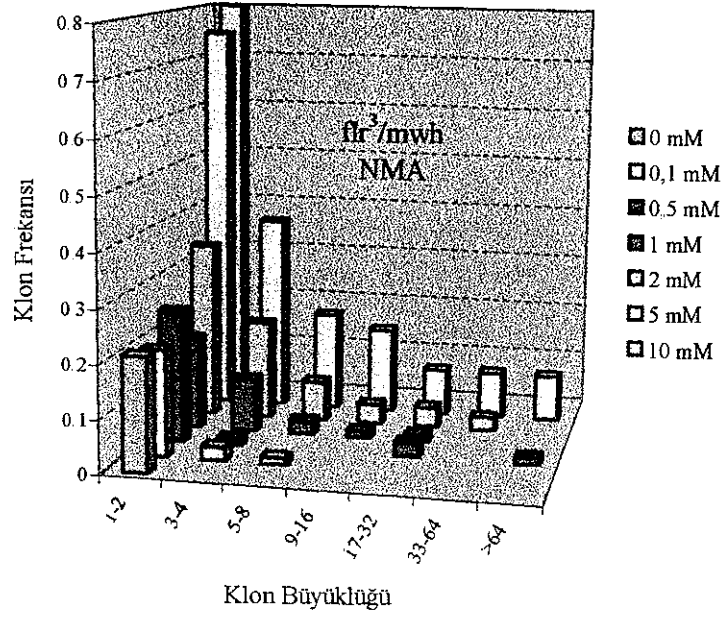
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

Çizelge 3. 12. Maleik Hidrazit'in *Drosophila melanogaster*'de Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri

Derişimler (mM)	Kanat		Küçük tek tip klonlar (1-2 cells) (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mvh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon indüksiyon frekansı (10 ⁵ hücre)
	No.	Fr.	No.	D.	No.	Fr.	No.	Fr.	No.	Fr.	No.	Fr.	
Normal Kanat													
Distile su	80	19	(0.24)	-	4	(0.05)	0	(0.00)	23	(0.29)	23	(0.29)	1.18
1 mM EMS	80	72	(0.90)	+	73	(0.91)	41	(0.51)	128	(1.60)	186	(2.33)	6.56
0.1	80	15	(0.19)	-	2	(0.03)	1	(0.01)	17	(0.21)	18	(0.23)	0.87
0.5	80	14	(0.18)	-	4	(0.05)	3	(0.04)	18	(0.23)	21	(0.26)	0.92
1	80	21	(0.26)	+	1	(0.01)	3	(0.04)	22	(0.28)	25	(0.32)	1.13
2	80	22	(0.28)	+	5	(0.06)	0	(0.00)	27	(0.34)	27	(0.34)	1.38
5	80	24	(0.30)	+	8	(0.10)	2	(0.03)	32	(0.40)	34	(0.43)	1.64
10	80	31	(0.39)	+	10	(0.13)	2	(0.03)	41	(0.51)	43	(0.54)	2.10
Serrat Kanat													
Distile su	80	15	(0.19)	-	1	(0.01)			16	(0.20)	16	(0.20)	0.82
1 mM EMS	80	54	(0.68)	+	19	(0.24)	+		73	(0.91)	73	(0.91)	3.74
0.1	80	13	(0.16)	-	2	(0.03)	+		15	(0.19)	15	(0.19)	0.77
0.5	80	17	(0.21)	+	1	(0.01)	+		18	(0.23)	18	(0.23)	0.92
1	80	18	(0.23)	+	2	(0.03)	+		20	(0.25)	20	(0.25)	1.02
2	80	23	(0.29)	+	2	(0.03)	+		25	(0.32)	25	(0.32)	1.28
5	80	28	(0.35)	+	1	(0.01)	+		29	(0.36)	29	(0.36)	1.49
10	80	30	(0.38)	+	5	(0.06)	+		35	(0.44)	35	(0.44)	1.79

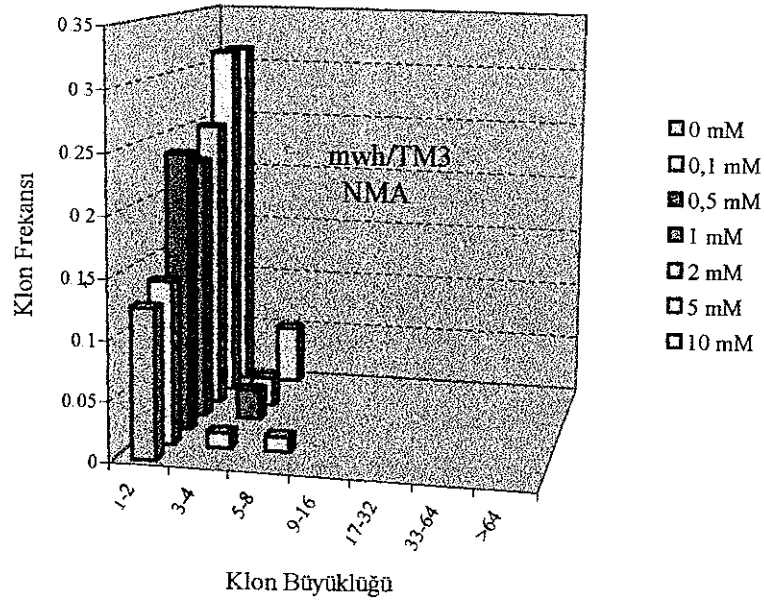
Fr.: frekans; D.: istatistik sonuçlarının gösterimi +: pozitif, -: negatif, i: önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

MALEİK HİDRAZİT

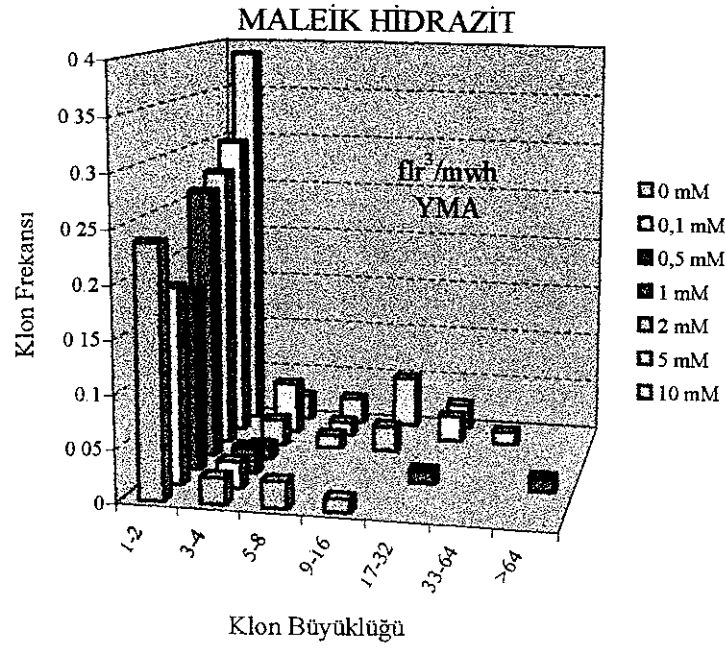


Şekil 3 27: Maleik hidrazit'in (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

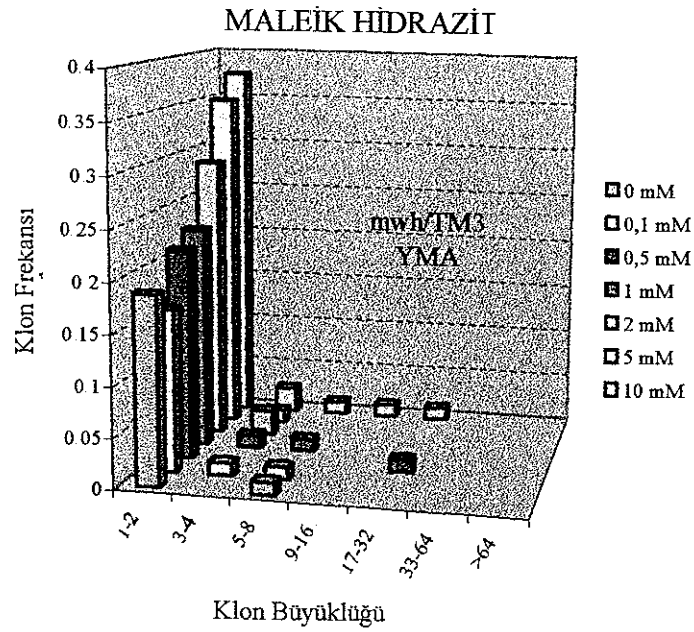
MALEİK HİDRAZİT



Şekil 3 28: Maleik hidrazit'in (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3 29: Maleik hidrazit'in (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3 30: Maleik hidrazit'in (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

daha düşük olduğu gözlenmiştir. İkiz klonlar kategorisinden elde edilen klon frekansları birbirine yakın olarak bulunmuştur. Büyük tek tip klonlar kategorisinde ise yüksek derişimlerde bir miktar fazla mutant klon gözlenmiş ancak bu farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir. Diğer kategorilerde ise artan doza bağı olarak klon frekanslarında da artış tespit edilmiştir (Çizelge 12). Bu hatda mwh/TM3 genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlara bakıldığında küçük tek tip, mwh ve toplam klonlar kategorilerinde 5 ve 10 mM derişimlerin istatistiksel önemde yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 12). Pozitif sonuçların elde edildiği bu kategorilere bakıldığında klon frekanslarının doza bağı artış gösterdiği tespit edilmiştir.

3.2.6. Molinat

Molinat herbisiti 1954 yılında Stauffer şirketi tarafından herbisit olarak kullanılmak üzere üretilmeye başlanılmıştır. Molinat herbisitinin normal metabolik aktiviteye sahip tansheterozigot larvalara uygulanmasından sonra mwh/flr³ genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlara bakıldığında büyük tek tip ve ikiz klonların frekanslarının kontrol grubuna yakın olduğu görülmektedir (Çizelge 13). Diğer taraftan küçük tek tip klonlarda 1, 2, 5 ve 10 mM derişimlerin kontrole göre yüksek düzeyde mutant klon oluşturduğu görülmektedir. Toplam klonlarda 2, 5 ve 10 mM ve mwh klonlarda ise 5 ve 10 mM derişimler kontrole göre yüksek oranda mutant klon oluşturmuştur. Bu derişimlerden elde edilen sonuçların istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı olduğu görülmektedir (Çizelge 13). Bu hatlarda mwh/TM3 genotipine sahip bireylerde ise sadece 10 mM'lık derişim, küçük tek tip klonlar ve toplam klonların frekanslarının kontrole göre daha yüksek oranda çıkmasına neden olmuştur. Gerek mwh/flr³ gerekse mwh/TM3 genotipinde pozitif sonuçların elde edildiği kategorilerde artan derişime bağı olarak klon frekansında da artış gözlenmiştir.

Yüksek metabolik aktiviteye sahip hatlarda ise mwh/flr³ genotipindeki bireylerde toplam klonlarında frekansında 5 ve 10 mM derişimler ve küçük tek tip ve mwh klonların frekanslarında da sadece 10 mM derişimin klon frekansını kontrole göre istatistiksel olarak daha fazla artırdığı görülmektedir (Çizelge 14). Büyük tek tip ve ikiz

Çizelge 3. 13: Molinat'ın *Drosophila melanogaster*'in Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri

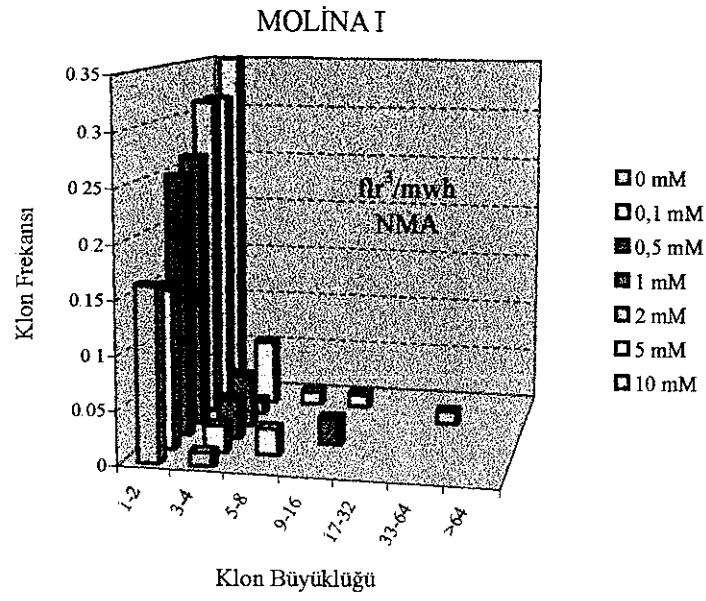
Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 cells) (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon İndüksiyon Frekansı (10 ⁵ hücre)			
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.		Fr.	D.	
Normal Kanat															
Distile su	80	9	(0.11)	+	5	(0.06)	-	2	(0.03)	+	14	(0.18)	16	(0.20)	0.72
1 mM EMS	80	40	(0.50)	+	31	(0.39)	+	16	(0.20)	+	69	(0.86)	87	(1.09)	3.53
0.1	80	13	(0.16)	+	1	(0.01)	-	1	(0.01)	+	14	(0.18)	15	(0.19)	0.72
0.5	80	12	(0.15)	+	4	(0.05)	-	1	(0.01)	+	16	(0.20)	17	(0.21)	0.82
1	80	20	(0.25)	+	5	(0.06)	+	1	(0.01)	+	25	(0.32)	26	(0.33)	1.28
2	80	21	(0.26)	+	4	(0.05)	-	3	(0.04)	+	25	(0.32)	28	(0.34)	1.28
5	80	25	(0.32)	+	2	(0.03)	-	3	(0.04)	+	27	(0.34)	30	(0.38)	1.38
10	80	25	(0.32)	+	7	(0.08)	+	2	(0.03)	+	31	(0.39)	34	(0.43)	1.59
Serrat Kanat															
Distile su	80	10	(0.13)	+	0	(0.00)	-	10	(0.13)	+	10	(0.13)	10	(0.13)	0.51
1 mM EMS	80	33	(0.41)	+	5	(0.06)	+	38	(0.48)	+	38	(0.48)	38	(0.48)	1.95
0.1	80	9	(0.11)	+	0	(0.00)	-	9	(0.11)	+	9	(0.11)	9	(0.11)	0.46
0.5	80	9	(0.11)	+	2	(0.03)	+	11	(0.14)	+	11	(0.14)	11	(0.14)	0.56
1	80	12	(0.15)	+	0	(0.00)	-	12	(0.15)	+	12	(0.15)	12	(0.15)	0.61
2	80	17	(0.21)	+	1	(0.01)	+	18	(0.23)	+	18	(0.23)	18	(0.23)	0.92
5	80	18	(0.23)	+	1	(0.01)	+	19	(0.24)	+	19	(0.24)	19	(0.24)	0.97
10	80	21	(0.26)	+	0	(0.00)	-	21	(0.26)	+	21	(0.26)	21	(0.26)	1.08

Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

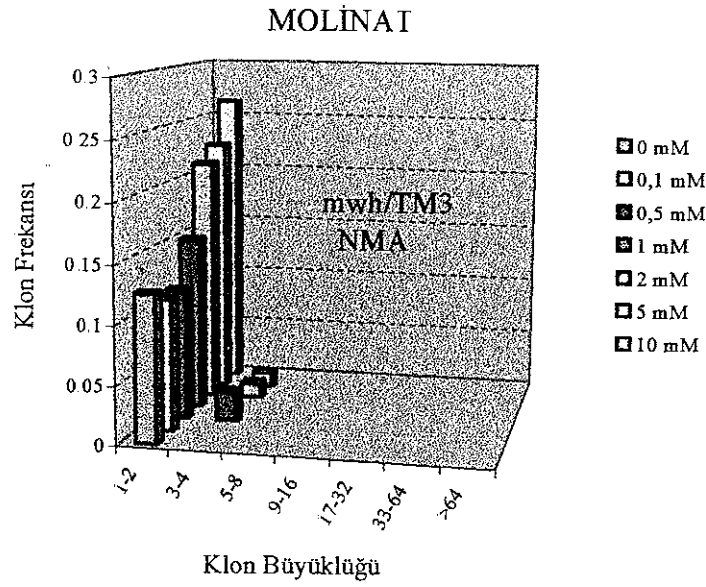
Çizelge 3. 14: *Molinetin Drosophila melanogaster'in Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri*

Derişimler (mM)	Sayısı (N)	Kanat						Klon İndüksiyon									
		Küçük tek tip klonlar (m=2)		Büyük tek tip klonlar (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Frekans (10 ⁵ hitere)					
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	
Normal Kanat																	
Distile su	80	19	(0.24)		4	(0.05)		0	(0.00)		23	(0.29)		23	(0.29)		1.18
i mM EMS	80	72	(0.90)	+	73	(0.91)	+	41	(0.51)	+	128	(1.60)	+	186	(2.33)	+	6.56
0.1	80	26	(0.33)	i	4	(0.05)	i	0	(0.00)	i	30	(0.38)	i	30	(0.38)	i	1.54
0.5	80	26	(0.33)	i	4	(0.05)	i	1	(0.01)	i	30	(0.38)	i	31	(0.39)	i	1.54
1	80	29	(0.36)	i	0	(0.00)	-	0	(0.00)	-	29	(0.36)	-	29	(0.36)	-	1.49
2	80	26	(0.33)	i	4	(0.05)	i	1	(0.01)	i	28	(0.35)	i	31	(0.39)	i	1.43
5	80	26	(0.33)	i	9	(0.11)	i	2	(0.03)	i	34	(0.43)	i	37	(0.46)	+	1.74
10	80	36	(0.45)	+	5	(0.06)	i	0	(0.00)	i	41	(0.51)	+	41	(0.51)	+	2.10
Serrat Kanat																	
Distile su	80	15	(0.19)		1	(0.01)					16	(0.20)		16	(0.20)		0.82
i mM EMS	80	54	(0.68)	+	19	(0.24)	+				73	(0.91)	+	73	(0.91)	+	3.74
0.1	80	12	(0.15)	-	1	(0.01)	i				13	(0.16)	-	13	(0.16)	-	0.67
0.5	80	15	(0.19)	i	1	(0.01)	i				16	(0.20)	i	16	(0.20)	i	0.82
1	80	20	(0.25)	i	1	(0.01)	i				21	(0.26)	i	21	(0.26)	i	1.08
2	80	23	(0.29)	i	0	(0.00)	i				23	(0.29)	i	23	(0.29)	i	1.18
5	80	23	(0.29)	i	1	(0.01)	i				24	(0.30)	i	24	(0.30)	i	1.23
10	80	29	(0.36)	+	3	(0.04)	i				32	(0.40)	+	32	(0.40)	+	1.64

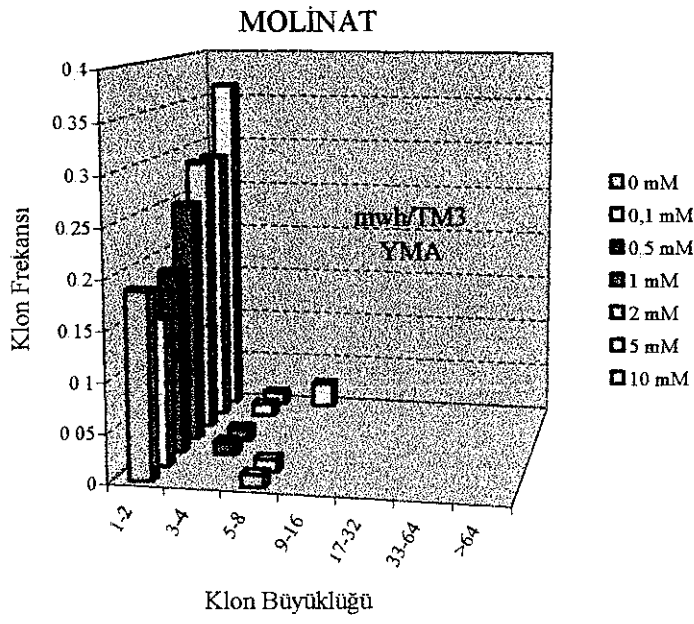
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.



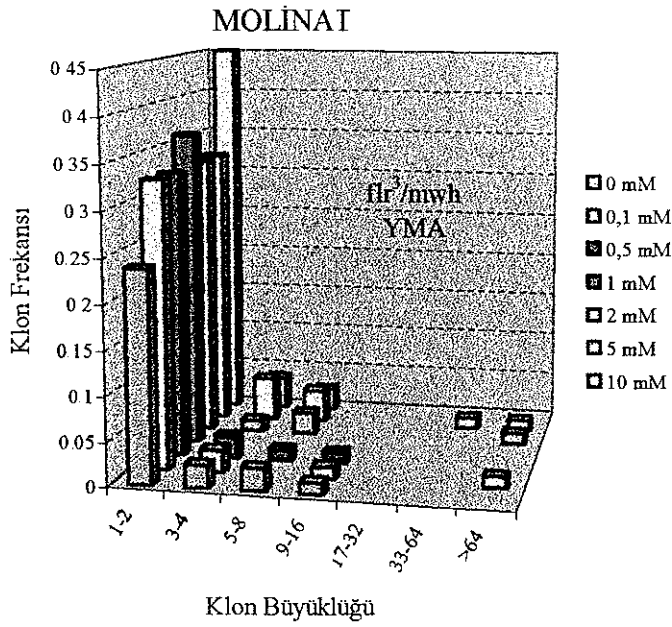
Şekil 3 31: Molinat'ın (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3 32: Molinat'ın (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3 33: Molinat'ın (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3 34: Molinat'ın (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

klonlarda ise frekanslar kontrol grubuna yakın düzeyde çıkmıştır. Toplam ve mwh klonlardan elde edilen frekanslar artan derişime bağlı olarak artış gösterirken küçük tek tip klonların frekansları 10 mM derişim hariç diğer derişimlerde ya birbirinin aynısı ya da çok yakın olduğu görölmektedir, ancak 10 mM derişimden elde edilen klon frekansı daha yüksek düzeydedir. mwh/TM3 genotipine sahip bireylerde ise sadece 10 mM derişimin küçük tek tip ve toplam klonlarda istatistiksel olarak önemli artışa neden olduğu görölmektedir (Çizelge 14). Bu genotipte küçük tek tip ve toplam klonların frekansları artan derişime bağlı olarak arttığı görölmektedir.

3.2.7. Propanil

Arilamid herbisitlerden olan propanil ilk defa 1960 yılında tanımlanmıştır. Bu herbisit normal metabolik aktiviteye sahip bireylere yapılan uygulaması sonucunda elde edilen mwh/flr³ ve mwh/TM3 genotipindeki bireylerde küçük tek tip klon, mwh, toplam klonlar kategorilerinde kullanılan derişimlerdeki artışa bağlı olarak gözlenen mutant klon frekansında da artış gözlenmiştir (Çizelge 15). Doza bağlı olarak gözlenen artışın sonucunda normal fenotipe sahip (mwh/flr³) bireylerde, çalışılan en yüksek derişim olan 10 mM'lık derişimde belirtilen klonlardan elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak kontrol grubundan yüksek olduğu görölmektedir. Diğer kategorilerden elde edilen sonuçlarda ise klon frekansları kontrol grubuna yakın oranlarda çıkmıştır. Diğer taraftan mwh/TM3 genotipindeki bireylerden elde edilen sonuçlara bakıldığında yine küçük tek tip klon, mwh, toplam klonlar kategorilerinde 5 ve 10 mM'lık derişimlerde pozitif sonuçlar gözlenmiştir (Çizelge 15).

Normal metabolik aktiviteye sahip hatlarda olduğu gibi yüksek metabolik hatlarda da mwh/flr³ genotipine sahip bireylerde artan derişime bağlı olarak klon frekansında da artış gözlenmiştir (Çizelge 16). Artan derişimle doğru orantılı olarak artan klon frekansındaki yükselişin sonucu olarak mwh/flr³ genotipine sahip bireylerde 0.5, 1, 2, 5 ve 10 mM derişimlerde küçük tek tip, mwh ve toplam klonlar kategorilerinde ve sadece 10 mM'lık derişimde büyük tek tip klon kategorisinde daha

Çizelge 3. 15: Propanil'in *Drosophila melanogaster*'de Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri

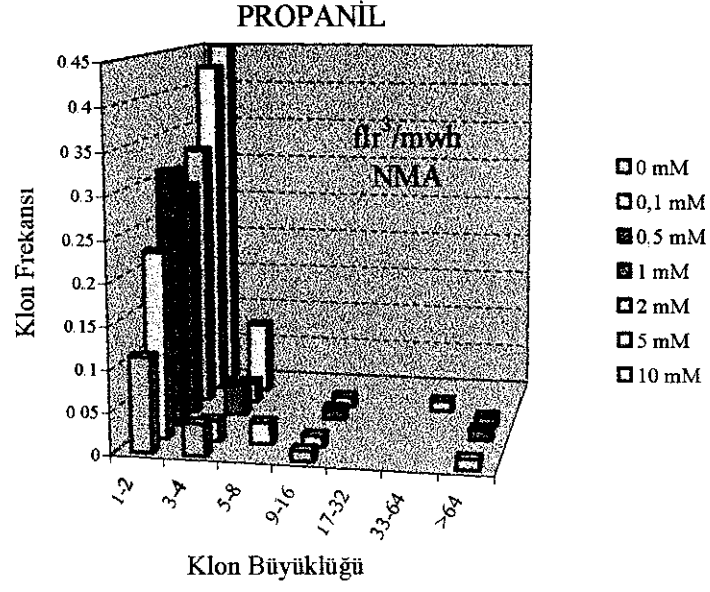
Denişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon İndüksiyon Frekans (10 ⁵ hücre)
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	
Normal Kanatlar												
%5 Aseton	80	16	(0.20)	4	0.05	1	0.01	20	0.25	21	0.26	1.02
1 mM EMS	80	40	(0.50)	31	(0.39)	16	(0.20)	69	(0.86)	87	(1.09)	3.53
0.1	80	9	(0.11)	6	(0.08)	2	(0.03)	15	(0.19)	17	(0.21)	0.77
0.5	80	18	(0.23)	3	(0.04)	2	(0.03)	20	(0.25)	23	(0.29)	1.02
1	80	25	(0.32)	1	(0.01)	1	(0.01)	26	(0.33)	27	(0.34)	1.33
2	80	23	(0.29)	5	(0.06)	2	(0.03)	28	(0.35)	30	(0.38)	1.43
5	80	26	(0.33)	4	(0.05)	4	(0.05)	30	(0.38)	34	(0.43)	1.54
10	80	34	(0.43)	7	(0.09)	0	(0.00)	41	(0.51)	41	(0.51)	2.10
Serrat kanatlar												
%5 Aseton	80	13	(0.16)	2	(0.03)			15	(0.19)	15	(0.19)	0.77
1 mM EMS	80	33	(0.41)	5	(0.06)			38	(0.48)	38	(0.48)	1.95
0.1	80	13	(0.16)	1	(0.01)			14	(0.18)	14	(0.18)	0.72
0.5	80	13	(0.16)	3	(0.04)			16	(0.20)	16	(0.20)	0.82
1	80	19	(0.24)	2	(0.03)			21	(0.26)	21	(0.26)	1.08
2	80	21	(0.26)	3	(0.04)			24	(0.30)	24	(0.30)	1.23
5	80	24	(0.30)	5	(0.06)			29	(0.36)	29	(0.36)	1.49
10	80	29	(0.36)	2	(0.03)			31	(0.39)	31	(0.39)	1.59

Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

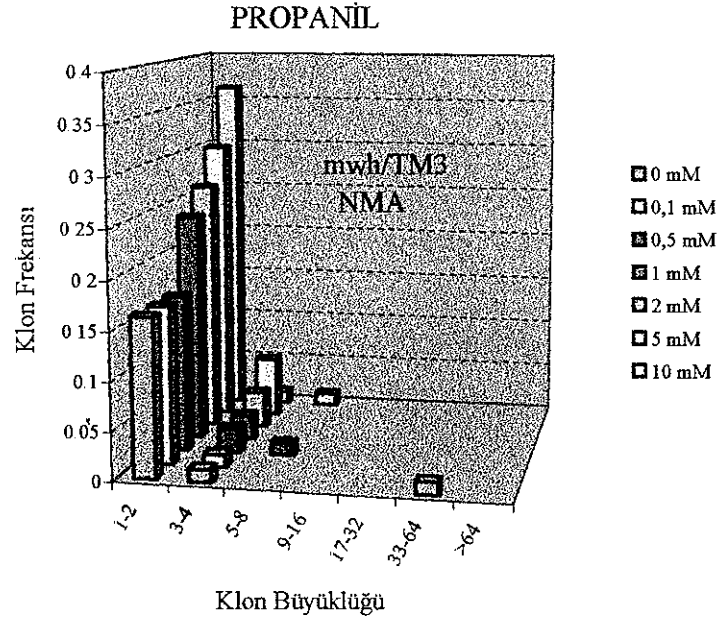
Çizelge 3. 16: Propanil'in *D. metanogaster*'de Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarda Etkileri

Derrişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Klon indüksiyon Frekansı (10 ⁵ hücre)	
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.		Fr.
Normal Kanat													
% 5Aseton	80	12	(0.15)	+	0	(0.00)	3	(0.04)	12	(0.15)	15	(0.19)	0.61
1 mM EMS	80	72	(0.90)	+	73	(0.91)	+	41	(0.51)	+	186	(2.33)	6.56
0.1	80	22	(0.28)	-	2	(0.03)	-	1	(0.01)	-	23	(0.29)	1.18
0.5	80	24	(0.30)	+	4	(0.05)	-	0	(0.00)	-	28	(0.35)	1.43
1	80	28	(0.35)	+	2	(0.03)	-	2	(0.03)	-	30	(0.38)	1.54
2	80	32	(0.40)	+	2	(0.03)	-	1	(0.01)	-	34	(0.43)	1.74
5	80	33	(0.41)	+	4	(0.05)	-	1	(0.01)	-	37	(0.46)	1.90
10	80	33	(0.41)	+	8	(0.10)	+	2	(0.03)	-	40	(0.50)	2.05
Serrat kanat													
% 5Aseton	80	12	(0.15)	-	1	(0.01)	-	-	-	-	13	(0.16)	0.67
1 mM EMS	80	54	(0.68)	+	19	(0.24)	+	-	-	-	73	(0.91)	3.74
0.1	80	14	(0.18)	-	1	(0.01)	-	-	-	-	15	(0.19)	0.77
0.5	80	21	(0.26)	-	0	(0.00)	-	-	-	-	21	(0.26)	1.08
1	80	27	(0.34)	+	0	(0.00)	-	-	-	-	27	(0.34)	1.38
2	80	28	(0.35)	+	1	(0.01)	-	-	-	-	29	(0.36)	1.49
5	80	28	(0.35)	+	2	(0.03)	-	-	-	-	30	(0.38)	1.54
10	80	29	(0.36)	+	0	(0.00)	-	-	-	-	29	(0.36)	1.49

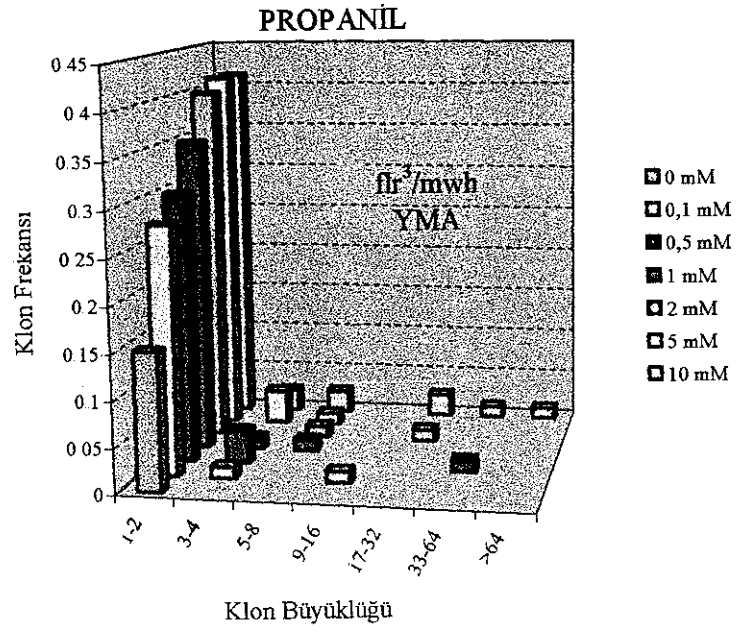
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.



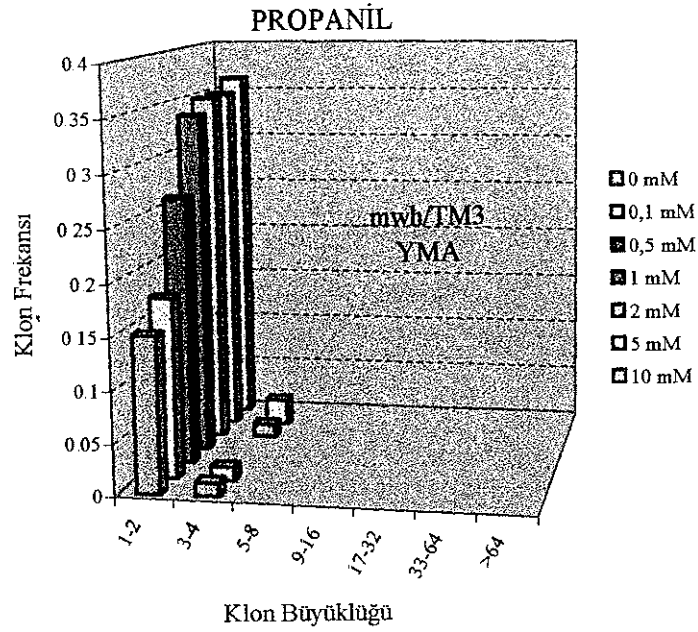
Şekil 3 35: Propanil'in (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3 36: Propanil'in (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3 37: Propanil'in (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3 38: Propanil'in (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

yüksek oranda ve kontrole göre istatistiksel önemde mutant klon frekansı gözlenmiştir (Çizelge 16). Diğer taraftan yüksek metabolik aktiviteye sahip hatların mwh/TM3 genotipindeki bireylerde ise küçük tek tip, mwh ve toplam klonlar kategorilerinde 1, 2, 5 ve 10 mM'lık derişimlerde kontrole göre yüksek ve istatistiksel önemde sonuçlar bulunmuştur. Bu genotipe sahip bireylerden elde edilen sonuçlarda ilk 3 derişimde doza bağılı olarak bir artış gözlenmektedir. Ancak, 1 mM ve daha yüksek derişimlerden elde edilen sonuçlar birbirine çok yakın çıkmıştır. Bu genotipte de diğer genotiplerde olduğu gibi artan doza bağılı olarak bir artıştan daha çok 1 mM'lık derişimden sonra klon frekansının platoya ulaştığı ve artış göstermediği görülmektedir (Çizelge 16).

3.2.8. Trifluralin

Trifluralin, 1963 yılında bir yıllık yeşil ot ve geniş yapraklı yabancı bir çok ota karşı herbisit olarak kullanılmaya başlanmıştır. Standart çaprazlama sonucu elde edilen verilere mwh/flr³ genotipindeki bireylerde bakıldığında, 10 mM'lık derişimin küçük tek tip, mwh ve toplam klonların frekanslarını kontrole oranla istatistiki olarak önemli düzeyde artırmıştır. Etkileri araştırılan diğer derişimlerin oluşturduğu klon frekansları bu kategorilerde istatistiki olarak önemli düzeyde çıkmamıştır (Çizelge 17). Diğer taraftan hem büyük tek tip hem de ikiz klonların frekansları kontrol grubuna yakın oranlardadır. mwh/TM3 genotipine sahip bireylerde ise toplam klonların frekansları 5 mM derişimde kontrole göre önemli düzeyde yüksek çıkmıştır. Bununla birlikte küçük tek tip klonların frekansları 2, 5 ve 10 mM derişimlerde istatistiksel olarak önemli görülmektedir.

Yüksek metabolik aktiviteye sahip hatların mwh/flr³ genotipindeki bireylerinden elde edilen sonuçlarda klon frekansları normal metabolik aktiviteye sahip bireylerdekenden daha yüksek orandadır. Bu genotipteki bireylerde 0.5, 1, 2, 5 ve 10 mM derişimler küçük tek tip, mwh ve toplam klonların frekanslarını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artırdığı görülmektedir (Çizelge 18). Büyük tek tip klonların frekansları ise 2, 5 ve 10 mM derişimlerde önemli düzeylerde bulunmuştur. İkiz klonların frekansları ise çalışılan hiç bir derişim için istatistiksel olarak önemli düzeyde artışa neden olmamıştır. mwh/TM3 genotipindeki bireylerde ise 2, 5 ve 10 mM

derişimler küçük tek tip klonların frekansını önemli düzeyde artırırken 5 ve 10 mM derişimler toplam klonların frekanslarını istatistiksel olarak önemli düzeyde artırmıştır. Diğer taraftan büyük tek tip klonların frekanslarında istatistiksel önemde bir artış görülmemektedir

Çizelge 3. 17: Trifluralin'in *Drosophila melanogaster*'in Normal Metabolik Aktiviteye Sahip Hattarında Etkileri

Derişimler (mM)	Kanat						Klon indüksiyon										
	Sayısı (N)		Küçük tek tip klonlar (1-2 cells) (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwh klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Frekans (10 ⁵ hücre)				
	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.					
Normal Kanat																	
% 5Aseton	80	16	(0.20)	+	4	0.05		1	0.01		20	0.25		21	0.26		1.02
i mM EMS	80	40	(0.50)	+	31	(0.39)	+	16	(0.20)	+	69	(0.86)	+	87	(1.09)	+	3.53
0.1	80	11	(0.14)	-	1	(0.01)	-	3	(0.04)	-	13	(0.16)	-	15	(0.19)	-	0.67
0.5	80	16	(0.20)	-	6	(0.08)	-	1	(0.01)	-	21	(0.26)	-	23	(0.29)	-	1.08
1	80	23	(0.29)	-	3	(0.04)	-	2	(0.02)	-	26	(0.33)	-	28	(0.35)	-	1.33
2	80	20	(0.25)	-	7	(0.09)	-	3	(0.04)	-	24	(0.30)	-	30	(0.38)	-	1.23
5	80	28	(0.35)	-	4	(0.05)	-	1	(0.01)	-	31	(0.39)	-	33	(0.41)	-	1.59
10	80	36	(0.45)	+	1	(0.01)	-	0	(0.00)	-	37	(0.46)	+	37	(0.46)	+	1.90
Serrat Kanat																	
% 5 Aseton	80	13	(0.16)		2	(0.03)					15	(0.19)		15	(0.19)		0.77
i mM EMS	80	33	(0.41)	+	5	(0.06)	-				38	(0.48)	+	38	(0.48)	+	1.95
0.1	80	11	(0.14)	-	0	(0.00)	-				11	(0.14)	-	11	(0.14)	-	0.56
0.5	80	14	(0.18)	-	3	(0.04)	-				17	(0.21)	-	17	(0.21)	-	0.87
1	80	21	(0.26)	-	1	(0.01)	-				22	(0.28)	-	22	(0.28)	-	1.23
2	80	26	(0.33)	+	0	(0.00)	-				26	(0.33)	-	26	(0.33)	-	1.33
5	80	27	(0.34)	+	0	(0.00)	-				27	(0.34)	+	27	(0.34)	+	1.38
10	80	25	(0.32)	+	1	(0.00)	-				26	(0.33)	-	26	(0.33)	-	1.33

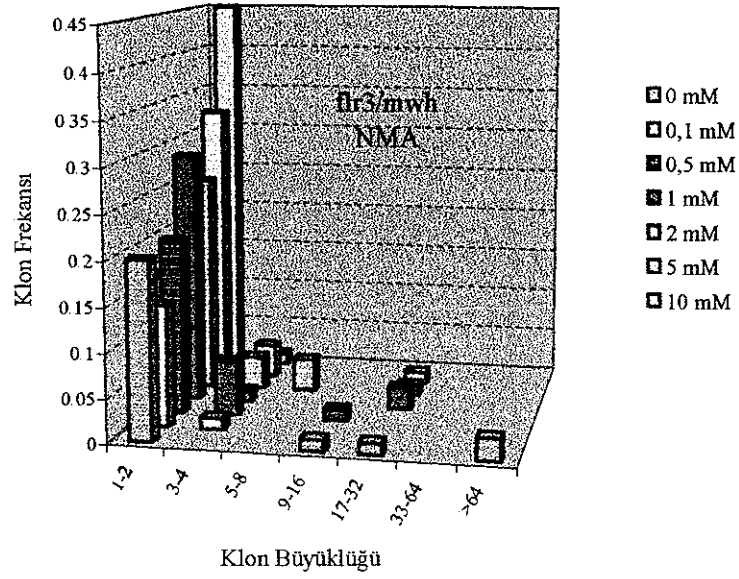
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

Çizelge 3. 18: Trifluralin'in *Drosophila melanogaster*'in Yüksek Metabolik Aktiviteye Sahip Hatlarında Etkileri

Derişimler (mM)	Kanat Sayısı (N)	Kanat						Klon indüksiyon									
		Küçük tek tip klonlar (1-2 cells) (m=2)		Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)		İkiz klonlar (m=5)		Toplam mwn klonlar (m=2)		Toplam klonlar (m=2)		Frekans (10 ⁵ hücre)					
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.		Fr.	D.			
Normal Kanat																	
5% Aseton	80	12	(0.15)		0	(0.00)		3	(0.04)		12	(0.15)		15	(0.19)		0.61
1 mM EMS	80	72	(0.90)	+	73	(0.91)	+	41	(0.51)	+	128	(1.60)	+	186	(2.33)	+	6.56
0.1	80	19	(0.24)	-	0	(0.00)	-	0	(0.00)	-	19	(0.24)	-	19	(0.24)	-	0.97
0.5	80	26	(0.33)	+	4	(0.05)	-	1	(0.01)	-	29	(0.36)	+	31	(0.39)	+	1.49
1	80	39	(0.49)	+	2	(0.03)	-	0	(0.00)	-	41	(0.51)	+	41	(0.51)	+	2.10
2	80	32	(0.40)	+	9	(0.11)	+	4	(0.05)	-	41	(0.51)	+	45	(0.56)	+	2.10
5	80	36	(0.45)	+	10	(0.13)	+	2	(0.03)	-	45	(0.56)	+	48	(0.60)	+	2.31
10	80	36	(0.45)	+	6	(0.08)	+	6	(0.08)	-	40	(0.50)	+	48	(0.60)	+	2.05
Serrat Kanat																	
5% Aseton	80	12	(0.15)		1	(0.01)					13	(0.16)		13	(0.16)		0.67
1 mM EMS	80	54	(0.68)	+	19	(0.24)	+				73	(0.91)	+	73	(0.91)	+	3.74
0.1	80	15	(0.19)	-	1	(0.01)	-				16	(0.20)	-	16	(0.20)	-	0.82
0.5	80	16	(0.20)	-	2	(0.03)	-				18	(0.23)	-	18	(0.23)	-	0.92
1	80	20	(0.25)	-	1	(0.01)	-				21	(0.26)	-	21	(0.26)	-	1.08
2	80	24	(0.30)	+	0	(0.00)	-				24	(0.30)	-	24	(0.30)	-	1.23
5	80	23	(0.29)	+	3	(0.04)	-				26	(0.33)	+	26	(0.33)	+	1.33
10	80	28	(0.35)	+	1	(0.01)	-				29	(0.36)	+	29	(0.36)	+	1.49

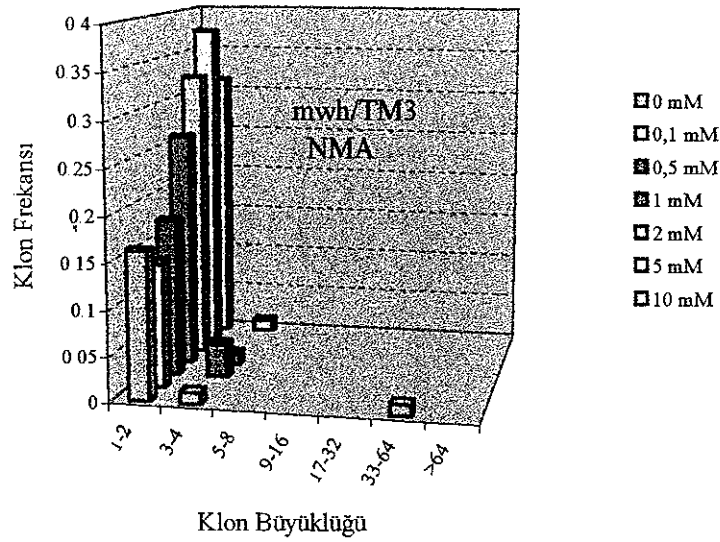
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m=çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

TRİFLURALİN

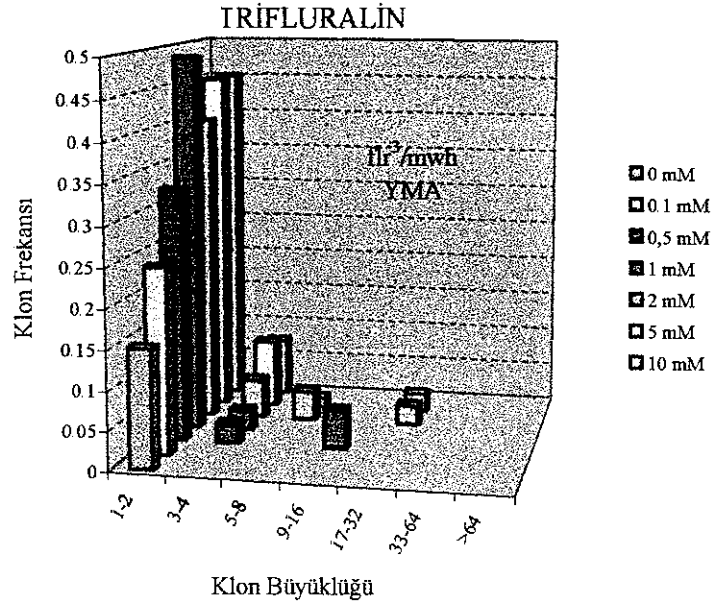


Şekil 3.39: Trifluralinin (NMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

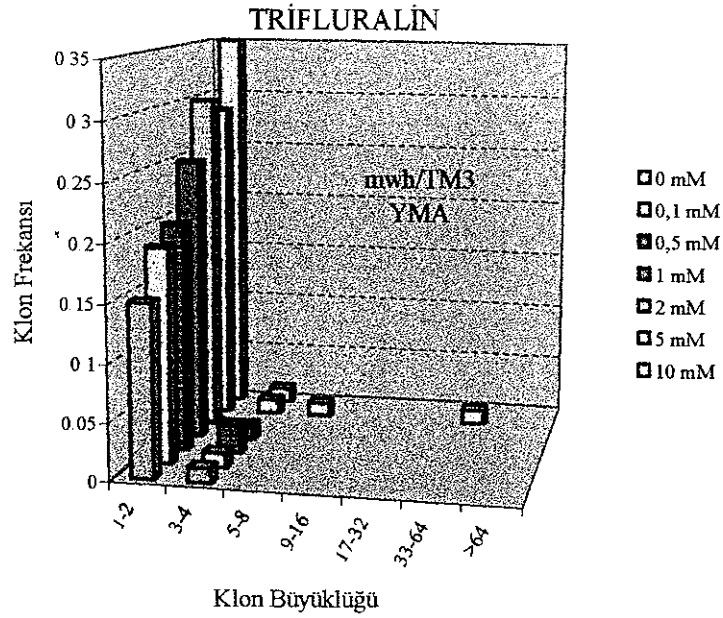
TRİFLURALİN



Şekil 3.40: Trifluralinin (NMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3.41: Trifluralinin (YMA'ye sahip normal kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı



Şekil 3.42: Trifluralinin (YMA'ye sahip Serrat kanatlı bireylerde) klon frekans dağılımı

4. TARTIŞMA

Tarımda ürün verimini artırmak için seracılık, gübreleme, bitki ıslahı, hormon ve pestisit kullanımı gibi bir çok yöntem uygulanmaktadır. Bu yöntemlerden en yaygın olarak kullanılan yöntemin ise pestisit kullanımı olduğu bilinmektedir. Pestisitlerle kontrol altına alınmak istenen zararlı türlerin, kullanılan pestisitler nedeniyle direnç mekanizmaları geliştirmeleri bilinmektedir. Ayrıca pestisitlerin kullanımındaki bilinçsizlik nedeniyle dünyanın bir çok yerinde araştırmalarla belirlenmiş uygun derişimin üzerinde kullanıldığı görülmektedir. Pestisitlerin belirlenmiş uygun dozdan daha fazla miktarda kullanılması gerek doğal dengenin bozulması ve gerekse sağlık açısından; toksik, mutajenik, kanserojenik ve teratojenik etkileri bakımından oldukça önemlidir.

Bu çalışmada Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak kullanılan 5 herbisit (Amitrol, Dikuat, Metribuzin, Prometrin ve Terbutrin)'in dört derişimi ve ülkemizde yaygın olarak kullanılan 8 herbisit (Bentazon, Bentiokarb, Glifosat, İzooktilester, Maleik hidrazit, Molinat, Propanil ve Trifluralin)'in altı farklı derişimi *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile mutajenik ve rekombinojenik özellikleri bakımından *in vivo* olarak test edildi.

Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak kullanılan 5 herbisitten elde edilen sonuçlara bakıldığında (Çizelge 1-2) Amitrol'ün açık bir şekilde küçük tek tip, büyük tek tip ve toplam klonların frekansını istatistiksel olarak önemli düzeyde artırdığı görülmektedir. Fakat genotoksik etkileri araştırılan diğer herbisitlerde böyle etkiler tespit edilememiştir. Farklı test sistemleri kullanılarak bu herbisitlerin genotoksik etkilerinin değerlendirildiği çalışmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında kullanılan test sistemine bağlı olarak oldukça farklı sonuçların elde edildiği görülmektedir.

Amitrol'ün genotoksik etkileri memeli detoksifikasyon enzimlerini taşıyan fraksiyonlar kullanılarak amitrolün parçalanma ürünlerinin mi? yoksa Amitrol'ün kendisinin mi? daha mutajenik olduğunun araştırıldığı çalışmada amitrolün metabolitlerinin mutajenik etkisine rastlanmamıştır (Dunkel vd 1988; Zeiger vd 1988).

Benzer negatif sonuçlar fare embriyonik fibroblastları kullanılarak yapılan hücre transformasyon sisteminde (Dunkel vd 1988), L51781 farelerinde tk⁺ / tk⁻ lenfoma hücreleriyle yapılan ileri (forward) mutasyon testinde (Mc Gregor vd 1987), *Aspergillus nidulans*'ın model organizma olarak kullanıldığı somatik rekombinasyon ve ileri mutasyonun induksiyonu testinde (Crebelli vd 1986), kobay ovaryum hücreleri (CHO) (Tennant vd 1987), fare kemik iliği (Stevens ve Summer 1991) ve insan lenfosit hücreleri (Meteroja vd 1976) gibi bir çok memeli hücreleri kullanılarak Amitrolün klastojenik etkilerinin tespiti için yapılan testlerde, *Drosophila* eşeye bağlı resesif letal mutasyon ve eşey kromozomlarında ayrılmama testlerinde (Laamanen vd 1976) ve diğer testlerde (Richardson 1992) de negatif sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen negatif sonuçların tersine *Streptomyces coelicolor*'da mutajenik etkilerin belirlenmesi testinde (IPCS 1994), kobay embriyo hücrelerinde (Tsutsui 1984), memeli hücrelerinde kardeş kromatidlerde parça değişimi ve planlanmamış DNA sentezi testlerinde (de Serres ve Ashby 1981; Tennant vd 1987) ve mayadaki mitotik rekombinasyon (de Serres ve Ashby 1981) çalışmalarında amitrol herbisitinin mutajenik olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, amitrol için elde edilen veriler Tripaty ve arkadaşları (1990) tarafından kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi kullanılarak yaptıkları çalışmadan elde edilen sonuçlar ile desteklenmektedir. Bu çalışmada dengeleyici kromozom taşıyan (Serrat kanatlı) bireylerin kanatlarının incelenmesiyle elde edilen mwh mutant klonların frekansı ile normal kanatlara sahip bireylerin kanatlarının mikroskopta analiz edilmesiyle elde edilen mwh klonların frekanslarının karşılaştırılmasıyla gerçekleşen rekombinasyon hakkında fikir sahibi olmak mümkündür. Buna göre, amitrolün çalışılmış olan iki yüksek derişiminde rekombinasyonun % 50' den daha yüksek olduğu (0.5 mM derişimde % 53.21 ve 1 mM derişimde % 55.61) görülmektedir. Bu sonuçlara göre amitrolün bu iki derişiminin *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde hem mutajenik hem de rekombinojenik olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 1 mM'dan daha yüksek derişimlerinde *Drosophila* larvaları için toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Metribuzin'in genotoksisitesi hakkında şimdiye kadar yapılmış olan çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Metribuzin, bakteriyal reversiyon (geri dönüşüm) testi (Moriya vd 1983) ve mikrotitrasyon SOS kromotest işlemlerinde genotoksik olmadığı

tespit edilmiştir (Xu ve Schurr 1990). Bununla birlikte, *Escherichia coli*' de β galaktosidaz enziminin kalitatif olarak ölçülmesi prensibine dayanan modifiye edilmiş SOS mikrolate işleminde düşük mutajenik etki göstermiştir (Venkat vd 1995). Metribuzin'in *Rana catesbiana* eritrositlerinde tek hücre jel elektroforezi tekniği (Single cell gel electrophoresis = COMET) kullanılarak yapılan çalışmada artan derişime bağılı olmaksızın DNA ipliklerinde kırıklara neden olduğu belirlenmiştir (Clements vd 1997). Metribuzinin genotoksik etkisi in vitro koşullarda radyoaktif işaretleme yöntemiyle DNA'da meydana getirdiği hasar, kontrol grubundan elde edilen verilerle karşılaştırıldığında oluşan hasar istatistiki önemde görülmüştür (Shah vd 1997). Şimdiye kadar yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, kullanılan model organizma ve çalışılan teste bağılı olarak farklılıklar göstermektedir. Yapılan makale araştırmalarında bu herbisit *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi kullanılarak genotoksik etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre metribuzin *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde mutajenik ve rekombinojenik olmadığı tespit edilmiştir.

Prometrin herbisitinin *Saccharomyces cereviciae*'de nokta mutasyonu indüklemesi (Richardson 1992) ve bakterilerin model organizma olarak kullanıldığı çalışmalarda, ortama aktif fare mikrozomal enzimlerinin eklendiği ve eklenmediği koşullarda bu herbisit mutajenik olduğu belirlenmiştir (Egert ve Greim 1976). Buna karşın, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* ve memeli hücre kültürleriyle yapılan bir çok testde genotoksik etkisi saptanamamıştır (Richardson 1992; Ciba-Geigy 1987). Bu çalışmadan elde edilen negatif sonuçlar daha önceki bir çok çalışma ile de desteklenmektedir. Bu çalışmada kullanılan ökaryotik organizma olan *Drosophila* ve önceki çalışmalarda kullanılmış olan diğer ökaryotik organizmalardan elde edilen sonuçlar aynı doğrultudadır. Elde edilen verilere dayanılarak prometrin herbisitinin kullanılan test ve model organizma için mutajenik ve rekombinojenik olmadığı görülmektedir.

Metribuzin'de olduğu gibi terbutrin herbisitinin mutajenik etkisi üzerine şimdiye kadar yapılmış fazla araştırmaya rastlanmamıştır. Bu herbisit için yapılmış olan çalışmaların Amerika Çevre Koruma Kurumu (U.S. EPA: Environmental Protection

Agency) tarafından yapılmış derlemesine bakıldığında uygulanmış olan bir çok testde terbutrinin genotoksik etkisine rastlanmamıştır (EPA 1986) Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, şimdiye kadar yapılmış ve Amerika Çevre Koruma Krumu tarafından derleme olarak yayınlanmış çalışmalardan elde edilen verilerde olduğu gibi bu herbisitinin *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde de mutajenik ve rekombinojenik etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir

Dikuat dibromid'in genotoksik etkilerini saptamak için daha önce yapılmış olan çalışmalara bakıldığında hem pozitif hem de negatif sonuçların varlığı dikkati çekmektedir. Dikuat'ın *S. cereviciae*'de gen mutasyonları (Siebert ve Lemperle 1974), *S. typhimurium*'da gen mutasyonları ve DNA hasar tamiri, *A. nidulans*'da letal resesif hasarın indüklenmesi ve insan epitel hücrelerinde oluşan genetik hasarlar üzerine yapılan çalışmalarda pozitif sonuçlar elde edilmiştir (Benigni vd 1979). Yukarıdaki çalışmalardan elde edilen sonuçların tersine Ames testi (Hayes ve Laws 1991), fare hepatositlerinde *in vitro* koşullarda programlanmamış DNA sentezi çalışmasında (Probst vd 1981), farelerde dominant letal test (Pasi vd 1974; Anderson vd 1976) ve *Drosophila* letal mutasyon testi ve farelerde kromozomal aberasyonlar testi (Hayes ve Laws 1991; Selypes vd 1980) ile dikuat dibromid'in mutajenik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda bu herbisitinin mutajenik olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; dikuat dibromid'in kullanılan testde mutajenik olmadığını gösteren sonuçlarla daha önceki bir çok çalışmalardan elde edilen sonuçların aynı doğrultuda olduğu görülmektedir. Dikuat, *Drosophila*'nın model organizma olarak kullanıldığı testlerle yapılmış bir çalışması olmadığı için bu çalışmadan elde edilen sonuçlar diğer çalışmaları da desteklemektedir. Dikuat genotoksik etkisini esas olarak katyonlarla göstermesine karşın dibromid ve diklorid gibi bir çok anyonun da genotoksik etki göstermesi muhtemeldir. Bu nedenle bu kimyasalın anyonlarının genotoksik etkileri başka çalışmalarda desteklenmelidir.

Arilamid herbisit grubundan olan propanil esas olarak pirinç yetiştirme alanlarında pirinç bitkisine zarar vermeden yabancı otların yok edilmesi amacıyla kullanılmaktadır (Hayes ve Laws 1991). Propanil herbisitinin çeşitli organizmalardaki zararlı etkilerini saptamak için değişik testler kullanılmıştır. Propanil, farelerde derişime

bağlı olarak immünotoksik etkiye sahip olduğu (Barnett ve Gandy 1989) ve tarım alanlarında bu herbisite maruz kalan işçilerde klorakne şeklinde deri hasarına (Morse vd 1979) neden olduğu gösterilmiştir. Propanil'in bir aromatik amid olması nedeniyle teorik olarak genotoksik etki göstermesi beklenmektedir. Bununla birlikte, Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda negatif sonuçlara sahip çalışmalara çok az sayıda da olsa rastlanmıştır. Bu herbisit, bakterilerde gerek kendisi gerekse metabolizma sonucu parçalanma ürünleri ile nokta mutasyonların oluşumunu artırmadığı gözlenmiştir (Moriya vd 1983; Garret vd 1986; Mc Millan vd 1988). Ayrıca kobay ovaryum hücrelerinde yapılan nokta mutasyon ve programlanmamış DNA sentezi testlerinde negatif sonuçlar elde edilmiştir (Mc Millan vd 1988). Bu verilerin ışığında bu çalışmadan elde edilen pozitif sonuçlar, kullanılan *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinin mutajenitenin saptanması için oldukça hassas olduğunu göstermektedir. Propanil'in Sitokrom P-450 izoenzimlerini indüklediği Mc Millan ve arkadaşları (1990) tarafından belirlenmiştir. Sitokrom P-450 aktivitesinin yüksekliği ile karakterize olan bireylere uygulanmasından elde edilen pozitif sonuçlar bu herbisitın parçalanma ürünlerinin kendisinden daha mutajenik olduğunu göstermektedir.

1948 yılında ticari olarak satılmaya başlanan maleik hidrazit, bitki büyüme depresanı ve temel herbisit olarak kullanılmaktadır (William ve Salamone 1994). Bu çalışmada standart çaprazlama sonucu oluşan normal kanatlara sahip bireylerden elde edilen verilerde bütün mutant klonların frekansında artış görülmektedir (Çizelge 11). Bununla birlikte aynı çaprazlamadan elde edilen dengeleyici kromozoma sahip serrat fenotipli bireylerde mutasyon frekansı belirgin bir şekilde düşmüştür. Bu sonuçlar bu herbisitın mitotik rekombinasyonu indüklediğini göstermektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, *Drosophila* kanat somatik mutasyon testi ile sadece normal metabolik aktiviteye sahip bireyler kullanılarak yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar (Torres vd 1992) ve insan lenfositleri kullanılarak yapılan mutasyon testlerinde bu herbisitın genotoksik etkiye sahip olduğunu gösteren sonuçlarla da desteklenmektedir (Ribas vd 1996). Ayrıca, bu herbisitın bitkilerde de genotoksik ajan olarak görev yaptığı yapılan çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir (Swietlinska ve Zuk 1978; Xiao ve Ichikawa 1995). Bununla birlikte, hayvan hücreleri kullanılarak yapılan çalışmalarda hem negatif hem de pozitif sonuçlar elde edilmiştir (Meschini vd 1988). Çizelge 12'ye bakıldığında maleik

hidrazitin metabolizma sonucu genotoksik potansiyelini büyük ölçüde kaybettiği görülmektedir. Ribas ve arkadaşları (1996) tarafında insan lenfosit hücrelerinde kardeş kromatidlerdeki parça değişimi testini kullanarak yaptıkları çalışmada, biyotransformasyonu sağlamak için ortama S9 ekledikten sonra kardeş kromatidlerdeki parça değişiminin S9 eklenmeden önceki verilere göre oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla aynı doğrultudadır. Maleik hidrazit'in genotoksik etkisini belirlemek için insan lenfositleri kullanılarak yapılan COMET testinde ortam pH'sının genotoksisiteyi oldukça etkilediği belirlenmiştir (Ribas vd 1995). Bu nedenle değişik çalışmalarda farklı organizmalarda elde edilen çeşitli sonuçlar kullanılan ortamın pH'sı nedeniyle ortaya çıkmış olabilir.

Glifosat herbisitinin normal metabolik aktiviteye sahip bireylerde küçük tek tip ve toplam klonların frekanslarında kontrole göre istatistiki önemde artışa neden olmasına karşın yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerden elde edilen sonuçların kontrolden farklı olmaması maleik hidrazit herbisitinde olduğu gibi metabolik transformasyonla genotoksik potansiyelini kaybettiğini göstermektedir. Glifosat'ın genotoksikolojik etkisinin çalışıldığı önceki çalışmalarda kullanılan organizmaya bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Li ve Long (1988)'un *S. typhimurium* ve *E. coli* reversiyon (eski haline dönme) testleri, *Bacillus subtilis*'te rekombinasyon, kobay ovaryum hücrelerinde gen mutasyonu, primer hepatosit kültüründe DNA tamiri, sıçan kemik iliğinde *in vivo* sitogenetik testler gibi bir çok *in vitro* ve *in vivo* testler kullanılarak yapılan çalışmalarda glifosat'ın genotoksik olmadığı tespit edilmiştir. Ancak Rank ve arkadaşları (1993)'nin yaptığı çalışmada *Salmonella* testinde gerek S9 karışımının eklendiği çalışmalarda glifosat'ın zayıf mutajen olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, aynı araştırmacıların fare kemik iliği hücrelerini kullanarak yaptıkları mikronükleus testinde ve allium anafaz-telofaz testinde negatif sonuçlar gözlenmiştir. Bununla birlikte, *Rana catesbeiana*'nın eritrositlerinde klastojenik etkiye sahip olduğu (Clements vd 1997), *Drosophila* eşeye bağlı resesif letal mutasyon testinde spermatozit ve spermatogonialarda yüksek oranda mutasyona neden olduğu (Kale vd 1995), *in vitro* koşullarda insan lenfosit hücrelerinde yapısı bozulmuş hücrelerin oranını önemli derecede artırdığı ve kardeş kromatidlerde parça değişimini (sister chromatid exchange) az oranda indüklediği belirlenmiştir (Lioi vd 1998). Bu çalışmadan elde edilen

sonuçlara bakıldığında normal metabolik aktiviteye sahip olan ve dengeleyici kromozom taşıyan bireylerde hiç pozitif sonuç elde edilememişken dengeleyici kromozom taşımayan bireylerde, yüksek derişimlerde pozitif sonuçlar görülmektedir (Çizelge 7) Bu sonuçlar glifosat'ın *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde daha çok rekombinojenik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerde hem dengeleyici kromozom taşıyan hem de taşımayan serrat kanatlı bireylerde pozitif sonuçların gözlenmemesi glifosat'ın detoksifikasyon sonucu oluşan parçalanma ürünlerinin rekombinojenik aktivitesini kaybettiğini göstermektedir.

2,4,5-T İzooktilester, klorlu bir fenoksi asetik asittir. Bu herbisit fizyolojik özelliği bakımından doğal bitki büyüme düzenleyicisi olan indol asetik asite benzemektedir. Herbisitin bu özelliği nedeniyle hormon herbisit olarak sınıflandırılmaktadır (Grant 1979) Bir çok pestisitinin genotoksik aktivite profilini belirlemek için yapılan kapsamlı bir çalışmada, 2,4,5-T İzooktilester sadece *B. subtilis* testinde oluşturduğu genetik hasar bakımından kontrol grubundan farklı bulunmuştur. Diğer taraftan *S. typhimurium* ve *E. coli*' de geri mutasyon testinde ve *Saccharomyces cerevisiae* ile yapılan mitotik rekombinasyon testinde negatif sonuçlar elde edilmiştir (Garret vd 1986) 2,4,5-T İzooktilester, *S. cerevisiae*'da geri mutasyon oluşumunu (Zetterberg 1978) ve bitkilerde kromozomal bozuklukları (Al-Najjar ve Soliman 1982) indüklemesine karşın *S. typhimurium*'da nokta mutasyon testinde negatif sonuç göstermiştir (Mortelmans vd 1984). Bu herbisit *Drosophila*'da eşeye bağlı resesif letal mutasyon testi ile incelenmiş ve elde edilen sonuçlar bu herbisitinin yüksek oranda mutajenik olmadığını göstermiştir (Magnusson vd 1977; Zimmering vd 1985) ve yine *Drosophila* aneuploidi testinde negatif sonuçlar bulunmuştur (Magnusson vd 1977). Bununla birlikte, memeli hücreleri kullanılarak yapılan *in vivo* aneuploidi testinde pozitif sonuçlar elde edilmiştir (Chebotar 1980) *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi kullanılarak yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, 2,4,5-T İzooktilester'in normal metabolik aktiviteye sahip bireylerde rekombinojenik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan bu herbisitinin metabolizma ürünleri ne mutajenik ne de rekombinojenik aktiviteye sahip değildir. Daha önceki çalışmaların bir çoğunda da buna benzer sonuçlar elde edilmesi bizim bulgularımızı destekler

niteliktedir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen bulgular, bu herbisitinin daha önce bu test ile değerlendirilmemiş olması nedeniyle ayrı bir önem taşımaktadır. *Drosophila* ile yapılan bu çalışmanın yüksek metabolik aktiviteye sahip bireyler kullanılarak yapılan kısmının bir çok kimyasalın metabolik ürünlerinin genotoksitesini tespit etmedeki hassaslığı Osaba ve ark (1999) tarafından da belirtilmiştir. Bu nedenle de bu herbisitinin yüksek metabolik aktiviteye sahip bireyler kullanılarak yapılan kısmından elde edilen sonuçlar ayrı bir öneme sahiptir.

Tiyokarbamat herbisitlerinden olan Molinat'ın mikrozomal enzimler ve glutatyon sistemi ile metabolize edildiği bilinmektedir (Hayes ve Laws 1991). Molinat uygulamasından normal metabolik aktiviteye sahip bireylerde hem normal kanatlar hem de serrat kanatlardan elde edilen sonuçlara bakıldığında, 10 mM derişimin her iki kanat fenotipine sahip bireylerde de pozitif sonuç vermesi bu derişimin mutajenik ve rekombinojenik aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Ancak daha düşük derişimlerin sadece normal kanatlı bireylerde negatif kontrolden istatistiksel olarak farklı çıkması mutajenik aktiviteden daha çok rekombinojenik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerde de en yüksek derişim olan 10 mM'ın normal kanatlı bireylerde pozitif sonuç elde edilmesi mutajenik etkiye sahip olduğu ve daha düşük derişimlerin ise sonuçların kontrol grubundan farksız olması mutajenik etkisinin olmadığı görülmektedir (Çizelge 14). Bu sonuçlara göre molinatın kendisinin yüksek derişimlerde mutajenik ve rekombinojenik aktivite gösterirken düşük derişimlerde rekombinojenik olduğu, ancak metabolizma sonucu parçalanması ile rekombinojenik aktivitesini kaybettiği görülmektedir.

Molinat'ın aldehit dehidrejenaz gibi bazı enzimleri inhibe ettiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Staub vd 1995, Hart ve Faiman 1995). Bununla birlikte Molinat'ın genotoksitesini değerlendirmek için yapılan çalışmalardan elde edilen veriler çalışılan organizmaya ve kullanılan teste bağlı olarak pozitif veya negatif sonuçlar bulunmuştur. *S. typhimurium*'un TA98, TA100, TA1535, TA1537 ve TA1538 hatları ve *E. coli*'nin WP2 hch hattında geri mutasyon indüklemesi çalışmasında (Moriya vd 1983, Ruiz ve Marzin 1997) ve prokaryotlarda yapılan bir çok kısa süreli *in vitro* testte negatif sonuçlar elde edilmiştir (Carere ve Marpurgo 1981). Bununla

birlikte CFLP farelerinin eritrositlerinde yüksek oranda mikronükleus oluşumuna neden olduğu ve kemik iliğinde yüksek derişimlerin kısmen toksik etkiye sahip olduğu önceki çalışmalarla belirlenmiştir (Pinter vd 1989, 1990). Diğer taraftan Molinat'ın bakteriyel tamir testinde pozitif sonuç gösterdiği (Pinter vd 1989) ve *Vicia faba* kök meristemlerine uygulanmasının kardeş kromatidlerdeki parça değişimini istatistiksel önemde artırdığı tespit edilmiştir (Ma vd 1999). Bu çalışmadan elde edilen yüksek derişimin mutajenik olduğu sonucu daha önce yapılmış olan bir çok çalışmadan elde edilen sonuçlarla da desteklenmektedir. Ayrıca bu herbisit in ökaryotik sistemde *in vivo* olarak yapılan bir mutajenite testi ilk defa test edilmesi nedeniyle elde edilen sonuçlar gelecek çalışmalara ışık tutacak niteliktedir. Diğer taraftan bu herbisit in metabolizma sonucu oluşan metabolitlerinin mutajenik etkilerinin belirlenmesi için şimdiye kadar yapılmış bir çalışmaya da rastlanmamış olması nedeniyle, yüksek metabolik aktiviteye sahip bireyler kullanılarak yapılan çalışmada 10 mM'lık derişimin mutajenik ve rekombinojenik etki göstermesi ileride bu herbisit için yapılacak mutajenite çalışmaları için de önemli bir bulgudur.

1963 yılında ilk defa kullanıma sunulan Trifluralin, geniş yapraklı yabancı otların ve tarım alanında istenmeyen bir yıllık bir çok bitkinin kontrol edilmesi için kullanılmaktadır. Trifluralin herbisitinin prokaryot ve ökaryotlarda yapılan nokta mutasyon ve gen mutasyonları testlerinde, *Drosophila* eşeye bağlı resesif letal mutasyon testinde, prokaryot ve ökaryotlarda primer DNA hasarı oluşumu, kardeş kromatidlerde parça değişimi, kromozom kırılması ve dominant letalite testlerinde (Garret vd 1986) ve *S. cerevisiae*'de mitotik kromozom kaybı testinde (Whittaker vd 1990) mutajenik etkileri yapılmış olan çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir. Bu sonuçların tersine, Trifluralin'in *Drosophila* erkeklerinde kromozomlarda ayrılmamaya neden olduğu (Fouerman 1981, 1988) ve *Drosophila* spermatozoidlerinde yüksek oranda mutajenik etkiye sahip olduğu Kale ve ark (1995) tarafından belirlenmiştir. Trifluralin'in erkek farelerde mikronükleus oluşumunu indüklediği (Gobel vd 1997), insan lenfositlerinde eksisyonla tamir edilebilen DNA lezyonlarının mikronükleuslara dönüşme oranını artırdığı (Surralles vd 1995), çeşitli bitki türlerinde kromozom bozukluklarının oluşumunu (IARC 1991) indüklediği ve insan lenfositlerinde kardeş kromatidlerdeki parça değişimini az miktarda da olsa artırdığı (Ribas vd 1996) yapılan çalışmalarla

tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara genel olarak bakıldığında Trifluralin'in yüksek derişimde mutajenik olduğu ancak Trifluralin'in metabolizma sonucu oluşan parçalanma ürünlerinin kendisinden çok daha yüksek oranda mutajenik ve rekombinojenik etkiye sahip olduğu görölmektedir. Bizim çalışmamızdan elde edilen bulgular genel olarak daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlarla benzer niteliktedir. Diğer taraftan kültüre alınmış insan lenfositlerinde ve fare kemik iliği hücrelerinde trifluralin'in metabolizma ürünlerinin kromozomal hasarları yüksek oranda artırdığı Plinskaya ve ark (1987) tarafından gösterilmiştir. Plinskaya ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadan elde ettikleri sonuçlar bu çalışmadan elde edilen sonuçlar açısından oldukça önemlidir. Trifluralin herbisitinin metabolitlerinin gerek *in vivo* gerekse *in vitro* koşullarda ökaryotik hücreler için mutajenik ve rekombinojenik olduğu görölmektedir.

Bentazon, geniş yapraklı yabancı otlar ve *Carex romans* (ayak otu) mücadelede kullanılan bir herbisittir. Bentazonun mısır bitkisinde sitokrom P450 ile kolayca parçalandığı bilinmektedir (Mc Fadden vd 1990). Sitokrom P450 sisteminin bir çok canlı için ortak olduğu düşünöldüğünde, bu çalışmada uygulanan Bentazon'un da yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerdeki yüksek sitokrom P450 sayesinde kolayca parçalandığı söylenebilir. Ayrıca elde edilen sonuçlara bakıldığında normal metabolik aktiviteye sahip bireylerde ne dengeleyici kromozomu taşıyan serrat kanatlı ne de normal kanatlı bireylerde gözlenen mutasyon frekansı istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı değildir. Ancak yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylerden elde edilen sonuçlara bakıldığında hem serrat kanatlı hem de normal kanatlı bireylerde mutasyon frekansının istatistiksel önemde arttığı görölmektedir. Bu durum, sitokrom P450 enzim sistemi ile kolayca parçalanmış olan bentazon herbisitinin metabolitlerinin biyoaktivasyonla mutajenik ve rekombinojenik hale geldiğini göstermektedir. Diğer taraftan metabolitlerin mutajenik ve rekombinojenik özelliklerinin yanısıra 10 mM derişimin *Drosophila* larvalarına letal etki gösterdiği de görölmüştür. Bentazon'un flowsitometrik analiz ile bu herbisitinin klastojenik etkisi araştırılmış, ancak elde edilen sonuçların istatistiksel önemde olmadığı görölmüştür (Birader ve Rayburn 1995). *S. typhimurium*'un beş hattı (TA98, TA100, TA1535, TA1537 ve TA1538) ile yapılan mutajenite testinde de bu herbisit için negatif sonuçlar elde edilmiştir (Moriya vd 1983).

Bu herbisitinin etkilerini araştırmaya başlamadan önce yapılan literatür araştırmalarında bu herbisitinin mutajenik etkisi için fazla sayıda kaynağa rastlanamamıştır. Bu nedenle, yüksek metabolik aktiviteye sahip bireylere uygulayarak elde edilen sonuçlar ileride yapılacak çalışmalara kaynak sağlaması açısından ayrı bir önem taşımaktadır. Bununla birlikte, normal metabolik aktiviteye sahip bireyler açısından bakıldığında daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar da bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

Tiyokarbamatlar grubundan olan Bentiyokarb (Tiyobenkarb), yabancı otların kontrolünde çok yaygın olarak kullanılan bir herbisittir. Molinat gibi bir tiyokarbamat olan bentiyokarb herbisitinin uygulamalarından elde edilen sonuçlar, Molinat için elde edilen sonuçlara benzer şekildedir (izelge 5 ve 6). Bu çalışmada sitokrom P450 aktivitesinin yüksekliğiyle karakterize olan bireylerden elde edilen sonuçlara bakıldığında bütün sonuçların kontrol grubundan farklı olmadığı görölmektedir (izelge 6). Bentiyokarb'ın sitokrom P450 sistemi ile metabolize edildiği (Cashman vd 1990, Ma 1999) dikkate alındığında bu herbisitinin parçalanma ürünlerinin daha az mutajenik etkiye sahip olduğu görölmektedir (izelge 6). Bentiyokarb ile yapılmış daha önceki çalışmalara bakıldığında, asetilkolin esterase (ACHE), aldehitdehidrogenaz (ALDH) ve adozintrifosfataz (ATPaz) enzimlerinin aktivitelerini baskıladığı belirlenmiştir (Cashman vd 1990, Petyala ve Cetty 1993, Quistad vd 1994, Staub vd 1995). Bentiyokarb'ın enzim aktivitesine olan etkisi üzerine yapılan bu kadar çalışmaya karşın genotoksitesitesi üzerine sadece Kuroda vd ark (1992) 'ın V79 hücrelerinde kardeş kromatidlerde parça değişimi testi ile yaptıkları değerlendirme bulunmaktadır. Bu çalışmanın sonucunda Bentiyokarb'ın kardeş kromatidlerde parça değişimini kontrole göre önemli düzeyde artırmadığı tespit edilmiştir. Çizelge 5 ve 6' da bu çalışmadan elde edilen sonuçlara bakıldığında Bentiyokarb 10 mM derişiminin mutajenik ve rekombinojenik etki gösterdiği, ancak bu herbisitinin metabolik ürünlerinin çalışılan hiç bir derişimde mutajenik etkiye sahip olmadığı görölmektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, Bentiyokarb için yapılacak mutasyon testleri için önemli bir kaynak oluşturacak ayrıca bu herbisit için literatür eksikliğini de kısmen destekleyecektir. Bununla birlikte bu herbisitinin daha bir çok çalışma ile genotoksikolojik etkilerinin belirlenmesine ihtiyaç vardır.

Gerek Dünyada gerekse ülkemizde çok yaygın olarak kullanıldığı bilinen herbisitlerin genotoksikolojik etkileri çalışılan teste ve kullanılan model organizmaya göre değişiklik göstermektedir. Bu çalışmada model organizma olarak kullanılan *Drosophila melanogaster*'in özel hatlarıyla yapılan *in vivo* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi kullanıldı. Çalışmadan elde edilen bulgular önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlara büyük oranda benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte çalışılan bazı herbisitler için çok az çalışmaya rastlanması bu herbisitlerin olası etkileri hakkında fazla bilgiye sahip olmadığımızı göstermektedir. Bu nedenle hakkında az bilgiye sahip olduğumuz bu herbisitlerin diğer test sistemleriyle de çalışılarak daha kapsamlı bilgi edinilmesi gerekmektedir. Ayrıca çalışmada kullanılan derişimlerin kapsadığı aralığa bakıldığında 0.1 mM gibi çok düşük bir derişimden 10 mM gibi yüksek bir derişime kadar geniş bir spektrumda değerlendirilmiştir. Çalışılan bu derişimlerin pratikte kullanılan derişimleri de kapsadığı göz önünde bulundurulduğunda sonuçlar daha çarpıcı hale gelmektedir. Diğer taraftan genotoksik etkisinin olumsuz olduğu bilinen herbisitlerin kullanımı konusunda ayrı bir dikkat gerekmektedir. Yine bazı herbisitlerin etkilerini parçalanma ürünleriyle gösterdiği gerek bizim çalışmamızla gerekse daha önce yapılmış olan çalışmalarla gösterilmiştir. Bu tür herbisitlerin diğer bir çok test ile de, metabolitlerinin etkileri üzerine çalışmaların yapılması ve daha sonra da bu herbisitlerin gerek kullanım miktarı gerekse kullanım şekli ayrıca gözden geçirilmelidir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak kullanılan beş herbisit (I. Grup) sadece normal metabolik aktiviteye sahip bireyler ve ülkemizde en çok kullanılan 8 herbisit ise hem normal hem de yüksek metabolik aktiviteye sahip bireyler kullanılarak *Drosophila melanogaster*'in kanatlarında mutajenik ve rekombinojenik özellikleri bakımından değerlendirildi. Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak kullanılan beş herbisitten (Amitrol, Metribuzin, Prometrin, Terbutrin ve Dikuat dibromid) sadece Amitrol'ün 0.5 ve 1 mM'lık derişimlerinin mutajenik ve rekombinojenik etkisi saptanırken daha düşük derişimlerden elde edilen sonuçların kontrol grubundan istatistiksel olarak farksız olduğu belirlendi. Diğer taraftan, diğer dört herbisitinin çalışılan hiç bir derişiminde ne mutajenik ne de rekombinojenik etki saptanamadı. Bu gruptaki herbisitlerin sadece normal metabolik aktiviteye sahip hatlarda denenmiş olması nedeniyle bu herbisitlerin yüksek metabolik aktiviteye sahip hatlarda da çalışılarak parçalanma ürünlerinin etkilerinin de araştırılması gerekmektedir. Bu gibi kimyasallar bazen kendileri hiç bir etki göstermezken parçalanma ürünleri yüksek oranda genotoksik olabilmektedir. Bu nedenle, bu herbisitlerin yüksek metabolik aktiviteye sahip hatlarla da çalışılması daha kapsamlı sonuçlar elde etmek açısından önemlidir. Ayrıca bu herbisitlerin genotoksik etkilerinin diğer canlı gruplarını içeren testlerle de araştırılması gereklidir. Diğer taraftan 0.5 ve 1 mM derişimlerde mutajenik ve rekombinojenik olduğu saptanan Amitrol'ün de 1 mM'dan daha yüksek derişimlerde toksik olduğu dikkate alındığında bu herbisitinin tehlikesi göz ardı edilemez.

Diğer taraftan 2. grupta ülkemizde en çok kullanılan 8 herbisit (Bentazon, Bentiokarb, Glifosat, 2,4,5-T izooktilester, Maleik hidrazit, Molinat, Propanil ve Trifluralin) hem normal hem de yüksek metabolik aktiviteye sahip hatlarda denendi. Bu herbisitlerden Maleik hidrazit, Molinat, Propanil ve Trifluralin her iki hatta da mutajenik ve rekombinojenik özellik göstermesi önemli bir sonuçtur. Bu gibi etki gösteren kimyasallar için gerek kendileri gerekse parçalanma ürünlerinin reaktif oldukları söylenebilir. Bu herbisitlerin ülkemizde en çok kullanılan herbisitler olduğu göz önüne alınırsa bu gibi kimyasalların kullanımında bir kontrol mekanizmasının olması gerekliliği vardır. Diğer taraftan Glifosat ve 2,4,5-T izooktilester gibi mutajenik

etki göstermeyip sadece rekombinojenik etkiye sahip olan pestisitler de olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir. İstenmeyen bir bölgede gerçekleşen bazı rekombinasyonların tümör baskılayıcı genleri inaktive etmesi veya proto-onkogenleri aktive etmesi nedeniyle kanserin başlamasına neden olduğu göz önüne alındığında bu gibi etkiye sahip pestisitlerin toplum sağlığı açısından ne derece önemli olduğu daha çarpıcı olarak görülmektedir.

Ülkemizde çok yaygın olarak kullanılan herbisitlerin genotoksik özelliklerinin ortaya çıkarılmasıyla ilgili çok az çalışma vardır. Bu konuda yapılan çalışmalar da bizim bulgularımızı desteklemektedir. Ancak bu çalışmada model organizma olarak kullanılan *D. melanogaster*'in genetik yapı olarak insana büyük oranda benzelik gösterdiği, ökaryotik bir organizma olduğu, ve yapılan çalışmanın da *in vivo* koşullarda yapılmış olması bulgular açısından önemlidir. Ayrıca diğer bazı testlerde negatif sonuçta sahip olan bazı kimyasalların bu testde pozitif sonuç vermesi yapılan testin hassaslığını da göstermektedir. *In vivo* testlerin organizmanın bütünlüğü içinde yapıyor olması nedeniyle herhangi bir pestisite karşı organizma tarafından verilen cevabın böyle bir test ile gösterilmesi daha büyük öneme sahiptir. Genotoksik etkilerin saptanmasında kullanılan diğer bir çok testin genellikle *in vivo* koşullarda yapılmaması güvenilirliğini de azaltmaktadır. Bu amaçla, bu çalışmada kullanılan kullanılan testin yeterli ve hassas olduğu görülmektedir. Ancak bu tür çalışmaların toplum sağlığını doğrudan ilgilendirmesi nedeniyle daha hassas ve güvenilir testlerin geliştirilmesi gereği vardır.

Bu çalışmada belirlenmiş olan derişimlerin mM düzeyinde olduğu düşünülürse sonuçların ne kadar önemli olduğu daha da ortaya çıkmaktadır. Uygulamada bu herbisitler hem daha yüksek derişimde kullanılmakta hem de besin zinciri yoluyla artan derişimlere maruz kalınmaktadır. Özellikle ülkemizde en çok kullanılan herbisitler için çalışmamızda daha düşük derişimler kullanılmış olmasına karşın çalışılan her bir herbisitin kendisi ve/veya parçalanma ürünlerinin mutajenik ve/veya rekombinojenik etkiye sahip olduğu belirlendi. Buna karşın Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak kullanılan beş herbisitten Amitrol dışındakilerin bu testde hiç bir etkiye sahip olmadığı saptandı. Bu sonuçlara göre ülkemizde kullanılan bütün pestisitlerin daha dikkatli seçilip kontrol altında kullanılması gerekmektedir.

Pestisitler içerisinde insan için en tehlikeli olanların doğrudan hayvanları hedef alan kimyasallar olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada etkileri denenmiş kimyasalların herbisitler grubundan olduğu ve özellikle ülkemizde en çok kullanılan 8 herbisitinin ya kendisinin ya da parçalanma ürünlerinin mutajenik veya rekombinojenik olduğu dikkate alınması gereken bir husustur. Çalışma sırasında herbisit uygulanmış larvalardan oluşan ergin bireyler arasında göz, kanat ve bacakların olmaması gibi bazı teratojenik etkiler ve ommotidiumların bazılarının renginde değişim gibi mutajenik etkiler de gözlemlendi. Bu açıdan bakıldığında bu gibi reaktif kimyasalların bazılarının sadece mutajenik ve rekombinojenik değil aynı zamanda da teratojenik etkilere sahip olduğu söylenebilir. Bu çalışmada somatik hücrelerde bazı genetik değişimlere neden olduğu gösterilen herbisitlerin aynı zamanda üreme hücrelerinde de bu gibi değişimler yaparak genetik hasarlı nesillerin oluşumuna neden olabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak, zararlı kontrolünde kullanılan bütün pestisitlerin genotoksik etkisi olabileceği dikkate alınarak toplum sağlığı açısından daha kontrollü olarak uygulanmalıdır. Ayrıca halen kullanılmakta olan pestisitler sürekli olarak daha hassas olan ökaryotik sistemde *in vivo* koşullarda yapılan testlerle çalışılarak elde edilecek sonuçlar göz ardı edilmemelidir. Bu testler sonucunda çok olumsuz etkisi görülen pestisitlerin üretimi ve kullanımı yasaklanmalıdır. Diğer taraftan halen uygulanmakta olan pestisitlerin uzmanlar kontrolünde ve uygun derişimlerde uygulanması sağlanmalıdır. Bazı pestisitlerin genotoksik etkilerini parçalanma ürünleriyle göstermeleri nedeniyle kullanılan pestisitlerin bitki bünyesinde ne oranda bulunduğu rutin çalışmalarla kontrol edilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- ADLER, I D , ASHBY, J and WURGLER, F E. 1989. Screeening for possible human carcinogens and mutagens a symposium report *Mutat. Res* , 213: 27-39.
- AL-NAJJAR, N.R and SOLİMAN A S. 1982 Cytological effects of herbicides. I Effect of 2,4,5-T on meiotic cells of wheat and two related species *Cytologia*, 47: 53-61
- ALONSO-MORAGA, A and GRAF, U. 1989 Genotoxicity testing of antiparasitic nitrofurans in the *Drosophila* wing somatic mutation and recombination test *Mutagenesis*, 4: 105-110
- ALP, F , GİRGIN, H ve DIĞDIOĞLU, B 1985. Parationla bulaşmış tavuk yurmurtalarının embriyonel gelişimdeki toksikolojik ve patolojik değişiklikler üzerinde araştırma *Doğa Bil Derg* , D1 9 (2): 108-112
- AMER, S C. and ALI E M. 1983 Cytological effects of pesticides XIV. Effect of the insecticides dipterex "trichlorphon" on *Vicia faba* plant. *Cytologia*, 48: 761-770
- AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH 1997. Food, nutrition and the prevention of cancer. A global perspective. Part III, Chapter 7, Contaminants; 472-500
- AMES, B N , LEE, F.D and DURSTON, W. 1973 An improved bacterial test system for the detection and clasification of mutagens and carcinogens *Proc. Natl. Acad. Sci.* , (USA) 70: 782-786
- AMES, B.N, McCANN, J. and YAMASAKI, E. 1975 Methods for detecting carcinogens and mutagens with *Salmonella*/mammalian microsome mutagenicity test *Mutat. Res* , 31: 347-364.

- ANDERSON, D., DOBRZYNSKA, M.M., BAŞARAN, N., BAŞARAN, A. and YU, T-W 1998. Flavonoid modulate comet assay responses to food mutagens in human lymphocytes and sperm. *Mutat. Res.*, 402: 269-277.
- ANDERSON, D., MCGREGOR, D.B. and PURCHASE, I.F. 1976. Dominant lethal study with paraquat and diquat in male CD-1 mice, *Mutat. Res.*, 40: 349-358.
- ARROYO, S.G., RUIZ, P.C., ESLAVA, S.C. and PIETRINI R.V. 1988. *Vicia faba* sister chromatid exchanges of the organophosphorus insecticides methyl parathion, dimethoate, oxydemeton methyl, azinphos and phoxim. *Cytologia*, 53: 627-634.
- ASHBURNER, A. 1989. *Drosophila: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1331 pp. New York.
- BAĞRIAÇIK, Ü.E. ve ÜNLÜ, H. 1991. Mutagenic effects of dichlorvos (DDVP) in *Drosophila melanogaster*. *Tr. J. of Biol.*, 15: 108-113.
- BAKER, B.S., CARPENTER, A.I.C. and RIPOLL, P. 1978. The utilization during mitotic cell division of loci controlling meiotic recombination and nondisjunction in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 90: 531-578.
- BARALE, R., SCAPOLI, C., MELI, C., KOSINI, D., MINUNNI, M., MARRAZINI, A., LOPRIENO, N. and BARRAI, I. 1993. Cytogenetics effects of benzimidazoles derivatives in bone marrow. *Mutat. Res.*, 300: 15-28.
- BARNETT, J.B. and GANDY, J. 1989. Effect of acute propanil exposure on the immune response of C57B 1/6 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 12: 757-764.
- BATISTE-ALENTORN, M., XAMENA, N., CREUS, A. and MARCOS R. 1995. Genotoxicity testing of five compounds in three *Drosophila* short-term somatic assay. *Mutat. Res.*, 341: 161-167.

- BAUER, H., DIMITRIATIS, E A and SNYDER, R. 1989 An in vivo study of benzene metabolite DNA adduct formation in liver male New Zealand rabbits. *Arch. Toxicol.*, 63: 209-213.
- BENIGNI, B, BIGNAMI, M, CARERE, A, CONTI, G, CREBELLI, L, DEGLIOTTI, E, GUALANDI, G, NOVELETTO, A, and ORTALI, V. A 1979 Mutational studies with diquat and paraquat *in vitro*. *Mutat. Res.*, 68: 183-193.
- BERG, H, KIIBUS, M and KAUTSKY, N. 1992 DDT and other insecticides in the Lake Kariba ecosystem Zimbabwe *Ambio*, 21(7): 444-450.
- BIGNAMI, M and CREBELLI, R. 1979. A simplified method for the induction of 8-azoguanine resistance in *Salmonella typhimurium*. *Toxicol. Lett.*, 3: 169-175.
- BIGNAMI, M, AULICINO, F, VELCICH, A, CARERE, A and MARPURGO, G 1977 Mutagenic and recombinagenic action of pesticides in *A nidulans*. *Mutat. Res.*, 46: 395-402.
- BIGNAMI, M, CONTI, G, CONTI, L, CREBELLI, R, MISURACA, F, PUGLIA, A.M, RANDOZZA, R, SCIANDRELLO, G and CARERE, A 1980 Mutagenicity of halogenated aliphatic hydrocarbons in *Salmonella*, *Streptomyces* and *Aspergillus*. *Chem. Biol. Interact.*, 30: 9-23
- BIRADAR, D P and RAYBURN, A L 1995. Flowcytogenic analysis of whole cell clastogenicity of herbicides found in groundwater. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 28 (1): 13-17.
- BOLOGNESI, C, PARRINI, M, BONASSI, S, LAMELLO, G and SALANITTO, A 1993 Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides. *Mutat. Res.*, 285: 239-249.

- CARERE, A and MARPURGO, G. 1981. Comparison of mutagenic activity of pesticides in vitro various short term assays, *progr Mutat. Res* , 2: 87-104.
- CARERE, A, ORTALI, V A, CARDAMONE, G, and MARPURGO, G. 1978a. Mutagenicity of dichlorvos and other structurally related pesticide in Salmonella and Streptomyces *Chem. Biol. Interact* , 22: 297-308.
- CARERE, A, ORTALI, V A, CARDAMONE, G, TORRACCA, A M and RASCHELLI, R. 1978b. Microbiological mutagenicity studies of pesticides *in vitro*. *Mutat. Res.* , 57: 277-286.
- CARLISLE, B D, ELLIS, P E and OSBORNE, D.J. 1969. Effects of plant growth regulators on Locusts and cotton stainer bugs. *J. Sci. Fd. Agric.* 20(7): 391-393.
- CASHMAN, J.R, OLSEN, L.D, NISHHIOKA, R S, GRAY, E S and BERN, H A. 1990. S-oxygenation of thiobencarb (bolero) in hepatic preparations from stript bass (*Monere saxotilis*) and mammalian systems. *Chem. Res Toxicol* , 3 (5): 433-450.
- CHEBOTAR, N A. 1980. Cytogenetic and morphogenetic changes in oncogenesis and embriyogenesis of albino rats induced by chloridin and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid in the preovulation phase of meiosis. *Sov Genet* , 16: 781-787.
- CHROMINSKI, A, VISSCHER, S. N A and JURENKA, R. 1982. Exposure to ethylene changes nymphal growth rate and female longevity in the grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. *Naturwissen Schaften*, 69: 45 pp.
- CIBA-GEIGY 1987. Prometryn: Toxicity and safety assessment Ciba-Geigy Corp, Greensboro, NC.

- CLEMENTS, C, RALPH, S. and PETRAS, M. 1997. Genotoxicity of Selected Herbicides in *Rana catesbeiana* Tadpoles Using the Alkaline Single Cell Gel DNA Electrophoresis (Comet) Assay *Environ. Mol. Mutagen.*, 29: 277-288.
- COFFELT, M. A and SCHULTS, P. B. 1988. Influence of plant growth regulators on the development of the *Azalea lace* bug (Hemiptera: Tingidae). *Entomol. Soc. of Am.*, 81(1): 290-292.
- CONSTAIN, J.M. and OWENS, E. T. 1982. Introductions and perspectives of plant genetics and cytogenetic assay. A report of Environmental Production Agency Gene-Tox Program *Mutat. Res.*, 99: 1-11.
- CREBELLI, R., BELLINCAMPI, D., CONTI, G., CONTI, L., MORPURGO, A. and CARERE, A. 1986. Comparative study on selected chemical carcinogens for chromosome malsegregation, mitotic crossing-over and forward mutation induction in *Aspergillus nidulans* *Mutat. Res.*, 172: 139-149.
- De SERRES, F. and ASHBY, J. 1981. Evaluation of short-term tests for carcinogenesis: Report of the International Collaborative Program, Elsevier / North Holland, New York.
- De SERRES, F. J. and SHELLY, M. D. 1978. Higher plant systems as a monitors of environmental mutagens *Environ. Health Perspect.*, 27: 1-206.
- DEAN, B. J., BROOKS, T. M., HADSON-WALKER, G. and HUTSON, D. H. 1985. Genetic toxicology testing of 41 industrial chemicals *Mutat. Res.*, 153: 57-77.
- DERRIDJ, S., FIALA, V. and JOLIVET, E. 1986. Increase of european corn borer (*onstrinia nubilalis*) oviposition induced by a treatment of maize plant with maleic hydrazide: Role of leaf carbohydrate content *Entamol. Exp. Appl.*, 41: 305-310.

- DOVER, M.J. and CROFT, B.A. 1986. Pesticide resistance and public policy
BioScience, 36 (2): 78-85.
- DUFFARD, A.M.E., PERETTI, A.F., CONTARINI, S.C. and DUFFARD, R. 1993.
Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid butyl ester on chick liver.
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 25: 204-211
- DUNKEL, V.C., SCHECHTMAN, L.M., TU, A.S., SIVAK, A., LUBERTI, R.A. and
CAMERON, I.P. 1988. Interlaboratory evaluation of the C3H/10T1/2
cell transformation assay *Environ. Mol. Mutagen.*, 12: 21-31.
- DUNKEL, V.C., ZEIGER, E., BRUSCIK, D., McCOY, E., MCGREGOR, D.,
MORTELMANS, K., ROSENKRANZ, H.S. and SIMMON, V.F. 1984
Reproducibility of microbial mutagenicity assays: I. Tests with
Salmonella typhimurium and *Escherichia coli* using a standardized
protocol *Environ. Mutagen.*, 6 (Suppl. 2): 1-252.
- EGERT, G. and GREIM, H. 1976. Formation of mutagenic N-nitroso compounds
from the pesticides prometryne, dodine and carbaryl in the presence of
nitrite at pH 1. *Mutat. Res.*, 37: 179-186
- EL-RAHAEM, A.R.E., MOHAMED, Y.A. and ZEID, A.M.A. 1997. Growth aspect of
selected *Azobacter* and *Streptomyces* species in response to the herbicide
terbutryn *Acta Microbiol. Polonica*, 46 (3): 285-295
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY 1986. Fact sheet number 104:
Terbutryn. US EPA. Washington D.C.
- EVANS, H.J. and SCOTT, D. 1964. Influence of DNA synthesis on the production of
chromatid aberrations by x-rays and maleic hydrazide in *Vicia faba*
Genetics, 49: 17-38

- FALAKALI, B. 1990 *Drosophila* Genetiği. Ege Üniversitesi Basımevi Basımevi 44 ss., Bornova-İzmir
- FAN, A.M. and JACKSON, R.J. 1989. Pesticides and food safety. *Regulatory Toxicol. and Pharmacol.*, 9: 158-174
- FERREIRO, J.A., SIERRA, L.M. and COMENDATOR, M.A. 1995. Methodological aspects of the white-ivory assay of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 335: 151-161.
- FOUREMAN, P.A. 1981. Identification of aneuploidy inducing chemicals in *Drosophila*. *Environ. Mol. Mutagen.*, 3: 319
- FOUREMAN, P.A. 1988. The TX; Y test for the detection of nondisjunction and chromosome breakage in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 203: 427-444
- FRANK, R., RASPER, J., SMOUT, M.S. and BRAUN, H.E. 1988. Organochlorine residues in adipose tissues, blood and milk from Ontario residents, 1976-1985. *Canadian Journal of Public Health*, 79: 150-158.
- FREI, H. and WÜRGLER, F.E. 1995. Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination test (SMART) in *Drosophila*. *Mutat. Res.*, 334: 247-258.
- FREI, H., and WÜRGLER, F.E. 1996. Induction of somatic mutation and recombination by four inhibitors of eukaryotic topoisomerases assayed in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutagenesis*, 11 (4):315-325
- FREI, H., CLEMENTS, J., HOWE, D. and WÜRGLER, F.E. 1992. The genotoxicity of the anti-cancer drug mitoxantrone in somatic and germ cells of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 279: 21-33

- FREI, H, WÜRGLER, F E, JUON, H., HALL, C.B and GRAF, U. 1985. Aristolochic acid is mutagenic and recombinogenic in *Drosophila* genotoxicity tests. *Arc. Toxicol.*, 56: 158-166
- FREI, H and WURGLER, F E. 1988. Statistical methods to decide whether mutagenic test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive results. *Mutat. Res.*, 203: 297-308
- FRÖLICH, A. 1989 Genotoxizitätsprüfung mit *Drosophila melanogaster*: Neue Testerstämme mit erhöhter metabolischer kapazität Thesis No 8850, 152 pp, ETH-Zurich, Zurich
- FRÖLICH, A and WÜRGLER, F E. 1989 New tester strains with improved bioactivation capacity for the *Drosophila* wing spot test. *Mutat Res.*, 216: 179-187
- FRÖLICH, A and WÜRGLER, F E. 1990 *Drosophila* wing spot test: Improved detectibility of genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Mutat Res.*, 234: 71-80
- FRÖLICH, A and WÜRGLER, F E. 1991. The High Bioactivation Cross for the SMART assay with the wing *Drosophila Inf. Serv.*, 70: 246-247.
- GALSTON, A W. 1970 Herbicides: No margin of safety. *Science*, 167: 237 (Letter).
- GARCIA-BELLIDO, A and DAPENA, J. 1974. Induction, detection and characterization of cell differentiation mutations in *Drosophila*. *Mol. Gen. Genet.*, 128: 117-130.
- GARCIA, BELLIDO and MERIAM, J R. 1971. Parameters of the wings imaginal disc development of *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.*, 24: 61-87.

GARRET, N.E., STACK, H.F. and WATERS, M.D. 1986 Evaluation of the genetic activity profiles of 65 pesticides *Mutat. Res.*, 168: 301-325.

GEORGHIU, G.P. and MELLON, R.P. 1983 Pesticide resistance in time and space pages 1-46. In: GEORGHIU, G.P. and SAITO, T. (editors) *Pest Resistance to Pesticide*. Plenum Press, New York.

GICHNER, T. and PLEWA, M.A. 1998 Induction of somatic DNA damage as measured by single cell gel electrophoresis and point mutation in leaves of tobacco plants. *Mutat. Res.*, 401: 143-152.

GOBEL, I., KEVEKORDES, S., PAV, K., EDENHARDER, R., and DUNKELBERG, H., 1997 In vivo genotoxicity of selected herbicides in the mouse bone-marrow micronucleus test *Arch. Toxicol.*, 71: 193-197.

GONZALEZ-CESAR, E. and RAMOS-MORALES, P. 1997 Sodium azide induced mitotic recombinations in *Drosophila melanogaster* larvae *Mutat. Res.*, 389: 157-165.

GRAF, U. 1995 Analysis of the relationship between age of larvae at mutagen treatment and frequency and size of spots for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Experimentia*, 51: 168-173.

GRAF, U. and SCHAİK, N.V. 1992 Improved highbioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 271: 59-67.

GRAF, U. and WÜGLER, F.E. 1986 The present status of validation of the wing spot test in *Drosophila*. In Ramel, C. et al. (editors) "Genetic Toxicology of Environmental Chemicals, Part B: Genetic Effects and Applied Mutagenesis.", Alan R. Liss, pp. 391-398. New York.

- GRAF, U, FREI, H, KAGI, A, KATZ, A J and WÜGLER, F E 1989 Thirty compounds tested in *Drosophila* wing spot test *Mutat. Res.*, 222: 359-373
- GRAF, U, HALL; C B. and VAN SCHAIK, N. 1990 On the use of excision repair of defective cells in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mol. Mutagen*, 16: 225-237.
- GRAF, U, VAN SCHAIK, N, and WÜGLER, F E 1992. *Drosophila* Genetics "a practical course" 239 pp, New York
- GRAF, U, WÜGLER, F E, KATZ, A J, FREI, H, JUAN, H, HALL, C B and KALE, P.G 1984 Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen*, 6: 153-188
- GRAHAM-BRYCE, I J. 1975 Influence of pesticide properties, environmental factors and formulation on residues in soil, water and crop in IV Pesticide formulations, applications and residues GRAHAM-BRYCE, I.J. (editor) 74-88
- GRANI, W F 1979 The genotoxic effects of 2,4,5-T. *Mutat. Res*, 65: 83-119
- GREEN, M.M, TODO, T, RYO, H and FUJIKAWA, K. 1986 Genetic-molecular basis for a simple *Drosophila melanogaster* somatic system that detects the environmental mutagens. *Proc. Natl. Acad. Sci*, U S A. 83: 6667-6671
- GUSTAFSON, K. and JONSSON, J.K 1993 Ecological risk assesment of the deliberate release of genetically modified microorganisms *Ambio*, 22 (4): 236-242

- GUZMAN-RINCON, J. and GRAF, U. 1995 *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor. Biomonitor and Biomarkers as Indicators of Environmental Change. Butterworth, F.M. (editor) 169-181, New York.
- HÄLLSTRÖM, I. 1985. Genetic regulation of the cytochrome P-450 system in *Drosophila melanogaster* II. Localization of some genes regulating cytochrome P-450 activity *Chem. Biol. Interact* 56: 173-184
- HÄLLSTRÖM, I. and BLANCK, A. 1985. Genetic regulation of the cytochrome P-450 system in *Drosophila melanogaster*. I. Chromosomal determination of some cytochrome P-450-dependent reactions *Chem Biol. Interact*, 56: 157-171
- HÄLLSTRÖM, I., BLANCK, A. and ATUMA, A. 1984. Genetic variation in cytochrome P-450 and xenobiotic metabolism in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Pharmacol.*, 33: 13-20
- HANDERSON, L., WOLFREYS, L., FEDYK, J., BOURNEY, C. and WINDEBANK, S. 1998. The ability of comet assay to discriminate between genotoxins and cytotoxins *Mutagenesis*, 13 (1): 89-94.
- HANSEN, E., MEYER, O. and KRISTIANSEN, E. 1984. Assessment of teratologic effect and developmental effect of maleic hydrazide salts in rats *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, 33: 184-192.
- HART, B.W. and FAIMAN, M.D. 1995. Inhibitors of rat liver low Km aldehyde dehydrogenase by thiocarbamate herbicide: occupational implications. *Biochem. Pharmacol.*, 49 (2): 157-163.
- HAYES, W.J. and LAWS, E.R. (Eds) 1991 Handbook of pesticide toxicology, Vol 3, Classes of pesticides, Academic Press, Inc., New York

- HOFFMAN, D.J and ALBERS, P.H. 1984 Evaluation of potential embryotoxicity and teratogenicity of 42 herbicides, insecticides, and petroleum contaminants to mallard eggs *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 13: 15-27.
- IARC 1991. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans Occupational Exposures in Insecticide Application, and Some Pesticides, Vol 53, Lyon, France
- IMAMURA, T. and TALCOTT, R.E. 1985 Mutagenic and alkylating activities of organophosphate impurities of commercial malathion *Mutat. Res.*, 155: 1-6
- INTERNATIONAL PROGRAM ON CHEMICAL SAFETY (IPCS) 1994. Amitrole WHO Environmental Health Criteria 158 Geneva
- KALE, P.G., PETTY, B.T., WALKER, S., FORD, J.B., DEHCORDI, N., TARASIA, S., IOSIE, B.O., KALE, R. and SOHNI, Y.R. 1995. Mutagenicity testing of nine herbicides and pesticides currently used in agriculture *Environ. Mol. Mutagen.*, 25: 148-153.
- KAPPAS, A. 1988. On the mutagenic and recombinogenic activity of certain herbicides in *Salmonella typhimurium* and *Aspergillus nidulans*. *Mutat. Res.*, 204: 615-621
- KASTENBAUM, M.A. and BOWMAN, K.O. 1970. Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies, *Mutat. Res.*, 9: 527-549
- KATZ, A.J. 1987. Genotoxicity effects of cisplatin in somatic tissue of *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mol. Mutagen.*, 10: 197-203.
- KATZ, A.J. and FOLEY, T.A. 1993. Effects of temperatures on frequencies of spots in *Drosophila* wing spot assay. *Environ. Mol. Mutagen.*, 22: 54-58

- KAYA, B., ve YANIKOĞLU, A 1999. 2,4-D ve 4-CPA'nın *Drosophila melanogaster*'in F₁, F₂, F₃ kuşaklarında gelişim süresi ve ergin birey sayısına etkileri. *Tr. J. of Zool.*, 23 (1): 297-301
- KAYA, B., YANIKOĞLU, A. and MARCOS, R 1999 Genotoxicity studies on the phenoxyacetates 2,4-D and 4-CPA in the *Drosophila* wing spot test. *Teratogen. Carcinogen. and Mutagen.*, 19: 305-312
- KENCE, M ve KENCE, A 1988 Karasineklerde (*Musca domestica* L.) malathion direncinin ekolojik Genetiği IX Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiriler, Cilt 1 Sivas, 321-325
- KING, H. and LUNFORD, R 1950. The relation between the constitution of arsenical and their action on cell division. *J. Chem. Soc.*, 8: 2086-2088
- KLINGMAN, C G., ASHTON, M. F. NOORDHOFF, J. L. 1975. Weed science, principles of practices John Wiley and sons. New York, VIII + 431 pp
- KOCA, S ve BİLALOĞLU, R 1988 2,4-D'nin *Schistocerca gregaria* FORSKAL erkeklerinde kiasma frekansı ve meiotik bölünmeye etkileri. IX Ulusal Biyoloji Kongresi V, 287-295
- KUMARI, J. and KRISHNAMURTHY, B 1986 Mutagenicity studies with saftotin in *Drosophila melanogaster* and mice. *Environ Res.*, 41: 44-52
- KUMARI, I S and VAIDYANATH, K 1989. Testing of genotoxicity effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) using multiple genetic assay systems of plants. *Mutat. Res.*, 226: 235-238.
- KURODA, K., YAMAGUCHI, Y and ENDO, G. 1992 Mitotic toxicity, sister chromatid exchange and rec assay of pesticides. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 23: 13-18.
- KURTZ, D.J., DESKIN, R. and HARRINGTON, R.M 1989 Pesticides In: A.W HAYES (editor), Principle and methods of toxicology, Chapter 5, Second Edition, 137-167., New York.

- LAAMANEN, I, SORSA, M, BRAMFORD, D, GRIPENBERG, U, and MERETOJA T. 1976. Mutagenicity and toxicity of amitrole I. *Drosophila* tests. *Mutat. Res.*, 40: 185-190.
- LERDA, D. and RIZZI, R. 1991. Study of reproductive function in persons occupationally exposed to 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) *Mutat. Res.*, (262): 47-50
- LEWIS, E B and BACHER, F. 1968. Methods of feeding ethylmethanesulfonate (EMS) to *Drosophila* males *Drosophila Inf. Serv.*, 43: 193
- LI, A.P. and LONG, T J. 1988. An evaluation of the genotoxic potential of glyphosate. *Fundam. and Appl. Toxicol.*, 10: 537-546,
- LICHFIELD, M.D. 1999. Occupational accidents and economic cost: Agricultural work related injury and I11-Health and the economic cost. *Environ. sci. and Pollut. Res.*, 6 (3): 175-182
- LILIENFELD, D.E. and GALLO, M.A. 1989. 2,4-D, 2,4,5-T and 2,3,7,8-TCDD: An overview. *Epidemiol. Rev.*, 11: 28-58.
- LILLY L J. 1965. An investigation on the suitability of suppressors of meth A1 in *Aspergillus nidulans* for the study of induced and spontaneous mutation. *Mutat. Res.*, 2: 192-195
- LINDSLEY, D.L. and GRELL, E.H. 1968. Genetic variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Institution of Washington Publ. 627, 472 pp., Washington DC
- LINDSLEY, D.L., and ZIMM, G.G. 1992. "The Genome of *Drosophila melanogaster*", Academic Press, 1133 pp. San Diego, CA

M.B., SCARFI, M.R., SANTORO, A., BARBIERI, R., ZENI, O., SALVEMINI, F., DI BERARDINO, D. and URSINI, M.V. 1998. Cytogenetic damage and induction of pro-oxidant state in human lymphocytes exposed in vitro to glyphosate, vinclozolin, atrazine, and DPX-E9636. *Environ. Mol. Mutagen.*, 32: 39-46.

A.E.C.S., SANDRA, G A RAFAEL, V.P. and MALINALI, E.R. 1999. In vivo and in vitro promutagen activation by *Vicia faba* of thiocarbamate herbicides molinate and butylate to products inducing sister chromatid exchanges in human lymphocytes cultures. *Mutat. Res.*, 438: 81-88.

MAGNUSSON, J., RAMEL, C. and ERIKSSON, A. 1977. Mutagenic effects of chlorinated phenoxyacetic acid in *Drosophila melanogaster*. *Hereditas*, 87: 121-123

MANNO, M. 1996. Herbicides In: J. Descardes (editor) Human Toxicology, Elsevier, pp. 551-559. Amsterdam

MAREC, F. and GELBIC, I. 1994. High recombinogenic activities of three antiviral agents, adenin derivatives in the *Drosophila* wing spot test. *Mutat. Res.* 311: 305-317

MARKERT, C.L. and URSPRUNG, H. 1977. *Entwicklyngsbidogische Genetik Grundlanger der modernen Genetik*, Bd. 10. Gustav Fischer Stuttgart

MAFADDEN, J.J., GRONWALD, J.W. and EBERLEIN, C.V. 1990. In vitro hydroxylation of Bentazon by microsomes from naphthalic anhydride-treated corn shoots. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 168 (1): 206-213

- McGREGOR, D B , MARTIN, R. , CATTANACH, P , EDWARDS, I. , MCBRIDE, D. and CASPARY, W J. 1987 Responses of the L5175Y tk⁺/tk⁻ mouse lymphoma cell forward mutation assay to coded chemicals I: Results for nine compounds. *Environ Mutagen.*, 9: 143-160
- McMILLAN, D C , LEAKEY, J E , ARLOTTO, M P , McMILLAN, J M and HINSON, J A. 1990. Metabolism of the arylamide herbicide propanil II Effects of propanil and its derivatives on hepatic microsomal drug-metabolising enzymes in the rat *Toxicol. Appl Pharmacol.*, 103:102-112
- McMILLAN, D C , SHADDOCK, J E. , HEFLICH, R H , CASCIANO, D.A and HINSON, J A. 1988 Evaluation of propanil and its N-oxidized derivatives for genotoxicity in the *Salmonella typhimurium* reversion, Chinese hamster ovary/hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase, and rat hepatocyte/DNA repair assays *Fundam Appl Toxicol.*, 11:429-439
- MESCHINI, R , QUARANTA, M T , FIORE, M , POLCARO, C. , POSAGNO, E and PALITTI, F. 1988 Chromosomal damage induced by maleic hydrazide in mammalian cells *in vitro* and *in vivo*. *Mutat. Res.*, 204: 645-648
- METEROJA, I. , GRIPENBERG, U , BRAMFORD, D , LAAMANEN, I and SORSA, M. 1976. Mutagenicity and toxicity of amitrole. II Human lymphocytes culture tests *Mutat. Res.*, 40: 191-196
- MIYAKAWA, Y , FUJISHIRO, N , KIJIMA, H and MORITA, H. 1980 Differences in feeding reponse to sugars between adults and larvae in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.*, 26: 685-688
- MORIYA, M , I. , OIHA, K , WATANABE, T , MIYAZAWA, K , KAITO and SHIRASU, Y. 1983 Further mutagenic studies on pesticides in bacterial reversion assay system *Mutat. Res.*, 116: 185-216

- MORO, G.M., DUFFARD, D. and DUFFARD, A.M.E. 1993 Neurotoxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid butyl ester on chick embryos. *Neurochem. Res.*, 18 (3): 353-359
- MORSE, D.L., BAKER, E.L., KIMBROUGH, R.D. and WISSEMAN C.L. 1979. Propanil-chloracne and methomyl toxicity in workers of a pesticide manufacturing plant. *Clin. Toxicol.*, 15: 13-21.
- MORTELMANS, K., HARWORTH, S., SPECK, W. and ZEIGER, E. 1984 Mutagenicity testing of agent orange components and related chemicals *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 75: 137-146.
- MÜLLER, H.J. 1927. Artificial transmutation of the gene. *Science*, 66: 84-87.
- NEGISHI, T., NEGISHI, K., RYO, H., KANDO, S. and HAYATSU, S. 1988. The genotoxicity of N⁴-aminocytidine in the *Drosophila* wing spot test *Mutagenesis*, 3 (1): 11-13.
- ROTHWEL V. N. 1993. Understanding Genetics, A Molecular Approach. A John Wiley & Sons Inc Publ New York 556 pp.
- NICOLOFF, H., RIEGER, R. and MICHAELIS, A. 1991. Modulatory effects of novobiocin and actinomycin, maleic hydrazide and triethylenemelamine in *Vicia faba* *Biol Zent Bl.*, 110: 14-22
- OSABA, L., AGUIRE, A., ALONSO, A. and GRAF, U. 1999. Genotoxicity testing of six insecticides in two crosses of *Drosophila* wing spot test *Mutat Res.*, 136: 233-245
- ÖNDER, F. ve ÇINARLI, İ. 1988 Retardan etkili bitki hormonlarının böcekler üzerinde yan etkileri. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 25 (2):329-339
- ÖNER, C. 1989 Pestisitlerin mutajenik ve bazı bitki özütleri ile kimyasal maddelerin antimutajenik etkilerinin Salmonella-mikrozomal test sistemi ile araştırılması. Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi 71 ss.

- ÖZMEN, M 1996. Toksikolojiye Giriş 114 ss. Ders notu (Yayınlanmamış) Malatya
- PASI, A, EMBREE, J W, EISENLORD, G H and HINE, C H 1974. Assesment of the mutagenic properties of diquat and paraquat in the murine dominant letal test *Mutat Res*, 26: 171-175
- PATON, G R and ALLISON, A C. 1972 Chromosomal damage in human cell cultures induced by metal salts. *Mutat Res*, 16: 332-336
- PAVLICA, M, PAPES, D and NAGGY, B. 1991 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) causes chromatin and chromosome abnormalities in plant cell and cultured mammalian cells. *Mutat Res*, 263: 77-81
- PEREZ-CHIESA, Y and NARVAEZ, Z. 1993. Evaluation of genotoxicity of the indenoisoquinoline analogues of fagaronine and nitidine in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res*, 301: 207-212.
- PETYALA, S N and CHETTY, C S 1993 Comparative study on the changes in AchE and ATPase activities in neonate and adult rat brains under thiobencarb stress. *J. Appl. Toxicol*, 13(1): 39-42
- PIMENTEL, A E P, CRUCES, E and ZIMMERING, S. 1991 Evaluation of mutagenic potential of tepezcohvite in the *Drosophila* wing spot test *Mutat Res* 264: 115-116
- PIMENTEL, D, McLAUGHLIN, L, ZEPP, A, LAKITAN, B, KRAUS, T, KLEINMAN, P, VANCINI, F, ROACH, W J, GRAAP, E, KEETON, W S and SELIP, G. 1991 Environmental and economic effects of reducing pesticide use. *BioScience*, 41(6): 402-409.
- PINTER, A, TOROK, G, SURGAN, A, CSIK, M, BORZSONYI, M and KELECSENYI, Z S 1989 Genotoxicity of selected herbicides. *Ann. Ist. Super Sanita*, 25 (4): 577-581.

- PINTER A., CSIK, M., TOROK, G., SURGAN, A., KELECSENYI, Z S and KOCSIS, Z S 1990 Cytogenetic effect of the thiocarbamate herbicides butylate, molinate, and vernolate in the mouse bone marrow micronucleus test *Mutat. Res.*, 242: 279-283.
- PLEWA, M J and GENTILE, E.D. 1982 The activation of chemicals into mutagens by green plants In de Serres FJ, Hollaender A (Eds): "Chemical Mutagens: Principles and Methods for their detection," Vol 7, Plenum Press, pp 401-420 New York.
- PLEWA, M J and WAGNER E D 1993: Activation of promutagens by green plants. *Annu. Rev. Genet.*, 27: 93-113.
- PLEWA, M.J., WAGNER, E D. GENTILE, G.J. and GENTILE, J.M 1984 An evaluation of the genotoxic properties of herbicides following plant and animal activation. *Mutat. Res.*, 136: 233-245.
- PLINSKAYA M S A 1987 Evaluation of cytogenetic effect of herbicide treflan and of a number of its metabolites on mammalian somatic cells (Russ) *Tsitol. Genet.*, 21: 131-135
- POVOLOTSKAYA, K.L. 1961, On the metabolism of the action of maleic hydrazide in plants *Bull. Acad. Sci U S S R (Russ) Biol. Ser.*, 2: 250-255.
- PROBST, G S., McMAHON, R E., HILL, L E., THOMSON, C Z., EPP, J.K and NEAL, S B. 1981. Chemically-induced unscheduled DNA synthesis in primary rat hepatocyte culture: A comparison with bacterial mutagenicity using 218 compounds. *Environ. Mutagen.*, 3: 11-32.
- QUISTAD, G B., SPARK, S.E and CASIDA J.E. 1994 Aldehyde dehydrogenase of mice inhibited by thiocarbamate herbicides. *Life Sci.*, 55(20): 1537-1544.

- RAHAM; A.T.A and RAGAB, R.A.K 1989. Somatic chromosomal aberrations induced by Benzylphenylurea (XRD 473 and W 7899) in *Vicia faba* L. and *Hordeum vulgare* L.. *Cytologia*, 54: 627-634
- RALPH, S. and PETRAS, M 1998. Caged amphibian tadpoles and in situ genotoxicity monitoring of aquatic environments with the alkaline single cell gel electrophoresis (comet) assay *Mutat. Res* , 413: 235-250
- RANK, J., JENSEN, A.G., SKOV, B., PEDERSEN, L.H and JENSEN, K. 1993. Genotoxicity testing of Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, Salmonella mutagenicity test, and Allium anaphase-telophase test *Mutat. Res* , 300: 29-36
- RIBAS, G., SURRALLES, J., CARBONEL, E., XAMENA, N., CREUS, A and MARCOS, R. 1996. Genotoxicity of the herbicides alachlor and maleic hydrazide in cultured human lymphocytes *Mutagenesis*, 11: 221-227
- RIBAS, G., FRENZELLI, G., BARALE, R. and MARCOS, R. 1995. Herbicides-induced DNA damage in human lymphocytes evaluated by in the single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay *Mutat. Res* , 344: 41-54.
- RICHARDSON M.L (Ed). 1992 The Dictionary of Substances and their Effects, 1st edn , Vol. 1, Royal Society of Chemistry
- RICHARDSON, M.L. 1992 The Dictionary of Substances and their Effects, 1st edn , Vol. 6, Royal Society of Chemistry.
- ROBERTIS, E.M.D. OLIVER, G and WRIGHT, C.V.E 1990. Homeobox genes and the vertebrate body plan. *Scientific American*, July 26-32
- ROBERTIS, D.B. 1986. Basic *drosophila* care and techniques. In: *Drosophila* a practical approach. Roberts, D.B (Ed.) 1-39. Washington DC

- RODRIGUEZ, E M and AMIN, A. O. 1991. Acute toxicity of parathion and 2,4-D to larval and juvenile stages of *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Brachyura). *Bull Environ. Contam. Toxicol*, 47: 634-640.
- RODRIGUEZ-ARNAIZ, R., VOGEL, E W and SZAKMARY, A. 1993 Strong intra-specific variability in the metabolic conversion of six procarcinogens to somatic cell recombinagens in *Drosophila Mutagenesis*, 8 (6): 543-551.
- ROSENKRANZ, H S and KLOGMAN, G. 1996 Relationship between electronegativity and genotoxicity *Mutat Res*, 328: 215-227.
- RUIZ, M J and MARZIN, D. 1997 Genotoxicity of six pesticides by Salmonella mutagenicity test SOS chromotest *Mutat. Res.*, 390: 245-255.
- SALEM, H and OLAJES, E J. 1988. Review of pesticides: uses and toxicology. *Toxicol Ind Health*, 4: 291-321.
- SCHAIK, V N and GRAF, U. 1991. Genotoxicity evaluation of five tricyclic antidepressants in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res*, 260: 99-104.
- SCOTT, D. 1968. The additive effects of x-rays and maleic hydrazide in inducing chromosomal aberrations at different stages of the mitotic cycle in *Vicia faba*. *Mutat. Res.*, 5: 15-92.
- SEILER, J P. 1976. The mutagenicity of benzimidazole and benzimidazole derivatives, VI. Cytogenetic effects of benzimidazole derivatives in bone marrow. *Mutat. Res*, 40: 339-348.
- SELBY, P B and OLSON, W H. 1981. Methods and criteria for deciding whether specific-locus mutation-rate data in mice indicate a positive, negative or inconclusive result *Mutat. Res.*, 203: 297-308.

- SELYPES, A., NAGYMAJTENYI, L. and BRENCSEI, G. 1980 Mutagenic and embryotoxic effects of paraquat and diquat. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 25: 513-517.
- SENGSIANG, C. 1994. The role of mitotic recombination in carcinogenesis. *Crit. Rev. Toxicol.*, 24: 323-353.
- SHAH, R.G., LAGUEUX, J., KAPUR, S., LEVALLOIS, P., AYOTTE, P., TREMBLAY, M., ZEE, J. and POIRIE, G.G. 1997. Determination of genotoxicity of the metabolites of the pesticides Guthion, Sencor, Lorox, Reglone, Daconil and Admire by ³²P-postlabeling. *Mol. Cell. Biochem.*, 169: 177-184.
- SHOPEK, T.R., LIBER, H.L., KROLEWSKI, J.J. and THILLY, W.G. 1978. Quantitative forward mutation in *Salmonella typhimurium* using of 8-azoguanine resistance as a genetic markers. *Proc. Natl. Acad. Sci., (USA)* 75: 410.
- SIEBERT, D. and LEMPERLE, E. 1974. Genetic effects of herbicides: induction mitotic gene conversion in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat Res.*, 22: 111-120.
- SINGH, N.P. and STEPHENS, R.E. 1998. X-rays induced DNA double strand breaks in human sperm. *Mutagenesis*, 13(1): 81-84.
- SPEIT, G., C. DENNOG and L. LAMPL. 1998. Biological significance of DNA damage induced by hiperbaric oxygen. *Mutagenesis*, 13(1): 85-87.
- STAUB, R.E., SPARK, S.E., QUISTAD G.B. and CASIDA J.E. 1995. S-methylation as a bioactivation mechanisms for mono- and dithiocarbamate pesticides as aldehyde dehydrogenase inhibitors. *Chem. Res. Toxicol.*, 8(8): 1063-1069.

- STEINER, S A , STREIB-MONTEE, R , LEATHER, J.M. and CHADWICK, D.B
1998 DNA damage in mussels at sites in San Diego bay. *Mutat. Res* ,
399: 65-85
- STEVENS, J T and SUMNER, D D 1991 Herbicides, in HAYES, W J , JR , LAWS,
E.R , JR (Eds) Handbook of Pesticide Toxicology, Chap 20, Academic
Press, San Diego,
- SURRALLES, J , XAMENA, N , CREUS, A and MARCOS, R , 1995. The suitability
of the micronucleus assay in human lymphocytes as a new biomarker of
excision repair. *Mutat. Res* , 342: 43-57
- SWIETLIŃSKA, Z and ZUK, J 1978 Cytotoxic effects of maleic hydrazide *Mutat.
Res.* , 55: 15-30
- SZABAD, J , SOOS, I , POLGAR, G and HEJJA G. 1983. Testing the mutagenicity of
malondialdehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mozaik and the sex-
linked recessive letal test. *Mutat. Res.* , 113: 117-133.
- TANAKA, R and AMANO, Y. 1989. Genotoxic effects of paraquat and diquat
evaluated by sister-chromatid exchange, chromosomal aberration and
cell-cycle rate *Toxic. in vitro* , 3 (1): 53-57.
- TATE, I M , SPURLOCK, D.J and CHRISTIAN, F.A 1997 Effects of glyphosate
on the development of *Pseudosuccinea columella* snails. *Arch. Environ.
Contam. Toxicol.* , 33: 286-289
- TENNANT, R.W., MARGOLIN, B H , SHELBY, M.D , ZEIGER, E , HASEMAN,
J.K , SPALDING, J , CASPARY, W , RESNICK, M , STASIEWICZ, S ,
ANDERSON, B and MINOR, R 1987 Prediction of chemical
carcinogenity in rodents from *in vitro* genetic toxicity assays *Science*,
236: 933-941

- TORRES, C., CREUS, A and MARCOS, R 1998. Genotoxic activity of four inhibitors of DNA topoisomerases in larval cells of *Drosophila melanogaster* as measured in the wing spot assay *Mutat. Res.*, 413: 191-203
- TORRES, C., RIBAS, G, XAMENA, N., CREUS, A and MARCOS, R 1992 Genotoxicity of four herbicides in the *Drosophila* wing spot test *Mutat. Res.*, 280: 191-295.
- TRIPATY, N K , PATNAIK, K K and MADI, M D J. 1991 Acrylamide is genotoxic to the somatic and germ cells of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* , 259: 21-27
- TRIPATY, N K , WURGLER, F. E and FREI, H 1990 Genetic toxicity of six carcinogens and six non-carcinogens in the *Drosophila* wing spot test. *Mutat. Res.* , 242: 169-180
- TSUDA, S , KOSAKA, Y., MATSUSAKA, N and SASAKI, Y.F. 1998 Detection of pyrimethamine-induced DNA damage in mouse embryo and maternal organs by the modified single cell gel electrophoresis assay *Mutat. Res.*, 415: 69-77
- TSUTSUI, T., MAUZUMI, H and BARRET, J.C. 1984. Amitrole-induced cell transformation and gene mutation in Syrian hamster embryo cells in culture *Mutat. Res.* , 140: 205-207
- TURKULA, T.E and JALAL, S.M 1985 Increased rates of sister chromatid exchanges induced by the herbicides 2,4-D *The Journal of Heredity*, 76: 213-214.
- UYSAL, H ve BAHÇECİ, Z. 1992 *Drosophila melanogaster* larvalarının tükrük bezi politen kromozomlarında oksijensizliğin (Anoxia) gen aktivitesi üzerine etkileri. *Tr. J. of Biol.*, 16: 67-74.

- VAGLENOV, A.K. and KARADJOV A.G. 1997. Micronucleus frequencies in Bulgarian control populations. *Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 3 (3): 187-194
- VAGLENOV, A.K., BLIZNAKOV, V.V. and KARADJOV A.G. 1997a. Cytogenetic monitoring of workers from a nuclear power plant. *Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 3(1): 40-47.
- VAGLENOV, A.K., LALICH, S.G., NOSKO, M.S., PAVLOVA, S.P., PETKOVA, V.V. and KARADJOV, A.D. 1997b. Cytogenetic monitoring of workers exposed to lead. *Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 3(4): 298-308
- VAGLENOV, A.K., YANEVA, E.G., LALICH, S.G., NOSKO, M.S., PETKOVA, V.V., PAVLOVA, S.D., DONEVA, K.V., DEMIROVA, H.I. and KEHAJOV, D.A. 1997c. Antimutagenic prophylaxis of occupational risk group. *Cytogenetic Investigations*, 3 (2): 114-124.
- VALENCIA, R., MASON, J.M. and ZIMMERING, S. 1989. Chemical mutagenesis testing in *Drosophila*. VI Interlaboratory comparison of mutagenicity tests after treatment of larvae. *Environ. Mol. Mutagen.* 14: 238-244
- VALENCIA, R.L., ABRAHAMSON, S., LEE, W.R., VON HALLE, E.S., WOODRUFF, R.C., WÜGLER, F.E. and ZIMMERING, S. 1984. Chromosomal mutation tests for mutagenesis in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 134: 61-88
- VENKAT, S., SHAMI, K., DAVIS, M., NAYAK, J., PLIMMER, R., PFEIL, R. and NAIR, P.P. 1995. Relative genotoxic activities of pesticides evaluated by a modified SOS microplate assay. *Environ. Mol. Mutagen.*, 25: 67-76
- VISSCHER, S.N. 1980. Regulation of grasshopper fecundity, longevity and egg viability by plant growth hormones. *Experimentia*, 36:130-131.

- VISSCHER, S. N. 1982. Plant growth hormones affect grasshopper growth and reproduction. *Proc. Sch. Int. symp. insect-plant relationships*, 57-62.
- VISSCHER, S. N. 1983. Special report dietary plant growth hormones affect insect growth and reproduction. *Bulletin of the Plant Growth Regulator Soc. of America*, 11: 4-6
- VOGEL, E. W. 1992. Tests for recombinogens in somatic cells of *Drosophila*. *Mutat. Res.*, 284: 159-175
- WAGNER, E. D., RAYBURN, A. L., ANDERSON, D. and PLEWA, M. J. 1998. Calibration of single cell gel electrophoresis assay, flow cytometry analysis and forward mutations in Chinese hamster ovary cells. *Mutagenesis*, 13(1): 85-87
- WAGNER, S. L. 1983. "Clinical Toxicology of Agricultural Chemicals" Noyes Data Corporation, Park Ridge, New Jersey
- WARE, G. W. 1983. Pesticides: Chemical tools. In: *Pesticides: Theory and Application* Freeman, pp. 3-25, New York,
- WHITTAKER, S. G., ZIMMERMAN, F. K., DICUS, B., PIEGORSCH, W. W., RESNICK, M. A. and FOGEL, S. 1990. Detection of induced mitotic chromosome loss in *Saccharomyces cerevisiae*- An interlaboratory assessment of 12 chemicals. *Mutat. Res.*, 241: 225-242
- WILKINSON, C. F. 1990. Introduction and overview, in: S. R. BAKER and C. F. WILKINSON (Eds.) *The effects of pesticides on Human Health*, Princeton Sciences Publishing, pp. 5-33, Princeton,
- WILLIAM, F. G. and SALAMONE, M. F. 1994. Comparative mutagenicity of chemicals selected for test in the International Program on Chemical Safety's Collaborative study on plant systems for the detection of environmental mutagens. *Mutat. Res.*, 310: 187-209.

- WINTER, C K 1992 Dietary pesticides risk assesment. *Reviews of Environ. Contam. and Toxicol.*, 127: 23-61
- WÜRGLER, F E. and KAGI, A. 1991 Genotoxicity testing with the somatic white-ivory system in the eye of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 263: 33-39
- WÜRGLER, F E. and VOGEL, E.W. 1986. In vivo mutagenicity testing using somatic cells of *Drosophila melanogaster* in Chemical Mutagens, Principles and Medhods for their detection Würgler FE and Vogel EW (editors) Vol. 10. Plenum Press, 1-73 pp, New York
- WÜRGLER, F.E., GRAF, U. and FREI, H. 1985. Somatic mutation and recombination test in wings of *Drosophila melanogaster* In ASHBY, J. et al. (eds): "Collaborative Study of Short-term Tests for Carcinogens" progress in *Mutat. Res.* Vol 5 Elsevier Science Publisher. pp 325-340 Amsterdam
- XIAO, L.Z. and ICHIKAWA, S. 1995 Mutagenic interactions between maleic hydrazide and X rays in the stamen hairs of Tradescantia clone BNL 4430. *Jpn. J. Genet.*, 70: 473-485
- XU, H H and SCHURR, K M. 1990. Genotoxicity of 22 pesticides in microtitration SOS chromotest. *Toxicol. Assess.*, 5: 1-14.
- YANG, R S H, 1992. Strategy for studying health effects of pesticidal fertilizer mixtures in groundwater. *Rew. of Environ. Contam. And Toxicol.*, 127: 1-18.
- YANIKOĞLU, A. 1989. 2,4-D'nin *Pimpla thurionella* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) niflilerin glikojen seviyelerine etkisi. *Cum. Üniv. Fen Bil. Derg.*, 8:27-32

- YANIKOĞLU, A ve BİLALOĞLU, R. 1988 2,4-D'nin *Pimpla turionella* L'nin Yumurta verimi, yumurta açılımı, gelişme ve eşey oranına etkileri IX. Ulusal Biyoloji Kongresi, Cilt 1- Sivas 404-408
- YEĞEN, O 1993. Yabancı otlar ve mücadelesi, Akdeniz Üniversitesi Basımevi, III+ 27-41 ss., Antalya.
- YOO, M A., RYO, H, IODO, T. and KONDO, S 1985. Mutagenicity potency of heterocyclic amines in the *Drosophila* wing spot test and its corelation to carcinogenic potency *Jpn. J. Cancer. Res* , 76: 468-473.
- YÜCEL, F ve GELDİAY, S. 1988. Bitki büyüme regülatörü ABA'nın Kara çekirge (*Melanogryllus desertus* Pall)'de gelişme, fekondite ve yumurta açılımı üzerinde etkileri IX Ulusal Biyoloji Kongresi, cilt-1: 393-402 ss , Sivas
- ZEIGER, E , ANDERSON, B , HOWORTH, S , LAWLOR, I. and MORTELMANS, K. 1988 *Salmonella* mutagenicity tests: IV Results from the testing of 300 chemicals *Environ Mol Mutagen* , 11 (Suppl 2): 1-157.
- ZETTERBERG, G 1978 Genetic effects of phenoxy acids on microorganizms *Ecol. Bull* , 27: 193-204
- ZHONG, B , GU, W, WHONG, W, WALLACE, W.C. and ONG, T. 1992. Comperative study of micronucleus assay and chromosomal aberration analysis in V79 cells exposed to ethylene oxide *Tratogen Carcinogen. Mutagen* , 11: 227-233.
- ZIMMERING, S , MASON, J.M, VALENCIA, R and WOODRUFF, R.C 1985. Chemical mutagenesis testing in *Drosophila* II. Results of 20 coded compounds tested for the National Toxicology Program *Environ. Mol. Mutagen* , 7: 87-100.

ZORDAN, M. OSTI, M. PESCE, M. and COSTA, R. 1994. Chloral hydrate is recombinogenic in the wing spot test in *Drosophila melanogaster* *Mutat. Res.*, 322: 111-116.

ZORDAN, M., GRAF, U., SINGER, D., BELTRAME, C., DALLA VALLE, D.L. OSTI, M., COSTA, R. and LEVIS, A.G. 1991. The genotoxicity of nitrotriacetic acid (NTA) in somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 262: 253-261.

ÖZGEÇMİŞ

Bülent KAYA 1967 yılında Sivas ili Gemerek ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Sivas ilinde tamamladı. 1988 yılında girdiği Cumhuriyet Üniversitesi, Biyoloji Bölümü'nden Biyolog ünvanı ile mezun oldu. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde yüksek lisans öğrencisi ve Araştırma Görevlisi olarak başladı. 1995 yılında Yüksek Lisansını tamamlayarak Doktora eğitimine başladı. Doktora çalışmaları sırasında 15 Haziran - 15 Eylül 1996 tarihleri arasında TÜBİTAK NATO A2 bursu ile İspanya Autonoma Üniversitesi, Mikrobiyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda çalışmalarda bulundu. Nisan-Eylül 1999 tarihleri arasında TÜBİTAK Yurtiçi-Yurtdışı Bütünleştirilmiş Doktora Bursu ile yine Autonoma Üniversitesi, Mikrobiyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Doktora tezi ile ilgili çalışmalarda bulundu. Halen Akdeniz Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.