

1-1-1998

The Effects of Copper Chloride on The Gene Activity of The Salivary Gland Polytene Chromosomes of *Drosophila melanogaster*

Sevgi LEVENT

Handan UYSAL

Zafer BAHÇEÇİ

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology>



Part of the [Biology Commons](#)

Recommended Citation

LEVENT, Sevgi; UYSAL, Handan; and BAHÇEÇİ, Zafer (1998) "The Effects of Copper Chloride on The Gene Activity of The Salivary Gland Polytene Chromosomes of *Drosophila melanogaster*," *Turkish Journal of Biology*. Vol. 22: No. 1, Article 2. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol22/iss1/2>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Biology by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

***Drosophila melanogaster*'in Tükrük Bezi Politen Kromozomlarında Bakır Klorür'ün Gen Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi**

Sevgi LEVENT, Handan UYSAL

Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzurum-TÜRKİYE

Zafer BAHÇECİ

Gazi Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Kırşehir-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 15. 05.1996

Özet: Bu çalışmada, bakır klorürün *Drosophila melanogaster*'in 3. evre larvalarının tükrük bezi politen kromozomları üzerine etkileri araştırılmıştır. Bakır klorür, larvalara in vivo koşullarda uygulanmıştır. Bu uygulama sonucu, tükrük bezi politen kromozomlarının değişik bant bölgelerinin puflaştığı (=bazı bant bölgelerinde gözlenen şişkinlikler) ve birçok gelişimsel pufun inaktif duruma geçtiği görülmüştür.

Bakır klorür uygulaması sonucu; 2L kromozom kolunda 22A, 23EF, 27E, 28B, 35F; 2R kromozom kolunda 47A, 54BD, 55DE, 56DE, 58CF, 59B; 3L kromozom kolunda 62A, 62DE, 68BC, 70DE, 73B, 74D bantlarının puflaştığı gözlenmiştir. Bu pufların ortalama büyüklükleri saptanmış ve kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır.

Deney ve kontrol gruplarının puf büyüklükleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.001$).

Anahtar Sözcükler : Bakır, puf büyüklüğü, politen kromozom, *Drosophila melanogaster*, gen aktivitesi.

The Effects of Copper Chloride on The Gene Activity of The Salivary Gland Polytene Chromosomes of *Drosophila melanogaster*

Abstract: The effects of copper chloride on the salivary gland polytene chromosomes of third instar larvae of *Drosophila melanogaster* have been investigated. Copper chloride have been applied to the larvae in vivo. It has been shown that different band sections of the salivary gland chromosomes become puffed and many developmental puffs were inactivated.

As a result of the copper chloride treatment, band 22A, 23EF, 27E, 28B, 35F on chromosome arm 2L; 47A, 54BD, 55DE, 56DE, 58CF, 59B on chromosome arm 2R; 62A, 62DE, 68BC, 70DE, 73B, 74D on chromosome arm 3L have become puffed. The average size of these puff have been measured and compared with control groups.

The differences of puff sizes between the control and treatments have found to be statistically important ($P > 0.001$).

Key Words: Cooper, puff size, polytene chromosome, *Drosompila melanogaster*, gene activity.

Giriş

—Ağır metaller, endüstrileşen bölgelerde önemli çevresel kirleticilerden birisini oluşturmaktadır. Doğal sularda bulunmayan bakır, endüstriyel faaliyetler sonucu su ve toprağa karışmakta, besin zinciri yoluyla da organizmalara geçerek toksik etkiye sebep olmaktadır (1).

Bakır gibi bir ağır metal olan civa *Drosophila melanogaster*'de ayrılmamaya ve neticede anormal hücrelerin oluşumuna yol açmaktadır (2). De Flora (3) tarafından yapılan bir çalışmada, civanın fare ve sıçan embriyolarının fibroblastlarında DNA'da tek kol kırılmalarına yol açtığı gösterilmiştir.

Aynı şekilde kurşun ve kadmiyum gibi ağır metallerde, *Drosophila melanogaster*'de (4) *Anopheles stephensi*'de (5) kromozomal anormallikler meydana getirerek toksik etkisini göstermektedir. Benzeri klastojenik etkiler krom (6), çinko, bakır ve kurşun uygulanan (7) *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde de gözlenmiştir.

Bu çalışmada, bakır klorürün *Drosophila melanogaster*'in 3. evre larvalarının tükrük bezi politen kromozomlarında gen aktivitesi (puflaşma) üzerine olan etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Metod

Drosophila Kültürleri

Deneylerimizin tümünde *Drosophila melanogaster* Meig'in (Diptera: Drosophilidae) yabani tip (wild-type, w.t) Oregon soyu kullanılmıştır. Kontrol ve deney grupları $25\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık ve sürekli karanlık koşullar taşıyan inkübatörlerde tutulmuştur. Sineklerin beslenmeleri için standart *Drosophila* besiyeri kullanılmıştır (8).

Ergin Bireylere Bakır Klorür'ün (CuCl_2) Uygulanması

Bu amaçla kontrol ve deney grubu olmak üzere iki deney seti hazırlanmıştır. Deney grubunu oluşturan bireylerin besiyerlerine, 5.0 mg/100 ml standart bakır klorür çözeltisi ilave edilmiştir. Hem deney hem de kontrol grubunu oluşturan besiyerine *Drosophila melanogaster*'in ergin bireylerinden 7 erkek ve 7 dişi konulmuştur.

Yumurta bırakımını takiben ortaya çıkan 1. 2. ve 3. evre larvalar deri değişiminin tüm safhalarını bu besiyeri içinde geçirmişlerdir. Çaprazlamanın başlangıcından itibaren 5. gün 3. evre larvalar oluşmaktadır. Bu larvalar besiyerlerini tamamen terk etmiş olup, şişenin kenarlarına çıkmış ve orada yaşamaktadır.

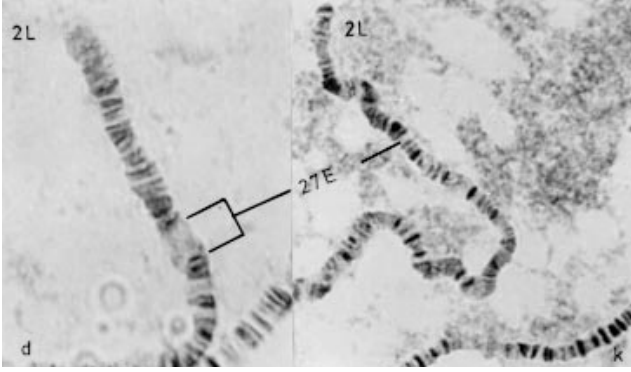
Tükrük Bezi Politen Kromozomlarının Sitolojik Preparasyonları

Tükrük bezi politen kromozomlarının sitolojik preparasyonları daha önceki araştırmacıların (8) yöntemlerinden de kısmen yararlanılarak yapılmıştır. Buna göre, kültür şişesinden alınan larva, petri kabı içindeki bir miktar *Drosophila* Ringer Solüsyonu'na konulmuştur. Binoküler mikroskop altında diseksiyon iğneleri yardımıyla larvanın başı vücudundan ayrılarak tükrük bezleri çıkarılıp bir lam üzerine alınmış ve lakto aseto-orsein boyası ile boyanarak ezme preparat hazırlanmıştır.

Buna göre en iyi şekilde açılmış ve boyanmış olan kromozomların fotoğrafları Zeiss marka araştırma mikroskobunda ve immersiyon objektifi ile çekilmiştir. Bu incelemeler sırasında kromozom kolları ve kollar üzerindeki puflaşma bölgeleri teşhis edilmiştir. Kromozom kolları ile puf bölgelerinin teşhisleri Bridges (9) tarafından hazırlanan kromozom haritasından yararlanılarak yapılmıştır.

Bulgular

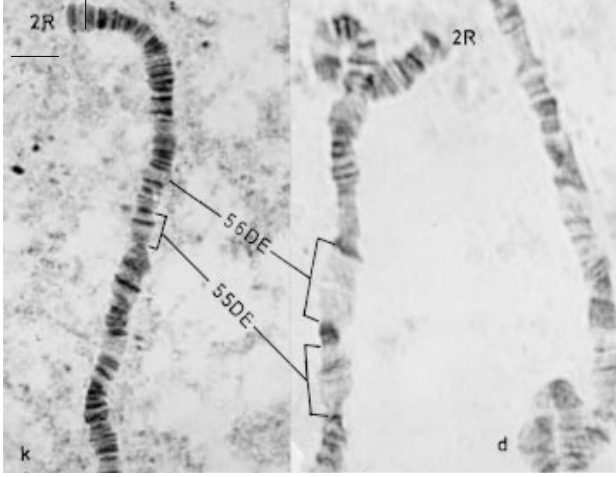
Bakır klorürün puflaşma üzerine olan etkilerini incelemek amacıyla, *Drosophila melanogaster*'in besiyerine standart bakır klorür çözeltisi ilave edilmiş ve 1. 2. ve 3. evre larvalarının bu besiyerinde yaşaması sağlanmıştır. 3. evre larvalarının tükrük bezleri çıkarılıp gerekli sitolojik işlemlerden sonra politen kromozom preparatları hazırlanmıştır. Bu preparatların incelenmesi sonucunda X ve 3R kromozom kolunda puflaşma olayına rastlanmamakla beraber 2L kromozom kolunda 22A, 23EF, 27E (Şekil 1), 28B, 35F; 2R kromozom kolunda 47A, 54BD, 55DE ve 56DE (Şekil 2), 58CF ve 59B (Şekil 3); 3L kromozom kolunda 62A, 62DE, 68BC, 70DE (Şekil 4), 73B, 74D bant bölgelerinin puflaştığı gözlenmiştir.



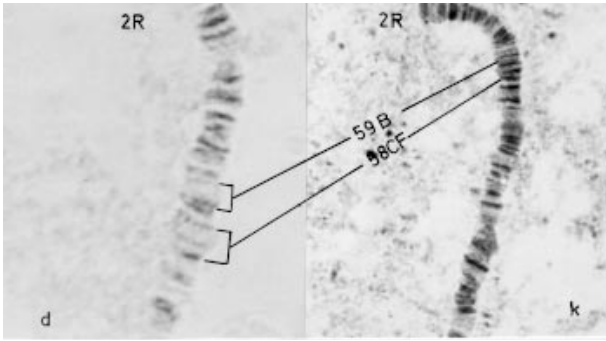
Şekil 1. Bakır klorür uygulaması sonucu 2L kromozom kolunda oluşan 27E pufu (d=deney, k=kontrol)x1600.

Kontrol grubunu oluşturan preparatlarda ise, incelenen hücrelerde larval evreye ait gelişimsel puf lar gözlenmiştir. Bu puf lar 2L kromozom kolunda 23E, 25AC; 2R kromozom kolunda 52C, 55E; 3L kromozom kolunda 69F, 73B; 3R kromozom kolunda ise 82EF, 90BC, 91B ile 93D puf larıdır.

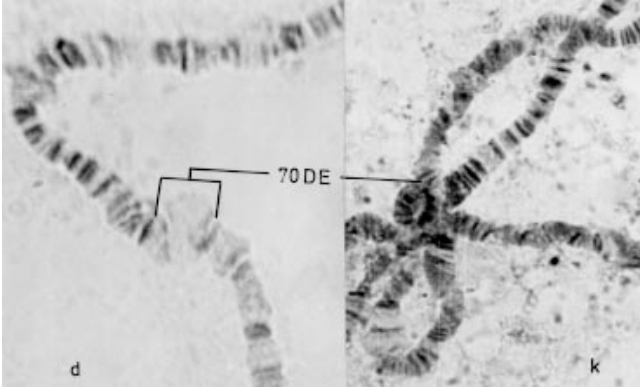
Bu çalışma sırasında gerek kontrol gerekse deney grubu için 600 hücre incelenmiştir. Herbir hücre incelenirken, kromozom kolları ve bu kollardaki bant bölgeleri tümüyle incelenmiştir. Ayrı ayrı incelenen birbirinden farklı 600 hücrenin 12 tanesinde 22A, 10 tanesinde 23EF, 11 tanesinde 27E, 13 tanesinde 28B, 10 tanesinde 35F, 11 tanesinde 47A, 13 tanesinde 54BD, 12 tanesinde 55DE, 11 tanesinde 56DE, 10 tanesinde 58CF, 10 tanesinde 59B, 10 tanesinde 62A, 11 tanesinde 62DE, 10 tanesinde 68BC, 10 tanesinde 70DE, 11 tanesinde 73B, 12 tanesinde 74D bantları puflaştı.



Şekil 2. Bakır klorür uygulaması sonucu 2R kromozom kolunda oluşan 55 DE ve 56DE pıfları (d=deney, k=kontrol) x1600.



Şekil 3. Bakır klorür uygulaması sonucu 2R kromozom kolunda oluşan 58CF ve 59B pıfları (d=deney, k=kontrol)x1600.



Şekil 4. Bakır klorür uygulaması sonucu 3L kromozom kolunda oluşan 70DE pufu (d=deney, k=kontrol)x1600.

Öte yandan, incelenen her bir pufun çapı ayrı ayrı ölçülmüştür. Bu ölçümlerin sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Ölçümler, kontrol gruplarıyla istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve farklar anlamlı bulunmuştur ($P < 0.001$).

Kromozom Kolu	Puf Bölgeleri	Ortalamalar		t-Değeri	*S.D
		Deney	Kontrol		
2L	22A	4.30±0.043	2.20±0.030	40.92	22
	23EF	4.41±0.035	2.18±0.038	42.70	18
	27E	4.09±0.034	2.17±0.025	44.78	20
	28B	3.70±0.033	1.95±0.034	36.68	24
	35F	3.88±0.058	1.85±0.028	31.73	18
2R	47A	4.30±0.033	2.34±0.033	42.35	20
	54BD	4.48±0.027	1.95±0.028	65.26	24
	55DE	4.27±0.031	1.94±0.026	57.46	22
	56DE	4.41±0.032	2.23±0.028	51.06	20
	58CF	3.68±0.037	1.81±0.023	43.03	18
3L	59B	3.91±0.038	1.85±0.028	43.86	18
	62A	4.57±0.026	2.02±0.029	64.94	18
	62DE	4.10±0.029	2.01±0.025	54.42	20
	68BC	4.34±0.029	2.56±0.029	42.82	18
	70DE	4.66±0.035	2.08±0.038	49.44	18
	73B	4.22±0.043	1.90±0.034	42.58	20
	74D	4.33±0.034	2.02±0.027	53.43	22

*S.D.: Serbestlik Derecesi

Tablo 1. Bakır klorür uygulaması sonucu kromozom kollarında ortaya çıkan pufaların çap büyüklüklerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmasının istatistiksel sonuçları (μm olarak).

Tartışma

Bu çalışmada, bakır klorürün *Drosophila melanogaster* larvalarının politen kromozomlarında gen aktivitesi (puflaşma) üzerine yaptığı etkiler incelenmiştir. Gelişim devrelerine bağlı olarak politen kromozomların belirli bölgelerinde meydana gelen morfolojik değişimlerin nedeni, gen lokuslarındaki fonksiyonel değişimler ile açıklanmaktadır. Dipterlerin politen kromozomlarında, kromozomal pufaların oluşumu gen aktivitesinin bir ölçüsü olarak kabul edilmektedir (10).

Drosophila melanogaster'in normal larval gelişimi sırasında oluşan puflara gelişimsel puflar denir. Larva evresinde görülen gelişimsel puflar, 2L kromozom kolunda 23E, 25AC; 2R kromozom kolunda 52C, 55E; 3L kromozom kolunda 69F, 73B; 3R kromozom kolunda ise 82EF, 90BC, 91B ile 93D puflarıdır. Bu gözlemlerimiz daha önceki çalışmalarla uygunluk göstermektedir (11).

Bakır klorür uygulaması sonucunda ise *Drosophila melanogaster*'in 3. evre larvalarının politen kromozomlarında farklı bant bölgelerinin puflaştığı görülmüştür. Bunlar 2L kromozom kolunda 22A, 23EF, 27E, 28B, 35F; 2R kromozom kolunda 47A, 54BD, 55DE, 56DE, 58CF, 59B; 3L kromozom kolunda 62A, 62DE, 68BC, 70DE ve 74D puflarıdır. Deney grubunda bu puflar oluşurken gelişimsel pufların inaktif hale geçtiği gözlenmiştir.

Bakır klorürün gen aktivitesi üzerine etkileriyle ilgili araştırmalara rastlanmamasından dolayı, bulgularımız diğer çevresel faktörlerin etkileriyle karşılaştırılmıştır.

Daha önce yapılan bir çalışmada (12) *Drosophila melanogaster*'in 3. evre larvalarının oksijensiz ortama bırakılması sonucu X kromozom kolunda 10EF; 2L kromozom kolunda 26A ve 30DE; 2R kromozom kolunda 45E, 48B, 53BC, 55E; 3L kromozom kolunda 63BC, 66DEF, 76D; 3R kromozom kolunda da 84E, 85B, 86F, 91EF ve 96A bantlarının puflaştığı gözlenmiştir.

Drosophila melanogaster'in 3. evre larvalarına 37°C ve 39°C olmak üzere iki periyotta sıcak şoku uygulaması ile 2R kromozom kolunda 48E, 48F; 3L kromozom kolunda 63BC, 67B; 3R kromozom kolunda ise 87A, 87C, 93D ve 95D bantlarının puflaştığı da daha önceki araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (13-15).

Sıcak şoku ve oksijensizlik uygulaması sonucu oluşan puflar ile bakır klorür uygulaması sonucu oluşan pufların kromozom üzerindeki yerleri birbirine son derece yakındır (Örneğin, oksijensizlik sonucu 2R kromozom kolunda oluşan 63BC, 67B ile bakır klorür uygulaması sonucu oluşan 62DE ve 68BC pufları gibi).

Farklı uygulamalar sonucu birbirine yakın bant bölgelerinin puflaşması, larvaların metabolik durumlarında meydana gelen değişimlerden onun korunması için gerekli maddelerin sentezini kontrol eden gen merkezlerinin çalıştırılması ile ilgili olduğu kanaatindeyiz.

Bakır klorür uygulaması sonucu oluşan pufların büyüklükleri kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak (Tablo 1) anlamlı bulunmuştur ($P < 0.001$). Farkın anlamlı oluşu, ilgili gen bölgesinde belirgin bir gen aktivitesinin ortaya çıktığının ifadesidir. Denkhöfer (16), L-Glutamik asitin *Drosophila melanogaster* larvalarının politen kromozomlarında puflaşmaya sebep olduğunu ancak bu pufların çaplarının politenizasyonda meydana gelen artıştan dolayı, kontrol gruplarına göre arttığını ileri sürmüştür. Ancak bize göre ağır metal uygulaması sonucu oluşan puflar politenin artışıyla çok o bölgelerdeki genlerin aktif hale gelmesinin sonucudur.

Bakır klorür uygulaması sonucu yeni pufların oluşumunun, hayvanın bulunduğu olumsuz koşullardan etkilenmemesi için gerekli bazı enzimlerin sentezlenmesine yönelik olduğunu düşünmekteyiz. Van Assche ve ark., (17) *Phaseolus vulgaris*'te, çinko ve kadmiyumun kök bü-

yümesini inhibe ettiğini, buna karşın hücrede bazı enzimlerin miktarını artırdığını gözlemişlerdir. Aynı araştırmacılar, enzim miktarındaki bu artışın ağır metal toksisitesine karşı bir savunma olarak meydana geldiğini ileri sürmektedir, ki bu da bizim görüşümüzü desteklemektedir.

Çeşitli çevresel faktörlerin etkisiyle oluşan pufların moleküler mekanizmasının anlaşılması oldukça güçtür. Ancak Ritossa (18) oksijensiz ortamın, oksidatif fosforilasyonu engelleyerek bazı kimyasal modifikasyonlara yol açtığını ve bununla hücrenin kararlı durumunda bir değişme meydana getirdiğini ileri sürmektedir. Bu değişimin kromozomlardaki yansıması kendisini puflaşma şeklinde göstermektedir.

Bakır klorür uygulaması sonucu oluşan pufların da benzeri bir mekanizma ile oluşabileceği düşüncesindeyiz. Ancak gen aktivitesinin değişmesi sırasında hücrede miktarı artan ya da azalan maddelerin neler olduğu değişik teknikler ile ortaya konulduğunda, bu maddelerin organizma üzerindeki etkilerinin gerçek yönü daha da açıklık kazanacaktır.

Kaynaklar

1. Türkiye Çevre Sorunları Vakfı: Türkiye'nin Çevre Sorunları, Ankara, 1991, s.87.
2. Leonard, A., Jacquet, P. and Lauwerys, R. R., Mutagenicity and Teratogenicity of Mercury Compounds. *Mutat. Res.* 114, 1-18, 1983.
3. De Flora, S., Bennicelli, C. and Bagnasco, M., Genotoxicity of Mercury Compounds. A Review, *Mutat. Res.* 317, 57-79, 1994.
4. Uysal, H. ve Bahçeci, Z., Kurşun Nitratın *Drosophila Melanogaster*'in 3. Instar Larvalarının Tükrük Bezi Politen Kromozomları Üzerine Etkileri. *Doğa Tr. J. of Biology*, 20: 199-205, 1996.
5. Sharma, G.P., Sabti, R.C., Chaudhry, A. and Ahluwalia, K.K., Genotoxicity of Two Heavy Metal Compounds Lead Acetate and Mercury Chloride in the Mosquito, *Anopheles Stephensi* Listen (Culicidae: Diptera). *Cytologia*, 53, 263-267, 1988.
6. Liu, D., Jiang, W. and Li, M., Effect of Trivalent and Hexavalent Chromium on Root Growth and Cell Division of *Allium Cepa*. *Hereditas*, 117, 23-29, 1992.
7. Arambasic, M.B., Bjelic, S. and Subakov, G.S., Acute Toxicity of Heavy Metals (Copper, Lead, Zinc), Phenol and Sodium on *Allium Cepa* L., *Lepidium Sativum* L. and *Daphnia Magna* St.: Comparative Investigations and the Practical Applications. *Wat. Res.* 29, 497-503, 1995.
8. Bahçeci, Z. ve Bozcuk, A.N., *Drosophila Melanogaster*'in Gelişim Sürecine Bağlı Olarak Tükrük Bezi Politen Kromozomlarındaki RNA Sentezinin (Gen Aktivasyonunun) Otoradiografik İncelenmesi. *Doğa Bilim Dergisi*, Temel Bilim, 5, 147-154, 1981.
9. Bridges, C. B., Salivary Chromosome Maps. With a Key to the Banding of the Chromosomes of *Drosophila Melanogaster*. *J. Hered.* 26, 60-64, 1935.
10. Kar Chowdhuri, D. and Lakhota, S.C., Different Effects of 93D on 87C Heat Shock Puff Activity in *Drosophila Melanogaster* and *Drosophila Simulans*. *Chromosoma (Berl)*, 94, 279-284, 1986.
11. Ashburner, M., Patterns of Puffing Activity in the Salivary Gland Chromosomes of *Drosophila* IV. Variability of Puffing Patterns. *Chromosoma (Berl)*, 27, 156-177, 1969c.
12. Uysal, H. ve Bahçeci, Z., *Drosophila Melanogaster* Larvalarının Tükrük Bezi Politen Kromozomlarında Oksijensizliğin (Anoxia) Gen Aktivitesi Üzerine Etkileri. *Doğa Tr.J. of Biology*, 16, 67-74, 1992.

13. Uysal, H. ve Bahçeci, Z., *Drosophila Melanogaster*'in Politen Kromozomlarında Sıcak ve Soğuk Şokunun Gen Aktivitesi Üzerine Etkileri. X. Ulusal Bio. Kong., Erzurum, 1990.
14. Berger, M.E. and Woodward, M.P., Small Heat Shock Proteins in *Drosophila* May Confer Thermal Tolerance. *Exp. Cell. Res.* 147, 437-442, 1983.
15. Lakhotia, S.C., The Heat Shock Locus in *Drosophila*: a review. *J. Genet.* 62(2), 139-157, 1987.
16. Denkhöfer, L., Wirkungen von L-glutaminsäure auf Grösse und Puff-Muster der Larvalen Speicheldrüsenchromosomen Von *Drosophila Melanogaster* in Vivo. *Genetica.* 48, 107-128, 1978.
17. Van Assche, F., Cardinaels, C. and Clijsters, H., Inductions of Enzyme Capacity in Plants as a Result of Heavy Metal Toxicity: Dose-Response Relations in *Phaseolus Vulgaris* L., Treatment With Zinc and Cadmium. *Environ. Pollut.* 52, 103-115, 1988.
18. Ritossa, F., Experimental Activation of Specific Loci in Polytene Chromosomes of *Drosophila*. *Exp. Cell. Res.* 35, 601-607, 1964.