



T.C.

Ardahan Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

Biyoteknoloji Bilim Dalı

ÇILDIR GÖLÜ SUYUNUN MUTAJENİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yunus Emre ODABAŞ

Doç. Dr. Mehmet ARSLAN

Yüksek Lisans Tezi

Ardahan,2024

ÇILDIR GÖLÜ SUYUNUN MUTAJENİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yunus Emre ODABAŞ

Doç. Dr. Mehmet ARSLAN

Ardahan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

Biyoteknoloji Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Ardahan,2024

KABUL VE ONAY

Yunus Emre ODABAŞ tarafından hazırlanan “Çıldır Gölü Suyunun Mutajenik Özelliklerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma, 19.01.2024 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Rövşen GULİYEV (Başkan)

Doç. Dr. Mehmet ARSLAN (Danışman)

Doç. Dr. Zehra Tuğba MURATHAN (Üye)

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa ŞENEL
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Ardahan Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinleri yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan *“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”* kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / Ardahan Üniversitesi Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

19/01/2024

Yunus Emre ODABAŞ

“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) *Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*
- (2) *Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*
- (3) *Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.*

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir.

** Tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** tarafından karar verilir.*

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanının **Doç. Dr. Mehmet ARSLAN** danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Ardahan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Yunus Emre Odabaş

ÖN SÖZ

Çalışmalarım boyunca bana yol gösteren ve büyük bir özveriyle yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Mehmet ARSLAN'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum. Sizlerin rehberliği ve desteği olmadan bu tezi tamamlamam imkânsız olurdu. Emeyiniz ve sabrınız için sonsuz minnettarım.

Ayrıca, bu tezi hazırlarken her türlü desteğini ve yardımını esirgemeyen aileme teşekkürü bir borç bilirim. Hayatımın her aşamasında bana destek olan, varlıklarıyla bana güç veren aile fertlerime şükranlarımı sunuyorum. Sizlerin sevgi dolu desteği sayesinde zorlu süreçlerde dahi ayakta kalmayı başardım. Her zaman arkamda olduğunuz için minnettarım.

Bu özel insanlara olan minnettarlığımı ifade etmek için kelimeler yetersiz kalıyor. Sizinle geçirdiğim zaman ve deneyimler, hayatımın en değerli hazineleri haline geldi. Her birinizin desteği ve sevgisi benim için paha biçilmez birer armağan oldu.

Bu teşekkürlerimi sizlere en içten duygularıyla iletiyorum ve gelecekteki başarılarımda sizlerin emeğini taşıyacağımı bilmenizi istiyorum.

Ayrıca, bu tez çalışmasını maddi yönden destekleyen Ardahan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkürü bir borç bilirim.

Saygılarımla,

Yunus Emre ODABAŞ

Ardahan / 2024

ÖZET

Odabaş, Yunus Emre. *Çıldır Gölü Suyunun Mutajenik Özelliklerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Ardahan, 2024

Bu çalışmada, Ardahan iline bağlı Çıldır ilçesinde bulunan Çıldır Gölü'nde 4 farklı istasyondan alınan suyun mutajenik özellikleri Ames testi ile çalışılmıştır. Çalışma, göl ekosistemini etkileyen ve göldeki canlılardan beslenen insanlarda kanserojen etkiye neden olan mutajenik etkilerin varlığını ve kaynağını tespit etmeyi hedeflemektedir. Eğer göl suyunda mutajenik etkiler belirlenirse, bu bulgular daha kapsamlı çalışmaların yapılmasının yolunu açacaktır. Bu çalışma aynı zamanda, göl ekosisteminde ve insan sağlığında oluşan kanserojen etkilerin ortadan kaldırılması için ileride düzenlenebilecek çalışmalara öncülük etmeyi amaçlamaktadır.

AMES testinde, her bir istasyondan alınan 100 µl'lik örnekler kullanıldı. Deneyler, metabolik aktivasyon yokluğunda (S9'suz) *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları kullanılarak gerçekleştirildi. Yapılan mutajenite çalışmalarında 2022 yılında alınan suların 3. istasyonundan elde edilen örneklerde TA100 suşu üzerinde mutajenik etki tespit edilmişken, TA98 suşu üzerinde herhangi bir etki gözlemlenmemiştir. 2023 yılında alınan sular ise TA98 suşu üzerinde herhangi bir etki göstermemiştir. Ancak, TA100 suşu üzerinde alınan tüm istasyonlarda mutajenik etki belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler:

Çıldır Gölü, Ames Testi, *Salmonella typhimurium*, Mutajenite

ABSTRACT

Odabaş, Yunus Emre. *Investigation of Mutagenic Properties of Çıldır Lake Water*, Master's Thesis, Ardahan, 2024

In this study, the mutagenic properties of water taken from Çıldır Lake, located in the Çıldır district of Ardahan province, were investigated using the Ames test at four different stations. The aim of the study is to identify the presence and source of mutagenic effects that may have carcinogenic effects on humans consuming organisms from the lake, thereby affecting the lake ecosystem. If mutagenic effects are detected in the lake water, these findings will pave the way for more comprehensive studies. Additionally, this study aims to pave the way for future research aimed at eliminating carcinogenic effects in the lake ecosystem and human health.

In the AMES test, 100 µl samples were taken from each station. The experiments were conducted using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains without metabolic activation (S9). In mutagenicity studies, mutagenic effects were observed on the TA100 strain in samples obtained from the 3rd station in 2022, while no effects were observed on the TA98 strain. However, in the waters taken in 2023, no effects were observed on the TA98 strain, but mutagenic effects were detected on the TA100 strain in all stations.

Keywords:

Çıldır Lake, Ames Test, *Salmonella typhimurium*, Mutagenicity

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	ii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖN SÖZ.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
GİRİŞ	1
1.BÖLÜM.....	11
KURAMSAL TEMELLER.....	11
1.1.MUTASYONLAR	11
1.2.MUTASYON ÇEŞİTLERİ	12
1.2.1.Yapısal kromozom mutasyonları	12
1.2.1.1.Delesyon	12
1.2.1.2.Duplikasyon	12
1.2.1.3.İnversiyon	13
1.2.1.4.Translokasyon	13
1.2.2. Kromozom Mutasyonları	13
1.2.2.1.Sayısal kromozom mutasyonları.....	13
1.2.2.1.1.Euploidi.....	13
1.2.2.1.2.Anöploidi	14
1.3.GEN MUTASYONLARI	14
1.3.1.Gen Mutasyonlarının Özellikleri.....	15
1.3.1.1.Spontan ve Uyarılmış Mutasyonlar	15
1.3.1.2.Somatik ve Gametik Mutasyonlar	15
1.3.1.3.Morfolojik mutasyonlar	16
1.3.1.4.Biyokimyasal mutasyonlar	16

1.3.1.5.Letal mutasyonlar	17
1.3.1.6.Koşullu mutasyonlar	17
1.3.2.Gen Mutasyonlarının Çeşitleri	18
1.3.2.1.Baz değişimi mutasyonları.....	18
1.3.2.2.Sessiz, yanlış anlamlı ve anlamsız mutasyonlar	18
1.3.2.3.Çerçeve kayması mutasyonları	19
1.3.3.Gen Mutasyonlarının Sebepleri.....	19
1.3.3.1.DNA Replikasyonu Hataları	19
1.3.4.Mutajenler	20
1.3.4.1.Kimyasal mutajenler	21
1.3.4.1.1.Baz analogları	21
1.3.4.1.2.DNA’da baz değiştiren maddeler	21
1.3.4.1.3.DNA’dan baz çıkaran maddeler	22
1.3.4.1.4.Akridin boyalar	22
1.3.4.1.5.S.O.S bağımlı mutajenler	22
1.3.4.2.Fiziksel mutajenler.....	23
1.3.4.3.Biyolojik mutajenler	23
1.3.5.Mutajenite Testleri	23
1.3.5.1.Kromozom yapı bozukluğu testi (Chromosome Aberration = CA)	24
1.3.5.2.Kardeş kromatid değişimi (SCE) yöntemi	24
1.3.5.3.Mikronukleus (MN) testi	24
1.3.5.4.UDS yöntemi	25
1.3.5.5.Comet yöntemi.....	25
1.3.5.6.S.O.S kromotest	25
1.3.5.7.Transformasyon yöntemi	26
1.3.5.8.Ames / <i>Salmonella</i> / Mikrozom test yöntemi	26
1.3.6. <i>Salmonella typhimurim</i> ’un genetik özellikleri	27
1.3.6.1.Histidin mutasyonu	27
1.3.6.2.His G 46	28
1.3.6.3.His D 3052	28
1.3.6.4.His D6610	28
1.3.6.5.His G 428	28

1.3.6.6. Rfa.....	28
1.3.6.7. UvrB.....	29
1.3.6.8. R faktörü	29
2.BÖLÜM.....	30
YAPILAN ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	30
3.BÖLÜM.....	38
MATERYAL METOD	38
3.1.SALMONELLA TYPHIMURIUM TEST ŞUŞLARI.....	38
3.2.KİMYASALLAR.....	38
3.3.ÇALIŞMADA KULLANILAN ÇÖZELTİLER VE HAZIRLANIŞI.....	38
3.4.ÇALIŞMADA KULLANILACAK ÖRNEKLER.....	45
3.5.SALMONELLA SUŞLARININ KÜLTÜR HAZIRLIĞI VE MASTER PLAKALARININ OLUŞTURULMASI.....	46
3.6.GECELİK KÜLTÜR HAZIRLANMASI	46
3.7.SALMONELLA SUŞLARININ GENETİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ.....	46
3.7.1.Histidin Gereksinimi Kontrolü.....	47
3.8.TEST MADDELERİNİN SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ.....	47
3.9. AMES TESTİ UYGULAMA PROSEDÜRÜ	47
3.10. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	48
4.BÖLÜM.....	49
BULGULAR.....	49
4.1.SU ÖRNEKLERİNDEN ELDE EDİLEN TA98 VE TA100 MUTAJENİTE SONUÇLARI	49
SONUÇ.....	51
KAYNAKÇA	54
EKLER.....	63
EK 1. ORİJİNALLİK RAPORU FORMU	63
EK 2. ETİK KURUL MUAFİYET FORMU.....	64
ÖZ GEÇMİŞ.....	65

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrad derece
m	Metre
m ³	Metreküp
km ²	Kilometrekare
ml	Mililitre
µm	Mikrometre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
mm	Milimetre
mM	Milimolar
ml	Mililitre
mµ	Milimikron
N	Normal
nm	Nanometre
s	saniye

Kısaltmalar	Açıklama
A	Adenin
C	Sitozin
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
EMS	Etilmetansülfonat
HB	Histidin Biyotin
HBA	Histidin Biyotin Ampisilin
G	Guanin
His	Histidin
his-	Histidin sentezleyemeyen
his+	Histidin sentezleyebilen

MGA	Minimal Glikoz Agar
mRNA	mesajcı Ribonükleik asit
NA	Nutirent Agar
NB	Nutrient Broth
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
T	Timin
VB	Vogel-Bonner
S9	Metabolik aktivasyon sağlayan rat karaciğeri mikrozomal enzimleri
EMS	Etilmetansülfonat
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
PCB	Poliklorlu Bifeniller

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü Perspektifine Göre Sularda Kirletici Etkilere Yol Açabilen Faktörler (Tan, 2006; Soylu, 2012)	4
Tablo 2. Çevre Kirliliğini Tespit Etmek İçin Kullanılan Yöntemler (Boğa ve diğerleri, 2006; Soylu, 2012).....	4
Tablo 3. Su Ürünleri Toksisitesi Testleri (Slabbert ve Venter, 1999; Soylu, 2012).....	5
Tablo 4. Çıldır Gölü Üzerinden 2022 yılında 4 farklı istasyondan alınan su örneklerinin mutajenite analiz sonuçları.....	49
Tablo 5. Çıldır Gölü Üzerinden 2023 yılında Çeşitli istasyonlardan alınan su örneklerinin mutajenite analiz sonuçları	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.Çıldır Gölü Genel Yerleşim Krokisi.	7
Şekil 2. Ames Testi Uygulanması ve Mutajenik Kolonilerin Tespiti (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011)	26
Şekil 3. Çıldır Gölün'den Su Örneklerinin Alındığı İstasyonlar	45



GİRİŞ

Su, çevrenin kritik bir unsuru olarak öne çıkar ve yaşamın devamı için vazgeçilmezdir. İnsanlar için yüzey suyu, içme suyu temini, tarımsal faaliyetler, endüstriyel kullanım ve aynı zamanda spor ve eğlence amacıyla gereklidir. Bu nedenle, tatlı su ve deniz suyu kalitesi hakkında bilgi edinmek hayati önem taşır. Odak noktamız, bu sulara var olan mutajenik ve kanserojen maddeleri keşfetmektir. Gerçekten de yüzey sularının genotoksitesisi, şu anda bilim insanlarının yoğun ilgi gösterdiği bir konudur (Kataoka ve diğerleri, 2000) .

Son yıllarda, kentsel nüfusun artışı ve yoğun endüstri faaliyetleri, yapay kimyasalların üretiminde ve kullanımında hızlı bir artışa neden olarak su ekosistemlerini çeşitli kirlenici maddelere maruz bırakmış ve kirliliği hızla artırmıştır. Bu durum, doğrudan tüm canlıları olumsuz etkileyen ve sağlıklarını tehdit eden bir çevre kirliliği sorununu ortaya çıkarmıştır. Sanayileşme, çeşitli ilaçlar, besin katkı maddeleri (renklendiriciler ve tatlandırıcılar) ve tarım süreçlerinde kullanılan kimyasal bileşenler gibi unsurlar, çevre kirliliğine önemli ölçüde katkıda bulunan faktörler arasında yer almaktadır. Bu nedenle, artan nüfus ve endüstri faaliyetleriyle birlikte, çevre kirliliğinin etkileri giderek daha belirgin hale gelmektedir (Çetiner, 2012; Egüz ve diğerleri, 2023).

Nehir ve göl sularının kentsel ve endüstriyel kaynaklı kimyasal bileşenlerle kirlenmesi, ekotoksikolojik bir risk oluşturma potansiyeline sahiptir. Akarsu sedimenti, sucul ortamlarda bulunan kirlenicilerin ikincil bir kaynağı olarak görev yaparak içinde ağır metalleri barındırır (Cığerci ve diğerleri, 2007; Vargas ve diğerleri, 2001).

Günümüzde, çeşitli sektörlerde birçok kimyasal madde kullanılmakta ve sürekli olarak yeni kimyasallar üretilmektedir. Bu durum, insanların doğrudan veya dolaylı yollarla bu kimyasal maddelerle karşılaşmasına ve etkilenmesine neden olmaktadır. Tarımda kullanılan herbisitler, böcek öldürücü pestisitler ve bu tür kimyasalların artıkları, bitkiler aracılığıyla insanlara iletilmektedir. Kentleşme süreciyle birlikte, evsel artıklar ve endüstriyel atıklar özellikle sulara salınarak çevreye zarar verebilmekte ve insan sağlığını tehlikeye sokmaktadır. Kimyasal maddelerle kirlenmiş nehir ve göl sularının yer altındaki su kaynaklarına karışmasıyla birlikte, tarımsal sulama amacıyla kullanıldığında, çeşitli kimyasal maddelerin insan besin zincirine geçebilme potansiyeli bulunmaktadır (Ateş, 2015).

Birçok araştırma, endüstriyel, tarımsal veya evsel faaliyetlerin bir sonucu olarak dünya genelinde birçok mutajenik bileşiğin nehirlerle yayıldığını göstermiştir. Bu kirli sular, genellikle içme suyu üretimi için kullanılan kaynak sularıdır veya doğrudan tarımsal ve endüstriyel amaçlar için kullanılırlar. Bu durum, su kaynaklarının mutajenlerle kirlenmesinin hem içme hem de kullanma suyu temini açısından insanlar için ve sucul organizmaların ekolojik güvenliği açısından önemli sonuçlara yol açabileceği anlamına gelir (Ohe ve diğerleri, 1999).

Bilindiği üzere, farkında olmadan veya bilinçsizce doğaya salınan çeşitli kimyasal bileşikler, çevre kirliliğine sebep olmaktadır. Kıyı bölgelerinde, diğer kirleticilerin yanı sıra ağır metal kirliliği de küresel öneme sahip ciddi bir risk oluşturmaktadır (Kamalakannan ve diğerleri, 2008).

Organoklorin bileşiklerinden herbisitlere, evsel ve kentsel atıklara, petrol ürünlerinden ağır metallere kadar çeşitli kimyasal kirleticilerin, düşük seviyelerde salınmalarına rağmen okyanus ve deniz ortamını olumsuz etkilediği kabul edilmektedir (Haynes ve Johnson, 2000; Pinto ve diğerleri, 2003).

Su ekosistemleri, çeşitli kirleticilere maruz kalmaktadır. Giderek artan kent nüfusu ve yoğun endüstriyel faaliyetlerle birlikte hızla artan üretim ve yapay kimyasalların kullanımı nedeniyle, son yıllarda kirlilik hızla artmaktadır (Egüz ve diğerleri, 2023).

İnsan sağlığına ve çevreye etkisi olan kimyasalların belirlenmesi çevre ve tıp biliminin önemli bir araştırma konusudur. Çevrede kirletici olarak bulunan kimyasalların kanserojen ve mutajenik etkilerinin kaynakları sağlık riskleri oluşturduğu için araştırılması büyük önem taşımaktadır. Endüstriyel ve tarımsal faaliyetler, mutajenik ve kanserojen maddelerin temel kaynaklarıdır. Bu kaynaklardan ortaya çıkan ksenobiyotikler zamanla su ekosistemleriyle etkileşime geçmektedir. Ksenobiyotikler, çevreyle ilişkilendirilen yabancı kimyasalları ifade eder ve bu kategori içinde PAH'lar, PCB'ler, dioksinler, dibenzofuranlar, organometaller, arilaminler, nitroaromatikler, organofosfatlar, ftalat esterler, organoklorinler gibi çok çeşitli maddeler bulunmaktadır (Sheehan, 2007; Livingstone, 1993; Egüz ve diğerleri, 2023).

PAH'lar, içerisinde iki veya daha fazla aromatik halkayı bulunduran, yarı uçucu organik bileşiklerdir. Yarı uçucu özellikleri, bu bileşiklerin atmosfer, toprak ve su kütlelerinde birikmelerine neden olur ve bu birikimler sürekli olarak yer değiştirme eğilimindedir, bu da bu bileşiklerin bu ortamlarda buharlaşma yoluyla dolaşmalarına yol

açar. Sedimentler, su ortamındaki en önemli PAH depolama alanları arasında yer almaktadır. Bu nedenle, sedimentler, sucul ekosistemlerindeki kirlilik değerlendirmelerinde yaygın olarak kullanılmakta ve nehir, dere, göl ve kıyı sistemleri gibi bölgelerde PAH girdilerinin izlenmesi için faydalı bir araç olarak görülmektedir. Bu tür sistemlerde sedimentlerde biriken PAH'lar, hem insan kaynaklı hem de doğal emisyonlardan kaynaklanmaktadır. PAH'lar özellikle organik yakıtların eksik yanması gibi antropojenik süreçlerden türemektedir. PAH'lar, atmosferde yaygın bir şekilde yayılmış durumda ve orman yangınları ile volkanik patlamalar gibi doğal olaylar da bu çevresel varlığa katkıda bulunuyor (Güneş, 2022).

Doğal çevrelerde mutajenlerin belirlenmesi son derece önemlidir. Mutajenler kanser oluşumuna neden olabilir, gelecek nesillerde negatif genetik değişikliklere yol açabilir ve üreme fonksiyonları üzerinde olumsuz etkileri olabilir (Ciğerci ve diğerleri, 2007).

İnsan beslenmesinde önemli bir rol oynayan sucul organizmalarda, yüksek miktarlarda kanserojen ve mutajen maddelerin bulunması, bu tür maddelerin genotoksik etkilerinin izlenmesini, insan sağlığı açısından önemli bir konu haline getirir (Boyacıoğlu, 2004).

Temiz ve erişilebilir su, küresel nüfus ve yaşam kalitesini direkt etkileyen önemli bir konudur. Endüstriyel teknolojinin ilerlemesiyle birlikte su, hava ve toprak sağlığına zarar veren kirleticilerle kirlenme, insanlığın karşı karşıya olduğu ciddi bir toksikolojik sorundur. Günümüzde, kullanılabilir tatlı su kaynaklarının kısıtlı olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra, tarım alanlarının düşüncesizce kullanılması da sorunu daha da derinleştirmektedir (Çetiner, 2012; Mumcu, 2005).

Bu kirlilikler, doğrudan veya dolaylı olarak tüm canlıların günlük yaşamlarını olumsuz etkilemekte ve çevre kirliliği toplumlar için ciddi bir mesele haline gelmektedir. Doğal veya sentetik kimyasal maddeler, canlıların zarar görmesine yol açan sorunların başında gelmektedir (Akyıl, 2006).

Sularda kirletici etkileri belirlemek amacıyla, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sınıflandırma yöntemleri esas alınarak 9 ayrı kategori tespit edilebilir.

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü Perspektifine Göre Sularda Kirletici Etkilere Yol Açabilen Faktörler (Tan, 2006; Soylu, 2012)

1. İnorganik kirleticiler
2. Sentetik organik kirleticiler
3. Bitkilerin anormal büyümesine neden olan kirleticiler
4. Zirai mücadele ilaçları
5. Salgın hastalıklara neden olan kirleticiler (mikroorganizmalar)
6. Organik kirleticiler
7. Sediment kökenli kirleticiler
8. Radyoaktif kirleticiler
9. Atık ısının meydana getirdiği kirlenmeler

Kimyasal maddelerin birçoğu canlıların DNA'sıyla etkileşerek DNA'ya zarar verebilme özelliğine sahiptir. Bu durum mutasyonlara ve sonuç olarak kansere yol açabilir (Çetiner, 2012).

Çevremizde sağlık açısından önemli olan ve biyolojik etkilerini henüz bilmediğimiz milyonlarca yapay ve doğal madde bulunur ve bunların birçoğu çevre kirliliğine neden olur. Bu çevre kirliliğinin saptanmasında kullanılan çeşitli yöntemler vardır (Tablo 2). Ayrıca sucul ortamda toksik maddelerin varlığını belirleyen çeşitli testlerde mevcuttur (Tablo 3).

Tablo 2. Çevre Kirliliğini Tespit Etmek İçin Kullanılan Yöntemler (Boğa ve diğerleri, 2006; Soylu, 2012)

1. Ames Testi
2. Tam Embriyo Kültürü
3. Drosophila Testi
4. Planarya (Yassı Solucan) Testi
5. Hydra (Tatlı Su Polipi) Testi
6. Mikromas (MM) Tekniği
7. Xenopus Laevis ve Kurbağa Embriyo Teratogenezis Testi [FETAX Test (Frog Embryos Teratogenesis Assay: Xenopus)]
8. Kurbağa Embriyo Teratogenezis Testi [FETAX Test (Frog Embryos Teratogenesis Assay: Xenopus)]

Tablo 3. Su Ürünleri Toksisitesi Testleri (Slabbert ve Venter, 1999; Soylu, 2012)

1. Ames <i>Salmonella</i> Mutajenite Testi
2. Fish (<i>Poecilia reticulata</i>) Letalite Testi
3. <i>Daphnia pulex</i> Letalite Testi
4. Protozoa (<i>Tetrahymena pyriformis</i>) Oksijen Alımı İnhibisyon Testi
5. Algal (<i>Seleastrum capricornutum</i>) Büyüme İnhibisyon Testi
6. Bakteriyel (<i>Pseudomonas putida</i>) Büyüme İnhibisyon Testi
7. Üreaz Enzim İnhibisyonu Testi
8. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyon Testi
9. Toad (<i>Xenopus Laevis</i>) Embriyo Teratogenezis Testi

Aslında, kimyasal maddelerin kanserojen potansiyelini belirlemek için en uygun yöntem, laboratuvar hayvanlarında tümör oluşumunu değerlendirmektir. Ancak, bu deneylerin maliyeti yüksek olabilir ve zaman alıcıdır. Bu nedenle, son yıllarda canlı hayvan deneylerinin yerine, kimyasal maddelerin kanserojenik potansiyelini ölçmek amacıyla çeşitli bakteriyel sistemler laboratuvar ortamında geliştirilmiştir. Bakteriyel testler, bakterilerin hızlı bir şekilde çoğalabildiği basit üreme ortamlarında uygulanabilme kolaylığı ve pratikliği nedeniyle tercih edilmektedir. Bu hızlı sonuç veren testlerle, kimyasal maddelerin spesifik genetik özelliklerin üzerindeki etkiler ölçülmekte ve elde edilen sonuçlar, bu maddelerin kanserojen potansiyelleri ile ilişkilendirilmektedir (Çetiner, 2012).

Kimyasal maddelerin genetik yapı üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla geliştirilen Ames testi, Dr. Bruce Ames tarafından ortaya konmuş bir bakteriyel test sistemidir ve genotoksik etkisi en iyi bilinen kısa süreli test sistemlerinden biridir. Bu test sistemi, geçerliliği en yüksek kabul edilen bir yöntemdir (Çetiner, 2012; Ciğerci ve diğerleri, 2007).

Bu test, kısa sürede sonuç vermesi, düşük maliyetli olması ve yaygın uygulanabilirliği gibi özellikleri sayesinde sıkça kullanılan ve detaylı bir şekilde karakterize edilmiş bir testtir (Çetiner, 2012).

Bu çalışmada, Çıldır Gölü suyunun mutajenik özelliklerini belirlemek amacıyla Ames *Salmonella* mutajenite testini seçtik. Göller, tatlı su rezervleri olmalarıyla birlikte, yeraltı sularını desteklemeleri, iklim üzerinde olumlu etkileri ve çevresel koşulları düzenleme gibi özelliklere sahip kritik ekosistemlerdir (Hou ve diğerleri, 2013). Ancak,

göller, sürekli alıcı niteliklerinden dolayı, kirlilikten birincil düzeyde etkilenme eğilimindedirler (Mutlu ve diğerleri, 2014). Gelişmekte olan ülkelerde, özellikle kendi ülkemizde, yüzey su kaynakları sadece içme ve sulama suyu olarak değil, ayrıca deşarj alanı olarak da kullanılmaktadır (Mutlu ve Tepe, 2014). Bu durum, teknik ve demografik ilerlemelere paralel olarak artan bir sorun olup, göl ekosistemlerini diğer ekosistemler gibi olumsuz etkilemektedir. Gün geçtikçe, birçok kirletici göl ekosistemlerinde birikim ve yayılma alanı olarak etki göstermektedir. Hızlı kentleşme, endüstrileşme, tarımsal uygulamalar ve kömür yakma gibi faaliyetler, toprak, su, özellikle halkın kullanımındaki su kaynakları, sokak tozları, sediment, sucul organizmalar ve besin zincirinde ağır metal birikiminin öncelikli sorumluları olarak kabul edilmektedir (Yang ve diğerleri, 2014; Tao ve diğerleri, 2012; Cheng ve diğerleri, 2015; Yi ve diğerleri, 2011).

Ardahan ili sınırları içerisinde bulunan Çıldır Gölü, 41° 12" K enlemi ve 43° 12" D boylamında konumlanmıştır. Doğu Anadolu bölgesinde yer alan bu göl, Van Gölü'nden sonraki en büyük göl olarak bilinmektedir. Çıldır Gölü, 124 km²'lik bir yüzölçümüne sahip olup, konumu Kısır Dağı ile Akbaba Dağı arasındadır. Gölün havzası yaklaşık 640 km² büyüklüğündedir ve etrafında kırsal yerleşim yerleri ve yoğun hayvancılığın olduğu tarımsal faaliyetler göze çarpmaktadır. Göl ile Çıldır Ovası arasında kuzey-batı yönünde uzanan Singer sırtları bulunur. Bu dağ sırtları, Çıldır Gölü ve Çıldır Ovası arasında ayırım yapar. Göl, etrafını çevreleyen yüksek dağlarla çevrilidir ve bu sebeple Çıldır tarafı daha düz bir yapıya sahiptir. Bu tarafında, ince düzlükler ve kumlu plajlar göze çarpar (Zengin ve diğerleri, 2012; Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği İl Müdürlüğü Ardahan, 2021).

Çıldır Gölü'nün batısında yer alan Kısır Dağı ile doğusundaki Akbaba Dağları'ndan kaynaklanan 12 ila 13 adet küçük çay ile beslenen göl, bu çaylar aracılığıyla hem kar suları hem de sürekli ya da mevsimlik akan derelerden su alır. Bu akarsular, Gölü besleyerek içerdikleri tatlı suyla önemli bir su kaynağı oluştururlar (Zengin ve diğerleri, 2012).

Batı yönünde, Gölebakan ve Gölbelen Çayları; güneybatıda, Gülyüzü Çayı; güneyde, Taşköprü ve Taşbaşı Köyleri arasında konumlanan Lavaşın Gölü'nden gelen su, bir tünel aracılığıyla göle taşınmaktadır. Aynı şekilde, doğuda bulunan Çanaksu ve Göldalı Köyü'nden gelen küçük çaylar ve gölün kuzeydoğusunda yer alan Doğruyol Köyü'nden gelen Çingil Deresi de göle su sağlamaktadır. Ayrıca, Karakale, Damlıca ve

göç ederler. Çıldır Gölü, balık açısından son derece zengin bir su kaynağıdır (Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği İl Müdürlüğü Ardahan, 2021).

Çıldır Gölü'nde tespit edilen 15 farklı balık türü arasında *Cyprinus carpio*, *Leuciscus aspius*, *Salmo caspius*, *Alburnus filippii*, *Alburnoides eichwaldii*, *Luciobarbus mursa*, *Barbus lacerta*, *Capoeta capoeta*, *Chondrostoma cyri*, *Squalius turcicus*, *Oxynoemacheilus brandtii*, *Oxynoemacheilus cyri*, *Oxynoemacheilus araxensis*, *Scardinius erythrophthalmus* ve *Carassius gibelio* yer almaktadır (Çakır, 2015).

Bu balık türlerinin yaşadığı gölde, faaliyet gösteren iki kooperatif bulunmaktadır. Bunlardan biri Ardahan İl'ine bağlı Akçakale Su Ürünleri Kooperatifi, diğeri ise Kars İl'ine bağlı Doğruyol Su Ürünleri Kooperatifi'dir. Bu kooperatifler, 1990'lı yılların öncesinde kurulmalarına rağmen yönetim ve mali sorunlar nedeniyle zayıflayarak 1990'lı yılların başında kendi kendilerini fesih etmişlerdir. Bu durum, aşırı borçlanma ve göldeki balık avcılığı faaliyetlerini sürdürme konusundaki zorluklarla ilişkilidir. O dönemde kayıtlı balıkçı sayısı 16 kişi idi. Günümüzde ise her iki kooperatifin toplam ortak sayısı 58'dir. Bu ortaklardan 32'si aktif bir şekilde balık avcılığı yapmakta ve her iki kooperatifin sahip olduğu tekneler aracılığıyla gölden faydalanmaktadır. Ardahan ve Kars Tarım İl Müdürlükleri tarafından ruhsatlandırılmış toplam 18 motorlu ve 14 motorsuz balıkçı teknesi bulunmaktadır. Tekne boyutları 6 metreyi geçmemektedir. Kooperatifler, geçmişteki zorluklardan ders çıkararak günümüzde daha sürdürülebilir bir şekilde faaliyet göstermektedirler (Zengin ve diğerleri, 2012).

Göl havzası kuzeyde, 2.000 m ila 2.150 m arasındaki rakımlarda, doğu-batı doğrultusunda uzanan bir volkanik sırtla sınırlandırılmıştır. Kışların sert geçmesiyle yaklaşık 6 ay boyunca donan gölün yüzeyi 1.959 m yükseklikte bulunuyor. Uzun kuzey-güney eksen 18,3 km, kısa eksen ise doğudan batıya 16,2 km olan üçgen bir şekle sahiptir. Gölün fazla suları Arpaçay Nehri'nin güneydeki kuzey kolu olan Çarçı Çayı tarafından deşarj edilmektedir. Her ne kadar kentleşme ve sanayi olmasa da fosil yakıt kullanımı ve tarımsal faaliyetler nedeniyle Çıldır Gölü yüzey çökeltilerinde antropojenik kaynaklı ağır metal kirliliğinin varlığını ortaya konmuştur. Çıldır gölü çevresinde yılın büyük bölümünde enerji kaynağı olarak yakıtlar kullanılmakta ve yerleşim yerlerinden kaynaklanan evsel atıklar doğrudan göle deşarj edilmektedir (Kükrer ve diğerleri, 2014).

Gölü kirlüten unsurlar arasında öncelikle Aşık Şenlik kasabasından gelen drenaj kanalı önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bu kanal, göle ciddi miktarda azotlu ve organik

atığı taşımaktadır. Buna ek olarak, Akçakale köyü de göle olan yakınlığı nedeniyle dikkate değer bir kirletici unsurdur. Bu köyde yoğun bir hayvancılık faaliyeti yürütülmekte olup, hayvan atıkları, dışkıları ve insanların çöpleriyle birlikte göle karışan atıkların, yağmur ve kar sularıyla birlikte göle taşındığı gözlemlenmektedir. Ayrıca, köylerden gelen evsel atıklar da gölü tehdit eden unsurlar arasında yer almaktadır. Bu faktörlerin bir araya gelmesiyle göl, çeşitli atıkların etkisi altında kalarak ciddi bir kirlilikle karşı karşıya kalmaktadır (Kırpık, 2023).

Bu nedenle Çıldır Gölü suyunun mutajenik özelliklerinin araştırılması, çevresel sağlık açısından büyük öneme sahiptir. Göl suyu kalitesi, insan sağlığı üzerinde doğrudan etkilere sahiptir. Mutajenik maddeler, genetik materyali etkileyerek potansiyel sağlık sorunlarına neden olabilir. Bu nedenle, Çıldır Gölü suyundaki mutajenik özelliklerin araştırılması, bölgede yaşayan insanların sağlığını korumak için önemli bir adımdır.

Ayrıca, Çıldır Gölü suyunun mutajenik özelliklerinin araştırılması, ekosistem sağlığı ve biyolojik çeşitlilik açısından da büyük bir öneme sahiptir. Göl, birçok canlı türünün yaşam alanıdır ve mutajenik maddeler su ekosistemlerinde biyolojik çeşitliliği olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle, göl suyundaki mutajenik etkilerin araştırılması, gölde yaşayan bitki ve hayvan türlerinin korunması ve ekosistem sağlığının sürdürülmesi açısından kritik bir adımdır.

Çıldır Gölü, su kaynakları açısından da büyük bir öneme sahiptir. Mutajenik maddelerin varlığı, su kaynaklarının sürdürülebilirliğini tehdit edebilir ve suyun kullanımını kısıtlayabilir. Bu nedenle, Çıldır Gölü suyunun mutajenik özelliklerinin araştırılması, su kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımının sağlanması için hayati bir öneme sahiptir.

Araştırmanın bir diğer önemi, çevresel sorunların belirlenmesidir. Mutajenik maddeler, genellikle çevresel kirlilik ve kirleticilerin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Çıldır Gölü suyundaki mutajenik etkilerin araştırılması, çevredeki potansiyel kirleticilerin belirlenmesine yardımcı olabilir. Bu veriler, koruyucu önlemlerin alınmasına ve çevresel sorunların çözümüne yönelik adımların atılmasına katkıda bulunabilir.

Son olarak, Çıldır Gölü suyunun mutajenik özelliklerinin araştırılması bilimsel bilgi birikiminin artırılmasına katkıda bulunur. Bu araştırma, göl suyu kalitesi, çevresel riskler ve sağlık üzerindeki etkiler gibi konuları daha iyi anlamamızı sağlar. Elde edilen veriler, çevresel sağlık, ekosistem sağlığı, su kaynaklarının sürdürülebilirliği ve bilimsel bilgi

birikimi açısından benzer çevresel sorunlara çözüm bulmak için kritik bir adımdır. Daha önce Çıldır gölü üzerinde mutajenik özelliklerin belirlenmesine yönelik yapılmış herhangi bir çalışma olmaması bakımından çalışmamız özgün bir değer taşımaktadır.



1.BÖLÜM

KURAMSAL TEMELLER

1.1.MUTASYONLAR

Mutasyonlar, DNA'da yer alan genetik kodun otomatik olarak veya çeşitli etkenlerin etkisiyle ortaya çıkardığı kalıtsal değişikliklerdir. Bu tür değişiklikleri taşıyan birey yada hücreye genellikle mutant denir, mutasyona sebep olan faktörlere ise mutajen adı verilir. Ayrıca, canlılarda genetik materyalin miktarı, organizasyonu veya içeriğinde ani ve rastgele olarak meydana gelen kalıtsal değişimler de mutasyon olarak adlandırılır (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Mutasyon terimi, Hugo De Vries'in 1901 yılında *Oenothera lamarckiana* bitkisiyle yaptığı çaprazlamalar sırasında gözlemlediği farklılık için kullanılmıştır. Bu terim, bir genin varlığının sadece bir mutasyonla değiştiği ve bu değişikliğin fenotipe yansıdığına fark edilebilir hale geldiğini ifade eder (Klug ve Cummings, 2003).

Mutasyonlar, genetik biliminin temel yapı taşlarını oluşturur. Yapılan araştırmalar, genler hakkında daha ayrıntılı bilgiler edinmeyi ve genetik mekanizmaların işleyişini daha iyi anlamayı mümkün kılmıştır (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Mutasyonlar, doğal şartlarda ortaya çıkabileceği gibi, fiziksel ve kimyasal etkiler tarafından da yapay olarak oluşturulabilir. Bu faktörlere mutajen denir ve genellikle doğal mutasyonlardan daha yüksek bir mutasyon hızına sahiptir. Mutasyon sonucunda ortaya çıkan değişime mutant adı verilir (Baydar, 2013). Kalıtsal değişikliklere yol açan mutasyonlar, çok hücreli ve cinsel üreyen organizmaların üreme hücrelerinde meydana gelmelidir. Somatik dokudaki mutasyonlar bireyin fenotipinde gözlemlenebilir, ancak üreme hücrelerine aktarılamadıkları için sonraki nesillerde ortadan kalkarlar (Öztürk, 2013).

Mutasyonları sınıflandırmayı kolaylaştırmak için genellikle kromozomların miktarı veya yapısındaki değişikliklerle ilişkilendirilir. Bu değişiklikler, hücresel düzeyde kromozom seviyesinde gözlemlenmeyebilir, ancak bireyin fenotipindeki farklılıklar aracılığıyla tespit edilebilirler (Efecan, 2014).

1.2.MUTASYON ÇEŞİTLERİ

Genetik mutasyonlar genellikle iki temel kategoride değerlendirilir: Gen mutasyonları ve Kromozom mutasyonları. Kromozom mutasyonları içinde ise kromozom sayısal değişiklikler ve kromozom yapısal değişiklikler olarak iki ana grupta incelenir.

1.2.1.Yapısal kromozom mutasyonları

Kromozomların yapısında meydana gelen değişiklikler, genomdaki değişikliklere neden olabilen olaylardır. Bu tür durumlarda, kromozom sayısı değişmese de kromozomlarda bazı parçaların eksilmesi, çoğalması veya yer değiştirmesi gibi değişiklikler meydana gelir ve bu değişikliklerle kalıtsal materyal değişime uğrar (Mumcu, 2015).

Yapı değişikliklerinde, kromozomda veya kromatidlerden birinde bir veya birden fazla noktada kopma oluşur. Bu kopmalar, spontan olarak meydana gelebileceği gibi X, gama ışınları, UV ışık, çeşitli kimyasal maddeler gibi çeşitli dış etkenler tarafından da tetiklenebilir (Mumcu, 2015).

1.2.1.1.Delesyon

Delesyon, bir kromozom parçasının kaybedilmesini ifade eder ve bu durumda bir ve birden fazla gen kaybolur. Haploit canlılarda genellikle ölümcül olabilir, çünkü kaybolan genler homolog kromozomda bulunmaz. Bununla birlikte, diploit canlılarda, homolog kromozomlar genellikle kayıp genlerin etkisini telafi edebilir, bu nedenle delesyonun ölümcül olması daha az olasıdır. Bu durum her zaman aynı sonuçları doğurmaz. İnsanlarda, özellikle erkeklerde (X ve Y) gonozomlar homolog olmadığı için bu tür delesyonlar genellikle ölümcüldür. Delesyonun konumuna bağlı olarak terminal ve interkalar olmak üzere farklı tipleri vardır. Kedi çılgılığı sendromu olarak bilinen özel bir delesyon durumu, beşinci kromozomun kısa kolunun kaybıyla ilişkilidir (Çetiner, 2012).

1.2.1.2.Duplikasyon

Bir başka yapısal kromozom mutasyonu, kromozomun herhangi bir parçasının fazla sayıda olması durumuna "duplikasyon" adı verilir. Örneğin, *Drosophila*'da gözlemlenen Bar duplikasyonu gibi örnekler bulunmaktadır. Delesyonun tersine, bir parçanın

çoğalması durumu söz konusudur ve bu nedenle, duplikasyonlu kromozom taşıyan hücrelerde bazı genlerin fazladan bulunduğu dölde ortaya çıkar (Mumcu, 2015).

1.2.1.3.İnversiyon

Kromozom parçasının koparak ters yönde yeniden eklenmesiyle oluşan bir mutasyon türüdür. Bu durumda kromozomun içeriği değişmez, ancak gen sıralaması değişir. Bu nedenle genetik bilgide farklılık ortaya çıkmaz. Fakat mayoz bölünme esnasında, homolog kromozomlar sinapsis yaparken (inversiyon nedeniyle bölgelerin sıralanışının değiştiği durumda), aynı bölgeler karşı karşıya gelmez. Bu durumda, inversiyon çıkıntıları oluşur (Çetiner, 2012).

1.2.1.4.Translokasyon

Kromozom yer değişimi, homolog olmayan kromozomlar arasında meydana gelen bir durumdur ve bilimsel olarak "translokasyon" olarak adlandırılır. Bazı hastalıkların nedenlerinden biri, örneğin Down sendromu, 21. kromozomun D grubundan bir kromozoma eklenmesi, özellikle 14. kromozoma, bir translokasyon örneğidir (Mumcu, 2015).

1.2.2. Kromozom Mutasyonları

Kromozom mutasyonları, kromozom sayısal değişiklik mutasyonları (birkaç kromozomu etkileyebilen) ve Kromozom yapısındaki değişiklik mutasyonları (kromozom yapısında meydana gelen değişiklikler) olmak üzere iki temel kategoride ele alınır (Çetiner, 2012).

1.2.2.1.Sayısal kromozom mutasyonları

1.2.2.1.1.Euploidi

Kromozom sayısının temel takımına monoploid sayı denir. Kromozom sayısı, temel kromozom sayısının tam katları kadar arttığında veya azaldığında, öploidi olarak adlandırılan bir durum ortaya çıkar (Çetiner, 2012; Ateş, 2011).

Poliploidi, öploidi bir durumdur ve temel kromozom sayısının ikiden daha fazla olmasıyla ortaya çıkar ($2n$, $3n$, $4n$, $5n$ vb.). Monoploid (n) bireyler, temel kromozom

sayısına eşit miktarda kromozoma sahiptir, triploid ($3n$) bireyler üç katı, tetraploid ($4n$) bireyler ise dört katı kromozoma sahiptir. Öploidide temel bir kusur, çekirdek bölünmesinin hücrede gerçekleşmesine rağmen sitoplazma bölünmesinin olmaması olarak bilinen endomitozdur (Çetiner, 2012; Ateş, 2011).

Endomitoz durumunda, kromozomlar büyük bir çoğalma gösterir. Ancak, mitoz bölünmenin metafaz ve profaz aşamaları gerçekleşirken anafaz ve telofaz evreleri meydana gelmez. Hücre ve sitoplazma bölünmesi (sitokinez) de gerçekleşmez. Bu nedenle, her bölünme sonucunda kromozom sayıları katlanarak artar (Çetiner, 2012).

Poliploidi, otopoliploidi ve allopoliploidi olmak üzere ikiye ayrılır. Otopoliploid durumunda, poliploidin taşıdığı genomlar, tamamı aynı türden gelir. Allopoliploid durumunda, poliploidin içerdiği genomlar, bir kısmı bir türden, diğer bir kısmı ise farklı bir türden gelir. Bu durumda melez bir poliploid söz konusudur (Çetiner, 2012).

1.2.2.1.2. Anöploidi

Bir takımdaki kromozomların miktarının farklılaşmasına anöploidi denir. Bu durum, mitoz ve mayoz bölünmelerindeki anormallikler (nondisjunction) sonucu ortaya çıkar. Anöploidinin farklı tipleri ve çeşitleri bulunmaktadır (Öztürk, 2013).

Monozomi, diploid bir organizmada bir kromozomun eksik olduğu durumu ifade eder. Örneğin, Turner sendromu olarak bilinen durumda bir kromozomun eksik olduğu gözlenir (Klug ve Cummings, 2003).

Nullizomi, bir organizmada bir kromozomun homologuyla birlikte eksik olduğu durumu ifade eder. Bu durum, aynı türden bir kromozomu eksilmiş iki anöploid ($n - 1$) gametin birleşmesi sonucu oluşan bireylerde gözlenir (Baydar, 2013).

Bir takımdaki kromozomların sayısının bir veya fazlasının artış göstermesi durumunda ortaya çıkan bir olaydır. Bu durum, trizomi (Down ve Patau sendromları gibi) veya tetrazomi gibi isimlerle adlandırılır ve kromozom sayısına bağlıdır (Klug ve Cummings, 2003).

1.3. GEN MUTASYONLARI

Mutasyonlar, genlerin konumlarında değişiklik olmaksızın sadece yapılarında meydana gelen değişimleri ifade eder. Bu tür mutasyonlar kromozomların morfolojik

özelliklerini değiştirmezler. Mutasyonlar, moleküler düzeyde dört farklı değişim türünden kaynaklanır (Dilek, 2004).

1.3.1.Gen Mutasyonlarının Özellikleri

Gen mutasyonları, genellikle geniş bir çeşitlilik gösterdikleri için çeşitli sınıflandırmalara tabi tutulurlar ve bazı mutasyonlar birden fazla kategoride yer alabilir. Temel gen mutasyon kategorileri genellikle bilinmektedir ve aşağıda açıklanmıştır (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.1.1.Spontan ve Uyarılmış Mutasyonlar

Kendi kendine ortaya çıkan mutasyonlara, çevresel etkenlerin doğrudan etkisi olmadan geręekleşenlere spontan mutasyonlar denir.Bu kategoriye, geğmişte ilk kez tanımlanan ve incelenen mutasyonlar da dahildir. Spontan mutasyonların çoğu, genlerin nükleotit dizilerinde DNA replikasyon süreci sırasında meydana gelen değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Bu genetik değişiklikler, kodlanan proteinlerin amino asit dizisine değişik şekillerde yansıyabilir. Spontan mutasyonlar, bazen proteinlerin biyolojik fonksiyonlarını tamamen kaybetmelerine neden olabilen kritik amino asit değişiklikleri ortaya çıkarabilirken, bazen proteinin işlevini etkilemeyen zararsız amino asit değişiklikleri veya aynı amino asidin kodlanması mümkün olabilir. Spontan mutasyonların ortaya çıkma sıklığı genellikle düşüktür ve farklı organizmalarda değişkenlik gösterir. Örneğin; *E. coli* bakterisinde replikasyon esnasında her 100 milyon nükleotidde 1 ($1/10^8$) hata olasılığı bulunurken, insanlarda spontan mutasyon oranının daha yüksek olduğu ($1/10^6$ ve $1/10^5$) tespit edilmiştir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.1.2.Somatik ve Gametik Mutasyonlar

Çok hücreli organizmalarda eşeysel üreme, mutasyonların hücre tipine göre iki ayrı grupta incelenmesini sağlar. Vücut hücrelerinde ortaya çıkan mutasyonlara somatik mutasyonlar denir. Somatik mutasyonlar, aktarılmazlar ve mutant bireyin ölümüyle sonuçlanarak evrimsel açıdan önemsizdir. Fakat, somatik mutasyonların organizma içinde çeşitli etkilere neden olabilir. Resesif aleller genellikle dominant aleller tarafından maskelendiğinden, somatik mutasyonlar genellikle birey için önemsizdir. Ancak, dominant alellerin oluşmadığı veya mutasyonun X kromozomu üzerinde yer aldığı

senaryolarda, somatik mutasyonların bireydeki etkisi daha belirgin olabilir. Öte yandan, embriyonik evrede henüz farklılaşmamış hücrelerde ortaya çıkan somatik mutasyonlar, kanser dahil bazı ciddi hastalıklara neden olabilirken, yetişkin hücrelerinde oluşan mutasyonlar, farklılaşmasını tamamlamış ve sağlıklı bir şekilde görevlerini yerine getirebilen normal hücreler tarafından genellikle maskelenir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.1.3.Morfolojik mutasyonlar

Morfolojik mutasyonlar, organizmaların fiziksel yapısını etkileyen genetik değişikliklerdir. Bu tür mutasyonlar, yabancı tip (wild-type) bireylerden fenotipik olarak, yani dış görünüşleri bakımından farklı oldukları için kolayca tanımlanabilir. Örneğin, memelilerde deri, saç ve gözlerin koyu renkli olmasını sağlayan melanin adlı pigmentin sentezinden sorumlu ana enzim olan tirozinaz enzimini kodlayan gende meydana gelen bir mutasyon sonucunda, enzimin işlevsiz hale gelmesi; albino insanların cildinde açık ten, saç ve göz rengine neden olurken, albino farelerde ise beyaz tüyler ve kırmızı gözler, normal bireylerden ayırt edici özellikler olarak ortaya çıkar (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Mikroorganizmalarda ve hatta virüslerde dahi, morfolojik mutasyonlar nadir de olsa gözlemlenebilmektedir. Mesela, *Streptococcus pneumoniae* bakterisinin insanlarda zatürre hastalığına yol açan virü lent suşu, düzgün görünümlü (smooth) koloniler meydana getirirken, hastalık yapmayan avirü lent mutant suşu (rough) pürüzlü görünümlü koloniler üreterek ayırt edilebilmektedir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.1.4.Biyokimyasal mutasyonlar

Organizmanın biyokimyasal veya sentez reaksiyonlarını engelleyen bazı mutasyonlar, bu tür genetik değişikliklere biyokimyasal mutasyonlar adı verilir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Prototroflar, amino asitleri, nükleotitleri, vitaminleri ve diğer gerekli bileşenleri sentezleyerek temel bir besi ortamında rahatlıkla üreyebilen mikroorganizmalardır. Mutasyon sonucunda, temel besi ortamında takviye besinlere ihtiyaç duyan mikroorganizmalara ise okzotroflar denir. Örneğin; *E.Coli*'nin *bio* ve *leu* besin mutantları biotin vitamini ve lösin amino asiti ile desteklenmeyen besi yerinnde yaşayamaz ve ölür (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.1.5.Letal mutasyonlar

Letal mutasyonlar, hayatta kalmayı engelleyen türdeki genetik değişikliklerdir. Bu tür mutasyonlar genellikle hayati önem taşıyan genlerde meydana gelir. Mesela, RNA polimeraz enzimi üretimini engelleyen bir gen mutasyonu, organizmanın yaşamını sürdürmesini engeller çünkü RNA sentezi durur (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Haploid organizmalarda, letal mutasyonlar, resesif karaktere sahip olsalar bile, mutasyonu maskeleyecek bir yabancı tip allel bulunmaması nedeniyle ölümcül olurlar. Örneğin; bir bakteri, belirli bir amino asidi sentezleyemiyorsa, bu amino asidin bulunmadığı alanda üreyemez. Diploid organizmaların heterozigot bireylerinde ise resesif letal mutasyonlar tolere edilebilir; ancak, iki kusurlu genin homozigot kombinasyonunda ölümcül etki gözlenir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.1.6.Koşullu mutasyonlar

"Koşullu mutasyonlar", belirli şartlar altında ortaya çıkan genetik değişiklikleri ifade eder. Bu tür mutasyonlar genellikle koşullu letaldir; yani mutant organizma, belirli bir çevresel koşula maruz kaldığında etkisi belirginleşir ve bu durum ölüme neden olabilir. Isıya duyarlı mutasyonlar, birçok organizmada gözlemlenen örneklerden biridir. Isıya duyarlı bir mutant organizma, düşük sıcaklıklarda gelişebilirken, normal gelişme sıcaklığında yaşamak için çeşitli kısıtlamalarla karşılaşabilir. Bu mutasyon, ısıya duyarlı hale gelen bir molekülü etkiler. Ancak bu mutasyon genin yerine, genin ürünü olan proteini etkiler. Bu mutant protein, yabancı tip proteinin fonksiyonunu yerine getirdiği sıcaklıkta denatüre olarak işlevini yitirir. Bu durumda, mutant proteinin normalde sağladığı biyolojik aktivite ortadan kalkar (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Isıya duyarlı mutasyonlar, insanlarda da gözlemlenebilir. Örneğin, vücut sıcaklığında uygun üç boyutlu yapıyı oluşturamadığı için inaktif hale gelen mutant protein, kistik fibrozis hastalığının bir tipine ($\Delta 508$) neden olurken, düşük sıcaklıklarda ise bu proteinin normal şekilde işlev görebildiği bilinmektedir. Isıya duyarlı mutasyonlar genellikle proteinlerin termodinamik kararlılığı üzerinde etki gösterir ve bu durum, organizmanın çeşitli sıcaklık koşullarına uyumunu etkileyebilir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.2.Gen Mutasyonlarının Çeşitleri

1.3.2.1.Baz değişimi mutasyonları

Genetik yapıdaki bir bazın, başka bir bazla yer değiştirmesi sonucu oluşan mutasyonlara "nokta mutasyonları" denir. Baz değişimi mutasyonları olarak adlandırılan bu tür mutasyonlarda, bazların yer değiştirmesi iki farklı şekilde gerçekleşebilir. Bir pirimidin, başka bir pirimidinle veya bir pürinin, başka bir pürinle değiş tokuş yapması durumuna "transisyon mutasyonu" denirken, pirimidin bazının bir pürinle değiş tokuş yapması "transversiyon mutasyonu" olarak adlandırılır (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.2.2.Sessiz, yanlış anlamlı ve anlamsız mutasyonlar

Genetik bilimde, genlerin oluşturduğu genotipin, çeşitli faktörlerin etkisi altında gözlemlenen canlı organizmanın fenotipini nasıl belirlediğini anlamak için genetik araştırmalar yapılmaktadır. Genotip ve fenotip arasındaki kompleks ilişki, genlerin yanı sıra çevresel etkenlerin de rol oynadığı bir etkileşim ağı oluşturur. Bu bağlamda, genetik araştırmaların odak noktası genellikle belirli bir özellik veya hastalığın genetik temellerini anlamak ve genetik yatkınlığı anlamaktır. Ancak genetik araştırmalar sadece genetik bilgi sağlamakla kalmaz, aynı zamanda genlerin çevresel faktörlerle nasıl etkileşime girdiğini de aydınlatır. Bu sayede hastalıkların nedenleri daha iyi anlaşılır ve genetik yatkınlığı olan bireyler için önleyici tedbirler geliştirilebilir. Genetik araştırmaların ilerlemesi, tıp, tarım ve biyoloji gibi alanlarda önemli uygulamalara da olanak tanımaktadır (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Nokta mutasyonları, DNA tripletlerinin anlamını değiştirerek ve proteinin yapısına farklı bir amino asidin eklenmesine yol açabilir. Bu tür mutasyonlara yanlış anlamlı (missense) mutasyon denir. Örneğin, tirozini kodlayan UAU kodonu, bu tip bir mutasyonla serini kodlayan UCU kodonuna dönüşebilir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Yanlış anlamlı mutasyonların protein üzerindeki etkileri çeşitlilik gösterir ve genellikle şu şekillerde sınıflandırılabilir: a. Kabul edilebilir etkiler, b. Kısmen kabul edilebilir etkiler c. Kabul edilemez nitelikte etkiler (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Yanlış anlamlı mutasyonlar, proteinler üzerinde çeşitli etkilere neden olabilir. Uygun bir durumda, bir amino asidin yerine benzer fonksiyonel gruba sahip başka bir amino asit geçer, böylece protein normal biyolojik işlevini sürdürür ve yabancı tip

proteinle mutant olanı fenotipik olarak ayırmak zor olabilir. Kısmen kabul edilebilir durumda ise proteinin işlevini kısmen sürdürebilmesi için düşük etkinlikle çalışan bir asit amino değişimi görülür. Kabul edilemez durumda ise amino asit değişimi, proteinin görev yapamaz hale gelmesine, yani aktivitesini tamamen kaybetmesine yol açar. Yanlış anlamlı mutasyonlara örnek olarak orak hücre anemisi hastalığında rastlanmaktadır (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.2.3.Çerçeve kayması mutasyonları

DNA molekülündeki bazlara 3 ve 3'ün katları olmayan sayıda insersion yada delesyonlar sonucunda tripletlerinin değişmesine yol açan mutasyonlara çerçeve kayması mutasyonları denir. Bu tip mutasyonlar eklenen / eksilen baz sayısına ve insersiyon / delesyonun pozisyonuna bağlı olarak son derece kötü sonuçlar doğurabilir. Örneğin, üç ve üçün katı olmayan baz çiftinin insersiyonu veya delasyonu gen dizisinin başlangıç bölgesinde meydana geldiği takdirde sonuç kesinlikle fonksiyonel olmayan bir protein üretimidir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

mRNA (mesajcı Ribonükleik asit), translasyon sırasında genetik mesajı kodonlar olarak adlandırılan üçlü nükleotit grupları ile okur. Bu nedenle, nükleotitlerin artışı veya çıkarılması, genetik mesajın doğru okunan çerçevesini değiştirebilir. Çerçeve kayması mutasyonu, genin sonuna oldukça yakın bir bölgede olmadığı sürece, genellikle işlevsel olmayan bir protein üretecektir (Çetiner, 2012).

Çerçeve kayması mutasyonu, genetik kodun tamamen değişmesinin yanı sıra bazen "dur" anlamına gelen bir tripletin herhangi bir noktada oluşmasına ve önceden zincir sonlanmasına neden olabilir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

1.3.3.Gen Mutasyonlarının Sebepleri

1.3.3.1.DNA Replikasyonu Hataları

DNA replikasyonu, hücrelerde titizlikle gerçekleştirilmeye çalışılsa bile, ara sıra spontan replikasyon hataları meydana gelebilmektedir. Bu hataların oluşumunda en belirleyici faktör, tautomerizasyon fenomenidir. DNA'nın yapısında bulunan pürin ve pirimidin bazları, tautomer olarak adlandırılan alternatif kimyasal formlara sahiptir. Bazların tautomerik formları, moleküler formüllerinde değişiklik olmaksızın atomlar

arasındaki bağ konfigürasyonlarının farklı olduğu durumları ifade eder. Timin ve guanin bazlarının keto-enol formları, adenin ve sitozin bazlarının ise amino-imino tautomerleri, karbon ve azot atomları arasında spontan proton kaymasının (tautomerik kayma) sonucunda oluşmaktadır (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Guanin ve timin bazlarının keto formu ile adenin ve sitozin bazlarının amin formu, DNA'da standart baz eşleşmelerini sağlayan kararlı tautomerlerdir. Mutasyona neden olan DNA replikasyon hatalarının kaynağı, bazen kalıp DNA'da bulunan, bazen de yeni sentezlenen ipliğe katılan bazlarda spontan olarak meydana gelen tautomerik kaymalar sonucunda ortaya çıkan timin ve guaninin enol formları ile sitozin ve adeninin imino formlarıdır. Bu durumda, yanlış baz eşleşmeleri oluşabilir (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Mesela, tipik olarak timin, adenin ile baz çifti oluşturur. Ancak, molekül içinde bir proton kayması meydana geldiğinde, timin keto formundan enol formuna geçiş gerçekleşir ve bu formda üç hidrojen bağı kurabilir hale gelir. Bu durumda, enol formundaki timin guanin bazıyla yanlış eşleşebilir ve T=A baz çifti yerine T≡G baz çifti ortaya çıkar. Bu durumda, adenin bazının karşılığında guanin bazı yer almıştır. Bu tür bir mutasyona transisyonel mutasyon adı verilir. Benzer bir durum, sitozinde de geçerlidir. Sitozin normal amino formundan imino formuna dönüştüğünde, iki hidrojen bağı oluşturabilir ve adeninle eşleşebilir. Bu durumda, C≡G baz çifti yerine C=A baz çifti meydana gelir. Asıl baz çifti değişiklikleri DNA'nın ikinci replikasyonu sırasında gerçekleşir. Adenin bazının karşısına timin bazı gelir ve sonuç olarak başlangıçtaki C≡G baz çifti T=A baz çiftine dönüşür (Çetiner, 2012).

1.3.4. Mutajenler

Genetik kodun DNA'da bulunan yapısındaki çeşitli etkenlerle veya kendiliğinden oluşan kalıtsal değişikliklere mutasyon adı verilmektedir. Bu mutasyonları tetikleyen çevresel etkenlere ise mutajen denir. Dış bir etkenin mutajen olabilmesi için hücre içine girmesi ve etkili olması gereklidir. Mesela, güneşin ultraviyole ışınları, düşük enerjili oldukları için özellikle deri hücrelerinde somatik mutasyonlara neden olabilirken, yüksek enerjili X ışınları germ hücrelerinde nesilden nesile geçen mutasyonlara yol açabilirler. Ayrıca, mutasyonlar hücrelerinin bölünmesi üzerindeki kontrol mekanizmalarını bozarak kontrolsüz hücre çoğalmasına ve bu da kansere sebep olabilirler (Efecan, 2014).

Genellikle kabul edilen bir perspektife göre, çoğu karsinojen maddenin, direkt olarak veya metabolize olduktan sonra aynı zamanda mutajenik etkiler gösterebileceği vurgulanmaktadır. Ancak tüm mutajenik maddelerin karsinojenik etki göstermediği durumlar da bulunmaktadır. Bunun nedeni, kanserin ortaya çıkabilmesi için çok basamaklı karmaşık biyolojik olaylar sonucunda meydana gelmesine karşın, mutasyonun genetik materyali doğrudan etkilemesiyle meydana gelebilmesidir (Efecan, 2014).

Salmonella/Mikrozom test sistemi kullanılarak yapılan çalışmalarda taradıkları 300 kimyasalın içinde, karsinojen olan ve olmayan maddeler arasında 175'inin mutajenik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu maddelerden 157 tanesi karsinojenik etkili iken, 108 maddenin karsinojenik etki göstermeyen 94 tanesi mutajenik etki sergilememiştir. Mutasyon neden olan faktörler; fiziksel, biyolojik ve kimyasal olarak üç ayrı grupta sınıflandırılabilir (Efecan, 2014).

1.3.4.1.Kimyasal mutajenler

Mutasyonlar, etkilerine göre beş farklı alt kategoride sınıflandırılabilir.

1.3.4.1.1.Baz analogları

Bu kimyasal moleküller, nükleik asitlerin purin ve pirimidin bazlarına oldukça benzer yapıda olan baz analoglarıdır. Taze sentezlenen DNA zincirinin yapısında replikasyon sırasında, normal bazların yerine geçebilme yetenekleri bulunmaktadır. Bu durum, DNA yapısındaki hidrojen atomlarında pozisyon değişikliklerine neden olur ve böylece yanlış eşlenmiş bazların oluşumu meydana gelir. Bakteri kültürüne baz analogları eklenirse, sentezlenen DNA'ya entegre olabilir bu durumda ilk replikasyonda çift yönlü geçişlere sebep olabilir. Baz analoglarının kullanımı geri mutasyonların oluşumuna neden olabilir (Öztürk, 2013; Ergene, 2015).

1.3.4.1.2.DNA'da baz değiştiren maddeler

Dinlenme modundaki DNA'nın yapısına giren baz analogları arasında özellikle dikkat çeken nitroz asittir (HNO_2). Bu tür moleküller, DNA bazlarındaki amino gruplarını doğrudan çıkarabilir veya baz sıralamasını değiştirebilirler. Örneğin, adenini hipoksantine dönüştürerek sitozinle eşleşmesini sağlayabilirler. Bu durumda, DNA

bazları farklı bir yapı kazanır ve yeni yapılarıyla orijinal bazlardan farklı baz çiftleri oluşturur; bu da genetik kodun değişmesine yol açar (Öztürk, 2013).

1.3.4.1.3.DNA'dan baz çıkaran maddeler

Alkilleyici maddeler, DNA üzerinde önemli etkilere sahiptir. Bu kategoriye, kükürt, etilenoksit, nitrojen ve daha az toksik olan etil-metan-sülfonat (EMS) gibi maddeler dahildir. Alkilleyici maddeler, özellikle guanin üzerindeki N7 özelliğini özgün olarak etkiler. Bu etki sonucunda, DNA'dan deoksiriboz bağı gevşeyerek 7-alkil guanin DNA zincirinden ayrılır. Bu süreç sonucunda, DNA'da bir pürin boşluğu ortaya çıkar ve bu boşluğa herhangi bir baz eklenilebilir. Bu durumda hem transisyon hem de transversiyon tipi mutasyonlar meydana gelebilir. Alkilleyici maddelerin etkisi, DNA'nın yapısal bütünlüğünü bozarak mutasyonlara neden olabilir ve genetik kodun değişmesine yol açabilir (Ergene, 2015; Dadakoğlu, 2011).

1.3.4.1.4.Akridin boyalar

Bu tür maddeler tipik olarak C-G ...A-T veya A-T ...T-A biçimindeki transversiyon mutasyonlarına yol açarlar. Akridin mutasyonları, diğer transversiyon mutasyonlarından ayrılarak gen fonksiyonlarının tamamen kaybına neden olabilir. Bu mutasyonlar, genellikle DNA'da bir veya daha çok baz çiftini içeren segmentlerin gen yapısından çıkarılmasına (delesyon) veya uzun DNA segmentlerinin gen yapısına girmesine (insersiyon) yol açabilir. Akridin boyalarının neden olduğu mutasyon noktaları, DNA üzerinde rastgele dağılım gösterir ve bu bölgelere "sıcak noktalar" denir. Akridin mutasyonları, genin işlevini tamamen kaybetmesine ve genetik kodun değişmesine neden olabilecek ciddi etkilere sahiptir (Öztürk, 2013; Dadakoğlu, 2011).

1.3.4.1.5.S.O.S bağımlı mutajenler

Bazı kimyasal moleküller, S.O.S onarım sistemini kullanarak etkilerini gösterirler. Bu tür maddelere genel olarak "S.O.S. bağımlı mutajenler" adı verilmektedir. 4-nitro kulnolin, benzo(a)piren, aflotoksin ve UV ışığı gibi maddeler, bu kategoriye örnek olarak gösterilebilir. Mutajenler, bir veya daha çok bazı etkilediğinde yanlış eşleşen bazların miktarını artırabilir ve bu durum replikasyonu engelleyebilir. Bununla birlikte, S.O.S. yolunun uygun şekilde uyarılması, bu engeli aşma konusunda yardımcı olabilir

Araştırmacılar, bitkilerden elde edilen bitki ekstraktlarının anti mutajen özelliklerini S.O.S yöntemiyle araştırmışlardır. Sonuçlar gösteriyor ki, S.O.S etkisi sonucu ortaya çıkabilecek mutasyonları engellediği veya azalttığı düşünülen kimyasal maddeler, özellikle YE'nin (yucca ekstraktının) S.O.S aktivitesine sahip olan genini baskılayarak mutasyonları azaltmaktadır (Ergene, 2015; Dadakoğlu, 2011).

1.3.4.2.Fiziksel mutajenler

Fiziksel etmenler arasında manyetik alan, elektriksel alan, sıcaklık, UV, x, y, proton ve nötron ışınları yer almaktadır. Bu etmenler tipik olarak genellikle bir DNA baz çiftinin yerini başka bir baz çiftinin almasına neden olabilirler. DNA'da geçici veya kalıcı değişikliklere yol açabilirler (Temizkan, 1999).

1.3.4.3.Biyolojik mutajenler

Biyolojik mutajenler arasında virüsler ve transpozabil elementler bulunmaktadır. Bir virüs, konak hücrenin DNA'sına girdiğinde, kendi genetik materyalinde bulunan bazı genlerin konak DNA'sının genetik yapısını değiştirerek mutasyona neden olur. Diğer bir biyolojik faktör olan transpozabl genetik unsurlar ise genom içinde bir pozisyondan diğerine hareket edebilir ve bu hareketlilikleri genetiksel değişikliklere, özellikle kromozom kopmalarına sebep olabilir (Öztürk, 2013).

1.3.5.Mutajenite Testleri

Farklı mutasyonları göstermek için kullanılan test sistemlerinin her biri, mutajenleri tanımlamada kullanılır ve bu nedenle çeşitli test sistemleri geliştirilmiştir. Bazı test sistemleri, DNA hasarlarına neden olan kimyasalların değerlendirildiği sitogenetik yöntemler arasındadır. Genotoksik etkileri değerlendirmek amacıyla çeşitli testler kullanılmaktadır. Bu testler arasında şunlar bulunur:

- Kardeş Kromatid Değişimi (SCE) Yöntemi
- Mikronukleus testi (MN)
- Kromozom bozulma tespit testi: CA yöntemi
- Gen dönüşümleri ve DNA kırılmaları için Comet Testi.
- DNA Onarımı İçin Programlanmamış Sentez Testi
- SOS kromotest

- Transformasyon yöntemi
- Ames/*Salmonella* yöntemi

Bu testler, genetik materyalin hasarını tespit etmede ve potansiyel mutajenik etkileri belirlemede önemli araçlardır (Dadakoğlu, 2011).

1.3.5.1.Kromozom yapı bozukluğu testi (Chromosome Aberration = CA)

Bu test tekniğinde, kromozomlarda meydana gelen mutasyonlar sonucunda kırıklar, yer değiştirmeler ve fragmentler belirlenir. Sayısal kromozom bozuklukları, örneğin anöplöidi ve poliploidi, kromozom ve kromatid tipi kopmalar ile anormal birleşmeler gibi yapısal bozukluklar ise hücre bölünmesinin metafaz evresinde kolşisin veya benzeri tübülün polimerizasyon inhibitörleri kullanılarak tespit edilir. Trifluralin adlı herbisit, insan lenfosit hücrelerinde kromozom anormalliklerini artırdığı bildirilmiştir (Ateş, 2011).

1.3.5.2.Kardeş kromatid değişimi (SCE) yöntemi

DNA kırılması durumunda, DNA'nın doğal onarım mekanizması devreye girer. Bu onarım sürecinde, bazen aynı kromozom üzerinde bulunan karşılıklı iki kromatidin eş parçaları birbirleriyle değişim yapabilir. Özel boyama teknikleri kullanılarak bu değişim, bir kromatidin daha koyu, diğerinin daha açık renklenmesiyle belirlenebilir. Bu şekilde, Sister Chromatid Exchange (SCE), hücrelerin zararlı maddelere maruz kalma duyarlılığını gösteren bir önemli bir belirteç olarak kullanılır (Mumcu, 2015).

SCE testi, zararlı kimyasalların etkileşimlerini tespit etme konusunda yüksek hassasiyet sağlayan bir test tekniğidir. Bu test, yetiştirilmiş veya muamele edilmiş hayvanlardan alınan hücre örneklerinde SCE sayısını belirleyerek, zehirli madde-DNA etkileşimlerini ortaya çıkarma yeteneğine sahiptir. Bu yöntem, bireylerin maruz kaldığı genotoksik ve karsinojenik maddelerin neden olduğu DNA hasarını belirlemek için kan lenfositlerinde kullanılır (Çulcu, 2015).

1.3.5.3.Mikronukleus (MN) testi

Mikronukleus, hücre bölünmesi sırasında meydana gelir. Bu yapılar, mitotik bölünme sırasında meydana gelen kromozom hasarlarından, kromozom parçalarından ve kromatid tipi hasarlardan, ayrıca asentrik fragmentlerden oluşabilir. Kromozomların

serbest kalan fragmentleri veya kromozomların ortamda varlığını sürdürmesi sonucunda mikronukleus meydana gelir. Bu mikronukleuslar, sitoplazma içerisinde ana nükleusun yanında bir nükleoplazma ile sarılı olarak bulunur. Mikronukleus oluşumu temel olarak DNA hasarına dayanır. DNA hasarı, serbest oksijen radikallerinin oksidasyon etkisiyle oluşabilir, DNA metilasyonu normalden sapabilir veya organizma çeşitli mutajenik, klastojenik ve karsinojenik ajanlara maruz kalabilir. Bu faktörler, genetik materyalin bütünlüğünü etkileyerek genetik hasara yol açabilir (Ateş, 2011).

DNA'da meydana gelen defektleri anlamak ve incelemek için laboratuvar tekniklerine ihtiyaç duyulmuştur. Bu etkenlerin DNA üzerinde ne tür değişimlere yol açtığını belirlemek ve analiz etmek için kullanılan bir teknik, mikronukleus testidir. Mikronukleus testi, basit yapısı, hızlı sonuç alınabilmesi ve güvenilir bilgiler sağlaması nedeniyle önemlidir. Bu teknik, dolaşım kanı lökositlerinde, ardından kemik iliğinde ve yatak mukoza hücrelerinde zararlı etkilere neden olan kimyasal maddelerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır (Ateş, 2011).

1.3.5.4.UDS yöntemi

Programlanmamış DNA sentezi testi, başlangıç fare hepatositlerinde DNA tamirinin artırılmasına odaklanır. UV ile pozitif kontrol deneyleri yapılır ve otoradyografik olarak değerlendirilir. Bu yöntem, DNA hasarlarını tespit etmede kullanılmaktadır (Dadakoğlu, 2011).

1.3.5.5.Comet yöntemi

Bu teknikte, hücreler metafaz evresinde incelenir ve kromozomal hatalar, sitogenetik bir yöntemle ortaya çıkarılır (Ergene, 2015).

1.3.5.6.S.O.S kromotest

S.O.S. kromotest, *E. coli* bakterisinde hasarlı DNA'nın S.O.S. cevabının uyarılması prensibine dayanan bir yöntemdirler. *E. coli*'deki S.O.S. sistemi genleri, genel reseptörler tarafından düzenlendiği için bu yöntem, DNA hasarlarını algılama kapasitesini sağlar (Ergene, 2015).

1.3.5.7.Transformasyon yöntemi

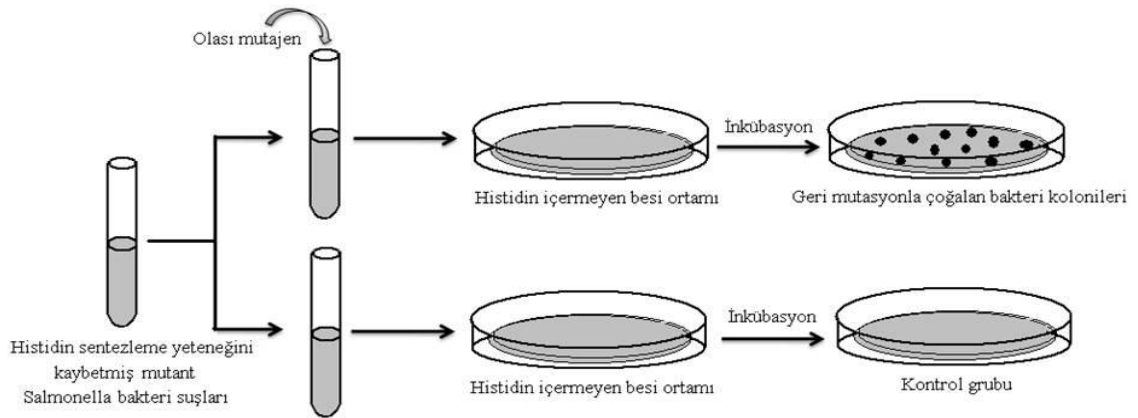
Bu teknikte, M2-C3H fare fibroblast hücrelerindeki malignant transformasyonun başlatılmasıyla kimyasal maddelerin genetik materyali değiştirme ve tümör oluşturma etkileri incelenir. Bu test yöntemi, kanserojen maddelerin etkilerinin tespit edilmesi için kullanılan daha uygun bir yöntem olarak kabul edilir (Dadakoğlu, 2011).

1.3.5.8.Ames / *Salmonella* / Mikrozom test yöntemi

Dr. Bruce Ames tarafından geliştirip tasarlanan ve Ames testi olarak da bilinen *Salmonella*/mikrozom test sistemi, kimyasal maddelerin mutajenik etkilerini araştırmada sıkça kullanımı sağlanan, mutajen-karsinojen etkisi en iyi bilinen ve geçerliliği en yüksek kabul edilen kısa zamanlı bakteriyel test sistemlerinden biridir (Maron ve Ames, 1983).

Bu test, çevre kirliliğine etki eden kimyasal maddelerin yanı sıra diğer fiziksel, kimyasal ve biyolojik maddelerin mutajenik etkilerini araştırmak için kullanılabilir (Mumcu, 2015).

Bu test sisteminde, laboratuvar ortamında üretilmiş bir seri *S.typhimurium* mutant suşları kullanılarak *S.typhimurium* LT2 atasal suşundan türetilmiş test suşları kullanılır (Maron ve Ames, 1983).



Şekil 2.Ames Testi Uygulanması ve Mutajenik Kolonilerin Tespiti (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011).

Bu test, yapay olarak mutasyona uğratılmış *S.typhimurium* suşlarının histidin sentez yeteneğini kaybetmiş (his-) durumda olan bileşenlerinin test edilmesine dayanır.

Muamele edildikten sonra bu suşların histidin sentezleyebilen (his+) hale dönüşüp dönüşmediği incelenir (Akyıl, 2006).

Ames testi, farklı kimyasal maddelerin mutajen etkilerini değerlendirmek için kullanılan histidine ihtiyaç duyan suşları içeren bir testtir. Yaygın olarak tercih edilen genel mutajenite değerlendirme suşları arasında TA98, TA100, TA102, TA1535 ve TA1538 bulunmaktadır. Bütün test suşları, histidin operonunda çeşitli mutasyon tiplerini içermektedir (Maron ve Ames, 1983).

1.3.6.Salmonella typhimurim'un genetik özellikleri

Mikroorganizma mutantları, bakteri genetiğindeki temel ve vazgeçilmez araçlardır. Mutajenik maddeler ve etkenler kullanılarak mutant izolasyon olasılığı artırılabilir. Bazı durumlarda, bakteri genlerinin %'1'inde canlılığına etki etmeyen mutasyonlar oluşturmak mümkündür. Ayrıca, belirli mutajenler kullanılarak spontan mutasyon oranı, 10^{-5} ile 10^{-10} arasında olan bir bakteride %'3'e kadar artırılabilir. Bu değişiklikler, mikroorganizmanın genetik özelliklerini belirli bir şekilde değiştirmek için kullanılan stratejileri çeşitlendirebilir. Bilinen mutajenlerin hiçbirisi, belirli bir gendeki mutasyon oranını arttırmaksızın diğer genlerin mutasyon hızını yükseltmez. Fakat zaman zaman, bazı nadir DNA bölgelerindeki mutasyon düzeyleri, diğer genlere kıyasla belirgin şekilde daha fazla olabilir. Bu özel bölgelere "sıcak noktalar" denir. Belirli mutajen maddeler, bu bölgeleri spesifik bir şekilde etkileyebilir, bu da genetik materyaldeki değişikliklerin belirli ve vurgulu bir şekilde gerçekleşmesine neden olabilir (Ergene, 2015).

Bu testte yer alan suşlar, laboratuvar koşullarında *S.typhimurium* LT2 atasal suşuna yönelik yapılan mutasyonlar sonucu elde edilmiş çeşitli mutant suşları içermektedir. Bu suşların genetik özellikleri aşağıda detaylandırılmıştır (Mumcu, 2015).

1.3.6.1.Histidin mutasyonu

Her bir test suşu, histidin operonunun çeşitli bölgelerinde bulunan ya da DNA içindeki baz değişiklikleri ile çerçeve kaymalarına neden olan mutasyonlardır (Dadakoğlu, 2011).

1.3.6.2.His G 46

Bu gen mutasyonu, histidin sentezinden sorumlu ilk enzimi kodlayan genin yapısında, leucine aminoasidi yerine proline aminoasidinin gelmesine neden olur (Aydoğan, 2016).

1.3.6.3.His D 3052

His D+ genindeki bir mutasyon, (-1) çerçeve kayması biçiminde meydana gelir ve His D- geninde bulunan -GCGCGCGCGC- ve -CGCGCGCGCG- bölgelerindeki 8 nükleotidin eksikliğine neden olur. Bu nedenle, TA98 suşu, çerçeve kayması gibi mutasyonlara sebep olan mutajenik veya kanserojenik kimyasallarla etkileşime girdiğinde his+ hale dönüştürülebilir (Mumcu, 2015).

1.3.6.4.His D6610

His D6610 tipi mutasyon, histidinol dehidrogenaz enzimini kodlayan his D+ geninde oluşan bir mutasyondur. Bu kısımdaki mutasyon, altı sitozinin birikmesine yol açan fazladan sitozin içermektedir. Bu durum, çerçeve kayması türündeki bir mutasyona işaret etmektedir ve çerçeve kayması mutajenlerinin tespitinde kullanılır. Bunun yanı sıra, bir başka sorumlu bölge de bulunur ki bu bölgede birikmiş sitozinlere yakın bir şekilde ardışık olarak yer alan -G-C- baz çiftleri mevcuttur (Mumcu, 2015).

1.3.6.5.His G 428

His G geni, "ochre" stop kodonu varlığı nedeniyle pasif durumdadır. Bu suşların çeşitli test maddelerine karşı duyarlılığını artırmak amacıyla, başlangıçta geliştirilen his-mutantlarına belirtilen mutasyonlar eklenmiştir (Mumcu, 2015).

1.3.6.6. Rfa

Bu genetik mutasyon, bakteri hücre duvarındaki lipopolisakkarit katmanını kodlayan genlerde meydana gelmiştir ve organizmanın temel yapısal özelliklerini etkilemektedir. Lipopolisakkarit tabakasının kısmi olarak kaybolması, genellikle hücre içine giremeyen büyük moleküllerin hücre içine geçişine olanak tanır. Bu durum, hücrenin yapısal bütünlüğünü etkileyerek önemli sonuçlar doğurabilir (Dadakoğlu, 2011).

1.3.6.7. UvrB

Bu mutasyon, DNA kesme-onarma sistemi için kodlanmış bir genin silinmesine yol açar. Sonuç olarak, birçok mutajenin teşhisinde duyarlılık önemli ölçüde artar. UvrB+ suşunda tipik olarak chl (nitrat redüktaz enzimini kodlayan gen) ve bio (biyotin sentezinden sorumlu bir enzimi kodlayan gen) genleri bulunmaktadır. Ancak uvrB geninin delesyonu sırasında istenmeden chl ve bio genleri çıkarılmış olur. Bu nedenle, bakteri gelişmesi için biyotine de ihtiyaç duyar (Dadakoğlu, 2011).

1.3.6.8. R faktörü

Ampisilin direnci taşıyan bakterilerde tipik olarak hücrelerde bulunan ve yüksek hata frekansına sahip olan "error-prone" DNA onarım yolunun aktive olmasına yol açar. Bu durum, hem pozitif verilerin artmasına hem de spontan mutasyonların çoğalmasına neden olmaktadır. R faktörü taşımayan bakteri suşları genellikle hafif mutajenik etkilere yol açarken, pKM 101 plazmidine sahip yeni suşlar, özellikle R faktörü genini taşıyanlar olarak güçlü sonuçlar elde etmişlerdir. Bu test sisteminde en sık tercih edilen bakteri suşları, TA97, TA98, TA100, TA102, TA1535 ve TA1538'dir (Aydoğan, 2016).

2.BÖLÜM

YAPILAN ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mutasyonlar, evrimin temel mekanizmalarının önemli bir parçası olarak görülse de, bireylere ve onların yavrularına daha çok zarar verir. Ayrıca, çevre kirliliği nedeniyle artan mutasyon oranları, popülasyonları olumsuz yönde etkileyebilir. DNA hasarı, mutasyonlar ve çeşitli kanser türlerinin tetiklenmesi arasındaki yakın ilişki konusunda bir fikir birliği bulunmaktadır. Bir kimyasalın mutasyona neden olma yeteneğinin, genetik toksikolojideki baskın paradigmanın bir parçası olarak, aynı zamanda kansere neden olma potansiyelini de yansıttığı kabul edilmektedir (Zeiger, 2001; Egüz ve diğerleri, 2023).

Ancak, su ortamlarındaki kimyasalların tam olarak tespiti, organik maddelerin karmaşık moleküler yapısı nedeniyle tam anlamıyla mümkün olmasa da zorlu ve pratikte neredeyse imkansızdır. Bununla birlikte, şu ana kadar tespit edilen kirleticilere odaklanarak belirli ortamlarda arama yapmak, o ortamlardaki kirliliği ve toksisiteyi tahmin etmek için pratik bir yaklaşım sunar. Bu sebeple, çevresel örneklerdeki toksik maddelerin araştırılmasını pratik ve güvenilir bir yöntem haline getirmek için kısa vadeli biyolojik araştırma yöntemlerini moleküler kimyasal analiz yöntemleriyle birleştirmek mümkündür (Shuetzle ve Lewtas, 1986).

Su ekosistemlerinde bulunan birçok kimyasal madde, genetik materyalde değişikliklere yol açarak mutajenik ve kanserojen etkilere sahip olabilir (Anonim, 1991).

Kentsel ve endüstriyel kaynaklı kimyasal bileşikler, nehir suyunun su sütunlarında ve çökeltelerde önemli ölçüde kirlenmesine katkıda bulunarak potansiyel ekotoksikolojik risk oluşturur (Vargas ve diğerleri, 2001).

Ksenobiyotiklere bağlı riskleri ölçmek son derece zordur çünkü genellikle analitik olarak belirlenemeyecek kadar düşük konsantrasyonlarda meydana gelirler. Risk değerlendirmesi sorununa yaklaşmanın en etkili yolu, biyolojik testleri özellikle de bakterilere yönelik kısa süreli biyoanalizleri kullanmaktır (Filipic ve Toman, 1996; Monarca ve diğerleri, 2000; Vargas ve diğerleri, 1995).

Bu kimyasallar, çok az miktarlarda bile etkili olabilir. Dokulara biriken bu maddelerin kimyasal yapıları, mevcut analitik kimyasal yöntemlerle belirlenmesi zordur. Bu nedenle, dokularda kanserojen ve mutajenik maddelerin taramasını gerçekleştirmek

için biyolojik yöntemler ve göstergeler önemli hale gelmiştir. Su organizmalarının insan beslenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünüldüğünde, bu maddelerin zararlı etkilerinin takip edilmesi, su organizmaları aracılığıyla olası sağlık riskleri açısından büyük önem taşımaktadır (Kotelevtsev ve Stepanova, 1995).

Ames testi, özellikle kimyasal maddelerin mutajenite özelliklerini belirlemek için özel olarak geliştirilmiştir (Ames ve diğerleri, 1975).

Bu test sistemi, bitki ve bitkilerden, topraktan, sudan ve havadan izole edilen 5000'den fazla kimyasal ve biyoaktif bileşenin mutajenitesini kısa sürede belirleyebilmektedir. Ayrıca, bitkilerin doğal veya sentetik kimyasallar, vitaminler, karotenoidler, terpenoidler ve flavonoidler gibi fitokimyasalların antimutajenik özelliklere sahip olduğu gözlemlenmiştir (Maron ve Ames, 1983; Hong ve Lyu, 2011; Vu ve diğerleri, 2012).

Ames testi, uygulama kolaylığı ve duyarlılığı, iyi bilinen ve karakterize edilen ayrıntıları nedeniyle bakteriyel mutajenite için en yaygın kullanılan test sistemlerinden biridir (Gatehouse ve diğerleri, 1998; Monarca ve diğerleri, 2000; Vargas ve diğerleri, 1995).

Kimyasal olarak indüklenen mutajenezin tespiti için özellikle tasarlanmış *Salmonella* mutajenite testi (Ames testi), havadaki, göllerde, nehirlerde, endüstriyel atıklarda ve içme sularındaki karmaşık karışımların mutajenitesini değerlendirmek için sıkça kullanılmaktadır (Mamber ve diğerleri, 1993; Papoulias ve diğerleri, 1996; Park ve diğerleri, 2000; Vargas ve diğerleri, 2001; Cerná ve diğerleri, 1998; Hollert ve diğerleri, 2000).

Salmonella mutajenite sistemleri (Ames testi) kullanılarak yapılan bir dizi çalışma, nehir suyu ve çökeltilerin mutajenik etkilerini göstermektedir (Park ve diğerleri, 2000; Filipic ve Toman, 1996; Kataoka ve diğerleri, 2000; Hollert ve diğerleri, 2000).

Ames testi, mutajenik bileşiklerin varlığını değerlendirmek amacıyla havzaların başlangıç değerlendirmesi için önemli bölgeleri belirlemek ve tarama analizi yapmak amacıyla kullanılmaktadır (Vargas ve diğerleri, 2001).

Bilindiği üzere, *S. typhimurium*'un TA100 suşu, DNA zincirinin baz çiftlerinde değişikliğe yol açan mutajenleri tespit etmek amacıyla kullanılırken, TA98 suşu, çerçeve kayması mutasyonlarını belirlemek için kullanılır (Maron ve Ames, 1983).

TA98 suşu, polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) türevlerine (örneğin, benz(a)antrasen, 7-etilbenz(a)antrasen) karşı son derece duyarlıdır (Ames ve diğerleri, 1972).

Teknik olarak ifade edildiğinde, *S. typhimurium*'un TA98 suşu, çevresel koşullarda polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) oluşumunu gösterir ve bu oluşuma duyarlıdır (Chen ve White, 2004).

Deniz, nehir ve göl sularının mutajenik özellikleri üzerine birçok çalışma mevcuttur. Bu mutajenik özelliklerin temel olarak polisiklik aromatik hidrokarbonlardan (PAH'lar) kaynaklandığı da rapor edilmiştir (Kutlu ve diğerleri, 2008; Egüz ve diğerleri, 2023).

TA100 suşu, akridin boyaları, nitröz asit, hidroksilamin, alkilleyici ajanlar, aldehitler, hidroperoksidazlar, aromatik aminler, benzidin, toluidin ve dianisidin gibi bileşiklere karşı oldukça duyarlıdır ve bu bileşiklerin baz çiftlerinde değişikliğe neden olabilir (Prival ve diğerleri, 1979; Prival ve Mitchell, 1982).

Çeşitli araştırmalar sonucunda, birçok pestisidin mutajenik aktiviteye yol açtığını ortaya koymuştur (Aleem ve Malik, 2005; Zhao ve diğerleri, 2010).

Su örneklerinden alınan heksan ve kloroform ekstraktlarında mutajenitenin varlığı, örneklerde pestisit kalıntılarının bulunabileceğini düşündürmektedir. Suda bulunan organoklorlu ve organofosfatlı pestisitler, her iki çözücü tarafından absorbe edilebilmektedir (Aleem ve Malik, 2005).

Karamenderes Nehri üzerinde ve çevresinde gerçekleştirilen bir çalışma, analiz sonuçlarıyla heksakloroheksan ve α -endosulfan gibi çeşitli pestisitlerin kirlilik sebebi olabileceğini göstermiştir (Yıldırım ve Özcan, 2007).

Karamenderes Nehri, Kazdağı'ndan kaynağını alarak Çanakkale'nin Ezine ve Bayramiç ilçelerinin civarından geçer ve nihayet Kumkale civarında Çanakkale Boğazı'na ulaşır. Bu araştırmada, Karamenderes Nehri üzerinde Kumkale ile Karaköy lokasyonları arasında bulunan beş istasyondan alınan su ve sediment örneklerinin mutajenik aktiviteleri, kısa süreli mutajenite test sistemi olan Ames testi kullanılarak incelenmiştir. Çalışma kapsamında farklı ekstraktlar (heksan, kloroform ve diklorometan) ve beş farklı konsantrasyonda (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) su ve sediment örnekleri hazırlanmıştır. Deneyler, TA98 ve TA100 suşları ile mikrozomal enzimleri içeren S9 varlığı ve yokluğunda gerçekleştirilmiştir. Mutajenite çalışmalarının

sonuçlarına göre, su örneklerinin tüm istasyonlarda baz çifti değişimine neden olan mutajenik etki gösterdiği belirlenen kloroform ekstraktı için en yüksek etkiyi sergilediği görülmüştür. Hekzan ekstraktının mutajenitesi ise ilk istasyonda belirlenmiştir. Diklorometan ekstraktı ve farklı istasyonlardan alınan sediment örneklerinde ise mutajenik etkilerin zayıf olduğu saptanmıştır (Çakmak ve Demir, 2018).

Bu çalışmanın sonuçlarıyla önceki araştırmalarda elde edilen mutajenitenin tek bir etkene bağlanması doğru değildir. Çünkü bazı kimyasallar tek başına zararlı etkiye sahip olmayabilir, ancak bir arada bulunduklarında bu etkiyi oluşturdukları bilinmektedir. Bu nedenle su ve sediment numunelerindeki kimyasalların analizi, sonucunda mutajenik verilerin doğru bir biçimde yorumlanması açısından önemlidir (Çakmak ve Demir, 2018).

Yapılan bir çalışmada İzmir Körfezi'nde dökülen dere ve kanalizasyon çıkışlarından ve körfezin iç, dış ve orta bölgelerinden seçilen istasyonlardan alınan sediment örnekleri, Ekim ve Aralık 1995 tarihleri arasında incelenmiştir. *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarıyla mutajenite testi yapılmıştır. Yapılan test sonucunda, körfezin iç bölgesine dökülen dere ve kanalizasyonların taşıdığı çevresel kirlilik düzeyi nedeniyle körfezde mutajenik etki kaynağı olduğu tespit edilmiştir (Boyacıoğlu ve Parlak, 2001).

Bir diğer araştırmada, Kars Nehri boyunca toplanan çökeltilerin mutajenik yükü değerlendirilmiş ve nehir çökeltilerindeki genotoksik ajanların varlığının, Kars Nehri'nden toplanan balıklardaki genotoksik hasar (mikronükleer eritrositler) ile ilişkilendirildiği ortaya konmuştur. Bu çalışma, Kars Nehri boyunca toplanan çökeltilerin mutajenik yükünü ilk kez değerlendirmiştir. Bulgular, nehir çökeltilerindeki genotoksik ajanların varlığının, Kars Nehri'nden toplanan balıklardaki genotoksik hasarla doğrudan ilişkili olduğuna dair güçlü kanıtlar sunmaktadır (Özkan ve diğerleri, 2009).

Hindistan'da yürütülen bir çalışmada, Ganj Nehri'ndeki üç ayrı istasyondan alınan su örneklerinin mutajenik etkisi araştırıldı. TA98 ve TA100 suşlarında, düşük konsantrasyonlarda bile mutajen etkileri belirlendi. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) analizleri, su örneklerinde diklorodifeniltrikloroetan, β -hekzaklorosikloheksan (BHC), aldrin ve dieldrin gibi bazı pestisitlerin tanımlandığını gösterdi (Rehana ve diğerleri, 1995).

Kuzey İtalya'da gerçekleştirilen bir araştırmada, içme suyu kaynağı olarak kullanılan üç ana göl (Como, Garda ve Maggiore) ile ilişkilendirilen potansiyel mutajenik aktiviteler incelenmiştir. Göl suyu numuneleri otomatik bir örnekleme cihazı kullanılarak

toplanmış, XAD-2 dolu bir kolonla yerinde konsantre edilmiş ve Ames testi (S9 varlığında ve yokluğunda) ile değerlendirilmiştir. Ames testinin sonuçları, en yüksek su mutajenik aktivitesinin S9 varlığında TA98 suşu kullanıldığında elde edildiğini göstermektedir. Ayrıca, Como Gölü sularında diğer iki göle kıyasla daha yüksek mutajenik tepki olduğuna dair işaretler bulunmaktadır (Guzzella ve Sora, 1998).

İzmir Körfezi'nin İç Körfez bölgesinde yer alan altı istasyondan alınan sediment örnekleri üzerinde yapılan araştırmada, Ames'in mutajenite tarama testi kullanılarak dört farklı miktar seviyesinde (500 µg, 250 µg, 125 µg ve 375 µg) *S.typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarıyla S9 varlığında testler gerçekleştirilmiştir. Ames testinin sonuçlarına göre, özellikle Turan Bölgesi 3.İstasyon mutajenik ve zararlı etkiler altında bulunurken, Bostanlı Bölgesi 6.İstasyon oldukça zararlı etki altında görünmektedir. Turan Bölgesi'nde çerçeve kayması mutasyonlarına neden olan çevresel kirleticilerin etkisi tespit edilmiştir. İzmir İç Körfezi genelinde mutajenik ve zararlı etkili maddelerin bulunduğu sonucuna varılmıştır. Bu veriler, özellikle Turan ve Bostanlı bölgelerinde çevresel kirliliğin ciddi bir sorun olduğunu göstermektedir (Egüz ve diğerleri, 2023).

Kutlu ve diğerleri (2008), İzmir Çamaltı Tuzlasında S9 fraksiyonu içermeyen su örnekleri üzerinde *Salmonella* mutajenite analizi gerçekleştirmiştir. Çam altı Tuzlasındaki mutajenite araştırmasındaki olumsuz sonuçların temel nedeni olarak İzmir Körfezi merkezinin düşük polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) toksisitesinin değerlendirilebileceği sonucuna ulaşmışlardır (Kutlu ve diğerleri, 2008).

Bir çok çalışmada İzmir Körfezi sediment örneklerinde ekotoksikolojik araştırmalar gerçekleştirilmiştir (Boyacıoğlu, 1999; Boyacıoğlu, 2004; Kutlu ve diğerleri, 2008; Arslan ve diğerleri, 2010).

Porsuk Nehri'nden gelen su ve çökeltilerin, *S.typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarındaki potansiyel mutajeniteleri Ames testi kullanılarak incelenmiştir. Su numuneleri, farklı XAD 4 ve XAD 16 sütunları kullanılarak parçalara ayrılmıştır. İki istasyonda TA98 için su örneklerinden XAD 4 ekstraktlarında pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Sediment örneklerinin ekstraktları ise beş farklı dozda konsantrasyonda test edilmiş ve farklı örnekleme bölgelerinde TA98 ve TA100 için mutajenik veriler elde edilmiştir. Bu mutajenik sonuçları açıklamak amacıyla, akarsu sediment numunelerindeki toplam metal konsantrasyonları atomik absorpsiyon spektrofotometrisi (AAS) ile belirlenmiştir. Porsuk Nehri'nin su ve sediment örneklerinde, baz çifti yer değiştirme ve

çerçeve kayması mutasyonlarına sebep olan mutajenlerin varlığını ortaya koymuş ve bu mutajenite tartışılmıştır (Kutlu, 2004).

Türkiye'de yapay gübrelerde bulunan kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve arsenik (As) düzeylerinin belirlenmiş maksimum limitleri aştığı kanıtlanmıştır (Köleli ve Kantar 2005).

Yapay gübreler ve pestisitler, başta Cd, Pb, Ni, As ve Cu olmak üzere önemli miktarda toksik ağır metaller içermektedir (Sönmez ve diğerleri, 2008).

As ve Cd birikiminin Çıldır Gölü çevresindeki tarım faaliyetlerinden kaynaklandığı muhtemeldir (Kükrer ve diğerleri, 2014).

Bai ve diğerleri (2012), daha yüksek arsenik (As) ve kadmiyum (Cd) değerlerinin zirai ilaç ve gübrelerden kaynaklanabileceğini açıklamıştır (Bai ve diğerleri, 2012).

Bu kirleticiler kalıcı, toksik ve besin zincirine girdiklerinde insan sağlığına zarar verebilecek özelliklere sahiptir (Kishe ve Machiwa 2003; Luo ve diğerleri, 2010; Bing ve diğerleri, 2013; Çevik ve diğerleri, 2009; Kükrer ve diğerleri, 2015).

Slovenya'da gerçekleştirilen bir çalışmada, Sora Nehri'nden atık su arıtma tesislerinden, evsel atıklardan ve çöp depolama alanlarından gelen sularla kirlenmiş örnekler, Ames test sistemi kullanılarak incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda, 11 örneğin mutajenik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Filipic, 1995).

Maccubbin ve diğerleri (1991), Amerika Birleşik Devletleri'nde endüstriyel, evsel ve zirai atıkların yoğun olduğu Detroit Nehri ve Michigan Gölü'nden alınan tortu örneklerini Ames testi kullanarak inceledi. Kimyasalların metabolik aktivasyonunu içeren (S9) içeren 16 bölgede yüksek mutajenik aktivite belirlendi. S9 uygulanmadığında, hiçbir numunede güçlü mutajenik etki saptanmadı. S9 kullanılmadığında, hiçbir numunede belirgin mutajenik etki tespit edilmedi (Maccubbin ve diğerleri, 1991).

Yapılan bir araştırmada, Ganj Nehri üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda pestisit kirliliğini belirlemişlerdir. Ganj Nehri suyunda yapılan bu çalışmada, organoklorlu ve organofosforlu pestisit seviyelerinin, Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenen kabul edilebilir limit değerlerin üzerinde olduğunu ortaya koymuştur. Deneylerde *S. typhimurium* suşları TA97a, TA98, TA100, TA102 ve TA104 kullanılmış; daha çok TA98 ve TA100 suşlarıyla gerçekleştirilen çalışmalarda belirgin mutajenik etki saptanmıştır (Rehana ve diğerleri, 1995).

Yapılan başka bir araştırmada, Ganj Nehri üzerinde farklı noktalarda gerçekleştirilen çalışmada, pestisit kirliliği belirlenen nehir suyunu çıkarmak için XAD ve sıvı-sıvı çıkarma yöntemlerini kullanmışlardır. Sıvı-sıvı çıkarmada, organoklorlu ve organofosforlu pestisitlerin üretilmesi için hekzan ve kloroform kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, XAD ile elde edilen çıkartılarda S9 yokluğu ve varlığında TA98 ve TA100 suşları ile mutajenik faaliyet tespit edilmiştir. Ayrıca, sıvı-sıvı çıkarma ile elde edilen çıkartılarda aynı örneklerde düşük mutajenik etki belirlenmiştir (Rehana ve diğerleri, 1996).

Mumcu (2015), tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, Eskişehir'deki Seydi Çayı etrafından elde edilen toprak ve su örneklerindeki bor miktarının mutajenik etkisi, Ames test yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, hem S9 enzim sistemini içeren ortamda hem de S9 enzimi olmayan ortamda metabolik enzimlerin kullanıldığı testler yapılmıştır. Yüksek bor konsantrasyonunun olduğu istasyonlarda belirli dozlarda zararlı ve mutajen etkiler tespit edilmiştir (Mumcu, 2015).

Boyacıoğlu (1999), İzmir Körfezine dökülen dere ve kanalizasyon çıkışlarından ve körfezin iç, dış ve orta bölgelerinden alınan sediment örneklerinin genetik hasar oluşturma potansiyelini araştırdı. Hekzan, kloroform, aseton (1:1:1 v:v:v) karışımı ile ekstrakte edilen örnekler üzerinde *S. typhimurium* TA98 ve TA100 ile çalışıldı. Yapılan testlerde, körfezin iç kısmına dökülen dere ve kanalizasyonların taşıdığı kirlilik miktarı sebebiyle körfezin mutajenik etki kaynağı olduğu belirlendi. Körfezin iç noktalarından orta kısma doğru gidildikçe mutajenitenin varlığının azaldığı ve dış kısmında Gediz Nehri'nden kaynaklandığı düşünülen bir mutajenik etki belirlendi (Boyacıoğlu, 1999).

Çağımızda, ani nüfus artışı, plansız sanayileşme ve bilinçsiz tarım pratikleri sebebiyle çevre kirliliği ciddi bir sorun haline gelmiştir. Evsel ve endüstriyel atıklar ile tarım ilaçları, arıtma yapılmadan su kaynaklarına aktarılmakta ve bu durum, zaten sınırlı olan su kaynaklarının kirlenmesine yol açmaktadır. Bu kimyasalların bazıları hiçbir şekilde parçalanamaz, çözülemez, adsorbe edilemez veya yok edilemez. Dolayısıyla, söz konusu kimyasallar su kaynaklarında artarak çevredeki canlıların sağlığını tehdit etmektedir (Ayan, 2005).

Hücresel düzeyde meydana gelen mutasyonları belirlemek için kullandığımız kısa süreli test sistemleri arasında en önemli olanı Ames test sistemidir. Genotoksik aktiviteleri belirlemek için bir dizi test bulunmasına rağmen, Ames testi genellikle tercih

edilmekte ve yaygın olarak kabul gören ve sağlam sonuçlar sunmaktadır. Bu yöntem, özellikle ilaç üretiminde kullanılacak maddelerin zararlı, genetik değişikliklere neden olan ve kanserojen etkilerini değerlendirmek için güvenilir bir araç olarak kabul edilmektedir (Selin ve diğerleri, 2013).

Günümüzde, canlılar için potansiyel olarak toksik olan kimyasal maddelerle sıkça karşılaşmamız, bu maddelerin genotoksik etkilerini değerlendiren testlerin çeşitli alanlarda kullanılmasını zorunlu kılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, kimyasalların tıp, eczacılık ve kozmetik ve benzeri alanlarda pazarlanabilir ve kullanılabilir bir ürün haline gelmeden önce mutajenik özelliklerinin tespit edilmesini şart koşmaktadır. Kimyasal maddelerin mutajenitesini araştırmak için çeşitli test sistemlerinin birlikte kullanılması önerilmektedir. Farklı organizmalarda kullanılan test sistemleri, geliştirilen testlerin sonuçlarının birbirinden farklı olmasına neden olabilir. Ames test sistemi, mutajenite test sistemleri arasında en yaygın olarak tercih edilenidir ve öteki bazı test sistemlerinden daha duyarlı olması nedeniyle öne çıkmaktadır (Ateş, 2015).

3.BÖLÜM

MATERYAL METOD

3.1.SALMONELLA TYPHIMURIUM TEST ŞUŞLARI

Bu çalışmada, laboratuvar ortamında yapılan mutasyonlarla elde edilen TA98 ve TA100 suşları kullanılacaktır. Bu suşlar, *Salmonella typhimurium* LT2 atasal suşundan türetilmiştir ve Mersin Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Gökhan Cora tarafından temin edilmiştir. Ames testi için gerekli orijinal mutasyonlara ek olarak, bu suşlar çerçeve kayması ve baz değişimi mutajenlerine karşı daha hassas hale getirilmiştir.

3.2.KİMYASALLAR

Deneylerde kullanılacak kimyasal maddeler şunlardır:

Nutrient broth, Bacto agar, Ampisilin trihidrat, Sodyum hidroksit (NaOH), Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), Sitrik asit monohidrat, Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), Sodyum dihidrojen fosfat tetrahidrat ($NaH_2PO_4 \cdot 4H_2O$), Glikoz, D-Biyotin (F.W. 247.3), L-Histidin-HCl (E.W. 191.7), 4-Nitro-o-Fenilendiamin(NPD), Sodyum klorür(NaCl), dimetilsülfoksit(DMSO), Sodyum azid.

3.3.ÇALIŞMADA KULLANILAN ÇÖZELTİLER VE HAZIRLANIŞI

Vogel-Bonner-E (50XVB Tuzları) ortamının hazırlanması:

İlk olarak, MGA ve HBA (master) plakları için sırasıyla 1000 ml, 500 ml ve 250 ml hacimli plaklar tercih edilir. Bu plaklara aşağıdaki malzemeler ilave edilir:

1000 ml;

- 10g Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)
- 100g Sitrik asit monohidrat
- 500g Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)
- 175g Sodyum dihidrojen fosfat tetrahidrat ($NaH_2PO_4 \cdot 4H_2O$)
- 670ml Distile su (45°C)

500 ml;

- 5g Magnezyum sülfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 50g Sitrik asit monohidrat
- 250g Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)
- 87,5g Sodyum dihidrojen fosfat tetrahidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- 335ml Distile su (45°C)

250 ml;

- 2,5g Magnezyum sülfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 25g Sitrik asit monohidrat
- 125g Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)
- 43,75g Sodyum dihidrojen fosfat tetrahidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- 167,5ml Distile su (45°C)

Malzemeler, yukarıda belirtildiği sırayla distile suya eklenir ve çözünene kadar karıştırılır. Son olarak, plakların hacmi tamamlanır ve 110°C 'de 20 dakika boyunca otoklavda sterilize edilir. Unutulmaması gereken önemli bir nokta, malzemelerin tamamen çözülmeden otoklav işlemine başlanmamasıdır. Hazırlanan ortam, uygun bir sıcaklıkta ve ışık almayan bir ortamda muhafaza edilmelidir.

0.5 mM Histidin/Biyotin solüsyonunun hazırlanması:

Histidin/Biyotin solüsyonu, mutajenite deneyi için kullanılmak üzere (90 ml top agar için 10 ml olarak) aşağıdaki adımlarla hazırlanır:

250 ml;

- D-Biyotin (F.W. 247.3) – 0,0309 g
- L-Histidin-HCl (E.W. 191.7) – 0,024 g
- Distile su- 250 ml

Biyotin, suyun kaynama noktasına kadar ısıtılarak çözüldükten sonra histidin ilave edilir ve otoklavda 110°C 'de 20 dakika veya 0,22 μm membran filtre ile sterilize edilir. Elde edilen solüsyon, $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanmalıdır.

%40 Glikoz Çözeltisi:

Kullanım: MGA ve HBA plakları hazırlanması

1000 ml;

- Glikoz 400g
- Distile su 600 ml

Glikoz, distile su içerisinde tamamen çözüldükten sonra otoklavda 110 °C'de 20 dakika boyunca sterilize edilir. +4 °C'de muhafaza edilir.

(%0,13) Biotin Çözeltisi:

Biotin çözeltisi, genotip kontrolü ve HBA plakları oluşturmak amacıyla kullanılır.

Kullanım miktarı:

100 ml;

- D-biotin (N): 0,0013 g
- Distile su: 100 ml

50 ml

- D-biotin (N): 0,00065 g
- Distile su: 50 ml

Biotin suyu, kaynama noktasına kadar ısıtılarak çözündürülür ve 110 °C'de 20 dakika süreyle otoklavlanarak sterilize edilir. Sonrasında +4 °C'de saklanır.

(%0,5) Histidin Çözeltisi:

Histidin Çözeltisi, genotip kontrolü ve Histidin/Biotin/Ampisilin (HBA) plakları hazırlanması amacıyla kullanılır.

Kullanım miktarı:

100 ml;

- L-Histidin-HCl (E.W. 191.7): 0,5 g
- Distile su: 100 ml

Otoklavda 110 °C'de 20 dakika sterilize edilir. +4 °C'de saklanır.

(0,02 µg/µl) 4-Nitro-o-Fenilendiamin (NPD):

4-Nitro-o-Fenilendiamin (NPD), mutajenik etkinin varlığını belirlemek için kullanılan pozitif kontrol ögesidir ve DMSO içinde çözüldükten sonra kullanılması önerilir; her petri kabı başına 2 µg. eklenir. Bu kimyasal, S9 fraksiyonu gerektirmeyen TA98 suşu için kullanılır.

Kullanım miktarı:

- NPD: 0,02 g
- DMSO: 10 ml

Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında saklanır.

(0,1 µg/µl) Sodyum Azid Çözeltisi:

Sodyum Azid Çözeltisi, mutajenik etkinin varlığını belirlemek için kullanılan pozitif kontrol ögesidir. Distile suda çözülerek kullanım miktarı, petri başına 10 µg'dir. Bu kimyasal, TA100 suşu için S9 fraksiyonu yokluğunda kullanılmaktadır.

Kullanım miktarı:

- Sodyum azid: 0,01 g
- Distile su: 100 ml

Çözelti +4 °C'de saklanır.

Histidin/Biyotin/Ampisilin Plakları (HBA agar):

HBA agar, ampirisilin dirençlilik testi ve master plak hazırlanması için kullanılır.

Kullanım miktarı:

1000 ml;

- Agar: 15 g
- Distile su: 930 ml
- 5OXVB tuzları: 20 ml
- %40 Glikoz: 50 ml

- Histidin HCl.H₂O: 10 ml
- 0.55 mM Biotin (200.8/0.02 NaOH): 6 ml
- Ampisilin: 3 ml

500 ml;

- Agar: 7,5 g
- Distile su: 465 ml
- 5OXVB tuzları: 10 ml
- %40 Glikoz: 25 ml
- Histidin HCl.H₂O: 5 ml
- 0.55 mM Biotin (200.8/0.02 NaOH):3 ml
- Ampisilin: 1,5 ml

250 ml;

- Agar: 3,25 g
- Distile su: 235,5 ml
- 5OXVB tuzları: 5 ml
- %40 Glikoz: 12,5 ml
- Histidin HCl.H₂O: 2,5 ml
- 0.55 mM Biotin (200.8/0.02 NaOH): 1,5 ml
- Ampisilin: 0,75 ml

Agar ve su, otoklav işleminden geçtikten sonra 45°C'ye soğutulur. Bu sıcak solüsyona %40 glikoz, 5OXVB tuzları ve histidin eklenip homojen bir karışım elde edilir. Biraz daha soğuduktan sonra biyotin ve ampisilin ilavesi yapılarak, elde edilen solüsyon petri kutularına 25 ml olarak aktarılır.

Bu plaklarda bakteriler +4 °C'de 2 ay süreyle saklanabilir.

Minimal Glikoz Agar Plakları (MGA):

Mutajenite deneylerinde kullanılan plaklar arasında Minimal Glikoz Agar Plakları (MGA) bulunmaktadır.

Kullanım miktarı:

1000 ml;

- Agar: 15 g
- Distile su: 930 ml
- 5OXVB tuzları: 20 ml
- %40 Glikoz: 50 ml

500 ml;

- Agar: 7,5 g
- Distile su: 465 ml
- 5OXVB tuzları: 10 ml
- %40 Glikoz: 25 ml

Agar ve su karışımı, otoklavlanarak steril hale getirilir. Ardından, 45°C'ye soğutulur (20-30 dakika süresince) %40 glikoz ve 5OXVB tuzları eklenir ve karışım petri kutularına 25 ml olarak dağıtılır.

Top Agar:

Top Agar, mutasyon deneyleri için kullanılır.

Kullanım miktarı:

1000 ml;

- Agar: 6 g
- NaCl: 5 g
- Distile su: 1000 ml

500 ml;

- Agar: 3 g
- NaCl: 25 g
- Distile su: 500 ml

250 ml;

- Agar: 1,5 g
- NaCl: 1,25 g
- Distile su: 250 ml

Agar-su ve tuz, karıştırıcıda ısıtılarak çözülür ve karışım, otoklavda 110 °C'de 20 dakika süresince sterilize edilir. Sterilize edilmiş karışım, oda sıcaklığında karanlık bir ortamda saklanır.

(%0,8/0,02 NaOH) Ampisilin Solüsyonu:

Ampisilin solüsyonu, suşların ampisiline direnç özelliğini kontrol etmek ve R-faktör plazmidi taşıyan suşların master plakları için kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

Kullanım miktarı:

100 ml;

- Ampisilin trihidrat: 0,8 gr
- 0,02 N Sodyum hidroksit: 100 ml

Ampisilin trihidrat, 0,02 N NaOH içinde çözülerek sterilizasyon için 0,22 µm çaplı bir filtre kullanılarak süzülür. Ampisilin solüsyonu filtre yöntemiyle steril edileceği için bu amaçla önceden sterilize edilmiş bir beher veya mavi kapaklı şişe kullanılmalıdır.

+4 °C'de saklanır.

Nutrient Broth Sıvı Kültür Ortamı (NB):

Kullanımı: Bu ortam, bakterilerin gecelik kültürde çoğalmaları için uygun bir ortamdır.

Malzemeler:

Oxoid Nutrient Broth No:2,5 gr

Distile su: 200 ml

Nutrient Broth (NB) içeren Oxoid Nutrient Broth No:2 hazırlanır ve distile su ile karıştırılır. Otoklavda 110 °C'de 20 dakika süreyle sterilize edilen karışım, sterilize edilmiş NB sıvı kültür ortamı olarak oda sıcaklığında karanlık bir ortamda saklanır.

3.4.ÇALIŞMADA KULLANILACAK ÖRNEKLER

Çalışmamızda kullanılacak örnekler 4 adet istasyon belirlenerek Çıldır Gölü'nden alınmıştır. Çalışmamızda her bir istasyondan 5 litrelik su örneği alındı. Uygun yöntemlerle alınan örnekler ön işleminden geçirilerek +4°C'de muhafaza edildi. Örneklerin alındığı istasyon koordinatları aşağıda belirtilmiştir.

- 1 Nolu İstasyon: 41°04'45.74"N 43°08'31.62"E
- 2 Nolu İstasyon: 41°05'57.57"N 43°14'26.94"E
- 3 Nolu İstasyon: 41°04'46.08"N 43°17'40.29"E
- 4 Nolu İstasyon: 41°00'03.14"N 43°17'55.84"E
-



Şekil 3.Çıldır Gölü'nden Su Örneklerinin Alındığı İstasyonlar

3.5.SALMONELLA SUŞLARININ KÜLTÜR HAZIRLIĞI VE MASTER PLAKALARININ OLUŞTURULMASI

-80°C'de muhafaza edilen bakteri suşlarından çözülme olmadan bir örnek alınır. TA98 ve TA100 suşları için histidin, biyotin ve ampisilin içeren (HBA) agar üzerine çizgi ekimleri gerçekleştirilir ve 37°C'de 48 saat boyunca inkübasyona alınır.

İyi izole edilmiş bir koloni seçildikten sonra, 2 ml nutrient broth (NB) ortamına (TA98 ve TA100 için 6,3 ampisilin çözeltisi eklenir) eklenerek, bir gece boyunca 16 saat süresince 37°C'de çalkalamalı inkübatörde 140 rpm hızında inkübe edilir.

Inkübasyonun ardından platin öze yardımıyla bir öze dolusu sıvı kültür alınarak Histidin/biyotin/ampisilin agar (HBA) üzerine çizgi ekim gerçekleştirilir. Plaklar, 37°C'de 48 saat süreyle inkübe edilir. Bu plaklar +4°C'de 2 ay süresince saklanabilir ve pasajlar yapılabilir. Plaklar, buzdolabında alüminyum folyoya sarılarak muhafaza edilmelidir. Petri kapakları etüve yerleştirilirken her zaman küçük kapak üste gelecek şekilde yerleştirilmelidir.

3.6.GECELİK KÜLTÜR HAZIRLANMASI

İyi üremiş bir koloni master plaktan öze ile alınarak, 20 ml nutrient broth ve 63 µl ampisilin içeren bir ortamda süspanse edilir. Daha sonra, çalkalamalı inkübatörde 140 rpm'de 16 saat boyunca inkübe edilir.

Sonrasında, 16 saatlik inkübasyonun ardından bu kültürden 500 µl alınarak, 20 ml nutrient broth ve 63 µl ampisilin içeren bir ortamda yeni bir süspansiyon hazırlanır. Bu süspansiyon, kullanımına kadar olan süre zarfında 110 rpm hızında inkübe edilir.

3.7.SALMONELLA SUŞLARININ GENETİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Ames testinde, genetik olarak değiştirilmiş bakteriler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, kullanılan mutant bakterilerin genetik kontrolü, saklanması ve deneyin yapılışı Maron ve Ames'in (1983) yöntemine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Testin güvenilirliği için, test suşlarının genetik yapılarındaki mutasyon durumu aşağıdaki yöntemle kontrol edilmiştir

3.7.1.Histidin Gereksinimi Kontrolü

Minimal Glikoz Agar (MGA) üzerine ekim, His- karakterindeki bakterileri His+ karakterindeki bakterilerden ayırmak için gerçekleştirilir. Bu nedenle, Nutrient Broth (NB) içinde yetiştirilen kültürlerden, steril öze ile his- bakteriler MGA ve His+ agar plaklarına çizgi olarak ekilir. Plaklar 37 °C'de 48-72 saat boyunca inkübe edilir ve süre sonunda His+ agar plaklarında üreme gözlenirken, MGA plaklarında üreme gözlenmez. Bu sonuç, bakterilerin "His- mutasyonu" taşıdığını gösterir.

3.8. TEST MADDELERİNİN SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Test bakterilerinin ölümcül dozlarını belirlemek amacıyla, top agar içine eklenen 0.1 ml bakteri kültürü ve 0.1 ml su örneğinin çeşitli konsantrasyonları kullanılır. Ardından, bu karışım, MGA plaklarına dökülerek plaklar 37 °C'de 24-48 saat boyunca inkübe edilir. İnkübasyon süresinin sonunda plaklardaki koloniler sayılarak kontrol plaklarıyla karşılaştırma yapılır.

3.9. AMES TESTİ UYGULAMA PROSEDÜRÜ

Bu çalışmada, *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları, su örneklerinin mutajenik aktivitesini incelemek için kullanılmıştır (Dorothy M. Maron ve Bruce N. Ames, 1983). Maron ve Ames'e (1983) göre, suşlar kullanılmadan önce genetik özellikleri doğrulamak için rutin olarak kontrol edilmiştir. Deneyde kullanılan *Salmonella* mutant suşları, histidin operonundaki çeşitli genlerde çeşitli mutasyon tiplerine sahiptir.

Çerçeve kayması ve baz çifti değişimi mutasyonlarının saptanması amacıyla, *S. typhimurium* TA98 ve TA100 bakteri suşları ile çalışılmıştır. Metabolik aktivasyon olmayan (S9 karışımı kullanılmadan) testlerde, en az 3 farklı konsantrasyon kullanılmıştır, bunlar *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları için yapılan testlerde yer almıştır.

Deneyler, 0.1 ml test bileşiği, 0.2 ml histidin-biyotin çözeltisi ve 0.1 ml gecelik bakteri kültürü, 2 ml top agar içeren deney tüplerine eklenerek gerçekleştirilmiştir. Tüpler iyice çalkalandıktan sonra 37 °C'de ısıtılmış MGA plakları üzerine dökülmüş, yüzeye tamamen yayılması sağlanmış ve 15 dakika bekletildikten sonra 37 °C'de 48-72 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır.

Araştırmalar, her bir doz için 3 ayrı petri kabında gerçekleştirilmiş ve her deney 3 kez tekrarlanmıştır.

3.10. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Bütün istatistiksel veriler, varyans (ANOVA) analizine tabi tutularak ve gruplar arasındaki farklılıklar, $P < 0.05$ önem düzeyinde Duncan testi ile belirlenmiştir. Genotoksik analizlerde test maddesinin her bir dozunun oluşturduğu revertant koloniler ile kontrol grubundaki revertant kolonilerin sayılması sonucunda elde edilen ortalama sayısal veriler SPSS ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçları, $P \leq 0.05$ önem düzeyine göre test maddesinin mutajenik etkili olup olmadığı değerlendirilmiştir.



4.BÖLÜM

BULGULAR

4.1.SU ÖRNEKLERİNDEN ELDE EDİLEN TA98 VE TA100 MUTAJENİTE SONUÇLARI

Tablo 4. Çıldır Gölü Üzerinden 2022 yılında 4 farklı istasyondan alınan su örneklerinin mutajenite analiz sonuçları

2022 ÇILDIR GÖLÜ	TA98	TA100
Kontrol	12,0000 ± 2,6458	147,333 ± 9,062
Pozitif Kontrol	556,667 ± 23,333	453,333 ± 17,638
1.İstasyon	30,0000 ± 7,3711	128,667 ± 27,479
2.İstasyon	53,0000 ± 9,8658	136,667 ± 17,638
3.İstasyon	51,6667 ± 4,9103	238,667 ± 6,960 a
4.İstasyon	65,3333 ± 36,5529	150,000 ± 17,321

Tablo 5. Çıldır Gölü Üzerinden 2023 yılında Çeşitli istasyonlardan alınan su örneklerinin mutajenite analiz sonuçları

2023 ÇILDIR GÖLÜ	TA98	TA100
Kontrol	50,6667 ± 19,7850	130,667 ± 6,360
Pozitif Kontrol	1242,00 ± 167,62	1009,00 ± 111,72
1.İstasyon	189,333 ± 84,578	398,667 ± 14,892 a
2.İstasyon	503,333 ± 302,309	702,333 ± 19,969 a
3.İstasyon	183,667 ± 54,548	675,667 ± 70,006 a
4.İstasyon	54,0000 ± 11,7898	397,000 ± 26,274 a

a: Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

Çalışmamız, Çıldır Gölü sularında 2022 ve 2023 yıllarında *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarıyla gerçekleştirilen mutajenite denemelerini içermektedir (Tablo 1 ve Tablo 2). Bu denemeler, gölde bulunan 4 farklı istasyondan alınan örnekler üzerinde yürütülmüştür. 2022 yılında, alınan suların 3. istasyonundan elde edilen örneklerde TA100 üzerinde mutajenik etki belirlenmiş, ancak TA98 üzerinde herhangi bir etki gözlenmemiştir. 2023 yılında alınan sular ise TA98 üzerinde herhangi bir etki

içermemektedir. Ancak, TA100 üzerinde alınan tüm istasyonlarda mutajenik etki belirlenmiştir.



SONUÇ

Çalışmamız, Çıldır Gölü sularında 2022 ve 2023 yıllarında *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları ile yürütülen mutajenite denemelerini kapsamaktadır. Bu denemeler, gölde bulunan 4 farklı istasyondan alınan örnekler üzerinde yürütülmüştür. 2022 yılında, alınan suların 3. istasyonundan elde edilen örneklerde TA100 üzerinde mutajenik etki belirlenmiş, ancak TA98 üzerinde herhangi bir etki gözlenmemiştir. 2023 yılında alınan sularda ise TA98 üzerinde herhangi bir etki içermemektedir. Ancak, TA100 üzerinde alınan tüm istasyonlarda su örneklerinde mutajenik etki belirlenmiştir.

Yerleşim bölgelerindeki kanalizasyon sistemleri, endüstriyel ve yerel atıkların nehirlere, denizlere ve göllere deşarj edilmesi sonucu, sucul çevrede mutajenik kimyasalların oluşumuna neden olmaktadır (Ergene ve diğerleri, 2007). Deniz, nehir ve göl sularının mutajenik karakterleri hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Bu mutajenik karakterin birincil olarak PAH'lardan kaynaklandığı rapor edilmiştir (Kutlu ve diğerleri, 2008). TA98 suşu, PAH türevlerine (yani benz (a)antrasen, 7-etilbenz (a)antrasen) karşı oldukça duyarlıdır (Ames ve diğerleri, 1972). Teknik olarak *S. typhimurium*'un TA98 suşu, ortamlarda PAH oluşumunu gösterir ve buna duyarlıdır (Chen ve White, 2004). TA100 suşu ise akrinin boyaları, nitröz asit, hidroksilamin, alkilleyici ajanlar, aldehitler, hidroperoksidadlar, aromatik aminler, benzidin, toluidin ve dianisidin gibi baz çiftlerinde değişikliğe neden olan bileşiklere karşı oldukça duyarlıdır (Prival ve diğerleri, 1979; Prival ve Mitchell, 1982). Bizim yaptığımız çalışmada 2022 yılında alınan 1. istasyonda ve 2023 yılında 3 istasyonda TA100 suşu üzerinde mutajenik etki tespit edilmiştir. Buda çıldır gölündeki kirliliğin PAH türevlerinden kaynaklanmadığını göstermektedir. Cığerci ve diğerleri (2007) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, Eber Gölü ve ona su sağlayan Akarçay üzerinde bulunan üç ayrı istasyondan alınan su örneklerinin biyolojik uyarım içermeyen deneylerde, TA98 suşunda her üç istasyonda, TA100 suşunda ise iki ve üçüncü istasyonlarda mutajenik etki tespit edilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada da benzer şekilde TA100 suşu üzerinde mutajenik etki tespit ediliyor, ancak TA98 suşu üzerinde herhangi bir etki görülüyor. Bununda akrinin boyaları, nitröz asit, hidroksilamin, alkilleyici ajanlar, aldehitler, hidroperoksidadlar, aromatik aminler, benzidin, toluidin ve dianisidin benzeri bileşiklerden kaynaklı olabileceğini söyleyebiliriz.

Kuzey İtalya'da yapılan bir çalışmada içme suyu kaynağı olarak kullanılan üç ana gölün (Como, Garda ve Maggiore) mutajenik etki Ames testi ile test edilmiştir. Ames testinin sonuçları, en yüksek su mutajenik aktivitesinin S9 varlığında TA98 suşunun kullanıldığı durumlarda elde edildiğini, ayrıca Como göl sularında diğer iki göl örneğine göre daha yüksek mutajenik tepkiye işaret ettiğini göstermiştir (Guzzella ve Sora, 1998). Yapılan bu çalışma daha çok TA98 suşu üzerine etki etiğinden bizim sonuçlardan bu yönüyle farklıdır.

Yapılan diğer bazı çalışmalarda da bazı göl sularında mutajenik etki tespiti yapılmıştır. Maccubbin ve diğerleri (1991), endüstriyel, evsel ve tarımsal atıkların yoğun olarak bulunduğu Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Michigan'daki Detroit Nehri ve Michigan Gölü'nden alınan tortu örneklerini Ames'i kullanarak test etti. Kimyasalların metabolik aktivasyonunu içeren S9 enzimleri kullanıldığında, 16 bölgede yüksek mutajenik aktivite belirlendi. S9 uygulanmadığında ise hiçbir numunede güçlü mutajenik aktivite saptanmadı. Wu ve diğerleri (2006), Çin'de Taihu Gölü sularının genotoksisitesinin değerlendirilmesiyle ilgili bir çalışma yapmışlardır. Ames testi kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada, *S.typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarıyla yapılan denemelerde genotoksisite potansiyeli tespit edilmemesine rağmen, mikrosistin-LR içeren Taihu Gölü sularından elde edilen içme suyu örneklerinin bir risk oluşturabileceği vurgulanmıştır (Wu ve diğerleri, 2006).

Çıldır gölü ve etrafında her ne kadar kentleşme ve sanayi olmasa da çalışma alanında, fosil yakıt kullanımı ve tarımsal faaliyetler nedeniyle Çıldır Gölü yüzey çökeltilerinde antropojenik kaynaklı ağır metal kirliliğinin varlığı ortaya konmuştur. Çalışma alanında yılın büyük bölümünde enerji kaynağı olarak yakıtlar kullanılmakta ve yerleşim yerlerinden kaynaklanan evsel atıklar doğrudan göle deşarj edilmektedir (Kükrer ve diğerleri, 2014).

Bai ve diğerleri (2012), yüksek As ve Cd değerlerinin zirai ilaç ve gübrelerden kaynaklanabileceğini açıklamıştır. Yapay gübreler ve pestisitler başta Cd, Pb, Ni, As ve Cu olmak üzere büyük miktarlarda toksik ağır metaller içermektedir (Sönmez ve diğerleri, 2008). Türkiye'de yapay gübrelerdeki Pb, Cd ve As düzeylerinin maksimum limitleri aştığı kanıtlanmıştır (Köleli ve Kantar 2005). As ve Cd zenginleşmesinin Çıldır Gölü çevresindeki tarım faaliyetlerinden de kaynaklanmış olması muhtemeldir (Kükrer ve diğerleri, 2014).

Kimyasallar, toksik etkileri nedeniyle akarsularda, deniz kıyılarında, göllerde, sedimentlerde, havada ve içme sularında bulunarak zararlı etkiler gösterebilir (Deguchi ve diğerleri, 2007). Ağır metallerin sucul çevrede varlığı, birçok yaşam formunu toksik ve genotoksik etkilerle karşı karşıya bırakan önemli bir konudur (Valko ve diğerleri, 2005). Endüstriyel faaliyetler, demir (Fe), kadmiyum (Cd), bakır (Cu), kurşun (Pb), nikel (Ni), çinko (Zn), magnezyum (Mg), krom (Cr), ve arsenik (As) gibi ağır metalleri içeren sıvı atıklara neden olabilir (Ali ve diğerleri, 1996). Ayrıca, ağır metallerin varlığı tarım alanları ve yaşam alanlarındaki su kaynaklarının kirlenmesine sebep olur. Çevre kirliliğinin potansiyel kaynakları, evsel sıvı atıklar (Cd, Cu, Cr, Pb ve Zn), mineral kimyasal gübreler (Cd, Cr, Mo, Pb ve Zn) ve pestisitler (Cu, As, Pb, Mn ve Zn) olabilirler (Alloway, 1995; Aonghusa ve Gray 2002).

Kükrer ve diğerleri (2014), yaptıkları çalışmada Çıldır gölünde tespit ettikleri As ve Cd zenginleşmesi gölün kirliliğinin bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Son yıllarda, çevrenin ağır metallerle kirlenmesi ciddi bir şekilde artmıştır. Bazı ağır metallerin DNA'ya zarar verdiği ve bu metallerin hayvanlar ve insanlar üzerinde mutajenik etkilere yol açarak karsinojenik etkilerle ilişkilendirildiği bilinmektedir (Knasmüller ve diğerleri, 1998). Benzer şekilde bizim çalışmamızda tespit ettiğimiz TA100 suşlarında nokta mutasyonlarının Kükrer ve arkadaşlarının (2014) Çıldır gölünde tespit ettiği As ve Cd zenginleşmesinden kaynaklı olması muhtemeldir.

Çalışmamızdaki istasyonlar arası mutajenik etkinin 2022 ve 2023 yılları arasında ve yıl içinde istasyonlar arasında bile farklı olduğu görülmektedir. Bu değişikliğin, su örneklerinin alındığı istasyonların etrafında bulunan yerleşim yerlerinden kaynaklanan evsel atıkların ve tarımsal faaliyetlerden dolayı oluşan atıkların göl suyuna karışması nedeniyle ağır metal ve diğer kirleticilerle unsurlara bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Sonuç olarak, Çıldır Gölü, çalışmamızın ortaya koyduğu bulgulara göre, mutajenik etki yapan ağır metal ve organik maddeler ile kirlenmekte ve bu kirleticiler genellikle evsel atıkların ve tarımsal faaliyetlerin neden olduğu arıtılmamış atıkların göle deşarj edilmesinden kaynaklanmaktadır. Çıldır Gölü'ne bırakılan evsel atıkların ve tarımsal faaliyetler sonucu oluşan atıkların bir arıtma sürecine tabi tutulmadan atılımının önlenmesinin ardından göldeki kimyasal kirlilik miktarını düşürebileceğimize inanıyoruz.

KAYNAKÇA

- Akyıl, D. (2006). Farklı tipteki fungusitlerin muhtemel mutajeniteleri üzerine bir çalışma (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Afyon).
- Ali, K., Javid, M. A., and Javid, M. (1996). Pollution and industrial waste Labore:6th National Congress Soil Science ., pp 122-131., Pakistan.
- Alloway, B.J. 1995. Heavy metal in soils,2nd ed. London: Blackie Academic and Professional. 368 pp.
- Ames, B. N., McCann, J., and Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. Mutat. Res.:(Netherlands), 31.
- Ames, B. N., Sims, P., and Grover, P. L. (1972). Epoxides of carcinogenic polycyclic hydrocarbons are frameshift mutagens. Science, 176(4030), 47-49.
- Anonim, 1991, Review of Potentially Harmful Substances Carcinogens, Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution (Gesamp). World Health Organization, Reports And Studies, No. 46, Geneva.
- Aonghusa, C. N., and Gray, N. F. (2002). Laundry detergents as a source of heavy metals in Irish domestic wastewater. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 37(1), 1-6.
- Arslan, O.C., Parlak, H., Katalay, S., Boyacıoğlu, M., Karaaslan, M.A., and Güner, H. (2010). Detecting micronuclei frequency in some aquatic organisms for monitoring pollution of İzmir Bay (Western Turkey), Environmental Monitoring and Assessment, 165, 55-66.
- Ateş, Ö. (2015). Bilecik Karasu Deresinin Mutajenitesinin Araştırılması (Doctoral dissertation, Anadolu University, Eskişehir).
- Ayan, T. İ. (2005). Kocabaş Çayında (Çanakkale/Biga) Bazı Bakteriyolojik Kirlilik Parametrelerinin Araştırılması (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale).
- Aydoğan, M. (2016). Parabenin ames/*salmonella*/mikrozom testi ile mutajenik aktivitesinin araştırılması (Master's thesis, Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun).

- Bai, J., Xiao, R., Zhang, K., and Gao, H. (2012). Arsenic and heavy metal pollution in wetland soils from tidal freshwater and salt marshes before and after the flow-sediment regulation regime in the Yellow River Delta, China. *Journal of Hydrology*, 450, 244-253.
- Baydar, H. (2013). Genetik. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Basımevi.
- Bing, H., Wu, Y., Nahm, W. H., and Liu, E. (2013). Accumulation of heavy metals in the lacustrine sediment of Longgan Lake, middle reaches of Yangtze River, China. *Environmental Earth Sciences*, 69, 2679-2689.
- Boğa, A., Binokay, S., ve Özgünen, T. (2006). Çevre Kirliliğini Saptamada Kullanılan Yöntemler ve FETAX (Frog Embryos Teratogenesis Assay: Xenopus) Testi. *Arşiv*, 15, 16.
- Boyacıoğlu M., 1999. İzmir Körfezi Sedimanının Genotoksik Etkisinin Araştırılması (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi, İzmir.
- Boyacıoğlu, M. (2004). Determination of direct mutagens in sediment samples of İzmir Bay. *Ege University Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21(1-2), 23-27.
- Boyacıoğlu, M., ve Parlak, H. (2001). İzmir Körfezine Akan Dere Sedimentlerinin Mutajenitesi. *Su Ürünleri Dergisi*, 18(3).
- Chen, G., and White, P. A. (2004). The mutagenic hazards of aquatic sediments: a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 567(2-3), 151-225.
- Cheng, H., Li, M., Zhao, C., Yang, K., Li, K., Peng, M., ... and Yin, G. (2015). Concentrations of toxic metals and ecological risk assessment for sediments of major freshwater lakes in China. *Journal of Geochemical Exploration*, 157, 15-26.
- Ciğerci, İ. H., Liman, R., Kutlu, M., Aydoğan, G., ve Konuk, M. (2007). Eber Gölü ve Akarçay Suyunun mutajenik özelliklerinin ames *Salmonella*/Mikrozom testi ile araştırılması. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7(1), 215-223.
- Çakır, N., ve Çiçek, E. (2015). Çıldır gölü *Acanthobrama microlepis* (De filippi, 1863) popülasyonu için bazı popülasyon dinamiği parametrelerinin belirlenmesi (Master's thesis, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Nevşehir).
- Çakmak, D., and Demir, N. (2018). Investigation of mutagenic potential of water and sediment from karamenderes river (çanakkale, turkey) using the Ames test. *Journal of Scientific Perspectives*, 2(1), 59-70.

- Çetiner, A. (2012). Tokat Yeşilırmak Nehri suyunun mutajenitesinin araştırılması (Master's thesis, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat).
- Çevik, F., Göksu, M. Z. L., Derici, O. B., ve Fındık, Ö. (2009). An assessment of metal pollution in surface sediments of Seyhan dam by using enrichment factor, geoaccumulation index and statistical analyses. *Environmental monitoring and assessment*, 152, 309-317.
- Çulcu, T. (2015). İnsan hücrelerindeki DNA hasar ve mutasyonlarının RAPD tekniği kullanılarak araştırılması (Doctoral dissertation, Anadolu University, Eskişehir).
- Dadakoğlu, B. (2011). Dış hekimliğinde kullanılan bazı simanların mutajenik potansiyellerinin Salmonella Ames Mikrozom Testi ve SOS Chromotest ile değerlendirilmesi.
- Deguchi, Y., Toyoizumi, T., Masuda, S., Yasuhara, A., Mohri, S., Yamada, M., ... and Kinae, N. (2007). Evaluation of mutagenic activities of leachates in landfill sites by micronucleus test and comet assay using goldfish. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 627(2), 178-185.
- Dilek, B. (2004). Porsuk Nehri'nin genotoksik etkisi (Master's thesis, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir).
- Efecan, H. (2014). Halfenprox pestisitinin mutajenik aktivitesinin ames test sistemi ile belirlenmesi (Master's thesis, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon).
- Egüz, Y., and Boyacıoğlu, M. (2023). A mutagenicity investigation of sediment from İzmir Inner Bay using Ames genotoxicity assay. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences (EgeJFAS)/Su Ürünleri Dergisi*, 40(3).
- Ergene, E. (2015). Bazı 2-Süstitüe 1H-Fenantro [9, 10-d] İmidazol Bileşiklerinin Mutajenik Etkilerinin Araştırılması (Doctoral dissertation, Anadolu University, Eskişehir).
- Ergene, S., Çavaş, T., Çelik, A., Köleli, N., ve Aymak, C. (2007). Evaluation of river water genotoxicity using the piscine micronucleus test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48(6), 421-429.
- Filipic, M. (1995). Mutagenicity and toxicity of water extracts from the Sora river area. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 342(1-2), 1-8.

- Filipic, M., and Toman, M. J. (1996). Ecotoxicological studies using modified Ames bioassay. *Water Science and Technology*, 34(7-8), 1-7.
- Gatehouse, D. G., Rowland, I. R., Willox, P., Dander, R. D., and Foster, R. (1998). Bacterial Mutation Assay, Basic Mutagenic Recommended Procedure. Avon Research, 227-234.
- Guzzella, L., and Sora, S. (1998). Mutagenic activity of lake water samples used as drinking water resources in northern Italy. *Water research*, 32(6), 1733-1742.
- Güneş, E., Kaykıoğlu, G., Hanedar, A., ve Güneş, Y. (2022). Su Kaynakları ve Sedimentlerde Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların (PAH) Kaynakları ve Toksik Etkileri. *European Journal of Engineering and Applied Sciences*, 5(1), 42-48.
- Haynes, D., and Johnson, J. E. (2000). Organochlorine, heavy metal and polycyclic aromatic hydrocarbon pollutant concentrations in the Great Barrier Reef (Australia) environment: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 41(7-12), 267-278.
- Hollert, H., Duerr, M., Erdinger, L., and Braunbeck, T. (2000). Cytotoxicity of settling particulate matter and sediments of the Neckar River (Germany) during a winter flood. *Environmental Toxicology and Chemistry: an International Journal*, 19(3), 528-534.
- Hong, C. E., and Lyu, S. Y. (2011). Genotoxicity detection of five medicinal plants in Nigeria. *The Journal of Toxicological Sciences*, 36(1), 87-93.
- Hou, D., He, J., Lü, C., Ren, L., Fan, Q., Wang, J., and Xie, Z. (2013). Distribution characteristics and potential ecological risk assessment of heavy metals (Cu, Pb, Zn, Cd) in water and sediments from Lake Dalinouer, China. *Ecotoxicology and environmental safety*, 93, 135-144.
- Kamala-Kannan, S., Batvari, B. P. D., Lee, K. J., Kannan, N., Krishnamoorthy, R., Shanthi, K., and Jayaprakash, M. (2008). Assessment of heavy metals (Cd, Cr and Pb) in water, sediment and seaweed (*Ulva lactuca*) in the Pulicat Lake, South East India. *Chemosphere*, 71(7), 1233-1240.
- Kataoka, H., Hayatsu, T., Hietsch, G., Steinkellner, H., Nishioka, S., Narimatsu, S., ... and Hayatsu, H. (2000). Identification of mutagenic heterocyclic amines (IQ, Trp-P-1 and AαC) in the water of the Danube River. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 466(1), 27-35.

- Kırpık, M. A. (2023). "Prof. Dr. Kırpık: Hayvan Atıkları, Dışkıları ve Evsel Atıklar Çıldır Gölü'ne Zarar Veriyor." Kars, Türkiye.Erişim Tarihi 08 Haziran 2023. <http://www.gazetekars.com/prof-dr-kirpik-hayvan-atiklari-diskilari-ve-evsel-atiklar-cildir-golune-zarar-veriyor-42108h.htm>
- Kishe, M. A., and Machiwa, J. F. (2003). Distribution of heavy metals in sediments of Mwanza Gulf of Lake Victoria, Tanzania. *Environment international*, 28(7), 619-625.
- Klug, W.S. ve Cummings, M.R. (2003). *Genetik Kavramlar*. Ankara: Palme Yayıncılık.
- Knasmüller, S., Gottmann, E., Steinkellner, H., Fomin, A., Pickl, C., Paschke, A., ... and Kundi, M. (1998). Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 420(1-3), 37-48.
- Kotelevtsev, S. V., and Stepanova, L. I. (1995). Biochemical and genotoxicological monitoring of ecosystems with special reference to Lake Baikal and Northern Black Sea. In *Molecular Aspects of Oxidative Drug Metabolizing Enzymes: Their Significance in Environmental Toxicology, Chemical Carcinogenesis and Health* (pp. 567-589). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Köleli, N., ve Kantar, Ç. (2005). Toxic heavy metal (Cd, Pb, Ni and As) concentration in phosphate rock, phosphoric acid and phosphorous fertilizers/Fosfat kayası, fosforik asit ve fosforlu gübrelerdeki toksik ağır metal (Cd, Pb, Ni, As) konsantrasyonu. *Ekoloji*, 14, 1-5.
- Kutlu, M., Aydoğan, G., Susuz, F., and Özata, A. (2004). The *Salmonella* mutagenicity of water and sediments from the Porsuk River in Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 17(2), 111-116.
- Kutlu, M., Mutlu, M. B., Aydoğan, G., and Güven, K. (2008). *Salmonella* mutagenicity analysis of water samples from Çamaltı saltern. *Environmental monitoring and assessment*, 145, 237-241.
- Kükrer, S., Erginal, A. E., Şeker, S., and Karabıyıklıoğlu, M. (2015). Distribution and environmental risk evaluation of heavy metal in core sediments from Lake Çıldır (NE Turkey). *Environmental Monitoring and Assessment*, 187, 1-14.

- Kükrer, S., Şeker, S., Abacı, Z. T., and Kutlu, B. (2014). Ecological risk assessment of heavy metals in surface sediments of northern littoral zone of Lake Çıldır, Ardahan, Turkey. *Environmental monitoring and assessment*, 186, 3847-3857.
- Livingstone, D. R. (1993). Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 57(3), 195-211.
- Luo, W., Lu, Y., Wang, T., Hu, W., Jiao, W., Naile, J. E., ... and Giesy, J. P. (2010). Ecological risk assessment of arsenic and metals in sediments of coastal areas of northern Bohai and Yellow Seas, China. *Ambio*, 39, 367-375.
- Maccubbin, A. E., Ersing, N., and Frank, M. E. (1991). Mutagenicity of sediments from the Detroit River. *Journal of Great Lakes Research*, 17(3), 314-321.
- Maron, D. M., and Ames, B. N. (1983). Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 113(3-4), 173-215.
- Mumcu, E. (2015). Seydi Çayı (Eskişehir) Çevresinden Toplanan Su ve Toprak Örneklerinde Ames/*Salmonella*/Mutajenite Testi ile Bor Elementinin Mutajenitesinin Araştırılması (Doctoral dissertation, Anadolu University (Turkey)).
- Mutlu, E., ve Tepe, A. Y. (2014). Yayladağı Sulama Göleti (Hatay) suyunun bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin incelenmesi. *Alınteri Ziraat Bilimler Dergisi*, 27(2), 18-23.
- Mutlu, E., Kutlu, B., Yanık, T., and Demir, T. (2014). Evaluation Of Water Quality Of Karacalar Dam (Ulaş-Sivas) By Using Physico-Chemical Methods.
- Ohe, T., Shaughnessy, D. T., Landi, S., Terao, Y., Sawanishi, H., Nukaya, H., ... and DeMarini, D. M. (1999). Mutation spectra in *Salmonella* TA98, TA100, and TA104 of two phenylbenzotriazole mutagens (PBTA-1 and PBTA-2) detected in the Nishitakase River in Kyoto, Japan. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 429(2), 189-198.
- Özkan, O., Gül, S., Keleş, O., Aksu, P., Tö, K., and Nur, G. (2009). The investigation of the mutagenic activity of Kars River sediments on *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1).

- Öztürk, N. S. (2013). İmazethapyr herbisitinin *Allium cepa* L. kök meristem hücreleri üzerine sitogenetik etkileri. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Fen Bilimleri Enstitüsü.(Yüksek Lisans Tezi), Afyon.
- Papoulias, D. M., and Buckler, D. R. (1996). Mutagenicity of great lakes sediments. *Journal of Great Lakes Research*, 22(3), 591-601.
- Park, J. H., Lee, B. J., Lee, S. K., Kim, K., Lee, K. H., Che, J. H., ... and Lee, Y. S. (2000). Genotoxicity of drinking water from three Korean cities. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 466(2), 173-178.
- Pinto, E., Sigaud-kutner, T. C., Leitao, M. A., Okamoto, O. K., Morse, D., and Colepicolo, P. (2003). Heavy metal-induced oxidative stress in algae 1. *Journal of phycology*, 39(6), 1008-1018.
- Prival, M. J., and Mitchell, V. D. (1982). Analysis of a method for testing azo dyes for mutagenic activity in *Salmonella typhimurium* in the presence of flavin mononucleotide and hamster liver S9. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 97(2), 103-116.
- Prival, M. J., King, V. D., and Sheldon Jr, A. T. (1979). The mutagenicity of dialkyl nitrosamines in the *Salmonella* plate assay. *Environmental mutagenesis*, 1(2), 95-104.
- Rehana, Z., Malik, A., and Ahmad, M. (1995). Mutagenic activity of the Ganges water with special reference to the pesticide pollution in the river between Kachla to Kannauj (UP), India. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 343(2-3), 137-144.
- Rehana, Z., Malik, A., and Ahmad, M. (1996). Genotoxicity of the Ganges water at Narora (UP), India. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 367(4), 187-193.
- Selin, O. Ğ. U. Z., Omurtag, G. Z., Arıcıoğlu, F., ve Şardaş, S. (2013). Mutajenik-karsinojenik etkinin ames testi ile araştırılması. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 3(2), 75-82.
- Sheehan, D. (2007). The potential of proteomics for providing new insights into environmental impacts on human health. *Reviews on environmental health*, 22(3), 175-194.
- Slabbert, J. L., and Venter, E. A. (1999). Biological assays for aquatic toxicity testing. *Water science and technology*, 39(10-11), 367-373.

- Soylu, H. (2012). Edirne İlindeki Çevresel Sular ve İçme-Kullanma Sularının Bakteriyolojik Ames Testi İle Mutajenitelerinin Araştırılması. (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi) Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Sönmez, İ., Kaplan, M., and Sönmez, S. (2008). Effect of chemical fertilizers on environmental pollution and its prevention methods. *Derim*.
- Şekeroğlu, Z. A., ve Şekeroğlu, V. (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229.
- Tan, A. (2006). Atık sularda bazı kirlilik parametrelerinin incelenmesi (Master's thesis, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Tao, Y., Yuan, Z., Xiaona, H., and Wei, M. (2012). Distribution and bioaccumulation of heavy metals in aquatic organisms of different trophic levels and potential health risk assessment from Taihu lake, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 81, 55-64.
- Temizkan, G. (1999). .Genetik II. Moleküler Genetik. İstanbul: İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi.
- Valiliği, A. (2021). Türkiye Cumhuriyeti, Ardahan Valiliği Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği İl Müdürlüğü, Ardahan İli 2021 Yılı Çevre Durum Raporu, Erişim adresi: https://webdosya.csb.gov.tr/db/ced/icerikler/ardahan_-cdr2021-20221019155628.pdf
- Valko, M. M. H. C. M., Morris, H., and Cronin, M. T. D. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 12(10), 1161-1208.
- Vargas, V. M. F., Migliavacca, S. B., de Melo, A. C., Horn, R. C., Guidobono, R. R., de Sá Ferreira, I. C. F., and Pestana, M. H. D. (2001). Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 490(2), 141-158.
- Vu, B., Alves, C. A., Gonçalves, C., Pio, C., Gonçalves, F., and Pereira, R. (2012). Mutagenicity assessment of aerosols in emissions from wood combustion in Portugal. *Environmental pollution*, 166, 172-181.
- Wu, J., Xu, Q., Gao, G., Shen, J., 2006. Evaluating Genotoxicity Associated with Microcystin-LR and Its Risk to Source Water Safety in Meiliang Bay, Taihu Lake, *Environmental Toxicology*, Volume 21, Issue 3, pages 250–255.

- Yang, J., Chen, L., Liu, L. Z., Shi, W. L., and Meng, X. Z. (2014). Comprehensive risk assessment of heavy metals in lake sediment from public parks in Shanghai. *Ecotoxicology and environmental safety*, 102, 129-135.
- Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M. ve Tanyolaç, B. (2007). *Moleküler Biyoloji*. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.
- Yi, Y., Yang, Z., and Zhang, S. (2011). Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. *Environmental pollution*, 159(10), 2575-2585.
- Zeiger, E. (2001). Mutagens that are not carcinogens: faulty theory or faulty tests?. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 492(1-2), 29-38.
- Zengin, M., Yerli, S. V., Dağtekin, M., ve Akpınar, İ. Ö. (2012). Çıldır gölü balıkçılığında son yirmi yılda meydana gelen değişimler. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 8(2), 10-24.

EKLER

EK 1. ORJİNALLİK RAPORU FORMU



ARDAHAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

ARDAHAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Tarih: 18/03/2024

Tez Başlığı: Çıldır Gölü Suyunun Mutajenik Özelliklerinin Araştırılması

Yukarıda başlığı gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş c) Ana bölümler ve d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 53 sayfalık kısmına ilişkin, 18/03/2024 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda işaretlenmiş filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 19 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- ☒ Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç
- 2- ☒ Kaynakça hariç
- 3- ☒ Alıntılar hariç/dâhil
- 4- ☐ 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Ardaahan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nde belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı:	Yunus Emre ODABAŞ
Öğrenci No:	2000100002
Ana Bilim Dalı:	Biyoteknoloji
Programı:	Biyoteknoloji
Statüsü:	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN GÖRÜŞÜ VE ONAYI

Doç. Dr. Mehmet ARSLAN

Detaylı Bilgi: <https://www.ardahan.edu.tr/birim.aspx?id=1002003>

Telefon: 0-4782117522

Faks: 0-4782117523

E-posta: sbe@ardahan.edu.tr

EK 2. ETİK KURUL MUAFİYET FORMU

ARDAHAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TEZ ÇALIŞMASI ETİK KOMİSYON MUAFİYETİ FORMU

ARDAHAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Tarih: 18/03/2024

Tez Başlığı: Çıldır Gölü Suyunun Mutajenik Özelliklerinin Araştırılması

Yukarıda başlığı gösterilen tez çalışmam:

1. İnsan ve hayvan üzerinde deney niteliği taşımamaktadır,
2. Biyolojik materyal (kan, idrar vb. biyolojik sıvılar ve numuneler) kullanılmasını gerektirmemektedir.
3. Beden bütünlüğüne müdahale içermemektedir.
4. Gözlemsel ve betimsel araştırma (anket, mülakat, ölçek/skala çalışmaları, dosya taramaları, veri kaynakları taraması, sistem-model geliştirme çalışmaları) niteliğinde değildir.

Tez çalışmamın yürütülebilmesi için herhangi bir Etik Kurul/Komisyon'dan izin alınmasına gerek olmadığını; aksi durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Yunus Emre ODABAŞ
 Öğrenci No: 2000100002
 Ana Bilim Dalı: Biyoteknoloji
 Programı: Biyoteknoloji
 Statüsü: ☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN GÖRÜŞÜ VE ONAYI

Doç. Dr. Mehmet ARSLAN

Detaylı Bilgi: <https://www.ardahan.edu.tr/birim.aspx?id=1002003>

Telefon: 0-4782117522

Faks: 0-4782117523

E-posta: sbe@ardahan.edu.tr

ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Yunus Emre ODABAŞ

Doğum Yeri ve Tarihi

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Ardahan Üniversitesi Çevre Mühendisliği
,Anadolu Üniversitesi İşletme

Önlisans Öğrenimi :Amasya Üniversitesi Meslek Yüksek
Okulu İnşaat Teknolojisi

Lise Öğrenimi : Ardahan Lisesi

İş Deneyimi

Projeler : Ardahan Devlet Hastanesi Yapım İşi
/İnşaat Teknikeri(2019) , 18.Bölge
Müdürlüğü Sınırları Dahilinde Yapımı
Devam Eden Yolların Kontrollük ve
Danışmanlık Hizmet Alımı İşi/ İnşaat
Teknikeri(2012-2020) , Dökümantasyon ve
Kesin Hesap Mühendisi(2020-2021) , Çevre
Mühendisi (2021-2024)

Çalıştığı Kurumlar : UBM A.Ş. , MEGA MÜHENDİSLİK
MÜŞAVİRLİK A.Ş.

İletişim

E-Posta Adresi

Tarih : 19.01.2024