

## ***Drosophila melanogaster*'in Ömür Uzunluğu Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi**

Elif YEŞİLADA, Lütfiye GELEGEN

İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 44069 Malatya-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 11.03.1999

**Özet:** Kadmiyum nitratın *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırıldı. Ergin yaşamda sürekli olarak verilen kadmiyum nitrat bütün gruplarda ortalama ömür uzunluğunun kısalmasına neden oldu. Ayrıca kadmiyum nitratın genç ve yaşlı populasyonlar üzerine etkileri karşılaştırıldı. Genç populasyonlar kadmiyumlu besiyerinde yaşlılara göre daha uzun yaşadı.

**Anahtar Sözcükler:** Kadmiyum nitrat, *D. melanogaster*, ömür uzunluğu, yaşlanma.

### **The Effect of Cadmium Nitrate on the Longevity of *Drosophila melanogaster***

**Abstract:** The effect of cadmium nitrate on the longevity of *Drosophila melanogaster* was tested. When cadmium nitrate was given throughout the adult life it caused a decrease in the mean life-span of flies in all treated groups. Furthermore, the effect of cadmium nitrate on young populations was also compared with aged populations. The young populations survived longer than aged populations with the food medium containing cadmium nitrate.

**Key Words:** Cadmium nitrate, *D. melanogaster*, longevity, ageing.

### **Giriş**

Ağır metaller çeşitli kaynaklardan çevreye yayılmakta ve günümüzde çevre kirliliğinin önemli nedenlerinden birini oluşturmaktadır (1). Bunlardan biri olan kadmiyum nispeten nadir bir elementtir ve doğada saf olarak bulunmaz. Önemli bir kirletici olmasının nedeni çok düşük dozlarda bile toksik olması ve biyolojik yarı ömrünün uzun olmasıdır (1-3). Organizmaya alınması içme suyu ve besin yoluyla. Sigara dumanı da kadmiyumun solunumla alınmasında önemli bir araçtır (1).

Kadmiyumun çeşitli fizyolojik etkilerinin olduğu bazı araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (1, 4-7). Bunlar arasında, kadmiyumun kan parametrelerinde, enzim aktivitelerinde ve karaciğer fonksiyonlarında değişimlere neden olması sayılabilir (4-7). Ayrıca böbrek bozuklukları ile itai-itai olarak bilinen kemik hastalığına da neden olmaktadır (19). Bazı çalışmalarda ise kadmiyumun mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilerinin olduğu bildirilmiştir (1, 8-10). Bu çalışmalarda kadmiyumun, *Drosophila* larvalarından hazırlanan politen kromozomlarda çeşitli anormalliklere neden olduğu (9, 10) ve *Daphnia magna*'da da teratojenik etkilerinin saptandığı rapor edilmiştir (8).

Çalışmamızda, biyolojisi çok iyi bilinen ve homojen bir popülasyonla çalışma olanağını sağlayan *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine, kontrollü bir ortamda, kadmiyum nitratın etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, farklı yaşlarda popülasyonlar oluşturularak genç ve yaşlı popülasyonların kadmiyum nitratlı besiyerindeki yaşam süreleri karşılaştırılmıştır.

### **Materyal ve Method**

Bu çalışmada 1989 yılında İsveç Umea Üniversitesinden getirilen *Drosophila melanogaster* Meig (*Diptera: Drosophilidae*)'in yabancıl tip Oregon-R soyu kullanılmıştır. Bu soy getirildiği tarihten itibaren kendileştirilerek arı soy olarak yetiştirilmektedir.

Çalışmalarımızda kullandığımız bütün stok kültürler ve deney sistemleri % 40-60 bağıl nem,  $25\pm 1$  °C sıcaklık ve sürekli karanlık koşullar taşıyan bölümümüz insektoryumunda tutulmuştur. Kontrol grupları için standart *Drosophila* besiyeri (11) kullanılmıştır. Uygulama gruplarında ise besiyeri çeşitli konsantrasyonlarda (20, 60, 100, 140, 320, 500, 700, 1800 ppm) kadmiyum nitrat içermektedir. Bu dozlar yapılan ön çalışmalarla belirlenmiştir. Kadmiyum nitratın ergin ömür uzunluğu üzerine etkisi erkek ve dişi popülasyonlarda ayrı ayrı çalışılmış, virjin dişi ve aynı yaşta erkek bireyler kullanılmıştır. İçerisinde besiyeri bulunan deney tüplerine 10 dişi veya 10 erkek birey bayıltılarak konulmuş ve böylece her grup için en az 100 bireylik popülasyonlar oluşturulmuştur. Daha sonra 2-3 günlük periyotlarla bireyler yeni besiyerine bayıltılmadan transfer edilmiştir. Transferler sırasında ölen bireyler not edilmiş, her grupta bütün bireyler ölene dek transferler sürdürülerek grupların ortalama ömür uzunlukları belirlenmiştir.

Deney sonuçları Mann Whitney-U testine göre karşılaştırılarak gruplar arası farkın önem değerleri saptanmıştır.

### **Bulgular**

Kadmiyum nitratın *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkisini test etmek amacıyla yaptığımız çalışmalar iki ayrı bölümden oluşmaktadır. Bunlardan birincisinde ergin yaşamları süresince sürekli olarak değişik konsantrasyonlarda verilen kadmiyum nitratın ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarından elde edilen sonuçlara göre erkek ve dişiler için ayrı olarak hesaplanan ortalama ömür uzunlukları ve ortalamalar arası farkların önem kontrolleri Tablo 1'de verilmiştir. Ortalama ömür uzunluğu bakımından gruplar arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.001$ ). En uzun ortalama ömür kontrol grubunda elde edilmiş olup erkekler için 70.32 ve dişiler için 70.37 gün olarak hesaplanmıştır. En kısa ortalama ömür ise kullanılan en yüksek doz olan 1800 ppm kadmiyum nitrat grubunda gözlenmiştir. Bu grupta dişiler ortalama 7.61 gün ve erkekler ise ortalama 5.04 gün yaşamışlardır. Erkek ve dişilerin ortalama ömür uzunluğu dikkate alındığında bütün gruplarda dişiler erkeklerden daha uzun yaşamış ancak aradaki fark kontrol ve 60 ppm kadmiyum nitrat gruplarında istatistiksel olarak önemsizken ( $P > 0.05$ ) diğer gruplarda önemli ( $P < 0.05$ ) bulunmuştur. Elde edilen verilere göre çizilen ömür eğrileri Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir. Şekillerde görüldüğü gibi kontrol grubunun erkeklerinde 76. günde ve dişilerinde ise 83. günde popülasyonun % 50'si hayatta kalmıştır. Oysa uygulama

Tablo 1. Ergin yaşamlarında sürekli olarak kadmiyum nitratlı besiyerinde yaşatılan uygulama grupları ile kontrol grubunda ortalama ömür uzunlukları.

Gruplar Cd (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm)	♂		♀	
	Birey Sayısı (gün) ± S.H.	Ort. Ömür Uz.	Birey Sayısı (gün) ± S.H.	Ort. Ömür Uz.
Kontrol (0)	99	70.32 ± 1.24	85	70.37 ± 1.84
20 <sup>a</sup>	99 <sup>b</sup>	41.60 ± 1.31	89	46.21 ± 1.38
60 <sup>a</sup>	99	26.38 ± 0.56	79	27.13 ± 0.46
100 <sup>a</sup>	99 <sup>b</sup>	20.75 ± 0.53	100	23.24 ± 0.44
140 <sup>a</sup>	92 <sup>b</sup>	17.92 ± 0.27	81	18.64 ± 0.29
320 <sup>a</sup>	73 <sup>b</sup>	10.05 ± 0.37	97	12.55 ± 2.40
500 <sup>a</sup>	79 <sup>b</sup>	7.91 ± 0.16	109	8.81 ± 0.14
700 <sup>a</sup>	69 <sup>b</sup>	5.91 ± 0.26	96	7.43 ± 0.10
1800 <sup>a</sup>	85 <sup>b</sup>	5.04 ± 0.22	78	7.61 ± 0.25

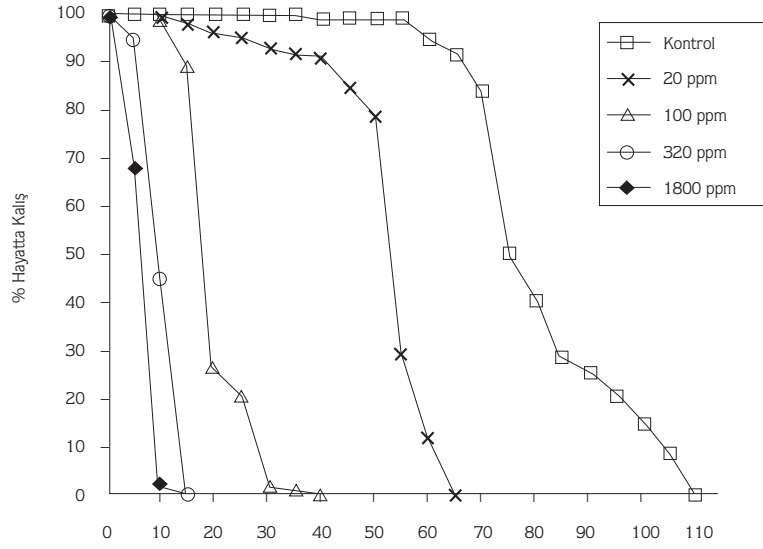
a: Kontrol grubunun erkek ve dişi popülasyonlarının ortalama ömür uzunluğu ile uygulama grupları arasındaki farklılık P<0.001 düzeyinde önemlidir.

b: Aynı grup içerisinde erkek ve dişi popülasyonlarının ortalama ömür uzunluğu arasındaki farklılık P<0.05 düzeyinde önemlidir.

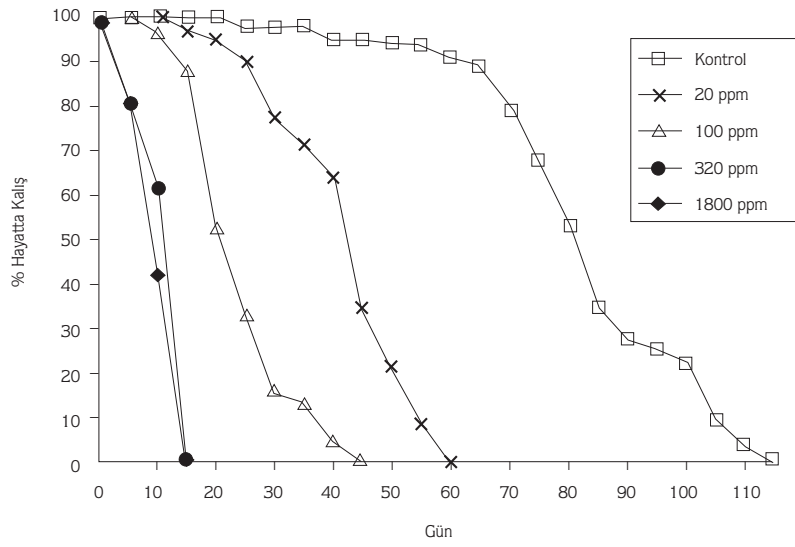
gruplarında kadmiyum nitratın konsantrasyonuna bağlı olarak ölümler çok daha erken başlamıştır. Örneğin 100 ppm kadmiyum nitrat grubunda bu orana erkeklerde 17. günde ve dişilerde 21. günde ulaşılmıştır (Şekil 1 ve 2).

Çalışmamızın ikinci bölümünde standart *Drosophila* besiyerinde 1, 25 ve 50 günlük olana kadar yaşatılan çeşitli yaşlardaki popülasyonlarda çalışılmıştır. Farklı yaşlardaki bu popülasyonlar eş zamanlı olarak 100 ppm kadmiyum nitrat içeren besiyerlerine transfer edilmiştir. Böylece farklı yaşlardaki grupların kadmiyum nitratlı besiyerindeki ortalama yaşam süreleri saptanmıştır. Kadmiyum nitratın bu dozu (100 ppm) ön çalışmayla belirlenmiş olup, ergin bireylerin bir süre yaşayabildikleri (dişiler 23.24 gün ve erkekler 20.75 gün) yüksek bir dozdur. Elde edilen sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir. Buna göre 100 ppm kadmiyum nitrat içeren besiyerindeki yaşam süresi bakımından gruplar arasındaki fark önemlidir (P<0.01). Kadmiyum nitratlı besiyerinde en uzun yaşayabilen grup en genç olan 1 günlük bireylerdir. Bu grupta erkekler ortalama 20.15 gün ve dişiler 22.35 gün yaşamıştır. İlave olarak erkek ve dişiler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01). 100 ppm kadmiyum nitrat içeren besiyerinde en az süre yaşayabilenler en yaşlı popülasyon olan 50 günlük grup olmuştur. Bu grupta erkekler 5.40 gün yaşarken dişiler 5.01 gün yaşamış ve erkek ve dişiler arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (Tablo 2).

*Drosophila melanogaster*'in Ömür Uzunluğu Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi



Şekil 1. Ergin yaşamlarında sürekli olarak kadmiyumlu besiyerinde yaşatılan bazı uygulama grupları ile kontrol grubunda erkeklerin ömür eğrileri.



Şekil 2. Ergin yaşamlarında sürekli olarak kadmiyumlu besiyerinde yaşatılan bazı uygulama grupları ile kontrol grubunda dişilerin ömür eğrileri.

Tablo 2. Üç farklı yaştaki (1,25 ve 50 gün) populasyonların 100 ppm kadmiyum nitratlı besiyerindeki yaşam süreleri.

Gruplar	♂		♀	
	Birey Sayısı	Ort. Ömür Uz. (gün) ± S.H.	Birey Sayısı	Ort. Ömür Uz. (gün) ± S.H.
1 günlük <sup>a</sup>	110 <sup>b</sup>	20.15 ± 0.35	100	22.35 ± 0.52
25 günlük <sup>a</sup>	95	6.78 ± 0.44	158	7.82 ± 0.36
50 günlük <sup>a</sup>	48	5.40 ± 0.34	53	5.01 ± 0.34

a: Farklı grupların erkek ve dişi populasyonlarının ortalama ömür uzunluğu arasındaki farklılık  $P < 0.01$  düzeyinde önemlidir.

b: Aynı grup içerisinde erkek ve dişi populasyonlarının ortalama ömür uzunluğu arasındaki farklılık  $P < 0.01$  düzeyinde önemlidir.

## Tartışma

*Drosophila*'da ömür uzunluğu, farklı türlerde, aynı türün farklı eşeylerinde ve mutantlar arasında farklılık gösterdiği gibi aynı genotipe sahip populasyonlar farklı çevresel koşullarda farklı ömür uzunluklarına sahip olabilirler (12-16).

Çalışmamızda çevresel etmenlerden sıcaklık, populasyon yoğunluğu, ışık ve bağıl nem, iç etmenlerden genetik yapı ve yaş sabit tutulmuştur. Deneylerimizin birinci bölümünde değişen tek etmen standart *Drosophila* besiyerinin farklı konsantrasyonlarda (20, 60, 100, 140, 320, 500, 700, 1800 ppm) kadmiyum nitrat içermesidir. Bu durumda gruplar arasındaki ortalama ömür uzunluğunda gözlenen farklılığın yalnızca besinden kaynaklandığı söylenebilir. Sonuçlarımız kadmiyum nitrat konsantrasyonunun artışına bağlı olarak erkek ve dişilerde ortalama ömür uzunluklarının kıaldığını göstermiştir (Tablo 1, Şekil 1 ve 2).

Metaller metabolizma üzerindeki toksik etkilerini farklı yollarla yapabilmektedirler. Bu etkiler arasında enzim inhibisyonuna neden olmaları, proteinlerle birleşerek intraselüler birikimlere neden olmaları ve metabolik olarak benzedikleri elementlerin yerine geçerek toksik etki göstermeleri sayılabilir (17). Ayrıca Jamall ve Sprowls (18) sıçanların kadmiyum, selenyum veya bakır eklenmiş besinlerle beslenmesi sonucunda süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerinin azaldığını belirtmektedir. Çalışmamızda kadmiyum uygulamasına bağlı olarak ortalama ömür uzunluğundaki azalmanın nedeni yukarıda belirttiğimiz toksik etkileri olabileceği gibi kadmiyumun enzimler üzerinde gösterdiği negatif etkiler de olabilir.

Çalışmamızın ikinci bölümünde genç ve yaşlı populasyonların kadmiyuma karşı dayanıklılıklarının test edilmesi amaçlanmıştır. Bu bölümde farklı yaşlardaki (1, 25 ve 50 günlük) üç ayrı grup 100 ppm kadmiyum nitrat içeren besiyerinde yaşatılmıştır. Buradan elde edilen sonuçlara göre genç gruptan yaşlı gruba doğru kadmiyumlu besiyerinde yaşam süresinin kıaldığı gözlenmiştir (Tablo 2).

Kadmiyumlu besiyerinde yaşlı grupların genç gruba göre ölüm hızlarının yüksek oluşu, yaşlanmayla beraber metabolik aktivitenin de değişiyor olması ile açıklanabilir. Örneğin bazı çalışmalarda, yaşlanmaya bağlı olarak katalaz ve glutatyon redüktaz aktivitelerinin ve total glutatyon miktarının azaldığı bildirilmiştir (19-22). Yine diğer bir çalışmada da potansiyel alkilleyici ajanlar ile diğer ksenobiotiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda önemli rol oynayan glutatyon S-transferazların aktivitesinin de yaşlanmayla değiştiği belirtilmektedir (23). Ayrıca, metallerin detoksifikasyonunda önemli rol alan metalotiyonin sentezinin de yaşlanmayla beraber azalabileceği düşünülmektedir (24-26). Bundan sonraki çalışmalarda yaşlanma ile metal detoksifikasyonu arasındaki ilişki diğer metaller ve farklı organizmalarla çalışılarak, tartışılmalıdır.

### Kaynaklar

1. Goyer, R. A., Toxic effects of metals. In: Caserett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons (Eds. Amdur M. O., Doull, J., Klaassen, C. D.), 1991, Pergamon Press, New York, 1032.
2. Ohta, H. and Cherian, M. G., Gastrointestinal absorption of cadmium and metallothionein. Toxicol. Appl. Pharmacol., 107: 63-72, 1991.
3. Lyons-Alcantara, M., Tarazona, J. V. ad Mothersill, C., The differential effect of cadmium exposure on the growth and survival of primary and established cells from fish and mammals. Cell Biol. and Toxicol., 12: 29-38, 1996.
4. Sato, M., Yamanobe, K. and Magai, Y., Sex-related differences in cadmium-induced lipid peroxidation in the rat. Life Sci., 33: 903-908, 1983.
5. Paksy, K., Verga, B. and Lazar, P., Cadmium interferes with steroid biosynthesis in rat granulosa and luteal cells in vitro. Biometals, 5: 245-250, 1992.
6. Müller, G., Burnel, D., Gery, A. and Lehr, P. R. Element variations in pregnant and non-pregnant female rats orally intoxicated by aluminum lactate. Biol. Tr. Elem. Res., 39: 211-219, 1993.
7. Murata, M., Takigawa, H. and Sakamoto, H., Teratogenic effect of noise and cadmium in mice: Does noise have teratogenic potential. J. Toxicol. Environ. Health, 39: 237-245, 1993.
8. Van Leeuwen, C. S., Luttmer, W. J. and Griffiaen, P. S., The use of cohorts and populations in chronic toxicity studies with *Daphnia magna*: A cadmium example. Ecotoxicol. Environ. Safety, 9: 26-39, 1985.
9. Duttagupta, A. and Ghosh, A. K., Effect of cadmium chloride on the polytene chromosome of *Drosophila* salivary gland. *Drosophila* Inform. Serv., 60: 92, 1984.
10. Uysal, H. ve Bahçesi, Z., Kadmiyum klorür ve civa klorürün *Drosophila melanogaster*'in üçüncü evre larvalarının tükrük bezi politen kromozomları üzerine etkileri. Tr. J. of Biology, 21: 257-265, 1997.
11. Bozcuk, A. N., The effect of some genotypes on the longevity of adult *Drosophila*. Exp. Geront. 13: 279-286, 1978.
12. Ünlü, H. and Bozcuk, A. N., Genetics of longevity in *Drosophila*. II. The effects of three autosomal genes on the life span of *Drosophila*. Hac. Bul. Nat. Sci. Eng. 8: 13-19, 1979.

13. Bozcuk, A. N., Ageing and life-span of various *Drosophila* mutants. International Congress of Gerontology. Hamburg, 1981.
14. Cutler, R. G., Longevity is determined by specific genes: Testing the hypothesis. In: "Testing the theories of ageing." Eds: Adelman and Roth. CRC Press, Florida, 1982.
15. Bağcı, G.: *Drosophila*'da ömür uzunluğu sıcaklık etkileşiminin araştırılması. Hacettepe Üniv. Doktora Tezi Ankara, 1983.
16. Yeşilada, E., Bozcuk, A. N., Topçuoğlu, Ş. F. ve Bozcuk, Ş., *Drosophila melanogaster*'in gelişim biyolojisi üzerine bitki büyüme maddelerinin etkisi. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Zooloji Seksiyonu, 4: 25-33, 1994.
17. Gregory, J. L., The effect of cadmium on cytosolic free calcium, protein kinase and collagen synthesis in rat osteosarcoma (Ros 17/2.8) cells. Toxicol. App. Pharmacol., 143: 189-195, 1997.
18. Jamall, I. and Sprowls, J., Effect of cadmium and dietary selenium on cytoplasmic and mitochondrial antioxidant defense system in the heart of rats fed high dietary copper. Toxicol. App. Pharmacol. 87: 102-110, 1987.
19. Sohal, R. S., Arnold, L. and Orr, W. C., Effect of age on superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, inorganic peroxides, TBA- reactive material, GSH/GSSG, NADPH/NADP<sup>+</sup> and NADH/NAD<sup>+</sup> in *Drosophila melanogaster*. Mech. Ageing Dev., 56: 223-235, 1990.
20. Durusoy, M., Diril, N. and Bozcuk, A. N., Age-related activity of catalase in different genotypes of *Drosophila melanogaster*. Exp. Gerontol., 30/1: 77-86, 1995.
21. Fişkin, K., Kandemir, S., Hamamcı, D., Yeşilada, E. and Bozcuk, A. N., Age related changes in catalase, glutathione reductase activities, the amount of glutathione in total body of Oregon and vestigial *Drosophila melanogaster*. Arch. Gerontol. Geriatr. Suppl., 4: 85-90, 1994.
22. Fişkin, K. ve Asma, D., *Drosophila melanogaster* Oregon (OR), yabani tip (w.t.) ve vestigial (vg) mutantının ömür uzunluklarının karşılaştırılması. Antioksidatif enzimlerin ve ACE vitamin kompleksinin yaşlanma ile ilişkisi. Tr. J. of Biology 20: 99-110, 1996.
23. Durusoy, M., Diril, N. and Bozcuk, A. N., Age-related activity of glutathione S-transferase in three different genotypes of *Drosophila melanogaster*. Tr. J. of Biology, 19: 337-342, 1995.
24. Maroni, G., Wise, J. E., Young, J. E., and Otto, E., Metallothionein gene duplications and metal tolerance in natural populations of *Drosophila melanogaster*. Genetics, 117: 739-744, 1987.
25. Choudhuri, S., Liu, W. L., Berman, N. E. J. and Klaassen C. D., Cadmium accumulation and metallothionein expression in brain of mice at different stages of development. Toxicol. Lett., 84: 172-133, 1996.
26. Ohta, H., Nakakita, M., Tanaka, H., Seki, Y. and Yoshikawa, H., Induction of metallothionein-like cadmium-binding protein in the testis by oral cadmium administration in rats. Ind. Health, 35: 96-103, 1997.