

## ***Drosophila Melanogaster*'in Bazı Gelişimsel Özellikleri Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi**

Lütfiye GELEGEN, Elif YEŞİLADA

İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Malatya-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 12.05.1999

**Özet:** *D. melanogaster*'in yumurta verimi, larvaların hayatta kalışı ve eşey oranları üzerine kadmiyum nitratın etkisi araştırıldı. Bulgularımıza göre kadmiyum nitratın etkileri şöyle özetlenebilir. Kadmiyum nitrat gelişim dönemlerinde verildiğinde yumurta verimini etkilemedi. Diğer yandan ergin dönemde verilen kadmiyum nitrat, yumurta verimini konsantrasyon artışına bağlı olarak inhibe etti. İlave olarak, larvadan ergine gelişme oranının kadmiyum nitrat konsantrasyonunun artışı ile azaldığı bulundu.

Kadmiyum nitrat uygulaması *D. melanogaster*'in eşey oranını etkilemedi.

**Anahtar Sözcükler:** Kadmiyum nitrat, *D. melanogaster*, yumurta verimi, eşey-oranı, gelişim dönemleri.

### **The Effect of Cadmium Nitrate on Some Developmental Properties of *Drosophila Melanogaster***

**Abstract:** The effects of cadmium nitrate on the fecundity, larval survival and sex ratio of *D. melanogaster* were tested. According to our findings, the effects of cadmium nitrate can be summarized as follows: it appeared that when used as a feeding substance during the developmental period, cadmium nitrate did not have any effect on fecundity. On the other hand, if cadmium nitrate was given throughout adult life it caused a proportional decrease in the daily mean with increasing concentration. Furthermore, the larval survival ratio decreased due to the concentration of cadmium nitrate. Also cadmium nitrate application appeared to have no effect on the sex ratio of *D. melanogaster*.

**Key Words:** Cadmium nitrate, *D. melanogaster*, fecundity, sex ratio, developmental period.

### **Giriş**

Doğada metal kirliliği çeşitli kaynaklar nedeniyle olmaktadır (1-3). Bir çok metal, hava, su ve besinler ile organizmaya alınmaktadır (4). Organizmaya alınan metaller, metabolizma üzerindeki toksik etkilerini değişik yollarla yapabilmektedir. Örneğin, proteinlerle etkileşerek onların enzimatik ve yapısal fonksiyonlarını değiştirip inhibe edebilirler (5), temel elementlerin yerini alarak toksik etki gösterebilirler (6) ya da bazı toksik metaller, proteinlerle birleşerek intraselüler birikimlere neden olurlar (7).

Ağır metallerden biri olan kadmiyum, günümüzde çeşitli kullanım alanlarıyla ve çevre kirliliğindeki önemli rolü ile gündeme gelmiş oldukça toksik bir metaldir. Kadmiyumun böbrek ve karaciğer fonksiyon bozuklukları, kemik hastalıkları, enzim aktivitesi ve kan parametreleride değişikliklere neden olduğu, mutajenik, kanserojenik ve teratojenik etkilerinin olduğu belirtilmektedir (8-12).

Bu çalışmanın amacı, kadmiyum nitratın *D. melanogaster*'in yumurta verimi, larvanın ergine gelişme oranı ve eşey oranları üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

### **Materyal ve Metod**

Deneylerde *Drosophila melanogaster*'in Oregon R soyu kullanılmıştır. Bu soy uzun yıllardan beri kendileştirilerek laboratuvarımız koşullarına uyum sağlamış arı soy bir stoktur.

*Drosophila* stokları ve deneyler için laboratuvarımızda standart *Drosophila* besiyeri (13) kullanılmaktadır. Tüm deney sistemleri ve stoklar  $25\pm 1$  °C sıcaklık ve % 40-60 bağıl nem taşıyan sürekli karanlık koşullardaki bölümümüz insektoryumunda tutulmaktadır.

Çalışmalarda kadmiyum nitratın farklı konsantrasyonlarına sahip çözeltileri daha önce deneylerimize uyarladığımız şekilde besiyerine eklenerek kullanılmıştır (14).

Kontrol grubunda sadece standart *Drosophila* besiyeri kullanılmış ve bütün gruplarda çalışmalar eş zamanlı olarak yapılmıştır.

#### **Yumurta Veriminin Belirlenmesi**

Kadmiyum nitratlı besiyerinde sadece gelişim dönemlerini (yumurta, larva ve pupa) veya sadece ergin yaşamlarını geçiren dişilerin günlük ortama yumurta verimine bakılmıştır. Yumurta verimini bulmak için daha önce kendi koşullarımıza adapte ettiğimiz şekilde kaşık yöntemi kullanılmıştır (15, 16).

#### **Larvadan Ergine Gelişebilen Birey Sayısı ve Eşey Oranlarının Belirlenmesi**

Standart besiyerinde gelişen ergin bireylerden  $20\text{♀}\times 20\text{♂}$  yeni besiyerine alınmıştır ve bu bireylerin sekiz saat süreyle yumurtlaması beklenerek erginler boşaltılmıştır. Bu yumurtalardan gelişen  $72\pm 4$  saatlik larvalar farklı konsantrasyonlarda (0, 100, 300, 600, 900, 1600, 2800 ppm) kadmiyum nitrat içeren besiyerinin bulunduğu şişelere transfer edilmiş ve daha sonra bu larvalardan gelişen dişi ve erkek bireyler sayılmıştır.

#### **İstatistik Değerlendirme**

Kadmiyum nitratın yumurta verimi üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışma sonuçlarının istatistik değerlendirmesi, SPSS windows paket program kullanılarak Kruskal Wallis One Way Anova ve Mann Whitney-U testi ile yapılmıştır. Kadmiyumun eşey oranları üzerine etkisini test etmek amacıyla yapılan çalışma sonuçları ise Khi-kare testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

## Bulgular

### Yumurta Verimi Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi

Bu çalışmada kadmiyum nitrat içeren besiyerleri *D. melanogaster*'e iki farklı yaşam döneminde verilmiştir. Bunlardan birincisinde farklı konsantrasyonlarda (0, 100, 500 ppm) kadmiyum nitrat eklenen besiyerinde ya da standart besiyerinde gelişim dönemlerini (yumurta, larva ve pupa) geçiren bireylerin yumurta verimi saptanmıştır. 500 ppm'den daha yüksek konsantrasyonda kadmiyum nitrat çözeltisi eklenen besiyerinde ergin gelişmemiştir. Bu nedenle çalışmalar üç konsantrasyon için yapılmıştır. Erginin ilk çıktığı günden itibaren on gün süreyle yapılan sayım sonucuna göre elde edilen veriler Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre bir dişi için günlük ortalama yumurta verimi bakımından gruplar arasındaki fark önemsizdir ( $P>0.05$ ).

Çalışmamızın diğer bir bölümünde gelişim dönemlerini standart besiyerinde geçiren ve pupadan henüz çıkan ergin dişi ve erkekler kullanılmış ve bu bireylerden her şişeye 1♀ x 3♂ birey konulmuştur. Daha sonra farklı konsantrasyonlarda (0, 100, 300, 600, 900, 1600, 2800 ppm) kadmiyum nitrat eklenen besiyeri plastik tatlı kaşıklarına dökülmüş ve kaşıklar her gün yenisiyle değiştirilerek, yumurta sayımı yapılmıştır. Elde edilen ortalama yumurta verimleri ve ortalamalar arası farkların önem değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Bir dişi için günlük ortalama yumurta verimi bakımından gruplar arasındaki fark önemlidir ( $P<0.05$ ). En yüksek yumurta verimi kontrol grubunda (7.64) elde edilmiştir. Kadmiyum nitrat konsantrasyonundaki artışla yumurta veriminin azaldığı gözlenmiştir. 1500 ppm'den daha yüksek kadmiyum nitrat çözeltisinin kullanıldığı deney gruplarında toksik etkiden dolayı bireyler ölmüş ve yumurta sayımı yapılamamıştır. Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda kontrol ve 100 ppm kadmiyum nitrat grupları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Ayrıca 800-1000 ppm, 800-1500 ppm ve 1000-1500 ppm kadmiyum nitrat grupları arasında da yumurta verimi bakımından fark önemsizdir ( $P>0.05$ ). Diğer gruplar arasındaki fark çeşitli seviyelerde önemlidir (Tablo 2).

### Kadmiyum Nitratın Larvadan Ergine Gelişebilen Birey Sayısına ve Eşey Oranına Etkisi

Larvaların ergine gelişme oranı dikkate alındığında en yüksek değer kontrol grubunda elde edilmiştir (Tablo 3). Gruplarda kadmiyum nitrat konsantrasyonundaki artışla larvaların hayatta kalışı azalmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarında erkek ve dişi sayıları arasında fark yoktur ( $P>0.05$ ). Beklenen 1:1 oranı gözlenmiştir.

Deney grupları Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ppm	♀ Birey sayısı	♀ Başına Günlük Ortalama Yumurta Verimi±S.H.
Kontrol	19	9.69±1.06
100	20	8.86±0.98
500	18	7.42±0.48

Tablo 1. Gelişim Dönemlerini Kadmiyum Nitrat Eklenen Besiyerinde Geçiren Bireylerde Bir Dişi İçin Günlük Ortalama Yumurta Verimi.

S:H.: Standart Hata.

Tablo 2. Farklı Konsantrasyonlarda Kadmiyum Nitrat Eklenen Besiyerlerinde Yaşayan Bireylerde Bir Dişi İçin Günlük Ortalama Yumurta Verimi ve Gruplar Arası Farkların Önem Değerleri.

Deney grupları Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ppm	♀ Birey sayısı	♀ Başına Günlük Ortalama Yumurta Verimi±S.H.	Gruplar Arası Farkın Önem Değerleri	
Kontrol (A)	20	7.64 ± 0.54	A-B	C-D*
100 (B)	20	6.50 ± 0.60	A-C**	C-E*
500 (C)	20	1.26 ± 0.27	A-D**	C-F*
800 (D)	19	0.46 ± 0.09	A-E**	D-E
1000 (E)	18	0.35 ± 0.06	A-F**	D-F
1500 (F)	14	0.21 ± 0.05	B-C**	E-F
				B-D**
				B-E**
				B-F**

S.H.: Standart Hata

\* : P<0.05 seviyede önemli

\*\* : P<0.001 seviyede önemli

Tablo 3. Farklı Konsantrasyonlarda Kadmiyum Nitrat Çözültisi Eklenen Besiyerlerinde Larvadan Ergine Gelişebilen Birey Sayısı.

Deney Grupları Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ppm	Larva sayısı	Ergin Sayısı		Toplam
		♀	♂	
Kontrol	100	50	49	99
100	100	52	46	98
300	100	39	47	86
600	100	43	42	85
900	100	33	26	59
1600	100	14	11	25
2800	100	01	01	02

## Tartışma

Kadmiyum nitrat gelişim dönemlerinde verildiğinde ergin dönemde dişilerin yumurta verimini etkilediği gözlenmiştir (Tablo 1). Ancak ergin bireylerin ilk günden itibaren kadmiyum nitratlı besiyerine alınması kontrol grubuna kıyasla yumurta verimini belirgin olarak azaltılmıştır (Tablo 2).

İslam vd. (17) tarafından yapılan benzer bir çalışmada bakır ve demir sülfatın farklı dozlarının *D. melanogaster*'in yumurta verimini azalttığı belirtilmiştir. Metallerin enzim inhibisyonuna neden olduğu ve proteinlerle etkileşmeleri sonucu proteinlerin enzimatik ve yapısal fonksiyonlarını değiştirerek onları inhibe ettiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (18-20). Bununla beraber *Drosophila*'da yumurta sarısı proteinleri olan vitellojeninlerin inhibisyonunun yumurta verimini etkilediğine yönelik bulgular vardır (16, 21). Kadmiyum uygulaması sonucu ortaya çıkan yumurta verimindeki azalmanın, vitellojenin sentezinin engellenmesi nedeni ile olabileceği düşünülmektedir.

Araştırmamızın diğer bir bölümünde, kadmiyum nitrat konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak larvaların ergine gelişme oranının azaldığı gözlenmiştir (Tablo 3). Ağır metallerin *D. melanogaster*'in gelişim dönemleri üzerine etkileriyle ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır (17, 22, 23). Bu çalışmalarda kadmiyum klorür, bakır sülfat, demir sülfat ve kurşun nitratın *D. melanogaster*'de metamorfoz süresini uzattığı belirtilmektedir. Ayrıca diğer bazı çalışmalarda da larva (özellikle 1. ve 2. evre larvalarının) ve pupaların ağır metallere karşı oldukça duyarlı oldukları vurgulanarak ergine gelişmeyi inhibe ettiği belirtilmiştir (24, 25). Kadmiyum nitratın *D. melanogaster*'in erkek ve dişilerde ortalama ergin ömür uzunluğunu kısalttığına yönelik bilgiler de vardır (14).

Çalışmamızda kadmiyum nitratlı ortamda larvadaki gelişebilen bireylerin erkek ve dişi sayıları arasındaki farklılıklar da araştırılmıştır. Ancak erkek ve dişi sayıları arasında beklenen 1:1 oranı gözlenmiş olup, Khi-kare testine göre erkek ve dişi sayıları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Bu sonuç ise kadmiyum nitratın erkek veya dişi larvaların yaşayabilirliğine farklı bir etkisinin olmadığını ortaya koymaktadır. Bu yöndeki bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Hava, su ve besin zinciri yoluyla alınan tüm toksik maddeler sonuçta ekosistemi çeşitli yönleriyle etkilemektedir. Sağlıklı bir ortamda yaşamak için çevre kirliliğine neden olan etmenlerin ve bunların etkilerinin iyi bilinmesi gereklidir.

## Kaynaklar

1. Li, L. H., Geochemical cycles of elements and human perturbation. *Geochim Cosmochim Acta.*, 45: 2073-2084, 1981.
2. Beijer, K., Jernevol, A., Sources, transport and transformation of metals in the environment. In Friberg, L.; Nordberg, G. F.; and Vouk, V. B. (eds): *Handbook on the toxicology of metals*. Vol. 1, 2<sup>nd</sup> ed., General Aspects. Elsevier Scientific Publ., Amsterdam, 68-74, 1986.
3. Goyer, R. A., Miller, C. R., Zhu, S. Y., Victory, W., Non-metallothionein bound cadmium in the pathogenesis of cadmium nephropathy in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 101: 232-244, 1989.
4. Lauwerys, R. P., Bernad, A. M., Buchnet, J. R., Raels, H. H., Assessment of the health impact of environmental exposure to cadmium: Contribution of epidemiologic studies carried out in Belgium. *Environ. Res.*, 62: 200-206, 1993.

5. Gregory, J. L., The effect of cadmium on cytosolic free calcium, protein kinase and collagen synthesis in rat osteosarcoma (Ros 17/2.8) cells. *Toxicol. and App. Pharmacol.*, 143: 189-195, 1997.
6. Bremner, I., Heavy metal toxicities *quart. J. Biophys.*, 7: 74-124, 1974.
7. Yoshikawa, H. S., *Interaction of metals and metallothionein*. Elsevier/North-Holland, New York Amsterdam Oxford pp. 11-23, 1982.
8. Ay, Ö., Canlı, M., Distribution of subcutaneously injected cadmium and lead among tissues and fetuses of pregnant mice: Their effect on iron and zinc levels. *Tr. J. of Zoology*, 21: 107-112, 1997.
9. Sato, M., Yamanobe, K., Nagai, Y., Sex-related differences in cadmium-induced lipid peroxidation in the rat. *Life Sciences*, 33: 903-908, 1983.
10. Kobayashi, S., Kimura, M., Effect of orally administered cadmium on alkaline phosphatase isoenzymes in rat tissues. *J. Pharmacology-Dyn.*, 8: 853-863, 1985.
11. Payan, J. P., Saillenfait A. M., Beydon, D., Ban, M., De-Querriz, J., Pregnancy associated changes in renal toxicity of cadmium-metallothionein: possible role of intercellular metallothionein. *Toxicology*, 65: 223-232, 1990.
12. Murata, M., Takigawa, H., Sakamoto, H., Teratogenic effect of noise and cadmium in mice: Does noise have teratogenic potential. *J. Toxicol. Environ. Health*, 39: 237-245, 1993.
13. Bozcuk, A. N., The effects of some genotypes on the longevity of adult *Drosophila*. *Exp. Gerontol*, 13: 279-286, 1978.
14. Yeşilada, E., Gelegen, L., *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine kadmiyum nitratın etkisi. *Tr. J. of Biology (Baskıda)*.
15. Yeşilada, E., Bozcuk, A. N., *Drosophila melanogaster* (Oregon ve Malatya soyları) ile *D. erecta* ve *D. virilis*'in çeşitli gelişimsel özellikler açısından karşılaştırılması. *Tr. J. of Biology*, 15: 114-123, 1991.
16. Yeşilada, E., Bozcuk, A. N., *Drosophila melanogaster*'in yumurta verimi üzerine ABA ve kinetinin etkisi. *Tr. J. Biology*, 19 (1): 37-44, 1995.
17. Islam, M. S., Khan, M. A. R., Barman, P. C., Ali, S. I., Effect of copper ferrous sulphates on offspring production in *D. melanogaster*. *Drosophila Inform. Service.*, 663: 68, 1986.
18. Parizek, J., Ostadalova, I., Benes, I., Babicky, A., Pregnancy and trace elements. The protective effect of compounds of an essential trace element, selenium, against the peculiar toxic effects of cadmium during pregnancy. *J. Repord Fertil.*, 16: 507-509, 1986.
19. Barcelo, J., Poschenrieder, C., Water relations as affected by heavy metal stress: a review. *J. Plant Nurt.*, 13: 1-37, 1990.
20. Lin, R. H., Wu, L. L., Lee, C. H., Lin-Shiau, S. Y., Cytogenetic toxicity of uranyl nitrate in Chinese hamster ovary cells. *Mutat. Res.*, 319: 197-203, 1993.
21. De Man, W., De Loof, A., Bries, T., Huybrechts, R., Effect of abscisic acid on vitellogenesis in *Sarcophoga bullata*. *Entomol. Exp. Appl.*, 29: 259-267, 1981.
22. Vasedeu, V., Krishnamurthy, H. B., Preliminary studies on the effect of cadmium chloride on *D. melanogaster*. *Drosophila Inform. Service*, 56: 145-153, 1981.

23. Islam, M. S., Khan, M. A. R., Barman, P. C., Ali, S. I., Effect of copper and ferrous sulphates on the durations of developmental stages of *D. melanogaster*. *Drosophila Inform. Service*, 67: 46, 1988.
24. Powleshand, C., George, J., Acute and chronic toxicity of nickel to larvae of *Chironomous ripapis*, *Environ. Pollut.*, 42: 47-64, 1986.
25. Uysal, H., Bahçeci, Z., Kadmiyum klorür ve civa klorürün *D. melanogaster*'in üçüncü evre larvalarının tükrük bezi politen kromozomları üzerine etkileri. *Tr. J. of Biolog*, 21: 257-265, 1997.