



T.C.

Ardahan Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Bilim Dalı

KURA NEHRİ SUYUNUN MUTAJENİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gökhan YEŞİLYURT

Doç. Dr. Mehmet ARSLAN

Yüksek Lisans Tezi

Ardahan, 2024

KURA NEHRİ SUYUNUN MUTAJENİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gökhan YEŞİLYURT

Doç. Dr. Mehmet ARSLAN

Ardahan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Biyoteknoloji Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Ardahan, 2024

KABUL VE ONAY

Gökhan YEŞİLYURT tarafından hazırlanan “Kura Nehri 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

Gökhan YEŞİLYURT

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü tezle 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 imkânı 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 iş birliği 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.

Gökhan YEŞİLYURT

ÖN SÖZ

Çalışmalarım boyunca benden her türlü yardımını esirgemeyen Tez ve danışman hocam Doç. Dr. Mehmet ARSLAN ‘a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca her zaman yanımda olan desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen ailemede şükranlarımı sunuyorum iyiki varsınız.

Saygılarımla...

Gökhan YEŞİLYURT

Ardahan-2024



ÖZET

YEŞİLYURT, Gökhan. *Kura Nehri Suyunun Mutajenik Özelliklerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Ardahan, 2024.

Kura Nehri, Kars'ın Kızılgedik bölgesinden kaynaklanır ve ardından Ardahan platosunu geçerek Gürcistan üzerinden Azerbaycan'a ilerler ve Hazar Denizi'ne ulaşır. Bu özelliğiyle, Güney Kafkasya'nın en büyük sınır ötesi su havzasıdır. Nehir boyunca sanayi, enerji ve sulama gibi amaçlarla faydalanan bölgeler bulunmaktadır. Kaynaklandığı yerden Hazar Denizi'ne ulaşana kadar birçok şehrin içinden geçmesi, nehir üzerindeki kirlilik yükünü artırmaktadır. Kızılgedik Dağı'ndan doğup ilk olarak Ardahan şehir merkeziyle karşılaşan Kura Nehri, Göle ilçesinden ve birçok köyün yakınından geçerken bu bölgelerden deşarjlar almaktadır. Bu çalışmada nehrin Ardahan il sınırları içerisinde kalan kısmında 2022 ve 2023 yıllarında 3 farklı istasyondan alınan su örneklerinin mutajenitesinin Ames \Salmonelle mutejenite test sistemi ile TA98 ve TA100 *Salmonella typhimurium* suşları kullanılarak belirlenmesi amacıyla tasarlanmıştır.

Elde edilen bulgulara göre 2022 yılında alınan su örneklerinden 3. İstasyonda TA 98 suşu üzerinde mutajenik etki, 2023 yılında alınan su örneklerinde ise TA100 suşu üzerinde 2. ve 3. İstasyonlardan alınan su örneklerinde mutajenik etki tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler:

Kura nehri, Mutajenite, Ames test, *Salmonella typhimurium*,

ABSTRACT

YESILYURT, Gokhan. *Investigation of Mutagenic Properties of Kura River Water*, Ph. D. Thesis, Ardahan, 2024.

The Kura River originates from the Kızılgedik region of Kars and then crosses the Ardahan plateau, proceeds to Azerbaijan through Georgia and reaches the Caspian Sea. With this feature, it is the largest cross-border water basin in the South Caucasus. There are areas along the river used for purposes such as industry, energy and irrigation. The fact that it passes through many cities from its source to the Caspian Sea increases the pollution load on the river. The Kura River, which originates from Kızılgedik Mountain and first meets the city center of Ardahan, passes through Göle district and many villages and receives discharges from these regions. This study was designed to determine the mutagenicity of water samples taken from 3 different stations in 2022 and 2023 in the section of the river within Ardahan provincial borders by using TA98 and TA100 *Salmonella typhimurium* strains with Ames \Salmonelle mutagenicity test system. The Kura River originates from the Kızılgedik region of Kars and then crosses the Ardahan plateau, proceeds to Azerbaijan through Georgia and reaches the Caspian Sea. With this feature, it is the largest cross-border water basin in the South Caucasus. There are areas along the river used for purposes such as industry, energy and irrigation. The fact that it passes through many cities from its source to the Caspian Sea increases the pollution load on the river. The Kura River, which originates from Kızılgedik Mountain and first meets the city center of Ardahan, passes through Göle district and many villages and receives discharges from these regions.

According to the results obtained, mutagenic effect was detected on TA98 strain in the 3rd station from the water samples taken in 2022 and mutagenic effect was detected on TA100 strain in the water samples taken from the 2nd and 3rd stations in 2023.

Keywords:

Kura river, Genotoxicity, 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	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
GİRİŞ	1
1.BÖLÜM.....	5
KURAMSAL TEMELLER.....	5
1. MUTASYON	5
1.2. MUTASYON ÇEŞİTLERİ	6
1.2.1. Kromozom Mutasyonları.....	6
1.2.1.1. Kromozom Sayı Değişimleri (Genom Mutasyonları).....	6
1.2.1.1.1. Öploidi	6
1.2.1.1.2. Anöploidi	7
1.2.1.2. Kromozom Yapı Değişimleri (Yapısal Kromozom Mutasyonları)	7
1.2.1.2.1. Delesyon	7
1.2.1.2.2. Duplikasyon.....	7
1.2.1.2.3. İnversiyon	8
1.2.1.2.4. Translokasyon.....	8
1.2.2. Gen Mutasyonları	8
1.2.2.1. Baz Çifti Değişimleri.....	8

1.2.2.2. Çerçeve Kodon Kayması (Frame_Shift) Mutasyonları	9
1.2.2.3. Bazlar Arasında Bağların Oluşması (Dimerizasyon)	9
1.2.2.4. Bazlarla Şekerlerin ve Şekerlerle Fosfatların Arasındaki Bağların Kopması	9
1.2.3. Mutasyonların Kökenleri	9
1.2.3.1. Kendiliğinden (spontan) Mutasyonlar	10
1.2.3.2. Yapay Mutasyonlar.....	10
1.3. MUTAJEN VE KANSEROJEN MADDELER	10
1.3.1. Mutajen Maddeler.....	10
1.3.1.1. Fiziksel Mutajenler	10
1.3.1.2. Kimyasal Mutajenler	11
1.3.1.2.1. Bazların Kimyasal Yapısını Değiştiren Kimyasal Maddeler.....	11
1.3.1.2.2. Baz Analogları	11
1.3.2. Kanserojen Maddeler.....	12
1.3.2.1. Primer veya Doğrudan Etkili Kanserojenler.....	12
1.3.2.2. Sekonder Kanserojenler.....	12
1.3.2.3. Ko-kanserojenler.....	13
1.3.3. Mutajenite Testleri.....	14
1.3.3.1. Histidin Mutasyonu	15
1.3.3.1.1. His G 46.....	16
1.3.3.1.2. His D 3052.....	16
1.3.3.1.3. His D 6610.....	16
1.3.3.1.4. His G 428.....	16
1.3.3.1.5. Rfa mutasyonu	16
1.3.3.1.6. UvrB mutasyonu.....	16
1.3.3.1.7. R faktörü	17

2.BÖLÜM.....	18
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	18
3. BÖLÜM.....	28
MATERYAL ve METOD	28
3.1. MATERYAL	28
3.1.1. Salmonella Typhimurium Test Suşları	28
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	28
3.1.2.1. (SOX) Vogel Bonner Medium	28
3.1.2.2. Serum Fizyolojik	29
3.1.2.3. (0,05 mM) Histidin/Biyotin Solüsyonu	29
3.1.2.4. (%0,8/0.02 NaOH) Ampisilin Solüsyonu Kullanımı.....	29
3.1.2.5. (%40) Glikoz çözeltisi	29
3.1.2.6. (%0,5) Histidin çözeltisi	30
3.1.2.7. (%0.13) Biyotin çözeltisi Kullanımı.....	30
3.1.2.8. 4-Nitro-o-Fenilendiamin (NPD)	30
3.1.2.9. Sodyum azid (AZS)	30
3.1.2.10. Top agar	30
3.1.2.11. Histidin/Biyotin Plakları (HB Agar).....	31
3.1.2.12. Histidin/Biyotin/Ampisilin plakları (HBA agar).....	31
3.1.2.13. Minimal Glikoz Agar Plakları (MGA)	32
3.1.2.14. Nutrient Agar Plakları (NA)	32
3.1.2.15. Nutrient Broth Sıvı Kültür Ortamı (NB)	32
3.1.2.16. Örneklerin Toplanması ve Saklanması.....	33
3.2. METOT	33
3.2.1. Salmonella Suşlarının Kültürlerinin ve Master Plakların Hazırlanması	33
3.2.2. TA98 ve TA100 için Kültür Hazırlanması	34

3.2.3. Bakterilerin Genotiplerinin Kontrol Edilmesi	34
3.2.3.1. Histidin Gereksinimi Kontrolü	34
3.2.3.2. Ames testinin yapılışı	34
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	35
4.BÖLÜM.....	37
BULGULAR	37
SONUÇ.....	40
KAYNAKÇA	43
EKLER.....	51
EK 1. ORİJİNALLİK RAPORU FORMU	51
EK 2. ETİK KURUL MUAFİYET FORMU	52
ÖZ GEÇMİŞ.....	53

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece
Cm	Santimetre
g	Gram
Km	Kilometre
km ²	Kilometrekare
l	Litre
M	Molar
µm	Mikrometre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
mm	Milimetre
mM	Milimolar
ml	Mililitre
mµ	Milimikron
N	Normal
s	Saniye

Kısaltmalar	Açıklama
AAS	Absorbsiyon spektrofotometrisi
2-AP	2 Aminopürin
AZS	Sodyum azid
5-Bu	5 Bromourasil
CA	Kromozom bozulma testi

DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EMS	Etilmetansülfonat
GC	Gaz kromatografisi
GC-MS	Gaz kromatografisi-Kütle spektrometrisi
HESC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
His	Histidin
his-	Hisitidin sentezleyemeyen
his+	Histidin sentezleyebilen
HB	Histidin Biyotin
HBA	Histidin Biyotin Ampisilin
LPS	Lipopolisakkarit
mRNA	Mesajcı Ribonükleik asit
MGA	Minimal Glikoz Agar
NA	Nutirent Agar
NB	Nutrient Broth
NPD	Nito-o-fenilendiamin
RNA	Ribonükleik asit
SCE	Kardeş kromatit değişimi
S9	Metabolik aktivasyon sağlayan rat karaciğeri mikrozomal enzimleri
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
TIC	Toplam iyon kromatografisi
UDS	Programlanmamış DNA sentezi
VB	Vogel-Bonner

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kura nehri Üzerinden 2022 yılında 3 farklı istasyondan alınan su örneklerinin mutajenite analiz sonuçları.....	39
Tablo 2. Kura nehri Üzerinden 2022 yılında 3 farklı istasyondan alınan su örneklerinin mutajenite analiz sonuçları.....	39



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.Kura nehri havzası, Türkiye Fiziki Coğrafyası, Şahin, C. 2005	4
Şekil 2. Baz çifti değişimi	8
Şekil 3. Ames testinin uygulanması ve mutajeniteyi gösteren koloniler (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011).	35
Şekil 4 Numune yerlerinin haritada gösterimi	38



GİRİŞ

Bulunduğumuz zaman diliminde insanları etkileyen ve yaşam şartlarının temel kaynağını oluşturan konuların başında sağlık, gıda ve çevre büyük bir öneme sahiptir. Bu konuların tamamıyla birlikte ilişkisi olan temiz ve kullanılabilir su kaynakları, dünya nüfusunu ve insanların hayat kalitesini doğrudan etkileyen kritik bir unsurdur. Ancak endüstriyel teknolojinin gelişimi, su, hava ve toprağın sağlığına zararlı maddelerle kirlenmesini beraberinde getirmiştir. Bu durum, insanlığın karşı karşıya olduğu en önemli toksikolojik sorunlardan biridir. Nüfusun hızlı artması, plansız sanayileşme ve tarımdaki bilinçsiz uygulamalar çevre kirliliğinin giderek artan bir sorun oluşmasında ve insan sağlığı ile ekosistemler üzerinde ciddi etkilere yol açmaktadır. Evsel ve endüstriyel atıklar ile tarım ilaçları, arıtma yapılmadan su kaynaklarına direk olarak karışması zaten sınırlı olan kullanılabilir doğal su kaynaklarının kirlenmesine yol açmaktadır. Bazı maddeler ise hiçbir şekilde parçalanamaz, çöktülemez, absorbe edilemez veya yok edilemez. Bundan dolayı, bu kimyasal maddeler su kaynaklarında zamanla birikerek çevredeki canlıların sağlığı için tehdit oluşturmaktadır (Ayan, 2005).

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

Üretimdeki aşırı artış, doğanın kendi kendini yenileme kapasitesini aşarsa, kirlenme olaylarını tetiklemektedir. Kullanılabilir su kaynaklarının yeteri düzeyde sınırlı olduğu bilinirken, aynı zamanda kullanım suyunun azaldığı da gözlemlenmektedir. Nüfusun hızla artması, hızlı kentleşme, sanayinin gelişmesi ve tarım alanlarında bilinçsizce kullanılan gübre ve pestisitler ile endüstri alanında kullanılan suların ve evsel atıklardan kaynaklanan atık sular, sınırlı düzeyde olan su kaynaklarının giderek kirlenmesine yol açmaktadır.

Sanayi atıklarından kaynaklı kirlilik, sektöre bağlı olarak farklılık göstermektedir. Ayrıca, içme suyu amaçlı kaynakların klorlanması ve diğer enfeksiyon giderici uygulamalar da kirlilikle ilişkilidir. Bu etkilerin birleşimi, su kaynaklarında mutajenik ve kanserojen maddelerin oluşmasına yol açarak, insan sağlığı ve kanser arasında doğrudan bir ilişki yaratmaktadır. Bu önemli problemle baş etmek için çevresel koruma

önlemleri alınmalı ve sürdürülebilir kullanım modelleri geliştirilmelidir (Yücel ve diğerleri, 1995; Filipiç ve Toman, 1996).

Organik kirleticilerle su kirliliği, sucul ekosistemlerin korunması ve içme suyu kaynaklarıyla ilgili olarak karşılaşılan en kritik sorunlardan biridir. Sulu ekosistemlerde yer alan kimyasalların birçoğu mutajenik ve kanserojen etkilere sahip olup canlı DNA'da değişikliklere neden olmaktadır. Sulu ekosistemlerde yer alan kimyasalların birçoğu mutajenik ve kanserojen etkilere sahip olup canlı DNA'da değişikliklere neden olmaktadır (Anonim, 1991). Bu tür kirleticilerin belirlenmesi oldukça zorlu bir süreçtir, çünkü çoğu zaman bu kirleticilerin tek başına veya bir arada biyolojik etkileri tam olarak anlaşılamamaktadır. Sağlık riski taşıyan bu organik kirleticilerin araştırılması ve biyolojik etkilerinin değerlendirilmesinde, küresel düzeyde geçerli sonuçlar elde edilebilen biyolojik testlerin kullanılması en etkili yöntemdir.

Kimyasal maddelerin kanserojenik risklerini değerlendirmek için genellikle tümör indüksiyonunu içeren deney hayvanlarında yapılan testler en mantıklı yaklaşımlardan biridir. Fakat bu testlerin maliyetlerinin yüksek olması ve uzun sürmesinden kaynaklı olumlu bakılmamaktadır. Bu nedenle, bilim insanları karsinojenite çalışmalarında kullanılabilen, hızlı sonuçlar sağlayan ve maliyeti düşük bir dizi geçici test sistemi geliştirmişlerdir. Karsinojenlerin taramasında mutajenitenin temel alınmasının iki ana sebebi vardır:

1. Genetik sistemin ve genetik kodun evrensel özellik göstermesi.
2. Mutajenitenin karsinojenite ile yüksek düzeyde korelasyon göstermesi.

Bakteri test sistemlerindeki bazı kimyasal bileşiklerin mutajen olduğu belirlenmiştir. Bu bileşikler kanserojen etkiyede sahip olabilirler. Kanserojen ve mutajen maddelerin neden olduğu spesifik DNA hasarlarını saptamak için bakteriyel test sistemleri kullanılmaktadır. İçme suları, doğal kaynaklar veya endüstriyel sular gibi çeşitli kaynaklardan gelen suların genotoksik etkiye sahip maddeler açısından incelenmesi zor olabilir. Genotoksik etkinin belirlenmesi, karışımlardaki maddelerin sınıfını anlamakla ilgilidir ve bu kimyasal tanımlama her zaman mümkün olmayabilir. Genotoksit etkinin değerlendirilmesi için en uygun yöntem, konsantre edilmemiş örneklerin kullanılmasıdır. Ancak, bu yöntem bazen organik madde kaybına veya değişimine yol açabilir ve düşük seviyedeki kirleticilerin tespitinde sınırlı olabilir (Yeşilbağ, 2002).

Besin zinciri göz önüne alındığında, sucul organizmalar için sitogenetik analizler önemlidir. Çünkü insanlar yaşamları boyunca sucul ortamlarda ve sucul besinlerde birçok yabancı maddeye (ksenobiyotik) ve ağır metale maruz kalırlar (Udroiu, 2006). Genotoksisite biyobelirteçlerinin kullanımı, indikatör organizmalarda, mutajenik risklerin değerlendirilmesine, kirlenici kaynakların ve gelecekteki olası etkilerinin belirlenmesine olanak tanır. Sucul çevrelerin kirlenmesinde, özellikle kentsel ve endüstriyel atıklardaki yabancı maddelerin (ksenobiyotiklerin) etkisi büyüktür. Bu maddeler mutajenik veya genotoksik özellikte olabilirler ve sucul organizmalarda doğrudan veya dolaylı olarak birikerek DNA hasarına yol açabilirler (Caffetti ve diğerleri 2008; Summak, 2009).

Ksenobiyotiklerle ilişkili riskleri ölçmek son derece zordur çünkü bunlar genellikle analitik belirlenemeyecek kadar düşük konsantrasyonlarda meydana gelir. Risk değerlendirmesi sorununa yaklaşmanın en iyi yolu biyolojik testleri, özellikle de bakterilere ilişkin kısa süreli biyoanalizleri kullanmaktır (Filipic ve Toman,1996; Monarca ve diğerleri.,2000; Vargas ve diğerleri.,1995).

Bununla birlikte, kimyasalların su ortamlarında tam olarak tespit edilmesi, organik maddelerin karmaşık moleküler yapısından dolayı tam anlamıyla imkânsız olmasa da zorlu ve pratik olarak imkansızdır. Öte yandan şu ana kadar tespit edilen kirlenici bazılarını belirli ortamlarda aramak, o ortamlardaki kirliliği ve toksisiteyi tahmin etmenin pratik bir yoludur. Bundan dolayı, kısa vadeli biyolojik araştırma yöntemlerinin moleküler kimyasal analiz yöntemlerine dahil edilmesi, çevresel numunelerdeki toksik maddelerin araştırılması için pratik ve geçerliliği kanıtlanmış bir yöntem haline getirmektedir (Shuetzle ve Lewtas, 1986). Bunlar arasında mutajenezi tespit etmek için özel olarak tasarlanmış *Salmonella* mutajenite testi (Ames testi) geçerliliğini koruyan en önemli testlerden biridir. Ames testi kullanılarak çeşitli kimyasallar araştırılabilir (Grifoll ve diğerleri, 1990; Mamber ve diğerleri, 1993; Park ve diğerleri, 2000; Cerna ve diğerleri, 1998).

Kura nehri kaynağını Kars'ın Kızılgedik bölgesinden alarak ardından Ardahan platosunu geçerek Gürcistan üzerinden Azerbaycan'a ilerler ve Hazar Denizi'ne ulaşır. Kura nehrinin Türkiye içerisindeki uzunluğu 189 km toplam uzunluğu ise 1515 km dolayındadır. Çıldır ilçesinin ve Çıldır gölünün kuzeyinden Gürcistan'a girer ardından

Azerbaycan içine girerek Aras Nehri ile birleşir ve ardından Hazar denizine dökülür. Kura Nehrinin toplam aktığı alanı 188.000 km'dir. Türkiye'deki alanı ise 4852 km ulaşır (Özey, 2011). Kura nehri Ardahan'da balık avlanmada, arazi sulamada ve enerji üretiminde ekonomiye katkıda bulunmaktadır. Kura nehri üzerindeki barajlar; Köroğlu Barajı, Kayabeyi Barajı, Akıncı HES ve Kotanlı HES bulunur.



Şekil 1.Kura nehri havzası, Türkiye Fiziki Coğrafyası, Şahin, C. 2005

Kükrer ve arkadaşları yapmış oldukları bir araştırmada, Kura Nehri'nin Ardahan il sınırları içindeki belirli istasyonlarda, Göle ilçesinden ve birçok köyün yakınından geçerek deşarjlar aldığı için, iz metal kirliliği seviyeleri belirlenmiştir. Kura Nehri, bu bölgelerdeki yerleşim birimlerinden atmosferik depozisyon yoluyla metal birikimine maruz kalmaktadır, bu da hem doğrudan hem de yoğun fosil yakıt kullanımından kaynaklanmaktadır. Metal kirliliği, bazı elementlerin toksik olması, bozulmadan kalabilmesi ve besin piramidi içerisinde insanlara kadar iletilebilmesi gibi özelliklerinden dolayı, çevre, ekosistem ve insan sağlığı açısından ciddi bir sorun olarak kabul edilmelidir. (Kükrer ve diğerleri 2019).

Bu çalışmada, Kura nehrinin belirlenen istasyonlarından alınan su örneklerinin mutajenitesi Ames \Salmonelle mutejenite test sisteminin TA98 ve TA100 *Salmonella typhimurium* test suşları kullanılarak belirlenmiştir.

1.BÖLÜM

KURAMSAL TEMELLER

1. MUTASYON

Mutasyon, bir organizmanın genomundaki DNA veya RNA diziliminde kalıcı değişikliklere neden olan bir durumdur. Bu değişiklikler, doğal olarak oluşabileceği gibi, mutajen olarak adlandırılan adı kimyasal ve fiziksel etkiler tarafından da meydana getirilebilir. Mutajenler, doğal çevrede hem fiziksel hem de kimyasal olarak ortaya çıkabilirler. Bir organizma, mutasyona uğramışsa buna mutant adı verilir. Mutasyon, genetik materyalde kalıtsal olarak bir değişmeye yol açar. Çok hücreliler ve eşeyli üreme yapan organizmalarda, mutasyonun kalıcı kalıtsal olabilmesi için bu değişikliklerin üreme hücrelerinde (germ hücreleri) olması gerekir. Vücut hücrelerindeki (somatik hücrelerdeki) mutasyonlar ise bireyin fenotipinde değişikliklere sebep olabilir ancak bu değişiklikler, üreme hücrelerine aktarılamadığından nesilden nesile geçmezler ve nihayetinde ortadan kaybolurlar (Cerna ve diğerleri, 1998). Bilindiği üzere farkında olmadan veya bilinçsizce doğaya salınan çeşitli kimyasal bileşikler çevre kirliliğine yol açmaktadır. Kıyı bölgelerinde, diğer kirleticilerin yanı sıra ağır metal kirliliği de küresel öneme sahip ciddi bir risk oluşturmaktadır (Kamala-Kannan ve diğerleri, 2008). Bu kirleticiler kalıcıdır, toksiktir ve besin zincirine girdiklerinde insan sağlığına zararlı olabilirler (Kishe ve Machiwa 2003; Luo ve diğerleri, 2010; Bing ve diğerleri, 2013; Çevik ve diğerleri, 2009; Kükrer ve diğerleri, 2015). Bu kimyasallar çok düşük konsantrasyonlarda bile etkili olabiliyor. Canlıların dokularındaki zamanla biriken bu kimyasal maddelerin yapılarının mevcut analitik kimyasal yöntemlerle belirlenmesi zordur. Bu sebeple, kanserojen ve mutajenik maddelerin taramasına dayalı biyolojik yöntemler ve göstergeler önemli hale gelmiştir. Özellikle insan beslenmesinde önemli bir rol oynayan sucul hayvanları organizmalarında kanserojen etki yapan ve mutajenik maddeler bulunabilir, bu nedenle bu maddelerin insan sağlığı açısından genotoksisitenin belirlenmesi, izlenmesi insanlar için önemlidir (Kotelevtsev ve Stepanova, 1995).

1.2. MUTASYON ÇEŞİTLERİ

Mutasyonlar genel olarak iki temel grupta incelenir. Kromozom mutasyonları ve Gen mutasyonlarıdır.

1.2.1. Kromozom Mutasyonları

1.2.1.1. Kromozom Sayı Değişimleri (Genom Mutasyonları)

Canlı organizmaların kromozom sayısında tam katlar halinde artışlara (poliploidi) adı verilir, azalmalara ise (monoploidi) adı verilir. Kromozomlardaki artış olması ya da azalmalar (anöploidi) meydana gelmesi durumu ifade eder.

1.2.1.1.1. Öploidi

Kromozom sayısındaki değişimler, bir takımdaki kromozomların tam katlar halinde artması veya organizmada sadece tek bir takım kromozom bulunması şeklinde olabilir. Bu durumlar monoploid ve poliploid olarak iki kısma ayrılır.

Bireylerin kromozom sayısında tam katlar halinde artışlar (poliploidi) ya da azalmalar (monoploidi) veya bazı kromozomlarda artış ya da azalmalar (anöploidi) meydana gelmesi durumu ifade eder.

Her bir kromozomdan sadece tek bir tane bulunduğu bitkilerde genler tek kopyalıdır. Monoploidlerde, mayoz bölünme sırasında kromozomların eşleşmesi olmadığı için kromozomların kutuplara çekilişi düzensizdir ve bu durum dengesiz cinsiyet hücrelerinin oluşmasına yol açar. Bu durum genellikle yüksek veya düşük sıcaklık veya bazı kimyasal maddelerin kullanımıyla gerçekleşir ve mayoz sırasında kromozom sayısının kontrol edilememesi sonucunda somatik hücrelerdeki genoma sahip gametlerin oluşumuyla ortaya çıkar. Ayrıca, zigotun ilk mitotik bölünmelerinde kromatidlerin ayrı kutuplara çekilmesinin veya enine çeper oluşumunun engellenmesiyle veya bazen de yumurta hücresinin birden fazla sperm ile döllenmesi sonucunda da oluşabilir. Poliploidinin sahip olduğu takımlar aynı türe aitse buna otopoliploidi denir; farklı türlere aitse ise allopoliploidi denir (Temizkan, 1999).

1.2.1.1.2. Anöploid

Bir takımdaki kromozomlardan birinin veya birkaçının sayısının farklılaşmasına anöploid adı verilir. Bu durum, mitoz ve mayozdaki anormal durumlar (nondisjunction) sonucunda ortaya çıkar. Anöploidinin farklı tipleri bulunmaktadır.

Monosomi (Turner sendromu), diploid bir bireyde tek bir kromozomun eksik olduğu durumdur (Temizkan, 1999).

Bir organizmadaki bir kromozomun homoloğu ile birlikte eksik olduğu duruma Nullisomi adı verilir. Bireylerin, aynı olan türden iki anöploid ($n-1$) gametin birleşmesiyle oluşur (Temizkan, 1999). Bir takımdaki kromozomlardan birinin veya birkaçının sayısının artması durumudur. Kromozom sayısına bağlı olarak Down ve Patau sendromları (Trisomi, tetrasomi) gibi adlar alır (Temizkan, 1999).

1.2.1.2. Kromozom Yapı Değişimleri (Yapısal Kromozom Mutasyonları)

Kromozomlardaki kırılmaların meydana gelmesinin sonucunda parça kayıpları (delesyon) veya artışlarını (duplikasyon) parça yerleşim düzenlerindeki değişimleri (inversiyon) kromozomlar arası parça değişimlerini (translokasyon) kapsar (Bağcı, 1985).

1.2.1.2.1. Delesyon

Kromozomlardaki parça kaybı durumuna delesyon denir. Delesyon oluştuğunda, kromozom parçası ve oluşturduğu delesyon halkası, sentromerli ise hücre içinde devam eder, ancak sentromersiz olan kısım kaybolur. Delesyon meydana geldiği yer sentromerli bölgede oluşursa, halka şeklinde kromozom oluşabilir. İnsanlarda, kromozom delesyonunun bir sonucu olarak oluşan sendromlara örnek Philadelphia kromozomu ve "Cri du Chat" sendromu verilebilir (Temizkan, 1999).

1.2.1.2.2. Duplikasyon

Kromozomun herhangi bir parçayı fazla sayıda taşıması duplikasyondur (örneğin, *Drosophila*'da Bar duplikasyon) (Temizkan, 1999). Delesyonun aksine, bir bölümün çoğaltılması vardır ve sonuç olarak, duplikasyonda bazı genler daha fazla bulunur.

1.2.1.2.3. İnversiyon

Kromozomun içinden ayrılan bir parçanın ters yönde dönerek koptuğu yere tekrardan yapışması durumuna inversiyon denir. Bu durumda, kromozomdaki genlerin sıralanışında değişiklik oluşur. Eğer kromozom parçasında sentromer bulunuyorsa buna perisentrik, sentromer içermiyorsa parasentrik inversiyon denir (Temizkan, 1999).

1.2.1.2.4. Translokasyon

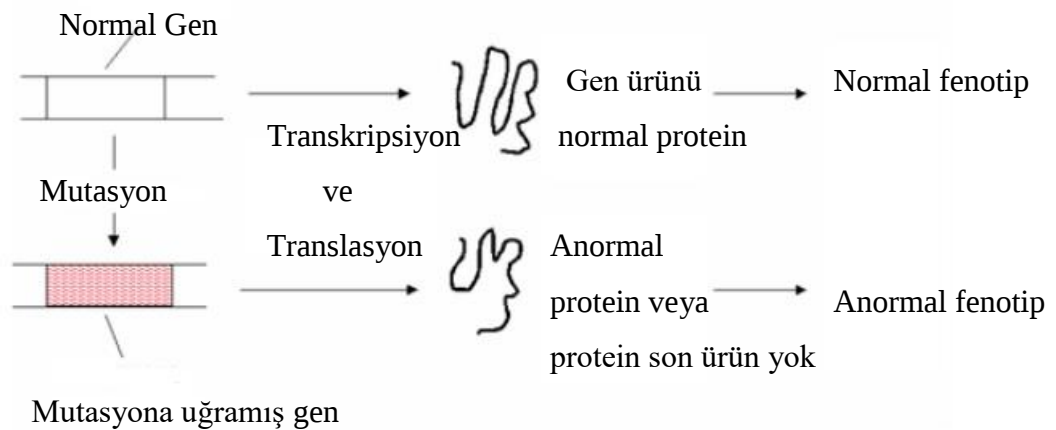
Translokasyon homolog olmayan kromozomlar arasında kromozomların birbiriyle yer değiştirmesi durumudur. Down sendromu olan insanlarda görülen durumlardan biri, yirmi birinci kromozomun D grubundan başka bir kromozoma (genellikle on dördüncü kromozoma) bağlanmasıdır (Temizkan, 1999).

1.2.2. Gen Mutasyonları

Genlerin yer değiştirmeden, yapılarında gerçekleşen değişimlerdir. Kromozomların görüntüsünü değiştirmezler, ancak mutasyonlar moleküler düzeyde dört farklı değişim tipinden kaynaklanabilirler (Diril ve diğerleri, 1997).

1.2.2.1. Baz Çifti Değişimleri

Gen mutasyonları, DNA dizisinde baz çifti değişiklikleri, baz çifti eklenmesi veya çıkartılması gibi değişikliklere neden olur. Bu mutasyonlar doğal olarak oluşabilir veya mutajenlerin etkisiyle uyarılabilirler. Bu tür mutasyonlarda değişiklikler pürin-pürin değişimi (transizyon) veya pürin-pirimidin değişimi (transversiyon) şeklinde



Şekil 2. Baz çifti değişimi

gerçekleşebilir.

Ayrıca, bazların kimyasal yapısındaki değişiklikler eşleşme sırasında H bağlarının sayısını değiştirir ve hatalı eşleşmeye sebep olabilir. Bazın kimyasal yapısındaki değişiklik iki şekilde gerçekleşebilir. Geçici tautomerik değişiklikler, bazların halka yapısındaki atomların yer değiştirmesiyle replikasyon sırasında yanlış eşleşmelere neden olabilir. Örneğin, A hatalı olarak G ile eşleşebilir. Kalıcı değişiklikler ise DNA'nın herhangi bir bazında kalıcı yapı değişikliklerine yol açarak mutasyonlara sebep olur. Bu tür değişikliklerin oluşması için hücrenin replikasyona uğraması gereklidir. Bazların birbirleri ile yer değişimi replikasyon sırasında oluşur ve bu değişikliğin gözlemlenebilmesi için birkaç replikasyon döngüsü gerekebilir. Baz çifti değişiklikleriyle oluşan mutasyonlarda, genin işlevi genellikle kısmen korunur ve genin ürünü olan proteinin aktivitesi tamamen kaybolmaz. (Diril ve diğerleri, 1997).

1.2.2.2. Çerçeve Kodon Kayması (Frame_Shift) Mutasyonları

Bu mutasyon genlerin proteinin kodlandığı kısmında birkaç baz çiftlerinin eklenmesi veya çıkarılması sonucu meydana gelen bir mutasyon çeşididir. Bu tür mutasyonlar, bir baz çiftinin çıkarılması (delesyon) ya da yeni bir baz çiftinin eklenmesi (adisyon) şeklinde olabilir (Diril ve diğerleri, 1997).

1.2.2.3. Bazlar Arasında Bağların Oluşması (Dimerizasyon)

Uygun çevre koşullarının değişmesine bağlı olarak oluşur. Pirimidin bazları arasında özel bağların kurulması ile meydana gelir (Diril ve diğerleri, 1997).

1.2.2.4. Bazlarla Şekerlerin ve Şekerlerle Fosfatların Arasındaki Bağların Kopması

Bu tür meydana gelen mutasyonlarda DNA zincirinin yapısı bozulmuş olur.

1.2.3. Mutasyonların Kökenleri

Mutasyon, genetik materyalde rastgele meydana gelen bir değişikliği ifade eder. Bu değişim, bir nükleotidin başka bir nükleotide dönüşmesi gibi basit olabileceği gibi, kromozom sayısının artması gibi büyük ölçekli de olabilir. Genellikle bir veya birkaç geni etkileyen çeşitli boyutlarda gerçekleşen birçok mutasyon vardır. Mutasyonlar

canlılarda hem kendiliğinden (spontan) hem de dış etmenlerin (yapay ya da teşvik edilmiş) etkisiyle oluşabilir (Diril ve diğerleri, 1997).

1.2.3.1. Kendiliğinden (spontan) Mutasyonlar

Doğal olarak (spontan) meydana gelen mutasyon olasılığı oldukça düşüktür ve her replikasyon sırasında 10^{-5} - 10^{-10} hücrede meydana geldiği belirtilir. Kendiliğinden oluşan mutasyonlar ya hücre metabolizmasındaki mutasyon yapıcı ara ürünlerden ya da tautomerik değişikliklerden kaynaklanan farklı eşleşmeler sonucunda ortaya çıkabilir (Diril ve diğerleri, 1997).

1.2.3.2. Yapay Mutasyonlar

Bu mutasyon yapay olarak gerçekleştirilir, mutajen adı verilen fiziksel veya kimyasal etkenlerle meydana gelir. Böyle etkiye maruz kalan bireylerde genlerde mutasyon olasılığı 10^{-2} 'ye kadar yükselir. Mutajenlerin genleri etkilediği genel bilgisine ek olarak, bazı mutajenlerin belirli genlerdeki mutasyon olasılığını önemli ölçüde artırdığı bilinmektedir (Diril ve diğerleri, 1997).

1.3. MUTAJEN VE KANSEROJEN MADDELER

1.3.1. Mutajen Maddeler

Soluk alıp vermemiz sırasında ağız yoluyla alınır, derinin teması ile nüfuz ettiğinde kalıtsal genetik olarak hasarlara neden olabilen ve bu etkilerin oluşumunu hızlandıran maddelerdir. Mutajenleri iki ana grup altında toplayabiliriz (Ergene, E. 2015).

1.3.1.1. Fiziksel Mutajenler

Yüksek ve düşük sıcaklık, UV ışınları, Elektriksel ve Manyetik alan, proton ve nötron ışınlarının etmenlerinden ortaya çıkar. Fiziksel mutajen maddeler genellikle bir baz çiftinin yerine başka bir baz çiftinin geçmesiyle meydana gelir. Bu mutajenler etki ettiği yüzeye, etki şiddetine ve maruz kalınan zamana göre geçici olan veya kalıcı olan değişimlere yol açarlar (Ergene, E. 2015).

1.3.1.2. Kimyasal Mutajenler

Bu mutajen maddeler fiziksel mutajenlere göre her zaman kalıcı değişimlere yol açarlar ve bu mutajenleri iki grup adı altında toplayabiliriz (Ergene, E. 2015).

1.3.1.2.1. Bazların Kimyasal Yapısını Değiştiren Kimyasal Maddeler

Kimyasal maddelerin bazıları, DNA'yı direk olarak doğrudan etkilerler ve replikasyonun meydana geldiği sırada kalıp özelliklerini değiştirirler. Bu mutajen etki yapanların bazıları doğrudan DNA yapısına girmezken, diğerleri modifiye ederek replikasyonda yanlış eşleşmeye sebep olur. Örneğin, nitroz asit gibi (HN0_2) kimyasal mutajenler, bazıları deaminasyon yaparak modifiye ederken hidroksilamin (NH_2OH), sitozin ile tepkimeye girerek hidroksilaminositozin oluşturur. Alkilleyici maddeler (örneğin, etil metan sülfonat, nitrozoguanidin, metil metan sülfonat), bazlardaki azot grubuna bir alkil grubu ekleyerek etki eder. Asetik, süksinik, maleik anhidrit gibi asilleştirci ajanlar ise amino ve karboksil gruplarını etkileyebilir. Bu tür mutajenler, nötr pH'da etkisidir. Bazların H bağı oluşturduğu yerlerde modifikasyon yaparak yanlış baz çiftlerinin oluşumuna sebep olarak mutasyona neden olabilirler (Diril ve diğerleri, 1997).

1.3.1.2.2. Baz Analogları

Bu maddeler, pürin ve pirimidin molekül yapılarına oldukça benzeyen kimyasal yapıya sahiptirler. Genellikle sadece replikasyon sırasında etkilidirler ve daha sonraki replikasyonlarda normal bazlardan farklı bazlarla eşleşerek yanlış bazların oluşumuna yol açabilirler. Bu durum, baz çifti değişikliklerine neden olabilir. Mesela, 2-aminopürin bir adenin benzeridir, ancak 5-bromourasil bir timin benzeridir ve bu maddeler normal bazlara benzer ancak replikasyon sırasında yanlış eşleşmelere yol açabilirler (Diril ve diğerleri, 1997).

1.3.2. Kanserojen Maddeler

Mutasyona uğramış mutajenlerin kanser oluşumunu etkileyebileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle, mutajenlerin kansere sebep olabileceği düşünülmüş ve özellikle fiziksel ve kimyasal mutajenler ile kanser arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bazı mutajen maddelerin kanserojen olarak kabul edilmesine yol açmıştır. Çevremizde ve çalışma ortamlarında bulunan hem sentetik hem de doğal kimyasal maddelerin etkilerini öngörmek ve bunlardan kaçınmak mümkün olabilirken, vücudumuzdaki doğal olarak metabolik süreçler sonucu meydana gelen çeşitli mutajenlerden kaçınmak imkansızdır. Çoğunluğun kabul ettiği görüşe göre, direkt olarak veya metabolize olduktan sonra kanserojen etkili maddelerin mutajen olabileceğidir. Bununla birlikte, bazılarına göre, tüm mutajenlerin kanserojen olmadığı düşünülmektedir. Kimyasal kanserojenler genellikle üç ana grup altında sınıflandırılır (Ergene, 2015; Maron ve Ames, 1983).

- Primer veya doğrudan etkili kanserojenler
- Sekonder kanserojenler
- Ko-kanserojenler

1.3.2.1. Primer veya Doğrudan Etkili Kanserojenler

Primer kanserojen maddeler, moleküler yapı bakımından biyolojik ve kimyasal olarak çok daha fazla aktif bileşiklerdir. Genellikle serbest radikal durumunda veya elektrofilik bir yapıda olabilirler. Bu tür moleküller genellikle hücresel bileşenlerle doğrudan etkileşime uğrayabilirler ve bunları yapısal olarak değiştirebilirler. (Ergene, 2015; Maron ve Ames, 1983).

1.3.2.2. Sekonder Kanserojenler

Sekonder kanserojenler aktif olmayan bileşiklerdir. Bazıları kendi başlarına hidrolize olur ve aktif kanserojen maddelere dönüşebilirler; bazıları ise özel metabolik aktivasyonlarla birincil kanserojenlere dönüşürler. Bu metabolik aktivasyon sürecini yöneten enzimler, organizma, organ ve dokulara bağlı olarak farklı nitelik ve miktarlarda varlık gösterir. Bundan dolayı, sekonder kanserojen maddenin etkisi, enzim faaliyetlerine göre farklı organizmalarda veya aynı organizmanın farklı organlarında değişiklik gösterebilir. Bunlara örnek olarak polinükleer aromatik hidrokarbonlar,

nitrozaminler, heterosiklik hidrokarbonlar, aromatik ve heterosiklik aminler, nitrozkarbamatlar, azo boyaları, nitroaril ve nitrafuran türevleri ve nitrozamidler, nitrozüreler, alkiltriazinler, safrol, tiyoamidler, klorlanmış hidrokarbonlar ve mikotoksinler verilebilir. (Ergene, 2015; Maron ve Ames, 1983).

1.3.2.3. Ko-kanserojenler

Ko-kanserojenler, doğrudan bir etkiye sahip olmayıp ancak kanserojen veya prokanserojen maddelerin etkilerini artırabilen kimyasallardır. Bu grupta asetat türevleri, oleat türevleri ve piren türevleri gibi maddeler bulunabilir (Filipiç, M. ve Toman, MJ (1996).

Kanserojen maddelere maruziyetin önlenmesi ve azaltılabilmesi için aşağıdaki önlemler alınmalıdır:

a) Risklerin değerlendirilmesi sonucunda çalışanların güvenlikleri ve sağlığı için risk tespit edilirse, tehlikeli maddelere maruziyet önlenmelidir.

b) Çalışan personellerin kanserojen etki yapan maddelere kaldığı maruziyeti ve mesleki maruziyet sınır değerlerini aşmamaları gerekir.

c) Yüklenici veya İşveren, kanserojen etki oluşturan veya bu tür maddelerin kullanıldığı işlerde alınması gereken önlemler:

- İşyerlerinde kullanılan kanserojen maddenin miktarı belirlenmeli ve iş için gereken miktarın üzerinde madde bulundurulmamalı.
- Kanserojen etki gösteren maddelere maruz kalmış veya maruz kalabilecek çalışan sayısı minimum düşük seviyede olmalıdır.
- Kanserojen maddelerin tespiti için uygun ölçüm aletleri bulundurulmalıdır.
- Özel durumlarda belirli kişisel korunma yöntemleri kullanılmalıdır.
- Görev yapan personel bilgilendirilmelidir
- Kanserojen riski bulunan alanlar standartlara uygun ikaz levhalar ve güvenlik işaretleri ile belirtilmelidir. Bu bölgelerde sigara içilmesi, yeme içme yapılması yasak olan bölgeler olarak belirtilmelidir (T.C Cumhurbaşkanlığı Mevzuat Bilgi sistemi).

1.3.3. Mutajenite Testleri

Farklı test sistemleri, farklı mutasyonları tanımlayabilme kapasitelerine sahip olduklarından, çeşitli mutajenleri tespit etmek için çeşitli testler geliştirilmiştir. Bunlar arasında sitogenetik metotlar bulunmaktadır ve bu testler şu şekilde sıralanabilir:

Kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozom aberasyon testi (KA), programlanmamış DNA sentezi (UDS), mikronukleus testi (MN), Comet testi (gen dönüşümleri ve DNA kırılmaları), Ames/Salmonella yöntemi, SOS kromotest, transformasyon yöntemi. KKD yönteminde, kardeş kromatitlerin farklı şekilde boyanması esas alınır; bu boyama farklılığı, kardeş kromatitlerdeki değişiklikleri gösterir. Mikronukleus testi, mitotik hücrelerde çekirdek boyama işlemiyle meydana gelir ve mitoz anormallikleri ile kromozom kayıplarını ortaya çıkarır. KA ve Comet yöntemleri, metafazdaki kromozomları inceleyerek bu bölgelerdeki hataları gözlemlemeyi sağlar. UDS yöntemi, primer rat hepatositlerinde DNA tamiri uyarılmasına dayanır. UV ile yapılan pozitif kontroller otoradyografi yöntemiyle değerlendirilir. S.O.S. kromotest sistemi ise DNA hasarının indüklediği SOS cevabına dayanarak geliştirilmiştir. S.O.S. sistemi, DNA hasarlarına karşı hücrelerin tepki gösterdiği bir regülasyon mekanizmasıdır ve çeşitli stres koşullarında hücreyi korumayı amaçlar. Bu sistemin devreye girdiği durumlarda, DNA onarımı işleminde görev alan proteinlerin miktarında artış meydana gelir. Test, bu proteinlerin uygun olarak analiz edilmesiyle gerçekleştirilir. Fare fibroblastlarında malign transformasyonun kimyasal maddeler tarafından uyarılmasıyla mutajenik ve kanserojenik etkilerin ölçüldüğü bir yöntemdir. (Rao ve diğerleri, 1994).

Ames testi, çevre kirliliğine yol açan her türlü, mutajenik özelliklerinin araştırılmasında en fazla yaygın olarak kullanılan bir test sistemidir. Bu test sistemi ile bitki ve bitkilerden, topraktan, sudan ve havadan izole edilen 5000'den fazla kimyasal ve biyoaktif bileşenin mutajenezi kısa sürede belirlenebilmektedir (Maron ve Ames, 1983; Hong ve Lyu, 2011; Vu ve diğerleri, 2012).

Ames testinin, mutajenik bileşiklerin varlığına ilişkin havzaların başlangıç değerlendirmesi için en önemli bölgeleri belirlemek amacıyla tarama analizi amacıyla yapıldığı belirtilmelidir (Vargas ve diğerleri 2001). 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).

Test sistemlerinin karşılaştırıldığında, umu testi, Ames testi ve SOS kromotest sistemleri arasında bir karşılaştırma yapılmış ve Ames testinin diğerlerine göre daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır (Rao ve diğerleri, 1994).

Bir araştırmada, Ames testi ile deniz mikroorganizması olan *Vibrio harveyi*'nin kullanıldığı test sistemi karşılaştırılmış ve Ames testinin, tatlı su kaynağı sistemleri için daha iyi elverişli bir test sistemi olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışma, Ames testinin tuzlu su sistemlerinde *Vibrio harveyi* testine göre daha etkili olduğunu göstermiştir (Kataoka ve diğerleri, 2000).

Bir bölgede ağır metal kirliliği altında yapılan bir çalışmada, Ames testi ile faj indüksiyon testi karşılaştırıldı ve çalışmanın sonuçlarına göre, Ames testinin karmaşık yapıli kirleticilere karşı daha etkili bir yanıt verdiği ifade edilmiştir (Rao ve diğerleri, 1994).

Üzerindeki toksinler incelenen *Alternaria alternata* adlı mayanın gıda güvenliği değerlendirmesi, Kanada'da Ames testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Kataoka ve diğerleri, 2000).

İlaç firmaları, ürettikleri belirli ilaçların genotoksisitesini belirlemek için Ames Testini kullanmaktadır (Nobukawa ve Sanukida, 2002).

Ames testi, aslında, histidin sentezleme yeteneğini kaybetmiş (His⁻ oksotrof) *Salmonella typhimurium* suşlarının test edilen bir maddeyle etkileşime girdikten sonra yeni bir mutasyona uğrayarak His⁺ hale gelmelerine dayanmaktadır. Bu testte kullanılan suşlar, *Salmonella typhimurium* LT2 ata suşundan in vitro mutasyonlar yoluyla elde edilmiş bir dizi mutant suştur ve genetik özellikleri aşağıda listelenmiştir:

1.3.3.1. Histidin Mutasyonu

Her bir test suşu, histidin operonunda farklı bölgelerdeki baz değişimleri veya çerçeve kaymasına neden olan adisyon-delesyon mutasyonlarıyla değiştirilmiştir. Ayrıca, çerçeve kayması mutasyonunun yüksek olasılıkla bir dur kodonunun okunmasına neden olduğu ve bu durumun proteinin erken sonlanmasına yol açtığı bilinmektedir (Dadakoğlu, 2011).

1.3.3.1.1. His G 46

Oluşan mutasyon, histidin biyosentezinde görev alan ilk enzimi kodlayan genin, leucine aminoasidi yerine proline aminoasidi ile değiştirilmesine yol açar (Aydoğan, 2016).

1.3.3.1.2. His D 3052

Bu genin mutasyonu (-1 çerçeve kayması) genellikle çerçeve kaymasına yol açan maddelerle etkileşime girerek His⁺ hale gelmektedir (Mumcu, 2015).

1.3.3.1.3. His D 6610

Bu (+1 çerçeve kayması) mutasyonu etkilenen bölgede beş yerine altı sitozin dizisi bulunmaktadır (Mumcu, 2015).

1.3.3.1.4. His G 428

'Ochre' stop kodonunun varlığı nedeniyle, His G geni inaktif konumdadır. Bu suşlardaki His⁻ mutantlarının çeşitli test maddelerine duyarlılığını artırmak için aşağıdaki mutasyonlar eklenmiştir (Mumcu, 2015).

1.3.3.1.5. Rfa mutasyonu

Bu mutasyon, bakteri hücre duvarını kodlayan genlerde meydana gelir. Lipopolisakkarit tabakasındaki değişiklikler sonucunda hücrelerdeki Lipopolisakkarit tabakanın kısmen kaybolmasıyla, normalde hücre içine giremeyecek büyük moleküller hücre içine nüfuz edebilirler (Dadakoğlu, 2011).

1.3.3.1.6. UvrB mutasyonu

Bu mutasyon, DNA onarım sisteminde kesip çıkarma (excision repair) görevini üstlenen enzimi kodlayan UvrB genindeki bir delesyon sonucuyla oluşmuştur. Bu mutasyon, bu suşları daha duyarlı hale getirmektedir (Dadakoğlu, 2011).

1.3.3.1.7. R faktörü

R faktörü, Ampisilin direnç genini içeren bir gen olup, bu geni taşıyan bakterilerde, hücrelerde normal düzeyde bulunan ve hata frekansı yüksek olan "error-prone" DNA onarım yolunun aktive olmasına neden olur. Bu durum, pozitif sonuçların artmasına sebep olmakla kalmaz, aynı zamanda spontan mutasyonların artmasına yol açar. R faktörü içermeyen suşlar zayıf mutajenik sonuçlar gösterirken, pKM101 plazmidinde bulunan R faktörü genine sahip yeni suşlar oldukça güçlü sonuçlar vermiştir. Bu test sistemlerinde en sık kullanılan bakteri suşları TA97, TA98, TA100, TA102, TA1535 ve TA1538'dir (Maron ve Ames,1983; Cerna ve diğerleri, 1998; Durusoy ve Kambur, 2003).



2.BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ülkemizdeki su kirliliği sorunu, çoğunlukla doğal kaynakların plansız ve denetimsiz kullanımı, sanayileşme ile birlikte artan kentleşme gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır. Bu durum günümüzde ciddi bir boyuta ulaşmıştır. Kirlenen kaynaklar, bazen geri dönüşü zor bir noktaya gelirken, kirlendikten sonra alınabilecek önlemler genellikle maliyetli ve zorlayıcı olabilmektedir. Bu sebeple, Türkiye gibi sınırlı ekonomik ve teknik kaynaklara sahip gelişmekte olan ülkelerde, doğal kaynakların kirlenmesine karşı korunması büyük önem taşımaktadır (Büyükkarınca, 2004).

Akuatik ortam, endüstriyel, tarımsal ve kentsel atıkların salınımı nedeniyle artan kirletici miktarlarına ana alıcı olarak hizmet eder. Bu karmaşık karışımda bulunan birçok kirletici, insanlar dahil olmak üzere tüm organizmalar üzerinde çeşitli etkilere sahiptir. Bu etkiler popülasyonlar, topluluklar ve ekosistemler düzeyinde gözlemlenebilir ve organ fonksiyonlarını, üreme durumlarını, popülasyon büyüklüğünü ve türlerin hayatta kalmasını etkileyebilir. Dolayısıyla, bu kirleticiler biyoçeşitliliği etkileyebilir. Kanserojenik (kanser oluşturan) ve mutajenik (gen mutasyonlarına yol açan) bileşikler, bireyler üzerinde etki etmekten öte, gelecek jenerasyonlar boyunca aktif olabilme ve zararlı etkiler oluşturma konusunda en endişe verici ve problemli gruplardır (Bolognesi ve Hayashi, 2011).

Dere, çay, ırmak suları, göller ve denizlere bırakılan atık sular, şehirselleşme ve endüstriyel atıkların bir karışımını içerir. Bu atıklar arasında deri tesislerinin artıkları, gıda üretimi artıkları, demir fabrikalarının artıkları, ağır metaller, boya, plastik, akü, petrol, lastik, asitler, boya maddeleri ve diğer kimyasal madde üreten tesislerin artıkları bulunmaktadır (Kargacıoğlu, 2022).

Ziraat ve tarımsal faaliyetlerin yanı sıra endüstriyel ve evsel atıkların da eklenmesiyle, birçok toksik madde karasal ve sucul ekosistemlere yayılmaktadır. Tarım kaynaklı kimyasal atıklar genellikle herbisit ve insektisitlerden oluşur ve bu atıklar, doğrudan veya dolaylı olarak ekosistemlere yayılabilir. Örneğin, tarım alanlarında kullanılan pestisit ambalajları ve kutuları bilinçsizce atılarak, toksik atıklar tatlı su

ekosistemlerine, göl ve dere gibi alanlara karışabilir. Bu pestisitlerin dikkate değer bir özelliği ise, hedeflenen zararlı organizmaların yanı sıra çevredeki tüm organizmaları da risk altına sokma potansiyeline sahip olmalarıdır (Mason, 2002; Schwarzenbach ve diğerleri., 2010; Kargacıoğlu, 2022).

Dünya genelindeki Akuatik sucul ekosistemler üzerinde gerçekleştirilen ayrıntılı araştırmalar, çevreye geliş güzel atılan atıkların doğal su kaynaklarında yarattığı kirliliğin endişe verici seviyelere ulaştığını rapor etmiştir (Iqbal, 2016; Leme & Marin-Morales, 2009; Mason, 2002; Schwarzenbach ve diğerleri., 2010; Kargacıoğlu, 2022).

Atık maddeler ekosistemlerin besin zincirine girerek sonra insanlara kolayca ulaşırlar, insan sağlığında kanser dahil olmak üzere çeşitli akut ve kronik hastalıklara sebep olabilmektedir (Albertini ve diğerleri., 2000; Schwarzenbach ve diğerleri., 2010; Kargacıoğlu, 2022).

Sucul çevredeki mutajenik kimyasallar, yerleşim bölgelerindeki kanalizasyonlardan, endüstriyel ve yerel atıkların nehirlerle, denizlere ve göllere boşaltılmasından kaynaklanmaktadır (Summak, 2009).

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

Ülkelerde, su kaynaklarına toksik kimyasalların boşaltılmasını sınırlamak adına kanunlar getirilmeye başlanmış olsa da, endüstriyel bölgelerdeki atıklar ile evsel atıklar, sucul çevrede yüksek miktarda toksik madde bulunmasının temel kaynakları arasında yer almaktadır (Çavaş ve Ergene-Gözükara 2005; Summak, 2009).

Farklı kirleticilerin ekosistemlerde oluşturduğu zararlı etkileri belirlemek için, biyolojideki moleküler testlerle beraber deney fareleri ve farklı bitki türleri de dahil olmak üzere çeşitli canlı organizmaların *in-vivo* ve *in-vitro* testlerde kullanılması genetik toksikolojinin bir parçası haline gelmiştir. Moleküler testlerin zaman ve maliyet açısından dezavantajları olduğundan, günümüzde *Drosophila* ve diğer bazı hayvan organizmaları, canlı hücrelerde meydana gelen sitotoksik, genotoksik ve mutajenik hasarların belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunların arasında COMET yöntemi, Mikronükleus yöntemi, SMART yöntemi, AMES testi, genetik araştırmalarda yer almaktadır (Badr, El-Shazly, & Mohamed, 2021; Fusconi, Gallo & Camusso, 2007;

Hemachandra & Pathiratne, 2016; Leme & Marin-Morales, 2009; Guan ve diğerleri., 2017. Liman, 2013; Morais ve diğerleri., 2018; Kargacıoğlu, 2022)

Ames testinin tasarlanma amacı kimyasal madde içeriklerinin mutajenezi tespit etmek içindir (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 ve yapay kimyasallar, vitaminler, flavonoidler ve terpenoidler, karotenoidler gibi fitokimyasalların antimutajenik etkisine sahip olduğu da bu testle gözlemlenmektedir. (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 mutajenezi tespit etmek için özel olarak tasarlanmış *Salmonella* mutajenite testi (Ames testi), havadaki, nehirler, göller, endüstriyel atıklar ve içme sularındaki karmaşık karışımların mutajenitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Mamber ve diğerleri, 1993; Papoulias ve diğerleri, 1996; Park ve diğerleri, 2000; Vargas ve diğerleri, 2001; Cerna ve diğerleri, 1998; Hollert ve diğerleri, 2000).

Ames testinin, mutajenik bileşiklerin varlığına ilişkin havzaların başlangıç değerlendirmesi için en önemli bölgeleri belirlemek amacıyla tarama analizi amacıyla yapıldığı belirtilmiştir (Vargas ve diğerleri, 2001).

Bilindiği gibi, *S. typhimurium*'un TA100 suşu, DNA zincirinin baz çiftlerinde değişikliğe neden olan mutajenleri tespit etmek için kullanılırken, TA98 suşu, çerçeve kayması mutasyonlarına neden olan mutajenleri tespit etmek için kullanılır (Maron ve Ames, 1983).

Ames testinde TA98 suşuna etki eden PAH'lar veya polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organik bileşiklerden oluşan bir kimyasal sınıftır. Bu bileşikler genellikle karbon ve hidrojen atomlarından meydana gelir ve genellikle karbon atomları arasında halka şeklinde düzenlenmiş yapılara sahiptir. PAH'lar genellikle doğal kaynaklardan, endüstriyel faaliyetlerden veya yanma süreçlerinden kaynaklanabilir. Doğal olarak, orman yangınları veya volkanik patlamalar gibi olaylarla meydana

gelebilirler. İnsan kaynaklı oluşumları ise endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtlar ve sigara içimi ile ilişkilidir. Sigara içimi, diğer kaynaklara kıyasla PAH miktarının daha az olmasına rağmen, insan sağlığı açısından en büyük tehdit oluşturan kaynaklar arasında yer almaktadır (Liu ve diğerleri 2017).

Endüstriyel kaynaklar, çöp yakma, çimento fabrikaları, petrol rafinerileri, kok ve asfalt üretimi, alüminyum, demir çelik üretimi gibi faaliyetlerden kaynaklanabilir. Ayrıca ısınma ve enerji amaçlı kullanılan katı yakıtlar ve fosil yakıtlar da PAH oluşumuna neden olabilir. Bu kaynaklar, PAH'ların çevresel dağılımını ve genotoksik etkilerini anlamak açısından önemli bir araştırma alanı oluşturur (Perry ve diğerleri, 1991).

Ames testinde TA100 suşuna etki eden akridin boyaları, nitröz asit, hidroksilamin, alkilleyici ajanlar, aldehitler, hidroperoksidazlar, aromatik aminler, benzidin, toluidin ve dianisidin gibi baz çiftlerinde değişikliğe neden olan bileşiklere karşı oldukça duyarlı olduğu bilinmektedir.

Akridin Boyaları: Genellikle akridin türevlerinin sentezi yoluyla elde edilen akridin boyaları, organik sentezlerde yaygın olarak kullanılan temel bir yapı olan akridinden türetilir (Dilek. B, 2015)

Nitröz Asit: Nitröz asit, nitrojen dioksit ile su arasındaki reaksiyon sonucu ortaya çıkabilir. Bu reaksiyon, nitrojen dioksit gazının su ile etkileşimini içerir.

Hidroksilamin: Hidroksilamin, amonyak ve hidrojen peroksidin reaksiyonu sonucu elde edilir.(Diril ve diğerleri, 1997).

Alkilleyici Ajanlar: Alkilleyici ajanlar, organik moleküllerdeki hidrojen atomlarının alkil grupları ile değiştirilmesiyle sentezlenir (Mumcu, E. 2015)

Aldehitler: Aldehitler, alkol oksidasyonu veya hidrojenasyon gibi çeşitli reaksiyonlarla elde edilir (Mumcu, E. 2015).

Hidroperoksidazlar: Hidroperoksidazlar, lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresle ilişkilendirilen reaksiyonlar sonucu ortaya çıkabilir (Li, Y. ve diğerleri. 2014)

Aromatik Aminler: Aromatik aminler, genellikle aromatik halkalardaki nitro gruplarının indirgenmesi veya amino grup eklenmesiyle sentezlenir.

Benzidin: Benzidin, nitrobenzenin hidrazin ile redüksiyonu sonucu elde edilir.

Toluidin: Toluidin, tolüenin nitro grubunun indirgenmesiyle elde edilebilir.

Dianisidin: Dianisidin, dimetil anilin türevlerinin sentezi ile elde edilebilir.

Bu maddelerin oluşum süreçleri oldukça karmaşık yapıda olabilirler ve çok özel koşullara bağlı olarak da değişiklik gösterebilirler. Ayrıca, çoğu durumda, bu bileşiklerin endüstriyel süreçlerde veya doğal kaynaklarda nasıl oluştuğuna dair daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyulabilir (Li, Y. ve diğerleri. 2014).

TA98 suşu, PAH türevlerine (yani benz (a)antrasen, 7-etilbenz (a)antrasen) karşı oldukça duyarlıdır (Ames ve diğerleri, 1972).

Teknik olarak *S. typhimurium*'un TA 98 suşu, ortamlarda PAH oluşumunu gösterir ve buna duyarlıdır (Chen ve White, 2004).

Deniz, nehir ve göl sularının mutajenik karakterleri hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Bu mutajenik karakterin birincil olarak PAH'lardan kaynaklandığı da rapor edilmiştir (Kutlu ve diğerleri, 2008).

TA100 suşu ise akridin 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).

Salmonella mutajenite sistemleri (Ames testi) kullanılarak nehir suyu ve çökeltilerin mutajenik etkilerini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Park ve diğerleri.,2000; Filipic ve Toman, 1996; Kataoka ve diğerleri.,2000; Hollert ve diğerleri,1999).

Yurt içinde ve yurt dışında deniz, nehir ve göl sularının mutajenik karakterlerinin Ames testiyle belirlendiği bazı çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Son araştırmalar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar) ve/veya aromatik aminlerin kontamine sularda ve sedimentlerde yaşayan balık popülasyonlarında tümör oluşumuyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalarda, *Salmonella* testinde mutajenik oldukları ve memelilerde kanserojen etkilere sahip oldukları bilinen kimyasal maddeler tespit edilmiştir. Balıkların genotoksik ve kanserojen maddelere maruz kalmasıyla tümör oluşumu arasındaki ilişkiyi incelemek, balık dokularında meydana gelen genetik hasarın doğrudan değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır (Maddock ve diğerleri.1986; Summak, 2009).

Karamenderes Nehri üzerinde yapılan çalışmada Kumkale ve Karaköy lokasyonları arasında bulunan farklı yerlerden beş istasyondan alınan sediment ve su örneklerinin mutajenik etkileri Ames testi olarak bilinen kısa süreli mutajenite test

sistemi ile incelenmiştir. Araştırma kapsamında, heksan, kloroform ve diklorometan gibi farklı ekstraktlar ile beş ayrı konsantrasyonda (100, 10-1, 10-2, 10-3, 10-4) su ve sediment örnekleri hazırlanmıştır. Yapılan deneylerde, *S. typhimurium* bakterisinin TA98 ve TA100 suşları kullanılarak mikrozomal enzimlerin S9 mix varlığında ve S9 mix yokluğunda gerçekleştirilmiştir. Yapmış oldukları mutajenite test çalışmalarının sonucunda, kloroform ekstraktının su örneklerinde tüm istasyonlarda baz çifti değişimine yol açan mutajenik etkiler sergilediği belirlenmiştir. Hekzan ekstraktının mutajenitesi ise ilk istasyonda tespit edilmiştir. Diklorometan ekstraktı ve farklı istasyonlardan alınan sediment örneklerinde ise mutajenik etkilerin zayıf olduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, önceki araştırmalardan elde edilen mutajenitenin tek bir kaynaktan gelmediğini göstermektedir. Bazı kimyasal maddeler yalnız başlarına genotoksik etkiye sahip olmayabilir, ancak başka bir kimyasal maddeyle bir araya geldiklerinde bu etkiyi oluşturabilirler. Bu nedenle, su ve sediment örneklerindeki kimyasalların analizi, mutajenitenin yorumlanabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Çakmak ve Demir, 2018).

Porsuk Nehrinde yapılan bir çalışmada; alınan su ve çökeltilerin, metabolik aktivasyon olmadan *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarındaki potansiyel mutajen etkileri, Ames testi (plaka birleştirme tahlili) kullanılarak incelendi. Farklı XAD 4 ve XAD 16 sütunlarıyla su numuneleri ayrıştırıldı. İki istasyondan XAD 4 ekstraktlarında TA98 için su örneklerinden pozitif sonuçlar elde edildi. Sediment örneklerinin farklı konsantrasyonlarda test edilmesi sonucunda, farklı örnekleme bölgelerinde her iki suş için mutajenik sonuçlar tespit edilmiş. Bu mutajenik etkilerin bazılarını açıklamak için akarsu sedimentlerindeki toplam metal konsantrasyonları atomik absorpsiyon spektrofotometrisi (AAS) ile belirlenmesi yapılmıştır. Bulgular, Porsuk Nehri'nin sedimentlerinde ve su numunelerinde, çerçeve kayması mutasyonları ve baz çifti yer değiştirme mutasyonlarını oluşturan mutajenlerin varlığı ortaya konulmuştur (Kutlu ve diğerleri, 2004).

İzmir Körfezi'nin İç Körfez bölgesinde altı farklı istasyondan alınmış olunan sediment örneklerinde, muhtemel mutajenik etkilere neden olabilecek kimyasal maddelerin varlığını belirlemek amacıyla *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları kullanılarak mutajenite tarama testi gerçekleştirilmiş. Ames testi sonuçları, İzmir Körfezi'nde bazı bölgelerin muhtemel mutajenik ve toksik etkilere maruz kaldığını,

Bostanlı Bölgesi'nin (İstasyon 6) ise yüksek düzeyde toksik etkiye maruz kaldığını ortaya çıkarmış. Turan Bölgesi'nde, çevresel kirleticilerin çerçeve kayması mutasyonlarına yol açabileceği belirlendi. Bu araştırma, İzmir İç Körfezi'nin muhtemel mutajenik etki olan ve toksik etkili maddelerle kirlendiği sonucuna varmıştır. (Yiğit ve Boyacıoğlu,2023).

Deniz, nehir ve göl sularının mutajenik özellikleri üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Bu mutajenik özelliklerin başlıca olarak Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlardan (PAH'lar) kaynaklandığı rapor edilmiştir (Kutlu ve diğerleri, 2008). İzmir Çamaltı Tuzlası'ndaki S9 fraksiyonu içermeyen su örnekleri üzerinde Salmonella mutajenite analizi gerçekleştirilmiştir. Çamaltı Tuzlası'ndaki mutajenite araştırmasındaki olumsuz sonuçların İzmir Körfezi'nin merkezinde düşük PAH toksisitesinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Kentsel ve endüstriyel kökenli kimyasal bileşikler, nehir suyunun hem su sütunlarında hem de çökeltilerde kirlenmesine önemli ölçüde katkıda bulunarak potansiyel ekotoksikolojik risk oluşturur (Vargas ve diğerleri, 2001). Bilinmelidir ki, farkında olmadan veya bilinçsizce doğaya salınan çeşitli kimyasal bileşikler çevre kirliliğine neden olmaktadır. Kıyı bölgelerinde, diğer kirleticilerin yanı sıra ağır metal kirliliği de küresel ölçekte ciddi bir risk oluşturmaktadır (Kamala-Kannan ve diğerleri, 2008). Bu tür kirleticiler kalıcıdır, toksiktir ve besin zincirine geçtiklerinde insan sağlığı için zararlı olabilirler (Kishe ve Machiwa, 2003; Luo ve diğerleri, 2010; Bing ve diğerleri, 2013; Çevik ve diğerleri, 2009; Kükrer ve diğerleri, 2015).

Hindistan'daki yapılmış olan bir çalışmada Ganj Nehrinin üzerinde bulunan üç istasyondan alınan su örneklerinin mutajenik potansiyelleri hakkında bilgi sahibi olmak için araştırma yapılmıştır. Düşük konsantrasyonlarda bile TA98 ve TA100 suşlarında mutajenite tespit edilmiştir. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) analizleri ile su örneklerinde diklorodifeniltrikloroetan (DDT), β -hekzaklorosikloheksan (BHC), aldrin ve dieldrin gibi bazı pestisitler tanımlanmıştır (Rehana ve diğerleri, 1995).

Slovenya'daki yapılmış olan bir çalışmada, Sora Nehri üzerindeki atık su arıtma tesislerinden, evsel atıklardan ve çöp depolama alanlarından gelen sularla kirlenmiş örnekler Ames test sistemi ile incelenmiş ve bazı örneklerin mutajenik etkili olduğu tespit edilmiştir (Filipic, 1995).

Maccubbin ve diğerleri. (1991), tarımsal, endüstriyel, sanayi ve evsel atıkların yoğun olarak bulunduğu ABD 'de Ames'i kullanarak Michigan'daki Detroit Nehri ve Michigan Gölü'nden alınan tortu örneklerini test etti. Mikrozomal enzimleri (S9) içeren kimyasal maddelerin metabolik aktivasyonu ile sonuçlanan 16 bölgede yüksek mutajenik aktivite tespit edildi. S9 'un uygulanmadığı hiçbir numunede güçlü bir mutajenik etki tespit edilmedi. Rehana ve ekibinin (1995) çalışması, pestisit kontaminasyonu bulunan Ganj Nehri'ni incelemiştir. Deneylerde TA98 ve TA100 suşlarıyla gerçekleştirilen testlerde mutajenik aktivite olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, Rehana ve diğer araştırmacılar (1996), Ganj Nehri'nde yaptıkları diğer bir çalışmada, XAD ekstraktlarında TA98 ve TA100 suşları için mutajenik aktivite; sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda düşük mutajenik etki belirlemişlerdir.

Yapılan diğer bir araştırmada Boyacıoğlu (1999) İzmir Körfezi'nin su ve sediment örneklerinin genotoksik etkisini araştırmıştır. Örneklerin farklı metodlarla ekstrakte edildiği çalışmada *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarıyla çalışılmıştır. Yapılan testlerde, körfezin bazı kısımlarında mutajenik etki olduğu saptanmıştır.

Bir başka çalışmada (Cigerci ve diğerleri, 2007) Eber Gölü ve Akarçay'dan alınan üç farklı istasyondaki su ve sediment örneklerini çalışmışlardır. Su örnekleri, potansiyel mutajenik maddeleri konsantre etmek için XAD 4 kolonundan geçirilerek elde edilmiştir. Deneylerde, TA 98 suşunda üç istasyonda, TA 100 suşunda ise 2 istasyonlarda mutajenik etki belirlenmiştir. S9 mix varlığında yapılan deneylerde ise, sadece üçüncü istasyonda TA98 suşu üzerinde bir mutajenik etki tespit edilmiştir.

Ateş, (2011) Karasu Deresi'nin kaynağından Sakarya Nehri'ne kadar olan bölgeden 6 tane farklı noktadan seçilip alınan su ve sediment örneklerinin genotoksitesi Ames test sistemi kullanılarak değerlendirilmeye çalışılmıştır. Su ve Sediment örneklerinden elde edilen maddeler, XAD 4 ve XAD 16 kolonları kullanılmıştır. Tüm test maddeleri, farklı dilüsyon düzeyleri olan 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} şeklinde hazırlanmış ve Ames test sistemi için kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, Karasu Deresi'nden alınan numunelerde herhangi bir mutajen etkiye rastlanmamıştır.

Çetiner (2012); Üzerinde araştırma yapılan Tokat-Yeşilirmak suyunun mutajenitesini belirlemek için TA98 ve TA100 suşlarıyla Ames test uygulamışlardır. Bazı istasyonlarda hem TA98 suşunda hem de TA100 suşunda mutajenik etki tespit edilmiştir.

Hendriks vd. (1994), Hollanda'da Rhine deltasından suyun organik bileşenlerini izole ederek, izolatların mutajenitesini ve toksisitesini Ames testi ile araştırmışlardır. *Salmonella typhimurium* TA98 suşuyla yapılan çalışmada mutajenite bildirmişlerdir.

Papoulias ve Buckler (1996), yaptıkları çalışmada Buffalo Nehri, Saginaw Nehri ve Indiana Limanı'ndan alınan sediment örneklerinin mutajenitesini araştırmışlardır. Örnek alınan toplam 29 adet istasyonun hepsinin mutajenik ve toksik olduğu ve sadece TA98 suşunda mutajenite tespiti yapıldığı bildirilmiştir.

Boyacıoğlu ve Parlak (2001), Manda, Melez, Laka, Bostanlı, Bornova ve Gediz nehirlerinden toplanan sediment örnekleri üzerinde *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarıyla Ames'in mutajenite testi uygulanmıştır. Yapılan test sonuçlarına göre, bu nehirlerin taşıdığı kirlilik, İzmir Körfezi için mutajenik aktivite oluşturmaktadır.

Boyacıoğlu (2004), İzmir Körfezi'nin üç farklı bölgelerinden toplanan sediment örnekleri, *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarıyla yapılan Ames mutajenite testiyle incelenmiştir. Bulgular, körfezin iç kesimine dökülen dere ve kanalizasyonların taşıdığı kirleticilerin, körfezde mutajenik aktiviteye yol açtığını göstermektedir. Ayrıca, bu mutajenik aktivitenin iç taraftan orta kısma doğru seyrelme eğilimi gösterdiği saptanmıştır. Körfez'deki mutajenitenin sebebi olarak Gediz Nehri'nin taşıdığı kirleticiler olarak belirtilmiştir.

Liu ve diğerleri (2009)'nin yaptıkları çalışmaya göre; Çin'in üçüncü en büyük nehirlerinden biride Songhua Nehri, endüstriyel ve tarımsal faaliyetlerin yanı sıra içme suyu ihtiyacı için uygun su kaynağıdır. Ancak nehir, endüstriyel ve evsel atıklar nedeniyle ciddi şekilde kirlenmiştir. Gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPSC) ve toplam iyon kromatografisi (TIC) gibi yöntemlerle tespit edilmiş organik kirleticilerin tümör oluşumu riskini artırabileceği, epidemiyolojik çalışmalarla gösterilmiştir.

Soylu, 2012; Meriç, Tunca ve Arda nehirlerinden alınan su örneklerinde Ames testi sonuçlarına göre mutajenite tespit edilmemiştir. Bununla birlikte, Ergene Nehri ve bu nehirle sulama yapılan bir çeltik tarlasından alınan su sediment örneklerinde mutajenite olduğu gözlenmiştir. Ames testinde, Meriç Nehri sedimentlerinde, Tunca Nehri sedimentlerinde, Arda Nehri sedimentlerinde, Ergene Nehri sedimentlerinde mutajenite gözlemlenmiştir.

Horn ve diğerkleri (2004), bir çalışmada, Brezilya'nın Bom Jardim Nehri'nden toplanan sediment örneklerinin mutajenik özellikleri incelemiştir. Bu nehir, petrokimya tesisi atıklarına maruz kalmış noktalarından alınan sediment rnekleri, Ames testi ile araştırılmış ve mutajenik aktivite tespit edilmiştir. Ayrıca, su örneklerindeki mutajenik ve sitotoksik aktivitenin incelenmesinin, çevresel kaliteyi belirleme konusunda önemli olduğu ve Ames testinin mutajeniteyi izlemede, kirliliğin tanımlanmasında ve çevresel kalitenin iyileştirilmesinde önemli bir test olduğu vurgulanmıştır.

Wu (2005), Çin'de, Yangtze Estuary Nehri'nin genotoksisitesi üzerine yapılan bir çalışmada Ames testi kullanılmıştır. Yangtze deltası, Çin için önemli bir tarımsal ve endüstriyel alan olmakla beraber bu durum nehrin kirlenmesine neden olmakta ve bölgedeki hızla gelişen ekonomi nedeniyle sorunlar giderek ciddiye kazanmaktadır. Bu çalışmada 12 farklı istasyondan toplanan su rnekleri, Ames testine tabi tutulmuş ve mutajenite gözlenmiştir. Su rneklerinin nitrojen, ağır metaller gibi bazı kimyasallarla ciddi derecede kirlendiği gözlemlenmiştir.

Eskişehir'deki Seydi ayı çevresinden elde edilen su ve toprak örneklerinde bulunan bor miktarının Salmonella typhimurium TA98 ve TA100 suşları ile Ames/Salmonella/Mikrozom test yöntemi kullanılarak incelendiği başka bir çalışmada, bor seviyelerinin yüksek olduğu istasyonlarda, metabolik enzimlerin kullanıldığı S9'lu ortamda ve S9'suz ortamda belirli dozlarda toksisite ve mutajenite tespit edilmiştir. (Mumcu, 2015).

Ateş, 2015; Bilecik'teki Karasu Deresi'nin 6 farklı istasyondan toplanan su ve sediment örneklerinin mutajenite araştırmasında, Ames testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Deneyler, her bir nokta için beş farklı dozda ve her doz için üç tekrar olarak yapılmıştır. TA98 ve TA100 suşlarının su ve sediment örneklerinde mutajenik etki tespit edilememiştir.

Dilek, 2004; Porsuk havzası boyunca belirlenen 7 farklı istasyondan alınan su örneklerinin mutajeniteleri üzerine bir araştırma yapılmıştır. Bu rnekler, Ames Salmonella testine tabi tutulmuş olup, metabolik aktivasyon olmadan iki farklı şekilde konsantre ve nonkonsantre olarak incelenmiştir. Buna ek olarak, XAD-16 yapılan örneklerde mutajenite gözlenmemiştir. Nonkonsantre örneklerden elde edilen sonuçlarda ise mutajenik aktiviteye rastlanmamıştır.

3. BÖLÜM

MATERYAL ve METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Salmonella Typhimurium Test Suşları

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.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılacak kimyasal maddeler; Nutrient broth, Bacto agar, Ampisilin trihidrat, Sodyum hidroksit (NaOH), Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), Sitrik asit monohidrat, Potasyum dihidrojen fosfat (K_2HPO_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.

Deneyde kullanılan kimyasal madde içerikleri ve hazırlanmaları:

3.1.2.1. (SOX) Vogel Bonner Medium

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	10 g
Sitrik asit monohidrat.....	100 g
K_2HPO_4	500g
$NaH_2PO_4 \cdot 4H_2O$	175 g
Distile su(45°C-50°C)	670 ml

Yukarıdaki vermiş olunulan kimyasal maddeler üstteki belirtmiş olduğumuz oranda sırasıyla suyun içerisinde ilave edilir ve hacimce 1 litreye gelinceye kadar doldurulur.

121 °C’de 20 dakika otoklav edilir.

3.1.2.2. Serum Fizyolojik

Kullanım amacı Bakterileri sulandırmak amacıyla kullanılır.

NaCl.....4,5g

Distile su.....500ml

3.1.2.3. (0,05 mM) Histidin/Biyotin Solüsyonu

Mutajenite deneyi (100 ml top agara 10 ml olarak).

D-Biyotin (F.W.247.3)30,9 mg

L-Histidin.HCl (F.W.247.3)240 mg

Distile su250 ml

Biyotin ısıtılarak çözülmesi sağlanır ve histidin ilave edilerek karışım otoklav edilir ve +4 °C de saklanır.

3.1.2.4. (%0,8/0.02 NaOH) Ampisilin Solüsyonu Kullanımı

Ampisilin direnç kontrolü ve HBA plaklarının hazırlanması.

Ampisilin trihidrat. 0.08 g

0.02M Sodyum Hidroksit.100 ml

Ampisilin trihidrat, 0.02M NaOH içinde çözülür ve 0.22 Mm çaplı filtreden geçirilerek steril edilerek +4°C de saklanır.

3.1.2.5. (%40) Glikoz çözeltisi

MGA ve HBA plaklarının hazırlanması.

Glikoz 40g

Distile su 100ml

Glikoz distile su içerisinde çözülerek otoklav edilir, 0-4°C de saklanır.

3.1.2.6. (%0,5) Histidin çözeltisi

Genotip kontrolünün yapılması ve HBA plakları hazırlanması.

L-Histidin.HCl (F.W.191.7) 2g

Distile su 400ml

Histidin ile distile su karıştırılarak otoklav edilir.

3.1.2.7. (%0.13) Biotin çözeltisi Kullanımı

Genotip kontrolü ve HBA plakları hazırlanması

D-Biotin0.65 g

Distile su 50 ml

Biotin çözeltisi ısıtılarak çözülür ve otoklav edilir.

3.1.2.8. 4-Nitro-o-Fenilendiamin (NPD)

Kullanımı:

Pozitif kontrol

Test işlemi 2,5 mg/petri olmak üzere DMSO'da çözülerek kullanılır.

TA98 suşu için S9 karışımı gerektirmeyen bir kimyasal maddedir. Oda sıcaklığında saklanır.

3.1.2.9. Sodyum azid (AZS)

Kullanımı:

Pozitif kontrol

5 mg/petri olmak üzere DMSO içinde çözülerek hazırlanır. 0 °C ile +4°C arasında saklanır. TA100 suşu için S9 karışımı gerektirmeyen bir kimyasaldır.

3.1.2.10. Top agar

Kullanımı

Mutasyon deneyi

Agar 6g

NaCl.5 g

Distile su1000 ml

Bunlar manyetik karıştırıcıda ısıtılarak tuz tam çözülünceye kadar karıştırılır ve sonra otoklavlanır.

3.1.2.11. Histidin/Biyotin Plakları (HB Agar)

Kullanımı: Histidin gereksinim deneyi.

Agar15g
 Distile su914ml
 50XVB tuzları20ml
 %40 glikoz50ml
 Histidin.HCl.H₂O10ml
 0.5mM Biyotin 6ml

Agar ve su iyice karıştırılarak 121⁰C 'de 20 dk otoklavlanarak steril işlemi gerçekleştirilir. Sonra yaklaşık olarak 30-40 dk bekletilerek 45⁰C ye soğutulup %40 glikoz, çözeltisi 50XVB tuzları ve histidin çözeltisi eklenerek solüsyon biraz daha ılıdıktan sonra biyotin eklenir, karıştırılıp petri kutularına 30 ml olarak dağıtılır.

3.1.2.12. Histidin/Biyotin/Ampisilin plakları (HBA agar)

Ampisiline dirençlik testi ve "Master Plate" hazırlanması.

Agar15g
 Distile su 910ml
 50XVB tuzları20ml
 %40 Glikoz50ml
 Histidin.HCl.H₂O 10 ml
 0,5 mM Biyotin6ml
 (%0.8/0.02 M NaOH) Ampisilin3.15ml

Agar ve su 120 ⁰C 'de 20 dk otoklavlanarak steril işlemi gerçekleştirilir. Sonra 45⁰C ye kadar soğutulup %40 glikoz çözeltisi 50XVB tuzları ve histidin bu solüsyona eklenerek karıştırılır. Karışımın sıcaklığı biraz daha azalınca biyotin ve Ampisilin eklenerek petrilere 30ml olarak dağıtılır. Bu plaklarda bakteriler +4⁰C de 2 ay saklanabilir.

3.1.2.13. Minimal Glikoz Agar Plakları (MGA)

Spontan olarak geriye dönüş sıklığının kontrolü, pozitif kontrol, solvent kontrol ve mutasyon deneyi.

Agar15gr
 Distile su 930ml
 50XVB tuzları20ml
 %40 Glikoz50ml

Agar ve su karıştırılarak çözülür ve otoklavlanarak steril edilir. 45°C ye kadar yaklaşık 30dk soğuması beklenir %40 glikoz ve 50XVB tuzları yavaş yavaş karıştırılarak eklenir, petrilere 30ml olarak dağıtılır. +4°C de 2 ay saklanabilir.

3.1.2.14. Nutrient Agar Plakları (NA)

Kullanım: Gecelik kültürün ml'sindeki bakteri sayısını bulma ve genotip kontrolünün yapılması.

Oxoid nutrient broth no:225g
 Agar15g
 Distile su 1000ml

Agar, broth ve su karıştırılarak otoklavda sterilize edilir ve petrilere 30ml olarak aktarılır.

3.1.2.15. Nutrient Broth Sıvı Kültür Ortamı (NB)

Kullanım: Bakterilerin gecelik kültürde büyütülmeleri

Oxoid Nutrient Broth no:2..... 5g
 Distile su 200ml

Broth ve su karıştırılarak otoklavda sterilize edilir, +4°C de muhafaza edilir.

3.1.2.16. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Çalışmamızdaki kullanacağımız su örneklerini bir yıl arayla Kasım 2022 ve Kasım 2023’ de Kura nehrinin daha önceden belirlemiş olduğumuz 3 adet istasyondan alınmıştır.

1.İstasyon Sugöze mahallesi	41 ⁰ 06’05.19”N	42 ⁰ 40’05.65”E
2.İstasyon Kura park	41 ⁰ 06’55.1” N	42 ⁰ 42’02.1”E
3.İstasyon Ortageçit mahallesi	41 ⁰ 07’31.29”N	42 ⁰ 43’32.48”E

Yaptığımız çalışmada belirlemiş olduğumuz her bir istasyon için 5 litre su örneği alınmıştır. Örnekler +4 °C de ve yaklaşık olarak 2 saat içerisinde laboratuvar ortamına alınmış olup saklamak amacı ile filtre edilmiştir. Çalışmamızda kullanacağımız su örneklerini kaba partiküllerden uzaklaştırılmak amacı ile filtreden geçirilerek süzölmüştür. Süzöldükten sonra +4 °C’de sonradan kullanmak için saklanmıştır.

3.2. METOT

Yapmış olduğumuz bu çalışmada kullandığımız stok bakterilerin genetik özelliklerinin kontrol edilmesi ve Ames/*Salmonella*/Mikrozom testi Maron ve Ames tarafından geliştirilen plak inkorporasyon yöntemine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, mutajenik maddenin bakteri ile birlikte yumuşak agara katılmasını ve ardından MGA plaklarına yayılmasını içerir. Deneyler, S9’suz ortamda gerçekleştirilmiştir. Deneyde yapmış olduğumuz her doz için paralel üç plak halinde denenmiştir. 2022 ve 2023 yılında almış olduğumuz su örneklerinden birbirinden bağımsız iki deney yapılmıştır.

3.2.1. Salmonella Suşlarının Kültürlerinin ve Master Plakların Hazırlanması

-80 °C ‘de saklanmış olan bakteri suşlarından bir öze yardımı ile kazıntı alınarak TA98 ve TA100’ün Histidin Biyotin Ampisilin (HBA) plaklarına paralel olarak ekimi yapıp 37 °C 48 saat inkübasyona alınır. 48 saat sürenin sonunda iyi izole olmuş bir koloni seçilerek 2 ml nutrient broth (NB) ortamı içerisinde 37 °C de 16 saat inkübe edilir. İnkübasyonun sonunda bir öze dolusu bakteri kültürü alınarak Histidin/Biyotin/Ampisilin agar üzerine çizgi ekim yapılarak plaklar ve 37°C’de 48saat inkübe edildi. Hazırlamış olduğumuz bu plaklar +4 °C de 2 ay kadar kullanılabilir.

3.2.2. TA98 ve TA100 için Kültür Hazırlanması

Çalışmamızda kullanacağımız test suşlarının uzun süre canlı kalabilmesi için stoklanmaları gerekmektedir. Bu amaçla, Histidin/Biyotin/Ampisilin agarda üremiş sağlıklı bir şekilde izole olmuş bir Salmonella suşundan bir koloni örneği alınarak 2 ml Nutrient Broth içeren tüplere aktarılmış ve 37°C'de 12-16 saat arası bir süre boyunca inkübe edilmiştir. Bu zamanın sonunda, steril bir Eppendorf tüpü içerisine 1 ml bakteri kültürü ve 0.09 ml Dimetil Sülfoksit (DMSO) eklenmiş ve -20°C'de dondurularak ardından -80°C'de saklanmıştır. Bakteri kültürünü kullanacağımız zaman, stoktaki bakteriler oda sıcaklığında çözülerek bir örnek alınmış ve Histidin/Biyotin (HB) agar plaklarına ekim yapılmış, ardından 37°C'de 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İncelenen bu süre zarfında HB agar plaklarında üreme gözlenirken, Minimal Glikoz Agar (MGA) plaklarında üreme olmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, kullanılacak bakterilerin his- mutasyonu taşıdığı anlaşılmaktadır. Master plaklar, inkübasyon sonrası +4°C'de iki ay boyunca saklanabilir ve daha sonra ihtiyaç duyulduğunda gecelik kültürlerin hazırlanması için kullanılabilir.

3.2.3. Bakterilerin Genotiplerinin Kontrol Edilmesi

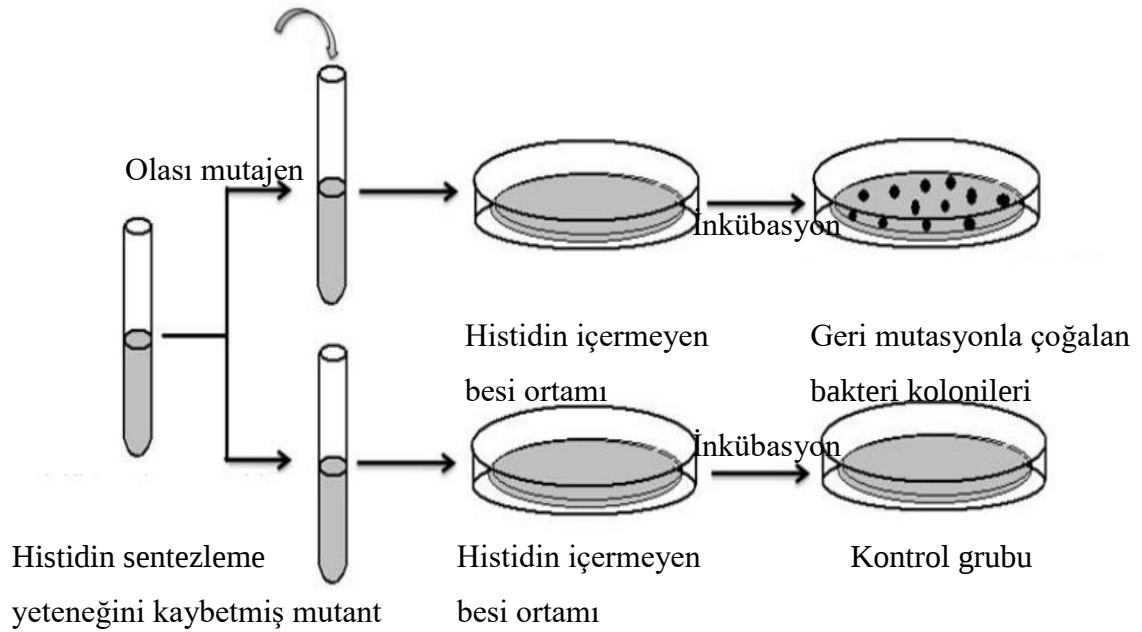
3.2.3.1. Histidin Gereksinimi Kontrolü

Bakterilerin his⁺ mı yoksa his⁻ mi olduklarını ayırt etmemiz için nutrient broth içinde çoğaltılmış olan kültürden aldığımız bakterileri MGA (minimal glikoz agar) ve HB(Histidin/Biyotin) plaklarına ekimi yapılır. Plaklar 37 °C'de 48-72 saat kadar inkübasyona bırakılır. HB plaklarında üremenin olduğu gözlemlenirken MGA plaklarında üreme gözlenmemiştir. Bu şekilde kullanmış olduğumuz bakterilerin his⁻ mutasyonunu taşıdığını belirtir.

3.2.3.2. Ames testinin yapılışı

Mutajenite testleri, test prosedürü Maron ve Ames'de belirtilen şekilde geliştirdikleri Plak inkorporasyon metodu kullanılarak metabolik aktivasyonsuz olarak gerçekleştirildi. Plak inkorporasyon testinde, denenecek bileşim bakteriyel test suşuyla birlikte top agara ekimi yapılarak, minimal glukoz agarlı plaklara döküldü. Plaklar, 37°C'de 48 ila 72 saat arasında inkübe edilerek ve bu sürenin sonunda his⁺ revertant

bakteri kolonileri plaklarda sayımı yapıldı. Bu yöntemde, histidin ve biotin eklenmiş 45°C'de 2 ml'lik top agara, bakteri kültüründen 0.1 ml ve denenecek kimyasaldan 0.1 ml olmak üzere düşük hızda 3 sn. süreyle vortekslenerek oda sıcaklığındaki MGA plaklara tamamen yayılması sağlandı ve yaklaşık olarak 15 dk bekledikten sonra inkübasyona bırakıldı. Her deneyde, kullanılan suşun geri dönme özgülüğünü doğrulamak için pozitif kontrol olarak mutajen kullanılarak ve böylece düzenli olarak mutajenik etkinin olup olmadığının kontrolleri yapıldı. Test maddesini içermeyen, ancak bakteriyi ve kullanılan çözücüyü içeren negatif kontrol plakları, her suş için doğal olarak geri dönen bakteri sayısının belirlenmesinde kullanıldı. Test maddesi, pozitif ve negatif kontrol ile birlikte test edilerek her seriden aynı anda en az 3 petri plağına ekim yapıldı. Her test suşunun kendine özgü revertant koloni sayısını ürettiği göz önüne alındığında, test materyallerinin mutajenik etkilerini araştırırken mutlaka negatif kontrol grubunun kullanılması gerekmektedir. Her bir doz için 3 ayrı petri kabında gerçekleştirilmiş ve her deney 3 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3. Ames testinin uygulanması ve mutajeniteyi gösteren koloniler (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011).

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Tüm istatistiksel veriler varyans (ANOVA) analizine tabi tutularak ve grupların arasındaki oluşan farklılıkları Duncan testi ile $P < 0.05$ önem ölçüsünde 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.

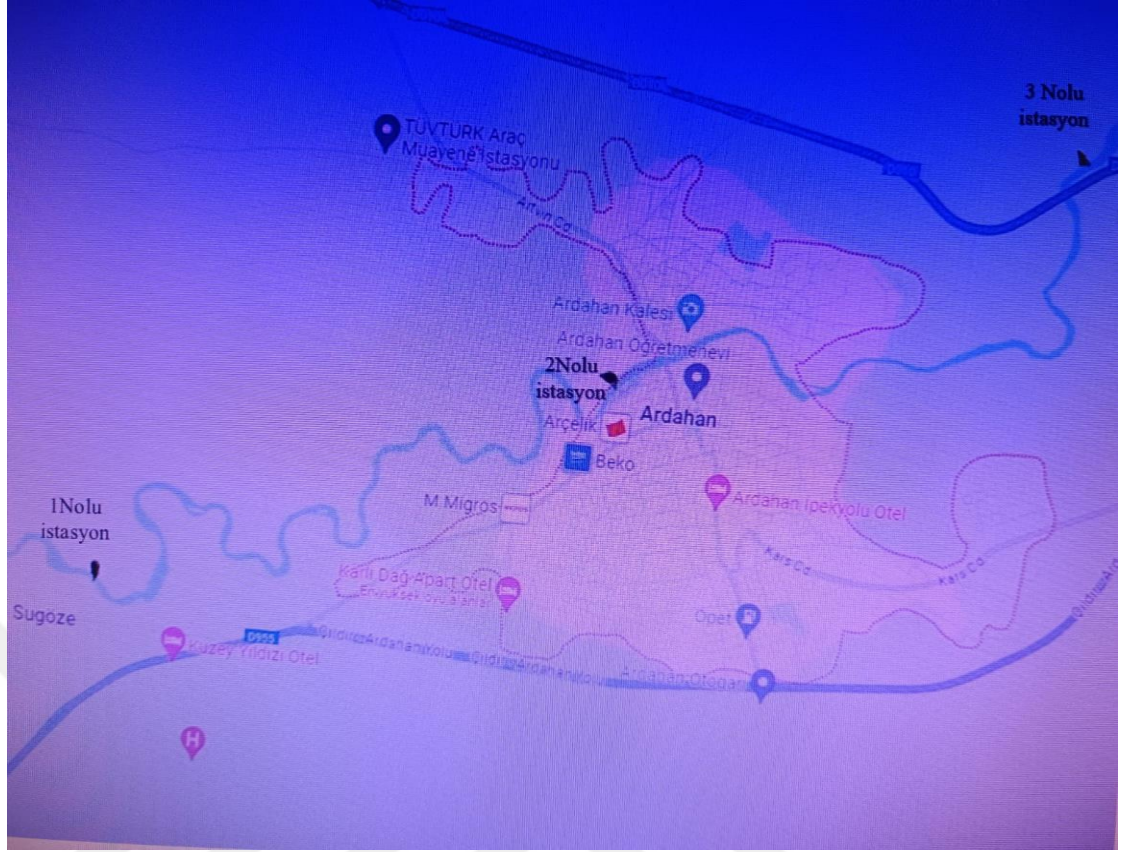


4.BÖLÜM

BULGULAR

Kura Nehri Kars'ın Kızılgedik bölgesinden doğarak Ardahan'ın Göle ilçesinden geçer buradan geçerken Kayınlık dere, Sarı deresi ve Kür çayı ile birleşerek yağın kar ve yağmur sularıyla da birlikte Kura Nehri'ni oluştururlar. Yapmış olduğumuz çalışmada; Ardahan il sınırları içinde bulunan Kura Nehri'nden belirlemiş olduğumuz 3 farklı istasyondan 2022 ve 2023 yılları arasında alınan su örneklerinin mutajenitesi üzerine bir araştırma gerçekleştirilmiştir. Bu istasyonları belirlememizin sebebi Ardahan şehir merkezine girişinde ve çıkışında herhangi bir mutajen etkinin olup olmadığının tespitinin yapılması ve eğer mutajenite varsa bunun neden kaynaklı olduğunun belirlenmesi. Bu mutajenite araştırması, Salmonella typhimurium TA98 ve TA100 suşları kullanılarak Ames/Salmonella/Mikrozom test yöntemiyle, S9 mix kullanılmadan yapılmıştır.

Alınan üç farklı istasyondan 2022 ve 2023 yılları arasında toplanan su örnekleri, üç ayrı plak üzerinde aynı anda test edilmiş ve birbirinden bağımsız olarak 2 farklı deney gerçekleştirildi. Her bir deney için spontan kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontroller yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak TA98 suşu için 4-Nitro-o-Fenilendiamin, TA100 suşu için pozitif kontrol olarak Sodyum Azid kullanıldı.



Şekil 4 Numune yerlerinin haritada gösterimi

Numune aldığımız istasyonlar

- 1 Nolu istasyon Sugöze Mahallesi
- 2 Nolu istasyon Kura park
- 3 Nolu istasyon Ortageçit Mahallesi

Tablo 1. Kura nehri Üzerinden 2022 yılında 3 farklı istasyondan alınan su örneklerinin mutajenite analiz sonuçları

2022 KURA	Ta98	Ta100
Kontrol	12,0000 ± 2,6458	147,333 ± 9,062
PK	556,667 ± 23,333	453,333 ± 17,638
1. İstasyon	39,3333 ± 11,3920	135,333 ± 28,198
2. İstasyon	34,3333 ± 10,8679	230,000 ± 2,887
3. İstasyon	202,667 ± 6,360 a	233,333 ± 32,830

a: Kontrol ile aradaki fark önemlidir

Tablo 2. Kura nehri Üzerinden 2022 yılında 3 farklı istasyondan alınan su örneklerinin mutajenite analiz sonuçları

2023 KURA	Ta98	Ta100
Kontrol	50,6667 ± 19,7850	130,667 ± 6,360
PK	1242,00 ± 167,62	1009,00 ± 111,72
1.İstasyon	105,000 ± 2,309	263,333 ± 16,556
2.istasyon	127,000 ± 28,885	352,667 ± 25,983 a
3.istasyon	244,333 ± 63,876	429,000 ± 15,503 a

a: Kontrol ile aradaki fark önemlidir

Çalışmamızda kura nehri suyundan 2022 ve 2023 yılında mutajenite denemeleri *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşu üzerinde araştırma yapıldı ve bu denemeler kura nehrinin 3 farklı istasyonundan alındı. 2022 yılında alınan su örneklerinden 3. İstasyonda TA98 suşu üzerinde mutajenik etki tespit edildi. TA100 suşu üzerinde ise herhangi bir etki görülmemiştir. 2023 yılında alınan su örneklerinde ise TA98 suşu üzerinde herhangi bir etki görülmemiştir. TA100 suşu üzerinde ise 2. ve 3. İstasyondan alınan örneklerde mutajenik etkinin olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

Bizim yaptığımız çalışma sonuçlarına göre, Ames testi sonuçlarına göre Kura Nehri'ndeki 3 istasyondan almış olduğumuz numunelerden 2022 yılında almış olduğumuz 3 nolu istasyon su örneklerinde TA98 suşu üzerinde mutajenik etki tespit edildi. 2023 yılında almış olduğumuz 2. ve 3. İstasyon su örneklerinde ise TA100 suşu üzerinde mutajenik etki gözlemlenmiştir. Deniz, nehir ve göl sularının mutajenik karakterleri hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Bu mutajenik karakterin birincil olarak PAH'lardan kaynaklandığı da rapor edilmiştir (Kutlu ve ark. 2008; Egüz ve Boyacıoğlu, 2023). TA98 suşu, PAH türevlerine (yani benz (a)antrasen, 7-etilbenz (a)antrasen) karşı oldukça duyarlıdır (Ames ve diğerleri, 1972). Teknik olarak *S. typhimurium*'un TA 98 suşu, ortamlarda PAH oluşumunu gösterir ve buna duyarlıdır (Chen ve White, 2004). TA100 suşu ise akridin boyaları, nitroz asit, hidroksilamin, alkilleyici ajanlar, aldehitler, hidroperoksidazlar, aromatik aminler, benzidin, toluidin ve dianisidin gibi baz çiftlerinde değişikliğe neden olan bileşiklere karşı oldukça duyarlıdır (Prival ve diğerleri, 1979; Prival ve Mitchell, 1982).

Salmonella mutajenite sistemleri (Ames testi) kullanılarak nehir suyu ve çökeltilerin mutajenik etkilerini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarla bizim yaptığımız çalışma mutajenik etkinin görülmesi bakımından benzerlik göstermektedir.

Karamenderes Nehri üzerinde bulunan 5 istasyondan alınan su ve sediment örneklerinin *S. typhimurium* bakterisinin TA98 ve TA100 mutant suşlarını ve mikrozomal enzimleri içeren S9 mix varlığında ve yokluğunda gerçekleştirildikleri çalışmalar sonucunda, kloroform ekstraktı su örneklerinin tüm istasyonlarda baz çifti değişmelerine neden olan mutajenik bir etki bulunduğunu belirlemişlerdir. Hekzan ekstraktının mutajenitesi ilk istasyonda belirlenmiş olup Diklorometan ekstraktı ve farklı istasyonlardan alınan sediment örneklerinde mutajenik etkilerin zayıf olduğunu belirlemiştir (Çakmak ve Demir, 2018).

Çetiner (2012); Tokat'ta bulunan Yeşilırmak suyundan alınan sediment örneklerinin araştırıldığı bir çalışmada TA98 ve TA100 suşlarıyla Ames test yöntemini kullanılmış ve deneyler S9 mix olmayan şartlarda gerçekleştirilmiştir. Yapılan

deneylerin sonuçlarına göre, iki istasyonda hem TA98 suşunda hem de TA100 suşunda mutajenik etki olduğunu tespit edilmiştir.

Porsuk Nehri üzerinde yapılan diğer bir çalışmada; alınan su ve çökeltilerin, *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarındaki potansiyel genotoksik etkileri, iki istasyondan XAD 4 ekstraktlarında TA98 için su örneklerinden pozitif sonuçlar elde edildiği ve sediment örneklerinin farklı konsantrasyonlarda test edilmesi sonucunda, farklı örnekleme bölgelerinde her iki suş için mutajenik sonuçlar tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Kutlu ve diğerleri, 2004).

Boyacıoğlu ve Parlak (2001); İzmir Körfezi'ne dökülen Manda, Melez, Laka, Bostanlı, Bornova ve Gediz nehirlerinden toplanan sediment örneklerinde Ames mutajenite testi uygulamışlardır. Yapılan test sonuçlarına göre, bu nehirlerin kirlilik yükü nedeniyle körfez için mutajenite kaynağı oluşturduklarını açıklamışlardır.

Maccubbin ve diğerleri (1991), Ames testini kullanarak Michigan'daki Detroit Nehri ve Michigan Gölü'nden alınan tortu örneklerini test etmişlerdir. Mikrozomal enzimleri (S9) içeren denemelerde 16 bölgede mutajenik aktivite tespiti yapılmıştır. S9 uygulaması yapılmayan hiçbir numunede güçlü mutajenik aktivite tespit edilmemiştir.

Hindistan'da yapılan bir araştırmada Ganj Nehri üzerinde bulunan üç ayrı istasyondan toplanan su örneklerinin mutajenik potansiyeli araştırılmıştır. TA98 ve TA100 suşlarında düşük konsantrasyonlarda bile mutajenite tespit edilmiştir (Rehana ve diğerleri, 1995).

Rehana ve diğerleri (1996); Ganj Nehri'nin diğer farklı bir bölgesinde gerçekleştirdikleri çalışmada S9 varlığında ve yokluğunda TA98 ve TA100 suşları için mutajenik aktivite tespit ederken; farklı bir ekstraksiyon kullandıklarında aynı suşlarla düşük mutajenik etki belirlemişlerdir.

Slovenya'da yapılan bir diğer çalışmada, Sora Nehri'nden alınan örneklerde, Ames test sistemi ile inceleme yapılmış ve sonuçta 11 örneğin mutajenik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Filipic, 1995).

Papoulias ve Buckler (1996); Amerika'da, Buffalo Nehri, Saginaw Nehri ve Indiana Limanı'ndan toplanan sediment örneklerinin mutajenitesini araştırmışlardır. Bu çalışmada 29 istasyondan alınan sediment örneklerinin tamamının mutajenik ve toksik olduğu belirlemiştir. Çalışmada *Salmonella typhimurium* kullanılan suşlarından sadece TA98 suşunda mutajenite tespiti yapılmıştır.

Wu (2005), Çin'in Yangtze Estuary Nehri'nin genotoksitesitesi ile ilgili Ames testini kullanarak bir çalışma yapmış ve genotoksitesite gözlemlemiştir.

Çalışmamız, Salmonella mutajenite sistemleri (Ames testi) kullanılarak nehir suyu ve çökeltilerin mutajenik etkinin görülmediği çalışmayla farklılıklar göstermektedir.

Horn ve diğerleri (2004), bir çalışmada, Brezilya'nın Bom Jardim Nehri'nden toplanan sediment örneklerinin mutajenik özellikleri incelemiştir. Bu nehir, petrokimya tesisi atıklarına maruz kalmış noktalarından alınan sediment örnekleri, Ames testi ile araştırılmış ve mutajenik aktivite olduğunu tespit etmişler. Ayrıca, su örneklerindeki mutajenik ve sitotoksik aktivitenin incelenmesinin, çevresel kaliteyi belirleme konusunda önemli olduğu ve Ames testinin mutajeniteyi izlemede, kirliliğin tanımlanmasında ve çevresel kalitenin iyileştirilmesinde önemli bir test olduğunu vurgulamışlardır.

Bizim yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçlarına göre, 2022 yılında 3 nolu istasyonda TA98 suşu üzerinde tespit edilen mutajenik etkinin PAH'lardan kaynaklanmış olabileceğini tahmin ediyoruz. Meydana gelen bu etkinin, yakılan çöplerin, araçların egzoz gazlarının ve sobalarda kullanılan odun, kömür küllerinin yağmur ve yağmur suları ile kura nehrine karışmış olmasından kaynaklı olabileceğini tahmin etmekteyiz. 2023 yılında 2. ve 3. İstasyon su örneklerinde ise TA100 suşu üzerinde mutajenik etki tespit edilmiştir. Buradaki etkininde, akrinin boyaları, nitroz asit, hidroksilamin, alkilleyici ajanlar, aldehitler, hidroperoksitazlar, aromatik aminler, benzidin, toluidin ve dianisidin gibi baz çiftlerinde değişikliğe neden olan bileşiklerden kaynaklanması yüksek ihtimaldedir. Yapmış olduğumuz gözlemlerimize göre 2 nolu istasyonda bölgedeki yeni yapılan inşaat çalışmalarından kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz. 3 nolu istasyonda ise arıtma sistemine gelen sanayi kanalizasyon hattında kaçak olduğu ve TA100 suşunun mutajenik etkisinin de sanayi atıkları ve evsel atıklardan kaynaklandığının sonucuna varmaktayız. İki yıl arasındaki farkın nedeninin ise su örneklerinin alındığı istasyonlardaki farklı evsel ve tarımsal kaynaklı atıklardan, ağır metal içerikleri ve diğer kirliletiçi faktörlere bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Memelilerdeki genotoksik potansiyellerin belirlenmesi için sıçan karaciğer homojenatı (S9) kullanılarak ek deneyler yapılmalıdır. Bu çalışmanın gelecekte yapılacak ekotoksik çalışmalara ışık tutacağına inanıyoruz.

KAYNAKÇA

- Albertini, R. J., Anderson, D., Douglas, G. R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., ... and Aitio, A. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 463(2), 111-172.
- 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.
- 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).
- Bağcı, H. (1985). Yaz Okulu Moleküler Biyoloji Ders Notları. *Ortadoğu Teknik Üniversitesi*, 25-55.
- 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.
- Bolognesi, C. ve Hayashi, M. (2011). Suda yaşayan hayvanlarda mikronükleus tahlili. *Mutajenez*, 26 (1), 205-213.
- Boyacıoğlu, M. (1999). İzmir körfezi sedimanının genotoksik etkisinin araştırılması.
- Boyacıoğlu, M. ve Parlak, H. (2001). İzmir Körfezine Akan Dere Sedimentlerinin Mutajenitesi. *Su Ürünleri Dergisi*, 18 (3).

- Büyükkarınca, S. (2004). *Büyük Menderes nehri kirliliğinin bitkisel test sistemleri kullanılarak araştırılması* (Doctoral dissertation, Adnan Menderes Üniversitesi Aydın).
- Caffetti, J. D., Mantovani, M. S., Pastori, M. C., and Fenocchio, A. S. (2008). First genotoxicity study of Paraná river water from Argentina using cells from the clam *Corbicula fluminea* (Veneroida Corbiculidae) and Chinese hamster (*Cricetulus griseus* Rodentia, Cricetidae) K1 cells in the comet assay. *Genetics and Molecular Biology*, 31, 561-565.
- Cerna, M., Pastorkovea, A., Smid, J., Dobias, L. ve Rössner, P. (1998). İçme suyu mutajenitesinin izlenmesi için YG bakteri test cihazı suşlarının kullanılması. *Toksikoloji mektupları*, 96, 335-339.
- Cerna, M., Pastorkovea, A., Smid, J., Dobias, L., and Rössner, P. (1998). The use of YG bacterial tester strains for the monitoring of drinking water mutagenicity. *Toxicology letters*, 96, 335-339.
- Chen, G. ve White, PA (2004). Sudaki çökeltilerin mutajenik tehlikeleri: bir inceleme. *Mutasyon Araştırmaları/Mutasyon Araştırmalarında İncelemeler*, 567 (2-3), 151-225.
- Cresswell, T., & Dixon, D. (Eds.). (2002). *Engaging film: Geographies of mobility and identity*. Rowman and Littlefield Publishers.
- ÇAKMAK, D., ve DEMİR, 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.
- 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.
- Dadakoğlu, B. Diş hekimliğinde kullanılan bazı simanların mutajenik potansiyellerinin *Salmonella* Ames Mikrozom Testi ve SOS Chromotest ile değerlendirilmesi.
- Dilek, B. (2015). *Porsuk Nehri Mutajenitesinin Ames/salmonella Test Metodu Le Araştırılması* (Master's thesis, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir).

- Diril, N., Durusoy, M., Öksüzoğlu, E., Öztürk, K., Karagöz, E., ve KIRTILOĞLU, E. (1997). Kısa zamanlı Test sistemleri. *Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Yaz Okulu Uygulamalı Moleküler Biyoloji Teknikleri Ders Notları*, Ankara.
- Durusoy, M., & Kambur, S. (2003). The application of the umu test system for screening mutagenicity of surface water. *Turkish Journal of Biochemistry*, 28(1), 3-7.
- Ergene, E. (2015). *Bazı 2-Süstitüe 1H-Fenantro [9, 10-d] Imidazol Bileşiklerinin Mutajenik Etkilerinin Araştırılması* (Doctoral dissertation, Anadolu University, Eskişehir).
- Filipic, M. (1995). Mutagenicity and toxicity of water extracts from the Sora river area. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 342(1-2), 1-8.
- Filipiç, M. ve Toman, MJ (1996). Modifiye Ames biyoanalizini kullanan ekotoksikolojik çalışmalar. *Su Bilimi ve Teknolojisi*, 34 (7-8), 1-7.
- Gatehouse, D. G., Rowland, I. R., Willox, P., Dander, R. D., ve Foster, R. (1998). Bacterial Mutation Assay, Basic Mutagenic Recommended Procedure. *Avon Research*, 227-234.
- 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.
- Hollert, H., Duerr, M., Erdinger, L., and amp; Braunbeck, T. (2000). Cytotoxicity of settling particulate matter and sediments of the Neckar River (Germany) during a winter flood. *Environmental*
- Hong, C. E., & Lyu, S. Y. (2011). Genotoxicity detection of five medicinal plants in Nigeria. *The Journal of Toxicological Sciences*, 36(1), 87-93.
- Hong, CE ve Lyu, SY (2011). Nijerya'daki beş şifalı bitkinin genotoksisite tespiti. *Toksikolojik Bilimler Dergisi*, 36 (1), 87-93.
- 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.

- Kargacıoğlu, A. (2022). *Arda, Tunca, Ergene nehir sularının Allium Cepa meristematik hücre gelişimine olan etkilerinin laboratuvar ortamında karşılaştırılması* (Master's thesis, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- 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.
- Kishe, M. A., & Machiwa, J. F. (2003). Distribution of heavy metals in sediments of Mwanza Gulf of Lake Victoria, Tanzania. *Environment international*, 28(7), 619-625.
- Kotelevtsev, S. V., & 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.
- Kutlu, M., Aydoğan, G., Susuz, F., ve 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., ve Güven, K. (2008). Salmonella mutagenicity analysis of water samples from Çamaltı saltern. *Environmental monitoring and assessment*, 145, 237-241.
- Kükrer, S., Erginal, AE, Şeker, S. ve Karabıyıkoglu, M. (2015). Çıldır Gölü'ndeki (Kuzeydoğu Türkiye) çekirdek çökeltilerdeki ağır metallerin dağılımı ve çevresel risk değerlendirmesi. *Çevresel İzleme ve Değerlendirme*, 187, 1-14.
- Kükrer, S., Şeker, S., Abacı, Z. T., ve 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.
- Kükrer, Serkan & Tunc, I. Onur ve Erginal, Ahmet & Bay, Özender. (2019). Kura Nehri (Ardahan) Yüzey Sedimentlerindeki İz Elementlerin Dağılımı ve Potansiyel Ekolojik Risk Değerlendirmesi / Distribution and Potential Ecological Risk Assessment of Trace Elements in Surface Sediments of Kura River. (1. İstanbul Uluslararası Coğrafya Kongresi, 20-22 Haziran 2019).

- Li, Y. X., Li, L. H., Yang, Y. F., Hua, H. L., Yan, X. B., Zhao, L. B., ... and Liang, Y. M. (2014). Direct oxidative nitration of aromatic sulfonamides under mild conditions. *Chemical communications*, 50(69), 9936-9938.
- Liu, B., Xue, Z., Zhu, X., and Jia, C. (2017). Long-term trends (1990–2014), health risks, and sources of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the US. *Environmental pollution*, 220, 1171-1179.
- Liu, JR, Dong, HW, Tang, XL, Yu, J., Han, XH, Chen, BQ, ... ve Yang, BF (2009). Songhua Nehri'nden kaynaklanan organik kirlilik NIH 3T3 hücre dönüşümüne neden oluyor: İnsan sağlığı için potansiyel riskler. *Toksikoloji ve Çevre Sağlığı Bilimleri Dergisi*, 1 (4), 060-067.
- 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.
- Maddock, M. B., Northrup, H., and Ellingham, T. J. (1986). Induction of sister-chromatid exchanges and chromosomal aberrations in hematopoietic tissue of a marine fish following in vivo exposure to genotoxic carcinogens. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 172(2), 165-175.
- Mamber, SW, Kolek, B., Brookshire, KW, Bonner, DP and Fung-Tomc, J. (1993). Ames Salmonella TA102 mutajenite testinde ve diğer bakteriyel genotoksisite analizlerinde kinolonların aktivitesi. *Antimikrobiyal ajanlar ve kemoterapi*, 37 (2), 213-217.
- Maron, DM ve Ames, BN (1983). Salmonella mutajenite testi için revize edilmiş yöntemler. *Mutasyon Araştırması/Çevresel Mutajenez ve İlgili Konular*, 113 (3-4), 173-215.
- Mason, C. F. (2002). *Biology of Freshwater Pollution* (2.baskı). Essex: Longman Scientific Technical.
- Monarca S., Feretti D., Collivignarelli C., Guzzella L., Zerbini I., Bertanza G., Petrazzani R., The Influence of Different Disinfectants On Mutagenicity And Toxicity Of Urban Wastewater, *Water Res.*, 34,4261-4269, (2000).
- 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)).

- Nobukawa, T. ve Sanukida, S. (2002). Japonya'daki Yodo Nehri'ne bağlı nehirlerden ve kanalizasyon atıklarından gelen genotoksik öncüllerin katkıları. *Su araştırması*, 36 (4), 989-995.
- Özey, R. (2011). Türkiye'nin Sınırşan Suları ve Sorunları. *Doğu Coğrafya Dergisi*, 3(2).
- Özkan, O., Gül, S., Keleş, O., Aksu, P., Tö, K., ve 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).
- Papoulias, DM ve Buckler, DR (1996). Büyük göl çökeltilerinin mutajenitesi. *Büyük Göller Araştırma Dergisi*, 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.
- Perry, M. E., & Cruz, A. J. (1991). Cultural Encounters. The Impact of the Inquisition in Spain and the New World. Berkeley: U of California P.
- Prival, M. J., & 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.
- Rao, S. S., Burnison, B. K., Rokosh, D. A., and Taylor, C. M. (1994). Mutagenicity and toxicity assessment of pulp mill effluent. *Chemosphere*, 28(10), 1859-1870.
- 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.
- Schuetzle, D. ve Lewtas, J. (1986). Çevresel araştırmalarda biyoanaliz odaklı kimyasal analiz. *Analitik Kimya*, 58 (11), 1060A-1075A.

- Schwarzenbach, RP, Egli, T., Hofstetter, TB, Von Gunten, U. ve Wehrli, B. (2010). Küresel su kirliliği ve insan sağlığı. *Çevre ve kaynakların yıllık incelemesi*, 35, 109-136.
- Summak, Ş. (2009). *Bursa Nilüfer Çayı suyunun genotoksik etkilerinin balık mikronukleus testi ile değerlendirilmesi* (Doctoral dissertation, Bursa Uludag University (Turkey)).
- Şahin, C. (2006). *Türkiye Fiziki Coğrafyası*. Gündüz Eğitim ve Yayıncılık.
- Şekeroğlu, Z. A., ve Şekeroğlu, V. (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229
- Temizkan, G. (1996). Moleküler Genetik. İstanbul Üniversitesi Yayınları.
- Temizkan, G. (1999). Genetik II. Moleküler Genetik. İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul. *Toxicology and Chemistry: an International Journal*, 19(3), 528-534.
- Udroiu, I. (2006). The micronucleus test in piscine erythrocytes. *Aquatic Toxicology*, 79(2), 201-204.
- Vargas, V. M. F., Guidobono, R. R., Jordao, C., and Henriques, J. A. P. (1995). Use of two short-term tests to evaluate the genotoxicity of river water treated with different concentration/extraction procedures. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 343(1), 31-52.
- Vargas, V. M. F., Migliavacca, S. B., de Melo, A. C., Horn, R. C., Guidobono, R. R., de Sa 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.
- 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, JY (2005). Yangtze Halici'nin yüzey suyu kalitesinin genotoksisite verileriyle değerlendirilmesi. *Deniz kirliliği bülteni*, 50 (12), 1661-1667.

- Yeşilbağ, K. (2002). Mutasyonel Değişimler ve Veteriner Virolojideki Önemi. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med*, 21, 125-131.
- Yiğit, E.G.Ü.Z. & BOYACIOĞLU, M. (2023). A mutagenicity investigation of sediment from İzmir Inner Bay using Ames genotoxicity assay. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40(3), 211-218.
- Yücel, E., Doğan, F., & Öztürk, M. (1995). Porsuk çayında ağır metal kirlilik düzeyleri ve halk sağlığı ilişkisi.



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:19/01/2024

Tez Başlığı: Kura Nehri Suyunun Mutajenik Özelliklerinin Araştırılması

Yukarıda başlığı gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş c) Ana bölümler ve d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 42 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 kelimedenden 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: Gökhan YEŞİLYURT
Öğrenci No: 2000100003
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: 19/01/2024

Tez Başlığı: Kura Nehri 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: Gökhan YEŞİLYURT
 Öğrenci No: 2000100003
 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 : Gökhan YEŞİLYURT

Doğum Yeri ve Tarihi :

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Ardahan Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Ardahan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce (Basic)

İş Deneyimi

Stajlar : Ardahan İl Özel İdaresi, İl Sağlık Müdürlüğü

Çalıştığı Kurumlar : TEDAŞ (2008-2011), BOTAŞ (2011-...)

İletişim

E-Posta Adresi :

Tarih

Jüri Tarihi :19.01.2024