



***DROSOPHILA* KANAT HÜCRELERİNDE BAZI
SENTETİK TEKSTİL BOYALARINA BAĞLI
MİTOTİK REKOMBİNASYONLARIN *IN VIVO*
OLARAK BELİRLENMESİ**

Hatice ÇELİK

Danışman: Prof. Dr. Handan UYSAL

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Ana Bilim Dalı

2024

(Her hakkı saklıdır)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***DROSOPHILA* KANAT HÜCRELERİNDE BAZI SENTETİK TEKSTİL
BOYALARINA BAĞLI MİTOTİK REKOMBİNASYONLARIN *IN VIVO* OLARAK
BELİRLENMESİ**

(Determination of Mitotic Recombinations Due to Some Synthetic Textile Dyes in
Drosophila Wing Cells As *in vivo*)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice ÇELİK

Danışman: Prof. Dr. Handan UYSAL

Erzurum
Şubat, 2024

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

DROSOPHILA KANAT HÜCRELERİNDE BAZI SENTETİK TEKSTİL
BOYALARINA BAĞLI MİTOTİK REKOMBİNASYONLARIN *IN VIVO* OLARAK
BELİRLENMESİ

Prof. Dr. Handan UYSAL danışmanlığında, Hatice ÇELİK tarafından hazırlanan bu çalışma, 06/02/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği (3/0)** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Özkan AKSAKAL
Atatürk Üniversitesi Aslı ıslak imzalıdır

Danışman: Prof. Dr. Handan UYSAL
Atatürk Üniversitesi Aslı ıslak imzalıdır

Jüri Üyesi: Dr.Öğr.Üyesi Özlem Özdemir TOZLU
Erzurum Teknik Üniversitesi Aslı ıslak imzalıdır

Enstitü Yönetim
Kurulunun/....../.... tarih
ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı ıslak imzalıdır

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Graduate School of Natural and
Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Handan UYSAL danışmanlığında sunulan “Drosophila Kanat Hücrelerinde Bazı Sentetik Tekstil Boyalarına Bağlı Mitotik Rekombinasyonların In Vivo Olarak Belirlenmesi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	20	30
Kuramsal Temeller	29	30
Materyal ve Yöntem	30	35
Bulgular	16	20
Tartışma	15	20
Tezin Geneli	23	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Hatice ÇELİK	Prof. Dr. Handan UYSAL
5.1.2024	5.1.2024
İmza: Aslı ıslak imzalıdır	İmza: Aslı ıslak imzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayımlanmasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiş olup FYL-2023-12019 numaralı proje olarak Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Öncelikle değerli desteklerinden dolayı Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimi sürecimde bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren ve yardımını esirgemeyen, tezimin hazırlanma aşamasında büyük emeği olan çok değerli hocam Prof. Dr. Handan UYSAL'a en içten duygularıyla teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım süresince bana destek olan çalışma arkadaşım Şebnem LOKUMCU'ya her zaman yanımda olan kardeşim Alparslan ÇELİK'e ve hayatım boyunca ilgi ve desteklerini eksik etmeyen annem Meliha ÇELİK'e, babam Recep ÇELİK'e ve abim Fatih ÇELİK'e sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Hatice ÇELİK

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DROSOPHILA KANAT HÜCRELERİNDE BAZI SENTETİK TEKSTİL BOYALARINA BAĞLI MİTOTİK REKOMBİNASYONLARIN *IN VIVO* OLARAK BELİRLENMESİ

Hatice ÇELİK

Danışman: Prof. Dr. Handan UYSAL

Amaç: Endüstri devrimi ile birlikte Dünya genelinde birçok endüstri sektörünün gelişip değişmesiyle boyarmadde kullanımı ve ihtiyacı artmıştır. Ancak 19. yy.da ilaç, kozmetik, gıda ve tekstil gibi endüstrinin gelişiminden dolayı doğal boyarmadde yetersiz gelmesinden dolayı sentetik boyarmadde üretimine başlamıştır. Sentetik boyarmaddeler en çok tekstil sektöründe kullanılmaktadır. Tekstil endüstrisinde kullanılmasıyla dolaylı ya da dolaysız ekosisteme olumsuz etkileri gözlenebilmektedir. Bu çalışmanın amacı da tekstil boyası olarak kullanılan farklı boyarmaddelerin doz-süre etkileşimine bağlı olarak *Drosophila melanogaster*' in mutant soyları ile genotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu tez çalışmasında model organizma olarak seçilen *Drosophila melanogaster*'in *mwh* ve *flr*³ mutant soyları kullanılmıştır. Sentetik tekstil boyalarının genotoksik etkisinin belirlenmesi için de uygulamalar somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile yapılmıştır.

Bulgular: Altı farklı tekstil boyası, farklı konsantrasyonlarda (150, 300 ve 450 ppm) olmak üzere *D.melanogaster*'in mutant soylarının 3. Evre trans heterozigot larvalarına uygulandıktan sonra SMART'ta altı tekstil boyasının mutant klon frekansını artırdığı ve somatik mutasyonları uyardığı gözlenmiştir ($p<0,5$).

Sonuç: Sunulan tez çalışması kapsamında, günümüzde çeşitli üretim alanlarında ve özellikle tekstil sektöründe kullanılan sentetik boyarmaddelerin mutajenik ve rekombinojenik etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, mutant türler, sentetik boyarmaddeler, tekstil endüstrisi, somatik mutasyon, genotoksik etki.

Şubat 2024, 104 Sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

DETERMINATION OF MITOTIC RECOMBINATIONS DUE TO SOME SYNTHETIC TEXTILE DYES IN *DROSOPHILA* WING CELLS AS *IN VIVO*

Hatice ÇELİK

Purpose: With the industrial revolution and the development and change of many industrial sectors around the world, the use and need for dyes has increased. However, in the 19th century, due to the development of industries such as pharmaceuticals, cosmetics, food and textiles, the production of synthetic dyes started due to the insufficient natural dyes. Synthetic dyes are mostly used in the textile industry. When used in the textile industry, its direct or indirect negative effects on the ecosystem can be observed. The aim of this study was to determine the genotoxic effects of different dyestuffs used as textile dyes on mutant strains of *Drosophila melanogaster*, depending on the dose-time interaction.

Method: In this thesis study, *mwh* and *flr*³ mutant strains of *Drosophila melanogaster*, which were selected as a model organism, were used. To determine the genotoxic effect of synthetic textile dyes, applications were made with somatic mutation and recombination tests.

Findings: After six different textile dyes were applied at different concentrations (150, 300 and 450 ppm) to Stage 3 trans heterozygous larvae of mutant strains of *D. melanogaster*, it was observed in SMART that six textile dyes increased the mutant clone frequency and stimulated somatic mutations ($p < 0,5$).

Conclusions: Within the scope of the presented thesis study, it has been determined that synthetic dyestuffs used in various production areas and especially in the textile industry are mutagenic and recombinogenic.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, mutant species, synthetic dyestuffs, textile industry, somatic mutation, genotoxic effect.

February 2021, 104 Pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xi
GİRİŞ.....	1
Çözünürlüklerine Göre Boyar Maddeler.....	10
Suda çözünen boyarmaddeler	10
Suda çözünmeyen boyarmaddeler.....	11
Kimyasal Yapılarına Göre Boyarmaddeler	13
Yaşlanma.....	14
Dış Etkenler.....	16
İç Etkenler	18
Genetik Toksikoloji.....	20
Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)	22
KURAMSAL TEMELLER.....	26
MATERYAL METOT	32
Materyal	32
Kullanılan model organizma	32
Genomun basit, küçük olması ve genom haritasının çıkarılmış olması.....	34
Besleme kolaylığı için uygun ekonomik koşullar	34
<i>Drosophila melanogaster</i> 'in genetik çalışmalardaki önemi	35
<i>D. melanogaster</i> 'in sistematikteki yeri	36
<i>D. melanogaster</i> 'in Yaşam Döngüsü	41
<i>D. melanogaster</i> 'in mutant soyları.....	43
Çalışmada kullanılan kimyasallar	45
Metot	46
Standart <i>Drosophila</i> besiyerinin yapılışı (SDB)	46

Eterizasyon (bayıltma) yöntemi	47
Tekstil boyalarına ait stok çözeltilerin hazırlanması.....	47
SMART için ergin bireylerin toplanması.....	48
Trans-heterozigot larvaların elde edilmesi.....	48
Trans-heterozigot larvalara tekstil boyalarının uygulanması, ergin bireylerin toplanması ve kanat preparatlarının hazırlanması.....	48
Faure solüsyonun hazırlanışı.....	50
Kanat preparatlarının mikroskopta incelenmesi.....	50
SMART'ın avantajları ve uygulama esasları	52
Klon indüksiyon frekansının hesaplanması	54
SMART ile elde edilen sonuçların istatistiksel analiz yöntemi	54
Mikrofotografi.....	55
ARAŞTIRMA BULGULARI	56
Distile Su ve EMS Kontrol Gruplarına ait SMART Bulguları	59
Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları.....	62
SBNNX tekstil boyasına ait SMART bulguları	62
SBXFDL Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları	64
RB19 Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları	66
SR3BF Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları	68
SNBBF Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları	70
RB5/SBB Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları.....	72
TARTIŞMA.....	74
KAYNAKLAR.....	81
ÖZGEÇMİŞ.....	90

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Boyarmaddelerin Sınıflandırılması.....	10
Tablo 2. Yaşlanma Teorilerin Sınıflandırılması	16
Tablo 3. Genotoksik Maddelerin DNA Üzerindeki Etki Mekanizması ve Sonuçları	21
Tablo 4. SDB'nin İçeriği	47
Tablo 5. Faure Solüsyonunun İçeriği.....	49
Tablo 6. Orijinal (Ho) ve Alternatif (Ha) Hipotezlerin Değerlendirilmesi.....	55
Tablo 7. Distile Su ve EMS Kontrol Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiksel Analiz Sonuçları	61
Tablo 8. SBNNX Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiksel Analiz Sonuçları.....	63
Tablo 9. SBXFDL Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiksel Analiz Sonuçları.....	65
Tablo 10. RB19 Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiksel Analiz Sonuçları	67
Tablo 11. SR3BF Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiksel Analiz Sonuçları	69
Tablo 12. SNBBF Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiksel Analiz Sonuçları	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Reseda luteola</i> L.	3
Şekil 2. <i>Kerria lacca</i>	4
Şekil 3. <i>Rubia tinctorum</i>	4
Şekil 4. <i>Indigofera tinctoria</i>	4
Şekil 5. <i>Murex</i>	5
Şekil 6. <i>Aspergillus niger</i>	5
Şekil 7. Nehirlerde tekstil atığı boyarmaddelerin görüntüsü.....	7
Şekil 8. Larval imajinal disklerin ergin bireydeki vücut parçalarına dönüşümü.....	23
Şekil 9. SMART'ın yapılışına ait protokol	24
Şekil 10. Model organizmalardan birisi olan yabanıl <i>D. melanogaster</i> Oregon-R.....	33
Şekil 11. Diptera takımının tüm üyelerinde ve <i>D. melanogaster</i> 'de halter organ	38
Şekil 12. <i>D. melanogaster</i> 'de arista tipi anten	38
Şekil 13. <i>D. melanogaster</i> 'in baş kısmına ait yapılar	39
Şekil 14. <i>Drosophila</i> 'da vücut bölgeleri, bacakların görünüşü ve bacak segmentleri	40
Şekil 15. Erkek ve dişi <i>Drosophila</i> 'da I.çift bacak ve I. tarsus segmenti üzerindeki eşey turağı	40
Şekil 16. <i>D.melanogaster</i> 'in erkek ve dişilerinde abdomen segmentlerinin görünüşü.....	41
Şekil 17. Yumurtadan ergine <i>Drosophila</i> 'nın hayat evresi	42
Şekil 18. <i>D.melanogaster</i> 'de 1., 2.ve 3. evre larvaların boyutları.....	43
Şekil 19. <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait mitotik metafaz kromozomları	43
Şekil 20. <i>flr³</i> ve <i>mwh</i> genlerinin 3. kromozom üzerindeki lokasyonları	44
Şekil 21. a.Yabanıl ve <i>multiple wing hair</i> mutant bireylerde düzgün kenarlı uzun kanat şekli b. <i>flare</i> mutant bireylerde testere dişine benzeyen kanat şekli	45
Şekil 22. a. <i>flr³</i> geni taşıyan bireylere ait kısa, körelmiş kanat kıllarının mikroskopik görüntüsü b. <i>mwh</i> geni taşıyan bireylere ait üç veya daha fazla kanat kıllarının mikroskopik görüntüsü	45
Şekil 23. SDB içeren kültür şişeleri	47
Şekil 24. Normal ve serrat kanatlara ait sektörler	51
Şekil 25. Kanatlardaki farklı trikom (kıl) tipleri. a) Normal kanat trikomları b) <i>mwh</i> veya <i>flr³</i> fenotipi olarak kabul edilmeyen yapısal bozukluklar c) <i>mwh</i> geninin etkisiyle oluşan trikomlar d) <i>flr³</i> geninin etkisiyle oluşan trikomlar.....	51

Şekil 26. <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi sonuçlarının mikroskopik gösterimi.....	52
Şekil 27. Farklı tip mutasyonların oluşmasına neden olan genetik mekanizmalar	53
Şekil 28. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon-R yabanıl soyuna ait ergin bireylerin kanat kıllarının mikroskopik görünüşü	57
Şekil 29. <i>flare (flr³)</i> bireylerin kanat kıllarına ait mikroskopik görüntü	57
Şekil 30. <i>multi wing hair (mwh)</i> mutant bireylerin kanat kıllarına ait mikroskopik görüntü ..	58
Şekil 31. a ve 31b. Küçük tek tip (KTT) mutant klonların mikroskopik görünüşü	58
Şekil 32. Büyük tek tip (BTT) mutant klonların mikroskopik görünüşü	59
Şekil 33. İkiz mutant klonların mikroskopik görünüşü	59



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

♀	: Dişi
♂	: Erkek
AO7	: Acid Orange 7
Bd^s	: <i>Beaded</i> (Serrat) Geni
BTT	:Büyük Tip Klon
CR	: Congo Red
DB38	: Direct Black 38
DIM	: Drosophila Instant Medium
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EMS	: Etil Metan Sülfonat
FDA	: Food and Drug Administration
<i>flr³</i>	: <i>Flare</i> Geni
KTT	: Küçük Tek Tip Klon
MB5G	: Maxillon Blue 5G
mg	: Miligram
mg/L	: Miligram/Litre
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
<i>mwh</i>	: <i>Multi wing hair</i> (Çoklu Kanat Kılığı Geni)
°C	: Santigrat Derece
ppm	: Parts Per Million
RB15	: Reactive Blue 15
RB19	: Reactive Blue 19
RB203	: Reactive Blue 203
RB5/SBB	: Reaktif Back 5/Süperfix Black B
RNA	: Ribonükleik Asit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SBNNX	: Superfix Black NNX
SBXFDL	: Synacryl Black XFDL
SDB	: Standart Drosophila Besiyeri

SMART	: Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
SNBBF	: Superfix Navy Blue BF
SNBBF	: Superfix Navy Blue BF
SR3BF	: Superfix Red 3BF
SR3BF	: Superfix Red 3BF
TM3	: Dengeleyici Kromozom
TP53	: Tümör Proteini 53
UV	: Ultraviole
µg	: Mikrogram



GİRİŞ

Günümüzde küresel ısınma, farklı faktörlere dayalı olarak gerçekleşen çevre kirliliği ve kanserojen maddelere (kanserleşmeye götürecek mekanizmaları tetikleyen doğal veya kimyasal maddeler) maruz kalma insanlar da dahil olmak üzere hayvanlar ve bitkiler alemine ait canlıların yaşam standartlarını olumsuz yönde etkileyen ve sınırlandıran faktörler olarak değerlendirilmektedir. Küresel ısınma, atmosferdeki sera gazlarının birikimi sonucu yeryüzünün ortalama sıcaklığının artması olarak tanımlanmaktadır. Bu artışın esas nedeni ise insan faaliyetlerinin sonucunda ortaya çıkan sera gazı emisyonlarıdır. Fosil yakıtların kullanımı ve farklı sektörlerde ait üretim ile orman tahribatı gibi faktörler ise sera gazlarının salınımını ve atmosferdeki miktarını artırmaktadır. Çevrenin biyotik ve abiyotik öğelerini olumsuz yönde etkileyen, üzerinde yapısal zararlar meydana getiren ve niteliklerini bozan yabancı maddelerin yoğun bir şekilde karışması olayına da çevre kirliliği denilmektedir. Ekoloğlara göre çevre kirliliği doğal ve yapay etmenler olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Doğal etmenlere doğadaki kirlenmeyi tetikleyen deprem, sel ve volkanik patlamalar örnek verilirken yapay etmenlere endüstri atıkları, ksenobiyotikler (besin maddeleri dışında alınan tüm kimyasal maddeler), evsel atıklar örnekler verilmektedir. Dünya nüfusunun artmasıyla birlikte artan ihtiyaçlara göre fabrikalar, sanayi kuruluşları ve diğer endüstriyel üretimlerde de artış olmaktadır (Çelekli vd 2009). Gelişen teknoloji ile birlikte insan hayatı hemen her alanda kolaylaşırken canlıların ve en önemlisi insanların yaşamlarında ortaya çıkabilen/çıkabilecek pek çok olumsuz etkileşimi de gözden uzak tutmamak gerekir. Özellikle ülkemiz sanayisinin son yıllarda hızla gelişmesine paralel olarak tekstil endüstrisinde de hem iç piyasada hem de ihracata yönelik olmak üzere dış pazarda atılan adımlar ile geniş bir ağ oluşturulmuştur (Mercimek 2007).

Yalnızca ülkemizde değil dünya çapında da Çin, Hindistan, ABD, İtalya, Kore, Japonya ve Fransa gibi ülkelerde gelişen ve yaygın bir sanayi kolu olarak tekstil sanayinde dokuma tezgahlarının yapılması ile konfeksiyon malzemelerinin üretimi başlamıştır. Bu alanda, giyilebilen tüm kıyafetler “hazır giyim ürünleri” ve farklı dekorasyon ürünleri de “ev tekstili” olarak iki ayrı ve geniş iş kolunu oluşturmaktadır. Dünya genelinde en fazla ihracat otomotiv, tekstil ve konfeksiyon sektörlerinde yapılmaktadır. Ülkemizde tekstil ve konfeksiyon sektörleri yarattığı istihdam, üretim ve diğer sektörlerle olan etkileşimi bakımından önemli iş kolu olmuştur (Uzunoğlu 2010). Bu sektörlerde ait ürünlerin üretiminin dışında ticareti de önemli bir pazar payına sahiptir ve son 15-20 yıl içinde çeşitli dünya ülkeleri ve ülkemiz bazında ürünlerin

ihracına yönelik önemli gelişmeler sağlanmıştır. Pamuklu dokuma sektöründe yapılan bir araştırmanın sonuçlarına göre; 20 milyar doları aşan yıllık üretim değeri, 14 milyar dolar tutarında yurt içi tüketimi, 10 milyar dolar ihracatı ve %10,3'lük istihdama katkısıyla konfeksiyon ve tekstil sektörleri hayati sektörlerin arasında yer almaktadır (Atik 2001). Ancak bu iş kollarındaki en önemli beklenti işçilik becerisinin yüksek, maliyetin ise düşük olması şeklindedir ve ucuz iş gücü ile giderlere ait maliyetin düşürülmesi konusunda özellikle üretici ülkeler için üçüncü dünya ülkeleri tercih sebebi olmaktadır. Ayrıca tekstil sanayisinde kullanılan özellikle sentetik boyarmaddelerin arıtım mevzuatlarına uygun olmadan dış ortama atılmaları da ekolojik ölçeklerde organizmalar ve onların yaşam alanı olan ekosistem bakımından pek çok olumsuz duruma sebebiyet vermektedir.

Tekstil ürünlerinin imalatında kullanılan malzeme, boyarmadde ve bunlara ait atıkların insan sağlığına ve çevreye zararlı toksinler içerdiği daha önce yapılan çeşitli araştırmalarda bildirilmiştir. Özellikle bu alanda kullanılan en önemli malzemelerden birisi olan elyaf, hem doğal olarak keten, kenevir, yün, pamuk, ipek, kuş tüyü, kıl, deri ve moher (tiftik) hem de sentetik olarak rayon (viskon), asetat-selüloz ester, naylon ve polyesterden elde edilmektedir. Elyafın elde edilme işlemlerinden iplik yapımı ve dokuma hazırlık aşamaları kuru işlemler diye tanımlanan süreçleri kapsarken üçüncü bir işlem olan terbiye bol miktarda suyun kullanıldığı ıslak proseslerden meydana gelmektedir. En çok su harcanan işlemlerden bir diğeri ise boyamadır. Cisimlerin yüzeylerini korumak ve görüntülerini güzelleştirmek amacı ile kullanılan değişik renklerdeki maddelere boya adı verilmektedir. Boyalar çoğunlukla anorganik bileşiklerdir. Uygulandığı alan ile kimyasal tepkimeye girmezler, yalnızca bulundukları yüzeyde film oluşturarak parlak görünüm ve koruma sağlarlar. Cisimlerin renkli hale gelmesinde kullanılan maddelere ise boyarmadde denilmektedir. Boyarmaddeler organik bileşikler olup, boyanacak materyalle kimyasal veya fizikokimyasal tepkimeye girerek cisimlerin renkli görünmesini gerçekleştirir. Farklı alanlarda kullanılmakla birlikte tekstil sektörü için de boyarmaddeler vazgeçilmezdir. İnsan hayatında da oldukça renkli olan tekstil ürünleri kıyafetlerimizden kullandığımız arabaların, ev ve ofislerdeki mobilyaların döşemeleri dahil olmak üzere tüm yaşam alanlarında kullanılmaktadır. Ancak boyarmaddeler özellikle hem üretildikleri fabrikaların çevresinde hem de uygulandıkları sektörel alanlar etrafında gerekli tedbirlerin yeterli ölçüde alınmamasından kaynaklı olmak üzere önemli bir çevre kirleticisi ajan olarak organizmaların yaşamları için risk de oluşturabilmektedirler. Tekstil endüstrisi deşarjları, kullanılan boyarmaddenin yapısına göre çözünmüş halde ya da kolloidal yapıda bulunabilen çok renkli atık suları içermekte ve bu atık suların bulunduğu alanlarda endüstriyel kirlenme meydana gelmektedir (Tünay *et al.* 1996; Ölmez 1999).

Bilim tarihinde kumaşa renk uygulama sanatı ile ilgili olarak M.Ö. 3500'den beri doğal kaynaklardan boyarmadde elde edildiği bilgisi verilmektedir. Doğal boyarmaddeler; maya ve bakterilerden, bitkilerin kök, yaprak, kabuk, tohum, meyve, çiçek gibi vejetatif ve generatif organlarından, bazı böcekler, balıklar ve hayvanların deri ve salgı bezlerinden basit bir takım işlemler sonucu elde edilmektedir. Doğal boyamanın tekstil elyafında kullanımının ise M.Ö. 4000 yıllarında Mezopotamya'da başlamış olduğu bilinmektedir (Karadağ 2007). En yaygın olarak geçmişten günümüze kullanılan sarı renk içeren doğal boyarmadde bitkiler; *Reseda luteola* L. (muhabbet çiçeği) (Şekil 1), *Genista tinctoria* L. (katırtırnağı), *Serratula tinctoria* L. (sarı boya otu) ve *Rhamnus cathartica* (adi cehri) türleridir (Mert vd 1992; Karadağ 2007; Tutak ve Benli 2008). Eski çağlarda özellikle kırmızı renk elde etmek için de dünyanın çeşitli bölgelerinde bulunan *Kerria lacca* (lak böceği) (Şekil 2), *Dactylopius coccus* (Amerikan koşinili), *Kermes vermilio* (kermes) ve *Porphyrophora polonica* L. (Polonya kermesi) gibi böceklerden faydalanılmıştır. Ayrıca kırmızı renk eldesi için bitkisel doğal boyarmadde kaynağı ise *Rubia tinctorum* (kökboya) bitkisinin kökleridir (Şekil 3). Fabaceae familyasından *Indigofera tinctoria* (indigo ağacı) bitkisinden de mavi renk elde edilmiştir (Şekil 4). Ayrıca kermes böceğinden elde edilen kırmızı ile *Muricidae* familyasına ait *Murex* (kaya salyangozları)'den elde edilen renk purpur olarak tanımlanır ki bu renk özellikle eski çağlarda gücün, yüksek mevkinin ve saygınlığın simgesi olarak bilinen mor rengin kaynağı olmuştur (Şekil 5). *Escherichia coli* (koli basili) bakterisinden indigo (mavi mor arası/çivit mavisi) ve *Janthinobacterium lividum* (gram-negatif bir bakteri türü) bakterisinden de yine mor pigmentler elde edilmektedir. Bir çeşit mantar olan *Aspergillus niger*'de (Şekil 6) siyah renk eldesi için kaynak teşkil etmektedir (Başer ve İnancıcı 1990; Önal 2000; Hunger 2003; Kant 2012; Gürcüm ve Öneş 2018).



Şekil 1. *Reseda luteola* L. (muhabbet çiçeği)



Şekil 2. *Kerria lacca* (lak böceği)



Şekil 3. *Rubia tinctorum* (kök boya)



Şekil 4. *Indigofera tinctoria* (İndigo ağacı)



Şekil 5. *Murex* (kaya salyangozu)



Şekil 6. *Aspergillus niger* (k f mantarı)

Artan dünya nüfusu ve nüfus artışına paralel olarak artan ihtiyaçların giderilebilmesi için teknolojik proseslerde daha fazla boyarmaddeye gereksinim duyulmaktadır. Ancak doğal boyarmaddelerin elde edilmesinin zor, pahalı ve miktar olarak az olması ayrıca renk skalasının dar, kalitelerinin de düşük oluşu gibi nedenler 19. yüzyıldan itibaren sentetik boyarmadde üretimi ile ilgili araştırmaların yoğunlaşmasına neden olmuştur (Koçak 2011). Sentetik boyarmaddelerin üretimi için kullanılan hammadde petrol ve kömür türevlerinden elde edilmektedir. 1856 yılında İngiliz kimyager William Henry Perkin, sıtma tedavisi için kinin elde etmeye çalışırken tesadüfen menekşe renkli boyarmaddeyi sentezlemiştir. 1857 yılında Perkin elde ettiği boyarmaddenin patentini almış ve Mauveine ismini vererek seri üretime başlamıştır. Daha sonra 1858 yılında Johann Peter Griess tarafından sarı renkli bir bileşik, 1859

yılında Verguin tarafından menekşe renkli olan Fuchsine adlı boyarmadde, 1862 yılında ilk azo boyarmadde ve 1863 yılında da Hoechst tarafından Fuchsine boyası keşfedilmiştir (Kant 2012).

Boyarmaddelerin büyük bölümü tekstil endüstrisi olmak üzere, deri, sentetik lif, plastik, lastik, kereste, selüloz, kağıt, matbaa, otomotiv, makine, inşaat, cam/porselen, ilaç, güzel sanatlar ve kozmetik sanayi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Kurbanova *et al.* 1998). Tekstil boyalarına duyulan ihtiyaçtan dolayı özellikle ABD, Çin, Hindistan ve Orta Doğu ülkelerinde 10.000'den fazla boya ve pigment çeşidi kullanılarak yılda yaklaşık olarak 7×10^5 ton olmak üzere üretim yapılmaktadır.

Tekstil sanayisine ait atık sular, boyarmadde ve boyamaya yardımcı kimyasal maddelerden oluşmaktadır. Kullanılan boyanın sınıfına göre %2 ila %50 oranında boyarmadde alıcı ortama verilebilmekte ve bu oranlar ile boya kirliliği dünyadaki özellikle toplam atık su kirliliğinin 1/5'ini oluşturmaktadır (de Oliveira *et al.* 2016). Çok çeşitli olan boyarmaddeler, karmaşık kimyasal yapıya sahip organik bileşiklerdir. İçeriklerinde yer alan çeşitli bileşikler, küp boyalar, nitratlar, sabunlar, enzimler, ağır metaller ve yardımcı kimyasalların tümü tekstil atıklarını oldukça toksik hale getirmektedir. Formaldehit bazlı boya sabitleme maddeleri, klorlu leke çıkarıcılar, hidrokarbon bazlı yumuşatıcılar gibi diğer zararlı kimyasallarda atık suda bulunan ve biyolojik olarak parçalanamayan boyama kimyasallarından bazılarıdır. Bu kimyasal materyaller, başta klor olmak üzere birçok dezenfektanla reaksiyona girerek genellikle kanserojen yan ürünler oluşturmakta ve bunların çoğu da organizmalarda alerjik reaksiyonlara sebep olmaktadır. Ayrıca boyarmaddeler ile birlikte bulunan kolloidal maddeler bulanıklığı artırarak suda kötü bir görünüm ve çevreye rahatsızlık verici koku oluşumuna sebebiyet verirler (Şekil 7). Günümüzde mevzuata uygun arıtma sistemleri bulunmayan tekstil ve boya fabrikalarının çoğuna ait atıklar doğrudan alıcı ortamlara verilmektedir (<https://www.artemisaritim.com/tekstilde-boyama-prosesi-ve-olusan-atiksuyun-cevresel-etkileri>). Mishra and Bajpai (2005)'ye göre, tekstil sanayisinde kullanılan boyaların bozunma süreçleri uzun zaman aldığından doğada kalma süreleri de uzun olmakta bu da atık suların toksik ve genotoksik etkilerini gündeme getirmektedir.



Şekil 7. Nehirlerde tekstil atığı boyarmaddelerin görüntüsü

Tekstil endüstrisinde kullanılan ve atık sulara karışan boyarmaddelerin yüzey sularına deşarjının ekolojik dengeyi bozması sebebiyle bu tip atık sulara deşarjdan önce arıtım uygulama son derece önemlidir ve bu yönde yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır (Weisburger 2002). Tekstilde kullanılan sentetik boyalar, bulundukları ortamdaki tüm canlı türleri üzerinde istisnasız pek çok olumsuz etkiye sahiptir. Tekstil endüstrisi atıklarının boşaltıldığı alıcı ortamlar arasında nehirler, göller, denizler hatta içme suyu kanalları ile ekilebilir verimli tarım arazileri bile bulunmaktadır. Bu tip kirliliğe maruz kalmış alanlardan alınan atık su örnekleri ile yapılan genotoksisite ve toksisite testleri, tekstil endüstrisi atıklarının farklı canlı grupları için oldukça önemli bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (Houk 1992; Mathur *et al.* 2005). Yapılan çalışmalar bu atıklarda bulunan bileşiklerin, sucul ve oksijenli solunum gerektiren ortamlarda uzun süre bozunmadan kaldığını, ışık ve sıcaklık gibi çevresel faktörlerden etkilenmediğini ayrıca ortamın pH'sı üzerinde de etkili olduğunu göstermiştir. Carmen and Daniela (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, Reactive Blue 19 tekstil boyasının sucul ortamlarda 25°C'de ve pH: 7.0'de yaklaşık 46 yıllık yarılanma ömrüne ve yüksek çevresel kalıcılığa sahip olduğu görülmüştür.

Bu tip atıklar nedeniyle doğanın el değmemiş güzel görüntüsü bozulmakta ve çoğu kere geri dönüşümsüz çevresel kirlilik meydana gelmektedir. Yine bu tip atıklar, hem karasal hem de sucul sistemlerde ışık geçişinin ve buna bağlı olarak fotosentetik aktivitenin azalmasına da neden olmaktadır. Özellikle sudaki oksijen transfer mekanizmasında baş gösteren aksaklıklar suyun kendi kendini arıtma sürecini engellemekte, yetersiz oksijen ve oluşan yan ürünler sucul biyotanın yaşam döngüsünde önemli riskler oluşturmaktadır. Öyle ki; sucul ortamda bulunan

boyarmaddeler, kabuklu canlılar ve balıklar yardımıyla bileşenlerine ayrılmakta, açığa çıkan toksik/genotoksik maddeler biyoakümülyasyon (kimyasalların canlı organizmada birikmesi) ile bu canlıların karaciğer, solungaç, deri gibi organları, bu organlarla bağlantılı olan solunum, üriner ve kardiyovasküler sistemlerini etkilemektedir. İnsanlar da besin zinciri vasıtasıyla bu toksik bileşenlerden en fazla etkilenen bir diğer önemli grubu oluşturmaktadırlar (Şenel vd 2012). Tekstil endüstrisine ait atık suların tarım alanlarına akması toprak gözeneklerinin tıkanıp verimin düşmesine, sucul alanlara akması ise özellikle içme suyunun insan tüketimi için elverişsiz hale gelmesine neden olmaktadır. Tekstil endüstrisi atıklarda bulunan boyaların %70 gibi büyük bir kısmını oluşturan azo boya ları, bu sektörün dışında gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde de FDA (Food and Drug Administration) sertifikalı renklendiriciler olarak kullanılmaktadır (Chung 2016). Bu boyalar da tıpkı tekstil boya ları gibi aromatik aminler üreterek canlılarda kanserojenik, genotoksik ve teratojenik (doğumsal kusur) etkili olabilmektedirler.

Endüstriyel atıkların genotoksitesisi üzerine yapılan çalışmaların yaklaşık %60'ı Salmonella testi, %22'si mutasyon deneyleri, %10'u kromozomal çalışmalar, %7'si DNA hasarları ve %2,5'i de *in vivo* deneyleridir (Houk 1992). Sharma and Sobti (2000), Hindistan'da yaygın olarak kullanılan bazı boyarmaddelerin *Bacillus subtilis* üzerinde doz artışına bağlı olarak büyümeyi inhibe ettiğini gözlemişlerdir. Popüler bir tekstil boyası olan Omega Red ME'nin etkileri bir siyanobakteri olan *Nostoc calcicola* üzerinde araştırılmış ve *N. calcicola*'nın büyümesi, kullanılan 10-20 ppm dozlarda baskılanmıştır (Shukla and Gupta 1992). Sumathi *et al.* (2001), tekstil boyası atıklarının *Cyprinus carpio* eritrositlerinde ve karaciğer hücrelerinde DNA hasarını indükleyici etkiye sahip oldukları ve her iki dokuda da atık konsantrasyonunun artışı ile DNA kırılmaları arasında pozitif korelasyon olduğu ortaya konulmuştur. Tekstil boyası Direct Blue 15, *Pseudokirchneriella subcapitata* (bir çeşit mikro alg), *Ceriodophnia dubia* (su piresi) ve *Danio rerio* (zebra balığı) türlerinde farklı derecelerde toksisiteye neden olmuştur. Bu boya, *C.dubia*'da üremenin gecikmesine ve toplam döl sayısında azalmaya, *D.rerio* embriyolarında iskelet deformasyonlarına, kavisli kuyruk yapısının oluşumuna ve kalp atışının görülmemesine neden olmuştur. *P.subcapitata*'da ise klorofil-a ve b ile protein, karbonhidrat, lipid miktarında artış, karotenoidlerde azalma gibi durumlar gözlenmiştir (Hernandez-Zamora and Martinez-Jerónimo 2019).

Khan and Jain (1995) yaptıkları araştırmalarda, tekstil atık sularının *Triticum aestivum* (buğday) büyümesini olumsuz yönde etkilediğini görmüşlerdir. Yapılan bir başka çalışmada, Direct Black 38 ve Reactive Blue 15 tekstil boya larının bitkisel organizmalar kullanılarak akut toksik ve genotoksik etkileri araştırılmıştır. *Cucumissativus* (salatalık), *Lactuca sativa* (marul)

ve *Lycopersicon esculentum* (domates) gibi organizmalarda bu boyaların tohum çimlenmesi ve kök uzaması üzerine olan etkilerine bakılmış ve herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir (de Oliveira *et al.* 2018). White *et al.* (1996) tarafından geniş bir endüstriyel yerleşimden salınan 42 atığın genotoksitesisi araştırılmış ve metal rafineri işletmeleri, petrol rafinerileri, kağıt ve kağıt hamuru imalathanelerine ait atıkların *Ames Testi* ile mutajenik olduğu belirlenmiştir. Acid Orange 7 (AO7) boyası, kozmetik ve tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan ve muhtemelen toksik olmayan insan cildi ve gözü için hafif tahriş edici bir azo boyadır. Fakat bu boyanın halofilik (tuzlu) ortamlarda mutajen yan ürünlere dönüştüğü bildirilmiştir. AO7 indirgendiğinde oluşan bu yan ürünlere bağlı olarak bitkilerde yapılan fitotoksikite testlerinde biyokütle ağırlığı ve kök büyümesinde önemli derecede azalma gözlenmiştir. AO7 boyasının bozunmasıyla moleküler ve hücresel düzeyde toksisiteye sebep olan yan ürünlerin aynı zamanda güçlü sitotoksik etkili olduğu da Rawat *et al.* (2018) tarafından ortaya konulmuştur.

Boyarmaddelere ister doğrudan ister dolaylı yollarla maruz kalınması insanlarda da alerjik reaksiyonlara sebep olabilmektedir. Konuya ilişkin olarak İsrail’de yapılan bir araştırmada, disperse kırmızı, disperse mavi, basic kırmızı tekstil boyalarının değişik grupları ile çalışılmıştır. 36’sı kadın, 19’u erkek olan 55 hasta üzerinde yapılan bir araştırmada bu boyaların kontakt dermatite olduğu bulunmuştur. En alerjik etkili boya ise disperse mavi 124 boyası olarak belirlenmiştir (Lazarow *et al.* 2000). Yapılan bir başka araştırmada, Dispers Blue 291 boyasının da insan karaciğer hücrelerinde (Hep G2) DNA’ya bazı baz çiftlerinin eklenmesi veya çıkarılmasına sebep olarak genetik kodda hata meydana getirdiği bildirilmiştir (Rai *et al.* 2005).

Tekstil endüstrisinde pamuklu ürünlerin boyanması için en çok tercih edilen reaktif boyarmaddeler (Aspland 1993) azo boyalardan elde edilmektedir (Zollinger 2003). Azo boyalarının üretiminde kullanılan ve bir arilamin olan benzidin de uluslararası kanser araştırma ajansı tarafından kanserojen olarak kabul edilmektedir. İnsanlarda, özellikle mesanede tümoral kütle oluşumunu uyaran bu maddeye mesleki olarak maruziyet sonucunda kansere yakalanma oranında artış ve ölüm görülmüştür (Morgan *et al.* 1994; Choudhary 1996; Brown *et al.* 2011; Chen *et al.* 2014). Reactive Blue 19, Acid Blue 45, Alizarin gibi boyalar ise karbonil boyarmaddelere örnek olarak verilmekte ve insanlar ile hayvanlar için azo boyalardan daha toksik etki gösterdikleri bildirilmektedir (Varjani *et al.* 2020). Das *et al.* (1994), benzidine maruz kalan farelerin lenfosit hücrelerinde kromozomal aberasyonların (kromozomlarda görülen sayısal ya da yapısal hatalar) oranında artış gözlemiştir. Bu maddeye solunum, yutma veya enjeksiyon yoluyla maruz kalma sonucunda kemirgenlerin karaciğer ve böbreğinde ağırlık azalması, karaciğerde şişlik, dalakta büyüme ve idrarda kan gibi komplikasyonlar da

gözlenmiştir (Choudhary 1996; Ching Chen *et al.* 2011). Benzer bir başka çalışma da Lentz *et al.* (2010) tarafından yapılmış ve kronik benzidin maruziyeti yaşayan *Gambusia affinis* (sivrisinek balığı)'de apoptoz ile insan karaciğer dokusunda tümör oluşumu gözlemiştir. Zebra balığı embriyolarının benzidine maruz bırakılması ile de doz-süre etkileşimine bağlı olarak beynin telencephalon bölgesinde malformasyonlar, dorsal nöronlarda yaygın apoptoz, embriyo gelişiminde yavaşlama ve embriyonal anomaliler gözlenmiştir.

Boyarmaddelerin sınıflandırılmasında onların çözünürlükleri, boyama özellikleri ve kimyasal yapıları göz önüne alınmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Boyarmaddelerin Sınıflandırılması

Çözünürlüklerine göre	Boyama özelliklerine göre	Kimyasal yapılarına göre
Suda çözünenler	Asit boyarmaddeler	Azo boyarmaddeler
Anyonik boyarmaddeler	Bazik boyarmaddeler	Nitro ve nitrozo boyarmaddeler
Katyonik boyarmaddeler	Direkt boyarmaddeler	Kükürt boyarmaddeler
Zwitter iyon karakterli boyarmaddeler	Mordan boyarmaddeler	Polimetin boyarmaddeler
	Reaktif boyarmaddeler	Arilmetin boyarmaddeler
Suda çözünmeyenler	Küpe boyarmaddeler	Aza [18] annulen boyarmaddeler
Substratta çözünen boyarmaddeler	İnkişaf boyarmaddeler	Karbonil boyarmaddeler
Organik çözücülerde çözünen boya maddeler	Metal-kompleks boyarmaddeler	
Geçici çözünürlüğü olan boyarmaddeler	Dispersiyon boyarmaddeler	
Polikondenzasyon boyarmaddeler	Pigment boyarmaddeler	
Elyaf içinde oluşturulan boyarmaddeler		
Pigmentler		

Çözünürlüklerine Göre Boyar Maddeler

Suda çözünen boyarmaddeler

Boyarmadde molekülü tuz oluşturabilen grup taşır. Boyarmaddenin sentezi sırasında kullanılan başlangıç maddeleri suda çözdürücü grup içermiyorsa, bu grubu boyarmadde molekülüne sonradan eklenerek de çözünürlük sağlanabilir. Ancak tercih edilen yöntem, boyarmadde sentezinde başlangıç maddelerinin iyonik grup bulundurmasıdır. Suda çözülen boyarmaddeler tuz oluşturabilen grubun karakterine göre üçe ayrılır.

- ✓ Anyonik suda çözünen boyarmaddeler

Bu grupta en çok sülfonik ($-\text{SO}_3^-$) kısmen de karboksilik ($-\text{COO}^-$) asitlerin sodyum tuzlarını ($-\text{SO}_3\text{Na}$ ve $-\text{COONa}$) içermektedir. Renk, anyonun mezomerik yapısından kaynaklanmaktadır.

- ✓ Katyonik suda çözünen boyarmaddeler

Molekülün çözünürlüğünü sağlayan bazik grup ($-\text{NH}_2$) asitlerle tuz oluşturan yapıdadır. Asit olarak HCl ya da COOH_2 gibi asitler kullanılmaktadır.

- ✓ Zwitter iyon karakterli boyarmaddeler

Moleküllerinde asidik ve bazik gruplar birlikte yer alır ve bir iç tuz oluştururlar. Boyama sırasında bazik veya nötral ortamda anyonik boyarmadde gibi davranırlar.

Suda çözünmeyen boyarmaddeler

Bu bölümde yer alan boyarmaddeler özellikle tekstil sanayinde kullanılmaktadır ve çeşitli sınıflara ayrılırlar.

- ✓ Substratta çözünen boyarmaddeler

Suda küçük parçalar halinde dağılarak sentetik elyaf üzerine uygulanmaktadır.

- ✓ Organik çözücülerde çözünen boyarmaddeler

Bu grupta bulunan boyarmaddelere solvent boyarmaddeleri de denilmektedir. Her çeşit organik çözücüde çözünürler. Spray veya lak (tekstil ürünlerinin daha parlak ve dikkat çekici görünmesi için baskı yüzeyine yapılan bir çeşit uygulama) halinde uygulanabilir. Matbaa mürekkebi, vaks ve petrol ürünlerinin renklendirilmesinde kullanılmaktadır.

- ✓ Geçici çözünürlüğü olan boyarmaddeler

Çeşitli indirgeme maddeleri ile suda çözünür hale getirilerek elyafa uygulanır ve daha sonra elyaf içinde iken yükseltgenerek suda çözünmez hale getirilir. Kükürt ve küpe boyarmaddeler bu şekilde uygulanmaktadır.

- ✓ Polikondenzasyon boyarmaddeler

Son yıllarda geliştirilen ve elyaf üzerinde uygulandığında veya uygulandıktan sonra birbiri ile ya da başka maddelerle birleşerek kompleks moleküller oluşturan boyarmaddelerdir.

- ✓ Elyaf içinde oluşturulan boyarmaddeler

Elyaf içinde iki ayrı bileşiğin kimyasal tepkimesinin oluşmasıyla meydana gelmektedir. Azoik ve ftalosiyanınlar bu gruptadır.

✓ Pigmentler

Elyafa ve diğer substratlara karşı kuvveti olmayan boyarmaddelerden farklı yapıdaki bileşiklerdir. Yağlar ve reçineler için uygulanırlar. Boyama özelliklerine göre boyarmaddeler

✓ Asidik boyarmaddeler

Genel formülleri $Bm -SO_3^- Na^+$ (Bm: boyarmadde) olarak yazılabilen asit boyarmaddeleri, molekülde bir veya birden fazla sülfonik asit grubu ($-SO_3H$) veya karboksilik grubu ($-COOH$) içerirler. Bu grupta bulunan boyarmaddeler, yün, kağıt, deri, ipek, elyaf ve gıda maddelerinin boyanmasında kullanılır.

✓ Bazik boyarmaddeler

Bu grup boyalar anyonik grup içeren yün ve pamuk elyafının boyanmasında kullanılırlar.

✓ Direkt boyarmaddeler

Boyama öncesinde herhangi bir işlem gerektirmeden selüloz ya da yüne doğrudan bağlanıp elyafın iç misellerine tutunabilen, suya karşı dirençleri düşük olan boya grubudur. Direkt boyarmaddeler, ucuz ve boyama işleminin basit olması ile boyadığı elyafı yıpratmamasından dolayı tercih edilirler. Rayon (kayın ağacı liflerinden elde edilen ve yapay ipek olarak da bilinen bir kumaş türü), pamuk, keten, ipek ve hatta naylon boyamada da kullanılırlar.

✓ Mordan boyarmaddeler

Birçok doğal ve sentetik boyarmadde bu grupta yer almaktadır. Bunlar asidik veya bazik fonksiyonel gruplar içermekte olup bitkisel ve hayvansal elyaf ile kararsız bileşikler oluşturur. Boyama işleminde mordan önce elyafa yerleştirilir, ardından boyarmadde ile reaksiyona sokularak suda çözünmeyen bir bileşiğe dönüştürülür ve böylece boyarmadde elyaf üzerine sabitlenmiş olur. Bu boyalar, özellikle yün olmak üzere, ipek, selülozik elyaf ve naylon boyamada tercih edilirler. Mordan olarak suda çözünmeyen alüminyum, kalay, demir ve genellikle krom tuzları kullanılmaktadır. Bu boyalar, özellikle yün olmak üzere, ipek, selülozik elyaf ve naylon boyamada tercih edilirler.

✓ Reaktif boyarmaddeler

Reaktif boyarmaddeler, uygun koşullarda lif ile kimyasal tepkimeye katılarak kovalent bağ yapabilme özelliğine sahip tek boyarmadde sınıfıdır ve yüksek oranda suda çözünürler (Ölmez 1999).

✓ Küpe boyarmaddeler

Suda çözünmeyen boyarmaddeler suda çözünür hale getirildikten sonra elyafa bağlanmaktadır. Daha sonra elyafa bağlı haldeyken oksidasyonla tekrar suda çözünmez hale getirilmektedirler. Genellikle selülozik elyafın boyanması ve baskı boya yapımında kullanılmaktadırlar. Maliyetinin yüksek, boyamanın zahmetli olmasından dolayı bu boyaların tercih edilmesi diğer boyalara göre daha azdır.

✓ İnkişaf boyarmaddeler

Tekstil maddesi üzerinde çözünmeyen azo boyarmaddelerini oluşturmak için kullanılan azoik boyarmaddeler bu grupta yer almaktadır.

✓ Metal-Kompleks boyarmaddeler

Azo boyarmaddeleri ile Co, Cr, Cu ve Ni gibi metal iyonlarının büyük molekül oluşturması sonucu meydana gelen boyarmaddelere metal-kompleks boyarmaddeler adı verilmektedir. Bu iyonlardan krom genellikle yün boyamada, bakır ise deri boyacılığında kullanılmaktadır.

✓ Dispersiyon boyarmaddeler

Bu grup, suda çok az çözülebilen ve suya dispersiyon (küçük parçacıklar) halinde uygulanabilen boyarmaddelerden oluşmaktadır. Dispersiyon boyarmaddeleri poliestere ve akrilik elyafların boyanmasında kullanılmaktadır.

✓ Pigment boyarmaddeler

Tekstil elyafı, organik ve inorganik pigmentlerle boyanabilmektedir. Pigmentlerin elyafa bağlanma aktifliği bulunmadığından bağlayıcı madde olarak sentetik reçineler ile elyafın yüzeyine bağlanmaları sağlanmaktadır.

Kimyasal Yapılarına Göre Boyarmaddeler

Bu gruba dahil boyarmaddeler sentez ve uygulanmalarına göre sınıflandırılmaktadır.

✓ Azo boyarmaddeler

Azo boyarmaddeleri, sp^2 melezleşmiş C atomları arasında bir köprü görevi yapan azo grubu içeren bileşiklerdir. Sentetik olarak elde edilen organik boyarmaddelerin en önemli ve geniş grubudur. Doğal boyarmaddeler ise azo grubu taşımazlar. Geniş renk spektrumuna sahip olan bu boyaların sentezlenmesi sulu çözeltide yapılabildiği için çok sayıda boyarmadde elde edilebilmektedir. Tekstil ve sentetik elyaf boyamada yaygın olarak kullanılırlar.

✓ Kükürt boyarmaddeler

Suda çözünen kükürtlü boyarmaddelerdir ve bu boyarmaddelerin molekül yapılarında sülfhidrür, sülfid, disülfid, sülfoksit gibi gruplar bulunmaktadır (Başer ve İnanıcı 1990).

✓ Nitro boyalar

Bilinen eski sentetik boyalardır. Bu boyaların yapısında genellikle nitro ve bazı hallerde sülfü grup olduğundan asidik özellik gösterirler.

✓ Nitrozo boyarmaddeler

Bu boyarmaddelerin yapısında o-nitrozofenol ve onitrozonaftoller gibi nitrozo grup türevleri bulunmaktadır (Kurbanova *et al.* 1998).

✓ Arilmetan boyarmaddeler

Bu gruba giren boyarmaddelerin yapısında diaril, triarilmetan ve ksanten türevleri bulunmaktadır (Kurbanova *et al.* 1998; Seventekin 1988).

✓ Polimetin boyarmaddeleri

Yapısında polimetin ($-\text{CH}=\text{N}-$) ve heteroatom olan bileşiklerdir. Ancak tekstil materyallerinin boyanmasında bu grup boyalar, polimetin boyarmaddelerinin çok zayıf ışık duyarlılıklarından dolayı sınırlıdır.

✓ Aza [18] annulen boyarmaddeleri

18 π elektronlu ve birleşmiş durumda çift bağ bulunduran, silik renk özelliğe sahip boyarmaddeler bu gruba dahildir (Kurbanova *et al.* 1998).

✓ Karbonil boyarmaddeleri

Molekül yapısında birleşmiş çift bağ ve en az iki karbonil grubu içeren bileşiklerdir (Özcan 1984).

Daha önce yapılan araştırmaların sonuçları, boyarmaddelerin farklı boyama özellikleri ya da kimyasal yapılarına göre (Tablo 1) ister sentetik ister doğal boyarmaddeler olsun organizmalar üzerinde toksik ve genotoksik etkili olduğunu göstermektedir.

Yaşlanma

Yaşlanma, hücrelerden organlara kadar tüm yapılarda meydana gelen oldukça karmaşık bir süreçtir. Günümüzde hala yaşlanmaya sebep olan etkenler araştırılmakta ve konuya ilişkin birçok yeni teori üretilmektedir. Yaşlanma, doğumla başlayan ve geri dönüşümsüz olan fizyolojik süreç içinde fonksiyonel ve yapısal değişikliklerin tümünü kapsayan, canlıların

büyüme ve gelişmesinde zamanla oluşan hasarların toplamı olarak tanımlanmaktadır. Minciullo *et al.* (2016)'a göre ise bu süreç genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucunda gelişen ancak bireyler arasında sabit olmayan dinamik bir olay olarak da değerlendirilmelidir. Tüm bu tanımlamalar, yaşlanma sürecinin kaçınılmaz olduğunu, hastalıklara karşı artan bir hassasiyeti ve dış etkenlere karşı oluşan immün cevapta azalan bir yanıtı da işaret etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre yaşlanma, çevresel faktörlere uyum sağlama yetisinin zamanla azalması olup büyüme ve gelişme tamamlandıktan sonra organlarda oluşan yıpranma olarak tanımlanmaktadır (Can ve Aslan 2014). Ayrıca yaşlanma için biyolojik, kronolojik, toplumsal, psikolojik boyutları olan, engellenemeyen ve ölüm riskini artıran değişikliklerin birikimi şeklinde oldukça geniş bir başka tanım daha yapılmaktadır. Bu tanımda yer alan kronolojik yaşlanma, 64 yaşın bitimi 65 yaşın başlamasıdır. Tümerdem (2006)'e göre, yaşlılıktaki 3 evre; erken yaşlılık evresi (65-74 yaş arası), orta yaşlılık evresi (75-84 yaş arası) ve ileri yaşlılık evresi (85 yaş ve ötesi) olarak değerlendirilmektedir. Psikolojik yaşlanma, kişilerin duygularında, algılarında ve davranışlarında oluşan değişimlerdir (Soyuer ve Soyuer 2008). Toplumsal yaşlanma, kişilerin toplum içindeki çalışma ve sosyal iletişimde işlev ve kabiliyetin gittikçe azalarak kaybolmasıdır (Tümerdem 2006). Biyolojik yaşlanma ise Troen (2003)'e göre; olgunluktan sonra yaşla birlikte artan mortalite, doku biyokimyasında meydana gelen geri dönüşümsüz değişiklikler, çevresel uyaranlara cevap verme yeteneğinde ve fizyolojik kapasitede gözlenen ilerleyici azalma ile hastalıklara karşı artan duyarlılık ve hassasiyettir.

Yaşlanmanın canlılar açısından temel göstergesi olan biyolojik yaşlanma olayının mekanizması, içinde hala cevapsız sorular barındıran çok faktörlü bir olgudur. Bu süreci açıklayabilmek için geliştirilmiş olan teoriler ve bu teorilerin anlaşılabilmesine yönelik en genel sınıflandırma Tablo 2'de verilmiştir. Farklı canlı türlerinde doğal seçilimin daha uzun ömür sağlamadığı görülünce Tablo 2'de verilen dış ve iç etkenlere dayalı olarak çeşitli teoriler ile yaşlanmanın açıklanmasına çalışılmıştır. *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans* ve *D. melanogaster* yaşlanma genetiği çalışmaları sıkça kullanılan model organizmalardır ve bu model organizmalar ile yapılan araştırmalar, Bishop *et al.* (2007)'a göre, yaşam süresi üzerinde genetik faktörlerin rolüne ilişkin birçok delilin varlığını göstermektedir.

Tablo 2. Yaşlanma Teorilerin Sınıflandırılması

Dış etkenler	İç etkenler (gelişimsel-kalıtımsal)
➤ Somatik Mutasyon ve DNA Tamir Teorileri	➤ Uzun Yaşam Genleri
➤ Proteinlerin Değişikliğe Uğraması	➤ İvmelenmiş Yaşlılık Sendromları
➤ Ölümcül Hata Teorisi	➤ İmmunolojik Teori
➤ Serbest Radikal Teorisi	➤ Hücrel Yaşlılık Teorisi
	➤ Hücre Ölümü Teorisi
	➤ Antagonistik Pleiotropi Teorisi
	➤ Endokrin Teorisi
	➤ Nörendokrin Teorisi
	➤ Bağışıklık Teorisi
	➤ Kullanılmaya Bağlı Eskime Teorisi

Dış Etkenler

- Somatik mutasyon ve DNA tamir teorileri

Somatik mutasyon teorisi ilk kez 1952 yılında İngiliz biyolog Peter Medawar tarafından ortaya atılmıştır. Somatik mutasyon; radyasyon, ultraviyole ışınları, çeşitli kimyasallar, reaktif oksijen ve serbest radikaller gibi etkenler sonucunda somatik hücrelerde geri dönüşümsüz hasarların meydana gelmesi ve birikmesi ile oluşur. Somatik hücrelerde yaşam boyu biriken mutasyonların birçok hastalığa neden olduğu ve yaş ilerledikçe onkojenik mutasyonların somatik hücrelerde birikmesi sonucu kanser görülme sıklığının arttığı belirtilmektedir (Curtis 1966).

DNA tamir mekanizmasına dayandırılan teori ise somatik mutasyon teorisinin daha özel bir şekli olup DNA hasarı tespitini, hasara verilen cevabı, tamiri ve apoptoz ile hücre siklusunun kontrolü aşamalarını kapsamaktadır (Slijepcevic 2006). Ramsey *et al.* (1995)'a göre, insan lenfosit hücrelerinde yaşa bağlı olarak DNA hasarları artmaktadır. Kyoizumi *et al.* (1996)'a göre de yaşın ilerlemesiyle birlikte insan lenfosit ve eritrositlerinde mutasyon artışı gözlemlenmektedir. Somatik mutasyon teorisinin en önemli örneği, erken yaşlanmanın oluşmasıyla karakterize, otozomal resesif bir hastalık olan Werner sendromudur (yetişkin progeriası). Oota (2020)'ya göre, WRN resesif genindeki mutasyondan kaynaklanan bu sendromda, pleiotropik interaksiyona dayalı olarak katarakt, damar sertliği, diyabet, felç ve kanser gibi çok sayıda somatik semptom gözlenmektedir.

- Proteinlerin değişikliğe uğraması

Yaşlanma ile birlikte proteinlerin fonksiyonlarında ve yapılarında değişiklikler (denatürasyon) meydana gelmektedir (Nalbant 2006). Enzimlerin yapısında bulunan protein kısmında meydana gelen bu değişiklikler, enzimlerin fonksiyonlarını azaltmakta ve ısıya olan

duyarlılıklarını değiştirmektedir. Proteinlerin yapısal değişiminde ise karbon içeriklerinin doğrudan oksidasyon, metal katalizörlü oksidasyon, lipid oksidasyonu ve glikolizasyon ile arttığı belirtilmektedir. Enzimatik olmayan yoldan gelişen karbonhidrat-protein amino gruplarının etkileşimi sonucu vücutta ileri şekerlenme ürünleri ve amiloid birikimi gerçekleşmektedir. Hücre dışı matriks proteinlerinde de değişiklikler meydana gelmekte ve çapraz bağların gen ekspresyonlarını (aktivitesi) bozmaktadır. Bu bozulan mekanizmaların özellikle katarakt ve damar sertliği gelişiminde önemli rol oynadığı belirtilmektedir.

➤ Ölümül hata teorisi (Error-Katastrophe)

Bu teoriye göre, organik (makro) moleküllerin üretildiği moleküler kopyalama işlemleri olan transkripsiyonal ve translasyonal hatalar sonucu kusurlu proteinler sentezlenmektedir. Değişime uğramış veya hatalı proteinler, yaşlanan hücrelerde birikerek organizmanın ölümüne sebep olmaktadır. Bu teori, moleküler eşleme işlemi sırasında meydana gelen hatalar sonucu kusurlu proteinlerin sentezlenmesi ve yaşlı hücrelerde azalan klirens (moleküllerin kan sıvısından temizlenmesi) sonucu hatalı proteinlerin birikmesi esasına dayanmaktadır.

➤ Serbest radikaller teorisi / Oksidatif hasar

Serbest radikal yaşlanma teorisi, 1956 yılında Denham Harman tarafından ileri sürölmüştür. Bu teoriye göre, yapılarında tek ve eşleşmemiş elektron bulunduran atom veya moleküller olarak bilinen serbest radikallerin dokularda birikmesi yaşlanmaya yol açmaktadır. Yaşlanma, oksijenli metabolizma sırasında serbest radikallerin dokularda birikmesiyle meydana gelen hasarlar sonucu oluşmaktadır. Serbest radikaller, yapılarında elektron bulundurması sebebiyle aktif maddelerdir. Yaşa bağlı olarak özellikle mitokondriyal DNA, protein ve lipidlerde hasar oluşturan süperoksit anyonları, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi serbest radikaller meydana gelmektedir. Süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil, peroksil, lipit peroksil ve alkoksil bilinen en önemli serbest radikallerdir (Karabulut ve Gülay 2016). Canlılarda oksidasyon sonucu oluşan serbest radikalleri ortamdan uzaklaştıran endojen savunma ve onarım mekanizmaları bulunmaktadır. Bu sistemler yaşam süresince denge içinde çalışır. Yaşın ilerlemesiyle birlikte bu denge oksidatif zedelenme yönünde bozulmaya başlar ve bu teoriye göre yaşlanma, hücre proteinlerinde ve genlerde meydana gelen bozulmalar sonucu oluşmaktadır.

Serbest radikaller oksidan olarak tanımlanan dış etkenler ile de vücut içerisinde oluşabilmektedir. Radyasyon, virüsler, UV ışınları, enfeksiyon, stres, çeşitli ilaçlar ve kimyasallar dış kaynaklı oksidanlara örnek olarak verilebilir (Kılınç ve Kılınç 2003). Oksidanlar serbest radikal oranının artmasına yol açarak vücut içerisindeki tüm molekülleri etkilemektedir. Bu moleküllerin en hassas olanları arasında lipitler bulunmaktadır. Hücre ve

organel membranlarında bulunan lipitler, serbest radikallerle etkileşime girerek peroksidasyon ürünleri meydana getirirler ki yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olarak bilinen peroksidasyon oldukça zararlı olup geri dönüşümsüz membran hasarlarına neden olurlar (Alem 2007).

İç Etkenler

Yaşlanmanın kalıtsal olarak programlanmış gelişimsel mekanizmalarla kontrol edilen bölümünü oluşturur.

➤ Uzun yaşam genleri

Uzun yaşam genleri teorisine göre, organizmada oluşan hasarlar birikmektedir. Vücudumuzda bulunan genetik kontrol mekanizmaları tarafından oluşan bu hasarlara karşı yanıt oluşturulamazsa yaşlılık meydana gelmektedir. Bu süreçte genetik kontrolü oluşturan genlere uzun yaşam genleri denilmektedir. Hasarı oluşturan önemli etken ise metabolik reaksiyonlardır.

➤ İmmünolojik teori

Bireyin doğumunda immün sistem yeterince gelişmemiştir. Doğumdan sonra zaman içinde mikroorganizmalara karşı vücudun oluşturduğu antikorlar ve yapılan aşılarla hastalıklara karşı bağışıklık artmaktadır. Yaşın ilerlemesiyle birlikte immün sistem tekrar gerilemekte ve etkinliğini kaybetmektedir. Bu yüzden bu teori, yaşlılık döneminde bağışıklık sistemi fonksiyonlarının gerilemesiyle vücudun kendisini koruyamadığını ve buna bağlı olarak çeşitli hastalıkların meydana geldiğini ifade etmektedir.

➤ Hücresel yaşlılık teorisi / telomeraz teorisi

Telomeraz teorisine göre, yaşlanma telomer dizilerinin uzunluğu ile ilişkilidir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, telomerik DNA uzunluğu ile hücre eşlemesi arasındaki bağlantıyı ortaya koymuştur. Telomerler, kromozomların terminal bölgelerinde bulunan, kromozomun kararlı yapısının korunmasından sorumlu olan ve her organizmaya özgü tekrarlanan DNA dizileridir. Kromozomların uçlarında bulunan ve TTAGGG şeklindeki tekrarlanan baz dizileri telomer bölgesini oluşturur. Bu diziler, aynı zamanda farklı organizmalarda aynı olabilen özel konsensüs dizileri olarak da tanımlanmaktadır. Ayrıca her bir kromozomun ucunda bulunan bu diziler, farklı kaynaklarda genetik şifrenin güvenliği için adeta kilit kapanış noktaları ya da kör noktalar olarak da adlandırılmaktadır. DNA'daki tek zincirli uçları korumak ve ölümsüzlük sağlamak, kromozomları yeni düzenlemelerden korumak, mayozun profazında eşleşme ve hareketi sağlamak ve kırık kromozom uçlarının yapışmasını engellemek telomerin işlevleri arasındadır.

Organizmalarda telomer boyları sabit olup sürekli bölünebilen ve hücrel yaşlanmanın görülmediği üreme hücreleri ve kök hücrelerin aksine somatik hücrelerde her bölünme esnasında telomer boyunda kısalma meydana gelmektedir. Bu kısaltmalar ise hücreyi ölüme adım adım yaklaştırır (Olovnikov 1996; Hemann *et al.* 2001). Kısalan telomerler özel bir enzim olan ve ribonükleoproteinler ile RNA'dan oluşan bir revestranskriptaz enzimi “telomerazlar” tarafından uzatılır. Yapısında bulunan RNA nükleotid dizileri, telomer ucundaki tekrarlanan dizilere komplementerdir. Yapılan araştırmalar telomeraz enziminin telomeri yaklaşık 10.000 nükleotid çifti kadar uzattığını göstermiştir. Telomer boyu ve telomeraz aktivitesi, hücrenin kaç kez bölüneceğini tayin etmekte ve bir çeşit moleküler saat-genetik saat olarak iş görmektedir. Telomeraz aktivitesi hücrelerde artırılarak yaşlanmanın durdurulabileceği ya da yavaşlatılabileceği düşünülmüş ancak daha sonraları hücrelerde kanserleşme meydana gelebilmesi riskinden dolayı gerçekleştirilememiştir (Gülmez 2014). Hücrelerde telomeraz aktivitesini ve telomer boyundaki kısaltmaları ağır metaller, obezite, egzersiz eksikliği, düzensiz beslenme ve uyku alışkanlıkları ile reaktif oksijen türlerinin de etkilediği bu teoride kabul görmektedir (Desai *et al.* 2010).

➤ Hücre ölüm teorisi

Nekrozis ve apopitozis olarak bilinen iki hücre ölümü vardır. Nekroz tesadüfi bir son olmasına karşın apopitoz genetik kontrollü bir sonudur. Apopitoz homeostazın devamı açısından gereklidir. Engellendiğinde malign transformasyon (kötü huylu tümör) artarken kontrolsüz olarak arttığında total fonksiyon kaybı gelişmektedir. “Programlanmış hücre ölümü” ile “apopitoz” birbirinin yerine kullanılmasına rağmen anlamları aynı değildir. Programlanmış hücre ölümü gelişimsel bir olay iken apopitoz hücre ölüm modellerinden birisidir (Ferbeyre and Lowe 2002; Troen 2003).

➤ Antagonistik pleiotropi teorisi

Antagonistik pleiotropi, yaşlanma için geliştirilen evrimsel teorilerden biridir. Ünlü evrimsel biyolog George Williams tarafından 1957 yılında ortaya atılan antagonistik pleiotropi teorisi, temel olarak bireyin sağlığı üzerinde belirli dönemlerde farklı olmak üzere hem yararlı hem de zararlı etkileri barındıran genleri ifade etmektedir. Yunanca *pleion*=daha çok, daha fazla anlamına gelmektedir ve pleiotropi, tek bir gen tarafından iki veya daha fazla sayıda birbirinden farklı fenotipik etkinin meydana getirilmesi olarak tanımlanmaktadır. Daha spesifik olarak teori, yaşam döngüsünün erken veya üreme çağında ortama uyum sağlayan genlerin hayatın ilerleyen dönemlerinde zararlı etkilere sahip olabileceğini ifade etmektedir. Örneğin genç erkeklerdeki testosteron vücut boyu, sekonder eşeysel karakterlerin gelişimi ve rekabetçi davranışlar üzerinde erkeğin üreme başarısını artırıcı özellikleri desteklerken erkeklerde yaşam

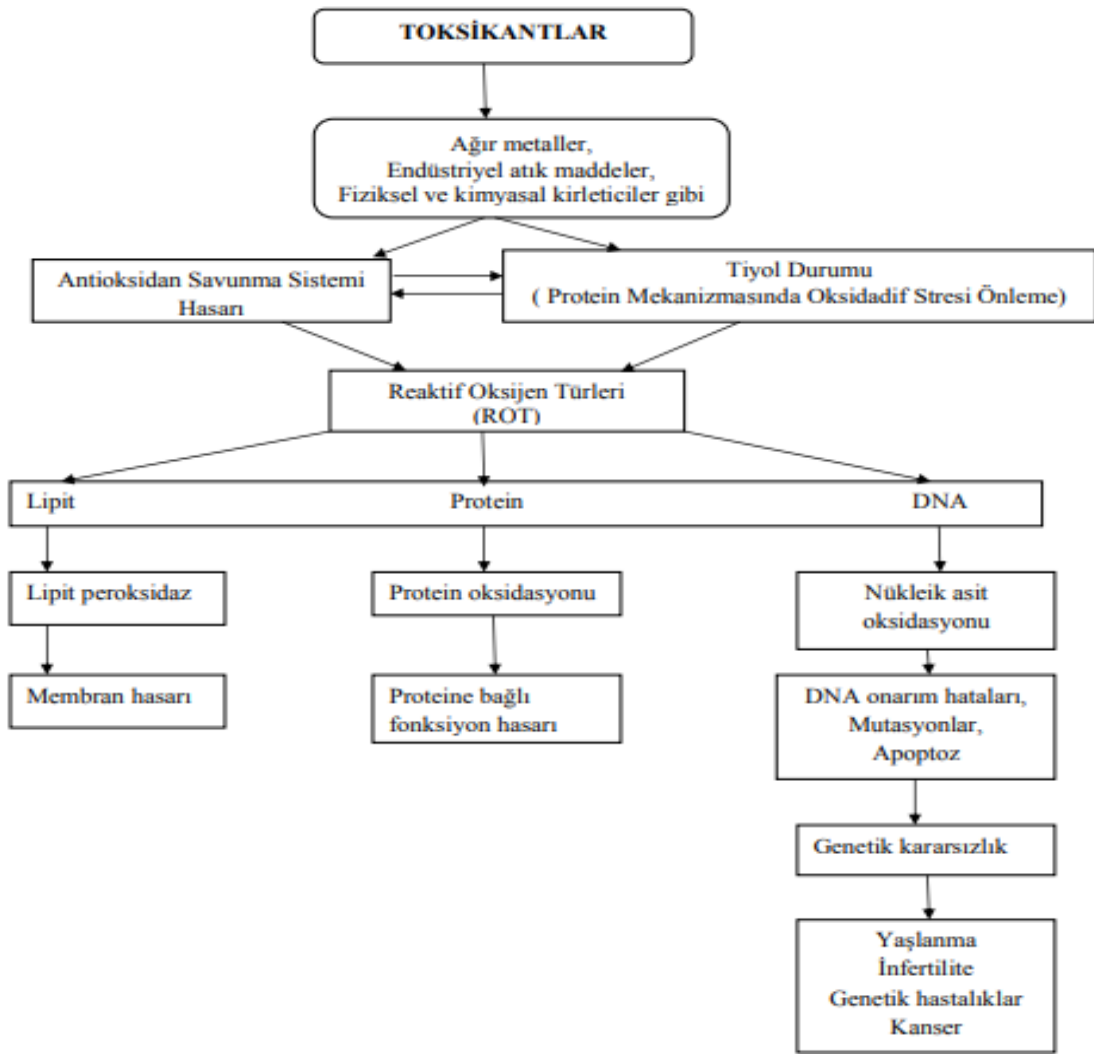
döngüsünün ilerleyen zamanlarında yani olgunluk ve yaşlılık dönemlerinde testosteron birey üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir. Buna örnek olarak prostat kanseri geliştirmeye yatkınlık verilebilir. Antagonistik pleiotropi teorisi ile yorum getirilmeye çalışılan hastalıklara örnek olarak Alzheimer ve Huntington chorea gibi nörodejeneratif hastalıklar ve tek bir genin farklı etkileri üzerinden incelenen orak-hücre anemisi ve beta-talasemi gösterilebilmektedir (Wood 2011; Carter and Nguyen 2011).

Genetik Toksikoloji

Genetik toksisite ya da kısaca genotoksisite; DNA ve kromozom yapısında meydana gelen baz eklentileri, baz eksilmeleri olarak bilinen gen mutasyonları (mikro mutasyonlar), DNA kırıkları, klastojenik (kromozomların kırılması) ve anojenik (kromozom sayısında artış ya da azalış) olarak tanımlanan kromozomal anomalileri kapsayan genel bir terimdir (Choy 2001; Mortelmans and Rupa 2004). DNA veya genomun kopyasının çıkarılmasını sağlayan enzimlerle etkileşime giren ve mutasyona neden olan maddelerin DNA’da hasar meydana getirmesi veya farklı değişimlere yol açması ise Zeiger (2004) tarafından genotoksik etki olarak tanımlanmıştır.

DNA molekülünde mutasyonlara yol açan mutajenler, etkilerini ya doğrudan ya da dolaylı yollardan gösterirler. İster doğrudan ister dolaylı olarak gerçekleşen DNA hasarı da kilit görevi gören moleküllerde ve bu moleküllerin yer aldığı metabolik yolaklarda bozukluklara sebep olmuşsa; doku hasarı, yaşlanma, kanser, infertilite ve bazı kalıtsal otozomal resesif (AR), otozomal dominant (AD) ya da eşeye bağlı (X’e bağlı) olarak tanımlanan tek gen mutasyonları ve multifaktöriyel kalıtmımlı hastalıklara (Tablo 3) sebep olmaktadır (Kirsch-Volders *et al.* 2003)

Tablo 3. Genotoksik Maddelerin DNA Üzerindeki Etki Mekanizması ve Sonuçları



Genetik toksikoloji alanında yapılan çalışmalar, 1927 yılında Müller ile başlamış ve günümüzde de gelişen teknoloji ve yenilenen analiz yöntemleri ile mutajenik ve genotoksik maddelerin karsinojenik etkilerini belirlemek için kullanılan önemli araştırma alanlarından biri olmaya devam etmektedir (Bedir vd 2004). Bu alanda yapılan araştırmaların asıl hedefi, model organizmalardan elde edilen veriler ile genotoksik maddelerin DNA molekülünde meydana getirdiği hasarların insanlarda da meydana gelip gelmediğinin ve bu hasarların yine insan sağlığı bakımından etkilerinin ortaya konulabilmesidir. Kullanılan farklı *in vivo* ya da *in vitro* testler ile çeşitli ekstraktlar, ilaçlar, gıda katkı maddeleri, nanomateryaller, parazitik enfeksiyonlar, sigara, UV ve pestisit gibi pek çok etkenin genotoksik ve karsinojenik etkileri belirlenebilmektedir. Aynı zamanda ilaç güvenirliliğinin tespiti gibi farklı amaçlarla da genotoksisite testleri kullanılmaktadır (Preston *et al.* 1981; Choy 2001; Jena *et al.* 2002; Mateuca *et al.* 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile sayısal ya da yapısal aberasyonlara dayalı olarak genetik hastalıkların ve kanser vakalarının sayısının önemli derecede artmış olduğu gösterilmiştir. Her ne kadar bu tip hastalıkların nedenleri spontan (anlık) mutasyonlara bağlanmış olsa da çevremizde devamlı olarak maruz kaldığımız dış kaynaklı fiziksel (UV (iyonsuz radyasyon/iyonize olmayan ışınım) X, gama, kozmik ışınlar gibi (iyonlu radyasyon/iyonize ışın) ve kimyasal ajanların (sanayi atıkları, tıbbi ilaçlar, pestisitler, gıda katkı maddeleri gibi) etkileri de oldukça önemlidir. Bu nedenle mutajenlerin genotoksisite açısından değerlendirilmesi ve ciddi risk taşıyanların belirlenerek gerekli önlemlerin alınmasını amaçlayan genotoksisite testlerinin kullanımlarının geliştirilmesi ve yaygınlaştırılması gerekmektedir. Bu testlerin kullanımları ile bireylerin herhangi bir kimyasal ajana verecekleri genetik cevabın önceden belirlenmesi, metabolizma bozuklukları ve kanser gibi hastalıkların klinik belirti vermeden tespiti sağlanabilmektedir (Şekeroğlu ve Şekeroğlu 2011).

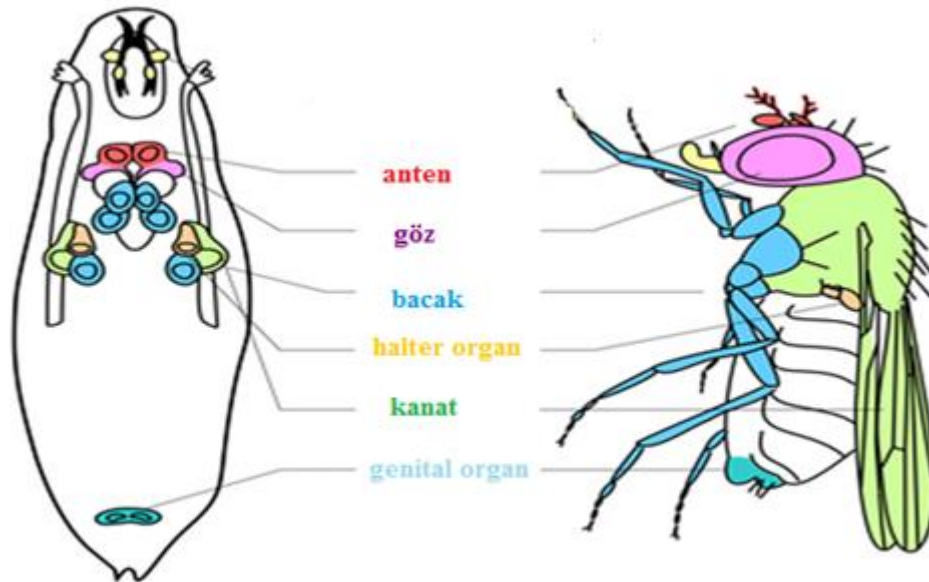
Mikroorganizmaların, bitkilerin, böceklerin ve omurgalı hayvanların kullanılabileceği pek çok kabul gören genotoksik test yöntemi bulunmaktadır (Olaharski *et al.* 2006). En sık kullanılan *in vivo* ve *in vitro* genotoksisite testleri arasında *Allium* testi, Mikrozom mutajenite testi, Kromozom anomalileri testi, Mikronükleus testi, Kardeş kromatid değişimi testi, Comet Testi ve Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi yer almaktadır.

Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)

Günümüzde *in vivo* çalışmalar için tercih edilen SMART; çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik maddelerin mutajenik ve rekombinojenik etkilerini saptamak amacıyla mutant *Drosophila* türleri kullanılarak yapılan *in vivo* bir test yöntemidir. Bu yöntem, farklı kromozomal aberasyonların tespit edilmesine de olanak sağlamaktadır (Graf *et al.* 1984). SMART'ın tercih edilmesindeki en önemli nedenler arasında;

- ✓ genotoksik hasarın belirlenmesi için yalnızca bir nesile ihtiyaç duyulması,
- ✓ çok sayıda somatik hücre analizinin yapılabilmesi,
- ✓ preparasyon işlemlerinin kolay olması ve sonuçların hızla alınıp istatistiki değerlendirmelerin kısa sürede yapılabilmesi (Graf and Würgler 1996),
- ✓ mutant *Drosophila* türlerinin laboratuvar şartlarında beslenmelerinin kolay ve besiyeri içeriğinde bulunan malzemelerin ekonomik olması,
- ✓ sıcaklık ve bağıl nemin stabil tutulabildiği uygun bir ısıtmalı-soğutmali inkübatörün yetiştirilme ortamı olarak kullanılıp deneysel protokol için çok sayıda 3. evre larva ve ergin bireyin kısa sürede elde edilebilmesi sayılabilir (Uysal vd 2006)

SMART uygulaması, *Drosophila*'nın kanat ve göz gibi iki farklı somatik dokusunda kanat benek testi ile göz benek testi olarak yapılabilmekte ve kısa süreli *in vivo* deneysel çalışabilmeyi mümkün kılmaktadır. Bu uygulama ile herhangi fiziksel ya da kimyasal etkenlere dayalı olarak göz ve kanatlarda oluşabilecek/oluşan mutant hücre klonları saptanabilir. Her iki testin uygulanmasında esas olarak larvanın embriyonik gelişiminde bulunan ve ergin sineğin vücut yapısını oluşturuncaya kadar mitozla çoğalan büyük hücre grupları yani imajinal diskler hedef alınmaktadır (Şekil 8). Eğer larval dönemde imajinal disk hücrelerinden birinde genetik bir farklılaşma meydana gelmişse bu değişiklik mitozla çoğalan yeni hücrelere aktarılır ve normal fenotipten farklı olan, mikroskopik olarak normal hücrelerden kolayca ayrılabilen mutasyona uğramış hücre grupları oluşur. Meydana gelen bu genetik değişiklik, eğer fenotipik değişikliği yol açabilmişse ergin sineğin kanatlarında ve gözlerinde çoklu trikom (kıl) veya trikom körelmesi gibi mutant klonlar ortaya çıkmaktadır.



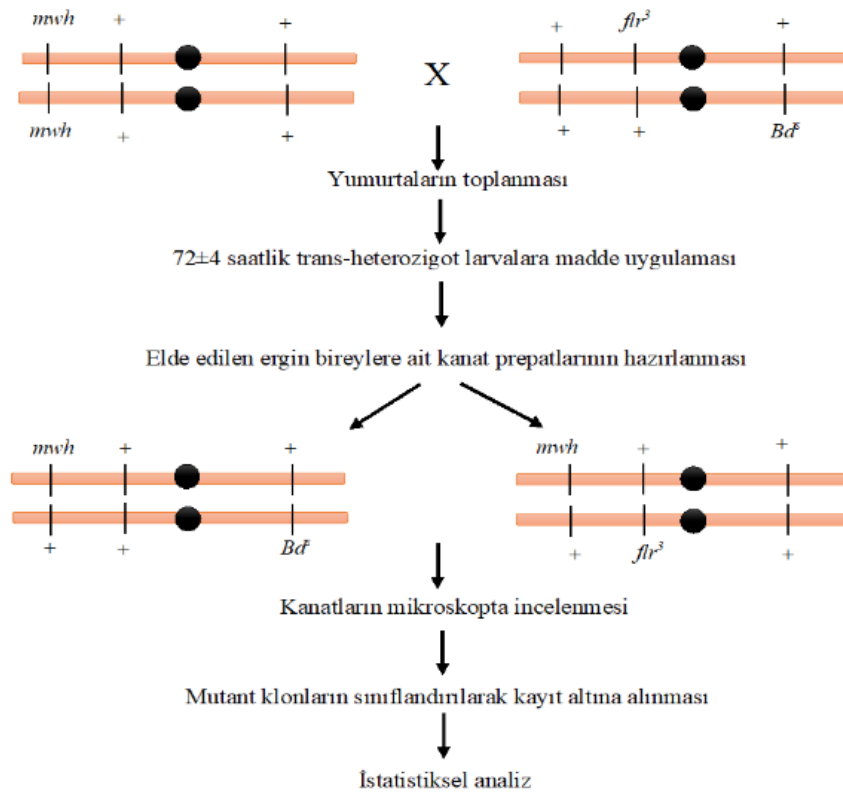
Şekil 8. Larval imajinal disklerin ergin bireydeki vücut parçalarına dönüşümü

SMART çalışmaları için *mwh* ve *flr³* mutant soylarına ait erkek ve dişi bireyler çaprazlanıp oluşan trans-heterozigot larvalardan elde edilen F₁ nesline ait ergin bireylerin kanatlarındaki mutant klonlar tespit edilmektedir (Şekil 9). Bu mutant soylara ait genetik bilgiler ve çaprazlamaya ait deneysel protokol “Materyal ve Metot” kısmında detaylı olarak verilmiştir.

Normal kanatlı bireylerin kanat sektörleri hem mutasyon hem de rekombinasyon sonucu oluşan mutant klonları içerirken, serrat kanatlı erginlerde dengeleyici *TM3* kromozomu rekombinasyonu baskılar ve klonlar sadece mutasyonlar sonucu oluşurlar. Bu nedenle, SMART sonuçları değerlendirilirken kanat preparatları kanat morfolojilerine göre normal kanatlı ve

serrat kanatlı olmak üzere ikiye ayrılarak incelenmiştir. Mutasyon veya rekombinasyonlara bağlı olarak kanatlarda oluşan klonlar, iki mutant soya ait kıl tiplerinden yalnızca birini yani *mwh* veya *flr³* mutant fenotipini taşıyorsa “tekli benekler” olarak sınıflandırılır. Tekli benekler ise 1 veya 2 tane *mwh* mutant hücre varsa “küçük tek tip klon” (KTT), 3-4 veya daha fazla *mwh* mutant hücre ya da 3 veya 4’den daha fazla *flr³* mutant hücre varsa “büyük tek tip klon” (BTT) olarak tanımlanmaktadır. Hem *mwh* hem de *flr³* mutant hücre klonlarının her ikisini birlikte taşıyan klonlar da “ikiz klon” olarak adlandırılmaktadır.

Graf *et al.* (1984)’a göre, tek tip ve ikiz klonlar farklı genetik mekanizmalara bağlı olarak oluşmaktadır. Tek tip klonlar; mikro mutasyon, delesyon, non-disjunction ve marker genlerden *mwh* ve *flr³* arasındaki mitotik rekombinasyona bağlı olarak oluşurken her iki klon çeşidinin oluşmasını yalnızca mitotik rekombinasyon tetiklemektedir. İkiz klonlar ise 3. kromozomun sentromeri ve *flr³* geni arasındaki somatik rekombinasyon sonucu oluşmaktadır. Serrat kanatlı bireylerde *TM3* baskılanmasından dolayı mitotik K.O gerçekleşmemektedir (Frei and Würzler 1988).



Şekil 9. SMART’ın yapılışına ait protokol

Son yıllarda özellikle yoğun istenmeyen kötü kokulu renkli deşarj sularının bulunduğu tekstil endüstrisine ait tesisler ve imalathaneler çevresinde yapılan araştırmalar, çoğunlukla çevre bilincinin yüksek olduğu duyarlı vatandaşların basın ya da sosyal medya yoluyla gerçekleştirdikleri görsellere dayalı olarak hızlı bir ivme göstermeye başlamıştır. Yapılan farklı

alışmalar, evre kirletici ajanlar arasında gösterilen “boyarmaddelerin” canlı sistemler üzerinde risk oluşturduğuna dair bilgileri içermekte ve bu bilgilerde hem ulusal ve/veya uluslararası bilimsel dergilerde yayımlanan makalelerde hem de basında sıklıkla yer almaktadır. Sucul ekosisteme arıtılmadan boşaltılan tekstil atıkları; hem denizler, gller ve tatlı sularda yaşayan flora ve faunayı hem de tatlı sulara kıyısı bulunan ekilebilir tarım arazilerini yüzeyden ya da dip suları ile kirletmekte ve besin zinciri yoluyla tüm canlıları ve zincirin son halkası olan insanları da etkileyebilmektedir. Bu atık sularda bulunan boyarmaddelere canlıların kısa ya da uzun süreli maruziyetlerinden doğabilecek muhtemel etkiler, etken maddenin miktarına, etkileme süresine ve organ ya da sistemlerdeki birikimine bağlı olarak meydana gelmektedir. Sunulan bu tez çalışmasında katran ve petrol türevli bazı sentetik boyarmaddelerin genotoksik etkiyi uyarıp/uyarmadığının belirlenebilmesi için kısa süreli *in vivo* genotoksisite testlerinden birisi olan ve kanat benek testi olarak da bilinen SMART ile çalışılmış ve uygulamalar için önemli bir model organizma olan *D.melanogaster* ’in *mwh* ve *flr³* mutant soyları kullanılmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

Günümüzde uluslararası çevre sorunları içinde en önemlilerinden birisi de sucul ekosistemlerin kirlenmesidir. Sucul ekosistemlerde kirliliğin büyük kısmı endüstriyel atıklar nedeni ile meydana gelmektedir. Genellikle farklı sanayi sektörlerinden, tekstil boya endüstrisi, deri, içki, şeker, kâğıt hamuru fabrikalarından deşarj edilen atıklar göller ve akarsular gibi sucul sistemlere arıtılmadan verilmektedir (Zagal 2008).

Tehlikeli Maddeler Veri Bankası (*Hazardous Substances Data Bank/HSDB*) tarafından yapılan incelemeler, 223 farklı tekstil boyasının memeli hayvanlarda kanserojenik (fiziksel, kimyasal veya biyolojik kökenli olabilen ve organizmalarda kanserleşmeye sebebiyet veren maddeler) etkilere sahip olduğunu göstermiştir.

İnsanlarda mesane ve renal pelvis kanserlerinin gelişmesinde aromatik aminlerin etkili olduklarına dair iddiaların açıklanabilmesi için 1921-1951 yılları arasında İngiltere’de mesane kanserinden ölenler üzerinde yapılan araştırmalarda, 127 kişinin boya endüstrisi çalışanı olduğu tespit edilmiştir. Aromatik aminler ile bileşenleri olan benzidin ve 2-naftilamin gibi etken maddelere maruz kalan erkeklerin %25’inde mesane kanseri oluşumu gözlenmiştir. Özellikle 2-naftilamine maruz kalan hastalarda mesane kanserinden ölüm daha fazla görülmüştür. Ayrıca Almanya’da da boya fabrikasında çalışan ve anilin içerikli boyalara maruz kalan 500 işçiden 4 tanesinde mesane kanseri oluşumu gözlenmiştir (Cartwringht 1983).

Endüstriyel sektörlerden en önemlisi olan tekstil endüstrisinin deşarj (doluluk) hacmi ve çıkış suyu göz önüne alındığında çevreyi en çok kirleten endüstri olarak nitelendirilmektedir (Şen and Demirer 2003; Uzal vd 2005). Tekstil endüstrisi atık sularında yer alan ve özellikle çevreye zarar veren aromatik yapıdaki organik maddeler boyama işlemleri sonucunda meydana gelmektedir (Grau 1991).

Nielsen and Rank (1994), çeşitli atık suların genotoksik etkilerinin *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde araştırıldığı bir çalışmada, özellikle kâğıt sanayi atık sularının en çok toksik etkiye sebep olduğunu belirlemiştir.

Benzidine maruz kalan farelerin lenfosit hücrelerinde kromozomal aberasyonların (sayı ya da yapı hataları) oranında artış gözlemiştir (Das *et al.* 1994).

Tekstil sanayinde kullanılan boyarmaddelerin fabrika atıkları ile dış çevreye verilmesi, çeşitli sağlıksız koşulların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Özellikle boyalı fabrika suyunun

direkt olarak ekosisteme verildiği atık sular, renk, koku, görüntü yönünden doğal ortamı bozmakta, böylece ortamda bulunan doğal flora ve faunayı yok etmektedir (Ekinci 2007). Tekstil endüstrisi atık sularının arıtılmasından sonra; yüksek konsantrasyonda bulunan boyarmadde, biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ), kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve askıda kalan madde içeren atık sularını oluşturmaktadır (McKay 1984). Boyarmaddeler çoğunlukla tam olarak parçalanamazlar ve arıtma tesislerinde atık sudan tam olarak uzaklaştırılamazlar (Anliker 1979). Atık sularda bulunan boyarmaddeler çevre kirleticisi olarak görülmele beraber toksik etkisinin de olduğu varsayılmıştır.

Azo boyası olan Orange II'nin toksik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sıçanların dalaklarında büyüme, eritrosit ve hemoglobin seviyesinde azalma gözlemiştir. Bu boyanın enzimler üzerindeki etkisi ise önemsiz bulunmuştur (Singh *et al.* 1987).

Yapılan bir başka çalışmada, popüler bir tekstil boyası olan Omega Red ME'nin, bir siyano bakteri olan *Nostoc calcicola* üzerine etkileri araştırılmıştır. *N. calcicola*'nın büyümesi, kullanılan yüksek dozlarda (10-20 ppm) baskılanmıştır (Shukla and Gupta 1992).

Tekstil atık sularının balıklar üzerine yaptığı histopatolojik ve histokimyasal değişikliklerin araştırıldığı bir çalışmada ise oogeneze başlangıcında oogonium nükleuslarının karyolize (çekirdek erimesi) uğradığı, nükleoluslarının kaybolduğu, oositlerde RNA ve protein miktarının azaldığı tespit edilmiştir (Murugesan and Haniffa 1992).

Beydilli *et al.* (1998) tarafından altı farklı reaktif azo boyasının (Black-5, Red-2 ve 120, Yellow-3, 15 ve 17) anaerobik bakteriler üzerindeki etkisi araştırılmış ve 300 mg/L'ye kadar toksik etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Ancak azo boyalarından olan Reaktif Red II'nin yüksek konsantrasyonlarda (500, 1000 ve 2000 mg/L) Arkea bakterilerden olan metanojen bakteriler üzerinde toksik etkisinin bulunduğu da rapor edilmiştir.

Boyarmaddelerin su ortamında biyodegradasyonu (yaşayan mikrobiyal organizmalar tarafından organik bileşiklerin yüzey aktif maddeler ve enzimler kullanılarak küçük parçalara ayrılması işlemi), mantarlar, kabuklu deniz hayvanları ve balıklar tarafından yapılabilir (Sugimori *et al.* 1998; Al-Sabti 2000). Ayrıca balıklar ve kabuklu deniz canlıları bu toksik maddeleri vücutlarında depo etmektedirler. Balıkların bu toksik maddelere maruz kalan en önemli kısımları derileridir. Bunun yanında, karaciğer, iskelet ve solungaçlar da bu maddelere yüksek oranlarda maruz kalmaktadır. Kabuklu deniz canlıları ise özellikle sindirim, boşaltım ve solunum epitel hücreleri, üreme kanalları ve kardiyovasküler sistemlerde toksik madde biriktirmekte ve bu maddeler bu kısımlardaki hücre ve dokularda değişimlere sebebiyet vermektedir (Adamo *et al.* 1997; Akcha *et al.* 2000; Peters *et al.* 2002).

Pratt and Taraska (2000) tarafından Disperse Blue 106 ve Disperse Blue 124 tekstil boyalarına maruz kalan 788 hasta üzerinde yapılan bir inceleme ile bu boyaların kontakt dermatite (yabancı madde teması sonucu ciltte oluşan kızarıklık) sebep olduğu ortaya konulmuştur.

Sumathi *et al.* (2001) tarafından, tekstil boyası atıklarının *Cyprinus carpio* üzerindeki genotoksik etkileri araştırılmıştır. *C. carpio* 'nun eritrositlerinde ve karaciğer hücreleri üzerinde DNA hasarları oluşmuştur.

Wang *et al.* (2002) tarafından ProcionYellow HEXL, Procion Blue HERD, ProcionYellow H-E4R, Ambifix Black BFGR, Remozal Black B, ProcionRed HEXL, ProcionRed H-E3G, ProcionRed HE3B, AmbifixYellow VRNL gibi reaktif tekstil boyalarının gram-negatif bir bakteri türü olan *Vibrio fischeri*'de toksik etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Tekstil boyası olarak kullanılan San G-GELB-GLE, Red FBL, Blue FGRL ve Black FDL boyalarının genotoksik etkileri *D.melanogaster*'de SMART ile incelenmiş ve boyaların mutajen oldukları bildirilmiştir (Eroğlu Doğan 2002).

V. fischeri ile yapılan başka bir çalışmada ise Reactive Black 5 tekstil boyasının toksik etkili olduğu Gottlieb *et al.* (2003) tarafından belirlenmiştir.

Aksu (2003) tarafından, Remazol Blue, Remazol Black B, Remazol Red RB reaktif boya çeşitlerinin *Saccharomyces cerevisiae*'da büyüme ve biyobirikim (bioakümülyasyon) üzerine etkileri araştırılmıştır ve boya konsantrasyonu arttıkça üremenin baskılandığı belirlenmiştir. Ayrıca düşük dozlarda bile biyobirikim yüzdesinin arttığı ve buna bağlı olarak da büyümenin baskılandığı rapor edilmiştir.

Jager *et al.* (2004) farklı tekstil boyalarının mutajenik etkilerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, farelerde fare lenfoma hücre yöntemi (*Mouse Lymphoma Assay*/MLA) testi ve gram negatif bakterilerden *Salmonella typhimurium*'da Ames testini kullanmışlardır. Kullanılan dokuz boyanın, her iki deney grubunda da mutajenik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Tekstil endüstrisinde kullanılan bazı boyaların mutajenik olup olmadığı Schneider *et al.* (2004) tarafından da hem Ames testi ile *S.typhimurium*'da hem de yine fare lenfoma hücre yöntemi ile farelerde araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar boyarmaddelerin hem prokaryotik hem de ökaryotik hücrelerde mutajenik etki oluşturduğunu göstermiştir.

Birhanlı and Özmen (2005)'e göre, Astrazon Red FBL, Astrazon Blue FGRL, Cibacron Red FN-3G, Cibacron Blue FN-R, RemazolRed RR ve Remazol Turquoise Blue G-A tekstil boyalarının *Xenopus leavis* (Afrika pençeli kurbağa) embriyolarına uygulandığı bir

araştırmada, kullanılan boyaların tamamının embriyo gelişimini olumsuz etkilediği ve yapısal anormalliklere neden olduğu belirlenmiştir.

Tekstil ürünlerinin boyanmasında kullanılan Dispers Blue 291 boyası, DNA’da inversiyon veya delesyona sebep olarak genetik kodda hata oluşturmaktadır (Rai *et al.* 2005).

Apohan ve Yeşilada (2005) tarafından yürütölen bir çalışmada, *Funalia trogii* (beyaz üröğöl mantar) ve *Staphylococcus aureus* (gram pozitif bakteri) üzerine iki farklı azo boyasının (Astrazon kırmızı ve Astrazon mavi) toksik etkisi araştırılmıştır. Araştırıcılar boyarmaddelerin mikroorganizmaların üremesini önemli düzeyde inhibe ettiğini bildirmişler, fungus pelletleri ile ön işlemden geçirilene boyarmaddelerin ise toksik etkisinin azaldığını rapor etmişlerdir.

Muthukumar *et al.* (2005), asit red 8, asit red 18, asit orange 10, asit orange 7 ve asit red 73 boyalarını kullanmışlar ve pek çok reaktif ve direkt boyanın sucul hayata toksik etkisinin olduğu sonucuna varmışlardır.

Özata (2006), Astrazon Goldgelb GL-E, Chrocion Yellow, Chrocion Scarlet, Remazol Red RR, Astrazon Schwarz FDL, Remazol Turquoise Blue isimli tekstil boyalarının *D.melanogaster*’de toksik ve genotoksik etkilerini araştırmıştır. Bu boyaların tekli ve ikili benek sayısını artırdığı, ayrıca larvaların hayatta kalış oranını da uygulanan tüm konsantrasyonlarda azalttığı belirlenmiştir.

şenel (2006) tarafından Umu-testi ile Reaktif Siyah-5 boyarmaddesinin mutajenik etkileri belirlenmiştir. Reaktif Siyah-5 boyarmaddesi 120 µg/ml, 40 µg/ml ve 4 µg/ml konsantrasyonlarda mutajen etki göstermemiş, 400 µg/ml ise mutajenik etkili olduğu tespit edilmiştir.

Novotný *et al.* (2006)’a göre, Reactive Orange 16 azo boyası *S.typhimirium*’da nokta mutasyona sebep olmuřtur.

Gün (2009)’e göre, katyonik boyarmadde olan Synacryl Black XFDL’in *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonasa euroginosa*, *Proteus mirabilis* gibi mikroorganizmalar ile antimikrobiyal özellik üzerine etkisi araştırılmış ve *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus* bakterileri üzerinde değişene oranlarda inhibisyonzonu oluşturduğu görölmüştür.

Tekstil işçileri ile yapılan bir araştırmada, reaktif azo boyalarına maruz kalınması ile mesleki astım, rinit (burnun iç kısmını kaplayan mukozanın iltihaplanması), kontakt dermatit (temas egzeması) ve bir takım alerjik reaksiyonlar oluştuğu kanıtlanmıştır (Mahamuni and Adewuyi 2010).

Raj *et al.* (2012), azo boyalarının insanlarda mesane, dalak ve karaciğer kanserleri ile memeli hücrelerinde kromozomal sapmalara neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

Direct Yellow 86, Direct Orange 39, Direct Blue 200, Direct Yellow 142 ve Direct Red 243 sentetik boyarmaddeleri farklı dozlarda (4, 40, 120 ve 400 µg/mL) olmak üzere farelere uygulanmış ve elde edilen sonuçlara göre tüm boyalar mutajenik etkili bulunmuştur (Şenel vd 2012).

Şahin ve Türkoğlu (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, bazı tekstil boyalarının *D. melanogaster*'de dişi ve erkek yavru bireylerin hayatta kalış oranları üzerine etkileri incelenmiş ve Acid Red 266, Basic Red 46, Reactive Red 120, Acid Yellow 199, Basic Yellow 28, Dispers Yellow 119, Reactive Black 5 ve Reactive Blue 19 gibi boyaların uygulanan tüm konsantrasyonlarda larvaların hayatta kalış oranını azalttığı, aynı boyaların ergin bireylerin ömür uzunluğunu ise kontrol grubuna göre daha kısalttığı tespit edilmiştir.

Direct Black 38, Reactive Blue 15, Reactive Orange 16 ve Vat Green 3 gibi tekstil boyalarının da *Danio rerio* (zebra balığı) embriyolarında ve larva gelişiminde anormal oluşuma sebep olduğu de Oliveira *et al.* (2016) tarafından gözlenmiştir.

Direct Yellow 4 boyası *Citrus limon* (narenciye kabuğu) kullanılarak ayrıştırılmış ve bu boyanın fitotoksisite analizi yapılmıştır. Ham boya ile muamele edilen tohumlardaki toksisitenin ayrıştırılmış boya çözeltisindekiye göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Nouren *et al.* 2017).

42 çeşit ticari tekstil boyanın *Daphnia magna* (su piresi) ve *Raphidoceli subcapitata* (toksikolojik risk değerlendirmelerinde biyolojik testler için dünya çapında yaygın olarak kullanılan bir çeşit yeşil alg) kullanılarak sucul toksisitesi ve ekolojik etkileri araştırılmış, sonuçların her iki grup için özellikle de alglerde toksik olduğu rapor edilmiştir (Croce *et al.* 2017).

Sucul ve karasal organizmalar kullanılarak DB38 ve RB15 tekstil boyalarının akut toksisite ve genotoksitesisi araştırılmıştır. Karasal canlılar olarak *Crocus sativus* L. (safran), *Lettuce sativa* (marul) ve *Lycopersicon esculentum* (domates) gibi bitkisel organizmalar kullanılmış ve bitkisel organizmalarda herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir. Sucul organizma olarak kullanılan *D. magna*'da da toksik etki göstermeyip, genotoksik olarak DNA'da hasar oluşturmuştur. Özellikle DB38 *D. magna* ve *Oncorhynchus mykiss* (gök kuşağı alabalığı) için en toksik boya olarak DNA hasarını başlatmış ve oksidatif hasara da sebep olmuştur. *Artemia salina* (tuzlu su karidesi) için ise toksik etkiler öldürücü boyutta gözlenmiştir. Çalışılan her iki boya, hayvansal organizmalarda hem toksik hem de genotoksik

etkiye sebep olmuş ve boyaların biyolojik aktivitelerinin farklı olduğu, türe özgü toksisite gösterebileceği vurgulanmıştır. Yine aynı çalışmada bildirildiğine göre, DB38 insanlarda kanserojen olarak sınıflandırılan azo boyalardandır ve *D.rerio* (zebra balığı) üzerinde yapılan bir başka çalışmaya göre embriyo-toksik etkiye de sebep olmaktadır. Aynı şekilde RB15 boyasının da zebra balıkları, bakteriler ve kurbağa yavrularında toksik etki gösterdiği bildirilmiştir (de Oliveira *et al.* 2018).

Hernández-Zamora and Martínez-Jerónimo (2019)'un yaptıkları bir çalışmada, tekstil boyası Direct Blue 15'in *Raphidocelis subcapitata* (bir çeşit mikroalg), *Ceriodaphnia dubia* (su piresi) ve *D.rerio* türlerinde farklı derecelerde toksisiteye neden olduğu belirlenmiştir.

Ceriodaphnia rigaudi, *P.subcapitata*, *D.rerio* ve *D.magna* gibi deneysel organizmalarda Congo Red tekstil boyasının da toksik etkileri gözlenmiştir. Boyaya bağlı olarak *P.subcapitata*'da popülasyon büyümesinin engellendiği, *D.rerio*'da larva gelişiminin yumurta evresinde kaldığı, kalp atışının olamadığı ve gelişebilen bireylerde iskelet bozukluğunun olduğu tespit edilmiştir (Hernández-Zamora and Martínez-Jerónimo 2019).

Reactive Blue 19, C.I. Acid Blue 45, Alizarin gibi boyalar karbonil boyarmaddelere örnek olarak verilmekte ve insanlar ile hayvanlar için azo boyalardan daha toksik etki gösterdikleri bildirilmektedir (Varjani *et al.* 2020).

D.rerio embriyolarının Reactive Blue 203 ve Maxillon Blue 5G tekstil boyaları ile 96 saat muamele edilmesi sonucunda, her iki boyanın da gelişimsel anomalilere sebep olduğu ve genotoksik etkili oldukları Köktürk *et al.* (2021) tarafından bildirilmiştir.

Öztürk and Uysal (2021)'e göre, tekstil endüstrisinde boyarmadde olarak kullanılan altı farklı boyanın, farklı konsantrasyonlarda ve oral yolla kronik uygulamalara bağlı olarak *D. melanogaster*'in Oregon-R yabanıl soyuna ait hem 3.evre larvalarında larval yaşayabilirlik ve larval mortalite hem de aynı soya ait ergin erkek ve dişi bireylerde ortalama ve maksimum ömür uzunluğu üzerine *in vivo* biyotoksik etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada, larval yaşayabilirliğin azaldığı ve larval mortalitenin de buna paralel olarak arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca yaşayabilen ve metamorfoz sonucu ergine gelişebilen bireylerde göğüs bölgesinde, kanatlarda ve bacak parçalarında çeşitli malformasyonlarda gözlenmiştir.

MATERYAL METOT

Materyal

Kullanılan model organizma

Deneysel çalışmaların en hassas noktalarından birisi, yapılması düşünülen çalışmaya uygun olan ve araştırmacının kendi inisiyatifi ile üzerinde çalışılacak organizmayı doğru olarak seçebilmesidir. Bu nedenle basit yapılı ve özellikleri bilinen organizmaları kullanmak hem araştırmanın başarısını arttırmakta hem de deneysel sürecin doğru ilerleyebilmesini sağlamaktadır. Günümüzde gelişmiş biyoteknolojik cihazlar, sentetik deney ürünleri ve farklı teknolojiler kullanılarak deneysel prosedürler yürütülebilmekle birlikte bilim insanları için yıllardır güvenilir *in vivo* çalışma kaynakları model organizmalardır. Biyolojinin biyoteknoloji, genetik, moleküler biyoloji gibi pek çok dalında farklı özelliklere sahip model organizmalar kullanılmaktadır.

Model canlı veya model organizma, biyolojik olayların anlaşılması için yapılan deney ve araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaya uygun, belirli özellikleri taşıyan canlılara verilen genel isimdir. Bu organizmaları laboratuvar ortamında üretmek ve üretimlerini devam ettirmek kolaydır ve dikkate değer deneysel avantajlar sunarlar. Ayrıca bu organizmaların üretimi ucuz ve deneysel kullanımları etik açıdan sorun yaratmamaktadır. Yıllar boyunca model organizmalar hakkında çok fazla bilgi edinilmiş olması nedeniyle bu organizmalar ile çalışmaların yapılması oldukça ilginçtir. Model organizmalar, üzerinde çalışılması zor olan diğer türler hakkında örneğin insanlar için bilgi edinmek amacıyla da kullanılmaktadır.

Model organizmalar;

1. Genetik Model Organizmalar
2. Deneysel Model Organizmalar ve
3. Genomik Model Organizmalar olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır.

Genetik Model Organizmalar: Genetik analizler için uygun olan bu organizmalar, çok hızlı ürerler ve kısa zaman içerisinde çok fazla sayıda birey ve nesil oluştururlar. Yapılan kontrollü çaprazlamalar ile mutant bireyler elde edilerek ilgilenilen özellikler nesiller boyu incelenebilir. Bu organizmalara ait genetik haritalar çıkarılabilir. *Saccharomyces cerevisiae* (bira mayası), *Caenorhabditis elegans* (bir çeşit nematod) ve meyve sineği olarak bilinen *Drosophila melanogaster* (Şekil 10) en önemli genetik model organizmalardır.



Şekil 10. Model organizmalardan birisi olan yabani *D. melanogaster* Oregon-R

Deneyisel Model Organizmalar: Jenerasyon sürelerinin uzun olması nedeniyle bu organizmalar genetik araştırmalarda kullanılamazlar. Ancak *Gallus gallus* (tavuk) ve *Xenopus laevis* (bir kurbağa türü) gibi türlerin ürettikleri dayanıklı embriyolar, gelişim biyolojisinde yapılan araştırmalarda kullanılmaktadır.

Genomik Model Organizmalar: *Fugu rubripes* (şişen balık) ve *Danio reiro* (zebra balığı) gibi organizmalar, insanlara benzer genlere sahiptirler. Ancak genomları daha küçüktür. Genom büyüklüğündeki bu farklılık, insan genomunda yer alan tekrarlanan DNA dizilerinden ve intronlardan kaynaklanmaktadır.

Model organizmalarla ilgili en önemli noktalardan birisi onlara ait genlerin insan genleriyle yakından ilişkili olmasıdır. Bu zamana kadar tanımlanmış insan hastalık genlerinin % 60 dan fazlası şaşırtıcı bir şekilde meyve sineği ve yuvarlak solucan genlerine benzerlik göstermektedir. Fare genomunun organizasyonu da insan genom organizasyonuna benzemektedir. Bu nedenle insanlarda görülen hastalık modellerini kanıtlamak için özellikle fareler kullanılmaktadır. Ayrıca model organizmalar yeni ilaçların etkinliğini test etmek için de önemlidir. Tüm bu bilgiler göz önünde bulundurularak deneysel prosedürün özelliğine göre model organizma seçiminde bazı kriterlerin dikkate alınması gereklidir. Bunlar;

Kısa yaşam/hızlı yaşam döngüsüne sahip olmalıdırlar

Planlanan/yapılacak deneylerin daha kısa sürede sonuca ulaşması ve daha fazla jenerasyon üzerinde gözlem yapılabilmesi için model organizmalar genellikle kısa yaşam döngüsüne sahip canlılar arasından seçilmelidir. Dolayısıyla model organizma, kısa sürede büyük popülasyon oluşturabilme yetisine sahip olmalıdır.

Genetik uygulamalar için elverişli özellik taşımalıdır

Genetik denemelerde kullanılan organizmalarda belirgin bazı farklılıklar (varyasyonlar) morfolojik ve anatomik olarak görülebilmelidir. Bu varyasyonları taşıyan mutant bireylerde alternatif (zıt) karakterleri makroskobik ya da mikroskobik olarak inceleyebilmek oldukça kolaydır.

Laboratuvar ortamında kolay yetiştirilebilmelidirler

Model organizmaların laboratuvar ortamında kolayca bakımı yapılabilirdir. Canlının boyut olarak küçük olması, beslenme biçimi, yaşadığı sıcaklık gibi faktörler göz önüne alındığı zaman kolay yetiştirilebilen organizmalar her zaman tercih edilmektedir.

Genomun basit, küçük olması ve genom haritasının çıkarılmış olması

Bazı model organizmalar küçük genoma sahip olmaları ve genom diziliminin tamamının bilinmesinden dolayı özellikle genetik alanındaki araştırmalarda kullanılmaktadırlar. Genomunda kolay değişiklik yapılabilen canlılar özellikle moleküler biyoloji ve genetik alanındaki araştırmalar için çok uygundur.

Besleme kolaylığı için uygun ekonomik koşullar

Deneyisel çalışmalarda kullanılacak olan model organizmaların beslenme ve bakımının ucuz ve kolay olması, masraflı olmaması araştırmacılar için tercih sebebidir. Bir başka ifade ile model organizmanın ihtiyaç duyduğu besin miktarının az olması ekonomik bakımdan araştırmacıya kolaylık sağlayacaktır.

D. melanogaster, Diptera takımına ait tam başkalaşım (holometabol) geçiren ve halk arasında sirke sineği veya meyve sineği olarak da adlandırılan ökaryotik bir model organizmadır. Bu model organizma, sahip olduğu birçok avantajla genetik araştırmalarda sıklıkla kullanılır. *D. melanogaster*, özellikle laboratuvar ortamında kolay yetiştirilmeleri, beslenmelerinin düşük maliyetli olması, larval evrede politen kromozomlara (dev kromozomlara) sahip olmaları, kısa yaşam döngüsüyle birlikte çok sayıda yavru birey verebilmelerinden dolayı tercih edilmektedir (Uysal vd 2006).

Bu organizma, ilk defa 1910 yılında, Amerikalı bir araştırmacı olan Thomas Hunt Morgan tarafından genetik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır. Morgan yaptığı çalışmalar ile modern genetik biliminin temelini oluşturan “kalıtımın kromozom teorisini” geliştirmiş ve Nobel-Fizyoloji Tıp ödülünü kazanmıştır. 1946 yılında Hermann Joseph Muller meyve sineklerinde mutasyon hızını artırmak için X-ışınından yararlanmıştır. 1995 yılında Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard ve Eric F. Wieschaus, embriyonik gelişimin genler

tarafından nasıl denetim altında tutulduğunu ortaya koymak için *Drosophila*'dan yararlanmışlardır. 2004 yılında Richard Axel de *Drosophila*'yı kullanarak koku reseptörleri ve koku alma sisteminin çalışma mekanizmasını çözmüştür. 2011 yılında Jules Hoffmann bağışıklığın nasıl etkin hale geldiğini yine sinekler sayesinde öğrenmiş ve ifade etmiştir. 2017 yılında Jeffrey Hall, Michael Rosbash ve Michael Young, meyve sineklerini kullandıkları çalışmalarında günlük biyolojik ritmi (sirkadyen ritim) kontrol eden genleri, bu genlerin ürünü olan gece artan, gün içinde azalan proteinleri bularak hücre içinde kendi kendine işleyen saatin mekanizmasını bulmuşlardır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda *D. melanogaster*'in insan hastalıklarının araştırılmasında da önemli bir model olabileceği düşünülmektedir. *D. melanogaster* genomunun sekanslarının belirlenmesinden sonra, insanlardaki genetiksel hastalıklarla ilişkilendirilen genlerin %60'ından fazlasının *D. melanogaster* genomunda ortolog (homolog) gen olarak benzer sekanslarla bulunduğu görülmüştür. Amplifikasyon ya da gen kuvvetlendirilmesi (bir DNA dizisinin/ özel bir nükleik asit baz dizisinin birçok kopyasını oluşturan *in vitro* çoğaltma işlemi), delesyon veya mutasyon sonucu dizilişi değişen ve insan hastalıklarıyla ilişkilendirilen 287 genin 178'inin ortolog geni *D. melanogaster*'de bulunmaktadır. Bernards and Hariharan (2001)'a göre, bu genler kanser, nörolojik rahatsızlıklar, malformasyon sendromları, metabolizma bozuklukları ve renal hastalıklarla ilgili genlerdir. *D. melanogaster* ve insan genom sekanslarındaki bu benzerlikler sonucu, insan genetiksel hastalıklarının veri tabanı olan "Online Mendelian Inheritance in Man" (OMIM)' dan derlenen ve hastalığa neden olan bir genin, *D. melanogaster* genomik sekansı ile karşılaştırılmasıyla hastalıkla ilgili gen hakkında bilgi edinmeyi amaçlayan "homophila" veri tabanı kurulmuştur (Chien *et al.* 2002).

***Drosophila melanogaster*'in genetik çalışmalardaki önemi**

1. *D. melanogaster*, genetik alanındaki araştırmalar için araştırmacının gözetimi altında istenilen özellikleri taşıyan organizmaların çaprazlanması olarak tanımlanan kontrollü çaprazlamaların yapılabildiği en önemli model organizmalardan birisidir. Uygulamalar esnasında araştırmacı, koşullardan birisini değişken, diğerlerini sabit tutarak deney ve kontrol grupları oluşturur ve bu şekilde hedef özelliklerin nesiller boyu nasıl aktarıldığı gözlemlenir.
2. Eşeyli üreyen *D. melanogaster*'de, gametogenez sırasında rekombinasyona bağlı olarak varyasyon meydana gelmektedir ve bu varyasyonlar fenotipik olarak kolaylıkla birbirinden ayrılabilen farklı varyant gruplarını oluşturmaktadır.
3. *D. melanogaster*, birçok doğal ya da yapay varyasyona sahip bir organizmadır ve bu özelliğinden dolayı genetik ile ilgili araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu

organizmanın farklı göz renkleri, kanat şekilleri ve kıl tiplerine göre farklı test teknikleri ile çalışmalar yapılabilir.

4. İlgilenilen herhangi bir fenotipik özelliğin ebeveynlerden yavrulara nasıl aktarıldığını gözlemleyebilmek için, genetiksel çalışmalarda kullanılan organizmanın hayat döngüsünün kısa olması gerekir. *D. melanogaster*, hayat devrinin kısa olması bakımından da genetik çalışmalar için ideal bir organizmadır. $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ortam sıcaklığında yaklaşık 9-10 gün içinde ergin hale gelen birey yeniden üremeye başlamaktadır.
5. Genetik çalışmalarda kullanılacak organizma, her nesilde çok sayıda yavru verebilmelidir. Dişi bir *D. melanogaster* günde takriben 50 yumurta bırakmaktadır. Bu özelliği nedeniyle yaklaşık 10 gün içinde yalnızca tek bir nesil için 500 bireyden oluşan bir popülasyon elde edilebilmektedir. Böylece kalıtımla ilgili daha sağlıklı ve güvenilir bilgi edinilebilir.
6. Ayrıca *Drosophila* cinsine ait yabancı ya da mutant türler, deney hayvanı olarak seçilen genetik model organizmada bulunması gereken diğer birçok avantaja da sahiptir. Özellikle kolay yetiştirilebilme önemli avantajlardan birisidir. Bu türlerin yetiştirilebilmesi için gerekli olan örneğin toz şeker, mısır unu ve bira mayası hem ucuz hem de her zaman, her yer de bulunabilen besin maddeleridir. Laboratuvar şartlarında pahalı kimyasal madde ve araç gereçlere ihtiyaç duyulmaması da araştırmacılar tarafından önemsenmektedir.
7. Bu model organizma kültürlerin taze besi yerlerine aktarılması, yeni bir çaprazlamanın başlatılması, ebeveyn ya da yavru bireylerin fenotipik özelliklerinin incelenmesi gibi herhangi bir uygulamadan önce eterize edilerek istenilen işlemler kolaylıkla gerçekleştirilebilmektedir (Uysal vd 2006).

***D. melanogaster*'in sistematikteki yeri**

Regnum (Alem): Animalia (Hayvanlar alemi)

Phylum (Şube): Arthropoda (Eklem bacaklılar)

Subphylum (Alt Şube): Mandibulata-Antennata

Classis (Sınıf): Insecta-Hexapoda (Böcekler-Altı bacaklılar)

Subclassis (Alt Sınıf): Pterygota (Kanatlı böcekler)

Superordo (Üst Takım): Mecopteroidea-Panorpoidea (Uzun kanatlılar)

Ordo (Takım): Diptera (İki kanatlılar)

Subordo (Alt Takım): Brachycera (Sinekler-Kısa antenliler)

Familia (Familya): Drosophilidae (Sirke/Meyve sinekleri)

Genus (Cins): *Drosophila*

Species (Tür): *Drosophila melanogaster*

Regnum (Alem): Animalia (Hayvanlar alemi): Türkçe ifade ile hayvan sözcüğü solunum yapan, hareket eden canlıları ifade etmek için kullanılsa da biyolojik anlamda insanları da kapsamaktadır. Ancak ister bir hücreli olsun ister çok hücreli omurgalı ya da omurgasız olsun tüm hayvanları tanımlamak için “insan harici hayvanlar” kalıbı kullanılarak ince bir ayırım da yapılmaktadır. Hayvanlar aleminin tamamı ökaryotik hücre yapısına sahip çok hücreli canlılardır. Bu alemin üyeleri çoğunlukla diploid kromozom sayılıdır. Gametogenez ile oluşan mayotik hücreler tüm hayvanlarda eşeyli üremeyi gerçekleştirir. Embriyonik gelişim esnasında hücrel göçler ve doku organizasyonu görülür. Büyümeyi gerçekleştiren dokular programlanmış bilgi doğrultusunda zamanla bölünme özelliğini tamamladığı için büyüme ait oldukları türe özgü ve sınırlıdır. Bu aleme dahil olan canlılar yaşam alanlarına (habitat) göre farklı kullanamadıkları için de beslenmeleri heterotrofiktir (dışbeslek/dışbeslenen).

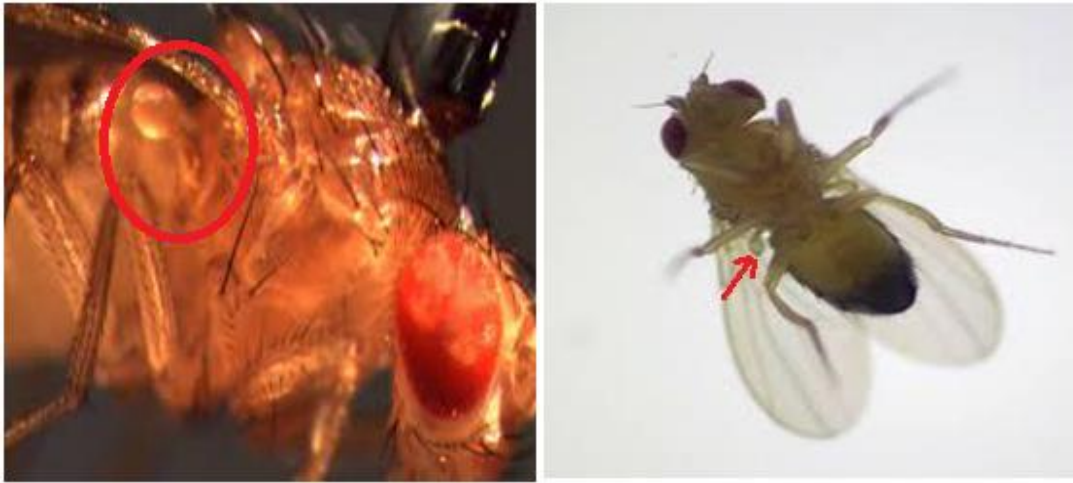
Phylum (Şube): Arthropoda (Eklem bacaklılar): Arthros:eklem, podos:ayak “ekleml ayaklılar” omurgasız hayvanların en büyük şubesidir. Vücutları heteronom segmentli olup ekstremiteleri vücutlarına eklem noktaları ile bağlanmaktadır. Bacak, kanat, anten ve ağız parçaları gibi ekstremiteler, hareket edebilen ekleml parçalardan oluşmaktadır. Kitin ve kalsiyum karbonattan oluşmuş bir dış iskelete (exoskeleton) sahiptirler. Vücutları bilateral simetridir ve büyüme sürecinde kabuk değiştirme gözlenir. Vücutları baş (cephalon/caput), göğüs (thorax) ve karın (abdomen) olmak üzere segmentli (metamerik) yapıdadır. Her vücut bölgesi farklı sayıda segmentten oluşmaktadır. Bazı gruplarda ise baş ve göğüs birleşerek cephalotoraks adını alır. Gelişimlerinde gözlenen metamorfoz (başkalaşım/deri değişimi) ya holometabola (tam başkalaşım) ya da hemimetabola (yarı başkalaşım) şeklindedir. Açık dolaşım sistemine ve ganglionlardan oluşan sinir sistemine sahiptirler. Ayrı eşeyli olup karada, havada ve suda yaşarlar. Suda yaşayanlar solungaçları, karada yaşayanlar ise trakeleri (solunum boruları/borular sistemi) ile solunum yaparlar.

Classis (Sınıf): Insecta-Hexapoda (Böcekler-Altı bacaklılar): Böcekler, Arthropoda şubesinin tür ve takson bakımından en kalabalık hayvan sınıfıdır. Bu sınıfa ait bireylerde vücut baş, göğüs ve karın olmak üzere üç kısımdan oluşur. Başta bir çift anten, bir çift birleşik/petekgöz, ve ağız parçaları bulunmaktadır. Göğüs bölgesi prothorax (birinci), mesothorax (ikinci) ve metathorax (üçüncü) olmak üzere üç segmentten oluşur ve her göğüs segmentinde bir çift bacak bulunur. Ayrıca mesothorax ve metathorax göğüs segmentlerinden birer çift kanat çıkar. Karın kısmı 11 segmentli olup bu segmentler üye taşımazlar.

Subclassis (Alt Sınıf): Pterygota (Kanatlı böcekler): Bu alt sınıfın erginleri mesothorax ve metathoraxta hareketli kanatlar taşırlar. Ancak bazılarında kanatlar kaybolmuştur ve gelişmelerinde yarı başkalaşım (hemimetabola) ya da tam başkalaşım (holometabola) görülür.

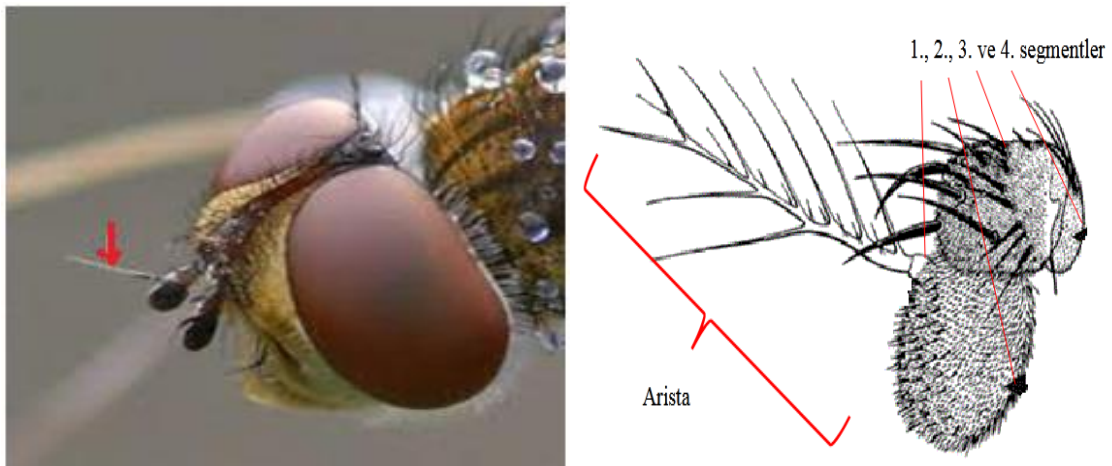
Superordo (Üst Takım): Mecopteroidea-Panorpoidea (Uzun kanatlılar): Arka kanatları körelme eğilimi gösterir.

Ordo (Takım): Diptera (Çift kanatlılar): Bu takımın en önemli özelliği uçmak için çift kanat taşımalarıdır. Ancak bazı türlerinde göğüs bölgesinde metathoraks segmentindeki kanatlar körelerek uçuşta stabilizasyon sağlayan (uçuş sabitleyici) topuz şeklinde bir çift mekanosensör dokuya “halter organına” evrimleşmiştir (Şekil 11).



Şekil 11. Diptera takımının tüm üyelerinde ve *D. melanogaster*'de halter organ

Subordo (Alt Takım): Brachycera (Sinekler- Kısa antenliler): Bu alt takımda kitinden oluşmuş ağız çengelleri bulunmaktadır (Şekil 18). Pupa, üçüncü larva evresinden kalma bir deri ile sarılır. Antenleri çok kısadır ve birbirinden farklı şekilleri olan segmentlerin birleşmesiyle meydana gelmiştir. Üçüncü anten segmenti ya sadece arista (uç kılı) taşır (Şekil 12) ya da bu segmenti izleyen anten segmentleri birbirleriyle kaynaşarak kamçı oluşmaktadır.



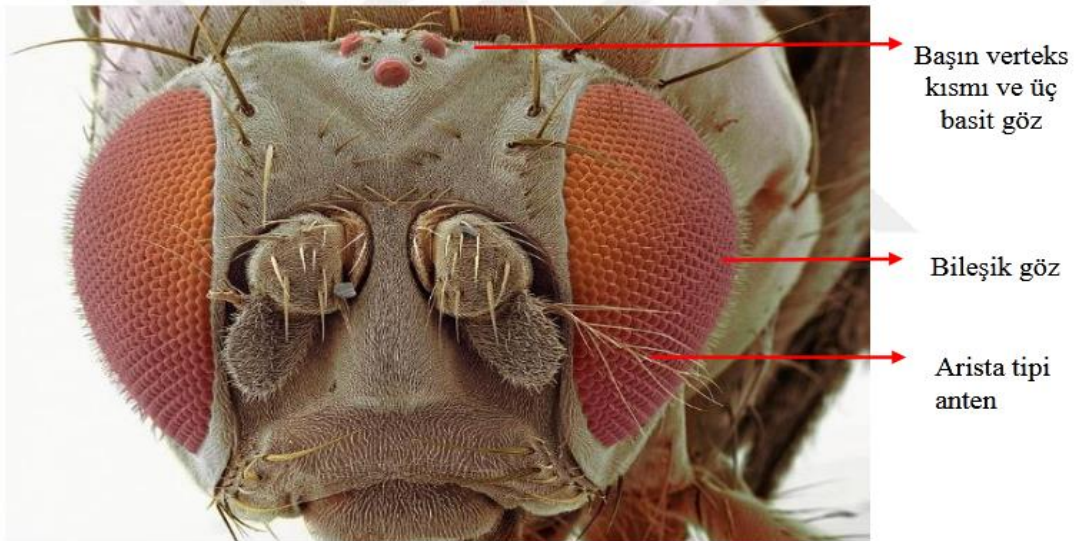
Şekil 12. *D. melanogaster*'de arista tipi anten

Familia (Familiya): Drosophilidae (sirke sinekleri): Bu sinekler çürümekte olan meyvelerin ve bira, sirke, meyve suyu gibi bazı tatlı sıvıların kokusuna pozitif kemotaksi (yönelim) gösterirler.

Genus (Cins): *Drosophila*: Küçük bir sinek cinsidir ve büyüklüğü ev sineklerinin (*Musca domestica*) 1/3'ü kadardır. Yabanıl olan *Drosophila*'da vücut rengi genellikle kahverengi, gözleri ise kiremit kırmızı renktedir (Şekil 13).

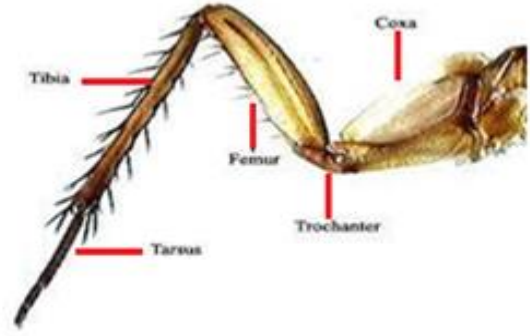
Species (Tür): *Drosophila melanogaster* (meyve sinekleri/fruit fly)

Şarap sineği, posa sineği, üzüm sineği olarak da bilinen *D. melanogaster*'de vücut baş, göğüs ve karın olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Baş ve göğüs kısmı büyük sert kıllar (makroseta) ve ufak yumuşak kıllar (mikroseta) ile örtülüdür. Bunların her iki türü de duyu organı olarak görev yaparlar. Başın tepe (verteks) kısmında üç tane basit/nokta (ocel) göz, yan taraflarında ise altı segmentin birleşmesinden meydana gelen bileşik (petek) göz ve bir çift arista tipi anten bulunmaktadır (Şekil 13).



Şekil 13. *D. melanogaster*'in baş kısmına ait yapılar

Göğüs kısmı üç segmentli olup bu segmentler önden arkaya doğru protoraks, mesotoraks ve metatoraks olarak isimlendirilir ve her bir segmentten bir çift bacak çıkar. Birinci çift bacak ikinci ve üçüncü çift bacaklardan daha uzundur. Bir bacakta bulunan segmentler vücuda bağlandığı yerden itibaren coxa, tronchanter, femur, tibia ve tarsus olarak isimlendirilmektedir (Şekil 14).



Şekil 14. *Drosophila*'da vücut bölgeleri, bacakların görünüşü ve bacak segmentleri

Bu türün ergin erkek ve dişi bireylerinde ön bacağın tarsus segmenti birbirinden farklıdır. Erkeklerin birinci tarsus segmentinde eşey tarağı veya metatarsal tarak adı verilen bir yapı vardır ve çiftleşme esnasında dişi bireyin tutulmasını sağlar. Bu kısım dişide bulunmaz (Şekil 15). Ayrıca mesotoraksta bir çift uzun kanat ve metatoraksta da evrimsel süreç içinde körelmiş ikinci çift kanattan orjinlenen ve halter organı olarak tanımlanan ucu topuzlu uzantılar bulunmaktadır. Özellikle uçuş sırasında titrer şekilde hareket eden halter organı, vücudun pozisyonundaki değişiklikleri algılayarak sineklere kılavuzluk yaparak akrobatik uçuş ve dengeli hareketlilik sırasında sağlamaktadır. Bir çeşit jiroskop (düzdöner, dönüş ekseninin kendi kendine herhangi bir yönü kabul etmekte özgür olduğu dönen bir çark veya disk) gibi hatta simulatorik organ görevi yaptığı için vazgeçilmez bir yapıdır. Halterleri koparılan sinekler dengelerini yitirir ve çoğu kere uçamazlar (Şekil 11).



Şekil 15. Erkek ve dişi *Drosophila*'da I. çift bacak ve I. tarsus segmenti üzerindeki eşey tarağı

Karın bölgesinin şekline göre erkek ve dişi sinekler birbirinden morfolojik olarak ayrılabilir. Dişide abdomenin ucu uzun ve sivri, erkekte ise daha kısa ve yuvarlak olarak sonlanır. *Drosophila*'nın yabancıl ve mutant bireylerinde abdomen segmentlerinde bulunan koyu renkli çizgiler, erkek ve dişilerin ayrımında kullanılan önemli kriterlerden birisidir. Erkek bireylerde abdomenin arka segmentleri siyahtır. Dişide ise bu açık ve koyu segmentler

abdomenin uç kısmına kadar devam eder. Dişilerde 7 abdominal segment, erkeklerde ise 5 abdominal segment mevcuttur (Şekil 16).

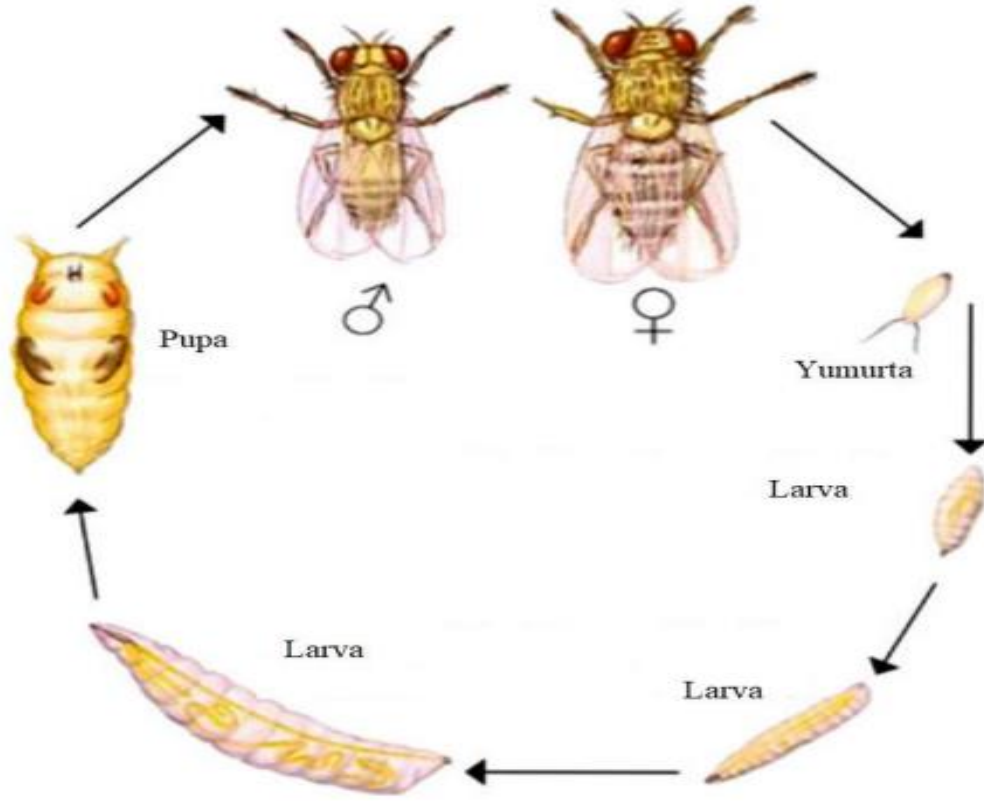


Şekil 16. *D.melanogaster*'in erkek ve dişilerinde abdomen segmentlerinin görünüşü (10X40)

***D.melanogaster*'in Yaşam Döngüsü**

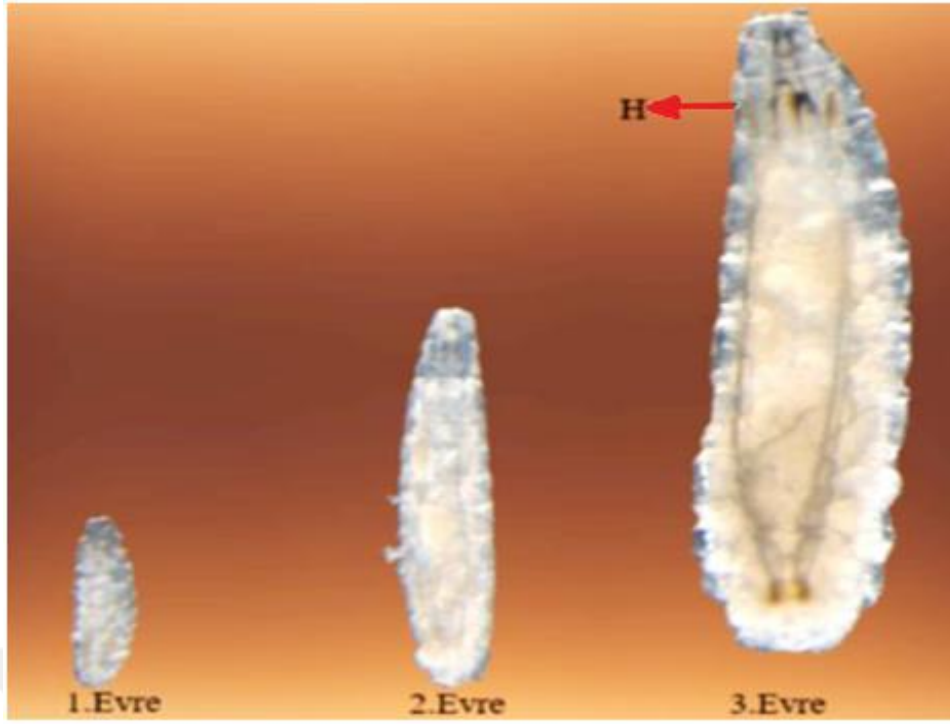
D. melanogaster'de tam başkalaşım görülmektedir. Döllenmeden yaklaşık 22-24 saat sonra yumurtadan 1.evre larva çıkar. İki deri değişiminden sonra pupa meydana gelir. Yumurtadan ergin birey oluşması için geçen süre 25 ± 1 °C'de yaklaşık 9-10 gündür. *D. melanogaster*'e ait ergin dişi bireyler ortalama 26 gün, erkek bireyler ise 32 gün yaşarlar. Virgin (bakire) dişi sinekler pupa kılıfından çıktıktan 12 saat sonra yeniden çiftleşip yumurtlayabilirler. Erkek bireyler ise birkaç saat içinde çiftleşebilmektedir. Pupadan çıkan erkek ve dişilerin çiftleşme ve dişilerin yumurtlama süreleri çeşitli *Drosophila* türlerinde farklılık gösterebilmektedir.

Drosophila'nın hayat evresi; yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört evreden oluşmaktadır (Şekil 17). Döllenmenin başlangıcından itibaren yumurta içi segmental değişim ve 1. evre larvanın oluşumuna kadar geçen döneme “embriyonik periyot”, larvanın yumurtadan çıktığı ve ergin hale gelinceye kadar geçirdiği tüm metamorfoz evrelerine de “postembriyonik periyot”denilmektedir. Ancak gelişim devam ederken sıcaklık, beslenme, nem, çiftleşme, popülasyon yoğunluğu, radyasyon gibi faktörler hayat döngüsünü etkileyen çevresel faktörlerdir (Kızılet ve Uysal 2012).



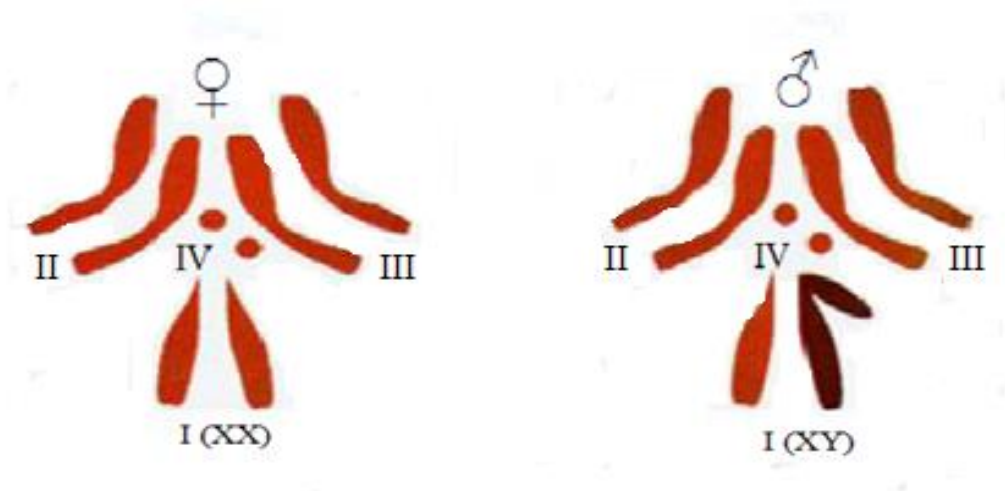
Şekil 17. Yumurtadan ergine *Drosophila*’nın hayat evresi

D. melanogaster’de yumurtanın döllenmesinden sonra 0-22 saat içinde embriyo oluşur. 22.saatinsonunda yumurtadan larva çıkar ve toplu iğne başı kadar olan, gözle görülebilen bu larva birinci instar (evre) larvadır. Yaklaşık 47. saatte 1. deri değişimi sonucunda ikinci evre larvalar, 72.saatte ise 2. deri değişimi sonunda üçüncü evre larvalar meydana gelmektedir (Şekil 18). 1., 2. ve 3. Evre larvalar besi yerinde oyuklar açarak beslenmeye devam ederler. Larvaların ağız kısmında bulunan kitin ağız çengelleri, H harfine benzer yapılanma gösterdiği için “H organı” olarak da tanımlanmaktadır (Şekil 18). 5. günde 3.evre larvalar, kitin plaka ile sarılmaya ve yavaş yavaş hareketsizleşmeye başlayarak 4. larva evresi olarak da tanımlanan prepupa evresine geçerler. Tamamen hareketsiz evre ise pupa evresidir ve fiçı tipi pupa 6. günde oluştuktan sonra imaginal disklerin histolizi ve ergin bireylere ait organogenez ile pupa içi değişiklikler başlar. Yaklaşık 9-10 gün sonra da ergin bireyler pupa kılıfından çıkarlar.



Şekil 18. *D.melanogaster*'de 1., 2.ve 3. evre larvaların boyutları (H: kitin ağız çengelleri)

D. melanogaster'in $2n=8$ kromozomu bulunmaktadır (Şekil 19). I. çift kromozomu eşey kromozomu olup (X kromozomu) telosentriktir. II., III. ve IV. çift kromozomları ise otozom olup II. ve III. çiftler metasentrik, IV. çift küçük bir telosentrik kromozomdur. Çok küçük olan IV. çift kromozom genellikle somatik hücrelerden hazırlanan karyotiplerde nokta şeklinde gözükmemektedir (Uysal vd 2006).



Şekil 19. *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait mitotik metafaz kromozomları

***D. melanogaster*'in mutant soyları**

Bu tez çalışması kapsamında genetik ve toksikoloji alanlarında yapılan çalışmalarda sıklıkla tercih edilen ve ökaryotik bir model organizma olan *D. melanogaster*'in *multiple wing hair (mwh)* ve *flare (flr³)* mutant soyları, “Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (Kanat

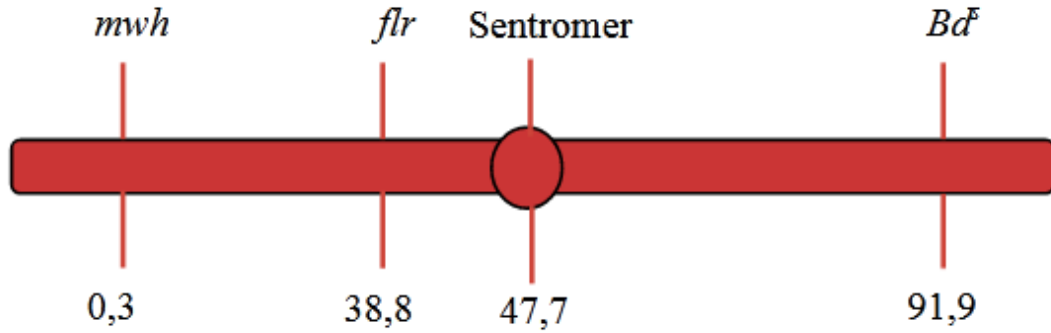
Benek Testi) (SMART) için kullanılmıştır. Bu mutant soylar, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda uzun yıllardan beri kendileştirilmiş (bacı-kardeş eşleştirmeleri), genetik açıdan homojen soylar olup %60 bağıl nem içeren, $25\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve sürekli karanlık koşullarda ısıtmalı-soğutmalı sıcaklık kabinlerinde muhafaza edilmektedir.

Mutant türlerin genotipik yapısı aşağıda verilmiştir;

1. *multiple wing hair (mwh/mwh)*
2. *flare (flr³) /ln (3LR)TM3, ri pp sep l(3)89Aa bx34e es Bd^S.*

Bu stok kısaca *flr³/TM3, Bd^S* şeklinde de gösterilmektedir.

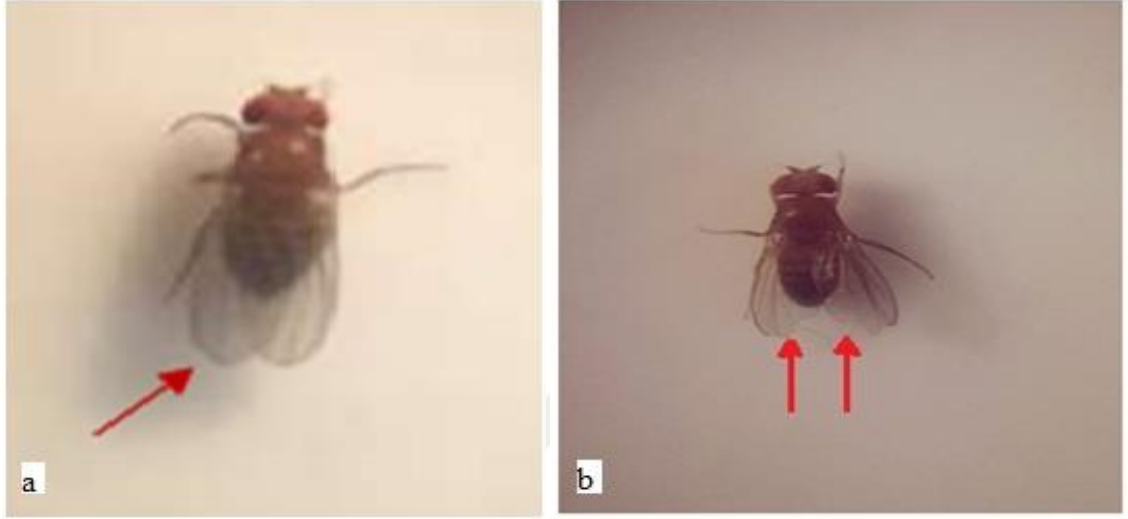
Somatik mutasyonların belirlenmesi için kullanılan *multiple wing hair* ve *flare* mutant soyları genomlarında taşıdıkları uygun marker (belirleyici/işaret) genlerinden dolayı fenotipte birbirinden kolayca ayrılabilen kanat kıllarına (trikom) sahiptirler. *mwh* ve *flr³* işaret genleri her iki türde de üçüncü otozom üzerinde taşınmaktadır (Şekil 20).



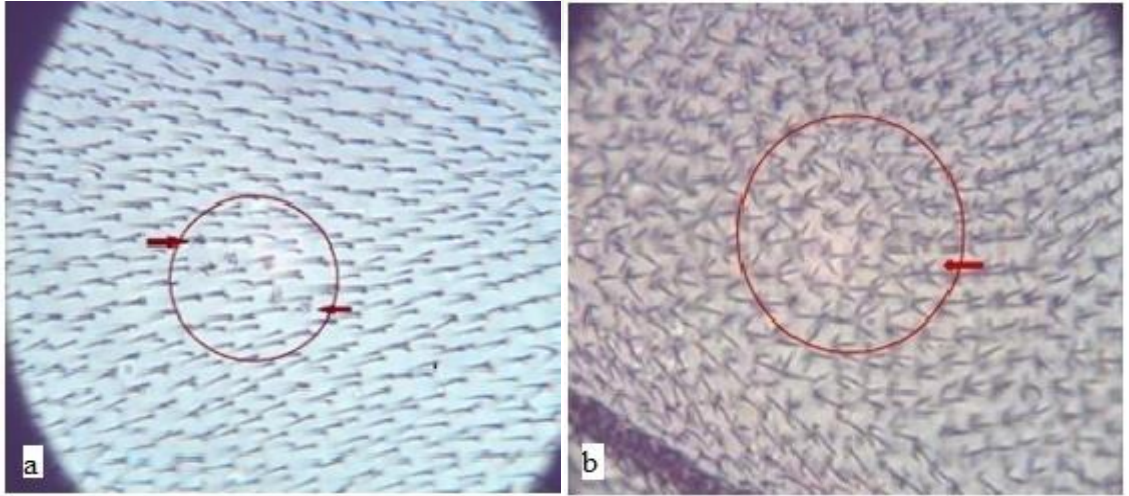
Şekil 20. *flr³* ve *mwh* genlerinin 3. kromozom üzerindeki lokasyonları

SMART'ta kullanılan *flr³* mutant soyuna ait *flr³* resesif geni, 3. kromozomun sentromere yakın 38,8. lokasyonunda (3-38,8) yer almaktadır (Şekil 20). Bu işaret geni fenotipte uzun, düz ve normal kanat kılları yerine kısa, belli bir biçimi olmayan, körelmiş, nokta şeklinde koyu renkli kılların oluşumuna (Şekil 22a) yol açmaktadır (Graf *et al.* 1984) ve aynı zamanda genotipik olarak homozigot durumda letal etkilidir. *flr³* genini homozigot olarak taşıyan bireyler embriyonik gelişimlerini tamamlayamamaktadırlar. Bu yüzden ergin birey oluşumu gözlenememektedir. Embriyonik evrede gerçekleşen letal etkinin ortadan kaldırılması için *Bd^S* (beaded-serrat) genini taşıyan *TM3* dengeleyici kromozomu kullanılmaktadır (3-91,9). Dengeleyici bir kromozomla (*TM3Bd^S*) birlikte bu bireyler (*flr³/TM3Bd^S*) yaşatılmaktadır. Ayrıca yine 3. otozomda taşınan *Bd^S* geninden dolayı normal bireylerde düzgün olan uzun kanat kenarları (Şekil 21a) bu mutant türde testere dişi şeklindedir (Şekil 21b).

Bir diğ er işaret geni olan *mwh* geni de resesif bir gen olup *flr³* geni gibi 3. otozom üzerinde ve telomere yakın 0,3. lokasyonda (3-0,3) yer almaktadır (şekil 20). Bu gen bir hücreden üç veya daha fazla sayıda kanat kılının (şekil 22b)  ıkmasına neden olmaktadır (Graf *et al.* 1998). Ancak *flare* mutant türünde testere dişi şeklinde olan kanat kenarları düzgün şekillidir (şekil 21a).



şekil 21. a.Yabanıl ve *multiple wing hair* mutant bireylerde düzgün kenarlı uzun kanat şekli b. *flare* mutant bireylerde testere dişine benzeyen kanat şekli (10x40)



şekil 22. a. *flr³* geni taşıyan bireylere ait kısa, körelmiş kanat kılının mikroskopik görüntüsü b. *mwh* geni taşıyan bireylere ait üç veya daha fazla kanat kılının mikroskopik görüntüsü (10x40)

Çalışmada kullanılan kimyasallar

Tez çalışmasında kullandığımız tekstil boyları; Reactive Blue 19 (RB19), Süperfix Navy Blue BF (SNBBF), Reaktif Back 5/Süperfix Black B (RB5/SBB), Süperfix Red 3BF (SR3BF), Süperfix Black NNX (SBNNX), Synacryl Black XFDL (SBXF DL)'dir. RB19, SNBBF, RB5/SBB, SR3BF ve SBNNX boyları, boyama  zellikine göre reaktif boyarmadde sınıfında yer almaktadır. Suda kolay çözünebilme, kumaşa kolay tutunma, uzun süre

bozulmadan saklanabilme özelliklerine sahiptirler. Toz halinde olup kokusuzdurlar. RB19 koyu mavi, SNBBF koyu mavi-lacivert, RB5/SBB koyu yeşil, SR3BF açık kırmızı, SBNNX ise siyah renklidir. SBXFDL boyası ise boyama özelliğine göre bazik boyarmadde sınıfındadır. Suda çözünebilen katyonik boyarmaddedir. Kokusuz, siyah-gri tonlarında ve toz halindedir.

Çalışma kapsamında SMART için propiyonik asit (Cas No: 79-09-4), agar-agar (Cas No:9002-18-0), dietil eter (Cas No: 60-2-7), *Drosophila* Instant Medium (DIM), gliserol (Cas No: 56-81-5), arap zambkı (Cas No: 9000-01-5), kloralhidrat (CasNo: 302-17-0), etil metansülfonat (EMS: Cas No: 62-50-0) ve entellan (Cas No: 97-88-1) gibi kimyasal maddeler kullanılmış ve bu kimyasal maddelerin tümü Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) firmasından temin edilmiştir.

Çalışma kapsamında kullanılan cihaz, cam ve metal malzemeler Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genetik Araştırma Laboratuvarından sağlanmıştır. Bunlar; hassas terazi (KERN ABJ 220-4M), ısıtmalı-soğutmalı sıcaklık kabini (BİNDER ETÜV RE53), no-frost buzdolabı (VESTEL IDEA 465 A NF), kuru hava sterilizatörü (BINDER ED 115), stereo mikroskop (NIKON/ SMZ-10), kameralı trinoküler ışık mikroskobu (BOECO, BM-180/T/SP), binoküler mikroskop (LEITZ), manyetik karıştırıcı gibi cihazlar ile kurutma kağıdı, beher, cam kroze, cam şişe, tıkaç, erlenmayer, baget, petri kabı, ince uçlu tweezer (pens), sayım levhası, lam ve lamel gibi cam ve metal malzemelerdir.

Metot

Standart *Drosophila* besiyerinin yapılışı (SDB)

Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda tüm yabancı ve mutant *Drosophila* stok kültürleri SDB içeren kültür şişelerinde yaşamlarını sürdürmektedir. SDB'nin hazırlaması için kullanılan malzemeler miktarları ile birlikte Tablo 4'te verilmiştir. Besiyeri hazırlanırken öncelikle 440 cc saf su kaynatılır. Aynı bir beherde bulunan 125 cc saf suya mısırunu ve bira mayası eklenerek homojen hale getirilir. Kaynamaya başlayan 440 cc saf suya sırasıyla agar ve şeker ilave edilip cam baget yardımıyla karıştırılır. Kaynayan agar ve şeker karışımına ayrı bir beherde hazırlanan mısır unu ve bira mayası karışımı da eklenerek yaklaşık 15 dk kısık ateşte kaynatılarak kıvam alması sağlanır. Besiyeri biraz soğumaya bırakılır ve içine küf inhibitörü olarak 3-3,5 ml propiyonik asit ilave edilir. Hazırlanan SDB, henüz sıcakken 100 ml'lik steril kültür şişelerine dökülür (Şekil 23). Daha sonra üstleri temiz kurutma kâğıtları ile kapatılan kültür şişeleri bir gün oda sıcaklığında soğumaları için bekletilir. Besiyerleri soğuyup katılaştığında kültür şişelerinin ağızları steril süngerlerle kapatılıp kullanılıncaya kadar buzdolabında (+4°C) saklanır.

Tablo 4. SDB'nin İçeriği

Kullanılan maddeler	Maddelerin miktarları
Agar	9 gr
Toz şeker	60 gr
Bira mayası	19 gr
Mısır unu	50 gr
Saf su	565 cc
Propionik asit	3,5 cc



şekil 23. SDB içeren kültür şişeleri

Eterizasyon (bayıltma) yöntemi

Drosophila cinsine ait ergin bireyler negatif geotropik (yerçekiminin tersine), pozitif fototropik (ışığa doğru) ve pozitif kemotropik (kimyasal maddelere/kokuya) yönelim gösterdiklerinden çeşitli manipülasyonların yapılabilmesi için dietil eter kullanılarak bayıltma işlemine tabi tutulurlar. Sinekler cam krozeye, kroze de içinde bir miktar dietil eter bulunan erlenmayer içine yerleştirilir. Krozenin tabanında bulunan torf gözeneklidir ve bu sayede eter krozenin içine buharlaşır. Krozenin gövdesinde bulunan sinekler bu şekilde kısa bir süre içinde bayıltılmış/eterize edilmiş olur. Stok kültürlerin yenilenmesinde ve uygulama gruplarının oluşturulmasında eterizasyon yapılmaktadır. Ancak sinekler uzun süre etere maruz bırakılmamalıdır.

Tekstil boyalarına ait stok çözeltilerin hazırlanması

Bu amaçla 100 mg tekstil boyası tartılarak 100 ml distile su içinde manyetik karıştırıcı yardımı ile homojen hale gelinceye kadar çözme işlemine tabi tutulmuş ve stok çözelti hazırlanmıştır. Stok zelti her uygulama grubu için uygulamadan hemen önce taze olarak

hazırlanıp uzun süre bekletilmeden kullanılmıştır. Daha sonra her boya uygulama grubu için ön denemeler ile belirlenen farklı uygulama konsantrasyonları stok çözeltilerden seyreltilerek alınmış ve Drosophila Instant Medium (DIM)'a ilave edilmiştir.

SMART için ergin bireylerin toplanması

SMART yönteminde kullanılacak olan *D. melanogaster*' in iki mutant türüne ait erkek ve dişi bireylerin sayısını artırmak için ilk olarak taze SDB içeren kültür şişeleri hazırlanmıştır. Kültür şişelerine ayrı ayrı olmak üzere *flr³* ve *mwh* türlerinin erkek ve dişileri eterize edilerek konulmuş ve çaprazlamalar başlatılmıştır. Çiftleşmeleri takiben hayat devrini tamamlayıp ergin birey hale gelen aynı yaşlı (1-3 günlük, 72±4 saatlik) *flr³* ve *mwh* sinekleri, 4'er saatlik periyotlar halinde özellikle dişiler çiftleşmeden (virgin) toplanıp taze SDB içeren şişelere dişi ve erkekler yine ayrı ayrı olmak üzere alınmışlardır. Tüm kültür şişeleri, trans-heterozigot larvaların elde edilmesi için yeterli birey sayısına ulaşıp çaprazlamalar başlatılincaya kadar ısıtmalı-soğutmalı etüvlerde muhafaza edilmiştir.

Trans-heterozigot larvaların elde edilmesi

Bu amaçla çiftleşmeden toplanıp muhafaza edilen ergin bireyler kullanılarak öncelikle aşağıdaki resiprokal çaprazlamalar yapılmıştır.

a) P: *flr³*♀ X *mwh* ♂ çaprazlaması ve b) P: *flr³* ♂ X *mwh* ♀

Bu çaprazlamalardan P: *flr³*♀ X *mwh* ♂ çaprazlamasının yavru verimi daha fazla olduğundan dolayı tercih edilmiştir. Çaprazlamalar yine önceden hazırlanmış SDB içeren kültür şişelerinde ve deney planlamasına göre her şişede ortalama 40 dişi, 40 erkek olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Her iki soya ait dişi ve erkek bireylerin çiftleşmeleri için 1 gün süreyle beklenilmiştir. Çiftleşmeler gerçekleştiğinde dişiler tarafından besiyeri üzerine bırakılan yumurtalardan çıkan larvaların aynı evrede olabilmeleri için aynı ebeveynler ertesi gün farklı besiyeri ortamına aktarılmıştır. Böylece aynı ebeveyn bireylerden her yeni besiyerine yumurta bırakılması sağlanarak daha fazla larva elde edilmiştir.

Trans-heterozigot larvalara tekstil boyalarının uygulanması, ergin bireylerin toplanması ve kanat preperatlarının hazırlanması

Uygulama gruplarında kullanılacak olan RB19, RB5/SBB, SBNNX, SBXFDL, SR3BF, SNBBF tekstil boyaları ile ilk olarak uygulama konsantrasyonlarını belirlemek için birçok ön deneme yapılmıştır. Ön denemeler sonucunda her tekstil boyası için 150, 300 ve 450 ppm olmak üzere üç farklı konsantrasyon belirlenmiştir. En düşük konsantrasyon olarak seçilen 150 ppm'in altındaki konsantrasyonlarda herhangi bir genotoksisite gözlenmemiştir. En yüksek

konsantrasyon olan 450 ppm'in üstündeki konsantrasyonlarda ise larval yaşayabilirlik yüzdesi düştüğü için daha yüksek konsantrasyonda uygulamalar yapılamamıştır.

Deneysel prosedürün uygulanabilmesi için hem kontrol hem de uygulama grupları hazırlanmıştır. Tüm boyaların çözücüsü olan distile su, negatif kontrol grubu olarak, genotoksitesi iyi bilinen etil metan sülfonat (EMS/1ppm) ise pozitif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Tüm tekstil boya ları, ön denemeler ile belirlenmiş üç farklı konsantrasyonda (150, 300 ve 450 ppm) olmak üzere DIM'a eklenerek uygulama grupları da oluşturulmuştur.

Daha sonra uygulama ve kontrol gruplarına ait DIM içeren kültür şişelerine, 100'er trans-heterozigot larva konulmuştur. Gerek uygulama gerekse kontrol gruplarına ait trans-heterozigot larvalar, başkalaşım ları tamamlayıp ergin birey haline gelinceye kadar ısıtmalı-soğutmalı etüvlerde muhafaza edilmiştir. Daha sonra kontrol ve uygulama gruplarına ait metamorfozu tamamlayabilen larvalardan gelişen ergin bireyler, günlük olarak eterize edilip toplanmıştır. Toplama işlemi sırasında tüm erginler binoküler mikroskop altında kanat morfolojilerine göre incelenerek normal ve serrat kanatlı olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Bu bireyler SMART için kanat preparatları hazırlanıncaya kadar %70 etil alkol içeren ependorf tüpleri içerisinde +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Kanat preparatlarının hazırlanabilmesi için Faure solüsyonu kullanılmaktadır ve bu solüsyonun içeriğı Tablo 5'te verilmiştir (Schaik and Graf 1991). Kanat preparatları hazırlanırken öncelikle etil alkolde saklanmış olan her bir sinek, içinde faure solüsyonu bulunan çukur lam ya da saat camına konulmuştur. Daha sonra binoküler mikroskop altında ince uçlu pens yardımıyla onlara ait kanatlar vücuda bağlandığı yerden özenle ayrılmıştır. Her bireye ait kanatlar çiftler halinde yan yana gelecek şekilde rodajlı lam üzerine düzenli aralıklarla dizilmiştir. Bir lam üzerine ortalama 80 adet kanat yerleştirildikten sonra preparatlar toz almayacak şekilde bir gün süre ile kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlara bir-iki damla entellan damlatılıp 24x60 mm'lik lamelle kapatılarak tekrar kurumaya bırakılmıştır. Tüm işlemler tamamlandıktan sonra kuruyan preparatlar ışık mikroskobu altında incelenmeye hazır hale gelmiştir.

Tablo 5. Faure Solüsyonunun İçeriğı

Kimyasal maddeler	Kullanılan miktarlar
Gliserol	20 ml
Gam arabik	30 gr
Kloral hidrat	50 gr
Distile su	50 ml

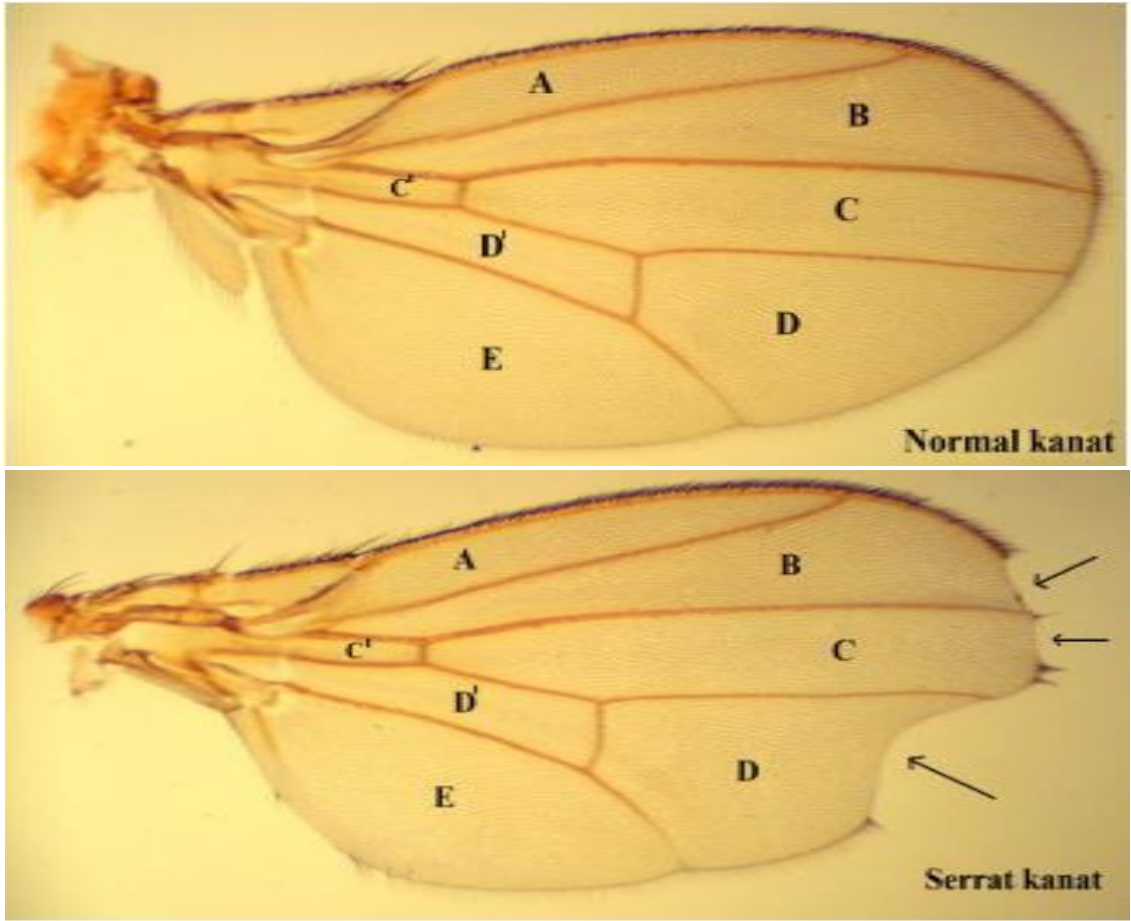
Faure solüsyonun hazırlanışı

Solüsyonun hazırlanması için 200 ml'lik beher içine önce 10 ml gliserol konulup düşük ısıda manyetik karıştırıcı ve manyetik bar yardımı ile karıştırma işlemi başlatılmıştır. İlk etapta gliserolün üzerine yavaş yavaş 20 gr gam arabik ilave edilmiştir. Daha sonra sırayla önce geriye kalan 10 ml gliserol ve 10 gr gam arabik beherdeki karışıma katılmıştır (Tablo 5). Katılasmaya başlayan karışımın üzerine yavaş yavaş distile su ilave edilerek hafifçe sulandırılan karışıma bu kez kloral hidrat ilave edilmiştir. Ancak solüsyon katılaştıkça distile su ilavesine devam edilmiştir. Tüm kimyasal malzemeler karışım içinde yerini aldıktan sonra tamamının çözünebilmesi için yaklaşık 5-6 saat daha manyetik karıştırma işlemi sürdürülmüştür. Son olarak süzgeç kağıdı ile tüm karışımın süzme işlemi gerçekleştirilmiş ve Faure solüsyonu oda sıcaklığında koyu renkli ağzı vidalı kapaklı şişelerde ışıktan uzak tutularak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

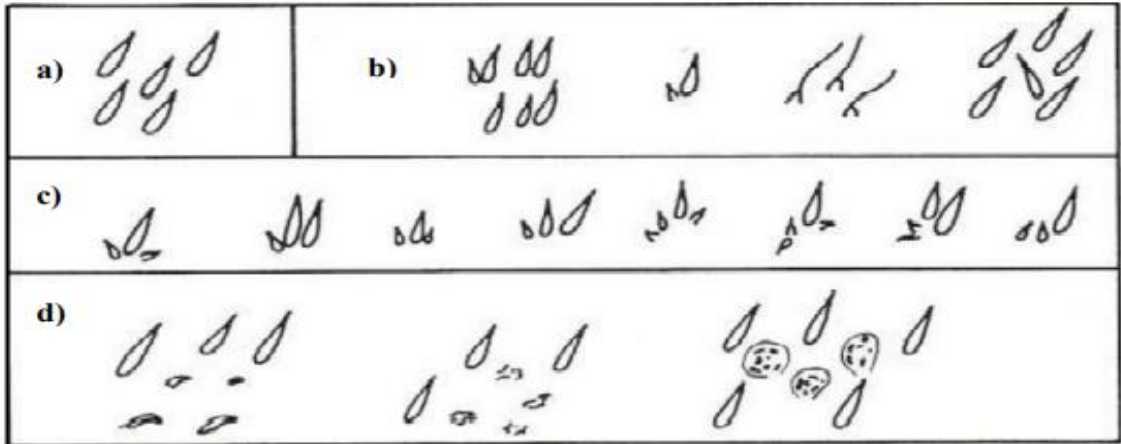
Kanat preparatlarının mikroskopta incelenmesi

Mutant bireylere ait hem normal hem de serrat kanatlar üzerinde A, B, C, C', D, D' ve E olmak üzere 7 ayrı sektör bulunmaktadır (Şekil 24). Tüm bu sektörler dikkate alınarak hazırlanmış olan kanat preparatlarının dorsal ve ventral kanat yüzeyleri kameralı trinoküler ışık mikroskobu ile taranmış (10X40) ve mutant klon oluşup oluşmadığına dikkat edilmiştir. Mikroskobik incelemelerde her sektörde gözlenen *mwh* ve/veya *flr*³ mutant fenotipler sayılarak kaydedilmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Normal ve serrat kanat için mutant hücre klonlarındaki farklı benek gruplarına göre tablolar hazırlanmıştır.

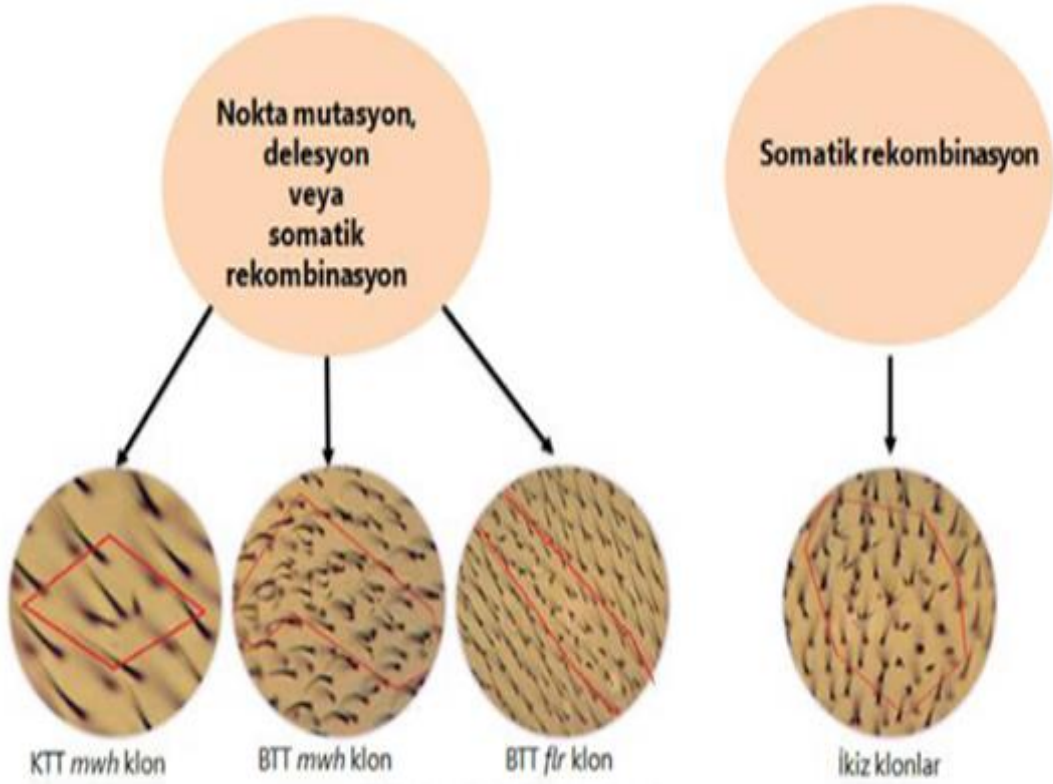
SMART, kanat benek testi olarak da tanımlanmaktadır ve kanatlarda gözlenen klon tipleri Şekil 25'de şematik olarak gösterilmiştir (Graf *et al.* 1984). Kanat trikomlarında meydana gelen şekil değişikliklerine ve şekil değişikliklerinin gözlemlendiği hücre sayısına göre ya tekli benekler (tek tip klon) ya da ikiz benekler (ikili benekler) oluşmaktadır. Tekli benekler yalnızca *mwh* (Şekil 22b) veya *flr*³ (Şekil 22a) fenotipinde bulunurken, ikiz benekler *mwh* ve *flr*³ fenotiplerini beraber taşımaktadırlar. Tekli benekler eğer 1-2 hücreli ise küçük tek tip (KTT) benek (1-2 *mwh* hücre), 3 veya daha fazla hücre gruplarından oluşuyorsa büyük tek tip (BTT) benek (≥ 3 *mwh* hücre (BTT *mwh* klon) veya ≥ 4 *flr*³ hücre (BTT *flr*³ klon) olarak isimlendirilmektedir. Tekli benekler, nokta mutasyonu, delesyon ve iki işaret geni arasındakimitotik (somatik) rekombinasyonla oluşurken ikiz benekler ise 3. kromozomun sentromeri ve *flr*³ geni arasındaki mitotik rekombinasyon ile meydana gelmektedir (Şekil 26).



Şekil 24. Normal ve serrat kanatlara ait sektörler(10X40)



Şekil 25. Kanatlardaki farklı trikom (kıl) tipleri. a) Normal kanat trikomları b) *mwh* veya *flr³* fenotipi olarak kabul edilmeyen yapısal bozukluklar c) *mwh* geninin etkisiyle oluşan trikomlar d) *flr³* geninin etkisiyle oluşan trikomlar



Şekil 26. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi sonuçlarının mikroskopik gösterimi (10x40)

SMART'ın avantajları ve uygulama esasları

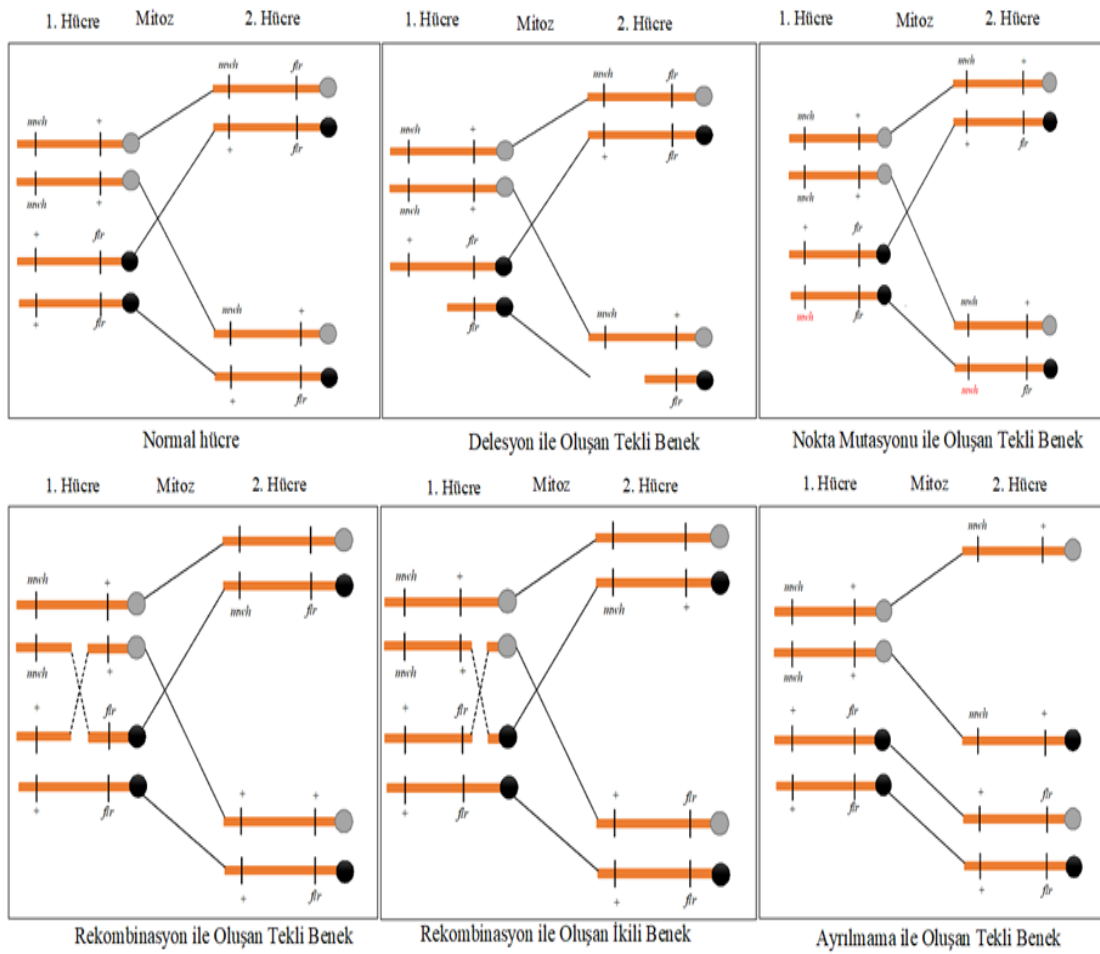
mwh ve *flr*³ işaret genlerini taşıyan mutant *Drosophila* soyları kullanılarak uygulanan SMART, somatik mutasyonların belirlenebilmesi için uygulanan diğer kısa süreli *in vivo* testlerden daha avantajlıdır. Çünkü;

- Bu testte sonuçların elde edilebilmesi için tek bir nesil gereklidir ve yeterlidir.
- Bu testte hem kanat (kanat benek testi) hem de göz (göz benek testi) gibi iki somatik doku kullanılmakta ve yalnızca tek bir ergin bireyde yüzlerce hücre incelenebilmektedir.
- İşaret genlerinin trikomlarda meydana getirdiği değişiklikleri fenotipik olarak gözleyebilmek ve oluşan klonları tespit edebilmek oldukça kolaydır.
- Bu test hızlı, ekonomik ve güvenilir bir test yöntemi olarak 1984 yılından günümüze çeşitli araştırmalarda kullanılmaktadır (Graf *et al.* 1984).

SMART uygulaması ile heterozigotik kayıptan temel alan nokta mutasyon, non-disjunction (mitotik ayrılmama), delesyon (kromozomal segment kayıpları) ve mitotik rekombinasyon gibi gen mutasyonları ya da kromozomal aberasyonlar tespit edilebilmektedir. Bu test ile embriyonik gelişim sırasında larval imajinal disk hücrelerinde meydana gelen kromozomal hasarlar ya da mikro mutasyonlar fenotipik olarak belirlenebilmektedir. İmajinal

diskler, larval gelişim sırasında mitozla çoğalır ve metamorfoz ile ergin bireylerin kanat, göz ve bacak gibi farklı vücut yapılarının oluştururlar. Somatik test yöntemleri de larvanın imajinal disklerinde mitotik olarak çoğalan büyük hücre gruplarını hedef almaktadır. Eğer bu imajinal disk hücrelerinden herhangi birinde herhangi bir genetik değişiklik olursa, daha ileri safhada normal fenotipten farklı mutant hücre grupları oluşur. Bu genetik değişiklik fenotipte gözlenebilen bir değişikliğe neden olursa, mutant hücre grupları ergin sineğin göz ve kanatlarında çoklu kıl fenotipi ve körelmiş kıl fenotipi gibi mutant hücre benekleri oluşur. SMART, uygun işaret genlerinde heterozigotluğun kaybını temel alarak geliştirilmiştir. Böylece heterozigotluğun herhangi bir mutasyonla kaybedilmesi yabancı fenotip yerine mutant fenotipin oluşmasına yol açar (Guzman-Rincon and Graf 1995).

Mutant fenotip de daha önce değinildiği gibi mutant hücre klonlarındaki farklı benek gruplarına göre belirlenmekte ve küçük tek tip, büyük tek tip olmak üzere tek tip klon ya da ikiz klon olarak ayrılmaktadır. Farklı tip mutasyonların oluşmasına neden olan genetik mekanizmalar Şekil 27’de verilmiştir.



Şekil 27. Farklı tip mutasyonların oluşmasına neden olan genetik mekanizmalar

Klon indüksiyon frekansının hesaplanması

Tekstil boyaları ile yapılan kronik uygulamalar sonucunda elde edilen her hücre bölünmesindeki mutant klon sayıları dikkate alınarak klon indüksiyon frekansı da (KİF) aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Szabad *et al.* 1983).

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

Bu denklemden sadece *mwh* fenotipli klonlar göz önüne alındığında; “f” *mwh* klonlarının indüksiyon ortalama frekansı, “n” gözlenmiş olan toplam *mwh* klon sayısı, “N” analiz edilmiş olan kanat sayısı ve “C” bir kanat üzerindeki incelenebilecek hücre sayısını göstermektedir. Bir kanat üzerinde incelenebilecek hücre sayısı ortalama 24.400 olarak tahmin edilmektedir (Würgler and Vogel 1986; Frei and Würgler 1996).

Yapılan çaprazlamalardan elde edilen trans-heterozigot larvalardan gelişen ergin bireylerde kanat yapıları bakımından normal (düz) ve serrat (testere) kanat olmak üzere iki farklı fenotip gözlenmektedir (Şekil 21). Serrat kanatlı erginlerde bulunan dengeleyici kromozom, bu kromozoma yerleştirilmiş dominant mutant bir gen olan *serrate* (*ser*)’ın varlığı ile tespit edilebilmektedir. Normal kanatlılarda hem mutasyon hem de rekombinasyonlar ile meydana gelen mutant klonlar gözlenirken serrat kanatlılarda var olan *TM3* dengeleyici kromozomunun (*flr³/TM3, Bd^S*) rekombinasyonu baskılaması nedeniyle sadece mutasyonlara bağlı olarak oluşan mutant klonlar gözlenmektedir. Böylece normal ve serrat kanatlı bireylerden elde edilen verilerle çalışmada kullanılan ajanın mutajenik ve/veya rekombinojenik etkileri ayrı ayrı tespit edilebilmektedir (Vogel 1992; Frei and Würgler 1996).

SMART ile elde edilen sonuçların istatistiksel analiz yöntemi

Çalışma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizini Microsta bilgisayar programı ile yapılmıştır. Orijinal (null) hipotez (H₀), kontrol grubu ile uygulama grupları arasında herhangi bir fark olmadığını, alternatif hipotez (H_a) ise uygulama grubunda oluşan indüklenmiş mutasyon oranının kontrol grubundan m defa daha fazla olduğu varsayımına göre değerlendirilmiştir. Her iki hipotezin hesaplanmasından elde edilen değerler; Tablo 6’ya göre pozitif (+), zayıf pozitif (z), önemsiz fark (i) ve negatif (-) olarak değerlendirilmiştir (Frei and Würgler 1988).

Tablo 6. Orijinal (H₀) ve Alternatif (H_a) Hipotezlerin Değerlendirilmesi

HİPOTEZLER		H _A (Alternatif)	
H ₀ (Null)	KABUL(1- α)	KABUL (1- β)	RED(β)
	RED(α)	Önemsiz Fark (i) $P=(1-\alpha)(1-\beta)= 1-\alpha-\beta + \alpha\beta$	Negatif (-) $P=(1-\alpha)\beta= \beta-\alpha\beta$
		Pozitif (+) $P=\alpha(1-\beta)= \alpha-\alpha\beta$	Zayıf Pozitif (z) $P= \alpha\beta$

Mikrofotografi

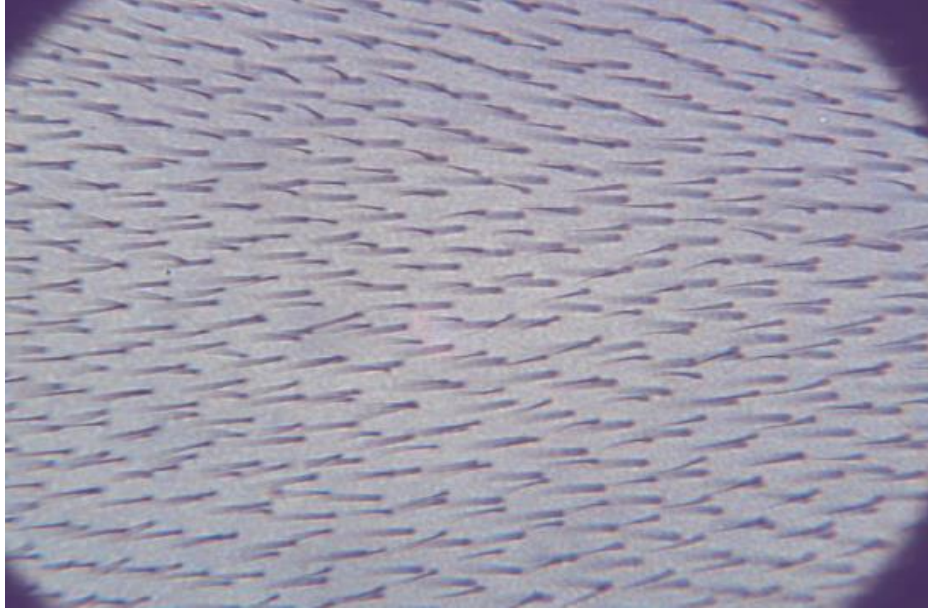
Tez kapsamında kullanılan *D. melanogaster*'in *mwh* ve *flr*³ mutant ergin bireylerine ait fotoğraflar, stereo mikroskoba bağlı 5,0 megapiksel kameraya sahip dijital fotoğraf makinesiyle, SMART testi ile ilgili mutant klonların fotoğrafları ise kameralı ışık mikroskobu ile çekilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI

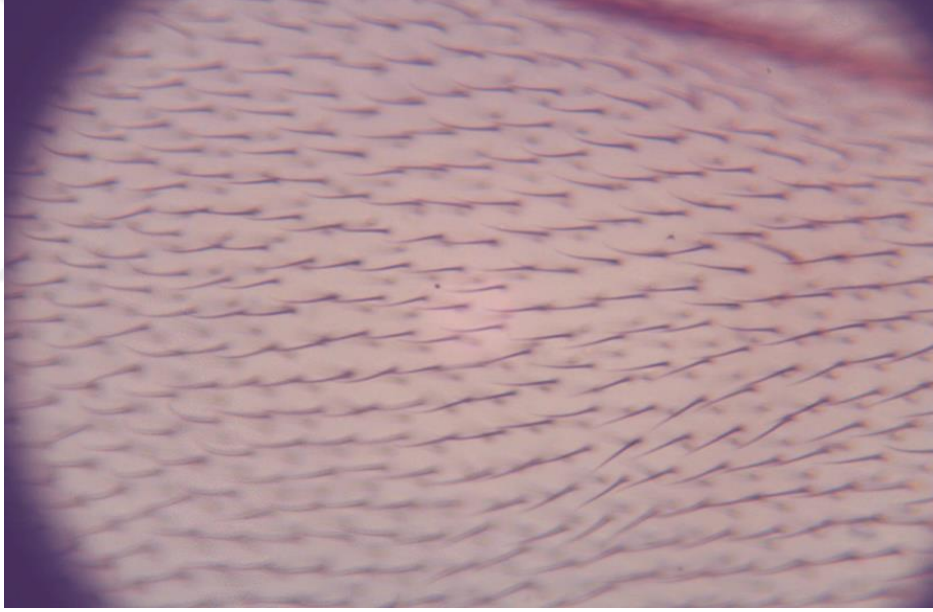
Bu tez çalışmasında, tekstil endüstrisinde kullanılan altı farklı reaktif boyarmaddenin Superfix Black NNX (SBNNX), Synacryl Black XFDL (SBXFDL), Reactive Blue 19 (RB19), Reaktif Back 5/Süperfix Black B(RB5/SBB), Superfix Red 3BF (SR3BF) ve Superfix Navy Blue BF (SNBBF) genotoksik etkili olup olmadığı *D. melanogaster*'in mutant soyları kullanarak Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile araştırılmıştır. Bu amaçla deneysel çalışmalar için öncelikle kontrol grubu ve uygulama grubu olmak üzere iki ayrı deney seti hazırlanmıştır. Kontrol grubu olarak hem distile su negatif kontrol grubu hem de mutajenik etkisi iyi bilinen EMS pozitif kontrol grupları ile çalışılmıştır. Uygulama grupları ise tekstil boyalarının üç farklı konsantrasyonu (150, 300, 450 ppm) ile oluşturulmuştur. Negatif ve pozitif kontrol gruplarına ait elde edilen tüm sonuçlar, mutant klonlar bakımından önce birbirleriyle, uygulama gruplarına ait sonuçlar ise yalnızca distile su negatif kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Materyal ve metod bölüm başlığı altında verilen deneysel prosedüre göre, iki farklı kontrol grubu ve tüm uygulama grupları için hazırlanan hem normal hem de serrat kanat fenotipine ait preparatlar mikroskopik olarak incelenmiş ve normal kıl yapısı ile mutant kılların fotoğrafları çekilmiştir. Şekil 28'de *D. melanogaster*'in normal kanat trikomları, Şekil 29'da *flare* (*flr³*) bireylerin kısa, belli bir biçimi olmayan, körelmiş, nokta şeklinde koyu renkli kanat trikomları ile Şekil 30'da *multi wing hair* (*mwh*) bireylerin her kanat hücresinden çıkan üç veya daha fazla sayıda çoklu kanat trikomları görülmektedir.

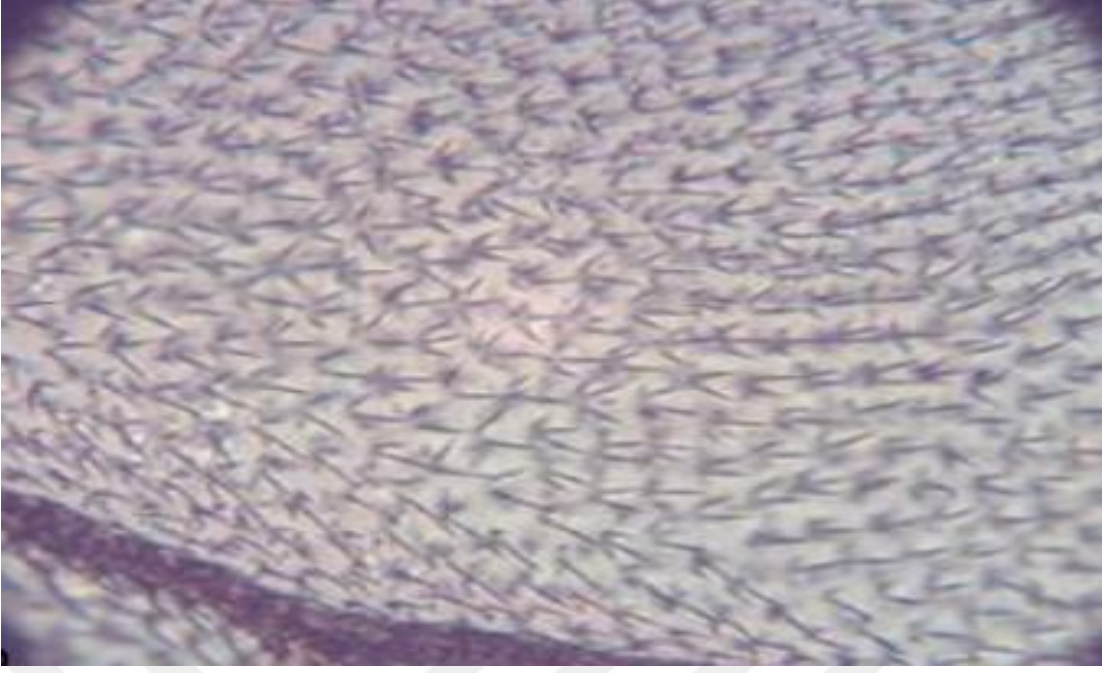
Tekstil alanında kullanılan boyarmaddelerin somatik mutasyonlar ile gerçekleşen genotoksik etkinin göstergesi olarak gözlenen mutant klonlar; küçük tek tip (KTT, Şekil 31), büyük tek tip (BTT, Şekil 32) ve ikiz klon (Şekil 33) olarak ayrılmıştır. Uygulama gruplarına ait preparatların tüm kanat sektörleri (Şekil 24) mutant klonlar bakımından incelenmiş ve klon sayıları kaydedilmiştir. İstatiksel değerlendirmeler de ise mutant klonlar öncelikle distile su negatif kontrol grubu ile EMS pozitif kontrol grubu arasında, daha sonra distile su negatif kontrol grubu ile tüm tekstil boyalarının uygulama grupları arasında karşılaştırmalı olarak yapılmıştır.



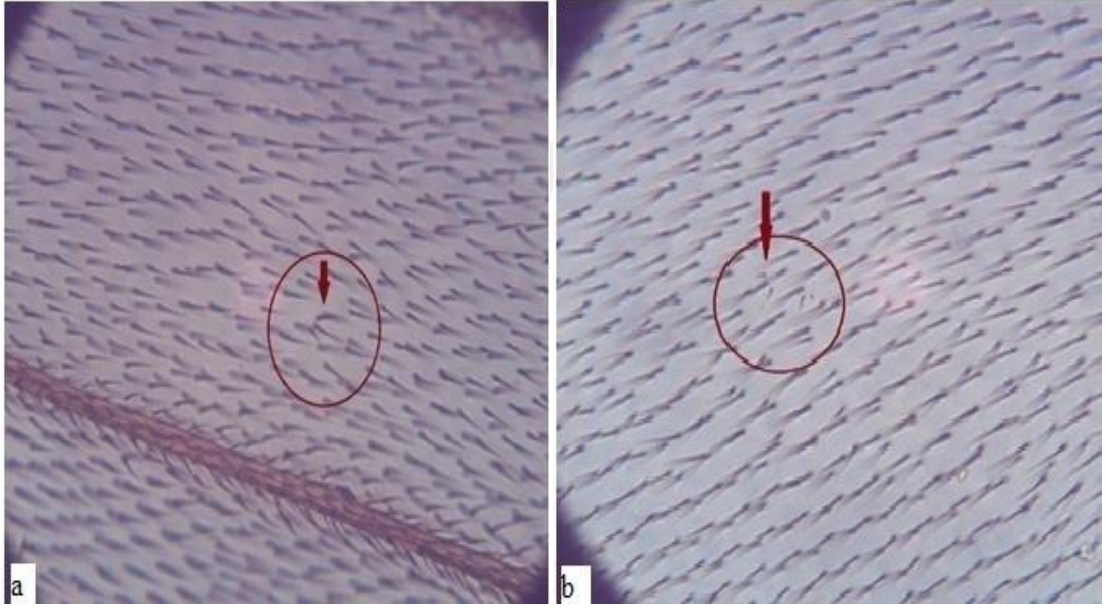
Şekil 28. *D. melanogaster*'in Oregon-R yabanıl soyuna ait ergin bireylerin kanat kıllarının mikroskopik görünüşü (10X40)



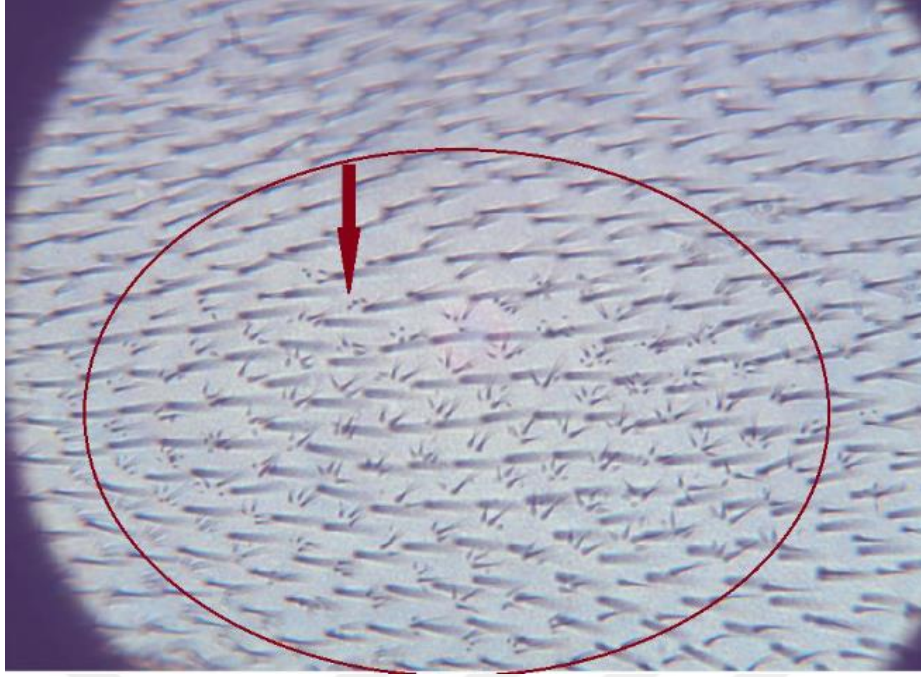
Şekil 29. *flare (flr³)* bireylerin kanat kıllarına ait mikroskopik görüntü (10X40)



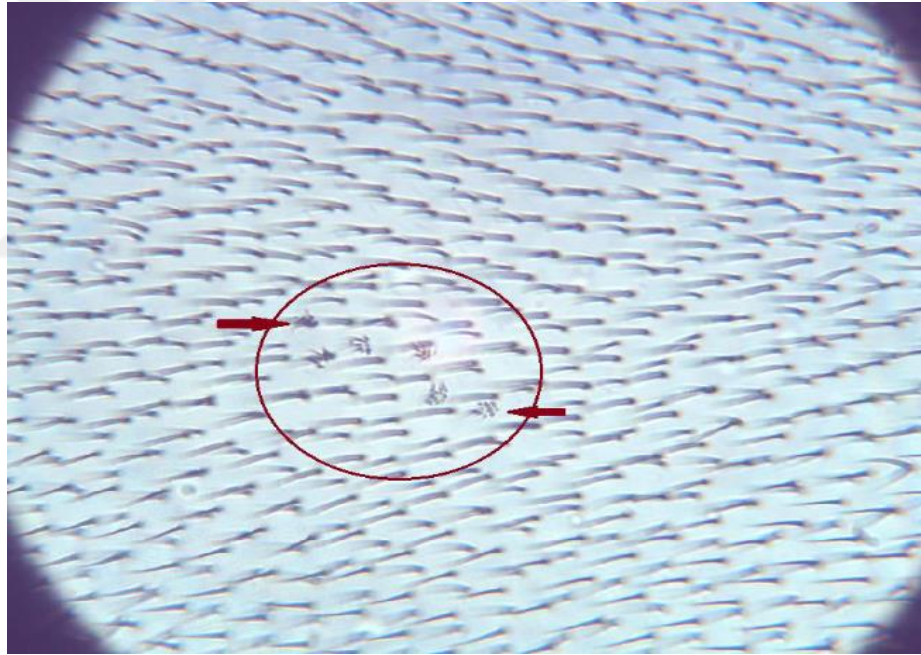
Şekil 30. *multi wing hair (mwh)* mutant bireylerin kanat kıllarına ait mikroskopik görüntü (10X40)



Şekil 31. a ve 31b. Küçük tek tip (KTT) mutant klonların mikroskopik görünüşü (10X40)



Şekil 32. Büyük tek tip (BTT) mutant klonların mikroskopik görünüşü (10X40)



Şekil 33. İkiz mutant klonların mikroskopik görünüşü (10X40)

Distile Su ve EMS Kontrol Gruplarına ait SMART Bulguları

Normal kanat fenotipine (*mwh/flr³*) ait preparatlar incelendiğinde, distile su negatif kontrol grubunda 8 KTT klon gözlenmiştir. Kontrol grubuna ait toplam (Σ) klon frekansı 0,10 olarak hesaplanmıştır. Negatif kontrol grubu dışında pozitif kontrol grubu olarak belirlenen ve mutajenik etkisi bilinen EMS uygulamasında ise 27 KTT, 11 BTT ve 8 ikiz mutant klon gözlenmiştir. Bu gruba ait Σ klon frekansı da 0,57 olarak bulunmuştur. EMS pozitif kontrol grubuna ait tüm klon frekanslarında gözlenen artış, negatif kontrol grubuna göre istatistiki

olarak pozitif etkili (+) önemlidir ($p<0,05$). Normal kanat fenotipine ait distile su ve EMS kontrol gruplarının Klon İndüksiyon Frekansı değerleri de (KİF) sırasıyla 0,40 ve 1,94 olarak hesaplanmıştır (Tablo 7).

Kanat benek testi için serrat kanat fenotipinin (*mwh/TM3*) negatif kontrol grubu olandistile su da 6 KTT klon gözlenmiş ve Σ klon frekansı 0,07 olarak bulunmuştur. Pozitif kontrol grubu olan EMS'de ise normal kanat fenotipinde olduğu gibi tüm klon frekanslarında artış görülmüştür. 20 KTT ve 6 BTT mutant klon bulunan EMS kontrol grubunda Σ klon frekansı 0,32 olarak hesaplanmıştır. Distile su negatif kontrol grubu ile EMS pozitif kontrol grubu karşılaştırıldığı zaman aradaki fark istatistiksel olarak pozitif etkili (+) önemlidir ($p<0,05$). Serrat kanat fenotipi için hazırlanan distile su ve EMS kontrol gruplarına ait KİF değerleri de hesaplanmış ve sırasıyla 0,30 ve 1,33 olarak belirlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 7. Distile Su ve EMS Kontrol Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiksel Analiz Sonuçları

Pozitif ve negatif kontrol grupları	Kanat sayısı	KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m=2)			Σ klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
Normal kanat (Trans-heterozigot kanat - mwh/flr ³)																	
Distile su	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40
EMS (1ppm)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94
Serrat kanat (Dengeleyici heterozigot -mwh/TM3)																	
Distile su	80	6	(0,07)		0	(0,00)		Dengeleyici TM3 kromozomu varlığında flr ³ mutasyonu meydana gelmediğinden ikiz klon gözlenmez.			6	(0,07)		6	(0,07)		0,30
EMS (1ppm)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+				26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33

No: Klon sayısı, Fr: Mutasyon frekansı, D: İstatistiki tanı, Σ: Toplam, (+): Pozitif (Genotoksik Etkili), (-): Negatif (Genotoksik Etkisiz), (i): Önemsiz fark, m: Tesir faktörü, Distile su: Negatif Kontrol, EMS: Pozitif Kontrol

Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları

SBNNX tekstil boyasına ait SMART bulguları

Çalışma kapsamında genotoksik etkisi araştırılan asit özelliği gösteren SBNNX, tekstil boyasına ait ön denemeler sonucu üç farklı uygulama grubu (150, 300 ve 450 ppm) oluşturulmuştur. Normal kanat fenotipinde (*mwh/flr³*) SBNNX için en düşük uygulama olan 150 ppm uygulama grubunda 17 KTT, 7 BTT ve 2 ikiz klon olmak üzere toplam 26 toplam mutant klon; 300 ppm’de 20 KTT, 9 BTT ve 3 ikiz klon ve toplam 32 mutant klon gözlenmiştir. En yüksek uygulama grubu olan 450 ppm’de ise doz artışına bağlı olarak daha fazla mutant klon oluşmuştur ve bunlarda 24 KTT, 10 BTT ve 5 ikiz mutantklon olarak değerlendirilmiştir. 450 ppm uygulama grubunda KTT, BTT ve ikiz olmak üzere toplam 39 klon sayılmıştır. Üç uygulama grubuna ait Σ klon frekansları da sırasıyla 0,32, 0,40, 0,45 olarak hesaplanmıştır (Tablo 8). Tablo 8’ de de görüldüğü gibi SBNNX’in için 150 ve 300 ppm’de elde edilen veriler distile su kontrol grubu ile istatistiki olarak karşılaştırıldığında ikiz klon tiplerinin oluşumu $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) iken KKT, BTT, Σ *mwh* klon ve Σ klon tipleri için elde edilen sonuçlar $p<0,05$ düzeyinde pozitif etkili (+) bulunmuştur. 450 ppm’de ise tüm klon tiplerindeki artış $p<0,05$ düzeyinde önemli ve pozitif etkilidir (+).

Elde edilen diğer verilere göre bir diğer değerlendirme KİF değeri için yapılmış ve SBNNX uygulama gruplarına ait KİF değerleri 1,22, 1,48 ve 1,74 olarak hesaplanırken distile su kontrol grubunda bu değer 0,40’dır (Tablo 8). Artan SBNNX konsantrasyona bağlı olarak KİF değerlerindeki artış tekstil boyasının genotoksik etkili olduğunu göstermektedir.

SBNNX tekstil boyasının uygulama gruplarına ait serrat kanat fenotipi (*mwh/TM3*) için de hazırlanan tüm kanat preparatları, mutant klon oluşup oluşmadığı bakımından incelenmiştir. En düşük uygulama olan 150 ppm’de 11 KTT, 3 BTT ve toplam 14 mutant klon; 300 ppm’de 14 KTT ve 5 BTT olmak üzere toplam 19 mutant klon ve 450 ppm’de ise 16 KTT ve 6 BTT olmak üzere toplam 22 mutant klon gözlenmiştir. 150 ppm uygulama grubu için elde edilen veriler, distile su kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman sonuçlar KTT, BTT için istatistiki olarak $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i), Σ *mwh* klon ve Σ klon tipleri için ise $p<0,05$ düzeyinde önemli ve pozitif etkili (+) bulunmuştur. 300 ve 450 ppm uygulama gruplarında ise tüm klon tiplerinde sonuçlar $p<0,05$ düzeyinde pozitif etkilidir (+). Üç uygulama grubuna ait KİF değerleri de sırasıyla 0,71, 0,97 ve 1,12 olarak hesaplanmıştır (Tablo 8). Distile su kontrol grubuna ait 0,40 olan KİF değerine göre her üç uygulama grubunda serrat kanat tipinde gözlenen KİF değeri artışı, somatik mutasyonların artışı olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 8. SBNNX Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m=2)			Σ klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (Trans-heterozigot kanat - mwh/flr ³)																		
Kontrol (distile su)	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
Kontrol (EMS)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
150	80	17	(0,21)	+	7	(0,08)	+	2	(0,02)	i	24	(0,30)	+	26	(0,32)	+	1,22	
300	80	20	(0,25)	+	9	(0,11)	+	3	(0,03)	i	29	(0,36)	+	32	(0,40)	+	1,48	
450	80	24	(0,30)	+	10	(0,12)	+	5	(0,06)	+	34	(0,42)	+	39	(0,45)	+	1,74	
Serrat kanat (Dengeleyici heterozigot -mwh/TM3)																		
Kontrol (distile su)	80	6	(0,07)		0	(0,00)		Dengeleyici TM3			6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
Kontrol (EMS)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	kromozomu			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	
150	80	11	(0,13)	i	3	(0,03)	i	varlığında flr ³			14	(0,17)	+	14	(0,17)	+	0,71	
300	80	14	(0,17)	+	5	(0,07)	+	mutasyonu			19	(0,23)	+	19	(0,23)	+	0,97	
450	80	16	(0,20)	+	6	(0,10)	+	meydana gelmediğinden			22	(0,27)	+	22	(0,27)	+	1,12	
								ikiz klon										
								gözlenmez.										

No: Klon sayısı, Fr: Mutasyon frekansı, D: İstatistiki tanı, Σ : Toplam, (+): Pozitif (Genotoksik Etkili), (-): Negatif (Genotoksik Etkisiz), (i): Önemli fark, m: Tesir faktörü

SBXF DL Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları

Bazık boya özelliği gösteren SBXF DL, çalışmanın ikinci tekstil boyasıdır ve bu boya için de SBNNX tekstil boyası ile aynı konsantrasyonlarda uygulama grupları (Bölüm 2.1.) oluşturulmuştur. SBXF DL'nin verileri normal kanat fenotipi (mwh/flr^3) için incelendiğinde en düşük uygulama grubu olan 150 ppm uygulama grubunda 15 KTT, 5 BTT ve 2 ikiz klon olmak üzere toplam 22 toplam mutant klon; 300 ppm uygulama grubunda 18 KTT, 8 BTT ve 4 ikiz klon ve toplam 30 mutant klon; en yüksek uygulama grubu olan 450 ppm'de ise 20 KTT, 9 BTT ve 5 ikiz mutant klon olmak üzere 34 toplam klon gözlenmiştir. Üç uygulama grubuna ait KİF değerleri de sırasıyla 1,02, 1,33 ve 1,48 olarak hesaplanmıştır (Tablo 9). Tablo 9'da da görüldüğü gibi özellikle 150 ppm uygulama grubunda tüm klon tipleri için (KTT, BTT ve ikiz klon) gözlenen artış, distile su kontrol grubu ile istatistiki olarak karşılaştırıldığında aradaki fark $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) iken Σmwh klon ve Σ klon tiplerinde pozitif etkili (+) ve önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. 300 ppm'de ise yalnızca ikiz klon oluşumu $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i), KKT, BTT, Σmwh klon ve Σ klon tiplerinin oluşumu için $p<0,05$ düzeyinde önemli ve pozitif etkilidir (+). 450 ppm uygulama grubunda da istatistiki sonuçlar, tüm klon tiplerinde pozitif etkili (+) ve önemli etkili bulunmuştur ($p<0,05$). Distile su kontrol grubunda KİF değeri 0,40 iken SBXF DL uygulama gruplarına (150, 300 ve 450 ppm) ait KİF değerleri de sırasıyla 1,02, 1,33 ve 1,48 olarak hesaplanmıştır. Artan SBXF DL konsantrasyona bağlı olarak KİF değerlerindeki artış mutant klon uyarımının göstergesi olarak kabul edilmektedir.

SBXF DL uygulama gruplarına ait serrat kanat preparatları da incelenmiş ve serrat fenotipine ($mwh/TM3$) ait veriler Tablo 9'da verilmiştir. Tablo 9'da da görüldüğü gibi 150 ppm'de 10 KTT, 1 BTT ve toplam 11 mutant klon; 300 ppm'de 11 KTT ve 4 BTT olmak üzere toplam 15 mutant klon; 450 ppm'de ise 15 KTT ve 6 BTT olmak üzere toplam 21 mutant klon gözlenmiştir. Distile su kontrol grubu ile 150 ppm uygulama grubuna ait veriler karşılaştırıldığı zaman tüm klon tipleri için istatistiki sonuçlar $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) bulunmuştur. 300 ppm'de KTT, BTT için sonuçlar $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) iken Σmwh klon ve Σ klon tiplerinde $p<0,05$ düzeyinde pozitif etkili (+) ve önemli bulunmuştur. 450 ppm'de ise tüm klon tiplerine ait sonuçlar pozitif etkili (+) ve önemlidir ($p<0,05$). Üç uygulama grubuna ait KİF değerleri de sırasıyla 0,56, 0,76 ve 1,07 olarak hesaplanmıştır (Tablo 9). KİF değerlerindeki bu artış, farklı dozlarda SBXF DL tekstil boyasının serrat kanat fenotipinde de mutant klon oluşumunu uyardığını göstermektedir.

Tablo 9. SBXFDL Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon ($m=2$)			BTT klon ($m=5$)			İkiz klon ($m=5$)			Σ mwh klon ($m=2$)			Σ klon ($m=2$)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (Trans-heterozigot kanat - mwh/flr^3)																		
Kontrol (distile su)	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
Kontrol (EMS)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
150	80	15	(0,18)	i	5	(0,06)	i	2	(0,02)	i	20	(0,25)	+	22	(0,27)	+	1,02	
300	80	18	(0,22)	+	8	(0,10)	+	4	(0,05)	i	26	(0,32)	+	30	(0,37)	+	1,33	
450	80	20	(0,25)	+	9	(0,11)	+	5	(0,06)	+	29	(0,36)	+	34	(0,42)	+	1,48	
Serrat kanat (Dengeleyici heterozigot - $mwh/TM3$)																		
Kontrol (distile su)	80	6	(0,07)		0	(0,00)		Dengeleyici $TM3$ kromozomu varlığında flr^3 mutasyonu meydana gelmediğinden ikiz klon gözlenmez.			6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
Kontrol (EMS)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+				26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	
150	80	10	(0,12)	i	1	(0,01)	i				11	(0,13)	i	11	(0,13)	i	0,56	
300	80	11	(0,13)	i	4	(0,05)	i				15	(0,18)	+	15	(0,15)	+	0,76	
450	80	15	(0,18)	+	6	(0,08)	+				21	(0,26)	+	21	(0,26)	+	1,07	

No: Klon sayısı, Fr: Mutasyon frekansı, D: İstatistiki tanı, Σ : Toplam, (+): Pozitif (Genotoksik Etkili), (-): Negatif (Genotoksik Etkisiz), (i): Önemli fark, m: Tesir faktörü

RB19 Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları

Bu çalışma için kullanılan bir diğer tekstil boyası RB19 asidik boya özelliği göstermekte olup uygulamalar için yine aynı dozlar (150, 300 ve 450 ppm) ile çalışılmıştır. RB19 uygulamasına ait olan veriler normal kanat fenotipi için incelendiğinde, en düşük uygulama grubunda (150 ppm) 12 KTT, 6 BTT ve 3 ikiz klon olmak üzere toplam 21 mutant klon; 300 ppm'de 14 KTT, 7 BTT ve 4 ikiz klon ve toplam 25 mutant klon gözlenmiştir. En yüksek uygulama grubu olan 450 ppm'de ise ilk iki uygulama grubuna göre daha fazla olmak üzere 19 KTT, 8 BTT ve 6 ikiz mutant klon görülmüş ve toplam 33 mutant klon sayılmıştır. Distile su kontrol grubunda KİF değeri 0,40 iken RB19 uygulama gruplarına (150, 300 ve 450 ppm) ait KİF değerleri de sırasıyla 0,92, 1,07 ve 1,38 olarak hesaplanmıştır (Tablo 10). Artan RB19 konsantrasyonuna bağlı olarak KİF değerlerindeki artış mutant klon uyarımını göstermektedir.

Tablo 10'da görüldüğü gibi RB19 için özellikle 150 ppm'de elde edilen veriler, distile su negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sonuçlar $p>0,05$ düzeyinde KTT ve ikiz klon tipleri için önemsiz (i) iken BTT, Σmwh klon ve Σ klon tiplerinde sonuçlar $p<0,05$ düzeyinde pozitif etkili ve önemlidir (+). 300 ppm'de KTT ve ikiz klon tiplerindeki artış, istatistiki olarak $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) iken BTT, Σmwh klon ve Σ klon için sonuçlar pozitif etkili ve önemli (+) bulunmuştur ($p<0,05$). 450 ppm'de ise tüm klon tiplerindeki artış $p<0,05$ düzeyinde pozitif etkili (+) ve önemlidir.

Uygulama gruplarının serrat kanat fenotipine ait veriler incelendiğinde ise 150 ppm uygulama grubunda 6 KTT, 2 BTT ve toplam 8 mutant klon; 300 ppm'de 10 KTT ve 3 BTT olmak üzere toplam 13 mutant klon; 450 ppm'de ise 14 KTT ve 5 BTT olmak üzere toplam 19 mutant klon gözlenmiştir. 150 ppm uygulama grubundan elde edilen veriler, distile su kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman tüm klon tiplerinde sonuçlar $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) bulunmuştur. 300 ppm'de KTT, BTT için elde edilen veriler, $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) iken Σmwh klon ve Σ klon tiplerinde sonuçlar yine aynı düzeyde ($p<0,05$) pozitif etkili ve (+) önemlidir. 450 ppm'de ise tüm klon tiplerinde sonuçlar pozitif etkili (+) ve önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Üç uygulama grubuna ait KİF değerleri de sırasıyla 0,40, 0,66 ve 0,97 olarak hesaplanmıştır (Tablo 10).

Tablo 10. RB19 Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m=2)			Σ klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (Trans-heterozigot kanat - mwh/flr ³)																		
Kontrol (distile su)	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
Kontrol (EMS)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
150	80	12	(0,15)	i	6	(0,07)	+	3	(0,03)	i	18	(0,22)	+	21	(0,26)	+	0,92	
300	80	14	(0,17)	i	7	(0,08)	+	4	(0,05)	i	21	(0,26)	+	25	(0,31)	+	1,07	
450	80	19	(0,23)	+	8	(0,10)	+	6	(0,07)	+	27	(0,33)	+	33	(0,41)	+	1,38	
Serrat kanat (Dengeleyici heterozigot - mwh/TM3)																		
Kontrol (distile su)	80	6	(0,07)		0	(0,00)		Dengeleyici TM3			6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
Kontrol (EMS)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	kromozomu			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	
150	80	6	(0,07)	i	2	(0,02)	i	varlığında flr ³			8	(0,10)	i	8	(0,10)	i	0,40	
300	80	10	(0,12)	i	3	(0,03)	i	mutasyonu meydana			13	(0,16)	+	13	(0,16)	+	0,66	
450	80	14	(0,17)	+	5	(0,06)	+	gelmediğinden ikiz klon gözlenmez.			19	(0,23)	+	19	(0,23)	+	0,97	

No: Klon sayısı, Fr: Mutasyon frekansı, D: İstatistiki tanı, Σ : Toplam, (+): Pozitif (Genotoksik Etkili), (-): Negatif (Genotoksik Etkisiz), (i): Önemsiz fark, m: Tesir faktörü

SR3BF Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları

Asidik özellik gösteren SR3BF tekstil boyası için de diğer boyalarla aynı olmak üzere 3 farklı uygulama grubu (150, 300 ve 450 ppm) oluşturulmuştur. SR3BF'nin normal kanat fenotipi üzerine etkileri incelendiğinde düşük uygulama grubunda (150 ppm) 10 KTT ve 4 BTT olmak üzere toplam 14 toplam mutant klon; 300 ppm'de 14 KTT, 7 BTT, 1 ikiz klon ve toplam 22 mutant klon; 450 ppm'de ise KTT için 16, BTT için 9 ayrıca 3 ikiz klon görülmüş ve toplam 28 mutant klon gözlenmiştir. Her üç uygulama grubuna ait Σ klon frekansları da sırasıyla 0,17, 0,27 ve 0,35 olarak hesaplanmıştır (Tablo 11).

SR3BF için 150 ppm uygulama grubundan elde edilen veriler distile su kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sonuçlar ikiz klon için negatif etkili (-), KTT, BTT, Σ mwh klon ve Σ klon tipleri için de önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($p>0,05$). 300 ppm'de KTT ve ikiz klon tipleri için sonuçlar distile su kontrol grubuna göre $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) iken BTT, Σ mwh klon ve Σ klon tiplerindeyse $p<0,05$ düzeyinde pozitif etkili (+) ve önemlidir. 450 ppm'de ise yalnızca ikiz klon oluşumu $p>0,05$ düzeyinde önemsiz etkili (i); KTT, BTT, Σ mwh klon ve Σ klon için de $p<0,05$ düzeyinde önemli ve pozitif etkili (+) sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca distile su kontrol grubunda KİF değeri 0,40 iken SR3BF uygulama gruplarına ait KİF değerleri de sırasıyla 0,71, 1,07 ve 1,28 olarak hesaplanmıştır (Tablo 11). Artan SR3BF konsantrasyonuna bağlı olarak KİF değerlerinde gözlenen artış, somatik mutasyonların uyarıldığının göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Uygulama gruplarına ait serrat kanat fenotipinin verileri incelendiğinde ise 150 ppm uygulama grubunda yalnızca 6 KTT mutant klon gözlenmiştir. 300 ppm'de 8 KTT ve 2 BTT olmak üzere toplam 10 mutant klon; 450 ppm'de ise 11 KTT, 4 BTT ve toplam 15 mutant klon görülmüştür. 150 ppm uygulama grubu için elde edilen veriler, distile su kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman BTT klon tipi için negatif etkili (-), KTT, Σ mwh klon ve Σ klon tiplerinde ise önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($p>0,05$). 300 ppm'de ikiz klon dışında hem KTT hem de BTT klon tiplerinin oluşmasına rağmen tüm klon tiplerinde sonuçlar $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) olarak değerlendirilmiştir. 450 ppm'de ise KTT ve BTT klon tiplerinin oluşmasına rağmen sonuçlar $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) bulunmuştur. Ancak yine en yüksek uygulama grubu için Σ mwh klon ve Σ klon tipleri için $p<0,05$ düzeyinde sonuçlar pozitif etkili (+) ve önemlidir. Üç uygulama grubuna ait KİF değerleri de sırasıyla 0,30, 0,51 ve 0,76 olarak hesaplanmıştır (Tablo 11). KİF değerlerinin özellikle son iki uygulama grubunda (300 ve 450 ppm) kontrole göre artış göstermiş olması da somatik mutasyonların düşük seviyede olsa da uyarıldığını göstermektedir.

Tablo 11. SR3BF Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı	KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m=2)			Σ klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
Normal kanat (Trans-heterozigot kanat - mwh/flr ³)																	
Kontrol (distile su)	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40
Kontrol (EMS)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94
150	80	10	(0,12)	i	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	14	(0,17)	i	14	(0,17)	i	0,71
300	80	14	(0,17)	i	7	(0,08)	+	1	(0,01)	i	21	(0,26)	+	22	(0,27)	+	1,07
450	80	16	(0,20)	+	9	(0,11)	+	3	(0,03)	i	25	(0,31)	+	28	(0,35)	+	1,28
Serrat kanat (Dengeleyici heterozigot -mwh/TM3)																	
Kontrol (distile su)	80	6	(0,07)		0	(0,00)		Dengeleyici TM3 kromozomu varlığında flr ³			6	(0,07)		6	(0,07)		0,30
Kontrol (EMS)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+				26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33
150	80	6	(0,07)	i	0	(0,00)	-	mutasyonu meydana gelmediğinden ikiz klon gözlenmez.			6	(0,07)	i	6	(0,07)	i	0,30
300	80	8	(0,10)	i	2	(0,02)	i				10	(0,12)	i	10	(0,12)	i	0,51
450	80	11	(0,13)	i	4	(0,05)	i				15	(0,18)	+	15	(0,18)	+	0,76

No: Klon sayısı, Fr: Mutasyon frekansı, D: İstatistiki tanı, Σ : Toplam, (+): Pozitif (Genotoksik Etkili), (-): Negatif (Genotoksik Etkisiz), (i): Önemsiz fark m: Tesir faktörü

SNBBF Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları

SNBBF tekstil boyası da asidik tekstil boyalarından birisi olup diğer boya uygulama grupları ile aynı konsantrasyonlarda (150, 300 ve 450 ppm) çalışılarak mutajenik etkili olup olmadığı değerlendirilmiştir. Normal kanat fenotipi için SNBBF'nin verileri incelendiğinde en düşük uygulama grubu olan 150 ppm uygulama grubunda 9 KTT ve 4 BTT olmak üzere toplam 13 toplam mutant klon gözlenmiştir. 300 ppm'de 12 KTT ve 5 BTT gözlenmiş ve toplam mutant klon 17; 450 ppm'de ise 15 KTT, 7 BTT ve 2 ikiz mutant klon görülmüş ve toplam mutant klon sayısı 24 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen verilere göre üç uygulama grubuna ait Σ klon frekansları da sırasıyla 0,17, 0,21 ve 0,30 olarak bulunmuştur (Tablo 12).

SNBBF için 150 ppm uygulama grubundan elde edilen veriler, distile su kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sonuçlar ikiz klon için negatif etki (-), KTT, BTT, Σ mwh klon ve Σ klon tiplerinde önemsiz etki (i) göstermiştir ($p>0,05$). 300 ppm'de ikiz klon $p>0,05$ düzeyinde negatif etkili (-), KTT $p>0,05$ düzeyinde önemsiz etkili (i), BTT, Σ mwh klon ve Σ klon ise pozitif etkili (+) ve önemli bulunmuştur ($p<0,05$). 450 ppm'de de KTT ve ikiz klon tipleri için istatistiki sonuçlar önemsiz etkili (i) iken ($p>0,05$) BTT, Σ mwh klon ve Σ klon tiplerinde önemli ve pozitif etki (+) gözlenmiştir ($p<0,05$). Tüm klon tipleri göz önüne alınarak hesaplanan KİF değeri de distile su kontrol grubu için 0,40 iken SNBBF uygulama gruplarına ait olmak üzere bu değerler 0,66, 0,87 ve 1,11 olarak bulunmuştur (Tablo 12). SNBBF'nin artan konsantrasyonu ile somatik mutasyonların artışı arasında gözlenen pozitif korelasyon diğer tüm boya uygulama gruplarında da görülmüştür.

SNBBF uygulama gruplarına ait serrat kanat fenotipi için de hazırlanan kanat preparatları incelenmiş ve 150 ppm uygulama grubunda yalnızca 6 KTT; 300 ppm'de 7 KTT, 2 BTT toplam 9 mutant klon; 450 ppm'de 8 KTT, 3 BTT olmak üzere toplam 11 mutant klon gözlenmiştir (Tablo 12). Tüm uygulama gruplarından elde edilen veriler ile karşılaştırıldığı zaman yalnızca 150 ppm BTT klon oluşumu negatif etkili (-) iken diğer uygulama gruplarının hepsinde KTT ve BTT için elde edilen değerler önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($p>0,05$). Ayrıca serrat kanat için KİF değerleri de uygulama grupları için sırasıyla 0,30, 0,46, 0,56 olarak hesaplanmıştır ve distile su kontrol grubuna ait 0,30 olan KİF değerine göre yalnızca 300 ve 450 ppm de klon uyarımı gözlenmiş.

Tablo 12. SNBBF Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon ($m=2$)			BTT klon ($m=5$)			İkiz klon ($m=5$)			Σ mwh klon ($m=2$)			Σ klon ($m=2$)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (Trans-heterozigot kanat - mwh/flr^3)																		
Kontrol (distile su)	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
Kontrol (EMS)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
150	80	9	(0,11)	i	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	13	(0,17)	i	13	(0,17)	i	0,66	
300	80	12	(0,15)	i	5	(0,06)	+	0	(0,00)	-	17	(0,21)	+	17	(0,21)	+	0,87	
450	80	15	(0,18)	i	7	(0,08)	+	2	(0,02)	i	22	(0,27)	+	24	(0,30)	+	1,11	
Serrat kanat (Dengeleyici heterozigot - $mwh/TM3$)																		
Kontrol (distile su)	80	6	(0,07)		0	(0,00)		Dengeleyici $TM3$ kromozomu varlığında flr^3 mutasyonu meydana gelmediğinden ikiz klon gözlenmez.			6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
Kontrol (EMS)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+				26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	
150	80	6	(0,07)	i	0	(0,00)	-				6	(0,07)	i	6	(0,07)	i	0,30	
300	80	7	(0,08)	i	2	(0,02)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46	
450	80	8	(0,10)	i	3	(0,03)	i				11	(0,13)	i	11	(0,13)	i	0,56	

No: Klon sayısı, Fr: Mutasyon frekansı, D: İstatistiki tanı, Σ : Toplam, (+): Pozitif (Genotoksik Etkili), (-): Negatif (Genotoksik Etkisiz), (i): Önemsiz fark m: Tesir faktörü

RB5/SBB Tekstil Boyasına Ait SMART Bulguları

Sunulan çalışmanın son tekstil boyası olan RB5/SBB de asidik bir boya olarak kullanılmıştır. Farklı dozlarda uygulanan (150, 300 ve 450 ppm) RB5/SBB'nin normal kanat fenotipi verileri incelendiğinde, 150 ppm uygulama grubunda 8 KTT, 2 BTT ve toplam 10 mutant klon; 300 ppm'de 13 KTT, 5 BTT ve toplam 18 mutant klon; 450 ppm'de ise 15 KTT, 6 BTT ve 2 ikiz klon olmak üzere toplam 23 mutant klon gözlenmiştir. Üç uygulama grubuna ait Σ klon frekansları da sırasıyla 0,12, 0,22 ve 0,28 olarak hesaplanmıştır (Tablo 13).

Normal kanat fenotipine ait elde edilen veriler distile su kontrol grubu ile istatistiki olarak karşılaştırıldığında sonuçlar 150 ppm uygulama grubunda ikiz klon için negatif etkili (-) iken KTT, BTT, Σ *mwh* klon ve Σ klon tiplerinde önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($p>0,05$). 300 ppm'de KTT ve ikiz klon oluşumu $p>0,05$ düzeyinde sırasıyla önemsiz (i) ve negatif etkili (-) iken BTT, Σ *mwh* klon ve Σ klon oluşumu istatistiki olarak $p<0,05$ düzeyinde pozitif etkili (+) ve önemlidir. 450 ppm'de ise yalnızca BTT, Σ *mwh* klon ve Σ klon oluşumuna ait istatistiki değerler, $p<0,05$ düzeyinde pozitif etkili (+) ve önemli bulunmuştur. Ayrıca tüm kontrol ve uygulama grupları için KİF değerleri de hesaplanmış ve distile su kontrol grubu için 0,40 olan bu değer, RB5/SBB uygulama grupları için sırasıyla 0,51, 0,92 ve 1,07 olarak bulunmuştur. Artan RB5/SBB konsantrasyonuna bağlı olarak KİF değerlerinde gözlenen bu artış, normal kanat fenotipine ait somatik mutasyonların uyarımı olarak değerlendirilmiştir.

Uygulama gruplarının serrat kanat fenotipi için gözlenen verileri, 150 ppm uygulama grubunda yalnızca 7 KTT; 300 ppm'de 8 KTT ve 1 BTT olmak üzere toplam 9 mutant klon; 450 ppm'de ise 9 KTT, 1 BTT olmak üzere toplam 10 mutant klon şeklindedir. Uygulama gruplarından elde edilen veriler, distile su kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman tüm klon tiplerinde sonuçlar yalnızca 150 ppm BTT için negatif etkili (-), diğer tüm uygulamalar ve tüm klon tipleri için $p>0,05$ düzeyinde önemsiz etkili (i) bulunmuştur. Serrat kanat fenotipi için uygulama gruplarına ait KİF değerleri de hesaplanmıştır. Tablo 13'te te görüldüğü gibi, uygulama grupları için sırayla 0,35, 0,46 ve 0,51 olan bu değerler, distile su kontrol grubuna (0,30) göre artmıştır ve bu da somatik mutasyonların düşük nispette de olsa uyarılmış olduğunu göstermektedir.

Tablo 13. RB5/SBB Uygulama Gruplarına ait SMART Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m=2)			Σ klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (Trans-heterozigot kanat - mwh/flr ³)																		
Kontrol (distile su)	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
Kontrol (EMS)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
150	80	8	(0,10)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	10	(0,12)	i	10	(0,12)	i	0,51	
300	80	13	(0,16)	i	5	(0,06)	+	0	(0,00)	-	18	(0,22)	+	18	(0,22)	+	0,92	
450	80	15	(0,18)	i	6	(0,07)	+	2	(0,02)	i	21	(0,26)	+	23	(0,28)	+	1,07	
Serrat kanat (Dengeleyici heterozigot -mwh/TM3)																		
Kontrol (distile su)	80	6	(0,07)		0	(0,00)		Dengeleyici TM3			6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
Kontrol (EMS)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	kromozomu			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	
150	80	7	(0,08)	i	0	(0,00)	-	varlığında flr ³			7	(0,08)	i	7	(0,08)	i	0,35	
300	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i	mutasyonu			9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46	
450	80	9	(0,11)	i	1	(0,01)	i	meydana gelmediğinden ikiz klon gözlenmez.			10	(0,12)	i	10	(0,12)	i	0,51	

No: Klon sayısı, Fr: Mutasyon frekansı, D: İstatistiki tanı, Σ: Toplam, (+): Pozitif (Genotoksik Etkili), (-): Negatif (Genotoksik Etkisiz), (i): Önemsiz fark, m: Tesir Faktörü

TARTIŞMA

Dünya genelinde çeşitli endüstriyel alanlarda yaygın olarak kullanılan 10.000 çeşit pigment ve boyarmaddenin bulunduğu Zollinger (1987) tarafından rapor edilmiştir. Tüm endüstriyel alanlarda olduğu gibi tekstil endüstrisinde de kullanılan boyarmaddeler, çevreden gelen ısı, nem, pH gibi değişikliklere karşı dayanıklı olarak geliştirilmektedir (Hendrickx and Boardman 1995). Bu nedenle boyanın çoğu elyaf/lif üzerinde emilerek kalıcı hale gelir. Ancak sabitlenmeyen boya, boyama sonrası yıkama işlemi sırasında atık suya gitmektedir ve çoğu zaman geleneksel işlemlerle bu boyaların alıcı ortama verilmeden arıtılması da mümkün olamamaktadır (Chequer *et al.* 2013). Tablo 1’de de görüldüğü gibi boyaların çözünürlüklerini ve boyama özelliklerini artırmak için kurşun, kadmiyum, civa, kobalt, nikel gibi ağır metaller, formaldehit bazlı boya sabitleme maddeleri, hidrokarbon bazlı yumuşatıcılar gibi diğer zararlı kimyasalların da boya ile birlikte deşarj ortamına verilmesi ve biyolojik olarak parçalanmalarının çok uzun zaman alabilmesi tekstil atıklarını son derece toksik hale getirmektedir. Bu tip maddelere sürekli maruz kalınması ya da düzenli olarak canlı sistemlere alınmaları da toksisiteye yol açmaktadır. Toksisite, herhangi bir toksik maddenin belirli bir miktarının herhangi bir canlıya vermiş olduğu zararın ölçüsü olarak tanımlanmaktadır.

Toksisiteye sebep olan maddeler ya organik (doğal) ya da sentetik olabilirler. Eğer bahsedilen toksik maddeler organik ise bunlar bitkisel ya da hayvansal (omurgalı ya da omurgasız) orijinli ve çoğunlukla bir bireyin hayatta kalması, gelişmesi veya çiftleşmesi ile yakından ilgili olmayan, bunun yerine kendini savunmasına yardımcı olan ve sekonder metabolit olarak da tanımlan anorganik moleküllerdir ve toksin (zehir) olarak tanımlanırlar. Toksin toksisitesi ise yaban arısı sokması gibi küçük veya botulinum toksini gibi alerjik reaksiyonlara hatta septik şoklara dayalı olarak anında öldürücü olabilecek kadar geniş bir perspektif göstermektedir. Bu tip organik maddeler, insan veya hayvansal dokularla temas ettiklerinde, dokular tarafından emildiklerinde, enzimler veya hücre sensörleri gibi biyomoleküllerle ket vurucu olarak etkileşime girdiklerinde normal hücresel işlevi engelleyerek ya da hücrelerin büyüme şeklini değiştirerek neoplazma (yeni ur oluşumu) neden olabilen herhangi hemotoksin, nekrotoksin gibi küçük maddeler, peptitler veya proteinler olabilirler. Birçok toksik madde; ekosistemde atmosfere, toprağa ve suya karışıp orada yetişen bitkilere ya da onlarla beslenen hayvan ve insanlara besin zinciri yoluyla geçebilmektedir.

Ancak ilk kez Ludwig Brieger (1849-1919) tarafından kullanılmış olan toksikant terimi ise (zehirleyici maddeler) insan yapımı, organik olmayan pestisitler, bisfenol, asbest, ticari atık maddeler veya tez çalışmamıza konu olan sentetik boyarmaddeler gibi mutajen, rekombinojen ya da kanserojen olabilen maddelerdir. Bu tip zehirli ve tehlikeli maddeler biyolojik olarak değil insanlar tarafından yapay prosedürlerle üretilirler. Kullanım sonrası ise doğrudan ya da dolaylı olarak sektörel alanların dışına yani doğaya az veya çok olarak salınmakta ve ekosistem üzerinde pek çok olumsuz etkilere sebep olmaktadır.

Dünyada artan nüfusa paralel olarak yaşama dair ihtiyaçların artışı ile birlikte endüstrinin gelişmesi, toksikant olarak tanımlanan boyarmaddelere çeşitli canlılar ve özellikle insanların maruziyetini artırmıştır. İnsan ve hayvan sağlığı için tehdit oluşturan son derece toksik ve hatta kanserojen birçok sentetik boya sınıfı vardır (Tablo 1). Boyarmaddelere ait toksisitesinin etkileri kromozomal aberasyonlar ya da gen mutasyonlarına bağlı olarak kalıtsal hastalıklar yoluyla daha ileri nesillere taşınabilmekte ve göstergesi konjenital malformasyonlar (doğumsal kusurlar) olabilmektedir (Yagub *et al.* 2014).

Sharma and Sobti (2000) tarafından Hindistan’da yaygın olarak kullanılan dört farklı boyanın (Sulphur Red Brown 360, Jade Gren 2G, ReactofixTurquoise Blue 5GFL ve Direct Scarlet 31 4BS) prokaryotik organizmalarda (*Bacillus subtilis*) doz artışına bağlı olarak büyümeyi inhibe ettiği gözlenmiştir. İçeriğinde boyarmadde bulunan atık suların genotoksik etkilerinin *Allium* testi (genotoksisitenin belirlenmesi için kullanılan kısa süreli *in vivo* yöntemlerinden birisi) ile araştırıldığı bir başka çalışmada, özellikle kağıt sanayi atık sularının oldukça toksik etkili olduğu Nielsen and Rank (1994) tarafından bildirilmiştir. Yine Murugesan and Haniffa (1992), tekstil sanayi atıklarının *Heteropneustes fossilis*’in (yayın balığı) dokuları üzerindeki etkilerini incelenmiş ve yumurta hücrelerinde RNA ve protein miktarının azaldığını, oogeneizde oogoniumların çekirdeklerinin parçalandığını ve çekirdekçiklerin kaybolduğunu belirlemiştir. Marwari and Khan (2012)’in yaptığı çalışmaya göre, tekstil atık suyu ile muamele edilen domates bitkisinde toplam klorofil, karbonhidrat, protein ve nitrojen içeriği önemli ölçüde azalmıştır. Benzeri bir çalışma reaktif fitalosiyanin mavi ve reaktif siyah 5 boyarmaddeleri ile *Phaseolus vulgaris* (fasülye) bitkisinde yapılmış ve uygulama gruplarında kontrole kıyasla toplam karotenoid içeriğinin de azaldığı gözlenmiştir (Kaya 2007).

Tekstil boyası olarak kullanılan DB15’in de bir çeşit mikro alg olan *Pseudokirchneriella subcapitata*’da karotenoid miktarını azalttığı gözlenmiştir (Hernández-Zamora and Martínez-Jerónimo 2019). Direct Black 38 (DB38) ve Reactive Blue 15 (RB15) tekstil boyalarının hayvansal ve bitkisel organizmalarda akut toksik ve genotoksik etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, *Cucumis sativus* (salatalık), *Lactuca sativa* (marul) ve *Lycopersicon esculentum*

(domates)’da, çimlenme ve kök uzamasında bu boyaların sebep olduğu herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir (de Oliveira *et al.* 2018). Ancak 42 çeşit ticari tekstil boyasının sucul toksisitesi, *Daphnia magna* (su piresi) ve *Raphidocelis subcapitata* (bir çeşit yeşil alg) kullanılarak Croce *et al.* (2017) tarafından araştırılmış ve tüm boyaların her iki grupta özellikle alglerde toksik etkili olduğu bildirilmiştir.

Tekstil boyası olarak kullanılan San G-GELB-GLE, Red FBL, Blue FGRL ve Black FDL boyalarının genotoksik etkileri, önemli genetik model organizmalardan birisi olan *D.melanogaster*’de Eroğlu Doğan (2002) tarafından da araştırılmış ve bu boyaların mutajenik olduğu bildirilmiştir. Özata (2006) tarafından yapılan başka bir çalışmada da, yine bazı tekstil boyalarının *D.melanogaster* üzerinde hem toksik hem de genotoksik etkileri araştırılmış ve kullanılan tüm tekstil boyalarının uygulama gruplarında hayatta kalış oranını azalttığı ve somatik mutasyonları uyardığı tespit edilmiştir. Gıda endüstrisinde kullanılan tatrazin, amaranth, sunset yellow ve ponceau 4R gibi azo boyaların *D. melanogaster*’in Oregon-R yabanıl soyunda ömür uzunluğu üzerine etkileri Uysal *et al.* (2017) tarafından araştırılmış ve bu boyaların hem dişi hem de erkek popülasyonunda ortalama ve maksimum ömür uzunluğunu azalttığı belirlenmiştir. Öztürk ve Uysal (2021, 2022), *D.melanogaster*’in erkek ve dişi popülasyonlarında ergin bireylerin ömür uzunluğunu kronik uygulanan bazı sentetik boyalarının kısalttığını gözlemişlerdir. Yine aynı araştırmacılar tarafından bu boyaların göğüs segmentlerinde, bacak ve kanat gibi ekstremitelerde fenotipik olarak gözlenebilen deformitelere sebep olduğu, boyarmaddelerin doz artışına bağlı olarak larval toksisiteyi ve konjenital malformasyonları arttığı da bildirilmiştir. Benzeri sonuçlar, Şahin and Türkoğlu (2014) tarafından da gözlenmiştir. Yine Direct Yellow 86, Direct Orange 39, Direct Blue 200, Direct Yellow 142 ve Direct Red 243 gibi sentetik boyarmaddelerin farklı dozları da farelerde mutajenik etkili bulunmuştur (Şenel vd 2012).

Xenopus leavis embriyoları üzerine astrazon kırmızı, astrazon mavi, remazol kırmızı, remazol turkuaz mavi, cibacron kırmızı ve cibacron mavi boyalarının toksik etkisi Birhanlı and Özmen (2005) tarafından rapor edilmiştir. Bu çalışmada test edilen tüm boyaların embriyo gelişimini baskıladığı ve *Xenopus* iribaşlarında çeşitli tipte yapısal bozuklukların ortaya çıktığı belirtilmiştir. *Danio rerio* (zebra balığı) embriyolarının Reactive Blue 203 (RB203) ve Maxillon Blue 5G (MB5G) tekstil boyaları ile 96 saat muameleye tabi tutulması sonucunda oluşan toksik/genotoksik etkilerin incelendiği araştırmaya göre, her iki boya da genotoksik etkili bulunmuş ve ergin bireylerde mikroftalmi, perikardiyal ödem ve kavisli vücut yapısı gibi gelişimsel anomaliler oluşmuştur. Köktürk *et al.* (2021)’a göre, RB203 maruziyeti sonrasında beyinde 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG9) ekspresyonundaki artışa bağlı olarak

oksidatif stres de gözlenmiştir. Oksidatif stres ise canlılarda DNA hasarına, bu da mutasyon ve hatta ömür uzunluğunda kısalmaya ve ölüme sebep olmaktadır.

Hem prokaryotik hem de ökaryotik canlılar için boyarmaddelerden kaynaklanan bu tip riskli durumlar, tekstil iş kolunda çalışan insanlarda da solunum yolu hastalıkları şeklinde kendini göstermektedir. Ayrıca ikinci deri olarak kabul edilen giysilerimizin ve ev mobilyalarımızın çoğu sentetik boyalarla renklendirildiği için, sürekli temas halinde olduğumuz boyaların deri yoluyla canlı sisteme nüfus edebilmesi bu boyalara ait olası toksik etkilerin olabileceğini de akıllara getirmektedir. Bu iş kolunda çalışan kişilerde özellikle solunum yolu hastalıklarından olan mesleki astım ve endüstriyel kronik bronşit olgularına sıklıkla rastlanılmaktadır. Tekstil iş kolunda özellikle boya üretimi ve kullanımı olan iş yerleri, astım açısından yüksek riskli yerler olarak değerlendirilmektedir (Araujo and Monteiro 2005). Tekstil boya sanayisinde çalışan 135 işçinin akut ve kronik solunum şikayetleri nedeniyle akciğer fonksiyonları incelenmiş ve hastaların tümünde boyaya maruz kalınan doz ve süreye bağlı olarak akut ve kronik solunum bozukluklarının geliştiği, dispne (nefes darlığı) ve rinit (burun içi mukozanın inflamasyonu (iltihaplanması) görülme sıklığının arttığı ayrıca akciğer ventilasyon kapasitesinin (bir dakikada alınan hava miktarı) de azaldığı tespit edilmiştir (Zuskin *et al.* 1997). Hindistan'ın Sanganer kasabasında tekstil endüstrisinde çalışanların klinik incelemesinin yapıldığı bir başka araştırmada da tüberküloz, kronik bronşit, astım, mesane kanseri, kontakt dermatit ve gözlerde tahriş rapor edilmiştir (Mathur *et al.* 2005).

Sunulan bu tez çalışmasında tüm boyarmadde uygulama gruplarında artan konsantrasyona bağlı olarak mutant klonların da arttığı gözlenmiştir. Daha önce yapılan pek çok araştırmanın sonuçları, boyarmaddelerin oksidatif stresi artırdığı yönünde bilgiler vermektedir. Son zamanlarda sıklıkla telafuz edilen oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT) artışı ile birlikte biyolojik sistemin reaktif ara maddeleri detoksifiye etme veya ortaya çıkan hasarı onarma yeteneği arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Oksidatif strese sebep olan süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, ozon, oksijen, nitrik oksit, hipoklorit, perksil radikali, hidroperoksit, bakır ve demir iyonları gibi ROT'lar tüm canlılarda öncelikli olarak hücrelerin bozulmasına sebep olmaktadır. Organizma kronik olarak bu tip radikallerden kaynaklanan strese maruz kaldığı zaman, vücutta uzun vadede doku hasarları ve buna bağlı hastalıklar görülebilmektedir. Özellikle insanlarda kas, kalp, damarlar, beyin, cilt gibi organ ve dokularda, romatizmal, pulmoner, sindirim, kardiyovasküler, diyabet, böbrek yetmezliği ve kanser gibi hastalıklar ile Parkinson, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkları da teşvik edici olarak ifade edilmektedir. Bahsedilen tüm hastalıklar için farklı klinik bulgulara sebep olabilen oksidatif stres, vücutta serbest radikallerdeki artış veya antioksidanlardaki

azalma nedeniyle hücrelerde bir dengesizlik durumu olarak da tanımlanabilmektedir. Serbest radikaller ise birçok fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar ya da normal hücre metabolizması sırasında oluşabilen, eşleşmemiş bir elektronu bulunan protein, lipid ve nükleik asit gibi önemli organik molekülleri tahrip edecek reaksiyonları başlatabilecek kararsız reaktif moleküllerdir. Vücuttaki miktarı, antioksidanlardan daha fazla düzeye yükselirse organik maddelerin yıkım süreci başlayacaktır. Özellikle sigara, enfeksiyon, iltihabi durumlar, stres, uykusuzluk, UV ışınlarına maruz kalma, kirlilik, alkol ve sağlıksız besinler serbest radikallerin oluşumunu ve miktarını artırmaktadır.

Tez çalışmamız sırasında sentetik boyarmaddelerin (SBNNX, SBXFDL, RB19, RB5/SBB, SR3BF, SNBBF) artan dozları ile uygulama grupları oluşturulmuştur (Tablo 8-13). Elde edilen SMART bulguları, tüm boyarmaddelerin artan konsantrasyona (150, 300 ve 450 ppm) bağlı olarak mutant klon frekansını artırdığını göstermiştir. Materyal ve metot kısmında da değinildiği gibi tüm çalışmalarımız süresince *Drosophila* kültürlerine ait SDB içeriği, ısı ve bağıl nem sabit tutulmuştur. Çevresel kirletici toksikantlardan birisi olan boyarmaddeler ise *D.melanogaster* için hazırlanan besiyerindeki tek değişkendir. Bu nedenle KTT, BTT ve ikiz klon gibi mutant klonların oluşumundaki artışı, besiyeri ortamındaki tek değişken olan boyarmaddelere atfetmek mümkündür. Ayrıca yine bu maddelere bağlı olarak hücresel düzeyde oksidatif stresin ve strese sebep olan ROT'ların artacağı kuvvetle muhtemeldir. Tüm bu muhtemel artışların hücresel düzeydeki göstergesi ise “sunulan tez çalışmasındaki klastojenik hatalara/kromozomal aberasyonlara dayalı olarak somatik mutasyonların uyarılması ve KTT, BTT ve ikiz klon gibi mutant klon frekanslarının en yüksek uygulama gruplarında hem diğer uygulama gruplarına hem de kontrol grubuna göre artış göstermesidir” diyebiliriz (Tablo 7-13). SMART sonucu gözlenen KTT ve BTT gibi tek tip klonlar DNA’da transisyonel, transversiyonel, insersiyonel veya delesyon tipi nokta mutasyonlarla, delesyon, translokasyon, kromozom kaybı ya da ayrılmaması gibi klastojenik etkiler ve mitotik rekombinasyonlarla, ikiz klonlar ise sadece üçüncü otozomun sentromeri ve *flr³* geni arasındaki mitotik rekombinasyon ile oluşmaktadır (Graf *et al.* 1998). Sentetik tekstil boyalarına maruz kalan trans heterozigot larvalardan elde edilen ergin *Drosophila*’nın kanat yapısındaki klonlarda oluşan farklılıklar, oksidatif stres sonucu indüklenen somatik mutasyonların fenotipe yansımalarıdır.

Rai *et al.* (2005)’a göre, Dispers Blue 291 boyası DNA’da insersiyon veya delesyona sebep olarak genetik kodda hata oluşturmaktadır. Rai *et al.* (2005)’ın bu çalışması, uygulama gruplarında kullanmış olduğumuz altı farklı tekstil boyasının somatik hücrelerde meydana getirdiği oksidatif strese dayalı hasarların, DNA yapısında değişikliklere neden olabileceği ve bunun da mutant klon oluşumunu indüklediği görüşümüzü desteklemektedir. Somatik

hücrelerde mitoz bölünme esnasında kromozomlar birbirinden bağımsız olarak replike olurlar ve mitoz bölünmede rekombinasyon beklenilmeyen/görülmeyen bir durumdur. Ancak çeşitli toksikantlara bağlı olarak somatik hücrelerde meydana gelen mitotik rekombinasyon, hem tek tip klonların (BTT ve KTT) hem de ikiz klonların oluşumuna yol açmaktadır. Mutant klonların oluşumu da tarafımızdan “tekstil boyalarının hem mutajenik hem de rekombinojenik olduğunun göstergesi” olarak kabul edilmektedir. Ayrıca Graf *et al.* (1998)’a göre, somatik mutasyonlar hücre bölünmelerinin yoğun olduğu erken embriyonal evrelerde gerçekleşirse mutant hücrelerin sayısı da artmaktadır. Uygulamalardan elde ettiğimiz veriler, Graf *et al.* (1998)’ın bu görüşüyle uyumludur ve tekstil boyalarının artan dozları ile benek sayısı arasında pozitif bir korelasyon olduğu Tablo 8-13’de görülmektedir. Kullanılan boyaların genotoksitesisi içinde belirlenen dominansi sırası SBNNX > SBXFDL > RB19 > SR3BF > SNBBF > RB5/SBB şeklindedir.

Somatik mutasyonların meydana gelmiş olması o nesil ve o nesildeki bireylerle sınırlı olsa bile TP53 geninin de mutasyona uğramış olabileceği kuvvetle muhtemeldir. Çünkü bu gen, tümör proteini p53 adı verilen bir proteinin sentezlenmesi için kodlanmıştır. p53 proteini de bir tümör baskılayıcı (supressor) olarak işlevseldir ve hücrelerin büyümesini ve çok hızlı çoğalmasını kontrol altında tutar/engeller. p53 proteini, doğrudan DNA’ya bağlı olarak iş gördüğü için “DNA’nın koruyucusu, genomun gardiyanı” olarak da tanımlanmaktadır. Bir hücredeki DNA, herhangi toksik, karsinojenik ya da mutajenik ajanlardan zarar görürse bu gen ve genin ürünü olan protein, DNA’nın tamir edileceğini veya hasar gören hücrenin programlı hücre ölümüne (apoptoz) gidip gitmeyeceğini belirler. Ayrıca mutasyona uğramış ya da hasar gören DNA’nın bölünmesini de engelleyerek tümör gelişimini önlemeye yardımcı olur. Ancak tekstil boyalarına ait parçalanma ürünlerinin Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından toksik ve kanserojenik olarak tanımlanmış olması ve bu boyalar ile yapılan farklı çalışmalarda mutasyonların tetiklediğinin ifade edilmesi ve kendi tez çalışmamızda da somatik mutasyonların gözlenmiş olması bize TP53 geninin de etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Literatür bilgileri doğrultusunda daha önce yapılan araştırmaların ve kendi çalışmalarımızdan elde ettiğimiz sonuçların ışığında şunu söyleyebiliriz ki en fazla boyarmadde atıklarına sahip olan tekstil endüstrisine ait tesislerin ilk kuruluşu aşamasında günümüz teknolojileri ile donatılmış arıtma sistemlerine sahip olması gerek şarttır. Bu gereklilik, sonradan arıtma/filtreleme sistemleri yapılması için hem kurulumlarından hem de farklı devlet kuruluşları tarafından müeyyide uygulanmasından daha kolay görünmektedir. Çünkü hem ekilebilir tarıma elverişli arazilerin hem de sağlıklı, temiz ve kullanılabilir su kaynaklarının

büyük ölçüde azaldığı günümüzde, atık sulardan kirleticilerin giderilerek kullanılabilir suların elde edilmesi oldukça önemli bir konudur. Son yıllarda özellikle gelişmiş ülkeler hem sanayileşmek hem de çevreyi korumak adına tedbirlerini daha da artırmaktadırlar. Yapılan bilimsel çalışmalar, tekstil sanayisinde kullanılan boyaların, yardımcı kimyasalların, ağır metallerin, boya hızlandırıcılar ve dioksinlerin (Altun Çolak and Uysal 2018) canlılar üzerinde toksik, karsinojenik ve mutajenik etkiler yarattığını göstermektedir. Özellikle tekstil liflerinin boyanmasında kullanılan bazı sentetik boyalar indirgenerek amin gibi karsinojenik bileşiklerin oluşmasına neden olmaktadır. Tüm bu olumsuz durumlara rağmen günümüzde tekstil piyasası, dünyanın her alanında en çok ihtiyaç duyulan sektörlerden biri olarak yerini korumaktadır. Maalesef bu anlamda da çevreyi en çok kirleten ve alıcı ortamlarda giderimi son derece güç olan çevresel atıkların oluşmasına sebep olan bu sektör florayı, faunayı, sucul ve karasal ekosistemleri etkilemektedir.

Bize miras olarak kalan dünyayı korumak, bu mirasa sahip çıkabilmek, Dünya'nın gittikçe artan sessiz çılgınlıklarını duyabilmek bizlerin en önemli görevleri arasındadır. Bu yüzden Dünya da sürdürülebilirliğin sağlanması, kendi ihtiyaçlarımızı karşılarken gelecek nesillerin ihtiyaçlarını karşılama fırsatlarını ortadan kaldırmamaktır. Sürdürülebilir teknoloji, doğal kaynakları gözetken, ekonomik ve sosyal kalkınmayı teşvik eden modern teknolojileri tanımlayan bir terimdir. Bu teknolojilerin amacı, çevresel ve ekolojik riskleri büyük ölçüde azaltmak, ekolojik bütünlüğü korunmak, dünyanın doğal sistemlerinin dengede tutulması ve içindeki doğal kaynakların insanlar tarafından kendilerini yenileyebilecekleri oranda tüketilmesine katkıda bulunabilmektir.

KAYNAKLAR

- Adamo, R. D., Pelosi, S., Trotta, P. and Sansone, G., 1997. Bioaccumulation and biomagnification of PAHs in aquatic organisms. *Marine Chemistry*, 56, 45- 49.
- Akcha, F., Izuel, C., Venier, P., Budzinski, H., Burgeot, T. and Narbonne, J., 2000. Enzymatic biomarker measurement and study of DNA adduct formation in benzo[a]pyrene-contaminated mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, 49, 269- 287.
- Aksu, Z., 2003. Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry*, 38 (10), 1437-1444.
- Alem, N., 2007. Askorbik Asidin Hücre Yaşlanması Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Al-Sabti, K., 2000. Chlorotriazine reactive azo red 120 textile dye induces micronuclei in fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47, 149-155.
- Altun Çolak, D. and Uysal, H., 2018. Evaluation of the lifespan of fruit fly *Drosophila melanogaster* exposed to dioxins. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tarım ve Doğa Dergisi*, 21 (5), 715-724.
- Anliker, R., 1979. Ecotoxicology of dyestuff a joint effort by industry. *Ecotoxicology Safety*, 3, 59- 74.
- Apohan, E. ve Yeşilada, Ö., 2005. Role of white rot fungus *Funalia troglia* in detoxification of textile dyes. *Journal of Basic Microbiology*, 45, 99- 105.
- Araújo, A. S. F. and Monteiro, R. T. R., 2005. Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost. *Scientia Agricola*, 62 (3), 286-290.
- Aspland, J. R., 1993. The structure and properties of disperse dyes and related topics. *Textile Chemist and Colorist*, 25 (1), 21-25.
- Atik, H. A., 2001. Pamuklu dokuma sektör araştırması. Türkiye Kalkınma Bankası A.Ş. Araştırma Müdürlüğü, Ankara.
- Başer, İ. ve İnanıcı, Y., 1990. Boyarmadde Kimyası. Marmara Üniversitesi, Teknik Eğitim Fakültesi, 482 (2), İstanbul.
- Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gürsel, B. Ş. ve Alvr, M., 2004. DNA hasarı analizinde μ -FADU ve comet yöntemlerinin karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2 (3), 97-103.
- Bernards, A. and Hariharan, I. K., 2001. Of flies and men—studying human disease in *Drosophila*. *Current Opinion in Genetics Development*, 11 (3), 274-278.
- Beydilli, M. I., Pavlostathis, S. G. and Tincher, W. C., 1998. Decolorization and toxicity screening of selected reactive azo dyes under methanogenic conditions. *Water Science and Technology*, 38 (4-5), 225-232.
- Birhanlı, A. and Özmen, M., 2005. Evaluation of the toxicity and teratogenicity of six commercial textile dyes using the frog embryo teratogenesis assay—*Xenopus*. *Drug and Chemical Toxicology*, 28 (1), 51-65.
- Bishop, N. A. and Guarente, L., 2007. Genetic Links Between Diet And Lifespan: Shared Mechanism From Yeast to Humans. *Nature*, 8, 835-844.

- Brown, S. C., Alberts, R. and Schoenberg, M., 2011. Cancer incidence and mortality among workers exposed to benzidine. *American Journal of Industrial Medicine*, 54 (4), 300-306.
- Can, M. İ. and Aslan A., 2014. Yaşlanmanın moleküler temelleri. *Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fen Bilimleri Dergisi*, 30 (2), 107-112.
- Carmen, Z. and Daniela, S., 2012. Textile organic dyes-characteristics, polluting effects and separation/elimination procedures from industrial effluents-a critical overview (pp. 55-86). *IntechOpen*.
- Carter, A. J. and Nguyen, A. Q., 2011. Antagonistic pleiotropy as a widespread mechanism for the maintenance of polymorphic disease alleles. *BMC Medical Genetics*, 12 (1), 1-13.
- Cartwright, R. A., 1983. Historical and modern epidemiological studies on populations exposed to N- substituted aryl compounds. *Environmental Health Perspective*, 49, 13-19.
- Chen, M. H. C., Hsu, L. C., Wu, J. L., Yeh, C. W., Tsai, J. N., Hseu, Y. C. and Hsu, L. S., 2014. Exposure to benzidine caused apoptosis and malformation of telencephalon region in zebrafish. *Environmental Toxicology*, 29 (12), 1428-1436.
- Chequer, F. M. D., Oliveira, G. A. R. De, Ferraz, E. R. A., Cardoso, J. C., Zanoni, M. V. B. and Oliveira, D. P. De., 2013. Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact. *Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing*, 151-176.
- Chien, S., Reiter, L. T., Bier, E. and Gribskov, M., 2002. Homophila: human disease gene cognates in *Drosophila*. *Nucleic Acids Research*, 30 (1): 149-151.
- Ching Chen, S., Hseu, Y. C., Sung, J. C., Chen, C. H., Chen, L. C. and Chung, K. T., 2011. Induction of DNA damage signaling genes in benzidine-treated HepG2 cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 52 (8), 664-672.
- Choudhary, G., 1996. Human health perspectives on environmental exposure to benzidine: a review. *Chemosphere*, 32 (2), 267-291.
- Choy, W. N., 2001. *Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment*. CRC Press.
- Chung, K. T., 2016. Azo dyes and human health: a review. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 34 (4), 233-261.
- Croce, R., Cinà, F., Lombardo, A., Crispeyn, G., Cappelli, C. I., Vian, M., Maiorana, S., Benfenati, E. and Baderna, D. 2017. Aquatic toxicity of several textile dye formulations: acute and chronic assays with *Daphnia magna* and *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 79-87.
- Curtis, B. A., 1966. Ca fluxes in single twitch muscle fibers. *The Journal of General Physiology*, 50 (2), 255-267.
- Çelekli, A., Atmaca, M. Y. ve Bozkurt, H., 2009. Reaktif sarı 81 boyasının sulu ortamdan *spirogyra majuscula* ile uzaklaştırılması; kinetik ve denge modellenmesi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2 (2), 59-69
- Das, L., Das, S. K., Hooberman, B. H., Chu, E. H. and Sinsheimer, J. E., 1994. Chromosomal aberrations in mouse lymphocytes exposed *in vitro* and *in vivo* to benzidine and 5 related aromatic amines. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 320 (1-2), 69-74.
- de Oliveira, G. A. R., de Lapuente, J., Teixidó, E., Porredón, C., Borràs, M. and de Oliveira, D. P., 2016. Textile dyes induce toxicity on zebrafish early life stages. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35 (2), 429-434.

- de Oliveira, G. A. R., Leme, D. M., de Lapuente, J., Brito, L. B., Porredón, C., de Brito Rodrigues, L., Brull, N., Serret, J. T., Borrás, M., Disner, G. R., Cestari, M. M. and de Oliveira, D. P., 2018. A test battery for assessing the ecotoxic effects of textile dyes. *Chemico-Biological Interactions*, 291, 171-179.
- Desai, N., Sabanegh, J. E., Kim, T. and Agarwal, A., 2010. Free radical theory of aging: implications in male infertility. *Urology*, 75 (1), 14-19.
- Ekinci, İ., 2007. Bir tekstil boyası olan poly r-478'in streptomisetler ile renk giderimi. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.
- Eroğlu, Doğan, E., 2002. Bazı Astrazon Grubu Tekstil Boyalarının Genotoksik Etkisinin *Drosophila melanogaster* Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Ferbeyre, G. and Lowe, S. W., 2002. The price of tumour suppression?. *Nature*, 415 (6867), 26-7.
- Frei, H. and Würgler, F. E., 1988. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive result. *Mutation Research*, 203, 297-308.
- 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.
- Gottlieb, A., Shaw, C., Smith, A., Wheatley, A. and Forsyth E. S., 2003. The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation, *Journal of Biotechnology*, 101, 49- 56.
- Graf, U. and Wurgler, F. E., 1996. The somatic white-ivory eye spot does not detect the same spectrum of genotoxic events as the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 27, 219-226.
- Graf, U., Abraham, S. K., Guzmán-Rincón, J. and Wurgler, F. E., 1998. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 402 (1-2), 203-209.
- Graf, U., Würgler, F. E., Katz, A. J., Frei, H., Juon, H., Hall, C. B. and Kale, P. G., 1984. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental Mutagenesis*, 6 (2), 153-188.
- Grau, P., 1991. Textile industry wastewaters treatment. *Water Science and Technology*, 24, 97-103.
- Guzman-Rincon, J. and Graf, U., 1995. *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor. *Environmental Science Research*, 50, 169-182.
- Gülmez, C., 2014. Vitamin B12, Folik Asit, Tiroid Hormonları ve Antioksidan/Oksidan Sistemin Yaşla İlişkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Gün, F., 2009. Tekstilde Boyamanın Antimikrobik Özellik Üzerine Etkisinin Araştırılması. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri.
- Gürcüm, B. H. ve Öneş, A., 2018. Bakteri ve mikroalglerin tekstil boyacılığında ve baskıcılığında kullanım olanakları. *İdil Sanat ve Dil Dergisi*, 46, 701-709.

- Hemann, M. T., Strong, M. A., Hao, L. Y. and Greider, C. W., 2001. The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. *Cell*, 107 (1), 67-77.
- Hendrickx, I. and Boardman, G. D., 1995. Pollution Prevention Studies in the Textile Wet Processing Industry (Unpublished Master's Thesis). Blacksburg, Virginia
- Hernández-Zamora, M. and Martínez-Jerónimo, F., 2019. Congo red dye diversely affects organisms of different trophic levels: a comparative study with microalgae, cladocerans, and zebrafish embryos. *Environmental Science and Pollution Research*, 26 (12), 11743-11755.
- Houk, V. S., 1992. The genotoxicity of industrial wastes and effluents: a review. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 277 (2), 91-138.
- <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=27026>.
- Hunger, K., 2003. Industrial Dyes. Wiley-VCH, Verlag, 1-6.
- Jager, I., Hafner, C. and Schneider, K., 2004. Mutagenity of different textile dye products in *Salmonella typhimurium* and mouse lymphoma cells. *Mutation Research*, 561, 35- 44.
- Jena, G. B., Kaul, C. L. and Ramarao, P., 2002. Genotoxicity testing, a regulatory requirement for drug discovery and development: impact of ICH guidelines. *Indian Journal of Pharmacology*, 34 (2), 86-99.
- Kant, R., 2012. Textile dyeing industry an environmental hazard. *Natural Science* 4 (1), 22-26.
- Karabulut, H. ve Gülay M. Ş., 2016. Serbest radikaller. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 4 (1).
- Karadağ R., 2007. Doğal Boyamacılık. TC Kültür ve Turizm Bakanlığı, Geleneksel El Sanatları Döner Sermaye İşletmesi Merkez Müdürlüğü, Ankara.
- Kaya, A., 2007. Bazı tekstil boyalarının *Phaseolus vulgaris* L. Cv. *Gina* (Fasulye) bitkisinde peroksidaz aktivitesi, lipid peroksidasyonu ve pigment sistemi üzerine etkileri. Yüksek Lisans tezi, İnönü üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Malatya.
- Khan, I. T. and Jain, V., 1995. Effect of textile industry wastewater on growth and some biochemical parameters of *Triticum aestivum*. *Journal of Environmental Pollution*, 2, 97-102.
- Kılınç, A. ve Kılınç, K., 2003. Nitrik Oksit: Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. Palme Yayınları.
- Kızılet, H. ve Uysal, H., 2012. Ergin *Drosophila*'nın ömür uzunluğunda kronik zeralenon alımına bağlı olarak toksisitenin uyarılması. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 43 (1), 1-5.
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U. and Decordier, I., 2003. Indirect mechanisms of genotoxicity. *Toxicology Letters*, 140, 63-74.
- Koçak G., 2011. *Bacillus subtilis* ile reaktif black 5 boyar maddesinin renk giderim kinetiğinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Köktürk, M., Altındağ, F., Ozhan, G., Çalimli, M. H. and Nas, M. S., 2021. Textile dyes Maxilon blue 5G and Reactive blue 203 induce acute toxicity and DNA damage during embryonic development of *Danio rerio*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 242, 108947.

- Kurbanova, R., Okudan, A., Mirzaoglu, R., Kurbanov, S., Karatas, I., Ersöz, M., Özcan, E., Ahmedova, G. and Pamuk, V., 1998. Effects of the functional groups of polystyrene on its adhesion improvement and corrosion resistance. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 12 (9), 947-955.
- Kyoizumi, S., Akiyama, M., Köln, J.B., Tanabe, K., Nakamura, N., Awa, A.A., Hirai, Y., Kusunoki, Y. and Umeki, S., 1996. Somatic cell mutations at the glycophorin a locus in erythrocytes of atomic bomb survivors: implications for radiation carcinogenesis. *Radiation Research*, 146, 43-52.
- Lazarow, A., Trattner, A., David, M. and Ingbe, A., 2000. Textile dermatitis in Israel: a retrospective study. *American Journal of Contact Dermatitis*, 11 (1), 26-29.
- Lentz, S., Eversole, R., McHugh Law, J. and Means, J. C., 2010. Cellular proliferation, cell death, and liver histology in *Gambusia affinis* after dietary exposure to benzidine and 2-Aminofluorene. *International Journal of Toxicology*, 29(3), 247-258.
- Mahamuni, N. N. and Adewuyi, Y. G., 2010. Advanced oxidation processes (AOPs) involving ultrasound for waste water treatment: a review with emphasis on cost estimation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17 (6), 990-1003.
- Marwari, R. and Khan, T. I., 2012. Effect of textile waste water on tomato plant, *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Environmental Biology*, 33 (5), 849.
- Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P. V., Decordier, I. and Kirsch-Volders, M., 2006. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, 88 (11), 1515-1531.
- Mathur, N., Bhatnagar, P., Nagar, P. and Bijarnia, M. K., 2005. Mutagenicity assessment of effluents from textile/dye industries of Sanganer, Jaipur (India): A case study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61 (1), 105-113.
- McKay, G., 1984. Two-Resistance mass transfer models for the adsorption of dyestuffs from solutions using activated carbon. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 34 (A), 294- 310.
- Mercimek, H.A., 2007. *Trametes versicolor'* in tekstil boyalarının gideriminde kullanım olanakları. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana.
- Mert, H., Doğan, Y. ve Başlar, S., 1992. Doğal boya eldesinde kullanılan bazı bitkiler. *Ekoloji*, 5, 14-17.
- Minciullo, P. L., Catalano, A., Mandraffino, G., Casciaro, M., Crucitti, A., Maltese, G., Morabito, N., Lasco, A., Gangemi, S. and Basile, G., 2016. Inflammaging and anti-Inflammaging: The role of cytokines in extreme longevity. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 64 (2), 111–126.
- Mishra, A. and Bajpai, M., 2005. Flocculation behaviour of model textile wastewater treated with a food grade polysaccharide. *Journal of Hazardous Materials* 118 (1-3), 213-217.
- Morgan, D. L., Dunnick, J. K., Goehl, T., Jokinen, M. P., Matthews, H. B., Zeiger, E. and Mennear, J. H., 1994. Summary of the National Toxicology Program benzidine dye initiative. *Environmental Health Perspectives*, 102 (2), 63-78.
- Mortelmans, K. and Rupa, D. S., 2004. Current Issues in Genetic Toxicology Testing for Microbiologists. *Advances in Applied Microbiology*, 56 (3), 379-397.
- Murugesan A. G. and Haniffa M. A., 1992. Histopathological and histochemical changes in the oocytes of the air-breathing fish *Heteropneustes Fossilis* (bloch) exposed to textile- mill effluent. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 48, 929-936.

- Muthukumar, M., Sargunamani, D., Senthilkumar, M. and Selvakumar N., 2005. Studies on decolouration, toxicity and the possibility for recycling of acid dye effluents using ozone treatment. *Dyes and Pigments*, 64, 39- 44.
- Nalbant, S., 2006. Yaşlanmanın biyolojisi. *Türk Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Dergisi*, 52, 12-17.
- Nielsen, M. H. and Rank, J., 1994. Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the *Allium* test. *Hereditas*, 121, 249- 254.
- Nouren, S., Bhatti, H. N., Iqbal, M., Bibi, I., Kamal, S., Sadaf, S., Sultan, M., Kausar, A. and Safa, Y. 2017. By-product identification and phytotoxicity of biodegraded Direct Yellow 4 dye. *Chemosphere*, 169, 474-484.
- Novotný, Č., Dias, N., Kapanen, A., Malachová, K., Vandrovcová, M., Itävaara, M. and Lima, N., 2006. Comparative use of bacterial, algal and protozoan tests to study toxicity of azo-and anthraquinone dyes. *Chemosphere*, 63 (9), 1436-1442.
- Olaharski, A. J., Sotelo, R., Solorza-Luna, G., Gonsebatt, M. E., Guzman, P., Mohar, A. and Eastmond, D. A., 2006. Tetraploidy and chromosomal instability are early events during cervical carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 27 (2), 337-343.
- Oliveira, H. C., Garcia, R., de Almeida, V. V. S., Oliveira, A. C., Pires, A. J. V., Nascimento, C. S., Veloso, C. M., Silva, R. R. and Oliveira, U. L. C., 2016. Feeding behavior of lambs fed castor meal. *Semina:Ciencias Agrarias*, 37 (3), 1451-1460.
- Olovnikov, A. M., 1996. Telomeres, telomerase, and aging: origin of the theory. *Experimental Gerontology*, 31 (4), 443-448.
- Oota, S., 2020. Somatic mutations-evolution within the individual. *Methods*, 176, 91-98.
- Ölmez, T., 1999. Tekstil Endüstrisinde Reaktif Boya Banyolarında Ozon ile Renk Giderimi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Önal, A., 2000. Doğal boyarmaddeler (Ekstraksiyon-Boyama) ders notları. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları, 7, 1-4.
- Özata, L., 2006. Bazı Tekstil Boyalarının *Drosophila melanogaster* Üzerine Toksik ve Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Özcan, Y. ve Ulusoy, E., 1984. Tekstil Elyaf ve Boyama Tekniği. İstanbul Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Fatih Yayınevi Matbaası, 1-123, İstanbul.
- Öztürk E. and Uysal H., 2021. Investigation of *in vivo* biotoxic effects of synacryl black xfdl textile dye on larval viability and longevity in male and male populations in *Drosophila melanogaster* Oregon-R. 3rd International Symposium on Biodiversity Research ISBR 2021, Erzurum, Turkey pp.1-2.
- Öztürk E. and Uysal H., 2022. The effects of superfix navy blue bf (snbbf) synthetic textile dye on larval viability and longevity in *Drosophila melanogaster* Oregon-R wild strain. 6th International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences 11-13 October 2022, Ağrı/Türkiye International, Interdisciplinary, Online , Ağrı, Turkey, pp.67.
- Peters, L. D. and Telli-Karakoç, F., Hewer, A., Phillips, D. H., 2002. *In vitro* mechanistic differences in benzo[a]pyrene-DNA adduct formation using fish liver and mussel digestive gland microsomal activating systems. *Marine Environment Research*, 54 (3-5), 499- 503.

- Pratt, M. and Taraksa V., 2000. Disperse blue dyes 106 and 124 are common causes of textile dermatitis and should serve as screening allergens for this condition. *American Journal of Contact Dermatitis*, 11, 30- 41.
- Preston, R. J., Au, W., Bender, M. A., Brewen, J. G., Carrano, A. V., Heddle, J. A., McFee, A. F., Wolff, S. and Wassom, J. S., 1981. Mammalian *in vivo* and *in vitro* cytogenetic assays: A Report of the US EPA's Gene-Toxicology Program. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 87 (2), 143-188.
- Rai, H. S., Bhattacharyya, M. S., Singh, J., Bansal, T. K., Vats, P. and Banerjee, U. C., 2005. Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: A review of emerging techniques with reference to biological treatment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 35 (3), 219-238.
- Raj, D. S., Prabha, R. J. and Leena, R., 2012. Analysis of bacterial degradation of azo dye congo red using HPLC. *Journal of Industrial Pollution*, 28(1), 57-62.
- Ramsey, M. J., Moore, D. H., Briner, J. F., Lee, D. A., Olsen, L. A., Senft, J. R. and Tucker, J. D., 1995. The effects of age and lifestyle factors on the accumulation of cytogenetic damage as measured by chromosome painting. *Mutation Research/DNAging*, 338 (1-6), 95-106.
- Rawat, D., Sharma, R. S., Karmakar, S., Arora, L. S. and Mishra, V., 2018. Ecotoxic potential of a presumably non-toxic azo dye. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 528-537.
- Schaik, V. N. and Graf, U., 1991. Genotoxicity evaluation of five tricyclic antidepressant in the wing somatic mutation and recombination test in *D. melanogaster*. *Mutation Research*, 260, 99-104.
- Schneider, K., Hafner, C. and Jäger, I., 2004. Mutagenicity of textile dye products. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 24(2), 83-91.
- Seventekin, N., 1988. Boyarmadde Kimyasına Giriş. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İzmir. 78, 125.
- Sharma, M. K. and Sobti, R. C., 2000. Rec effect of certain textile dyes in *Bacillus subtilis*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 465(1-2), 27-38.
- Shukla, S. P., and Gupta, G. S., 1992. Toxic effects of omega chrome red me and its treatment by adsorption. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 24 (2), 155-163.
- Singh, R. L., Khanna, S. K. and Singh, G. B., 1987. Acute and short-term toxicity studies on orange II. *Veterinary and Human Toxicology*, 29(4), 300-304.
- Slijepcevic, P., 2006. The role of DNA damage response proteins at telomeres an “integrative” model. *DNA Repair*, 5 (11), 1299-1306.
- Soyuer F. ve Soyuer A., 2008. Yaşlılık ve Fiziksel Aktivite. İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dergisi, 15 (3), 219-224.
- Sugimori, D., Banzawa, R., Kurozumi, M. and Okura, I., 1998. Removal of disperse dyes by the fungus *Cunninghamella polymorpha*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 87 (2), 252- 254.
- Sumathi, M., Kalaiselvi, K., Palanivel, M. and Rajaguru, P., 2001. Genotoxicity of textile dye effluent on fish (*Cyprinus carpio*) measured using the comet assay. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 66 (3), 407-414.

- Szabad, J., Soos, I., Polgar, G. and Hejia, G., 1983. Testing the mutagenicity of malondialdehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mozaik and the sex-linked recessive letal test. *Mutation Research*, 113, 117-133.
- Şahin, N., ve Türkoğlu, Ş., 2014. Bazı tekstil boyalarının *Drosophila melanogaster*'de ömür uzunluğu, yaşama yüzdesi ve yavru birey sayısına etkileri. *Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Fen Bilimleri Dergisi*, 35 (4), 73-93.
- Şekeroğlu, Z. A. ve Şekeroğlu, V., 2011. Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4 (3), 221-229.
- Şen, S. and Demirel, G.N., 2003. Anaerobic treatment of real textile wastewater with a fluidized bed reactor, *Water Research*, 37, 1868- 1878.
- Şenel, M., 2006. Suggestions for Beautifying the Pronunciation of EFL Learners in Turkey. *Journal of Language and Linguistic Studies* 2, 111-125.
- Şenel, U., Sur, H. I. ve Demirtaş, M., 2012. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Bazı Sentetik Reaktif Boyarmaddelerin Mutajenik Etkisinin Umu-Test İle Araştırılması. *Ekoloji*, 21 (85), 49-56.
- Troen, B. R., 2003. The biology of aging. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, 70 (1), 3-22.
- Tutak, M. ve Benli, H., 2008. Bazı bitkilerden elde edilen doğal boyar maddelerin yünü boyama özelliğinin incelenmesi. *Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2, 53-59.
- Tümerdem, Y., 2006. Gerçek yaş (Real age). *Turkish Journal of Geriatrics*, 9 (3), 195-196.
- Tünay, O., Kabdaslı, I., Eremektar, G. and Orhon, D., 1996. Color removal from textile wastewaters. *Water Science and Technology*, 34(11), 9-16.
- Uysal, H., Genç, S. and Ayar, A., 2017. Toxic Effects of Chronic Feeding with Food Azo Dyes on *Drosophila melanogaster* Oregon R. *Scientia Iranica*, 24 (6), 3081-3086.
- Uysal, H., Şişman, T. ve Aşkın, H. 2006. *Drosophila* Biyolojisi ve Çaprazlama Yöntemleri. Erzurum, Türkiye, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 53 pp. ISBN:975-442-111-0.
- Uzal, N., Yılmaz, L. ve Yetiş, Ü., 2005. İndigo boyama atıklarının ön arıtımı: kimyasal çöktürme ön filtrasyon süreçlerinin karşılaştırılması. 6. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi, 429- 437.
- Uzunoglu, H., 2010. Tekstil sektöründe çevre akımı. *Ekolojik tekstil, Arge Bülten*.
- Varjani, S., Rakholiya, P., Ng, H. Y., You, S. and Teixeira, J. A., 2020. Microbial degradation of dyes: An overview. *Bioresource Technology*, 123728.
- Vogel, E. W., 1992. Tests for recombinagens in somatic cells of *Drosophila*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 284 (1), 159-175.
- Wang, C., Yediler, A., Lienert, D., Wang, Z. and Kettrup, A., 2002. Toxicity evaluation of reactive dyestuffs, auxiliaries and selected effluents in textile finishing industry to luminescent bacteria *Vibrio fischeri*. *Chemosphere*, 46 (2), 339- 344.
- Weisburger, J., 2002. Comments on the history and importance of aromatic and heterocyclic amines in public health. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 506, 9-20.
- White, P.A., Rasmussen, J.B. and Blaise, C., 1996. Comparing the presence, potency and potential hazard of genotoxins extracted from a broad range of industrial effluents. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 27, 116-139.

- Wood, B. A., 2011. Wiley-Blackwell encyclopedia of human evolution. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Würgler, F.E. and Vogel, E.W., 1986. *In vivo* mutagenicity testing using somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Chemical Mutagens: Principle and Methods for Their Detection, Ed: Serres, F.J. Plenum Press, New York, 1-72.
- Yagub, M. T., Sen, T. K., Afroze, S. and Ang, H. M., 2014. Dye and its Removal from Aqueous Solution by Adsorption. A review Advances in Colloid and Interface Science, 209, 172.
- Zagal, A., 2008. Tekstil atık suyunun *Oreochromis niloticus*'da toksik etkisinin bazı antioksidan enzimler kullanılarak araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Zeiger E., 2004. History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal. Environmental and Molecular Mutagenesis, 44, 363-71.
- Zollinger, H., 1987. Color Chemistry: Syntheses, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments. 1st Edition, Weinheim, New York.
- Zollinger, H., 2003. Color Chemistry: Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments. 3rd Edition, Wiley-VCH, Cambridge..
- Zuskin, E., Mustajbegovic, J., Schachter, E. N. and Doko- Jelinic, J., 1997. Respiratory function of textile workers employed in dyeing cotton and wool fibers. American Journal of Industrial Medicine, 31 (3), 344-352.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Hatice ÇELİK
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Ilıca Çok Programlı Lisesi
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Ens., Biyoloji Anabilim Dalı
Tezden Üretilmiş Yayın	
Çelik, H., Uysal H., 2023. Endüstriyel amaçlı kullanılan bazı boyar maddelerin mutajenik etkilerinin Drosophila kanat benek testi ile in vivo olarak belirlenmesi. Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences Dergisi, 6(2), 94-103.	