

**T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ROSACEAE FAMILİYASINA AİT BAZI TÜRLERDEN
ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN, PESTİSİT
GENOTOKSİSİTESİNE KARŞI ANTİGENOTOKSİK
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Hatice POYRAZ**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**AĞUSTOS 2024
NEVŞEHİR**

**T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ROSACEAE FAMILİYASINA AİT BAZI TÜRLERDEN
ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN, PESTİSİT
GENOTOKSİSİTESİNE KARŞI ANTİGENOTOKSİK
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Hatice POYRAZ**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

Ağustos 2024

Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK danışmanlığında Hatice POYRAZ tarafından hazırlanan " **Rosaceae Familyasına Ait Bazı Türlerden Elde Edilen Ekstraktların, Pestisit Genotoksisitesine Karşı Antigenotoksik Etkisinin Araştırılması**" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

13/08/2024

JÜRİ

Başkan : Doç. Dr. Naşit İĞCİ

Üye : Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK

Üye : Prof. Dr. Tülay ÖZER

Üye : Prof. Dr. Özgür VATAN

Üye : Prof. Dr. Gençay AKGÜL

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun.....tarih ve..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.../.../20..

Prof. Dr. Cemal ÇARBOĞA
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Hatice POYRAZ



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve Doktora öğrenimim boyunca maddi manevi desteğini, bilgisini, yardımını esirgemeyen, hayatım boyunca kıymet vereceğim çok değerli sevgili danışmam hocam Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK’a,

Çalışmam boyunca hoş sohbetiyle birlikte, değerli katkılarından ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli hocam Doç. Dr. Ümit KUMBIÇAK’a,

Laboratuvar çalışmalarında yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen yol arkadaşlarım Dr. Anıl SIRLIBAŞ ve Şeyma CİVAN’a,

Çalışmamda yardımlarını esirgemeyen hocam Dr. Öğr. Üyesi Enver Ersoy ANDEDEN’e, laboratuvar arkadaşlarım Tagina JALİLİ ve Gülhis ŞEN’e

Her zaman desteklerini yanımda hissettiğim kıymetli kuzenlerim, Sibel DENİZ ve Hatice BİRCAN’a,

Tüm hayatım boyunca maddi manevi desteğini, sevgisini esirgemeyen kıymetli ailem canım anneme, canım babama, biricik abim Enes POYRAZ’a, varlığını yanımda hissettiğim yeğenim Zeynep Zümra POYRAZ’a ve tüm zorluklara rağmen asla vazgeçmeyen “Canım kendime” sonsuz teşekkür ederim.

**ROSACEAE FAMILYASINA AİT BAZI TÜRLERDEN ELDE EDİLEN
EKSTRAKTLARIN, PESTİSİT GENOTOKSİSİTESİNE KARŞI
ANTİGENOTOKSİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Doktora Tezi)

Hatice POYRAZ

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ**

Ağustos 2024

ÖZET

Bu çalışmada, semikarbazon grubu insektisitlerden olan Metaflumizon (Mtf)'un potansiyel genotoksik etkisinin, Rosaceae familyasına ait *Laurocerasus officinalis* (LO) ve *Agrimonia eupatoria* (AE) bitkilerinden elde edilen yaprak ekstratlarıyla giderilmesinin, *Allium cepa* kök ucu ve *Drosophila melanogaster* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon test (SMART) sistemleri ile araştırılması hedeflenmiştir.

Allium test sisteminde, soğan kök uçları 24 ve 48 saat süreyle Mtf, LO ve AE'ye maruz bırakılmıştır. Süre sonunda pestisit, bitkisel özütler ve bunların birlikte kullanıldığı uygulamaların mitotik indeks (Mİ) ve faz frekans değerlerinde ve kromozom anomalilerinde değişimlere sebep olduğu tespit edilmiştir. *Allium* testi sonuçları, Mtf'nin konsantrasyonlardaki doz artışına bağlı olarak negatif kontrole kıyasla Mİ değerinin azaldığını göstermiştir. Mtf'nin genotoksik etkisine karşı belirlenen konsantrasyonlarda LO ve AE yaprak metanol ekstratların genotoksik etkisini azalttığı bulunmuştur.

SMART yönteminde; Mtf, bitkisel özütler ve bunların birlikte verildiği uygulamaların belirlenen konsantrasyonlarda maruz bırakılan $mwh^{\Delta}flr^3$ standart çaprazlamalarından elde edilen 72 ± 4 saatlik transheterozigot larvalarda genotoksik/antigenotoksik etkisi SMART ile saptanmıştır. Gelişen ergin *Drosophila* kanatlarından hazırlanan preparatlarda klon indüksiyon frekans yüzdeleri değerlendirilmiştir. Mtf'nin farklı konsantrasyonlarındaki istatistiksel değerlendirilmesinde negatif kontrol grubuna kıyasla klon indüksiyon frekanslarının arttığı belirlenmiştir. Bulgular normal kanatlarda negatif kontrole göre tüm deney gruplarında toksik etki gösterdiği görülmüştür. Mtf'nin

genotoksik etkisini gidermek için farklı konsantrasyonlarda LO ve AE yaprak metanol ekstrelerin birlikte verildiği karışımlar besi ortamına eklenerek gelişen ergin sineklerin kanatlarındaki mutant trikomların sayıları kontrol grubuyla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak, uzun yıllardan beri kullanılmakta olan kimyasal pestisitlerin mücadelesinde olumsuz etkileri göz önünde bulundurarak, mevcut organizmalara karşı entegre mücadele yöntemlerin tercih edilmesiyle birlikte çevre ve insan sağlığının da bir nevi güvence altına alınmasının sağlanacağı düşünülmektedir. Pestisitlerin ve kullanılan bitkilerle ilgili mekanizmaların ve yapısındaki bileşenlerin daha ayrıntılı olarak tanımlanması gerektiği ve böylece uluslararası bir alternatif mücadeleye katkı sağlayabileceği öngörülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Metaflumizon, Laurocerasus officinalis, Agrimonia eupatoria, Genotoksisite, Antigenotoksisite*

Tez Danışman: Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK
Sayfa Adeti: 113

**INVESTIGATION OF THE ANTIGENOTOXIC EFFECT OF EXTRACTS
FROM SOME SPECIES OF THE ROSACEAE FAMILY AGAINST PESTICIDE
GENOTOXICITY (PhD. Thesis)**

Hatice POYRAZ

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL OF
NATURAL AND APPLIED SCIENCE**

August 2024

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate the elimination of the potential genotoxic effect of Metaflumizone (Mtf), one of the semicarbazone group insecticides, by leaf extracts of *Laurocerasus officinalis* (LO) and *Agrimonia eupatoria* (AE) plants belonging to the Rosaceae family, using *Allium cepa* root tip and *Drosophila melanogaster* wing somatic mutation and recombination test (SMART) systems.

In the *Allium* test system, onion root tips were exposed to Mtf, LO and AE for 24 and 48 hours. At the end of the period, it was determined that pesticides, herbal extracts and their combined treatments caused changes in mitotic index (MI) and phase frequency values and chromosome anomalies. The results of the *Allium* test showed that the MI value decreased compared to the negative control depending on the dose increase in Mtf concentrations. It was found that LO and AE leaf methanol extracts at the concentrations determined against the genotoxic effect of Mtf reduced the genotoxic effect.

In the SMART method, the genotoxic/antigenotoxic effects of Mtf, herbal extracts and their combined treatments were determined by SMART in 72±4 hours old transheterozygous larvae obtained from mwh♂flr3 standard crosses exposed at determined concentrations. Clone induction frequency percentages were evaluated in

preparations prepared from developing adult *Drosophila* wings. In the statistical evaluation of different concentrations of Mtf, it was determined that clone induction frequencies increased compared to the negative control group. The results indicated that Mtf showed toxic effects in all experimental groups compared to the negative control in normal wings. In order to eliminate the genotoxic effect of Mtf, mixtures containing LO and AE leaf methanol extracts at different concentrations were added to the medium and the number of mutant trichomes on the wings of adult flies was evaluated by comparing with the control group.

As a result, it is thought that by taking into account the negative effects of chemical pesticides, which have been used for many years, integrated control methods against existing organisms will be preferred and the environment and human health will be secured in a way. It is envisaged that the mechanisms and constituents of pesticides and the plants used should be defined in more detail so that they can contribute to an international alternative control.

Keywords: *Metaflumizone, Laurocerasus officinalis, Agrimonia eupatoria, Genotoxicity, Antigenotoxicity*

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK

Page Number: 113

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
TEZ BİLDİRİM SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xvi
1. BÖLÜM	
GİRİŞ	1
2. BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Pestisit Hakkında Genel Bilgiler.....	4
2.1.1. Fungusitler.....	8
2.1.2. Herbisitler.....	9
2.1.3. İnsektisitler.....	10
2.2. Rosaceae Familyası Hakkında Genel bilgiler	12
2.2.1. Araştırmada kullanılan <i>Laurocerasus officinalis</i> Roem. hakkında genel bilgiler	13
2.2.2. Araştırmada kullanılan <i>Agrimonia eupatoria</i> L. hakkında genel bilgiler	14
2.3. Genetik Toksikoloji.....	15
2.3.1. Genotoksisite çalışmalarının önemi	15
2.3.1.1. AMES (Salmonella/Mikrozomal) testi	15
2.3.1.2. Kromozomal aberasyon (KA) testi	15
2.3.1.3 Kardeş kromatit değişimi (KKD) testi	15
2.3.1.4. Mikronükleus testi.....	15
2.3.1.5. Komet testi	15
2.3.1.6. <i>Allium cepa</i> kök ucu hücreleri testi	20
2.3.1.7. Somatik mutasyon ve rekombinasyon test yöntemi (SMART)	21
2.4. Mutasyonlar.....	22

2.5.	Bitkisel Kaynaklar ve Önemi	24
2.5.1.	Sekonder metabolitlerin yolları	27
3. BÖLÜM		
MATERYAL VE METOT		29
3.1.	Materyal	29
3.1.1.	Kullanılan bitki materyalleri ve pestisit	29
3.1.2.	Kullanılan model organizmalar	29
3.1.3.	Kullanılan sarf malzemeler, kimyasallar ve cihazlar	30
3.2.	Metot.....	31
3.2.1.	Kullanılan bitkilerin kurutulması	31
3.2.2.	Bitkisel ekstraktların hazırlanması	31
3.2.3.	Çözeltilerin hazırlanması	33
3.2.4.	<i>Drosophila</i> besiyerinin hazırlanması	33
3.2.5.	Deney gruplarına uygulanacak pestisit ve bitki ekstraktların dozlarının belirlenmesi	33
3.2.6.	<i>Allium</i> deney prosedürü	34
3.2.7.	<i>Drosophila melanogaster</i> ve hayat döngüsü	37
3.2.8.	İstatistik verilerin değerlendirilmesi	47
4. BÖLÜM		
BULGULAR.....		48
4.1.	Metaflumizon'a maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki etkilerinin değerlendirilmesi.....	48
4.2.	<i>L. officinalis</i> ekstresinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki etkilerinin değerlendirilmesi.....	53
4.3.	<i>L. officinalis</i> ekstresi ve Metaflumizon'un <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerine birlikte etkilerinin değerlendirilmesi.....	57
4.4.	<i>A. eupatoria</i> ekstresinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerine etkilerinin değerlendirilmesi.....	61
4.5.	<i>A. eupatoria</i> ekstresi ve Metaflumizon'un <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerine birlikte etkilerinin değerlendirilmesi.....	65
4.6.	Metaflumizon uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan SMART testi bulguları	71

4.7.	<i>L. officinalis</i> ekstresinin uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan SMART testi bulguları	73
4.8.	Metaflumizon ve <i>L. officinalis</i> ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan SMART testi bulguları	75
4.9.	<i>A. eupatoria</i> ekstresinin uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan SMART testi bulguları	77
4.10.	Metaflumizon ve <i>A. eupatoria</i> ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan SMART testi bulguları	79
5. BÖLÜM		
SONUÇ ve ÖNERİLER.....		85
KAYNAKLAR		97
ÖZGEÇMİŞ		113

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1.	Pestisitlerin tarihçesi	5
Tablo 2.2.	Hedef zararlılara göre pestisitlerin sınıflandırılması	7
Tablo 2.3.	<i>L. officinalis</i> ve <i>A. eupatoria</i> bitkilerine ait fenolik bileşikler.....	28
Tablo 3.1.	Çalışmada kullanılan cihazlar	30
Tablo 3.2.	Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar	30
Tablo 3.3.	Allium ve SMART deneylerinde uygulama konsantrasyonları.....	34
Tablo 3.4.	<i>Drosophila melanogaster</i> dişi ve erkek bireylerin morfolojik karakterleri	40
Tablo 4.1.	Farklı konsantrasyonlarda metaflumizon'a maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde (%) faz indeks ($\pm$ ss) ve mitotik indeks	49
Tablo 4.2.	Farklı konsantrasyonlarda metaflumizon'a maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde (%) genetik	52
Tablo 4.3.	Farklı konsantrasyonlarda <i>L. officinalis</i> ekstresine maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde (%) faz indeks ($\pm$ ss) ve mitotik indeks (harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)	54
Tablo 4.4.	Farklı konsantrasyonlarda <i>L. officinalis</i> ekstresine maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde	56
Tablo 4.5.	Mtf+ <i>L. officinalis</i> karışımına maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde (%) faz indeks ($\pm$ ss) ve mitotik indeks.....	58
Tablo 4.6.	Mtf+ <i>L. officinalis</i> karışımına maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde (%) genetik hasar.....	60
Tablo 4.7.	Farklı konsantrasyonlarda <i>A. eupatoria</i> ekstresine maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde (%) faz indeks ($\pm$ ss) ve mitotik indeks ..	62
Tablo 4.8.	Farklı konsantrasyonlarda <i>A. eupatoria</i> ekstresine maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde (%) genetik hasar	64
Tablo 4.9.	Farklı konsantrasyonlarda Mtf+ <i>A. eupatoria</i> karışımına maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde (%) faz indeks ($\pm$ ss) ve mitotik indeks..	66
Tablo 4.10.	Mtf+ <i>A. eupatoria</i> karışımına maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu	

	hücrelerinde (%) genetik hasar.....	67
Tablo 4.11.	Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan smart testi bulguları.....	72
Tablo 4.12.	Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda <i>L. officinalis</i> ekstresinin uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan smart testi bulguları.....	74
Tablo 4.13.	Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon ve <i>L. officinalis</i> ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan smart testi bulguları.....	76
Tablo 4.14.	Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda <i>A. eupatoria</i> ekstresinin uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan smart testi bulguları.....	78
Tablo 4.15.	Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon ve <i>A. eupatoria</i> ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen yetişkin <i>D. melanogaster</i> kanatları ile yapılan smart testi bulguları.....	80

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Metaflumizon'un kimyasal yapısı.....	11
Şekil 2.2.	<i>L. officinalis</i> 'in genel görüntüsü	14
Şekil 2.3.	<i>A. eupatoria</i> 'nın genel görüntüsü	15
Şekil 2.4.	Salmonella suşlarında mutajenitenin değerlendirilmesine yönelik genetik yaklaşım	17
Şekil 2.5.	İn vitro memeli kromozom aberasyon testi şematik gösterimi	17
Şekil 2.6.	a) BrdU içeren KKD gösterimi b) KKD içeren metafaz plağı.....	18
Şekil 2.7.	Mikronükleus oluşumunun gösterimi	19
Şekil 2.9.	Smart uygulama alanlarının gösterimi	21
Şekil 2.10.	Kanat trikomlarının genel görünümü; a)Normal trikomlar b)Mwh'ye ait trikomlar c)Mwh ve flr ³ 'ye ait sınıflandırılmaya alınmayan farklılaşmış trikomlar d)Flr ³ 'ye ait trikomlar	22
Şekil 3.1.	<i>Allium cepa</i> L.'nin genel görünüşü	29
Şekil 3.2.	<i>D. melanogaster</i> mwh ve flr ³ stok kültürleri	29
Şekil 3.3.	<i>L. officinalis</i> türüne ait; a)Yaprakların ezilmeden önceki hâli, b) Havanda ezildikten sonraki görünümü.....	31
Şekil 3.4.	<i>A. eupatoria</i> türüne ait; a)Yaprakların ezilmeden önceki hâli b) Havanda ezildikten sonraki görünümü.....	31
Şekil 3.5.	<i>L. officinalis</i> bitkisine ait; a, b) Ekstraksiyon ve c) Evaporatör aşaması d)Saf yaprak özütü	32
Şekil 3.6.	<i>A. eupatoria</i> bitkisine ait; a, b)Ekstraksiyon c) Evaporatör aşaması d)Saf yaprak özütü	32
Şekil 3.7.	24 s muamele edilen Mtf'nin doz grupları.....	35
Şekil 3.8.	<i>Allium</i> test prosedürün şematize şekli	37
Şekil 3.9.	<i>D. melanogaster</i> 'in larva ve pupaların gelişimsel basamakları ve ergin sinek oluşumu	38
Şekil 3.10.	<i>Drosophila</i> kanatlarındaki kıl yapıları; a) Normal kılların görünümü b) Mwh'ye ait klonların görünümü c)Flr ³ 'e ait mutant klonların görünümü.....	39
Şekil 3.11.	a) Virgin flr ³ ♀ ve mwh♂ bireylerin seçilmesi b) Çaprazlama işlemi	40
Şekil 3.12.	Mtf SMART çalışması; a, b) Doz gruplarının stok çözeltisinin	

	hazırlanması c, d, e) Hazırlanan çözeltinin drosophila instant hazır mama içeren şişelere aktarılması f, g) L3-larva seçimi d) Mtf smart deney düzeneğinin gösterilmesi.....	41
Şekil 3.13.	LO bitkisinin smart deney düzeneği; a) LO özütünün suda çözülmesi b) Transheterozigot larvaların seçilmesi c) LO bitki ekstresinin doz gruplarına uygulanması.....	42
şekil 3.14.	AE bitkisinin smart deney düzeneği; a) AE özütünün suda çözülmesi b) Transheterozigot larvaların seçilmesi c) AE bitki ekstresinin doz gruplarına uygulanması.....	42
Şekil 3.15.	<i>D. melanogaster</i> normal kanat fenotipine ait sektörlerin gösterimi	45
Şekil 3.16.	SMART testinde insektisit+bitki ekstrelerin birlikte uygulanmasının şematik olarak gösterimi; a)Çaprazlama sonucu elde edilen transheterozigot larvaların seçimi b, c, d) İnsektisit ve bitki ekstre çözeltilerin hazırlanması e, f) Karayemiş ve koyun otu bitki ekstrelerinin insektisitle birlikte larvalara uygulanması g, h) Normal ve serrat kanatların kesim aşaması ı) normal ve serrat kanatların yapıştırılma aşaması j)Mutant klonların tespit edilmesi	46
Şekil 4.1.	Metaflumizon'un kontrol ve deney gruplarındaki 24 ve 48 s'lik ortalama kök uzunlukları.....	48
Şekil 4.2.	Farklı konsantrasyonlarda metaflumizon'un 24 ve 48 saat süresince maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks verileri.....	50
Şekil 4.3.	Farklı konsantrasyonlarda metaflumizon'un 24 ve 48 saat süresince maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki toplam genetik hasar verileri	51
Şekil 4.4.	<i>L. officinalis</i> ekstresinin 24 ve 48 s'lik maruziyeti sonucu ortalama kök uzunlukları	53
Şekil 4.5.	Farklı konsantrasyonlarda <i>L. officinalis</i> ekstresine 24 ve 48 saat süresince maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ...	55
Şekil 4.6.	Farklı konsantrasyonlarda <i>L. officinalis</i> ekstresine 24 ve 48 saat süresince maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki toplam genetik hasar	55
Şekil 4.7.	Metaflumizon+ <i>L. officinalis</i> karışımına maruz kalan uygulama	

	dozlarının ortalama kök uzunlukları	57
Şekil 4.8.	Metaflumizon'un genotoksik etkisine karşı <i>L. officinalis</i> ekstresinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerine birlikte etkilerinin değerlendirilmesi	59
Şekil 4.9.	<i>A. eupatoria</i> ekstresinin 24 ve 48 s'lik maruziyeti sonucu ortalama kök uzunlukları	61
Şekil 4.10.	Farklı konsantrasyonlarda <i>A. eupatoria</i> ekstresine 24 ve 48 saat süresince maruz kalan <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks	63
Şekil 4.11.	Metaflumizon+ <i>A. eupatoria</i> karışımının uygulama dozlarının ortalama kök uzunlukları.....	65
Şekil 4.12.	<i>Allium cepa</i> L. meristematik hücrelerde normal faz görüntüleri a)Profaz b) Metafaz c)Anafaz d)Telofaz	68
Şekil 4.14.	<i>Allium cepa</i> L. meristematik hücrelerde gözlemlenen anomali çeşitlerinin devamı;.....	70
Şekil 4.15.	Metaflumizon uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı.....	71
Şekil 4.16.	<i>L. officinalis</i> ekstresinin uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı	73
Şekil 4.17.	Metaflumizon ve <i>L. officinalis</i> ekstresinin birlikte uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı.....	75
Şekil 4.18.	<i>A. eupatoria</i> ekstresinin uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı	77
Şekil 4.19.	Metaflumizon ve <i>A. eupatoria</i> ekstresinin uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı.....	79
Şekil 4.20.	Yabanıl tip kanat kılların görünüşü	82
Şekil 4.21.	Mwh fenotipine ait küçük tek tip klon.....	82
Şekil 4.22.	Mwh fenotipine ait küçük tek tip klon.....	83
Şekil 4.23.	Mwh fenotipine ait büyük tek tip klon.....	83
Şekil 4.24.	Flr ³ fenotipine ait büyük tek tip klon	84
Şekil 4.25.	Flr ³ ve mwh hücrelerine ait ikiz mutant klonlar.....	84

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

WHO	Dünya Sağlık Örgütü
FAO	Gıda Tarım Örgütü
SMART	Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi
DDT	Diklorodifeniltrikloroetan
DİM	Drosophila instant medium
IPM	Entegre zararlı yönetimi
FAOSTAT	Gıda ve Tarım örgütü istatistiksel veri tabanı
kg	Kilogram
ha	Hektar
Mtf	Metaflumizon
AChE	Asetilkolin esteraz
nAChR	Nikotinik asetilkolin reseptörü
VKSK	Voltaj kapılı sodyum kanalı
IRM	İnsektisit dayanıklılık yönetimi
MRL	Maksimum kalıntı seviyesi
LO	<i>Laurocerasus officinalis</i>
AE	<i>Agrimonia eupatoria</i>
KA	Kromozomal aberasyon
KKD	Kardeş kromatit değişimi
BrdU	5'-bromo-2deoksiürüdinin
MN	Mikronükleus
Mİ	Mitotik indeks
PKS	Poliketit sentazlar
mwh	multiple wing hair
Flr ³	Flare ³
mL	Mililitre
mg	Miligram
L	Litre
gr	Gram
µL	Mikrolitre

BK	Büyüme kontrolü
NK	Negatif kontrol
PK	Pozitif kontrol
HCl	Hidroklorik asit
s	Saat



1. BÖLÜM

GİRİŞ

Pestisitler, istenmeyen organizmaların ve yabancı ot kontrolünün en uygun maliyetli yollarından biridir. Kullanılan tarım ilaçları, mevcut verimin korunmasına olanak sağlamakta ve ekonomik sürdürülebilirliğe katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte pestisitler çevre ve insan sağlığının korunmasında ve yaşam kalitesinin iyileştirilmesinde de rol oynamaktadır. Ancak geleneksel kimyasal tarım ilaçlarının çevresel sakıncaları ve insan sağlığı açısından dezavantajları mevcuttur. Bu sebeple artan miktarlarda kullanımıyla birlikte, insanlar da dâhil olmak üzere hedef olmayan canlılar üzerindeki olumsuz etkilerine ilişkin endişeler de artmıştır. Tekrarlanan pestisit kullanımının çevresel ve insan sağlığına olan etkilerine ilişkin bu endişeler; arıtılan alanlardan havaya, su kütlelerine ve diğer karalara göç edebilen pestisitler üzerinde toksikoloji, çevre kimyası gibi alanlarda araştırma yapılmasına yol açmıştır (Rao ve ark. 1993; Saaedi Saravi ve Shokrzadeh 2011).

İnsanlar günlük yaşamlarında doğrudan ya da dolaylı olarak genotoksik ajanlara maruz kalmaktadır ve bunun sonucunda ise genotoksik ajanların vücuda girmesiyle genetik materyalde onarılamaz değişiklikler oluşabilmektedir. Böylece söz konusu bu bileşikler, gen ve kromozomların sayısında ve yapısında birtakım değişikliklere sebebiyet vererek; pestisit ve diğer kimyasalların kullanımı sonucunda organizmalarda genotoksisite oluşumuna neden olabilmektedir. Bu durumda, dışardan alınan antigenotoksik bileşenler, vücudu bu genotoksik maddelere karşı savunmada bir destekleyici olabilirler. Antigenotoksinler, genotoksik maddelerin etkilerini azaltma ya da önleme yeteneğine sahip olan bileşiklerdir (Öz ve Çakır Arıca 2019).

Bitkilerin iyileştirici etkilerinin olması çok eski yıllara kadar dayanmaktadır. 1990'lı yıllardan itibaren tıbbi-aromatik bitkilerin alternatif olarak yeni kullanım alanlarının bulunması ve gün geçtikçe insanların doğal ürünlere yönelmesi ile bu bitkisel ürünlerin de kullanım miktarları artmıştır. Özellikle de antioksidan- antimutajenik olarak kullanılan bitkilerden elde edilen özütler ve uçucu yağlara olan ilgi her geçen gün artmaktadır (Temel ve ark. 2018). Biyotadaki kirlenmenin etkilerini de

değerlendirebilmek için bir test sistemi olarak bitkilerin kullanımı birçok avantajla ilişkilendirilmiştir. Bunlar; üreme niteliği, in vitro- in vivo- in situ uygulama imkânı, yüksek hacimli numunelerin gerekmediği laboratuvar şartları, hayvan testlerine oranla uygun ve daha düşük maliyette olması ve çok sayıda genetik ve kromozom değişikliği sergilemesi yönünden tercih edilmektedir (Dizdari ve Kopliku 2013). Bitkiler; antioksidan, anti-aging (yaşlanmaya karşıt), nöroprotektif, antigenotoksik, antimutajenik ve biyoinsektisidal aktivite gibi sağlık açısından birçok faydalı özellikler içermekle birlikte yapılan bazı çalışmalar, çeşitli bitki türlerinin doğal biyoaktif fitokimyasallar içerdiğini göstermektedir (Panchal ve Tiwari 2017).

Son zamanlarda geleneksel tıpta kullanılan bitkisel ürünlerin özellikle de biyoaktif bileşenlerin araştırılması yönünde birçok çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda elde edilen verilere göre, bazı bitkilerin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceği ya da ilaçlarla etkileşime girebileceği bildirilmiştir. Böylece bu tür bitkilerin özellikle sağlık için potansiyel riskleri göz önünde bulundurulmalıdır. Bitkilerin insanlar tarafından uzun bir süre kullanımlarına bağlı olarak, insan vücudunda düşük de olsa toksik bir etkiye sahip olacağı da unutulmamalıdır. Pek çok çalışma; antioksidan etkili bitkisel bileşiklerin düşük dozlarda antioksidan bir etki gösterirken aynı bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarda prooksidan, sitotoksik, mutajenik ve genotoksik bir etki gösterebileceği de bildirilmiştir. Bu nedenle insan sağlığını tehdit eden bu unsurları göz önünde bulundurarak bitkisel kaynaklı bileşiklerin uygun dozlarda ve konsantrasyonlarda kullanılması için ayrıntılı çalışmalara yer verilmelidir (Bacanlı ve ark. 2015; Tavşanlı ve Taner 2021).

İnsan sağlığı ya da çevre üzerindeki toksik etkileri hakkında yeterli bilgi olmayan metaflumizon insektisiti, genotoksikolojik çalışmalar için büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmayla birlikte hem pestisitinin olası genotoksik etkisinin giderilmesi ile ilgili literatür eksikliğinin bulunması hem de bu konuda yapılacak yeni çalışmaların önemi vurgulanmak istenmiştir. Bu kapsamda antioksidan potansiyellerinden faydalanarak Rosaceae familyasına ait karayemiş ve koyun otu bitki ekstrelerinin antigenotoksik özellikleri çalışmada kullanılan test yöntemleriyle birlikte test edilmesi uluslararası çalışmalar için alternatif bir kaynak olması planlanmıştır. İnsektisitinin olası toksik etkisinin bitki

ekstreleriyle giderilmeye çalışılması üzerine bu tür çalışmalar, bitkisel ekstrelerin potansiyel rollerini daha iyi anlamamıza da yardımcı olacaktır.

Bu çalışmada kullanılan pestisitın olası genotoksik etkisine karşı Rosaceae familyasına ait *Laurocerasus officinalis* Roem. (Karayemiş) ve *Agrimonia eupatoria* L. (Koyun otu) bitkilerinin yapraklarından elde edilen ekstrelerin hasarı azaltıcı yönde bir etkisinin olup olmadığının in vivo test yöntemlerinden Allium ve somatik mutasyon-rekombinasyon testi (SMART) ile ilk kez araştırılması amaçlanmıştır.

Tarım ilaçlarının ve kullanılan bitki ekstrelerin potansiyel etkilerini ve mekanizmalarını tam olarak anlayabilmek için çeşitli test yöntemleri ve organizmaların kullanıldığı in vivo ve in vitro araştırmalara ihtiyaç olduğu öngörülmektedir.

2. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisit Hakkında Genel Bilgiler

Pestisitler; “genel olarak zararlı organizmaları engellemek, zararlarını azaltmak ya da kontrol altına almak amacıyla kullanılan biyolojik aktif kimyasal maddelerdir” (Singh 2012). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)’ne göre pestisit: “Hayvan ve insan hastalıklarının vektörleri, üretim sırasında zarar veren veya üretime müdahale eden, istenmeyen bitki-hayvan türleri de dâhil olmak üzere herhangi bir tarım zararlısını önlemek ya da yok etmek için amaçlanan bir madde ya da madde karışımı olarak tanımlanmaktadır” (FAO 2023).

Tarımda pestisit kullanımının tarihsel geçmişi tarımın başlangıcına kadar uzanmaktadır. Toprak verimliliğinin azalmasına paralel olarak artan hastalıklı popülasyon nedeniyle pestisit kullanımı zamanla daha da belirgin hale gelmiştir. 1500’lü yıllarda “para-pestisitler” olarak adlandırılan cıva ve arsenik kullanımının ilk aşamaları ortaya çıkmıştır. Zamanla mantar, böcek ve bakteri gibi canlıların kontrolü için yüksek derecede toksik bileşikler olan arsenik ve hidrojen siyanürün kullanımı artmıştır. Diğer bileşikler arasında Bordeaux karışımı (bakır sülfat+ kireç+ su) ve kükürt yer almaktadır. Bu maddeler, sentetik pestisit çağının başlangıcına kadar (1940 ve sonrası), ilk olarak 2. Dünya Savaşı sırasında gıda rezervlerinin yok edilmesi amacıyla, daha sonra ise günlük ihtiyaç olarak tüketilen gıdaların yetiştirilme süreçlerinde önemli bir araç olarak kullanılmıştır. Ancak toksisiteleri ve etkisizlikleri nedeniyle kullanımlarından vazgeçilmiştir. İlk önemli sentetik organik pestisit diklorodifeniltri-kloroetan (DDT) ilk kez 1873 yılında alman bilim adamı Ziedler tarafından sentezlenmiş ve insektisidal etkisi İsviçreli Paul Muller tarafından keşfedilmiştir (Abubakar ve ark. 2020; Güler ve Çobanoğlu 1997). Pestisitlerin tarihçesi tablo 2.1’de verilmiştir.

Çevre sağlığı açısından pestisitlerin yapısındaki aktif bileşenler son derece önem arz etmektedir. Çünkü organizmaların üzerinde hastalık etmeni oluşturan ve onların ölümüne sebep olan pestisitlerin yapısındaki aktif maddelerdir.

- **Etkili aktif madde:** Pestisitlerin içerisinde bulunan temel öldürücü unsurlardır.
- **Yardımcı diğer maddeler:** Pestisitlerin etkinliğini ve dayanıklılığını arttıran organizmalara karşı olumsuz etkilerini azaltan ve uygulama noktasında kolaylık sağlayan maddeleri kapsamaktadır.
- **Dolgu maddeleri:** Herhangi bir kimyasal bileşenle tepkimeye girmeyen, etkili maddeleri taşıyan formlar olmak üzere 3 ana unsurdan oluşmaktadır (TİSİT 2023).

Tablo 2.1. Pestisitlerin tarihçesi (Grace George ve TP 2017; Singh 2012)

Dönemler	Pestisitlerin gelişimi ve kullanımı
M.Ö. 8000	Tarımın başlangıç tarihi,
2500	Sümerler; kükürtü, akarisit ve böcek ilacı olarak kullanması
1200	Çin; böcekleri kontrol altına almak için odun külü ve tebeşir tozu kullanması ve depolamış oldukları tahıl zararlılarını kontrol altına alabilmek için bitki özlerini, insan bitlerini kontrol için ise arsenik sülfürü kullanması
100	Romalılar, fareleri, sıçanları ve böcekleri kontrol etmek için karacaotunu kullanması
M.S. 70	Kükürtün böcek ilacı olarak kullanılması
900	Çinliler bahçe böceklerini kontrol etmek için arsenik kullanması
1800	Petrol ve gazyağının böcek ilacı olarak tanıtılması
1860-1870	Arseniğin yaprak yiyebilen böcekleri kontrol etmek için kullanılması
1873	DDT'nin ilk kez Otto Ziedler tarafından sentezlenmesi
1892	Kurşun arsenatın, çeşitli toprak böcekleri, güve ve elma kurdu gibi zararlıları kontrol etmek için en etkili inorganik pestisit olarak tanıtılması
1900	İnsektisit olarak kükürt, arsenik, florür, sabun gibi çeşitli bitkisel maddelerin kullanılması
1939	DDT'nin böcek öldürücü olarak Muller tarafından keşfi. İlk kez 2. Dünya Savaşı sırasında sıtma ve tifüsü kontrol etmek için kullanılmış
1940	Benzenheksaklorür grubunun böcek öldürücü özelliğinin Fransa ve İngiltere tarafından keşfedilmesi
1944	İlk seçici herbisit olarak fenoksi asetik asitlerin keşfedilmesi
1949	Gliadin ve captan fungusitinin piyasaya sürülmesi
1950	Malathionun en güvenli organofosforlu insektisit olarak tanıtılması
1951	İlk karbamat insektisitinin tanıtılması
1949-1970	Bir dizi piretroidin geliştirilmesi
1972	<i>Bacillus thuringiensis</i> 'in böcek ilacı olarak tescil edilmesi
1976	En büyük ikinci böcek ilacı grubunda yer alan ilk sentetik piretroidleridlerin tanıtılması
1990'lar	Entegre zararlı yönetimi (IPM), biyolojik haşere kontrol yöntemleri ve pestisitlere diğer alternatifler üzerine yoğunlaştırılmış araştırmalar
2000	Sentetik pestisit kullanımı hariç IPM tekniklerinde organik tarımın yaygın kullanımı
2010-2015	Pestisit kullanımını kontrol etmek için genetik mühendisliğinin ve biyoteknolojik yöntemlerin dâhil edilmesi

Pestisitler; yapısında bulunan aktif madde gruplarına göre inorganik ve organik pestisitler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Organik pestisitler de kendi aralarında doğal ve sentetik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Sentetik organik pestisitler, zirai mücadelede fazla kullanılan kimyasal maddelerdir. Bu nedenle çevre ve canlı organizmalara olan zararları açısından en önemli pestisit grubunu oluşturmaktadır. Pestisitler;

- Formülasyon şekillerine göre,
- Etkilediği zararlının biyolojik dönemine göre,
- Kullanım tekniğine göre,
- Toksik özelliklerine göre ve
- İlaçların fiziki hâline göre de sınıflandırılmaktadır.

Bunlardan en önemli ve en çok kullanılan sınıflandırma şekilleri ise, kullanıldıkları zararlı gruplarına ve yapısındaki aktif madde grubuna göre yapılan sınıflandırmalardır. Kullanıldıkları zararlı gruplarına göre ya da pestisitlerin hedeflediği organizma temel alınarak yapılan sınıflandırmadaki en önemli 3 büyük pestisit grubu; insektisitler (Böcek öldürücüler), fungusitler (Mantar öldürücüler) ve herbisitlerdir (Ot öldürücüler) (Tablo 2.2.) Fonksiyon gruplarına göre de karbamatlar, organoklorinler ve organofosfatlar olarak gruplandırılabilir (Polat 2022).

Pestisitler tarım ürünlerinin geliştirilmesi ürünün hastalık ya da yabancı otlara karşı korunması yoluyla insan yaşamına büyük ölçüde fayda sağlamış olsa da; pestisitlerin organizmaya ve ekosisteme olan olumsuz etkileri birlikte değerlendirilmelidir. Canlıların pestisitleri bünyelerine alma yolları ve organizmalara nüfuzu farklı yollarla olabilmektedir (Birişik 2018). Aşırı ve bilinçsiz kullanım sonucu artan pestisit tüketimi, insan sağlığı ve çevre kirlenmesi açısından bazı sorunların ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Atmosfere buhar şeklinde ve partikül olarak karışan pestisitler yağışlarla birlikte göllere, akarsulara ve toprağa karışarak birikebilirler. Püskürtülerek uygulanan pestisitler, rüzgârla taşınarak hedef olmayan organizmalara ulaşabilmekte ve yağışlarla birlikte tekrardan toprak yüzeyine geri dönmektedir. Böylece amacına uygun olarak kullanılmayan pestisitler, sadece organizmayı öldürmez aynı zamanda çevreye ve omurgalı-omurgasız diğer canlılara da zarar verebilmektedir. Pestisitler vücuda ağız

yoluyla, deri yoluyla ve solunum yoluyla girebilirler. Bu şekilde organizmalara hedef olan pestisitler, bazı türler üzerinde kalıntı ve toksisiteye de neden olabilmektedir (Yüzbaşıoğlu ve ark. 2009; Sandayuk ve Aksu Kılıçle 2020; Vural 2005).

Tablo 2.2. Hedef zararlılara göre pestisitlerin sınıflandırılması (Yadav ve Linthoingambi Devi 2017)

Pestisit Çeşidi	Pestisit hedefi/Fonksiyonu
İnsektisitler	Böcekleri ve diğer eklem bacaklıları öldüren
Fungusitler	Mantarları öldüren (küf ve pas dâhil)
Herbisitler	İstenmeyen yerde yetişen yabancı otları ve diğer bitkileri öldüren
Bakterisit	Bakterileri öldüren veya bakterilere karşı rol oynayan
Akarisit	Bitki ve hayvanlarla beslenen akarları öldüren
Rodentisit	Fareleri ve diğer kemirgenleri kontrol eden
Algisitler	Alglerin büyümesini kontrol eden ya da öldüren
Larvasitler	Larvaların büyümesini engelleyen
Repellentler	Tadı veya kokusuyla zararlıları uzaklaştıran
Desikantlar	Bitkilerin dokularını kurutarak etki gösterenler
Ovisitler	Böcek ve akar yumurtalarının büyümesini engelleyenler
Virusitler	Virüslere karşı etkili olanlar
Mollusisitler	Yumuşakçaların genellikle bitki ya da ürünlerin büyümesini bozarak öldüren ya da engelleyenler
Nematisitler	Bitkilerde parazit görevi gören nematodları öldürenler
Avisitler	Kuşları öldürenler
Termitisitler	Termitleri öldürenler

Dünya çapında toplam pestisit tüketimi (aktif içerik olarak) 2021 yılında FAOSTAT (Food and Agriculture Organization Statistical Database) verilerine göre ortalama 3,5 milyon tona ulaşmıştır. Küresel düzeyde ise ekim alanları başına pestisit uygulaması 2,26 kg/ha'dır. Son yıllarda ulaşılan verilere göre ortalama toplam pestisit kullanımı son 10 yıl içerisinde yaklaşık %17 oranında bir artışa sebep olmuştur. Tarım arazileri başına pestisit kullanımı ise 1,98 kg/ha'dan 2,26 kg/ha'a yükselmiştir. Herbisit, fungusit+bakterisit, insektisit gibi tarım ilaçlarının küresel çapta uygulamasında ise aynı dönemler içerisinde bir artışa neden olmuştur (FAOSTAT 2024).

Biyolojik çeşitliliğin sistematik olarak geliştirilmesi ve basitleştirilmiş üretim sistemlerine yönelik çabalar, mahsulleri hastalıklara karşı savunmasız bırakmıştır. Bu nedenle yoğun tarım, tarımsal verimi korumak için pestisitlere bağımlı olmuştur. Pestisitler; yüzme havuzundaki algleri kontrol etmede, oyun alanlarında, meralarda, içme sularında, toprakta, yiyeceklerde vs. geniş bir kullanım alanlarına sahiptir. Bu nedenle hem kısa sürede etki göstermesi hem de kullanımının kolay olması nedeniyle pestisit kullanımı tercih edilmektedir. Ülkemizde ise 2023 yılında tüketilen pestisit miktarı 57 bin tonun üzerindedir (Aktar ve ark. 2009; Toğay ve ark. 2020; Hough 2021; TOB 2023). En çok kullanılan pestisit çeşitleri arasında sırasıyla fungusit, herbisit ve insektisit yer almaktadır.

2.1.1. Fungusitler

Küresel gıda güvenliği açısından vazgeçilmez olan ve kullanımlarının yoğunlaşacağı tahmin edilen mantar öldürücüler, bitkilerden veya tohumlardan kaynaklanan mantar enfeksiyonlarını önlemek ya da yok etmek için kullanılan biyolojik ajanlardır. Herbisitler ve insektisitler ile karşılaştırıldığında fungusitlere maruz kalma ve bunların etkileri daha az dikkat çekmektedir. Kullanımlarının ardından fungusitler, su ekosistemlerine girebilmektedir. Su sistemlerindeki fungusitler, temel biyolojik süreçlere etki ettikleri için çok çeşitli hedef dışı organizmalar için düşük ila orta derecede toksik olabilmektedir. Ayrıca bazı fungusitlerin onkogeneze neden olduğu bilinmektedir. Pestisit kullanımından kaynaklanan onkogenik riskin %80'den fazlası birkaç fungusite aittir. Bazı fungusitlerin ise endokrin sistemini bozduğu, üreme ve

gelişim anormalliklerine yol açabildiği bilinmektedir (Gupta 2018; Zubrod ve ark. 2019).

2.1.2. Herbisitler

Herbisitler, yabancı otları öldürmek için kullanılmaktadır. Yabancı otların tarım dâhil insan faaliyetlerini etkilediği bilinmektedir. Dünya genelinde en fazla kullanılan pestisitler arasında yer almaktadır. Herbisitlerin gereğinden fazla kullanılması dirençli yabancı otların gelişmesini sağlamaktadır (Vats 2015). Herbisit kullanımında bazı avantaj ve dezavantajlar mevcuttur. Avantajlar arasında;

- İstenmeyen bitkileri öldürmesi,
- Mahsullerin suyunu, besin maddelerini ve güneş ışığını çalan yabancı otları yok ederek mahsullerin rahat bir şekilde büyümesine yardımcı olması,
- Herbisit kullanımı nispeten ucuz ve kolay olması (elle veya mekanik olarak yabancı otların uzaklaştırılması, mahsulün tahrip olmasına neden olabilir),
- Kullanımı kolay ve hızlı çalışması,
- Evlerin ve yolların inşa edebileceği alanları etkili ve kısa bir sürede temizleyebilmesi,
- Hastalık taşıyan bitkileri yok etmesi yer alır.

Dezavantajları arasında ise;

- Bazı herbisitler, biyolojik olarak parçalanmaz ve uzun süre zararlı olması,
- Toksik etki göstermesi,
- Hastalıklara neden olması,
- Yağmur suyuyla akarsulara ya da yeraltı su kaynaklarına karışarak onları kirletebilmesi,
- Otçullar, herbisitlerle tedavi edilen bitkileri yiyebilir ve daha sonra etoburlar da otçulları yiyebilir. Zehirli pestisit, konsantrasyonu arttırıp besin zincirinden geçerek bu durum hayvanlar ve insanlar için zararlı olması muhtemel olacaktır (Kortekamp 2011).

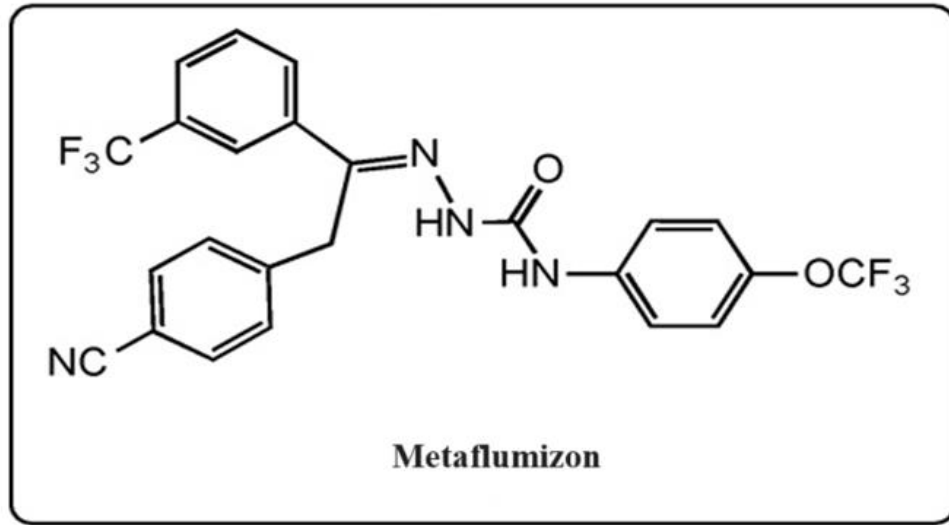
2.1.3. İsektisitler

Pestisitler içerisinde yer alan, bekleri larva, pupa veya ergin hlde öldüren ya da onların çoğalmasını engelleyen tarımsal mücadelede kullanılan kimyasal bileşiklerdir (Uysal ve ark. 2015; Uysal ve Demir 2017). Ayrıca insektisitler; organofosfatlar, organoklorinler, karbamatlar ve piretroidler ile birlikte 1980’lerden sonra geliştirilen klasik olmayan kimyasal bileşenleri içeren nörotoksik bileşikler olarak sınıflandırılmaktadır. Buna ilveten klasik olmayan insektisitler arasında abamektin, klorfenapir, emamektin benzoat, spinetoram ve metaflumizon (Mtf) yer almaktadır (Priyono ve ark. 2019). Sentetik olarak sınıflandırılan insektisitlerin büyük bir çoğunluğu böcek sinir sistemini hedef almaktadır. İsektisitlerin başlıca hedef bölgeleri arasında; asetilkolinesteraz (AChE), jüvenil hormon, sodyum kanalı, böcek orta bağırsak membranı, -aminobütirik asit kapılı klorür kanalı ve nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) yer almaktadır (Li ve ark. 2020; IRAC 2020).

Çoğu sentetik insektisitler bceklerdeki merkezi ve periferel sinir sisteminde bulunan sinir kılıflarını etkilemektedir. Sinir kılıflarındaki sodyum kanallarında ve sinirsel uyarıların başlatılıp sonlanmasını sağlayan bir transmembran proteine bağlanmaktadır. Pestisitler bu proteine bağlandığı zaman sinirsel uyarım devam ederek sinir sisteminin kontrol dışı kalmasını sağlar. Sonuç olarak elektriksel olarak uyarılan hücrelerin membranları depolarize hale gelerek böceklerin felç olmasına ve sonrasında ölümüne neden olmaktadır. Sodyum kanalı bloke edici insektisitler, iki bileşik olan Indoxacarb ve metaflumizone ile temsil edilen nispeten yeni bir insektisit sınıfı arasında yer almaktadır. Voltaj kapılı sodyum kanalları (VKSK), uyarıcı hücrelerin hayati bileşenleridir. VKSK’larının hücre uyarılabilirliğinde oynadığı kritik roller, onların bazı organizmalar tarafından avlanma ya da kendini savunma amacıyla kullanılan çok çeşitli doğal toksinlerin yanı sıra tarımsal böcek zararlılarını kontrol etmek için kullanılan mükemmel hedefler haline getirip sinir sisteminin fonksiyonunu bozmaktır (Silver ve ark. 2017; Valles ve Koehler 2003).

2.1.3.1. Metaflumizon

Metaflumizon (Mtf) (EZ)-20-[2-(4-Cyanophenyl)-1- α,α,α -trifluorom-tolyl) ethylidene]-4-(trifluoromethoxy) karbanilohidrazid, 1990'ların başlarında Nihon Nohyaku tarafından keşfedilen, semikarbazon sınıfına ait yeni bir insektisittir. Semikarbazon grubu insektisitler ve izomerleri pyrazoline insektisitlerin merkezi halka yapısı açılarak tasarlanmış ve bu insektisit grubunun uçlarının optimizasyonu da Mtf'nin keşfine neden olmuştur. Mtf, biyoaktivasyona gerek kalmadan sodyum kanallarını doğrudan bloke edip, sinir sistemine etki ederek aksiyon potansiyellerinin yayılmasını bozan yeni bir etki tarzına sahiptir. Bileşiğe maruz kalınması, hedef böcekteki sinir aktivitesini bloke ederek felce neden olmaktadır. Bu pestisit; domates, pamuk, biber, salatalık, patlıcan ve marul gibi bitkiler üzerinde etki göstermiştir. Etki ettiği organizmalar ise; domates güvesi (*Tuta absoluta*), yeşil kurt (*Heliothis armigera*), ve yaprak kurdu (*Spodoptera littoralis*)'dir. Molekül formülü: $C_{24}H_{16}F_6N_4O_2$ 'dir ve kimyasal yapısı ise Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (Takagi ve ark. 2007; Zhang ve ark. 2012; Yalçın ve ark. 2015).



Şekil 2.1. Metaflumizon'un kimyasal yapısı (Takagi ve ark. 2007)

Mtf'nin özellikleri arasında;

- Yeni insektisit grubu arasında yer alıp farklı bir etki mekanizmasına bağlı olması,
- Mevcut zararlının sodyum voltaj kanallarını felç eder, takibinde ise böceklerin beslenmesi durur ve 1-2 gün içerisinde ölüm ile sonuçlanması,

- Metaflumizonun hava sıcaklığına bağılı olmadan çalışması,
- Entegre mücadele yöntemi (Integrated pest model-IPM)-İnsektisit dayanıklılık yönetimi (Insecticide resistance management-IRM)’ne uygun olması,
- Avrupa Birliğı maksimum kalıntı seviyesi (Maximum residue level-MRL)’deki değerin belirlenmiş olması,
- İlacın uygulanmasından 2 saat sonra yağın yağmurdan etkilenmemesi yer almaktadır (BASF 2019)

2.2. Rosaceae Familyası Hakkında Genel bilgiler

Dünyada kabul edilen 117 cins ve 6028 tür içeren, ekonomik ve ekolojik öneme sahip olan Rosaceae familyası büyük bir bitki ailesi olarak yer almaktadır (WFO 2024). Gülgiller familyası olarak bilinen Rosaceae familyası, Rosoideae, Maloideae, Amygdaloideae ve Spiraeoideae olmak üzere dört alt familyaya ayrılmaktadır. Alt kategoride yer alan familyaların sistematik olarak ayrımında, familyaya ait meyve ve bitkilerin yapısı ölçüt olarak değerlendirilmektedir. Gülgiller familyası, otsu bitkilerden ağaç ve çalı formlarından oluşmaktadır (Ertaş ve ark. 2017). Yaprakları, sarmal dizilişli, stipul, basit veya bileşik, bazılarının kenarları ise dişlidir. Çiçeklenme durum özelliğı genellikle değışken durumludur. Çiçekleri ise genellikle hermafrodit, perigin, aktinomorf ve epigindir. Sepaller, 4-5 adet-serbest şekilli; petaller, 4-5 adet- serbest şekilli ya da bulunmaz. Stamenler; dairesel dizilişli, bir ya da çok sayıda bulunur. Ovaryumun üst durumludan alt durumluya kadar değışebilmekte, 1 ya da çok sayıda karpellidir. Meyve; drupa, elma, kuşburnu, kapsüllü, folikül ya da aken kümesi şeklindedir. Tohumlar genellikle endospermsizdir (Ertuğrul ve ark. 2012). Bu familyadaki bitki üyeleri, hemen hemen tüm dünyada rastlanan türler arasında olup, Kuzey Yarımküre’de yetişen türleri ise daha yoğunlaşmış bitkiler olarak sınıflandırılmıştır. Familya; *Pyrus* (armut), *Malus* (elma), *Prunus* (badem, kiraz, şeftali, kayısı, erik), *Rubus* (böğürtlen, ahududu) ve *Fragaria* (çilek) dâhil kültüre alınmış birçok meyve, uçucu yağlardan *Rosa* (gül), *Prunus* (kiraz) vs. çok fazla sayıda süs bitkisinin kaynağı olduğu için ekonomik açıdan önemlidir. Geniş morfolojik özelliklere sahip olan aile üyeleri, Anadolu’ da 37 cins, ortalama 300 kadar tür ile temsil edilmektedir. Bu kapsamda Rosaceae familyası, Türkiye florası içerisinde yer alan

taksonlar açısından en önemli ve en zengin familyalardan birini temsil etmektedir (Palabaş Uzun ve ark. 2020). Familyaya ait sistematik kategoriler aşağıdaki gibi sıralanmıştır:

- Bölüm:** Spermatophyta
- Alt Bölüm:** Angiospermae
- Sınıf:** Equisetopsida C. Aghard
- Alt Sınıf:** Magnoliidae Novak ex Takhtajan
- Süper ordo:** Rosanae Takhtajan
- Ordo:** Rosales Lindley
- Familiya:** Rosaceae Jussieu (APG IV 2016)

2.2.1. Araştırmada kullanılan *Laurocerasus officinalis* Roem. hakkında genel bilgiler

Laurocerasus officinalis Roem. (Syn. *Prunus laurocerasus*) Rosales takımı- Prunoideae alt familyası ve *Prunus* cinsi içerisinde yer almaktadır. Sıcak ılıman bir iklim meyvesi olan karayemiş olarak bilinen *L. officinalis* Roem. (LO) 6 metre'ye (m) kadar boylanabilen küçük ağaç veya çalı formundadır. Kök sistemi çok kuvvetlidir. Erselik bir çiçek yapısına sahiptir. Çiçeklenme dönemi Mart-Nisan aylarında olmaktadır. Karayemiş, arılar tarafından çoğunlukla bir polen kaynağı olarak bilinir. Çiçeklerinde bir orta durumlu perigin (dişi organ), beşer adet taç yaprak (beyaz renkte)- çanak yaprak ile 15-20 tane stamen bulunmaktadır. Çiçek salkımı rasemöz şeklinde, bir ana eksen etrafında dizilmiş, kısa saplı 28-30 adet çiçekten oluşmaktadır (Fat ve ark. 2022).

Halk arasında taflan/karayemiş olarak bilinen LO bitkisinin kırmızı ve mor renkte bir meyvesi vardır. Genel olarak deniz seviyesinin 20- 1700 m üstündeki Karadeniz Bölgesi'nin yüksek kesimlerinde yetişmekle birlikte Doğu Marmara ve bazı Akdeniz ülkelerinde, Balkanlar, Güney ve Batı Kafkasya ve İran'da da yetişmektedir (Şekil 2.2.). Karayemiş meyvesi ya taze olarak ya da kurutularak ve kavrularak tüketilebildiği gibi reçel, pekmez, turşu, tuzlama ve çerez olarak da yenebilmektedir. Günümüze kadar ülkemizde yetişebilen karayemiş meyvesi fenolojik ve fitokimyasal özellikleri nedeniyle geleneksel tıbbi tedavilerde kullanılmaktadır. Karayemiş yaprağının astıma ve öksürüğe iyi geldiği, sulu ve etanolik özütlerin ise anti-fungal ve anti-inflamatuar tedavisinde

etkili olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, karayemiş tohumunun solunum ve sindirim bozukluklarının yanında egzama ve hemoroit tedavisinde de kullanımı önerilmektedir (Göl 2017; Karataş ve Uçar 2018).



şekil 2.2. *L. officinalis*'in genel görüntüsü (Plants of the World Online 2023)

2.2.2. Araştırmada kullanılan *Agrimonia eupatoria* L. hakkında genel bilgiler

Yaygın ismi “agrimony ya da koyun otu” olarak bilinen *Agrimonia eupatoria* L.’nın boyu yaklaşık 100 cm’ye kadar ulaşmaktadır. *A. eupatoria* (AE) çoğunlukla dallanmamış silindirik bir gövdeye sahip çok yıllık bir bitkidir. Yoğun yaprakları mevcuttur. Çiçekleri hermafrodit olup sarı renkte, çoğunun sapı kısa ve sapları üzerinde ise iki adet braket bulunmaktadır. Olgun meyveleri konik-kanca şeklinde bir dallara sahiptir ve 7-8 mm uzunluğundadır. Çiçeklenme periyotları mayıs ayından temmuz ayına kadardır. Koyun otu bitkisi, koyu yeşil renkte, ipeksi tüylere ve hoş aromatik bir kokuya sahiptir (şekil 2.3.) (Saffari ve ark.2021).

Yapılan araştırmalarda, alternatif tıpta kullanılan bu bitkinin fitokimyasal laboratuvar analizleri sonucunda, flavonoidler, fenolik asitler, tanenler, immünomodölatör ve antimikrobiyal aktivitelere sahip olan uçucu yağlar da dâhil olmak üzere birçok biyoaktif bileşikler tanımlanmasıyla karaciğer hasarına karşı koruduğu saptanmıştır (Santos ve ark. 2017; Mi Cho ve ark. 2018). Ayrıca agrimony özütlerin genotoksisite etkinliğı ile yapılan çalışmalarda ekstrelerin güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Paluch ve ark. 2020).



Şekil 2.3. *A. eupatoria*'nın genel görüntüsü (Plants of the World Online 2023)

2.3. Genetik Toksikoloji

Genetik toksikoloji; fiziksel, kimyasal ya da biyolojik ajanların canlı organizmalar üzerindeki DNA hasarının toksik etkilerini kapsayan ve inceleyen bir bilim dalıdır ve çeşitli ajanların neden olduğu genetik hasarın belirlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Genotoksisite ise, hücrenin genetik materyal üzerinde yıkıcı bir etki yapmasıyla birlikte hücrenin bütünlüğünü etkilemesi ya da çekirdek, kromozom ve DNA'nın yapısında gen mutasyonları, kromozom anomalileri, DNA kırıkları, anöploidi ve klastojenite gibi hasarları kapsayan bir terimdir (Young 2002; Saks ve ark. 2017).

2.3.1. Genotoksisite çalışmalarının önemi

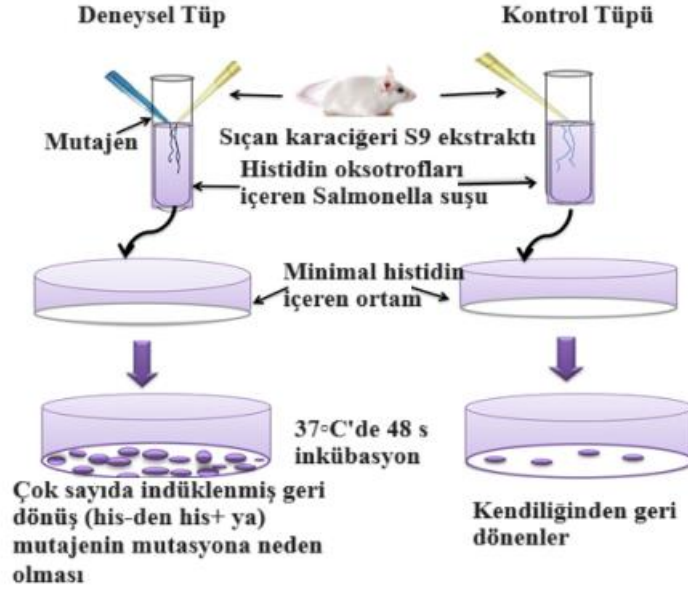
Genotoksisite çalışmaları, farklı mekanizmalarla doğrudan ya da dolaylı olarak genetik materyali hasara uğratacak madde ya da bileşiklerin belirlenebilmesi için tasarlanan in vivo ve in vitro testleri kapsamaktadır. Bu testler, hem DNA hasarı ve fiksasyonu açısından oluşabilecek tehlikenin tanımlanmasında hem de bileşiklerin karsinojenite ve genotoksisiteye neden olma potansiyeline sahip olup olmadığını test ederek belirlemede önemli bir rol oynamaktadır (Saks ve ark. 2017).

2.3.1.1. AMES (Salmonella/Mikrozomal) testi

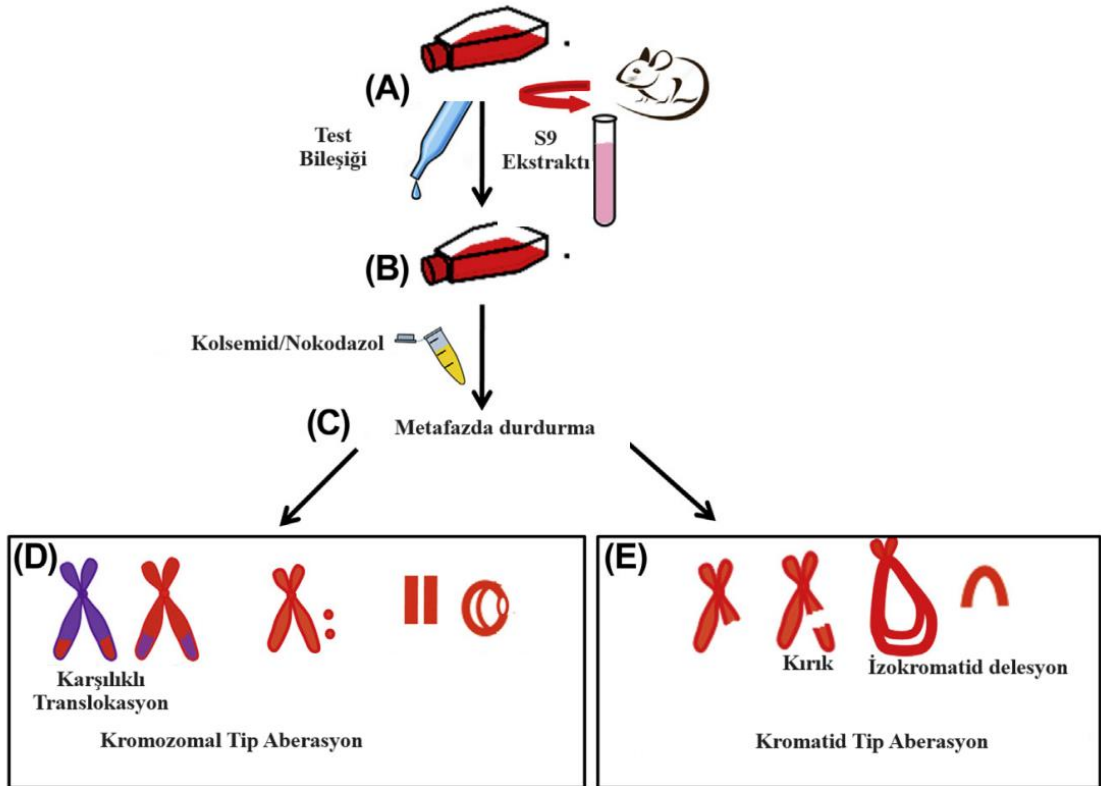
Genotoksik aktivitenin belirlenmesinde rol oynayan bakteriyel geri mutasyon testi olarak da bilinen AMES testi; gen mutasyonlarına neden olarak genetik hasar üretebilen çeşitli kimyasal maddeleri tespit etmek için tasarlanmış in vitro kısa süreli bakteriyel bir bioanalizdir. Özellikle de ilaçların ham maddesi olarak kullanılan ajanların karsinogenik-mutajenik ya da toksik etkilerini inceleyebilmek amacıyla tercih edilen güvenilir deney yöntemleri arasında yer almaktadır. Ames testi uygulamasında, *Salmonella typhimurium* ya da *Escherichia coli* mutant test suşlarında geri mutasyonları ve bakterilerin temel olarak aminoasit sentezleme yeteneğinin onarılması amaçlanmaktadır. Bu test bakteriyel suşlarda mevcut olan geri mutasyonları tanımlamak için kullanıldığı gibi aynı zamanda sıvı bir süspansiyon içerisinde kolaylıkla çözülebilen ilaçlar, pestisitler, boya, kozmetik ve atık sular gibi çevresel numunelerin mutajenitesini belirlemek için de kullanılmaktadır (Şekil 2.4.) (Tejs 2008; Oğuz ve ark. 2013).

2.3.1.2. Kromozomal aberasyon (KA) testi

İn vivo kromozomal aberasyon testi özellikle hedef doku olarak ele alınan ve hızlı bir sirkülasyona sahip kemik iliği hücrelerindeki kromozom anomali frekansını değerlendirirken, in vitro KA testi ise memeli hücre kültür hatlarında kullanılmaktadır. Kemik iliği hücrelerinden ya da kültürlerden metafaz hücreleri elde edilerek kromozomlarda meydana gelen sayısal ya da yapısal anormallikler bu test yöntemiyle tespit edilebilmektedir (Şekil 2.5) (Atlı Şekeroğlu ve Şekeroğlu 2011),



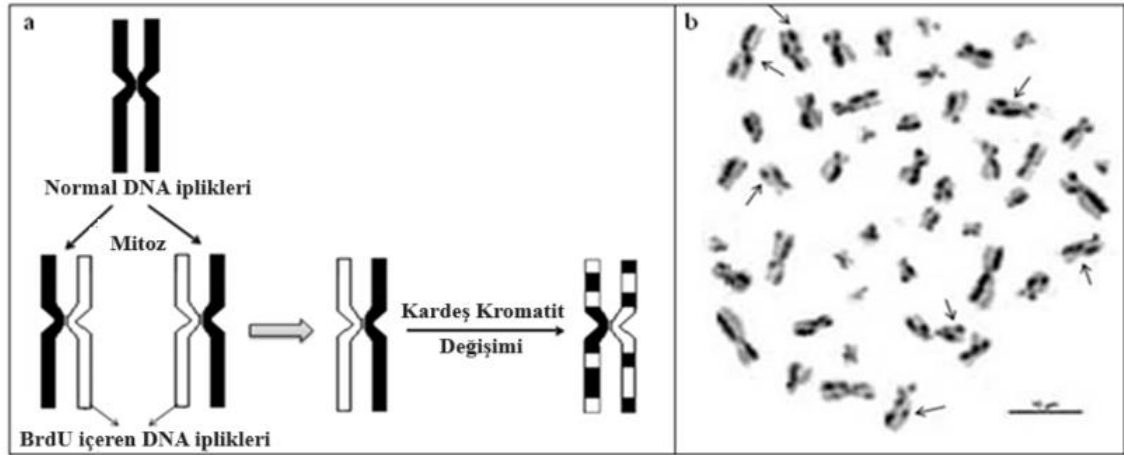
Şekil 2.4. Salmonella suşlarında mutajenitenin değerlendirilmesine yönelik genetik yaklaşım (Vijay ve ark. 2018)



Şekil 2.5. İn vitro memeli kromozom aberasyon testi şematik gösterimi (Dixit ve Kumar 2011)

2.3.1.3. Kardeş kromatit değişimi (KKD) testi

Kardeş kromatit değişimleri, DNA replikasyonu sırasında, mitotik kromozomların kardeş kromatitleri arasındaki bir değişim mekanizmasını yansıtarak onların parçalanmasını ve çoğalan kromozomlardaki iplikçiklerin parçalarının ise fiziksel olarak değiştirilmesini yansıtmaktadır. Çeşitli genotoksik ajanlar tarafından uyarılabilen ve çift zincir kırıkları sonucu oluşan DNA hasarının tespit edilmesinde KKD testi önemli bir yer tutmuştur. Bu test hem in vivo hem de in vitro memelilerde, farklı hücre hatlarında, bazı bitki ve hayvan hücrelerinde DNA hasarının tespitinde kullanılmaktadır. Hücre kültür hatlarında timidin H3 yerine timidinin bir analogu olan 5'-Bromo-2 deoksiürüdinin (BrdU), DNA'ya hücre döngüsünün S evresinde eklenmesiyle kullanılmaktadır (Şekil 2.6.) (Turkez ve ark. 2017; Çelik 2022).



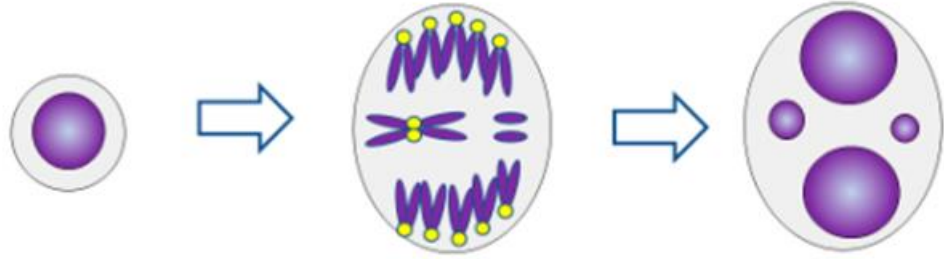
Şekil 2.6. a) BrdU içeren KKD gösterimi b) KKD içeren metafaz plağı (Atlı Şekeroğlu ve Şekeroğlu 2011)

2.3.1.4. Mikronükleus testi

Mikronükleus (MN), mitoz evresinde anafaz esnasında ana çekirdeğe dâhil edilmeyen geride kalmış bir kromozom ya da kromozom parçalarının mitotik iğ ile bağlantı kuramamasından kaynaklanmaktadır (Knasmüller ve Fenech 2019). MN testi, mutajenik etkilerin tespit edilmesinde, in vivo ve in vitro uygulanabilirliği, hızlı ve güvenilirliği yüksek olan testler arasındadır. Mikronükleus sayısındaki artış;

- Aşırı kimyasal genotoksinlere maruz kalma,

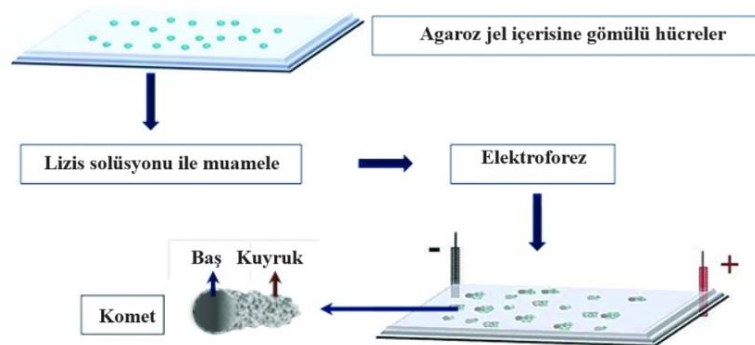
- Mitoz bölünme sırasında ve kontrol noktalarında gerekli proteinlerdeki genetik hatalar,
- DNA onarım mekanizmasında kullanılan enzimlerdeki genetik hatalar,
- Aşırı radyasyona maruz kalma ve
- DNA replikasyon ve onarımı sırasındaki gerekli mikrobelerin eksiklerinden kaynaklanabilmektedir (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Mikronükleus oluşumunun gösterimi (Fenech 2020)

2.3.1.5. Komet Testi

Memelilerde alkali komet testi ya da tek hücreli jel elektroforezi olarak da bilinen komet testi, ökaryotik hücrelerde DNA hasarını tespit etmek için uygulanan yöntemler arasında yer almaktadır. Lam üzerinde agaroz içerisine gömülü hücreler, nötral deterjan ve yüksek tuz konsantrasyonlarında uygulanan lizis aşamasından sonra yüksek pH'da elektroforez, floresans mikroskopu ile gözlemlenen jelde bir baş ve bir de kuyruk bölgesinden oluşan kuyruklu yıldız benzeyen yapılarla sonuçlanmaktadır. Bu test aynı zamanda genotoksosite açısından mevcut kimyasalların test edilerek genotoksinlerle birlikte çevresel kontaminasyonların izlenmesi, moleküler epidemiyoloji ve DNA hasar ve onarımı konusunda temel araştırmaları kapsamaktadır (Şekil 2.8.) (Collins 2004).



Şekil 2.8. Komet testinde yer alan aşamalar (Gunasekarana ve ark. 2015)

2.3.1.6. *Allium cepa* kök ucu hücreleri testi

Allium cepa testi kullanımı, kolşisine bağlı mitotik iğdeki bozuklukların tespit edilmesiyle ilk defa Albert Levan tarafından gerçekleştirilmiştir (Levan 1938). *A. cepa* testi sitotoksik, genotoksik ve morfoloksik çalışmaların temel bir biyobelirtecidir. Bu test; mevcut su ortamlarındaki kirlilik seviye analizlerini ve çevrede bulunan toksik ajanların tespit edilmesinde yaygın bir şekilde kullanılan biyoindikatör bir testtir. Böylece çevresel kirleticilerin toksik etkisinin gözlemlenmesi ve kimyasal olarak taranması için etkili bir yaklaşımdır. Ayrıca *A. cepa* testi, hasara neden olan kimyasallara veya kansorejenlere/mutajenlere doğrudan ya da dolaylı olarak maruz kalan canlı organizmalardaki kromozomal sapmalarını gözlemleyerek olası etkileri tanımlamaya olanak sağlamaktadır (Cabuga Jr. ve ark. 2017). *Allium* testi genel olarak birçok avantajla ilişkilendirilmiştir. Bunlar;

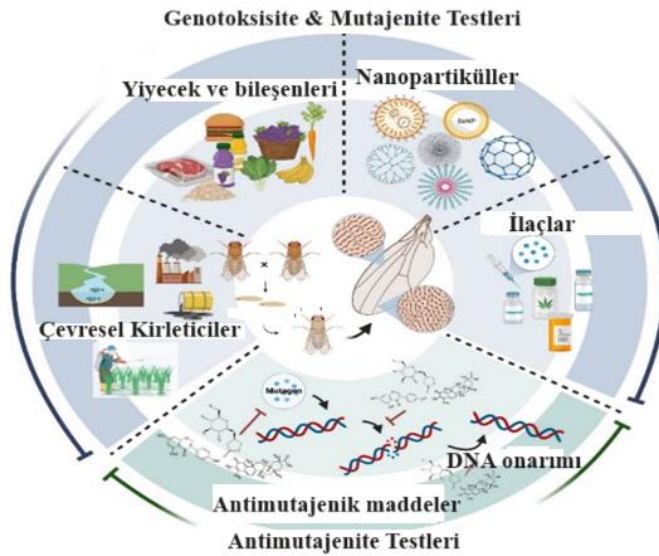
- Test edilebilecek farklı kimyasalların kök ucu ile direk temas hâlinde olmasından kaynaklı Uluslararası Bitki Biyoanalizleri tarafından onaylanmış, toksik ajanların güvenlik değerlendirilmesinde kullanılan in vivo bir test materyalidir.
- Düşük maliyette olması ve hücre döngüsünün kısa zamanda tamamlanması ve
- Kromozomların sayıca az, büyük ve karyomorfolojik açıdan yapısal olarak farklılık göstermesidir. Bu test yöntemiyle MN, çekirdek ve kromozom anomalileri, mitotik indeks (Mİ) gibi farklı parametreler belirlenebilmektedir (Khanna ve Sharma 2013).

Mutajenik maddelerin neden olabileceği hasarları değerlendirebilmek ve hücre döngüsü boyunca oluşabilecek toksik etkileri belirlemeye yönelik uygulanan *A. cepa* testi, sitogenetik çalışmalarda kullanılan bitki materyallerin bileşimindeki genotoksik maddelerden ya da metabolizmalarından kaynaklanan bitki kromozomlarındaki olası bozuklukları tespit etmek amacıyla yaygın bir şekilde tercih edilmektedir (Tedesco ve Laughinghouse 2012).

2.3.1.7. Somatik mutasyon ve rekombinasyon test yöntemi- *Drosophila melanogaster* (SMART)

Genotoksik ajanların tanımlanmasına yönelik gerçekleştirilen somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART), *Drosophila* ırklarının kullanıldığı in vivo yöntemler arasında yer almaktadır. *Drosophila*'nın somatik genotoksisite analizleri prensipte bireysel sineklerden elde edilen somatik noktalara dayanmaktadır. Bu test ilk defa Graf ve çalışma arkadaşları tarafından önerilen kanat nokta testi olarak bilinen kanat hücrelerini ve göz spot testi olarak bilinen göz hücrelerini hedeflemektedir. Her iki durumda da yetişkin sineklerde fenotipik olarak ifade edilen heterozigotluk kaybına (delesyon, nokta mutasyonu, mitotik rekombinasyon ve ayrılmama) bağlı olarak embriyonik gelişim sırasında mutasyonların ve rekombinasyonların tespitine olanak tanımaktadır (Savic ve ark. 2011; Tagorti ve Kaya 2022).

Drosophila imajinal disk hücrelerinde mutasyona sebep olan genotoksik ajanlar, test edilen ergin kanatlarda tekli noktalar ve ikiz noktalar şeklinde anormal kıl lekelerini oluşturmaktadır. Bu nedenle SMART deneyi hem genotoksinlerin geniş bir aralığını tespit etmek için hem de tek ya da karmaşık bileşiklerin, yiyecek ve içeceklerin, bitki özütlerin ve hatta kirli suların genotoksik durumunu tespit etmek için uygun bir test yöntemidir (Şekil 2.9.) (Pitchakarn ve ark. 2021).



Şekil 2.9. SMART uygulama alanlarının gösterimi (Pitchakarn ve ark. 2021).

Kullanılan *Drosophila* Hatlarının Genel Yapısı

Kanat nokta testi kapsamında *D. melanogaster*'in iki hattı -çoklu kanat kılı genetiğine sahip olan **mwh**[♂] (multiple wing hair/3-0,003) ve **flr**³[♀] (flare/3-38,8) kullanılmaktadır. Her iki hat da 3. kromozom üzerinde yer alıp, kanat hücrelerinin trikomları fenotipini gözle görünür biçimde etkileyen mutasyonlar taşımaktadır. Normalde tek bir hücreden tek bir trikom çıkarken mwh'de tek bir hücreden birden fazla trikomla sonuçlanan homozigot resesif bir mutasyon karakterize edilir. Flr³ ise, resesif zigotik letaldir ancak imajinal disk hücrelerindeki homozigot flr³/ flr³ hattı hücreler hayatta kalırlar ve fenotipi kısa, deforme olmuş, şekilsiz ve kalınlaşmış trikomlara yol açar (Şekil 2.10.) (Marcos ve Carmona 2013).



Şekil 2.10. Kanat trikomlarının genel görünümü; a)Normal trikomlar b)Mwh'ye ait trikomlar c)Mwh ve flr3'ye ait sınıflandırılmaya alınmayan farklılaşmış trikomlar d)Flr3'ye ait trikomlar (Graf ve ark. 1984)

2.4. Mutasyonlar

Genetik materyaldeki değişiklikler olarak tanımlanan mutasyonlar, bireyler arasındaki genetik çeşitliliğin temel kaynağıdır (Broertjes ve Van Harten 1988). Mutasyonlar, protein kodlayan veya transkripsiyon süreçlerini kontrol eden dizilerde, intronlarda, tekrar dizilerinde, intronların uzaklaştırılması ve ekzonların eklenmesi gibi kritik durumlar dahil olmak üzere genomun herhangi bir bölümünü etkileyebilmektedir. Böylece mutasyonların etkileri farklılık gösterebilmektedir. Zararlı bir mutasyon, bir proteinin üretimini yavaşlatabilir, durdurabilir veya aşırı üretimine neden olabilir ya da başka bir proteinle olan etkileşimini değiştirerek işlevini bozabilmektedir (Lewis 2010).

Her türün kromozomlarının karakteristik bir morfolojisi ve sayısı vardır. Ancak hücre bölünmesi, krossing-over ya da döllenme sırasında bir mutasyon nedeniyle kromozomun sayısında ve yapısında bazı varyasyonlar meydana gelmektedir. Kromozomların organizasyonunda meydana gelen bu değişimler fenotipik olarak ortaya çıkar ve bu nedenle genetik açıdan büyük önem taşımaktadır. Mutasyonlar, genomda tüm kromozom parçalarının delesyonu-duplikasyonu ya da genetik materyalin düzenlenmesini içeren kromozom mutasyonları ve bir DNA molekülünün baz çifti değişikliği sonucu oluşan mutasyonlar gen mutasyonu olmak üzere 2 grupta sınıflandırılmaktadır (Verna ve Agarwal 2005).

Kromozom sayısındaki çeşitlilik, bir ya da birden fazla kromozomun kaybından ya da eklenmesinden, bir ya da birden fazla haploid kromozom setinin ilavesine kadar değişiklik gösterebilmektedir. Anöploidi terimi, bir organizmanın tam kromozom takımına sahip olması değil, bir ya da daha fazla kromozomun kazanılması ya da kaybedilmesi durumudur (Klug ve ark. 2018). Yapısal kromozomal anormallikler, kendiliğinden ya da dış etkenlerden kaynaklanan bir kromozomun parçalarında değişiklik olduğunda ortaya çıkmaktadır. Yapısal mutasyonlar kromozomal kırılma ya da eşit olmayan çaprazlamalar nedeniyle oluşabilmekte bu da delesyon, duplikasyon, translokasyon ve inversiyonla sonuçlanmaktadır (Ahirrao ve Desale 2019). Gen mutasyonu, karşılık gelen RNA ya da protein moleküllerinin dizilişindeki değişikliğe yansıyan DNA dizisindeki bir değişiklik olarak tanımlanmaktadır. Baz çiftinde meydana gelen bu değişiklik, mRNA'ya kopyalanma sırasında DNA molekülünün okuma çerçevesinde kaymalara yol açar. Bu kayma, genellikle orijinalinden farklı bir protein oluşmasına neden olabilir. Bu durum ise organizmanın fenotipinin değişmesine yol açabilir. Mutasyonların çoğu çevresel etkilerle kendiliğinden meydana gelebildiği gibi radyasyon, fiziksel faktörler ya da mutajen adı verilen kimyasallar tarafından tetiklenebilirler (Verna ve Agarwal 2005). Gen mutasyonları;

- Gen mutasyonları, bir pürin ya da pirimidin nükleotitlerin silinmesi veya eklenmesinden kaynaklanabilmektedir (Nokta mutasyonları).
- Nükleotitlerin eklenmesi ya da silinmesi protein molekülüne hangi aminoasitin dahil edileceğini belirleyebilmektedir.

- Gen mutasyonları çerçeve kayması mutasyonları içerebilmektedir. Gen mutasyonlarının çoğu zararlıdır.
- Genellikle mutant genler, yabanıl tipe göre resesif konumdadır. Diploid organizmalarda mutant aleller yalnızca homozigot durumda ifade edilirken, haploid organizmalarda ise resesif alel pozisyonunda ifade edilmektedir.
- Bazen bir mutant alel orijinal yabanıl tipe geri dönebilir, buna ters mutasyon adı verilmektedir. İleri mutasyonların sıklık frekansı ters mutasyonlara göre daha fazladır.
- Mutasyondan dolayı bir gen alel adı verilen alternatif bir forma dönüşmektedir. Bazen tek bir gen birkaç kez mutasyona uğrayarak farklı gen türlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu gruptaki genlere ise çoklu aleller denir. İnsandaki kan grupları örnek olarak verilebilir.
- Bir gen diğer genlerin mutasyona uğramasına neden olabilmekte, bu gene ise mutator gen adı verilmektedir.
- Bir gendeki tek bir mutasyon farklı karakterleri etkileyebilmekte ve bu tür mutasyonlar ise birden fazla fenotipik etki olarak adlandırılan pleiotropik mutasyonlara neden olmaktadır (Venkateshwarlu 2021).

2.5. Bitkisel Kaynaklar ve Önemi

Bitki fitokimyasalları, bitkiler tarafından üretilen, bitkinin yaşamsal faaliyetlerinde rol oynayan primer metabolitler (nükleotitler, organik asitler, proteinler, karbonhidratlar, yağlar, aminoasitler) ve birçok organik moleküllerin sentezlenmesinde ve hücre metabolizmalarının bir yan ürünü olan sekonder metabolitler olmak üzere iki grupta sınıflandırılmaktadır. Sekonder metabolitler, bitkinin olumsuz çevresel koşullara, hastalıklara, biyotik ve abiyotik streslere karşı bir dayanıklılık oluşturmaları ve yabancı otlara karşı da allelopatik bir etki göstermesinden dolayı bitkilerin büyüme ve gelişme işlevleri açısından primer metabolitler kadar önemlidir. Ayrıca bitkilerin doku ve organlarında bulunan bu biyoaktif bileşiklerin, birçok bitkinin terapötik özelliklerinden de sorumlu oldukları düşünülmektedir (Hidalgo ve ark. 2018; Ülger ve Yabancı Ayhan 2020).

Biyosentetik kökenlerine dayanarak sekonder metabolitler; fenolik bileşikler, terpenoidler ve nitrojen-sülfür içeren alkaloidler olmak üzere 3 grupta sınıflandırılmaktadır (Shin ve ark. 2020).

1- Fenolik (polifenoller) bileşikler: Bitki fenolikleri, aromatik halka üzerinde hidroksil grup içeren, sekonder ürün üreten ve enzim aktivitesini de inhibe eden ürünleri kapsamaktadır. Polifenoller; bitki döllenmesinde, büyüme ve gelişmesinde, patojenlere karşı savunmada önemleri oldukça fazladır. Ayrıca bu bileşikler, güneşten gelen ultraviyole ışınlarına karşı bitkileri savunmada görevlidir. İçerdikleri fenol halka gruplarının sayısına ve yapısındaki bileşenlere göre fenolik bileşenler; fenolik asitler, tanenler, kumarinler, stilbenler ve flavonoidler olarak alt gruplara ayrılmaktadır (Tiring ve ark. 2021).

-Fenolik Asitler: Bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan ikincil metabolitlerdir. Hidroksisinamik ve hidroksibenzoik asit olarak iki grupta incelenir. Hidroksisinamik asitler çoğunlukla asit türevleri halinde olup kumarik asit, kafeik asit, sinapik asit ve ferulik asit yer almaktadır. Asitlerin β -oksidasyonu sonucu oluşan hidroksibenzoik asitler arasında salisilik asit, vanilik asit, siringik asit, gallik asit ve p-hidroksibenzoik asit yer almaktadır (Ghasemzadeh ve Ghasemzadeh 2011).

-Tanenler: Bitkilerin dokularında, yapraklarında, meyvesinde, kabuğunda bulunan bir fenolik bileşiklerdir. Kuşlara, böceklerle ve otçullara karşı savunma mekanizmalarıyla ilişkilendirilir. 20-35°C suda çözünme ve proteinlerle, polisakkaritlerle, nükleik asitlerle ve alkaloidlerle kompleks oluşturabilme yeteneklerine sahiptir. Tanenler, özelliklerine ve kimyasal yapılarına göre yoğunlaştırılmış tanenler ve hidrolize olabilen tanenler olarak iki gruba ayrılmaktadır (Hassanpour ve ark. 2011).

-Kumarinler: Kumarin ve türevleri doğal ekosistemde yaygın olarak dağıtılan, köklerin, yaprakların, tohumların, meyvelerin, çiçeklerin ve gövdelerin kabuğunda bulunan bileşiklerdir. Bu bileşikler, yüksek bitkilerin ve süngerlerin önemli sekonder metabolitleri arasında yer almaktadır. Bitkilerden izole edilen kumarin bileşenleri; basit

hidroksikumarinler, furokumarinler-izofurokumarinler ve dihidrokizokumarinlerdir (Matos ve ark. 2015).

-Stilbenler: Bitkisel kaynaklı polifenol sekonder metabolitlerin bir sınıfıdır ve moleküler yapısında 1,2-difeniletillen birimleri bulundurlar. Bu bileşikler, iyileştirici ve biyoaktif özellikte olup, patojenlere ve zararlılara karşı koruyucu ve düşük toksisite özelliğindedir. Stilbenlerin en iyi temsilcileri arasında resveratrol, pterostilben, viniferin ve oksiresveratrol türevleri yer almaktadır. Pek çok çalışmada resvetrolün antianjiyogenik, antioksidan, antiinflamatuvar etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Dubrovina ve Kiselev 2017).

-Flavonoidler: Polifenol bileşiklerin en büyük alt grubunu oluşturan flavonoidler, antioksidan aktiviteleriyle tanınmaktadır ve serbest radikallerin olası zararlı etkilerine karşı korumakla görevli bileşiklerdir. Bakterilerde, bitkilerde ve hayvanlarda çeşitli biyoaktiviteler gerçekleştirmektedir. Bitkilerin ekosistemle olan etkileşiminde önemli role sahiptirler. Yapısal olarak flavonlar (luteolin-apigenin-galangin), flavonoller (kuersetin-mirisetin-kaemferol), flavanonlar (hesperetin-naringenin), flavanoller (kateşinler-epikateşinler), izoflavonlar (genistein-daidzein) ve antosiyanidinler (siyanidin-malvidin) olarak alt gruplara ayrılmaktadırlar (Samanta ve ark. 2011).

2- Terpenoidler: İzoprenoidler olarak bilinen terpenler, bitkilerde fotosentetik pigmentlerde (karotenoid-fitol), hormonlarda (apsisik asit, giberellin) ve membranların yapısal bileşenlerinde rol almaktadır. Terpenler yapısındaki karbon sayılarına göre sınıflandırılırlar: Mono-, di- ve tetraterpenoidler. Karotenoidler, en yaygın bilinen tetraterpenoid sınıfında yer alan doğal pigmentlerdir. Bu gruba giren doğal bileşikler, koku ve renk potansiyeli açısından önemlidir (Tiring ve ark. 2021).

Birçok çalışmada terpenoid sınıfında yer alan karotenoidlerin radyasyon ve farklı kimyasalların yol açtığı mutasyonları önleyerek antijenotoksik ve kemopreventif bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Konopacka ve Wolny 2001; Glej ve ark. 2002).

3- Nitrojen-sülfür içeren Alkaloidler: Tıbbi bitkilerden izole edilen ve nöroaktif özelliklere sahip olan alkaloidler, sinir uçlarındaki reseptörlerle etkileşime girerler. Alkaloidler; kimyasal yapıları, biyosentez yolları ve biyolojik aktiviteleri ve nitrojen sayıları açısından heterosiklik ve heterosiklik olmayan alkaloidler olarak sınıflandırılırlar. Bitkilerin farklı dokularında üretilen alkaloidler, bakteriler, mantarlar, zararlılar ve böcek larvaları gibi çeşitli yırtıcı hayvanlara karşı korunmada mücadele ederler (Bhambhani ve ark. 2021).

2.5.1. Sekonder metabolitlerin yolları

Bitkilerde 3 temel ana yolak bulunmaktadır. Bunlar: şikimat, izoprenoid (terpenoidler) ve poliketit yollarıdır. Aromatik bileşenlerin biyosentezini karbonhidratlara bağlayan şikimat yolağı, bitkiler ve mikroorganizmalarda bulunur, hayvanlarda bulunmaz. Fosfoenolpiruvat (PEP) ve eritroz-4-fosfatın yoğunlaşmasıyla başlayan ve korizmat sentezi ile sona eren metabolik adımlardan oluşmaktadır. Bu nedenle bu yol, antibiyotikler, herbisitler ve canlı aşılar için önemli bir hedef haline gelmiştir. Herbisitler arasında glifosat en iyi örnektir. Temelde bu yolda sadece herbisit hedefiyle olan etkileşimini anlamak değil aynı zamanda benzer inhibitör kapasitesine sahip olan diğer bileşenleri de saptamak önemlidir (Herrmann ve Weaver 1999; Pagare ve ark. 2015).

İzoprenoidler, organizmalarda yapısal ve işlevsel olarak tanımlanmış en çeşitli metabolit grubunu temsil etmektedir. Bu bileşenler; fotosentez, solunum, büyüme ve gelişmede, allelopatik ve bitki-patojen etkileşimleri gibi işlevlere sahiptir. Bütün izoprenoidler, bitkilerde yaygın olarak izopentenil-difosfattan iki farklı yolla sentezlenmektedir. İzoprenoid yolağı akışı sonu sentezlenen steroller ve fitohormonlar, büyüme gelişmenin hem modülatörlerini hem de yapı taşlarını oluştururlar. Bu yolların giderek çözülmesi, tarımsal açıdan yararlı özelliklerin genetik mühendisliğini ve moleküler ıslahını kolaylaştıracaktır. Bu nedenle bitkilerde biyolojik olarak aktif izoprenoid bileşiklerin sentezinin arttırılması, besin değeri fazla olan gıda üretmek için ilgi çekici bir yaklaşım olabilir (Vranova ve ark. 2012).

Bitki sekonder metabolitleri arasında yer alan poliketitler, yapısal olarak farklı moleküllerin büyük bir grubunu temsil etmektedir. Bitkilerdeki poliketitler, asetil birimlerin koenzim A bağlantılı bir molekülle birlikte poliketit sentazları tarafından sentezlenen, bitki, mantar ve bakterilerde bulunan metabolit grubudur. Poliketit sentazlar (PKS) tarafından oluşturulan bileşikler arasında stilbenler, kalkonlar, benzofenonlar, pironlar ve kurkiminoidler yer alır. Bunlardan bazılarının antimikrobiyal, antikanser, antioksidan, nöroprotektif ve antiviral aktivitelere sahip olduğu belirlenmiştir. PKS'lar ürün yapılarına ve biyokimyasal özelliklerine göre tip 1, tip 2 ve tip 3 olarak farklı enzim sınıflarında gruplandırılmaktadır (Lussier ve ark. 2012). Fenolik bileşenlerle zengin olan bitkilerin antioksidan etkileri çok güçlü olduğundan en değerli antioksidan kaynağıdır (Baydar 2020). Bu nedenle bu tez çalışmasında karayemiş ve koyun otu bitkilerinin antigenotoksik özelliklerinin araştırılması da hedeflenmiştir. Bitkilerin içerikleri tablo 2.3.'te verilmiştir.

Tablo 2.3. *L. officinalis* ve *A. eupatoria* bitkilerine ait fenolik bileşikler (Karabegovic ve ark. 2014; Malheiros ve ark. 2022)

	<i>L. officinalis</i> Roem.	<i>A. eupatoria</i> L.
Fenolik Bileşikler	• Flavonoidler • Fenolik Asitler • Antosiyanin • Tanenler • Lignin • Kateşin • O-kumarik asit • Luteolin • Apigenin • Kaempferol • Naringenin	• Fenolik Asitler • Flavonoidler • Tanenler • Apigenin • Astragalin • Sinarosit • İsoquersitrin • İsoviteksin • Rutin • Luteolin • Kateşin • Prosiyanidin B3 • Agrimonin

3. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan bitki materyalleri ve pestisit

Çalışmada Rosaceae familyasına ait *Laurocerasus officinalis* (Karayemiş) ve *Agrimonia eupatoria* (Koyun otu) türlerine ait bitkilerin yaprakları kullanılmıştır. Bitkilerin taksonomik sınıflandırılması Prof. Dr. Gençay AKGÜL (Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi-Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi) tarafından yapılmıştır. Uygulanan pestisit olarak Alverde-Metaflumizon (240 gr/L) insektisiti kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan model organizmalar

Allium deneyinde kullanılacak tüm soğanlar yerel bir pazardan temin edilmiştir. Soğanların genel görünüşü Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *Allium cepa* L.'nin genel görünüşü

SMART deneyi süresince *D. melanogaster* flr³ ve mwh ırklarına ait larva-L3 ve ergin bireyleri kullanılmıştır. Bu ırkların, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda kültürleri çoğaltılmaktadır (Şekil 3.2.)



Şekil 3.2. *D. melanogaster* mwh ve flr³ stok kültürleri

3.1.3. Kullanılan sarf malzemeler, kimyasallar ve cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar, kimyasallar ve sarf malzemeler Tablo 3.1. ve Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

Kullanılan Cihazlar	Marka Adı
Isıtıcı tabla ve manyetik karıştırıcı	Velp Scientifica
Hassas terazi	Kern Abj
Soxhlet ekstraksiyon cihazı	Isolab
Evaporatör	Buchi Rotavapor R3
Distile su cihazı	Isolab
Su Banyosu	N-Biotek NB-303
Buzdolabı	Arçelik
Işık mikroskobu	Olympus
Kameralı mikroskop	BX53 (Olympus)
Stereo mikroskop	Leica

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar

Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar		
Deney tüpleri	Lam+Lamel	Steril sünger
Cam petri kabı	Buz kalıpları	Pamuk
Cetvel	Jilet	Sulu boya fırçası
Makas	Standart besiyeri (mısır unu, şeker, maya, agar)	Hassas bıçak
Etil Alkol	Drosophila kuru instant medium	Pens
Glasiyal Asetik Asit	Dietil eter	Metil metan sülfonat
Metanol	Beher	Mezür
HCl	Deney şişeleri	Gum Arabic
Schiff's Reagent	Cam pipet	Kloral hidrat
Entellan	Pastör pipeti	Gliserol
Kurutma kâğıdı	Mikropipet	Kuyucuklu plaka

3.2. Metot

3.2.1. Kullanılan bitkilerin kurutulması

Ekstraksiyon aşaması için bitkilerin yaprak kısımları kurutma kâğıdına serilerek oda sıcaklığında karanlık ortamda kurutulmuştur. Kuruyan karayemiş ve koyun otu yaprakları havanda ezilerek toz haline getirilmiştir (Şekil 3.3 ve Şekil 3.4.).



Şekil 3.3. *L. officinalis* türüne ait; a)Yaprakların ezilmeden önceki hâli, b)Havanda ezildikten sonraki görünümü



Şekil 3.4. *A. eupatoria* türüne ait; a)Yaprakların ezilmeden önceki hâli b) Havanda ezildikten sonraki görünümü

3.2.2. Bitkisel ekstrelerin hazırlanması

Karayemiş ve koyun otu bitkilerinin metanol yaprak ekstralarının hazırlanması için Soxhlet ve evaporatör cihazları kullanılmıştır. Karayemiş bitkisi için yaklaşık 45 gr öğütülmüş yaprak tartılıp filtre kâğıdına konularak ekstraktöre yerleştirilmiştir. Üzerine

Çözücü olarak 400 mL metanol ilave edilmiştir. Koyun otu bitkisi için ortalama 35 gr öğütölmüş yaprak tartılıp filtre kâğıdına konularak ekstraktöre yerleştirilmiştir. Üzerine ise çözücü olarak 400 mL metanol ilave edilmiştir. Hazırlanan metanollü özütlerden metanolü ayırştırmak için 75°C’de evaporatör cihazı kullanılmıştır. Elde edilen saf yaprak özütleri petri kaplarına konularak buzdolabında muhafaza edilmiştir (Şekil 3.5. ve Şekil 3.6.).



Şekil 3.5. *L. officinalis* bitkisine ait; a, b) Ekstraksiyon ve c) Evaporatör aşaması d)Saf yaprak özütü



Şekil 3.6. *A. eupatoria* bitkisine ait; a, b)Ekstraksiyon c) Evaporatör aşaması d)Saf yaprak özütü

3.2.3. Çözeltilerin hazırlanması

Allium deneyi için manyetik karıştırıcıda 100 mL distile su içerisine 1 mL Metaflumizon insektisiti konularak çözünmesi sağlanmış ve anastok çözeltisi hazırlanmıştır. Karayemiş bitkisi için 1 mg/mL, koyun otu bitkisi için 100 mg/mL esas alınarak distile su içerisinde çözünmesi sağlanarak anastok çözeltileri hazırlanmıştır. SMART deneyinde ise 100 mL distile su içerisine 800 µL Mtf eklenmesiyle anastok çözeltisi hazırlanmıştır. Karayemiş bitkisi 7 mg/ml, koyun otu bitkisi için 200 mg/mL esas alınarak distile su içerisinde çözünmesi sağlanarak anastok çözeltileri hazırlanmıştır. Pozitif kontrol grubu için 300 ml distile su içerisine 2,3 uL metil metan sülfonat (MMS) eklenerek 10 ppm MMS ($d_{MMS} = 1,3 \text{ gr/mL}$) hazırlanmıştır. Faure solüsyonu için, 30 gr gum arabic+ 50 gr kloral hidrat ve 20 mL gliserol hazırlanarak üzerine 50 mL distile su ilave edilmiştir. Karışım homojen ve şeffaf olması için kurutma kâğıdından süzdürülerek hazır hale getirilmiştir.

3.2.4. *Drosophila* besiyerinin hazırlanması

Çalışmada flr³ ve mwh stokları için besiyeri hazırlarken öncelikle 46,8 gr mısır unu, 42,3 gr şeker, 8,55 gr maya, 2,7 gr agar ve 450 mL distile su karıştırılarak kaynaması sağlanmıştır (Lewis 1960). Karışım kaynadıktan ve kıvam aldıktan sonra üzerine enfeksiyon riskinin oluşmaması için 2,7 mL asit çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan karışımın ilk sıcaklığı çıktıktan sonra kültür şişelerine dökülmüştür. Şişelerin üzerine kurutma kâğıdı kapatılarak 1-2 gün oda sıcaklığında kuruması sağlanmıştır. Kuruyan besiyeri şişelerinin ağzı steril süngerle kapatılmıştır. Bütün deneysel aşamada ise kuru *Drosophila* instant medium (DİM) kullanılmıştır.

3.2.5. Deney gruplarına uygulanacak pestisit ve bitki ekstraktların dozlarının belirlenmesi

Literatür çalışmaları araştırılıp incelenerek pestisit, karayemiş ve koyun otu bitkilerine ait ekstraktların ve bunların kombine birleşimi ile ilgili deney grupları oluşturulmuştur.

Her iki deneysel yöntemdeki konsantrasyon değerleri ayrı ayrı Tablo 3.3.'te belirtilmiştir.

Tablo 3.3. Allium ve SMART deneylerinde uygulama konsantrasyonları

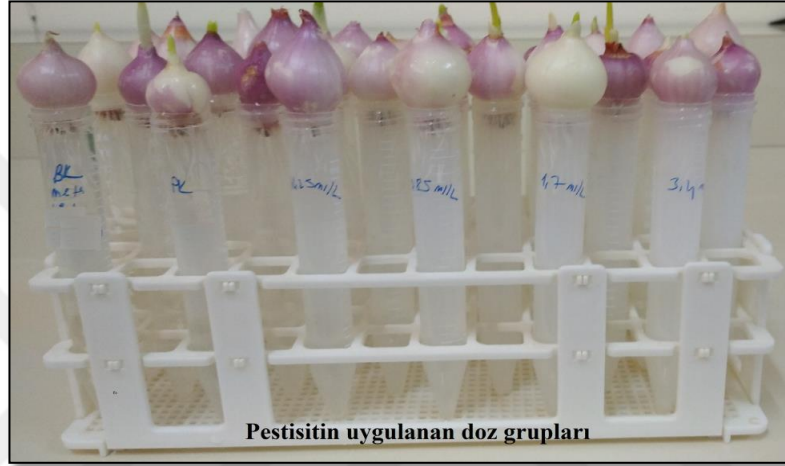
Deneyler	Deney Grupları	Mtf	Karayemis	Mtf+LO	Koyun otu	Mtf+AE
Allium	1. Grup	Büyüme Kontrolü (BK)				
	2. Grup	Pozitif kontrol (PK)				
	3. Grup	0,425 mL/L	0,105 mg/mL	İlave Kontrol grubu (İKG)	5 mg/mL	İKG
	4. Grup	0,85 mL/L	0,21 mg/mL	1,7 mL/L+0,105 mg/mL	10 mg/mL	1,7 mL/L+5 mg/mL
	5. Grup	1,7 mL/L	0,42 mg/mL	1,7 mL/L+0,21 mg/mL	20 mg/mL	1,7 mL/L+10 mg/mL
	6. Grup	3,4 mL/L	0,84 mg/mL	1,7 mL/L+0,42 mg/mL	40 mg/mL	1,7 mL/L+20 mg/mL
SMART	1. Grup	Negatif kontrol (NK)				
	2. Grup	Pozitif kontrol (PK)				
	3. Grup	0,5 mL/L	1,5 mg/mL	2 mL/L+1,5 mg/mL	25 mg/mL	2 mL/L+25 mg/mL
	4. Grup	1 mL/L	3 mg/mL	2 mL/L+3 mg/mL	50 mg/mL	2 mL/L+50 mg/mL
	5. Grup	2 mL/L	6 mg/mL	2 mL/L+6 mg/mL	100 mg/mL	2 mL/L+100 mg/mL
	6. Grup	4 mL/L	12 mg/mL	-----	200 mg/mL	-----

3.2.6. Allium deney prosedürü

Allium testinin uygulanması Fiskesjö (1985) yöntemine değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Soğanların dış kabukları ve eski kökleri temizlenerek karanlık ortamda 25±2°C'de 48 saat (s) çimlendirilmeye bırakılmıştır. Her uygulama grubu için 5 adet soğan kullanılmıştır. Homojen olarak çimlendirilen soğanlar tercih edilmiştir (1,5-3 cm uzunluğunda). Büyüme kontrolü (BK) olarak distile su, pozitif kontrol (PK) için 10 ppm MMS kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrar ve 24 ile 48 s'lik süreyle gerçekleştirilmiştir.

3.2.6.1. Metaflumizon'un *A. cepa* kök uçlarına uygulanması

Pestisit uygulama konsantrasyonları 0,425 mL/L, 0,85 mL/L, 1,7 mL/L ve 3,4 mL/L olarak belirlenmiştir. Muamele süresi 24 ve 48 s olarak uygulanmıştır (Şekil 3.7.) Süre sonunda kök uçları 1-2 cm olacak şekilde kesilerek fiksatif çözeltide (3:1 etil alkol: glasiyal asetik asit) +4°C'de 24 s fikse edildi ve preparat yapılınca kadar %70 etil alkol içerisinde bekletilmiştir.



Şekil 3.7. 24 s muamele edilen Mtf'nin doz grupları

3.2.6.2. *L. officinalis* ve *A. eupatoria* bitki ekstraktlarının *A. cepa* kök uçlarına uygulanması

Karayemişin kontrol ve uygulama konsantrasyonları (BK ve PK) 0,105 mg/mL, 0,21 mg/mL, 0,42 mg/mL ve 0,84 mg/mL ve koyun otu için doz grupları ise 5 mg/ml, 10 mg/mL, 20 mg/mL ve 40 mg/mL olarak belirlenmiştir. Her iki bitki için uygulama süreleri 24 ve 48 s olarak gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda ise kök uçları 1-2 cm olacak şekilde kesilerek 24 s fiksatif çözeltiye maruz bırakılmıştır. Preparatlar yapılınca kadar %70 etil alkol içerisinde +4°C'de bekletilmiştir.

3.2.6.3. İnsektisit+ bitki ekstraktların birlikte *A. cepa* kök uçlarına uygulanması

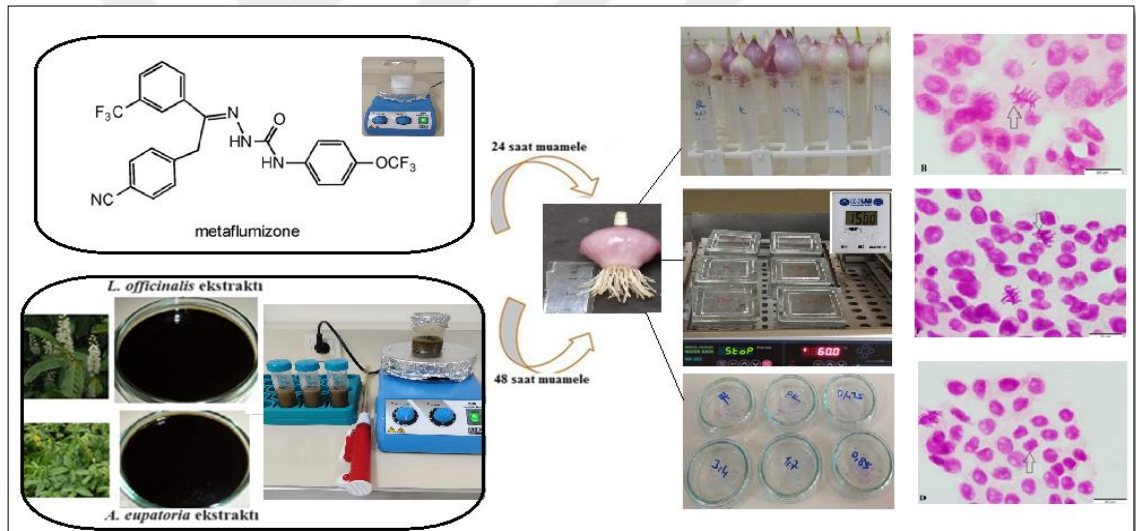
- Soğanlar 48 s süreyle çimlendirilmeye bırakılmıştır (çimlendirme aşamasında dinlendirilmiş çeşme suyu kullanılmıştır).

- Her bir doz grubu için 5 adet soğan kullanılmıştır.
- Kök uçları ölçülerek not alınmıştır.
- Deney süresince BK, PK, ilâve kontrol grubu (İKG) ve doz grupları uygulanmıştır. BK=Deney boyunca saf su kullanılmıştır. PK= Öncelikle soğanlar 24 s saf suda bekletilmiş, daha sonra ise 24 s 10 ppm MMS içeren çözeltide bekletilmiştir. İKG= Soğanlar 24 s insektisit 1,7 mL/L doz grubu çözeltisinde bekletilmiş ve ardından 24 s saf su içerisinde bekletilmiştir.
- Pestisit 1,7 mL/L doz grubu hazırlanarak tüplere konulmuştur.
- Soğanlar, pestisit çözeltisi içeren tüplere konulmuş ve 24 s bekletilmiştir. Süre sonunda kök uçları tekrar ölçülmüştür.
- İlk uygulama grubu olarak karışım, karayemiş bitkisi için gerçekleştirilmiştir. Karayemiş bitkisinin ekstre çözeltisi suda çözülerek hazırlanmış ve 0,105 mg/mL, 0,21 mg/mL, 0,42 mg/mL doz grupları oluşturulmuştur.
- Pestisitten çıkarılan soğanlar, bitki ekstre çözeltisi içeren tüplere aktarılmış ve 24 s bekletilmiştir. Süre sonunda kök ucu ölçümleri yapılarak kaydedilmiştir.
- İkinci uygulama grubunda yer alan koyun otu bitkisi için yukarıdaki işlemler tekrarlanmıştır. AE bitkisi için doz grupları 5 mg/mL, 10 mg/mL ve 20 mg/mL şeklinde oluşturulmuştur.
- 1,7 mL/L pestisit çözeltisinden çıkartılan soğanlar, AE bitki ekstresi içeren tüplere aktararak 24 s bekletilmiş ve kök ucu ölçümleri gerçekleştirilmiştir.
- Son aşamada preparat yapımı için her iki bitkiye ait kök uçları 1-2 cm uzunluğunda kesilerek 1 gün fiksatif çözeltisi içerisinde bekletilmiştir. Ertesi gün fiksatiften çıkartılan kökler % 70 alkole konulmuş ve preparat yapım aşamasına kadar buzdolabında bekletilmiştir.

3.2.6.4. Preparat Yapım Aşaması

% 70'lik alkol içerisinde bulunan soğan kök uçları saf su ile yıkanıp alkolden uzaklaştırılmıştır. Suyun fazlası kurutma kâğıdı ile alınmıştır. Daha sonra kök uçları 60°C 1 N HCl (100 mL distile su+8,28 mL HCl) su banyosunda ortalama 15 dakika (dk.) bekletilerek dokular yumuşatılıp hücre duvarının parçalanması sağlanmıştır. Maserasyon işleminden sonra kök uçları tekrardan saf su ile temizlenmiş ve fazlası

kurutma kâğıdıyla kurulanmıştır. Tüm doz gruplarındaki kök uçları küçük petrilere konularak 1 s boyunca Schiff's-Reagent ile boyanması sağlanmıştır. Süre sonunda kök uçları saf su ile yıkanarak boyanın fazlası alınmıştır. Bir sonraki aşamada ise, kök uçları temiz bir lam üzerine alınarak üzerine % 45'lik asit çözeltisi damlatılmış ve lamel kapatılıp kök uçlarının hafifçe ezilmesi sağlanmıştır. Bütün kök uçları doz gruplarına göre bu şekilde hazırlandıktan sonra buz kalıplarının (-40°C) üzerinde 30 saniye kadar bekletilmiştir. Bu işlem insektisit, bitkiler ve bunların karışımındaki uygulamalardaki tüm preparatlar için gerçekleştirilmiştir. Daha sonra lam ile lamelin birbirinden ayırma işlemi yapılmış ve kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lam ve lameller (lamın üzerine lam, lameller ise lam ile birleştirilip) entellan ile yapıştırılması sağlandıktan sonra kalıcı preparat yapılarak mikroskop incelemeleri için hazır hale getirilmiştir. Allium test yönteminin deneysel aşamaları şekil 3.8'de özetlenmiştir.

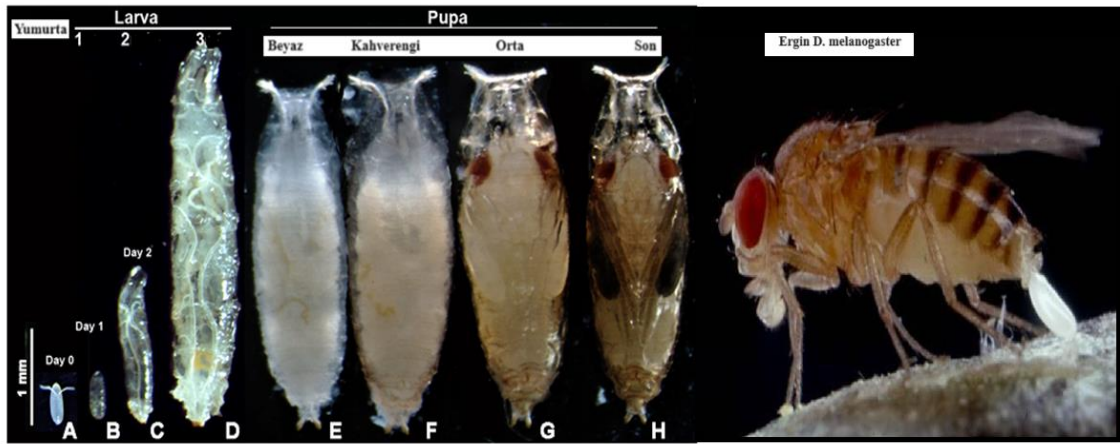


Şekil 3.8. Allium test prosedürün şematize şekli

3.2.7. *Drosophila melanogaster* ve hayat döngüsü

D. melanogaster, Drosophilidae familyasına ait genetik araştırmalarında ve gelişim biyolojisinde yaygın olarak kullanılan bir model organizmadır. Diptera takımında yer alan holometabol *D. melanogaster* meyve sinekleri yumurta, larva, pupa ve yetişkin (imago) gibi farklı gelişim aşamalarına sahiptir. *Drosophila* yumurtası beyaz renkli olup 0,5 mm uzunluğundadır. Ön ucundan bir çift yumurta filamenti uzanmaktadır. Bu filament, yumurtanın üzerine bırakıldığı yumuşak besin ortamına batmasını önler.

Yumurtadan çıkan larva iki tüy dökümü geçirir. Böylece larva dönemi birinci, ikinci ve üçüncü dönem olmak üzere üç hareketli dönem geçirmektedir. 1. 2. ve erken 3. dönem larvaları büyük ölçüde besin kaynaklarının içinde kalarak aktif bir şekilde beslenip vücut kütlelerini arttırmaktadır. Şeffaf larvalar 14 segmentten oluşmaktadır (3-baş 3-thorax ve 8-abdomen segmenti). 3. dönem larvaları artık besin içerisinden çıkarak pupa aşamasına geçebilmek için tükürük bezleri tarafından salgılanan yapışkan proteini kullanarak kuru bir yere yapışırlar ve ardından pupa aşamasına geçebilmek için son tüy dökümünü geçirirler. Başlangıçta yumuşak ve beyaz olan pupalar, son larva kütikülünün içerisinde oluşmaktadır. Kütikül yavaş yavaş sertleşerek sklerotizasyon sonucu rengi koyulaşıp kahverengi pupaya dönüşmektedir. Sonraki aşamada pupa 4-5 gün geçirerek tam bir metamorfoza uğramaktadır. Metamorfoz sırasında larva dokularının birçoğu histolize uğramaktadır. Yetişkin yapıları ise çeşitli imajinal disklerden farklılaşarak oluşmaktadır. Metamorfoz tamamlandığında pupa durumundan sonra yetişkin sinekler çıkmaya başlamaktadır (Şekil 3.9.) (Parvathi ve ark. 2009; Lakhotia ve Ranganath 2021).

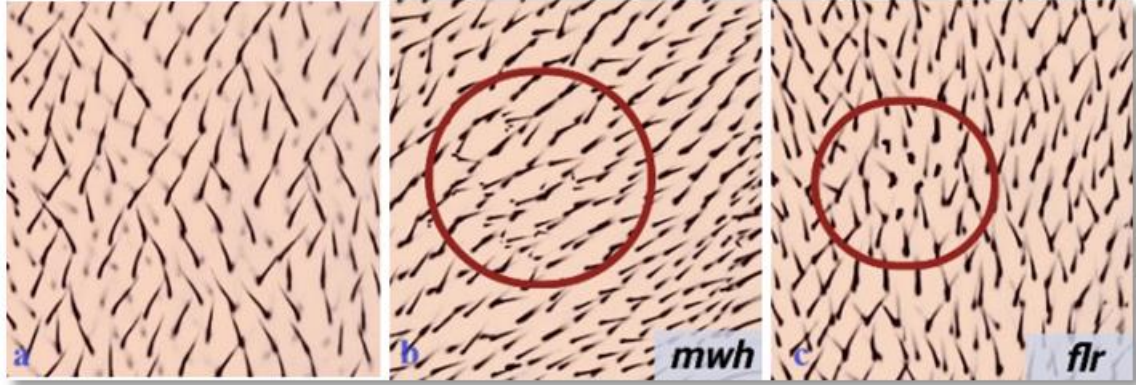


Şekil 3.9. *D. melanogaster*'in larva ve pupaların gelişimsel basamakları ve ergin sinek oluşumu (Lakhotia ve Ranganath 2021)

3.2.7.1. Somatik kanat mutasyonu ve rekombinasyon test yöntemi –SMART

SMART testi uygulanması Graf ve ark. (1984)'nın yöntemine göre uygulanmıştır. *Drosophila* hatlarından multiple wing hair- mwh/mwh (3-0.3) genç erkek bireyleri ile yeterli sayıda birey elde etmek amacıyla daha fazla yumurta verimine sahip olan flare³/In (3LR) TM3, Bd^s (Beaded Serrat) dişileri kullanılmıştır. Serrat kanat fenotipine

sahip *Drosophila* bireylerinde flare işaret geni mevcuttur. Bu bireylerin kanat kıl yapısı normal görünümündedir. Flr³'ün mutant fenotipi kısa, deforme olmuş, şekilsiz ve kalınlaşmış trikomlara yol açmaktadır. Mwh'de ise, tek bir hücreden birden fazla kanat kılı trikomu oluşmaktadır (Şekil 3.10.)



Şekil 3.10. *Drosophila* kanatlarındaki kıl yapıları; a) Normal kılların görünümü b) Mwh'ye ait klonların görünümü c) Flr³'e ait mutant klonların görünümü

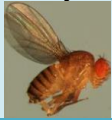
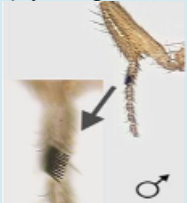
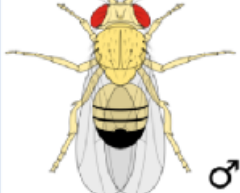
Çaprazlamada genç mwh♂♂ ve flr³♀♀ virgin bireyler kullanılmıştır. Bu ırklara ait stok kültürleri 25±2°C ve ortalama % 60- bağıl nemde 12s karanlık-12 s aydınlık ortamda oluşturulmuştur. Dişi ve erkek bireylerin karakteristik özellikleri Tablo 3.4.'de verilmiştir.

3.2.7.2. Transheterozigot larvaların elde edilmesi

Eşeyssel olgunluğa erişmemiş flr³♀♀ -virgin bireyler yaklaşık 4'er saat aralıklarla eterizasyon yapılarak yeterli sayıda toplama işlemiyle birlikte flr³♂♂ bireylerden ayrılmıştır. Yeterli sayıda genç mwh♂♂ bireyler eterizasyon yapılarak toplanmıştır. Her şişede 40 virgin flr³♀♀ ve 30 mwh♂♂ bireyleri olacak şekilde 2 gün boyunca aynı besiyeri ortamında tutularak çaprazlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen larvaların aynı gelişim süresi evresinde olması için her 8 saat sonunda çaprazlanan sinekler yeni besiyeri ortamına alınmıştır (Şekil 3.11.). Dozlama için yeterli sayıda larvaların elde edilmesine kadar bu süreç devam edilmiştir. Çaprazlama sonucu 72±4 s'in sonunda 3. evre transheterozigot larvalar elde edilmiştir. Deneyler farklı zamanlarda 3 tekrar olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm deneylerde negatif kontrol olarak

ultra distile su, PK’da ise 10 ppm MMS kullanılmıştır. Uygulanan her bir doz grubunda 4’er şişe kullanılmıştır.

Tablo 3.4. *Drosophila melanogaster* dişi ve erkek bireylerin morfolojik karakterleri

Morfolojik Karakterler	Dişi bireyler	Erkek bireyler
Vücut boyutu	%25 daha büyük boyutta 	Daha küçük boyutta 
Abdomen ve Karın üzerindeki şeritler	Uzun, sivri, ince şerit çizgiler ve 7 segmentten oluşmaktadır 	Yuvarlak, uç kısmı daha koyu, nispeten daha kalın çizgiler ve 5 segmentten oluşmaktadır 
Eşeysel durum	Eşey tarağı yok 	Eşey tarağı mevcut 
Görünüm		



Şekil 3.11. a) Virgin flr³♀ ve mwh♂ bireylerin seçilmesi b) Çaprazlama işlemi

3.2.7.3. Metaflumizon için SMART doz gruplarının uygulanması

İnsektisit uygulama dozları 0,5 mL/L, 1 mL/L, 2 mL/L ve 4 mL/L olarak belirlenmiştir. Her bir deney şişesine 2,1 gr DİM ve pestisit kontrol ve uygulama konsantrasyonları için 7 mL olacak şekilde muamele edilmiştir. Hazır mamalar kuruduktan sonra tüm şişeler 72 ± 4 s'in sonunda petri kaplarına aktarılan 3. evre 25 adet transheterozigot larva atılarak doz grupları için toplam 100 adet larva kullanılmıştır. Şişelerin ağzı steril sünger ile kapatılmıştır (Şekil 3.12.). Kontrol grupları ve doz grupları 10 güne kadar gelişen ergin sinekler, normal ve serrat kanat olacak şekilde ayrılarak %70 alkol içerisinde konulup kanat preparasyonu hazırlanan kadar buzdolabında bekletilmiştir.



Şekil 3.12. Mtf SMART çalışması; a, b) Doz gruplarının stok çözeltisinin hazırlanması c, d, e) Hazırlanan çözeltinin Drosophila instant hazır mama içeren şişelere aktarılması f, g) L3-larva seçimi D) Mtf SMART deney düzeneğinin gösterilmesi

3.2.7.4. *L. officinalis* ve *A. eupatoria* bitki ekstraktlarının transheterozigot larvalara uygulanması

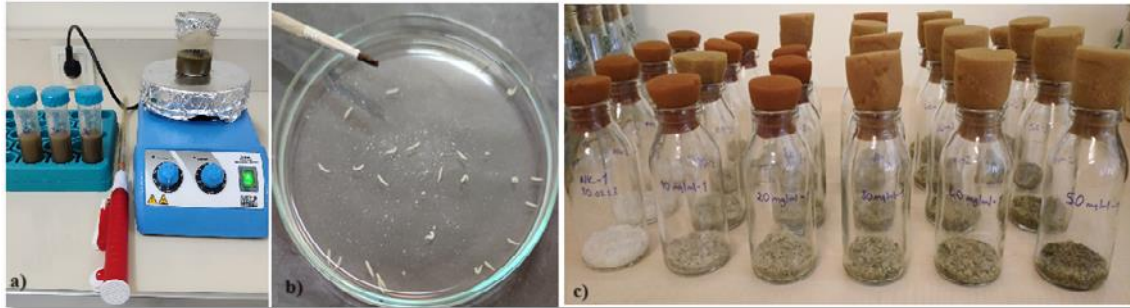
Karayemiş bitkisinin SMART deneyi için kontrol ve doz grupları NK, PK, 1,5 mg/mL, 3 mg/mL, 6 mg/mL ve 12 mg/mL olarak belirlenmiş ve deney düzeneği kurulmuştur. 72 ± 4 s'lik elde edilen transheterozigot larvalar, her bir doz grubuna 100 adet larva olacak şekilde aktarımı gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.13.). Deneyin tamamlanmasının ardından kontrol grupları ve doz gruplarında 10 güne kadar gelişen ergin sinekler, normal ve serrat kanat olacak şekilde ayrılarak %70 alkol içerisine konulup, doz

gruplarına göre etiketlenerek kanat preparasyonu hazırlanana kadar buzdolabında bekletilmiştir.



Şekil 3.13. LO bitkisinin SMART deney düzeneği; a) LO özütünün suda çözülmesi b) Transheterozigot larvaların seçilmesi c) LO bitki ekstresinin doz gruplarına uygulanması

Koyun otu bitkisi için 25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL ve 200 mg/mL şeklinde doz grupları belirlenmiştir. Her bir doz grubuna 100 adet transheterozigot L3 larvalar eklenerek deney düzeneği kurulmuştur (Şekil 3.14.). 10 gün sonra NK, PK ve uygulama konsantrasyonlarında gelişen sinekler, normal ve serrat kanat olarak ayrılıp etiketleme işleminin yapılmasının ardından %70 alkol içerisine alınmış ve kanat preparatı yapıncaya kadar +4°C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.14. AE bitkisinin SMART deney düzeneği; a) AE özütünün suda çözülmesi b) Transheterozigot larvaların seçilmesi c) AE bitki ekstresinin doz gruplarına uygulanması

3.2.7.5. İnsektisit ve bitki ekstrelerin birlikte *Drosophila* transheterozigot larvalara uygulanması

Deney süresince uygulanan yöntem basamakları aşağıda listelenmiştir:

- Çaprazlama ($mwh^{\delta\delta}$ ve flr^3) sonucu elde edilen transheterozigot larvalar hazır hale getirilmiştir.
- Deney süresi boyunca NK için ultra distile su kullanılmıştır.

- PK için 10 ppm MMS kullanılmıştır.
- Her bir doz grubu için 4 adet şişe kullanılmış ve her bir şişeye 25 adet larva olmak üzere kontrol ve doz gruplarına toplam 100 adet larva aktarılmıştır.
- Deneyinin ilk aşamasında LO bitki özütü ile Mtf insektisitinin birlikte karışımı gerçekleştirilmiştir.
- SMART deneyinde pestisitinin 2 mL/L konsantrasyonu deney boyunca kullanılmıştır.
- LO bitkisinin özütü distile suda çözülerek 1,5 mg/mL, 3 mg/mL ve 6 mg/mL doz grupları çözeltileri hazırlanmıştır.
- İlk olarak tüplere Mtf'nin 2 mL/L stok çözeltisinden 7 mL aktarılmıştır.
- İlk aşamada karayemiş bitkisinin hazırlanan çözeltilerinden insektisit içeren tüplerin her birinin üzerine doz gruplarına göre 21 mL bitki özütü çözeltileri eklenerek toplamda 28 mL karışım deney tüpleri hazırlanmıştır.
- Her şişeye 2,1 gr DİM tartıldı ve üzerine etiketleme yapıldıktan sonra doz gruplarına uygun olarak 7 mL hazırlanan çözeltilerden eklenmiştir.
- Mamalar kuruduktan sonra her bir şişeye 25 adet transheterozigot L3 larvalar eklenerek Mtf+LO ekstresi SMART deneyi tamamlanmış oldu.
- 9-10 güne kadar gelişimleri tamamlanan ergin sinekler normal ve serrat kanat olmak üzere ayrılarak kanat preparatı yapıncaya kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.
- İkinci deney aşamasında ise; koyun otu bitkisinin özütü suda çözülerek 25 mg/mL, 50 mg/mL ve 100 mg/mL doz grupları çözeltileri hazırlanmıştır.
- İnsektisitinin 2 mL/L stok çözeltisinden tüplere 7 mL aktarılmıştır.
- Tüplerin üzerine hazırlanan bitki özütü çözeltisinden doz gruplarına göre 21 mL eklenerek toplamda 28 mL karışım deney tüpleri hazırlanmıştır.
- DİM içeren şişelerin üzerine etiketleme işlemi yapıldıktan sonra her şişeye doz gruplarına uygun olarak 7 mL hazırlanan karışım çözeltisinden eklenmiştir.
- Mamalar kuruduktan sonra her bir doz grubuna toplam 100 adet transheterozigot L3 larva olacak şekilde eklenerek Mtf+AE ekstresi SMART deneyi tamamlanmış oldu.

- Deneyin tamamlanmasının ardından 10 gün sonra gelişen ergin sinekler, doz gruplarına göre normal ve serrat kanat olarak ayrıldı ve kanat preparasyonu aşamasına kadar +4°C’de saklanmıştır.

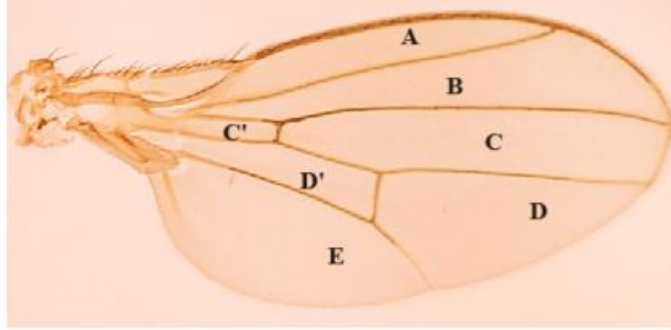
3.2.7.6. SMART- kanat preparatların hazırlanması ve mutant klonların tespit edilmesi

% 70 alkolde bekleyen sinekler, insektisit doz gruplarına göre stereo mikroskop altında fırça yardımıyla kuyucuklu plakalar içerisine konulmuştur. Ardından ventral konuma getirilen sinekler thorax kısmından pens yardımıyla bastırılarak kanatların açılması sağlanmıştır. Hassas bıçak yardımıyla ayrılan kanatlar kuyucuğun kenarına çekilerek kurumaya sağlanmıştır. Lam üzerine faure solüsyonu damlatılıp üzerine kuruyan kanatlar, çiftler yan yana olacak şekilde dikkatli bir şekilde konularak yapışması sağlanmıştır. Toplamda her bir doz için 40 çift kanat yapıştırılarak 80 kanat elde edilmiştir. Bu işlem, bitki ekstresi ve insektisit+bitki ekstresinin karışımı uygulamasındaki tüm gruplar için tekrarlanarak SMART deneyleri için 80 adet kanatlar elde edilinceye kadar devam edilmiştir.

Lamlar 2 gün boyunca petri içerisinde kurumaya bırakılmıştır. Kuruduktan sonra kanatların üzerine tekrar faure solüsyonu damlatılarak üzerine lamel kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar kurutma kâğıdı ile kapatılmış ve üzerine ağırlık konulup 1 gün bekletildikten sonra kanatların iyice yapışması sağlanmıştır. Lamin kenarlarından taşan faure solüsyonların fazlası su ya da alkolle silinerek temizlenmiştir. Hazırlanan preparatlar mikroskopta sayılmak üzere preparat kutularına yerleştirilip inceleninceye kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Kanatların dorsal ve ventral yüzeylerindeki mevcut trikomları görebilmek için mikroskobun ince ayarıyla oynanarak mutant klonların tespit edilmesi sağlanmış ve klonlar sektörlerin konumlarına göre not edilmiştir. Hazırlanan kanat preparatları A, B, C, C’, D, D’ ve E sektörüne ayrılarak mutant klonlar ışık mikroskobunda 10x40 büyütmede analiz edilmiştir. Her uygulama için (insektisit+bitki özütleri ve bunların

birlikte uygulanması) 40 çift kanat incelenmiştir (Şekil 3.15.). SMART uygulamalarındaki deneysel aşamalar şekil 3.16.’da özetlenmiştir.



Şekil 3.15. *D. melanogaster* normal kanat fenotipine ait sektörlerin gösterimi [Oriijinal]

Mutan klonların sınıflandırılması ise şu şekildedir:

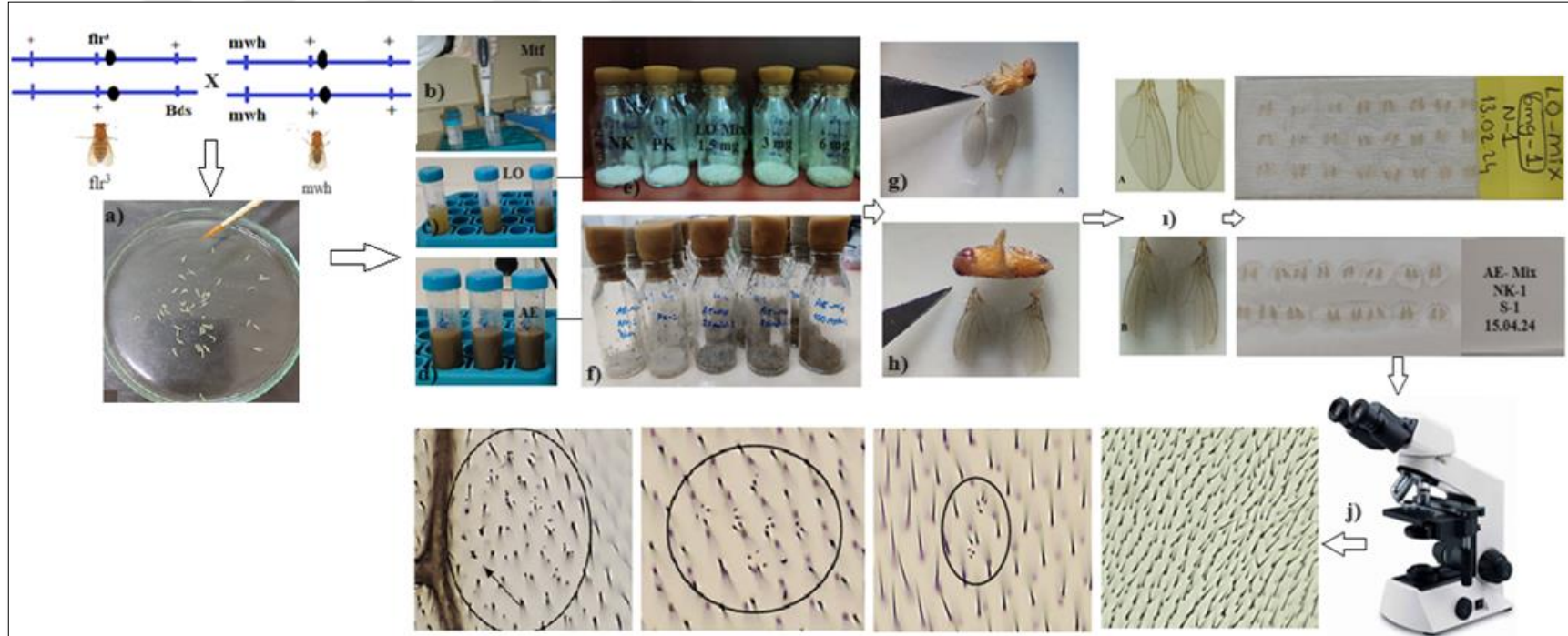
Küçük tek tip mwh klonlar: 1 ya da 2 tane mwh klonu mevcuttur.

Büyük tek tip mwh klonlar: 3 ve 3’ten fazla mwh klonu içerir.

Büyük tek tip flr³ klonlar: 4 ve 4’ten fazla klon varsa flr³-büyük tek tip klon olarak adlandırılır.

İkiz klonlar: Mwh ve flr³’ye ait klonların bir arada bulunduğu durumdur. Preparatlardaki mutant klonlar tespit edilirken aşağıdaki durumlara dikkat edilir:

- İkiz klonlar flr³-sentromer arasındaki rekombinasyon sonucu oluşurken, küçük veya büyük tek tip klonlar nokta mutasyonu, mitotik rekombinasyon, delesyon ya da ayrılmama sonucu oluşmaktadır.
- İki klon arasında 3 ya da daha fazla trikomun bulunması halinde klonlar ayrı ayrı değerlendirilerek iki klon şeklinde not edilir,
- Bazen hücrelerde bir kökten iki trikomun çıktığı durumlar da olabilmektedir. Eğer bu ikili trikomlar klon içerisinde ise diğer mutant klonlara dâhil edilir, değilse tek başına bir anlam ifade etmez ve değerlendirilmeye alınmaz.



Şekil 3.16. SMART testinde insektisit+bitki ekstrelerin birlikte uygulanmasının şematik olarak gösterimi; a)Çaprazlama sonucu elde edilen transheterozigot larvaların seçimi b, c, d) İnsektisit ve bitki ekstre çözeltilerin hazırlanması e, f) Karayemiş ve koyun otu bitki ekstrlerinin insektisitle birlikte larvalara uygulanması g, h) Normal ve serrat kanatların kesim aşaması ı) Normal ve serrat kanatların yapıştırılma aşaması j)Mutant klonların tespit edilmesi

3.2.8. İstatistik verilerin değerlendirilmesi

Bu çalışmada, Allium testi sonuçları IBM Statistics SPSS26.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Normal ve homojen dağılım gösteren verilerin değerlendirilmesinde “One Way ANOVA testi”, gruplar arasındaki farklılıkları ise Çoklu Karşılaştırma testlerinden “Duncan testi” kullanılmıştır. Normal ve homojen dağılım göstermeyen verilerin değerlendirilmesinde ise, “Two-Independent-Sample T Test” ve anlamlı farklılığın hangi konsantrasyonlar arasında olduğunu belirlemek için ise “Mann-Whitney U” testi kullanılmıştır. Tablolar, Microsoft Windows Office Excel programında oluşturulmuştur.

Mitotik İndeks = (Bölünen Hücre Sayısı) / (Toplam Hücre Sayısı) x 100 (Sehgal ve ark. 2006) formülü ile belirlenmiştir.

Faz indeksleri; *Ifaz* = (Faza ait hücre sayısı) / (toplam bölünen hücre sayısı) * 100 (Ivanova ve ark. 2003) formülü kullanılarak değerlendirilmiştir.

Genotoksisite indeksi(%) = $100 \times (\text{Gözlemlenen her türlü anormallik sayısı}) / (\text{toplam bölünen hücre sayısı})$ (Oney-Birol 2019) formülleri ile belirlenmiştir.

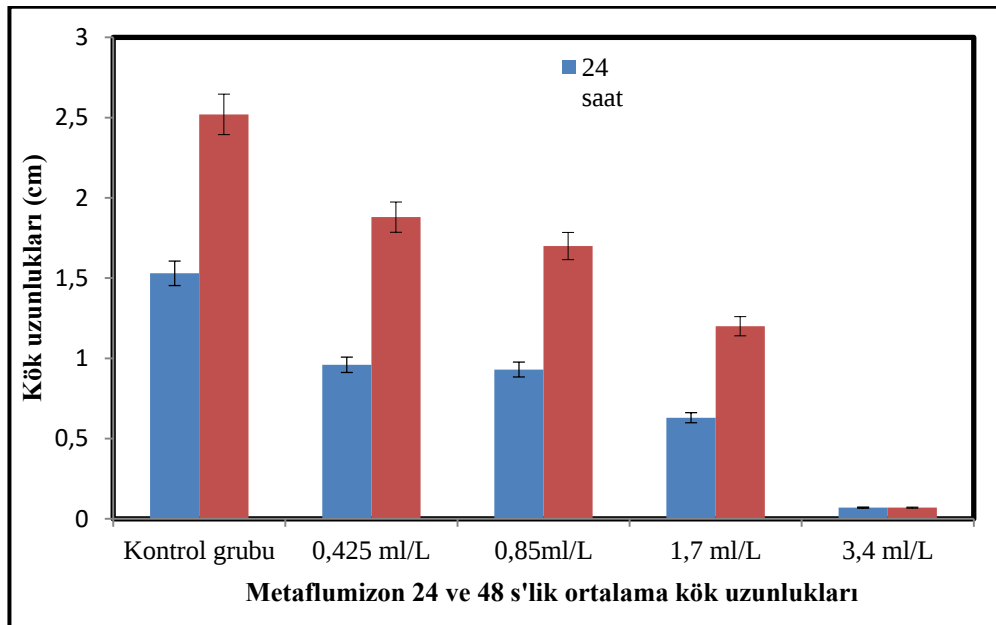
SMART testinden elde edilen klon sayısı verileri, Kastenbaum ve Bowman (1970) binomial koşullu test yöntemi ve χ^2 testi ile değerlendirilmiştir. Klon indüksiyon frekans değerlerinin negatif (-), pozitif (+), zayıf pozitif (w) ve ihmal edilebilir farklılık (i) değerlendirmeleri Frei ve Würgler (1988) çoklu karar metoduna göre belirlenmiştir. Ayrıca SMART testinden elde edilen verilerin değerlendirilmesinde “Kolmogorov-smirnov testi” ve Mann Whitney U” testi kullanılmıştır.

4. BÖLÜM

BULGULAR

4.1. Metaflumizon'a maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki etkilerinin değerlendirilmesi

Metaflumizon uygulamasının ortalama kök uzunluğuna etkisi Şekil 4.1.'de gösterilmiştir. Pestisit in soğan kök uçlarına verilmesiyle birlikte 24 ve 48 s'lik muamele edilmesi sonucu büyüme kontrolü ile karşılaştırıldığında dozların artmasına bağlı olarak soğan köklerinin uzaması azalmış ve en yüksek doz grubundaki soğan kök uçlarında yapışmalar gözlenmiştir. 24 saat boyunca Mtf'ye maruz kalan *A. cepa* kök ucu uzamalarında negatif kontrolde $1,53 \pm 0,11$ cm, 0,425 mL/L deney grubunda $0,96 \pm 0,13$, 0,85 mL/L deney grubunda $0,93 \pm 0,09$ cm, 1,7 mL/L doz grubunda $0,63 \pm 0,09$ cm ve 3,4 mL/L deney grubunda $0,07 \pm 0,01$ cm olarak ölçülmüştür. 48 saatlik maruziyet sonucunda negatif kontrol grubunda $2,52 \pm 0,23$ cm iken en yüksek doz grubu olan 3,400 mL/L'de ise $0,07 \pm 0,03$ cm olarak ölçülmüştür.

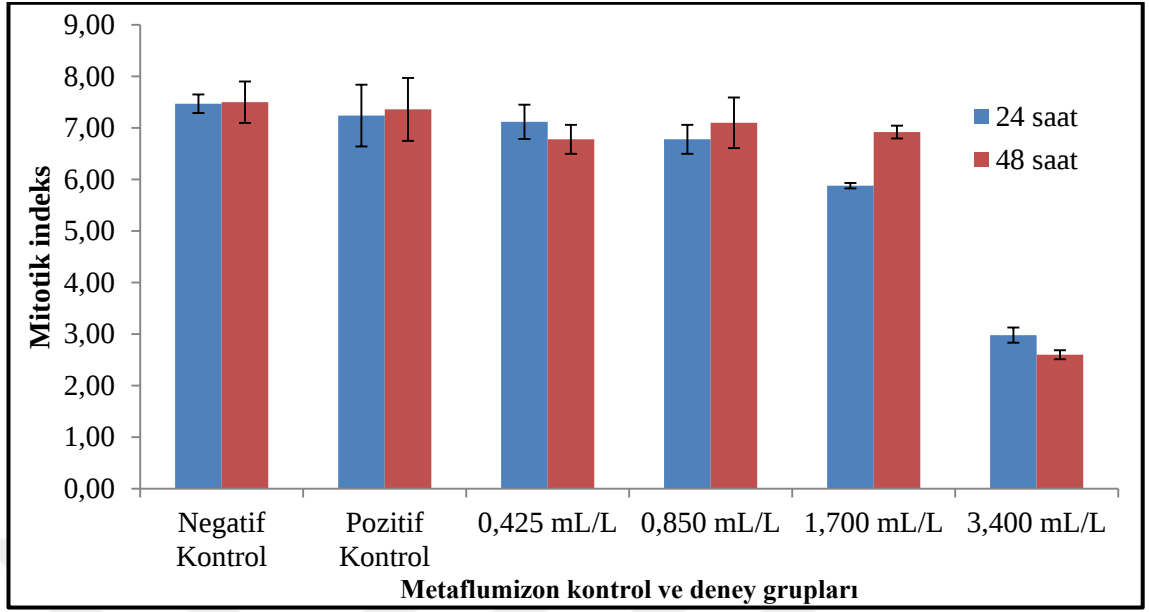


Şekil 4.1. Metaflumizon'un kontrol ve deney gruplarındaki 24 ve 48 s'lik ortalama kök uzunlukları

24 saat boyunca Metaflumizon'a maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde Mitotik indeks değeri negatif kontrol grubunda $7,47 \pm 0,18$ iken, 0,850 mL/L deney grubunda $6,78 \pm 0,28$, 1,700 mL/L deney grubunda $5,88 \pm 0,05$, 3,400 mL/L deney grubunda ise $2,98 \pm 0,15$ olarak belirlenmiştir. 48 saatlik maruziyet sonucunda negatif kontrol grubunda $7,50 \pm 0,40$ iken, 3,400 mL/L deney grubunda ise $2,60 \pm 0,09$ olarak belirlenmiş olup elde edilen mitotik indeks verilerinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda negatif kontrole göre 3,400 mL/L konsantrasyonunda mitotik indeksteki azalma anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon'a 24 ve 48 saat süresince maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks verileri Tablo 4.1. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir.

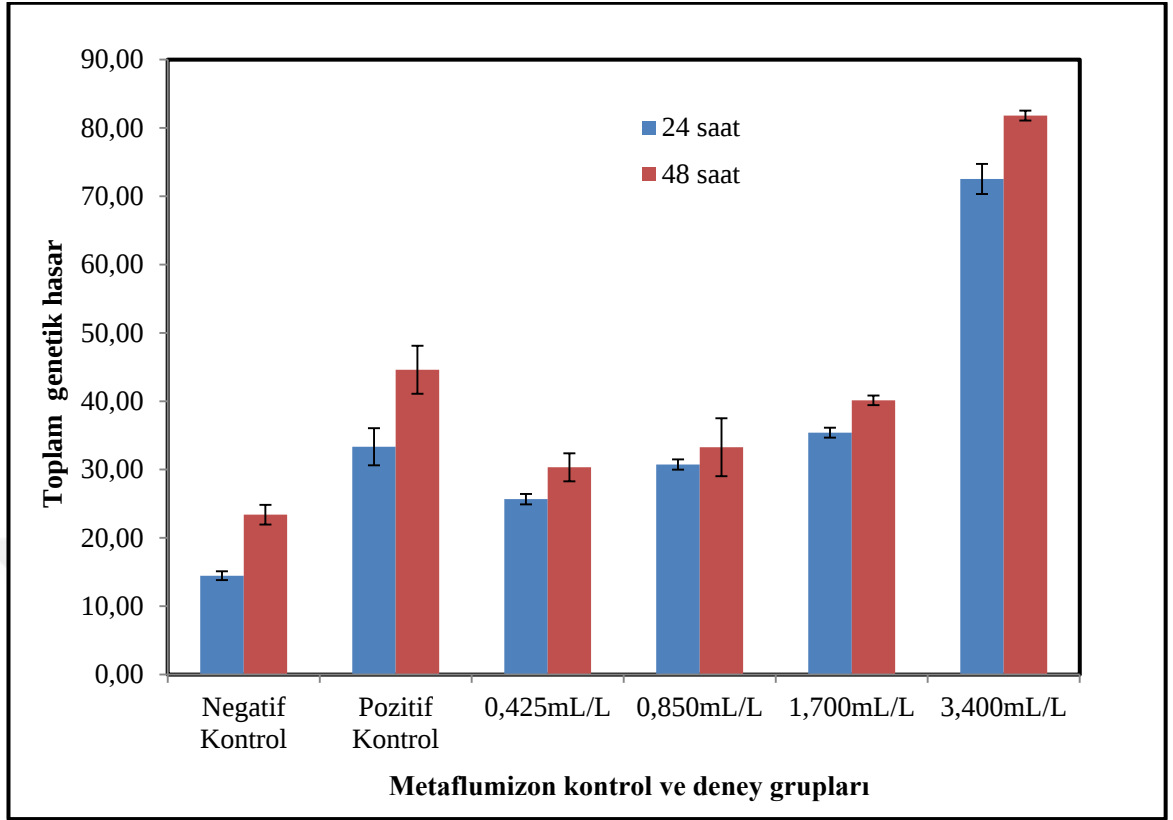
Tablo 4.1. Farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon'a maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) faz indeks ($\pm ss$) ve mitotik indeks (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

Zaman	Gruplar	Bölünme Evreleri Faz İndeksi (%) ($\pm SS$)				Mitotik İndeks ($\pm SS$)
		Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	
24 Saat	Negatif Kontrol	$25,33 \pm 0,69$	$27,57 \pm 1,85$	$31,40 \pm 1,50$	$15,70 \pm 1,28$	$7,47 \pm 0,18^a$
	Pozitif Kontrol	$23,43 \pm 2,70$	$29,89 \pm 3,25$	$32,40 \pm 0,77$	$14,27 \pm 3,75$	$7,24 \pm 0,60^{a,b}$
	0,425 mL/L	$17,59 \pm 1,43$	$32,46 \pm 3,76$	$32,56 \pm 4,39$	$17,40 \pm 1,26$	$7,12 \pm 0,33^{a,b}$
	0,850 mL/L	$16,40 \pm 2,57$	$36,54 \pm 1,95$	$31,34 \pm 4,02$	$15,72 \pm 2,34$	$6,78 \pm 0,28^b$
	1,700 mL/L	$14,29 \pm 1,17$	$34,81 \pm 1,50$	$35,49 \pm 2,00$	$15,42 \pm 1,81$	$5,88 \pm 0,05^c$
	3,400 mL/L	$20,53 \pm 2,19$	$47,32 \pm 6,31$	$18,75 \pm 3,50$	$13,39 \pm 6,08$	$2,98 \pm 0,15^d$
48 Saat	Negatif Kontrol	$17,51 \pm 0,65$	$33,78 \pm 2,24$	$33,78 \pm 1,96$	$14,93 \pm 1,17$	$7,50 \pm 0,40^a$
	Pozitif Kontrol	$18,21 \pm 1,71$	$31,79 \pm 2,26$	$35,96 \pm 2,68$	$14,04 \pm 1,97$	$7,36 \pm 0,61^a$
	0,425 mL/L	$15,15 \pm 2,03$	$35,71 \pm 2,04$	$34,65 \pm 3,31$	$14,48 \pm 0,72$	$6,78 \pm 0,28^a$
	0,850 mL/L	$13,70 \pm 1,17$	$33,40 \pm 1,17$	$37,05 \pm 0,59$	$15,85 \pm 2,11$	$7,10 \pm 0,49^a$
	1,700 mL/L	$14,16 \pm 1,00$	$33,24 \pm 1,11$	$35,65 \pm 2,70$	$16,95 \pm 1,50$	$6,92 \pm 0,12^a$
	3,400 mL/L	$29,74 \pm 2,16$	$37,70 \pm 8,20$	$21,79 \pm 4,78$	$10,77 \pm 2,05$	$2,60 \pm 0,09^b$



Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon'un 24 ve 48 saat süresince maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks verileri

24 saat Metaflumizon'a maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) MN frekansı negatif kontrol grubunda genetik hasar $0,13 \pm 0,23$ iken 3,400 mL/L konsantrasyonda $2,33 \pm 1,15$ olduğu görülmüştür. MN frekansındaki bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 24 saatlik maruziyet sonrası ise negatif kontrol grubunda toplam genetik hasar $\%14,47 \pm 0,64$ iken konsantrasyon artışına bağlı olarak hasar miktarı da artmış ve 0,425 mL/L, 0,850 mL/L, 1,700 mL/L, 3,400 mL/L konsantrasyonlarında sırasıyla $25,67 \pm 0,76$, $30,73 \pm 0,76$, $35,40 \pm 0,72$ ve $72,53 \pm 2,20$ olarak belirlenmiştir. Bu artışın hem negatif kontrole göre hem de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$). 48 saatlik maruziyet sonrasında negatif kontrol grubunda MN miktarı $\% 0,00 \pm 0,00$ iken 1,700 mL/L ve 3,400 mL/L konsantrasyonlarda sırasıyla $\%1,27 \pm 0,46$ ve $1,73 \pm 1,7$ olarak belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Toplam $\%$ genetik hasar negatif kontrol grubunda $23,40 \pm 1,44$ iken, 0,850 mL/L, 1,700 mL/L ve 3,400 mL/L konsantrasyonlarında sırasıyla $30,33 \pm 2,05$, $33,27 \pm 4,24$, $40,13 \pm 0,70$ ve $81,8 \pm 0,72$ olarak gözlenmiş olup, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Toplam genetik hasar verileri Şekil 4.3.ve Tablo 4.2.'de verilmiştir.



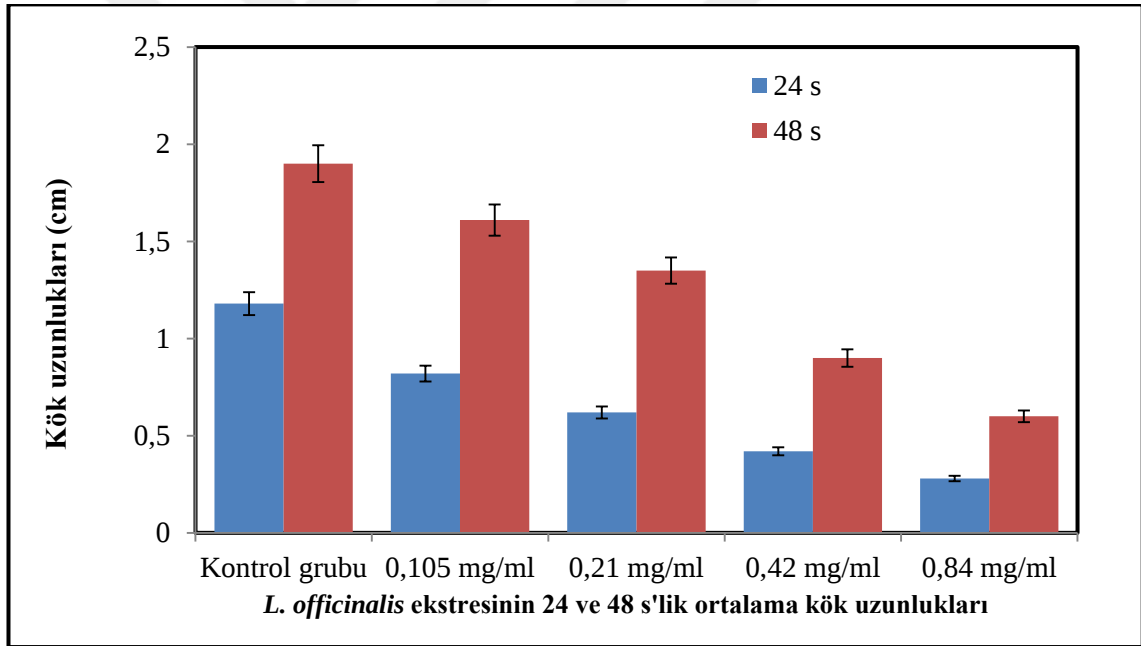
Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon'un 24 ve 48 saat süresince maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki toplam genetik hasar verileri

Tablo 4.2. Farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon’a maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) genetik hasar (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir, MN: Mikronükleus)

Zaman		<u>Bozulmuş Profaz</u>	<u>Düzensizlik</u>	<u>Yapışıklık</u>	<u>C-mitoz</u>	<u>Vagrant</u>	<u>Laggard</u>	<u>Kutup Kayması</u>	<u>Köprü</u>	<u>Fragment</u>	<u>Multipolarite</u>	<u>MN</u>	<u>% Toplam hasar</u>
24 saat	Negatif Kontrol	1,40±0,20	3,93±0,95	0,53±0,61	0,00±0,00	1,93±0,42	0,07±0,12	2,00±0,53	4,07±0,50	0,00±0,00	0,40±0,35	0,13±0,23 ^a	14,47±0,64 ^a
	Pozitif Kontrol	3,87±0,50	8,07±1,53	1,67±1,10	2,53±0,50	2,47±0,70	0,93±0,12	6,40±0,60	5,13±1,03	0,80±0,60	0,73±0,81	0,73±0,64 ^a	33,33±2,72 ^{b,d}
	0,425 mL/L	2,20±0,20	6,93±0,81	1,07±0,81	1,47±0,64	2,53±0,46	0,13±0,12	6,33±0,70	3,53±0,12	0,07±0,12	1,00±0,20	0,40±0,20 ^a	25,67±0,76 ^c
	0,850 mL/L	2,67±0,70	9,40±0,72	1,80±1,11	2,60±0,87	3,13±0,58	0,20±0,00	6,13±0,83	3,87±0,95	0,13±0,12	0,27±0,31	0,53±0,12 ^a	30,73±0,76 ^b
	1,700 mL/L	2,73±0,76	8,27±0,31	1,20±0,53	2,80±0,72	4,47±0,90	0,13±0,12	8,67±1,53	5,80±0,72	0,20±0,20	0,40±0,53	0,60±0,20 ^a	35,40±0,72 ^d
	3,400 mL/L	7,20±1,22	22,40±1,83	16,47±0,64	9,27±2,04	1,73±1,67	0,07±0,12	8,13±3,06	4,87±2,47	0,13±0,12	0,00±0,00	2,33±1,15 ^b	72,53±2,20 ^e
48 saat	Negatif Kontrol	1,67±0,31	5,20±0,92	0,47±0,64	0,67±0,61	3,60±0,20	0,13±0,12	7,47±1,81	4,20±0,20	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ^a	23,40±1,44 ^a
	Pozitif Kontrol	4,80±1,40	6,73±1,30	2,00±0,35	2,87±0,70	4,33±0,42	2,20±0,53	8,07±0,95	6,93±0,31	1,67±0,23	2,00±0,53	3,00±0,53 ^c	44,60±3,52 ^c
	0,425 mL/L	2,33±0,50	5,93±0,42	1,67±0,61	2,13±0,12	4,13±0,95	0,40±0,20	7,20±0,53	4,40±0,60	0,07±0,12	1,33±1,10	0,73±0,76 ^{a,b}	30,33±2,05 ^b
	0,850 mL/L	1,67±0,12	6,80±0,92	1,87±0,70	2,33±1,36	4,53±0,58	0,33±0,23	8,00±0,72	6,13±0,92	0,20±0,20	0,80±0,53	0,60±0,40 ^{a,b}	33,27±4,24 ^b
	1,700 mL/L	4,60±0,87	7,07±0,42	2,27±0,99	2,00±0,20	5,07±0,61	0,53±0,58	9,47±1,30	6,13±0,61	0,47±0,23	1,13±0,12	1,27±0,46 ^{a,b}	40,13±0,70 ^c
	3,400 mL/L	19,60±0,53	20,26±2,01	19,46±1,47	8,26±0,61	1,8±0,34	0±0	7,13±1,22	3,46±0,64	0,06±0,11	0±0	1,73±1,7 ^{b,c}	81,8±0,72 ^d

4.2. *L. officinalis* ekstresinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki etkilerinin değerlendirilmesi

Karayemiş bitki ekstresinin soğan kök uçlarına uygulanmasının ortalama kök uzunluğuna etkisi Şekil 4.4.'te verilmiştir. 0,105 mg/mL, 0,210 mg/mL, 0,420 mg/mL ve 0,840 mg/mL *L. officinalis* ekstresine maruz bırakılan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde ortalama kök uzamaları 24 saat boyunca maruziyet sonucunda negatif kontrol grubunda $1,18 \pm 0,24$ cm iken, konsantrasyon artışına bağlı olarak sırasıyla $0,82 \pm 0,36$, $0,62 \pm 0,03$, $0,42 \pm 0,105$ ve $0,28 \pm 0,03$ cm olarak ölçülmüştür. 48 saatlik maruziyet sonucunda negatif kontrol grubunda $1,9 \pm 0,17$ cm iken en yüksek doz grubu olan 0,840 mg/mL'de ise $0,6 \pm 0,13$ cm olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.4. *L. officinalis* ekstresinin 24 ve 48 s'lik maruziyeti sonucu ortalama kök uzunlukları

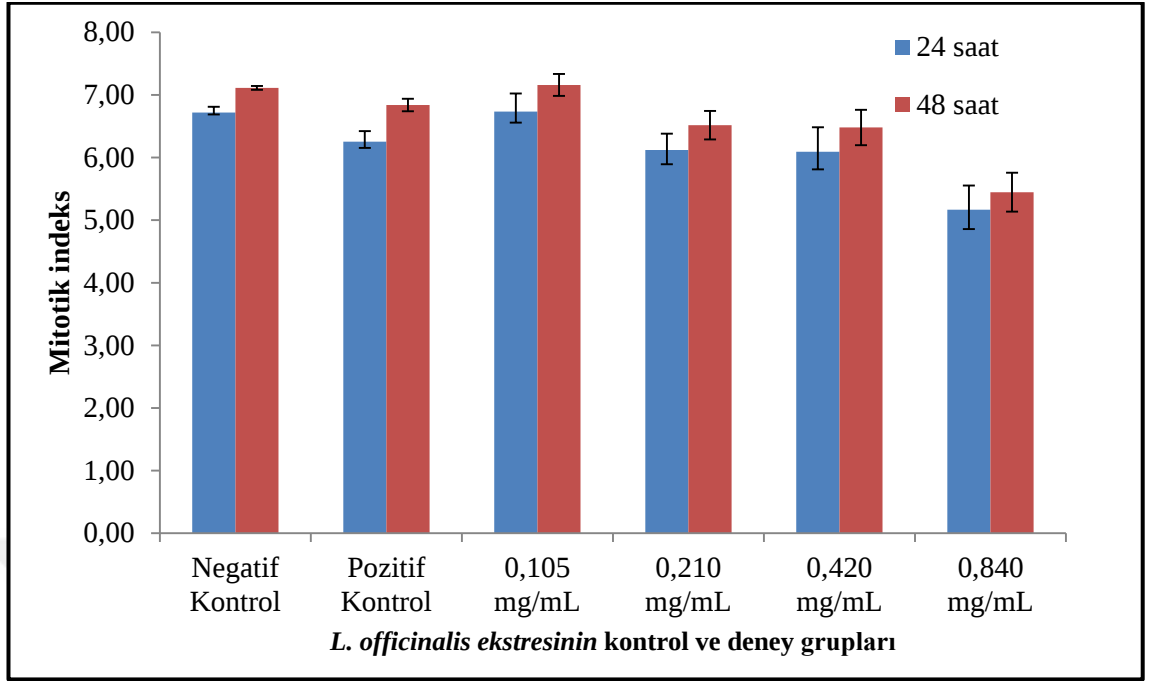
24 saat boyunca *L. officinalis* ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde Mitotik indeks değeri negatif kontrol grubunda $6,72 \pm 0,09$ iken, 0,420 mg/mL konsantrasyon grubunda $6,09 \pm 0,39$, 0,840 mg/mL konsantrasyon grubunda $5,17 \pm 0,39$ olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonucunda ise negatif kontrol grubunda $7,11 \pm 0,03$ iken, 0,420 mg/mL konsantrasyon grubunda $6,48 \pm 0,28$, 0,840 mg/mL konsantrasyon grubunda $5,45 \pm 0,31$ olarak belirlenmiştir. Mitotik indeksteki bu

konsantrasyon artışına bağlı azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.3., Şekil 4.5.)

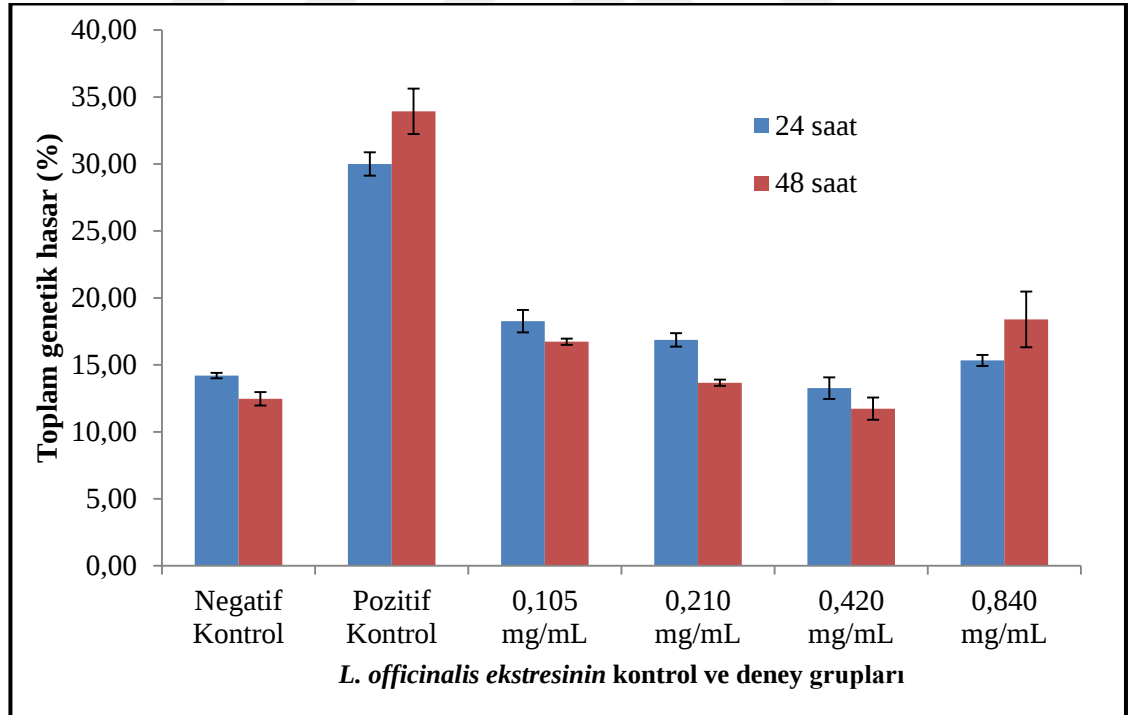
Tablo 4.3. Farklı konsantrasyonlarda *L. officinalis* ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) faz indeks ($\pm ss$) ve mitotik indeks (harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

Zaman	Gruplar	Bölünme Evreleri Faz İndeksi (%) ($\pm SS$)				Mitotik indeks ($\pm SS$)
		Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	
24 saat	Negatif Kontrol	19,55 $\pm$ 3,73	34,05 $\pm$ 3,42	28,37 $\pm$ 0,26	18,03 $\pm$ 2,88	6,72 $\pm$ 0,09 ^a
	Pozitif Kontrol	18,67 $\pm$ 2,13	36,29 $\pm$ 3,87	28,26 $\pm$ 0,74	16,79 $\pm$ 3,21	6,25 $\pm$ 0,17 ^{a,b}
	0,105 mg/mL	16,68 $\pm$ 2,41	32,36 $\pm$ 3,33	32,20 $\pm$ 1,36	18,76 $\pm$ 2,27	6,73 $\pm$ 0,29 ^a
	0,210 mg/mL	14,34 $\pm$ 1,70	35,32 $\pm$ 1,88	31,15 $\pm$ 1,25	18,73 $\pm$ 1,56	6,12 $\pm$ 0,26 ^b
	0,420 mg/mL	16,40 $\pm$ 3,18	39,67 $\pm$ 2,27	27,35 $\pm$ 2,95	16,58 $\pm$ 4,34	6,09 $\pm$ 0,39 ^b
	0,840 mg/mL	20,80 $\pm$ 3,20	40,93 $\pm$ 2,10	22,73 $\pm$ 2,31	15,53 $\pm$ 1,09	5,17 $\pm$ 0,39 ^c
48 saat	Negatif Kontrol	17,61 $\pm$ 4,12	31,30 $\pm$ 3,06	28,12 $\pm$ 0,60	22,97 $\pm$ 2,09	7,11 $\pm$ 0,03 ^{a,b}
	Pozitif Kontrol	20,76 $\pm$ 3,55	32,75 $\pm$ 2,09	30,99 $\pm$ 0,87	15,50 $\pm$ 1,01	6,84 $\pm$ 0,10 ^{a,b,c}
	0,105 mg/mL	16,66 $\pm$ 3,54	34,75 $\pm$ 5,35	27,65 $\pm$ 1,04	20,93 $\pm$ 2,92	7,16 $\pm$ 0,17 ^a
	0,210 mg/mL	14,98 $\pm$ 1,79	33,86 $\pm$ 3,50	27,57 $\pm$ 4,14	25,22 $\pm$ 1,78	6,52 $\pm$ 0,23 ^{b,c}
	0,420 mg/mL	19,06 $\pm$ 0,85	36,88 $\pm$ 1,60	25,48 $\pm$ 1,10	18,58 $\pm$ 1,42	6,48 $\pm$ 0,28 ^c
	0,840 mg/mL	19,74 $\pm$ 2,77	37,06 $\pm$ 2,54	25,37 $\pm$ 2,53	17,84 $\pm$ 2,75	5,45 $\pm$ 0,31 ^d

24 saat *L. officinalis* ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) toplam genetik hasar frekansı negatif kontrol grubunda genetik hasar %14,20 $\pm$ 0,20 iken en yüksek konsantrasyon olan 0,840 mg/mL konsantrasyonda %15,33 $\pm$ 0,42 olduğu görülmüştür. Toplam genetik hasardaki bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p \geq 0,05$). 48 saatlik maruziyet sonucunda ise negatif kontrol grubunda toplam genetik hasar %12,47 $\pm$ 0,50 iken 0,840 mg/mL konsantrasyonlarında %18,40 $\pm$ 2,08 olup, bu artış istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$) (Şekil 4.6., Tablo 4.4.).



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlarda *L. officinalis* ekstresine 24 ve 48 saat süresince maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks



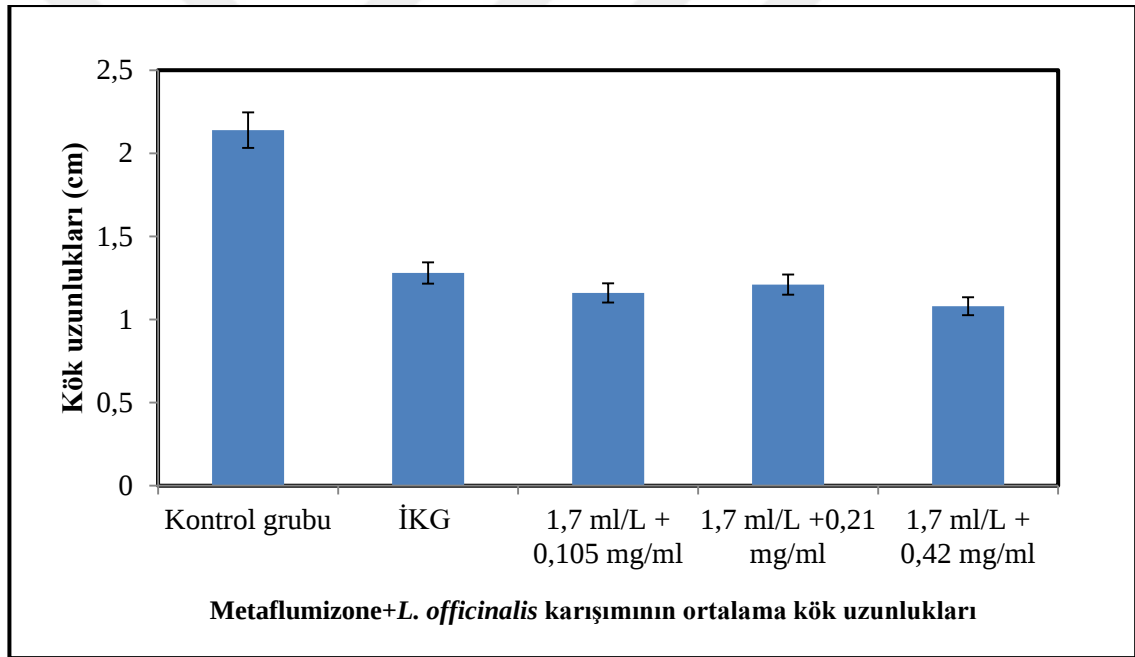
Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda *L. officinalis* ekstresine 24 ve 48 saat süresince maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki toplam genetik hasar

Tablo 4.4. Farklı konsantrasyonlarda *L. officinalis* ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) genetik hasar (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

Zaman		<u>Bozulmuş Profaz</u>	<u>Düzensizlik</u>	<u>Yapışıklık</u>	<u>C-mitoz</u>	<u>Vagrant</u>	<u>Laggard</u>	<u>Kutup Kayması</u>	<u>Köprü</u>	<u>Fragment</u>	<u>Multipolarite</u>	<u>Mikronükleus</u>	<u>Toplam Genetik Hasar</u>
24 s	Negatif Kontrol	1,20±0,20	4,67±0,28	0,60±0,20	0,00±0,00	1,20±0,35	0,40±0,20	3,33±0,23	2,27±0,42	0,00±0,00	0,47±0,31	0,07±0,12 ^{a,b}	14,20±0,20 ^{a,b}
	Pozitif Kontrol	2,40±0,20	6,53±1,51	2,73±0,31	2,07±0,64	2,00±0,00	1,20±0,35	5,60±0,20	3,93±0,31	0,11±0,12	1,27±0,31	1,80±0,40 ^c	30,00±0,87 ^e
	0,105 mg/mL	1,33±0,23	6,07±1,18	0,40±0,20	0,67±0,50	1,93±0,31	0,20±0,20	3,87±0,31	2,73±0,76	0,00±0,00	0,87±0,12	0,20±0,20 ^{a,b}	18,27±0,83 ^d
	0,210 mg/mL	1,07±0,12	4,93±0,25	0,60±0,20	0,47±0,31	1,40±0,40	0,53±0,50	3,87±0,42	3,00±0,20	0,00±0,00	0,80±0,20	0,20±0,00 ^b	16,87±0,50 ^c
	0,420 mg/mL	0,80±0,35	4,40±0,10	0,07±0,12	0,13±0,23	1,20±0,20	0,07±0,12	3,53±0,42	2,53±0,31	0,00±0,00	0,53±0,12	0,00±0,00 ^a	13,27±0,81 ^a
	0,840 mg/mL	1,27±0,23	4,33±0,20	0,20±0,20	0,53±0,12	1,20±0,20	0,07±0,12	3,80±0,92	3,00±0,20	0,00±0,00	0,53±0,12	0,40±0,20 ^b	15,33±0,42 ^b
48 s	Negatif Kontrol	0,60±0,20	4,00±0,35	0,00±0,00	0,00±0,00	1,07±0,23	0,00±0,00	4,00±0,80	2,60±0,20	0,00±0,00	0,20±0,20	0,00±0,00 ^a	12,47±0,50 ^a
	Pozitif Kontrol	3,73±1,45	7,13±0,39	2,33±0,40	1,20±0,40	1,87±0,12	2,33±0,23	4,80±0,60	4,93±0,61	2,0±0,20	1,60±0,20	2,93±1,94 ^b	33,93±1,70 ^c
	0,105 mg/mL	0,80±0,20	5,27±0,20	0,33±0,23	0,60±0,20	1,60±0,20	0,20±0,20	4,40±0,40	2,93±0,31	0,00±0,00	0,40±0,35	0,20±0,00 ^a	16,73±0,23 ^b
	0,210 mg/mL	0,47±0,31	4,67±0,31	0,13±0,12	0,20±0,20	1,00±0,20	0,07±0,12	4,00±0,20	2,53±0,50	0,00±0,00	0,53±0,31	0,07±0,12 ^a	13,67±0,23 ^a
	0,420 mg/mL	0,60±0,00	4,27±0,03	0,00±0,00	0,00±0,00	0,67±0,70	0,27±0,31	3,47±0,50	2,00±0,20	0,00±0,00	0,40±0,40	0,07±0,12 ^a	11,73±0,83 ^a
	0,840 mg/mL	1,53±0,12	4,60±0,81	1,53±0,31	1,67±0,58	1,07±0,50	0,00±0,00	5,00±1,00	2,13±0,31	0,00±0,00	0,67±0,31	0,20±0,35 ^a	18,40±2,08 ^b

4.3. *L. officinalis* ekstresi ve Metaflumizon'un *A. cepa* kök ucu hücrelerine birlikte etkilerinin değerlendirilmesi

24 saat boyunca 1,7 mL/L Metaflumizon ve 0,105 mg/mL, 0,210 mg/mL, 0,420 mg/mL *L. officinalis* ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde ortalama kök uzamaları Şekil 4.7.'de belirtilmiştir. 48 saat süre sonunda negatif kontrol grubunda ortalama kök uzunluğu $2,14 \pm 0,27$ cm, 1,7 mL/L+105 mg/mL, 1,7 mL/L+0,210 mg/mL ve 1,7 mL/L+0,420 mg/mL Metaflumizon+*L. officinalis* karışımına maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde ortalama kök uzamaları sırasıyla $1,16 \pm 0,13$ cm, $1,21 \pm 0,22$ ve $1,08 \pm 0,21$ cm olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.7. Metaflumizon+*L. officinalis* karışımına maruz kalan uygulama dozlarının ortalama kök uzunlukları

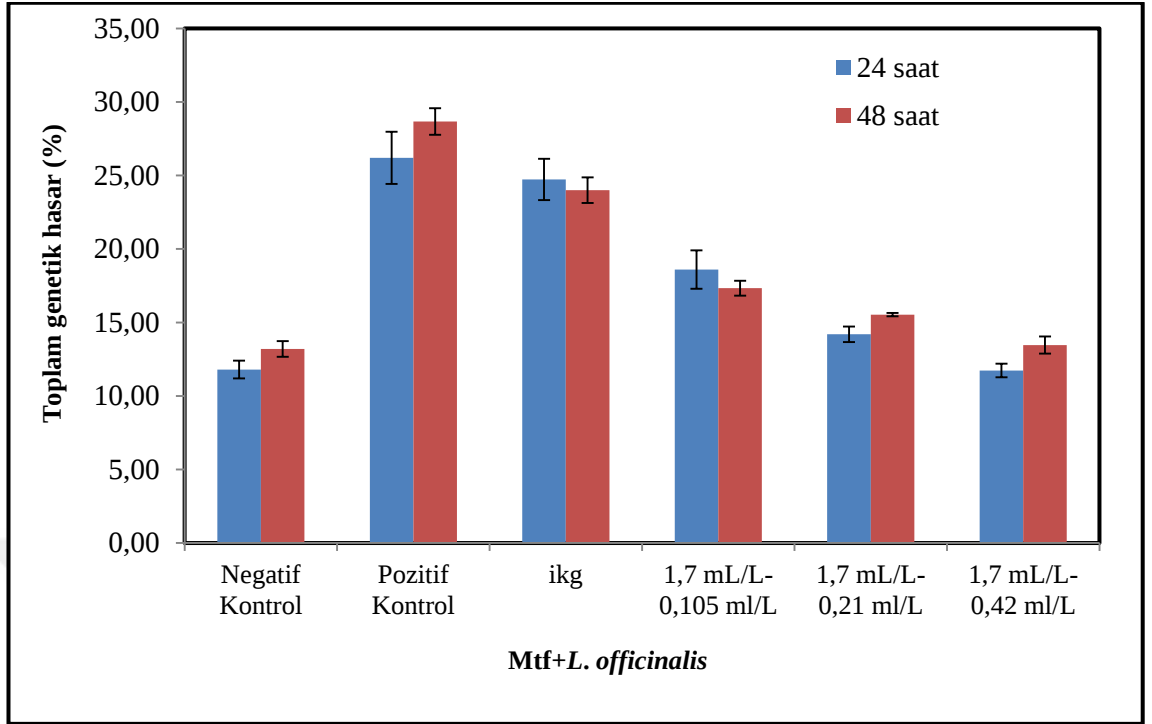
24 saat boyunca İKG (1,7 mL/L Metaflumizon+0,000 mg/mL) ve 1,7 mL/L Metaflumizon+0,105 mg/mL *L. officinalis* ekstresi, 1,7 mL/L Metaflumizon+0,210 mg/mL *L. officinalis* ekstresi, 1,7 mL/L Metaflumizon+0,420 mg/mL *L. officinalis* ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks değeri negatif kontrol grubunda $6,89 \pm 0,05$ iken, İKG'de $6,50 \pm 0,17$, 1,7 mL/L Metaflumizon+0,105 mg/mL *L. officinalis* ekstresi konsantrasyonda $6,37 \pm 0,09$, 1,7 mL/L Metaflumizon+0,21 mg/mL *L. officinalis* konsantrasyon grubunda $6,03 \pm 0,17$, 1,7 mL Metaflumizon+

0,42 mg/mL, *L. officinalis* konsantrasyon grubunda ise $5,80 \pm 0,26$ olarak belirlenmiştir. Mitotik indeksteki bu konsantrasyon artışına bağlı azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.5.).

Tablo 4.5. Mtf+*L. officinalis* karışımına maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) faz indeks ($\pm ss$) ve mitotik indeks (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

Gruplar	Bölünme Evreleri Faz İndeksi (%) ($\pm SS$)				Mitotik indeks ($\pm SS$)
	Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	
Negatif Kontrol	16,16 $\pm$ 2,92	30,67 $\pm$ 2,89	26,05 $\pm$ 4,17	27,11 $\pm$ 1,95	6,89 $\pm$ 0,05 ^d
Pozitif Kontrol	15,13 $\pm$ 2,03	36,54 $\pm$ 7,76	25,78 $\pm$ 2,76	22,55 $\pm$ 3,58	6,81 $\pm$ 0,28 ^{c,d}
İKG	12,32 $\pm$ 1,00	31,60 $\pm$ 1,21	29,72 $\pm$ 1,32	26,36 $\pm$ 1,44	6,50 $\pm$ 0,17 ^{b,c}
1,7 mL/L-0,105 mg/mL	16,01 $\pm$ 0,23	33,58 $\pm$ 2,50	27,18 $\pm$ 2,32	23,23 $\pm$ 1,64	6,37 $\pm$ 0,09 ^b
1,7 mL/L-0,21 mg/mL	14,54 $\pm$ 2,24	29,84 $\pm$ 6,15	26,81 $\pm$ 3,23	28,81 $\pm$ 3,06	6,03 $\pm$ 0,17 ^a
1,7 mL/L-0,42 mg/mL	12,34 $\pm$ 2,93	27,78 $\pm$ 1,27	26,26 $\pm$ 3,50	33,63 $\pm$ 5,21	5,80 $\pm$ 0,26 ^a

24 saat boyunca negatif kontrol, İKG (1,7 mL/L Metaflumizon+0,000 mg/mL *L. officinalis* ekstresi) ve 1,7 mL/L Metaflumizon+0,105 mg/mL *L. officinalis* ekstresi, 1,7 mL/L Metaflumizon+0,210 mg/mL *L. officinalis* ekstresi, 1,7 mL/L Metaflumizon+0,420 mg/mL *L. officinalis* ekstresi maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde toplam genetik hasar sırasıyla $11,80 \pm 0,60$, $24,73 \pm 1,40$, $18,60 \pm 1,31$, $14,20 \pm 0,53$, $11,73 \pm 0,46$ şeklinde olduğu tespit edilmiş olup, Metaflumizon'un genotoksik etkisine karşı belirlenen konsantrasyonlarda *L. officinalis* ekstresinin genotoksik etkiyi azalttığı ve bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (Şekil 4.8., Tablo 4.6.,) ($p \leq 0,05$).



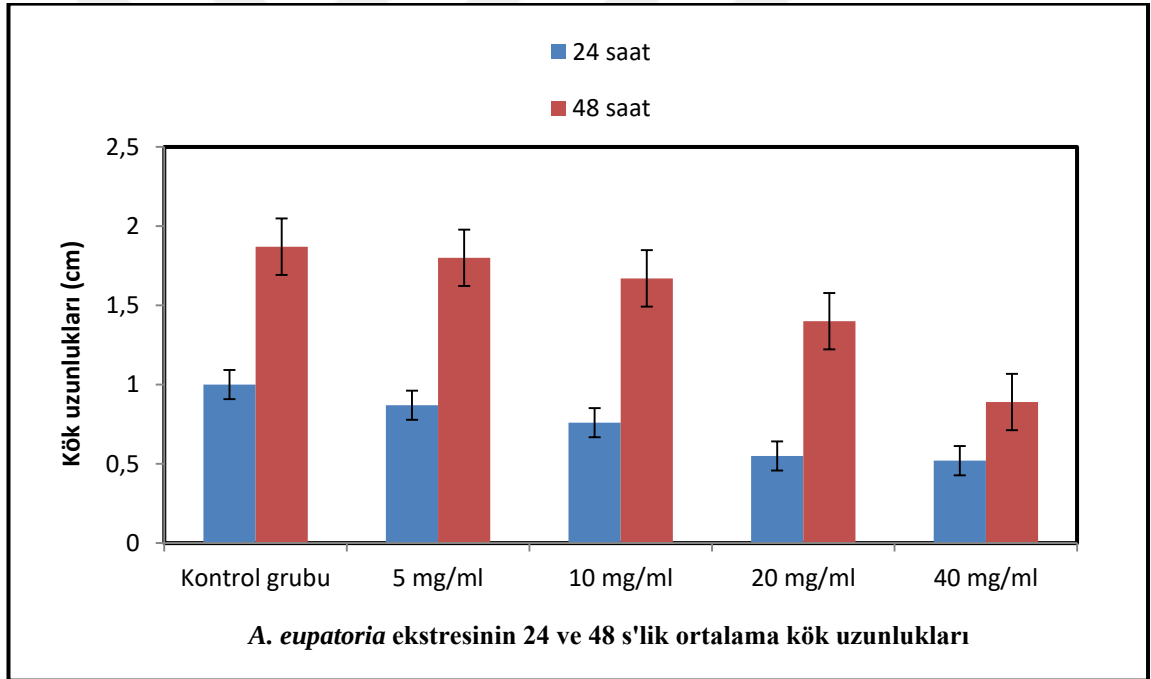
Şekil 4.8. Metaflumizon'un genotoksik etkisine karşı *L. officinalis* ekstresinin *A. cepa* kök ucu hücrelerine birlikte etkilerinin değerlendirilmesi

Tablo 4.6. Mtf+*L. officinalis* karışımına maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) genetik hasar (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

		<u>Bozulmuş Profaz</u>	<u>Düzensizlik</u>	<u>Yapışıklık</u>	<u>C-mitoz</u>	<u>Vagrant</u>	<u>Laggard</u>	<u>Kutup Kayması</u>	<u>Köprü</u>	<u>Fragment</u>	<u>Multipolarite</u>	<u>Mikronükleus</u>	<u>Toplam Genetik Hasar</u>
Mtf+ <i>L. officinalis</i>	Negatif Kontrol	0,40±0,20	4,07±0,42	0,33±0,23	0,00±0,00	1,07±0,31	0,00±0,00	3,60±0,35	2,20±0,35	0,00±0,00	0,13±0,23	0,00±0,00 ^a	11,80±0,60 ^a
	Pozitif Kontrol	2,20±0,20	5,93±1,22	3,33±1,15	1,13±0,12	1,67±0,12	1,13±0,42	5,80±1,20	3,13±0,42	0,07±0,12	1,27±0,58	0,53±0,92 ^a	26,20±1,78 ^d
	İKG	1,33±0,12	7,07±1,33	2,93±0,90	0,27±0,46	1,00±0,60	0,87±0,31	6,27±0,92	3,60±0,40	0,20±0,00	0,93±0,12	0,27±0,31 ^a	24,73±1,40 ^d
	1,7 mL/L- 0,105 mg/mL	0,93±0,31	6,20±0,87	0,73±0,61	0,13±0,12	1,33±0,23	0,40±0,35	5,00±0,53	3,87±1,50	0,00±0,00	0,60±0,20	0,07±0,12 ^a	18,60±1,31 ^c
	1,7 mL/L- 0,21 mg/mL	0,87±0,12	5,33±0,42	0,13±0,23	0,00±0,00	0,80±0,20	0,13±0,12	4,13±0,50	3,33±1,67	0,00±0,00	0,47±0,23	0,00±0,00 ^a	14,20±0,53 ^b
	1,7 mL/L- 0,42 mg/mL	0,33±0,12	4,47±0,12	0,00±0,00	0,00±0,00	0,40±0,20	0,07±0,12	3,80±0,35	2,53±0,23	0,00±0,00	0,13±0,12	0,00±0,00 ^a	11,73±0,46 ^a

4.4. *A. eupatoria* ekstresinin *A. cepa* kök ucu hücrelerine etkilerinin değerlendirilmesi

Koyun otu bitki ekstresinin soğan kök uçlarına uygulanmasının ortalama kök uzunluğuna etkisi Şekil 4.9.'da verilmiştir. 5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, ve 40 mg/mL *A. eupatoria* ekstresine maruz bırakılan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde ortalama kök uzamaları 24 saat boyunca maruziyet sonucunda negatif kontrol grubunda $1,00\pm0,28$ cm iken, konsantrasyon artışına bağlı olarak sırasıyla $0,87\pm0,26$, $0,76\pm0,24$, $0,55\pm0,11$ ve $0,52\pm0,15$ cm olarak ölçülmüştür. 48 saatlik maruziyet sonucunda negatif kontrol grubunda $1,87\pm0,01$ cm iken en yüksek doz grubu olan 40 mg/mL'de ise $0,89\pm0,16$ cm olarak ölçülmüştür.



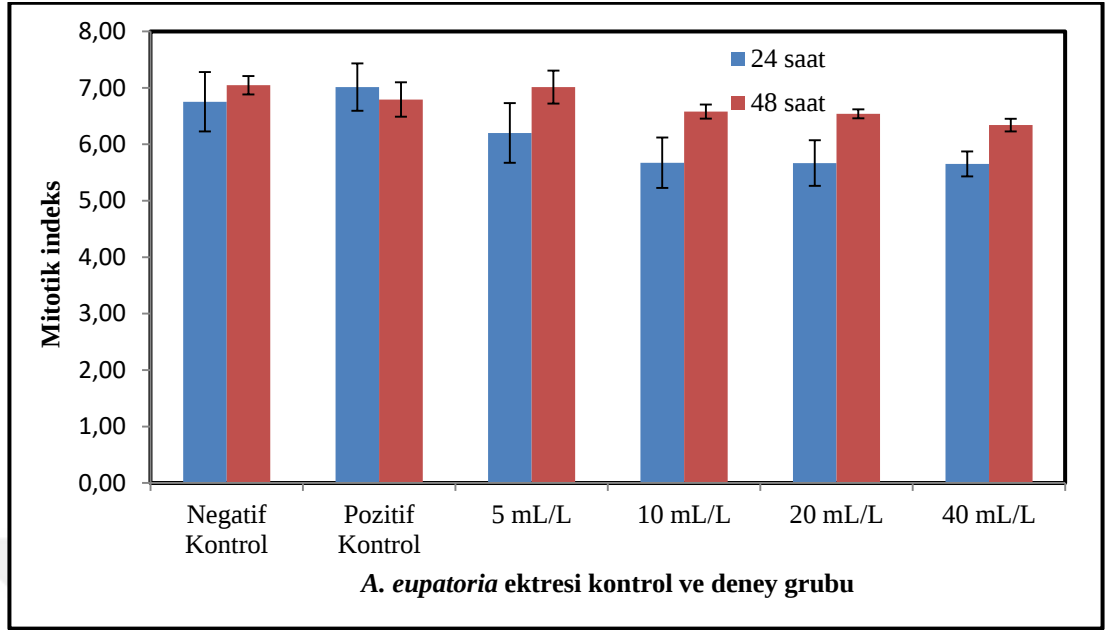
Şekil 4.9. *A. eupatoria* ekstresinin 24 ve 48 s'lik maruziyeti sonucu ortalama kök uzunlukları

5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL ve 40 mg/mL *A. eupatoria* ekstresine maruz bırakılan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks değeri 24 saat boyunca maruziyet sonucunda negatif kontrol grubunda $6,75\pm0,53$ iken, konsantrasyon artışına bağlı olarak sırasıyla $6,20\pm0,53$, $5,67\pm0,45$, $5,67\pm0,40$ ve $5,65\pm0,22$ olacak şekilde azalmış olup bu durum negatif kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p\leq0,05$). Ancak deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p\geq0,05$). 48

saatlik maruziyet sonunda ise negatif kontrol grubunda $7,05 \pm 0,16$ iken 20 mg/mL ve 40 mg/mL gruplarında sırasıyla $6,54 \pm 0,08$ ve $6,34 \pm 0,11$ olarak bulunmuş olup, mitotik indeksteki azalış negatif kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.7., Şekil 4.10.).

Tablo 4.7. Farklı konsantrasyonlarda *A. eupatoria* ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) faz indeksi ($\pm$ ss) ve mitotik indeks (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

Zaman	Gruplar	Bölünme Evreleri Faz İndeksi (%) ($\pm$ SS)				Mitotik indeks ($\pm$ SS)
		Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	
24 saat	Negatif Kontrol	18,95 $\pm$ 2,20	36,01 $\pm$ 5,14	30,55 $\pm$ 0,88	14,49 $\pm$ 3,27	6,75 $\pm$ 0,53 ^{b,c}
	Pozitif Kontrol	18,26 $\pm$ 1,98	35,27 $\pm$ 3,10	31,40 $\pm$ 4,10	15,07 $\pm$ 1,73	7,01 $\pm$ 0,42 ^c
	5 mg/mL	19,25 $\pm$ 0,12	32,26 $\pm$ 6,05	31,00 $\pm$ 3,60	17,49 $\pm$ 2,60	6,20 $\pm$ 0,53 ^{a,c}
	10 mg/mL	15,10 $\pm$ 1,48	33,20 $\pm$ 1,18	33,54 $\pm$ 2,03	18,16 $\pm$ 1,04	5,67 $\pm$ 0,45 ^a
	20 mg/mL	17,23 $\pm$ 1,82	34,10 $\pm$ 0,80	31,87 $\pm$ 0,96	16,80 $\pm$ 1,37	5,67 $\pm$ 0,40 ^a
	40 mg/mL	20,45 $\pm$ 3,28	35,19 $\pm$ 3,01	29,38 $\pm$ 4,60	14,97 $\pm$ 0,48	5,65 $\pm$ 0,22 ^a
48 saat	Negatif Kontrol	21,44 $\pm$ 3,80	33,48 $\pm$ 0,74	26,34 $\pm$ 2,49	18,75 $\pm$ 2,13	7,05 $\pm$ 0,16 ^c
	Pozitif Kontrol	20,53 $\pm$ 1,63	34,52 $\pm$ 1,07	28,65 $\pm$ 1,18	16,30 $\pm$ 1,97	6,79 $\pm$ 0,31 ^{b,c}
	5 mg/mL	19,37 $\pm$ 1,36	30,55 $\pm$ 2,74	31,40 $\pm$ 1,33	18,69 $\pm$ 1,56	7,01 $\pm$ 0,29 ^c
	10 mg/mL	18,69 $\pm$ 1,24	31,83 $\pm$ 0,78	32,23 $\pm$ 1,37	17,25 $\pm$ 1,75	6,58 $\pm$ 0,12 ^{b,c}
	20 mg/mL	19,15 $\pm$ 2,10	30,29 $\pm$ 2,46	30,88 $\pm$ 3,40	19,68 $\pm$ 1,97	6,54 $\pm$ 0,08 ^{a,b}
	40 mg/mL	17,75 $\pm$ 3,07	29,88 $\pm$ 1,63	32,94 $\pm$ 2,23	19,43 $\pm$ 2,42	6,34 $\pm$ 0,11 ^a



Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlarda *A. eupatoria* ekstresine 24 ve 48 saat süresince maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks

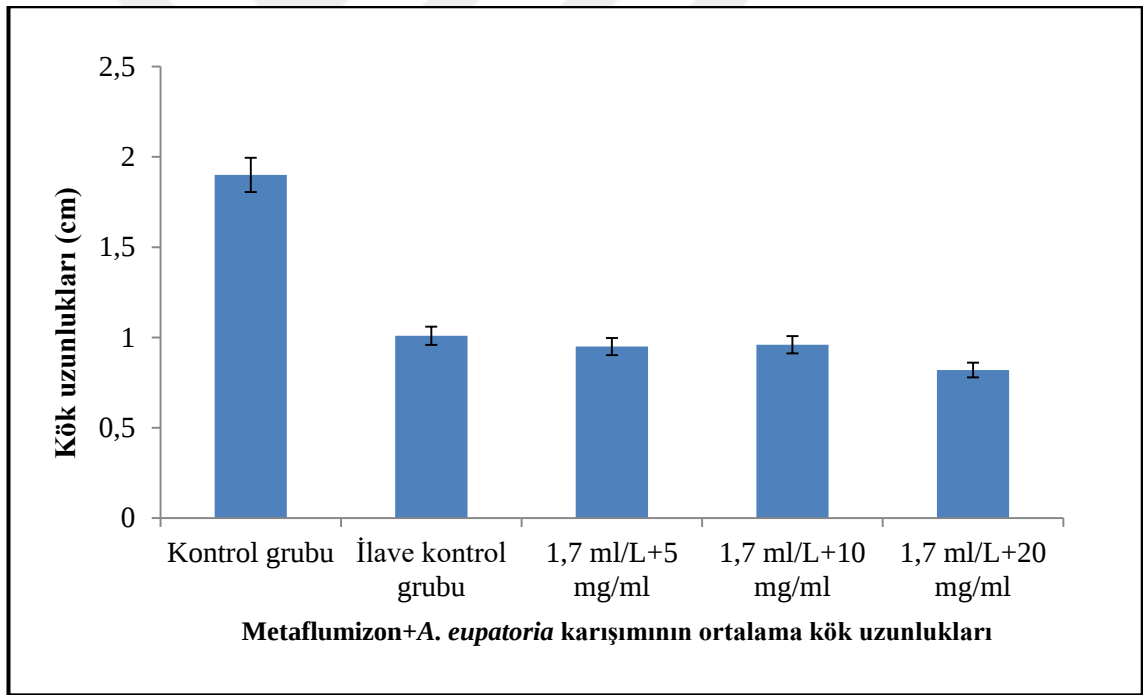
Hem 24 saat hem de 48 saat *A. eupatoria* ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) toplam genetik hasar frekansı 5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL ve 40 mg/mL konsantrasyonlarında konsantrasyon artışına bağlı olarak azalış göstermiştir. Toplam genetik hasardaki bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.8.)

Tablo 4.8. Farklı konsantrasyonlarda *A. eupatoria* ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) genetik hasar (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

Zaman		Bozulmuş Profaz	Düzensizlik	Yapışıklık	C-mitoz	Vagrant	Laggard	Kutup Kayması	Köprü	Fragment	Multipolarite	Mikronükleus	Toplam Genetik Hasar
24 saat	Negatif Kontrol	1,20±0,35	6,53±0,71	0,87±0,50	0,00±0,00	0,93±0,42	0,00±0,00	3,33±0,64	3,73±0,23	0,00±0,00	0,33±0,42	0,00±0,00 ^a	16,93±0,23 ^a
	Pozitif Kontrol	3,07±0,12	6,60±1,97	3,27±0,46	2,53±0,64	2,07±0,58	0,87±0,23	6,20±1,40	5,07±0,46	0,53±0,23	0,33±0,58	1,60±0,72 ^b	32,13±1,62 ^e
	5 mg/mL	1,67±0,12	5,00±1,03	1,13±0,64	1,00±0,20	1,80±0,00	0,27±0,23	5,27±0,12	4,20±0,53	0,07±0,12	0,87±0,23	0,33±0,31 ^a	21,60±1,00 ^d
	10 mg/mL	1,27±0,12	3,73±0,73	1,80±0,35	1,27±0,23	1,73±0,23	0,20±0,20	5,73±1,01	3,47±0,23	0,07±0,12	0,40±0,20	0,20±0,20 ^a	19,87±0,64 ^c
	20 mg/mL	1,20±0,20	5,40±0,60	0,73±0,76	0,47±0,42	1,53±0,50	0,13±0,23	4,20±0,40	2,87±0,31	0,07±0,12	0,27±0,46	0,53±0,50 ^a	17,40±0,69 ^b
	40 mg/mL	1,00±0,00	5,27±1,97	2,07±1,81	0,07±0,12	1,20±0,40	0,07±0,12	3,00±0,53	2,53±0,12	0,07±0,12	0,07±0,12	0,07±0,12 ^a	14,20±1,71 ^a
48 saat	Negatif Kontrol	1,87±0,23	4,73±0,45	0,07±0,12	0,00±0,00	0,53±0,42	0,00±0,00	4,07±0,42	2,53±0,12	0,00±0,00	0,00±0,00	0,07±0,12 ^a	13,87±0,58 ^a
	Pozitif Kontrol	3,40±0,40	6,87±0,54	2,47±0,23	2,73±0,31	1,73±0,42	1,87±0,42	5,27±0,50	4,47±0,70	2,69±0,40	0,93±0,12	3,00±0,53 ^b	35,40±0,60 ^d
	5 mg/mL	1,40±0,00	4,80±0,42	0,33±0,12	1,40±0,40	2,47±0,12	0,27±0,12	5,47±0,50	3,20±0,20	0,07±0,12	0,60±0,20	0,80±0,72 ^a	20,80±0,72 ^c
	10 mg/mL	1,27±0,23	5,07±0,23	1,07±0,95	1,20±0,20	1,20±0,72	0,07±0,12	4,87±0,64	2,93±0,31	0,07±0,12	0,33±0,31	0,33±0,31 ^a	18,40±1,40 ^{b,c}
	20 mg/mL	1,13±0,12	5,53±0,38	0,07±0,12	0,33±0,31	1,13±0,12	0,07±0,12	4,53±0,31	2,60±0,20	0,00±0,00	0,60±0,00	0,47±0,23 ^a	16,47±0,83 ^b
	40 mg/mL	1,60±0,20	5,73±0,75	0,60±0,40	0,53±0,61	1,07±0,50	0,20±0,20	5,13±0,61	3,73±0,23	0,00±0,0	0,80±0,35	0,87±0,58 ^a	20,27±2,53 ^c

4.5. *A. eupatoria* ekstresi ve Metaflumizon'un *A. cepa* kök ucu hücrelerine birlikte etkilerinin değerlendirilmesi

24 saat boyunca 1,7 mL/L Metaflumizon+5 mg/mL AE ekstresi, 1,7 mL/L Metaflumizon+10 mg/mL AE ekstresi, 1,7 mL/L Metaflumizon+20 mg/mL AE ekstresine maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde ortalama kök uzamaları Şekil 4.11.'de belirtilmiştir. 48 saat süre sonunda negatif kontrol grubunda ortalama kök uzunluğu $1,9\pm0,13$ cm, 1,7 mL/L+5 mg/mL, 1,7 mL/L+10 mg/mL ve 1,7 mL/L+20 mg/mL Metaflumizon+*L. officinalis* karışımına maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde ortalama kök uzamaları sırasıyla $0,95\pm0,20$ cm, $0,96\pm0,13$ ve $0,82\pm0,06$ cm olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.11. Metaflumizon+ *A. eupatoria* karışımının uygulama dozlarının ortalama kök uzunlukları

24 saat boyunca sırasıyla negatif kontrol, İKG (1,7 mL/L Metaflumizon + 0,0 mg/mL *A. eupatoria* ekstresi), 1,7 mL/L Metaflumizon + 5 mg/mL *A. eupatoria* ekstresi, 1,7 mL/L Metaflumizon+10 mg/mL *A. eupatoria* ekstresi ve 1,7 mL/L- Metaflumizon+20 mg/mL *A. eupatoria* ekstresine birlikte maruz bırakılan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks değeri negatif kontrol grubunda $6,72\pm0,18$ iken İKG konsantrasyonunda

6,41±0,23, ve birlikte uygulanan gruplarda konsantrasyon artışına bağlı olarak 6,55±0,30, 6,40±0,33, 6,09±0,12 olarak tespit edilmiştir. 1,7 mL/L- Metaflumizon +20 mg/mL *A. eupatoria* ekstresine birlikte maruz bırakılan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks değerinde negatif kontrole göre azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (tablo 4.9.) ($p \leq 0.05$).

Tablo 4.9. Farklı konsantrasyonlarda Mtf+A.*eupatoria* karışımına maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) faz indeks ($\pm$ ss) ve mitotik indeks (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

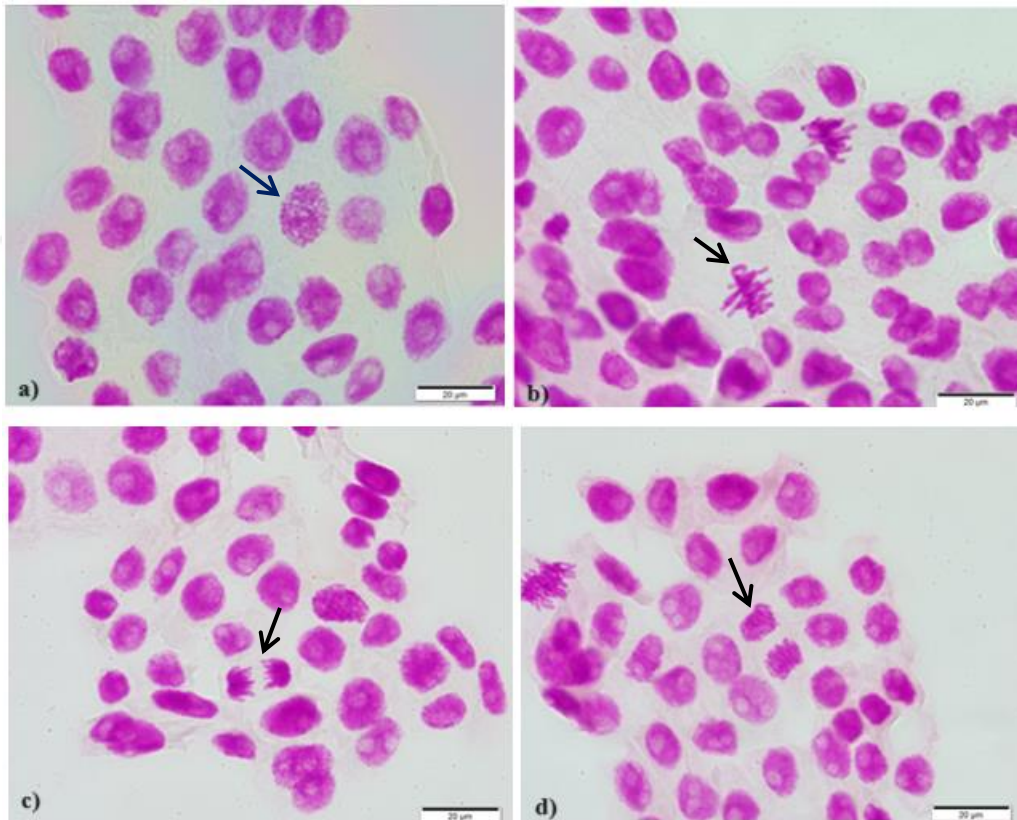
Gruplar	Bölünme Evreleri Faz İndeksi (%) ($\pm$ SS)				Mitotik indeks ($\pm$ SS)
	Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	
Negatif Kontrol	17,15±0,77	35,46±2,76	28,72±2,55	18,67±4,27	6,72±0,18 ^a
Pozitif Kontrol	17,48±0,98	33,66±2,29	29,70±1,71	19,16±2,59	6,71±0,08 ^a
İKG	16,25±0,95	32,85±3,20	30,36±5,39	20,54±2,80	6,41±0,23 ^{a,b}
1,7 mL/L +5 mg/mL	14,66±2,30	33,61±5,01	29,96±3,21	21,77±2,30	6,55±0,30 ^a
1,7 mL/L +10 mg/mL	14,30±2,10	36,21±1,63	29,06±2,99	20,43±0,58	6,40±0,33 ^{a,b}
1,7 mL/L +20 mg/mL	13,78±1,92	33,23±4,93	27,56±5,50	25,42±1,35	6,09±0,12 ^b

24 saat boyunca sırasıyla negatif kontrol, İKG (1,7 mL/L Metaflumizon + 0,0 mg/mL *A. eupatoria* ekstresi), 1,7 mL/L Metaflumizon + 5 mg/mL *A. eupatoria* ekstresi, 1,7 mL/L Metaflumizon+10 mg/mL *A. eupatoria* ekstresi ve 1,7 mL/L- Metaflumizon+20 mg/mL *A. eupatoria* ekstresine birlikte maruz bırakılan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde toplam genetik hasar miktarı *A. eupatoria* ekstresinin konsantrasyon artışına bağlı olarak sırasıyla 13,20±0,53, 24,00±0,87, 17,33±0,50, 15,53±0,12 ve 13,47±0,6 şeklinde azalmış olup bu azalma İKG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (tablo 4.10.) ($p \leq 0.05$).

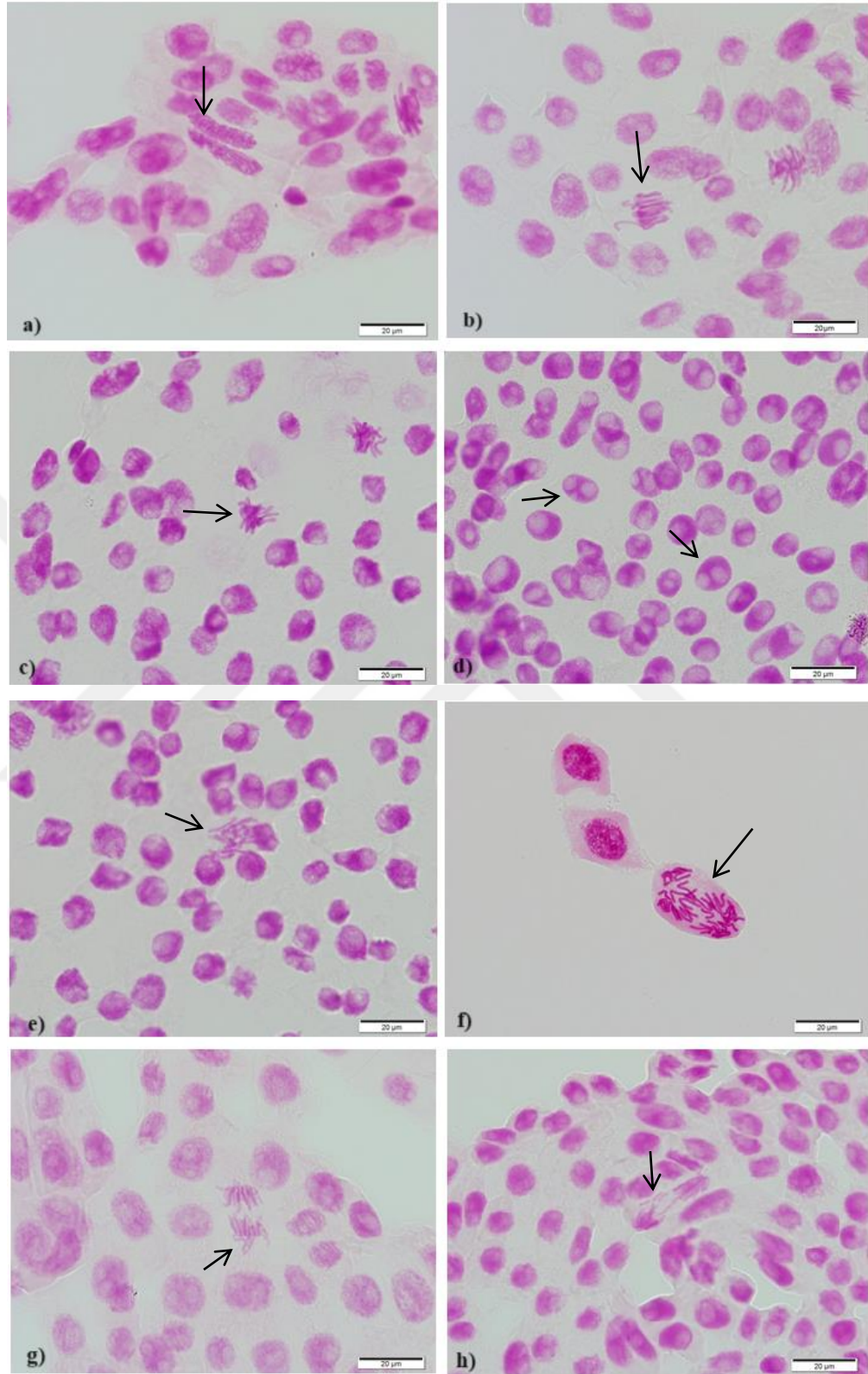
Tablo 4.10. Mtf+A.*eupatoria* karışımına maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde (%) genetik hasar (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

		Bozulmuş Profaz	Düzensizlik	Yapışıklık	C-mitoz	Vagrant	Laggard	Kutup Kayması	Köprü	Fragment	Multipolarite	Mikronükleus	Toplam Genetik Hasar
Mtf+A. <i>eupatoria</i>	Negatif Kontrol	0,87±0,12	4,33±0,31	0,07±0,12	0,00±0,00	1,07±0,31	0,00±0,00	3,20±0,53	3,07±0,95	0,00±0,00	0,53±0,23	0,07±0,12 ^a	13,20±0,53 ^a
	Pozitif Kontrol	2,33±0,12	7,47±0,12	2,20±0,80	0,53±0,23	1,73±0,64	0,53±0,31	6,93±0,23	4,40±0,40	0,07±0,12	1,47±0,81	1,00±0,53 ^b	28,67±0,90 ^e
	İKG	2,00±0,20	6,13±0,31	1,93±0,61	0,93±0,61	1,47±0,12	0,40±0,69	5,87±0,70	3,53±0,42	0,07±0,12	1,40±0,53	0,27±0,12 ^a	24,00±0,87 ^d
	1,7 mL/L- 5 mg/mL	1,27±0,12	5,00±0,20	0,53±0,23	0,07±0,12	0,80±0,40	0,13±0,23	4,80±1,06	3,40±0,35	0,00±0,00	1,20±0,53	0,13±0,23 ^a	17,33±0,50 ^c
	1,7 mL/L- 10 mg/mL	1,47±0,12	5,20±0,60	0,33±0,12	0,00±0,00	0,67±0,12	0,20±0,20	4,27±0,42	2,27±0,42	0,00±0,00	1,07±0,23	0,07±0,12 ^a	15,53±0,12 ^b
	1,7 mL/L- 20 mg/mL	1,07±0,12	4,40±0,53	0,13±0,12	0,00±0,00	0,60±0,20	0,33±0,23	3,87±0,42	1,87±0,23	0,00±0,00	1,20±0,20	0,00±0,0 ^a	13,47±0,6 ^a

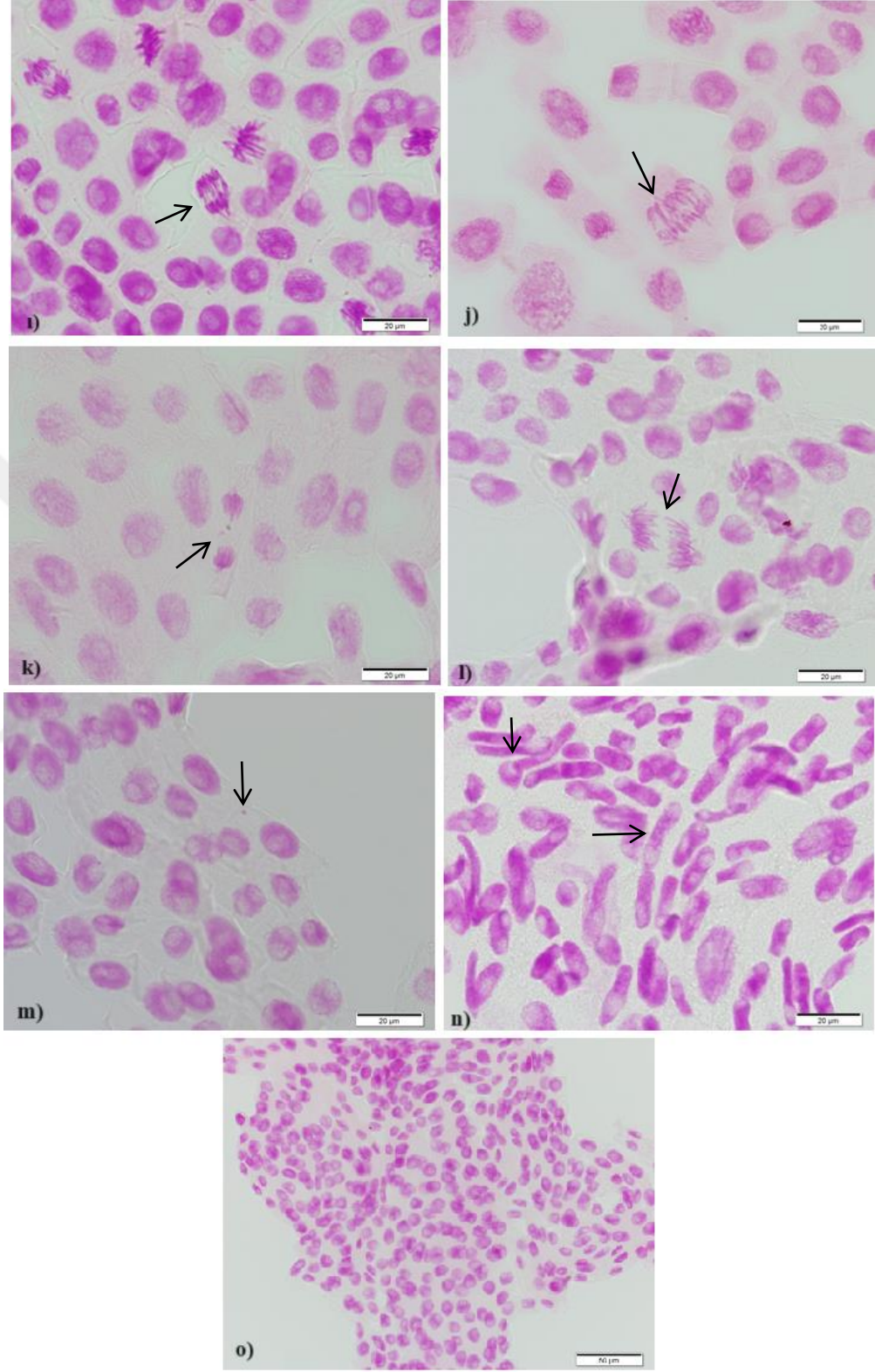
Metaflumizon'un 24 s ve 48 saatlik soğan kök uçlarına uygulanmasının genotoksik etkileri araştırılmıştır. 24 s'lik uygulamada en fazla yapısı bozulmuş Profaz, c-mitoz, multipolarite ve MN oluşumunu, 48 s'lik uygulamada ise en fazla düzensizlik, yapışıklık ve anafazda vagrant oluşumunu indüklediği belirtilmiştir. Anafaz-telofazda görülen kutup kayması, köprü ve fragment oluşumları Metaflumizon'un 1,7 mL/L doz grubunda artış sergilemiştir. Metaflumizon'nun genotoksik etkisine karşı belirlenen konsantrasyonlarda *L. officinalis* ekstresinin yapısı bozulmuş kromozom, düzensizlik, yapışıklık, c-mitoz, vagrant ve laggard gibi oluşumların frekans yüzdeleri azalttığı gözlemlenmiştir. *A. eupatoria* ekstresi ve Metaflumizon'un *A. cepa* kök ucu hücrelerine birlikte etkilerinde ise düzensizlik, vagrant ve kutup kayması gibi oluşumların frekanslarında azalmalar gerçekleşmiştir (Şekil 4.12., Şekil 4.13. ve Şekil 4.14.)



Şekil 4.12. *Allium cepa* L. meristematik hücrelerde normal faz görüntüleri a)Profaz b) Metafaz c)Anafaz d)Telofaz



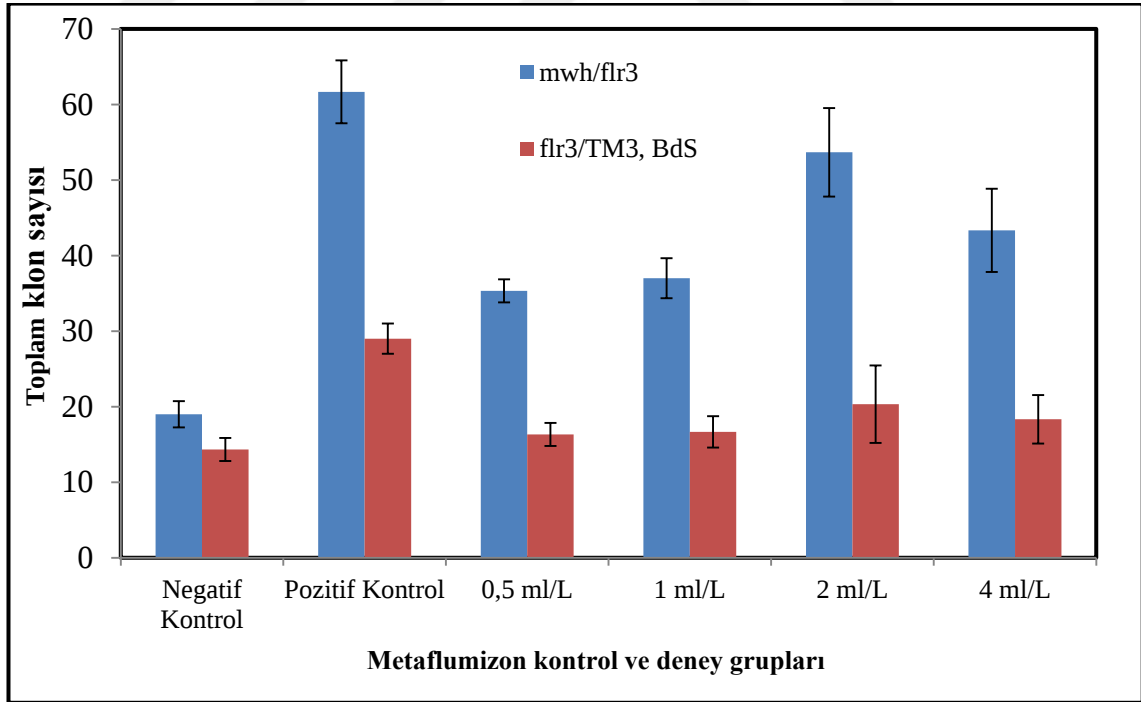
Şekil 4.13. *Allium cepa* L. meristematik hücrelerde gözlemlenen anomali çeşitleri; a) Yapısı bozulmuş profaz b) Düzensiz metafaz c) Yapışık metafaz d) Binükleer hücreler e) C-metafaz f) C-anafaz g) Vagrant h) Laggard



Şekil 4.14. *Allium cepa* L. meristematik hücrelerde gözlemlenen anomali çeşitlerinin devamı; i) Köprü j) Multipolarite k) Fragment l) Kutup Kayması m) Mikronükleus n) Uzamış hücreler o) Mtf+LO karışımına maruz kalan soğan kök ucu hücrelerindeki iyileşme

4.6. Metaflumizon uygulaması sonucu elde edilen yetişkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları

Transheterozigot *mwh/flr3* bireylere Metaflumizon uygulama konsantrasyonlarındaki klon indüksiyon frekansı negatif kontrol grubunda 0,97 iken 0,5 mL/L, 1 mL/L, 2 mL/L 4 mL/L konsantrasyonlarında sırasıyla 2,61, 1,69, 1,78, 2,66 ve 2,17 olduğu tespit edilmiştir. Klon indüksiyon frekanslarının negatif kontrol grubuna kıyasla arttığı belirlenmiştir. Frei ve Würgler (1988) çoklu karar metoduna göre yapılan değerlendirmede negatif kontrole göre tüm deney gruplarında (+) olup, toksik etki gösterdiği görülmüştür. Toplam *mwh* klon sayısı açısından negatif kontrol grubu ile deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Transheterozigot *mwh/TM3* Bds bireylerde ise klon indüksiyon frekansı negatif kontrolde 0,73 iken 2 mL/L 1,04 değeriyle (+) olup toksik etki gösterdiği görülmüştür. Ancak toplam *mwh* klon sayısı açısından negatif kontrol grubu ile deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 4.15., Tablo 4.11.) ($p \geq 0,05$).



Şekil 4.15. Metaflumizon uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı

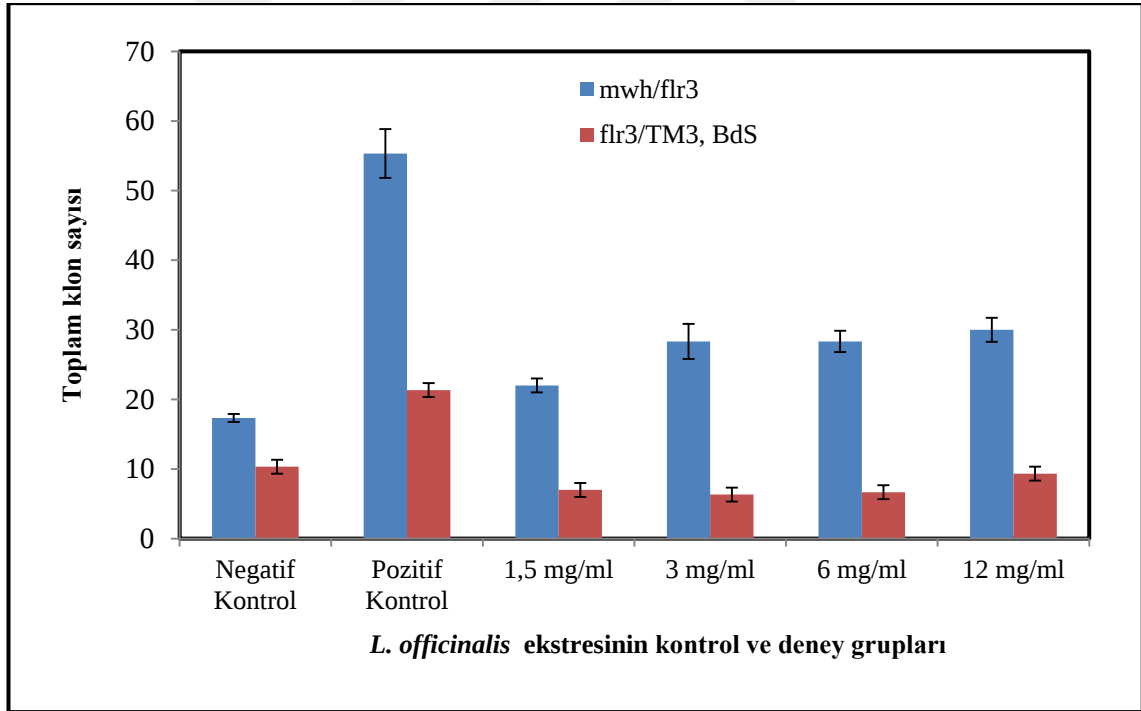
Tablo 4.11. Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon uygulaması sonucu elde edilen yetişkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

		Kanat sayısı	Küçük Tek Tip Klon (m=2)			Büyük Tek Tip Klon (>2 cells) (m=5)			İkiz Klon (m=5)			Toplam Klon (m=2) Sayısı			Toplam mwh Klon Sayısı (m=2)			f	Kontrol düzeltmesi
		N	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D		
mwh/flr3 normal kanat	Negatif Kontrol	240	47	0,2		10	0,04		0	0,00		57	0,24		57 ^a	0,24		0,97	
	Pozitif Kontrol	240	122	0,51	(+)	45	0,19	(+)	18	0,08	(+)	185	0,77	(+)	153 ^c	0,64	(+)	2,61	1,64
	0,5 mL/L	240	83	0,35	(+)	19	0,08	(-)	4	0,02	(i)	106	0,44	(+)	99 ^b	0,41	(+)	1,69	0,72
	1 mL/L	240	83	0,35	(+)	22	0,09	(+)	6	0,03	(+)	111	0,46	(+)	104 ^b	0,43	(+)	1,78	0,81
	2 mL/L	240	129	0,54	(+)	30	0,13	(+)	2	0,01	(i)	161	0,67	(+)	156 ^{b,c}	0,65	(+)	2,66	1,69
	4 mL/L	240	111	0,46	(+)	17	0,07	(i)	2	0,01	(i)	130	0,54	(+)	127 ^c	0,53	(+)	2,17	1,20
mwh/bds serrat kanat	Negatif Kontrol	240	41	0,17		2	0,01		0	0,00		43	0,18		43 ^a	0,18		0,73	
	Pozitif Kontrol	240	85	0,35	(+)	2	0,01	(i)	0	0,00		87	0,36	(+)	87 ^b	0,36	(+)	1,49	0,76
	0,5 mL/L	240	48	0,2	(i)	1	0,00	(i)	0	0,00		49	0,2	(-)	49 ^a	0,2	(-)	0,84	0,11
	1 mL/L	240	47	0,2	(i)	3	0,01	(i)	0	0,00		50	0,21	(-)	50 ^a	0,21	(-)	0,85	0,12
	2 mL/L	240	55	0,23	(-)	6	0,03	(i)	0	0,00		61	0,25	(+)	61 ^a	0,25	(+)	1,04	0,31
	4 mL/L	240	50	0,21	(-)	5	0,02	(i)	0	0,00		55	0,23	(-)	55 ^a	0,23	(-)	0,94	0,21

N: Kanat Sayısı, Fr: frekans, D: istatistik sonuçlarının gösterimi, +: pozitif, -: negatif, i: önemsiz fark; m=çarpım faktörü; f: Klon İndüksiyon Frekansı (10^5), Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$. Pozitif Kontrol = 10 ppm MMS

4.7. *L. officinalis* ekstresinin uygulaması sonucu elde edilen yetişkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları

Mwh/flr3 bireylere *L. officinalis* ekstresinin uygulama konsantrasyonlarındaki klon indüksiyon frekansı negatif kontrol grubunda 0,89 iken 1,5 mg/mL, 3 mg/mL, 6 mg/mL, 12 mg/mL konsantrasyonlarında sırasıyla 1,13, 1,43, 1,42 ve 1,54 olduğu tespit edilmiştir. Frei ve Würbler (1988) çoklu karar metoduna göre yapılan değerlendirmede 3 mg/ml, 6 mg/ml, 12 mg/ml deney gruplarında (+) etkili olduğu yani toksik etki gösterdiği görülmüştür. Toplam mwh klon sayısı açısından negatif kontrol grubu ile deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Ancak deney gruplarının kendi arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Mwh/ TM3 Bds bireylerde ise klon indüksiyon frekansı negatif kontrolde 0,53 iken 4 mL/L 0,48 olup değeriyle (-) olup toksik etki göstermediği görülmüştür (Şekil 4.16., Tablo 4.12).



Şekil 4.16. *L. officinalis* ekstresinin uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı

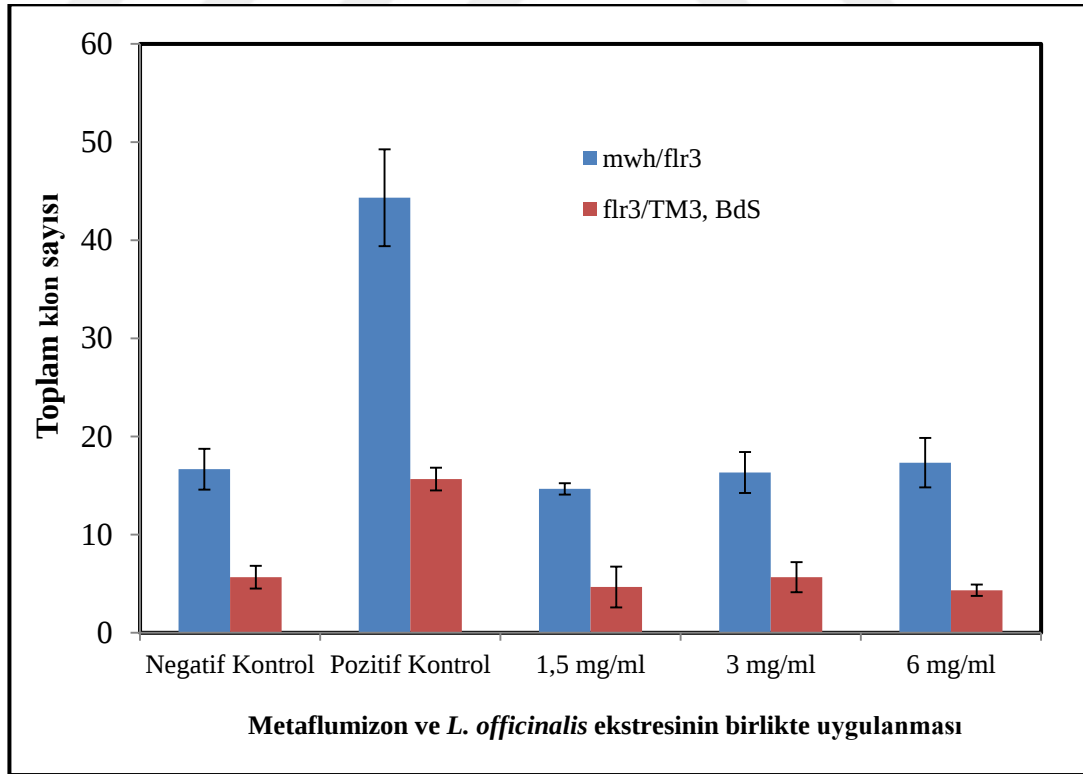
Tablo 4.12. Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda *L. officinalis* ekstresinin uygulaması sonucu elde edilen yetişkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

		N	Küçük Tek Tip Klon (m=2)			Büyük Tek Tip Klon (>2 cells) (m=5)			İkiz Klon (m=5)			Toplam Klon (m=2) Sayısı			Toplam mwh Klon Sayısı (m=2)			f	Kontrol düzeltmesi
		N	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D		
mwh/flr3 normal kanat	Negatif Kontrol	240	49	0,2		3	0,01		0	0,00		52	0,22		52 ^a	0,22		0,89	
	Pozitif Kontrol	240	110	0,46	(+)	47	0,20	(+)	9	0,04	(+)	166	0,69	(+)	157 ^d	0,65	(+)	2,68	1,79
	1,5 mg/mL	240	57	0,24	(-)	9	0,04	(i)	0	0,00	(i)	66	0,28	(-)	66 ^b	0,28	(-)	1,13	0,24
	3 mg/mL	240	80	0,33	(+)	4	0,02	(i)	1	0,00	(i)	85	0,35	(+)	84 ^c	0,35	(+)	1,43	0,54
	6 mg/mL	240	72	0,3	(+)	11	0,05	(+)	2	0,01	(i)	85	0,35	(+)	83 ^c	0,35	(+)	1,42	0,53
	12 mg/mL	240	80	0,33	(+)	10	0,04	(+)	0	0,00	(i)	90	0,38	(+)	90 ^c	0,38	(+)	1,54	0,65
mwh/bds serrat kanat	Negatif Kontrol	240	30	0,13		1	0,00		0	0,00		31	0,13		31 ^a	0,13		0,53	
	Pozitif Kontrol	240	61	0,25	(+)	3	0,01	(i)	0	0,00		64	0,27	(+)	64 ^d	0,27	(+)	1,09	0,56
	1,5 mg/mL	240	21	0,09	(-)	0	0,00	(i)	0	0,00		21	0,09	(-)	21 ^{a,b,c}	0,09	(-)	0,36	-0,17
	3 mg/mL	240	19	0,08	(-)	0	0,00	(i)	0	0,00		19	0,08	(-)	19 ^b	0,08	(-)	0,32	-0,21
	6 mg/mL	240	20	0,08	(-)	0	0,00	(i)	0	0,00		20	0,08	(-)	20 ^{a,b}	0,08	(-)	0,34	-0,19
	12 mg/mL	240	28	0,12	(-)	0	0,00	(i)	0	0,00		28	0,12	(-)	28 ^c	0,12	(-)	0,48	-0,05

N: Kanat Sayısı, Fr: frekans, D: istatistik sonuçlarının gösterimi, +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m=çarpım faktörü; f: Klon İndüksiyon Frekansı (10⁵), Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$. Pozitif Kontrol=10 ppm MMS

4.8. Metaflumizon ve *L. officinalis* ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen yetişkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları

Mwh/flr3 bireylere Metaflumizon ve *L. officinalis* ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen klon indüksiyon frekansı negatif kontrol grubunda 0,85 iken 1,5 mg/mL, 3 mg/mL, 6 mg/mL konsantrasyonlarında sırasıyla 0,75, 0,84 ve 0,89 olduğu tesbit edilmiştir. Frei ve Würgler (1988) çoklu karar metoduna göre yapılan değerlendirmede 1,5 mg/ml, 3 mg/ml, 6 mg/ml deney gruplarında (-) etkili olduğu ve toksik etki göstermediği görölmüştür. Toplam mwh klon sayısı açısından negatif kontrol grubu ile deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Ancak deney gruplarının kendi arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Mwh/ TM3 Bds bireylerde ise klon indüksiyon frekansı negatif kontrolde 0,29 iken 1,5 mg/mL, 3 mg/mL, 6 mg/mL deney gruplarında sırasıyla 0,24, 0,29 ve 0,22 olup çoklu karar metoduna göre (-) olduğu ve toksik etki göstermediği görölmüştür (şekil 4.17., Tablo 4.13).



şekil 4.17. Metaflumizon ve *L. officinalis* ekstresinin birlikte uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı

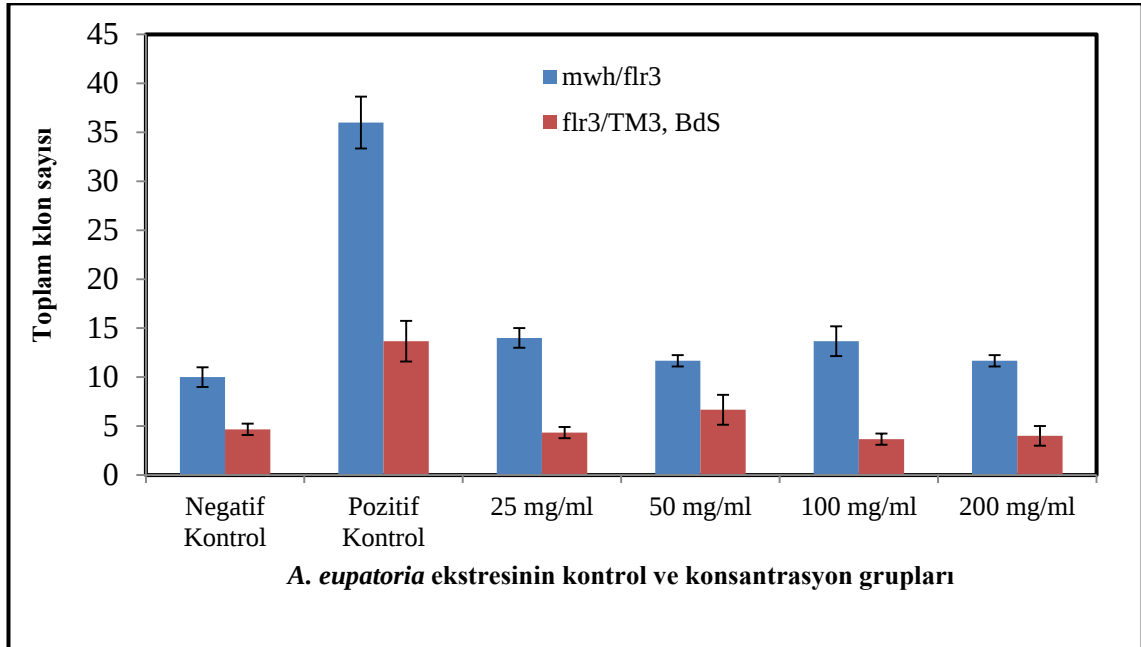
Tablo 4.13. Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon ve *L. officinalis* ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen yetişkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

	mwh/flr3 normal		Küçük Tek Tip Klon (m=2)			Büyük Tek Tip Klon (>2 cells) (m=5)			İkiz Klon (m=5)			Toplam Klon (m=2) Sayısı			Toplam mwh Klon Sayısı (m=2)			f	Kontrol düzeltmesi
	Konsantrasyonlar	N	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D		
mwh/flr3 normal	Negatif Kontrol	240	42	0,18		8	0,03		0	0,00		50	0,21		50 ^a	0,21		0,85	
	Pozitif Kontrol (10 ppm MMS)	240	124	0,52	(+)	7	0,03	(-)	2	0,01	(i)	133	0,55	(+)	131 ^b	0,55	(+)	2,24	1,39
	2 mL/L+1,5 mg/mL	240	38	0,16	(-)	6	0,03	(-)	0	0,00	(i)	44	0,18	(-)	44 ^a	0,18	(-)	0,75	-0,10
	2 mL/L+3 mg/mL	240	45	0,19	(-)	4	0,02	(-)	0	0,00	(i)	49	0,2	(-)	49 ^a	0,2	(-)	0,84	-0,01
	2 mL/L+6 mg/mL	240	50	0,21	(-)	2	0,01	(-)	0	0,00	(i)	52	0,22	(-)	52 ^a	0,22	(-)	0,89	0,04
mwh/bds serrat kanat	Negatif Kontrol	240	16	0,07		1	0,00		0	0,00		17	0,07		17 ^a	0,07		0,29	
	Pozitif Kontrol (10 ppm MMS)	240	47	0,2	(+)	0	0,00	(i)	0	0,00		47	0,2	(+)	47 ^b	0,2	(+)	0,80	0,51
	2 mL/L+1,5 mg/mL	240	14	0,06	(-)	0	0,00	(i)	0	0,00		14	0,06	(-)	14 ^a	0,06	(-)	0,24	-0,05
	2 mL/L+3 mg/mL	240	17	0,07	(-)	0	0,00	(i)	0	0,00		17	0,07	(-)	17 ^a	0,07	(-)	0,29	0,00
	2 mL/L+6 mg/mL	240	13	0,05	(-)	0	0,00	(i)	0	0,00		13	0,05	(-)	13 ^a	0,05	(-)	0,22	-0,07

N: Kanat Sayısı, Fr: frekans, D: istatistik sonuçlarının gösterimi, +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m=çarpım faktörü; f: Klon İndüksiyon Frekansı (10⁵), Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$.

4.9. *A. eupatoria* ekstresinin uygulaması sonucu elde edilen yetişkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları

Mwh/flr3 bireylere farklı konsantrasyonlarda *A. eupatoria* ekstresinin uygulaması sonucu elde edilen klon indüksiyon frekansı negatif kontrol grubunda 0,51 iken 25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL ve 200 mg/mL konsantrasyonlarında sırasıyla 0,70, 0,60, 0,70 ve 0,60 olduğu tesbit edilmiştir. Frei ve Würgler (1988) çoklu karar metoduna göre yapılan değerlendirmede 25 mg/mL ve 100 mg/mL konsantrasyonlarında (i) önemsiz 50 mg/ml ve 200 mg/mL konsantrasyonlarında (-) etkili olduğu görülmüştür. Toplam mwh klon sayısı açısından negatif kontrol grubu ile 25 mg/mL ve 100 mg/mL konsantrasyonları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Mwh/ TM3 Bds bireylerde ise klon indüksiyon frekansı negatif kontrolde 0,24 iken doz artışına bağlı olarak sırasıyla 0,22, 0,34, 0,19 ve 0,20 şeklinde sonuçlanmış olup çoklu karar metoduna göre (-) olduğu ve toksik etki göstermediği görülmüştür. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p \geq 0,05$). (Şekil 4.18., Tablo 4.14)



Şekil 4.18. *A. eupatoria* ekstresinin uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı

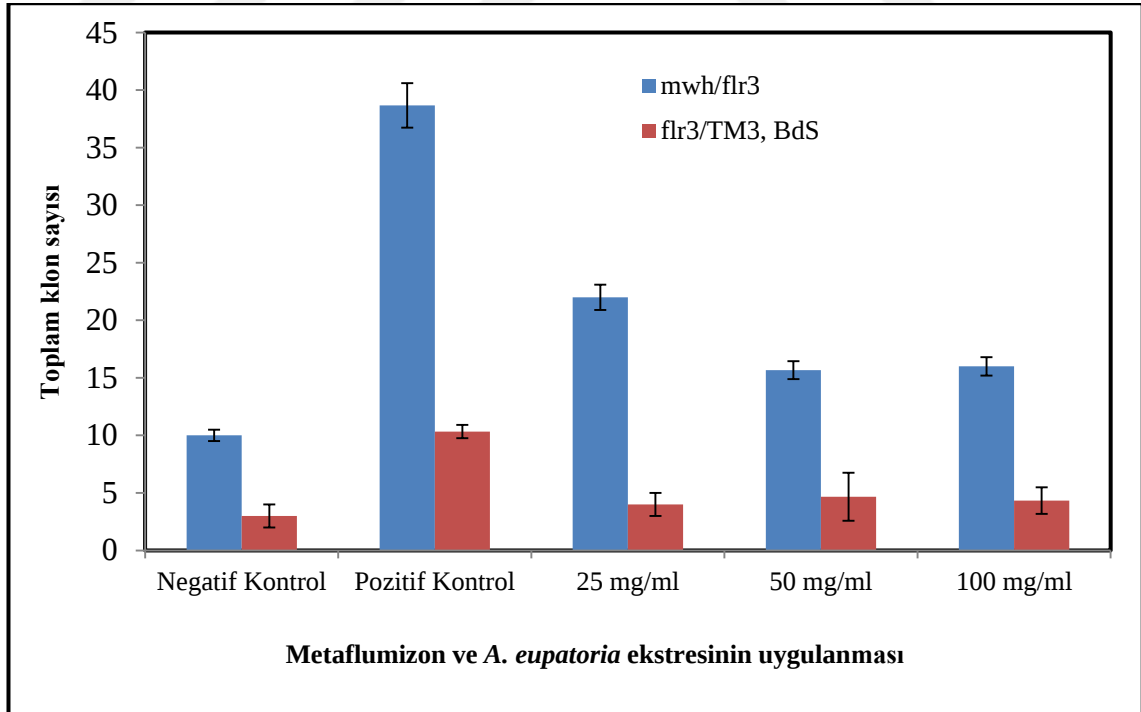
Tablo 4.14. Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda *A. eupatoria* ekstresinin uygulaması sonucu elde edilen yetişkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

		Kanat sayısı	Küçük Tek Tip Klon (m=2)			Büyük Tek Tip Klon (>2 cells) (m=5)			İkiz Klon (m=5)			Toplam Klon (m=2) Sayısı			Toplam mwh Klon Sayısı (m=2)			f	Kontrol düzeltmesi
		N	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D		
mwh/flr3 normal	Negatif Kontrol	240	24	0,1		6	0,03		0	0,00		30	0,13		30 ^a	0,13		0,51	
	Pozitif Kontrol	240	99	0,41	(+)	7	0,03	(-)	2	0,01	(i)	108	0,45	(+)	106 ^c	0,44	(+)	1,81	1,30
	25 mg/mL	240	35	0,15	(i)	6	0,03	(-)	1	0,00	(i)	42	0,18	(i)	41 ^b	0,17	(i)	0,70	0,19
	50 mg/mL	240	28	0,12	(-)	7	0,03	(-)	0	0,00	(i)	35	0,15	(-)	35 ^{a,b}	0,15	(-)	0,60	0,09
	100 mg/mL	240	38	0,16	(+)	3	0,01	(-)	0	0,00	(i)	41	0,17	(i)	41 ^b	0,17	(i)	0,70	0,19
	200 mg/mL	240	29	0,12	(-)	6	0,03	(-)	0	0,00	(i)	35	0,15	(-)	35 ^{a,b}	0,15	(-)	0,60	0,09
mwh/bds serrat kanat	Negatif Kontrol	240	14	0,06		0	0,00		0	0,00		14	0,06		14 ^{a,b}	0,06		0,24	
	Pozitif Kontrol	240	41	0,17		0	0,00	(i)	0	0,00		41	0,17	(+)	41 ^c	0,17	(+)	0,70	0,46
	25 mg/mL	240	13	0,05		0	0,00	(i)	0	0,00		13	0,05	(-)	13 ^{a,b}	0,05	(-)	0,22	-0,02
	50 mg/mL	240	19	0,08		1	1,00	(i)	0	0,00		20	0,08	(i)	20 ^b	0,08	(i)	0,34	0,10
	100 mg/mL	240	11	0,05		0	0,00	(i)	0	0,00		11	0,05	(-)	11 ^a	0,05	(-)	0,19	-0,05
	200 mg/mL	240	12	0,05		0	0,00	(i)	0	0,00		12	0,05	(-)	12 ^{a,b}	0,05	(-)	0,20	-0,04

N: Kanat Sayısı, Fr: frekans, D: istatistik sonuçlarının gösterimi, +: pozitif, -: negatif, i: önemsiz fark; m=çarpım faktörü; f: Klon İndüksiyon Frekansı (10^5), Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$. Pozitif Kontrol=10 ppm MMS

4.10. Metaflumizon ve *A. eupatoria* ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen yetişkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları

Mwh/flr3 bireylere farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon ve *A. eupatoria* ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen klon indüksiyon frekansı negatif kontrol grubunda 0,51 iken 1,5 mg/mL, 3 mg/mL ve 6 mg/mL konsantrasyonlarında sırasıyla 1,13, 0,79 ve 0,82 olduğu tesbit edilmiştir. Frei ve Würgler (1988) çoklu karar metoduna göre yapılan değerlendirmede tüm konsantrasyonlarda (+) etkili olduğu görölmüştür. Toplam mwh klon sayısı açısından negatif kontrol grubu ile deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Mwh/TM3 Bds bireylerde ise klon indüksiyon frekansı negatif kontrolde 0,15 iken doz artışına bağlı olarak sırasıyla 0,20, 0,24 ve 0,22 şeklinde sonuçlanmış olup çoklu karar metoduna göre (i) önemsiz olduğu ve toksik etki göstermediği görölmüştür. Sonuçlar negatif kontrol grubu ile deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p \geq 0,05$). (şekil 4.19., Tablo 4.15).



şekil 4.19. Metaflumizon ve *A. eupatoria* ekstresinin uygulaması sonucu normal ve serrat kanatlı sineklerde oluşan toplam klon sayısı

Tablo 4.15. Transheterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda Metaflumizon ve *A. eupatoria* ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen yetiştirkin *D. melanogaster* kanatları ile yapılan SMART testi bulguları (Harfler istatistiksel olarak farklı homojen grupları simgelemektedir)

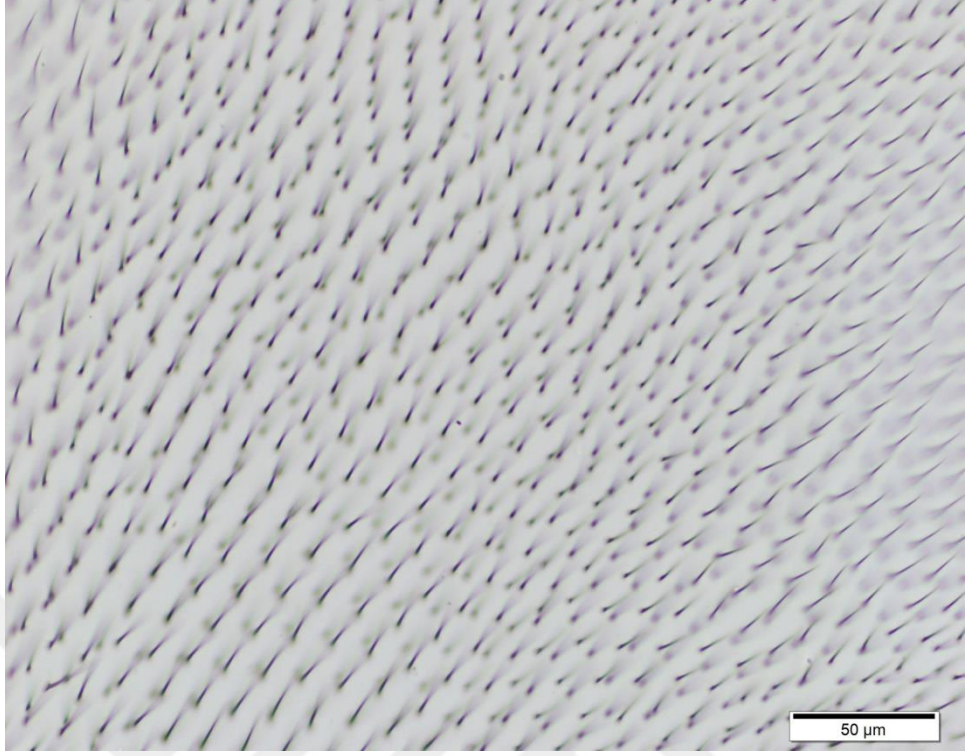
			Küçük Tek Tip Klon (m=2)			Büyük Tek Tip Klon (>2 cells) (m=5)			İkiz Klon (m=5)			Toplam Klon (m=2) Sayısı			Toplam mwh Klon Sayısı (m=2)			F	Kontrol düzeltmesi
		N	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D		
mwh/flr3 normal	Negatif Kontrol	240	28	0,12		2	0,01		0	0,00		30	0,13		30 ^a	0,13		0,51	
	Pozitif Kontrol	240	10 ₉	0,45	(+)	6	0,03	(i)	1	0,00	(i)	11 ₆	0,48	(+)	115 ^d	0,48	(+)	1,96	1,45
	2 mL/L+25 mg/mL	240	59	0,25	(+)	7	0,03	(i)	0	0,00	(i)	66	0,28	(+)	66 ^c	0,28	(+)	1,13	0,62
	2 mL/L+50mg/mL	240	40	0,17	(i)	6	0,03	(i)	1	0,00	(i)	47	0,2	(+)	46 ^b	0,19	(+)	0,79	0,28
	2 mL/L+100mg/mL	240	44	0,18	(+)	4	0,02	(i)	0	0,00	(i)	48	0,2	(+)	48 ^b	0,2	(+)	0,82	0,31
mwh/bds serrat kanat	Negatif Kontrol	240	9	0,04		0	0,00		0	0,00		9	0,04		9 ^a	0,04		0,15	
	Pozitif Kontrol	240	31	0,13	(+)	0	0,00	(i)	0	0,00		31	0,13	(+)	31 ^b	0,13	(+)	0,53	0,38
	2 mL/L+25 mg/mL	240	12	0,05	(i)	0	0,00	(i)	0	0,00		12	0,05	(i)	12 ^a	0,05	(i)	0,20	0,05
	2 mL/L+50mg/mL	240	14	0,06	(i)	0	0,00	(i)	0	0,00		14	0,06	(i)	14 ^a	0,06	(i)	0,24	0,09
	2 mL/L+100 mg/mL	240	13	0,05	(i)	0	0,00	(i)	0	0,00		13	0,05	(i)	13 ^a	0,05	(i)	0,22	0,07

N: Kanat Sayısı, Fr: frekans, D: istatistik sonuçlarının gösterimi, +: pozitif, -: negatif, i: önemsiz fark; m=çarpım faktörü; f: Klon İndüksiyon Frekansı (10^5), Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$. Pozitif Kontrol=10 ppm MMS

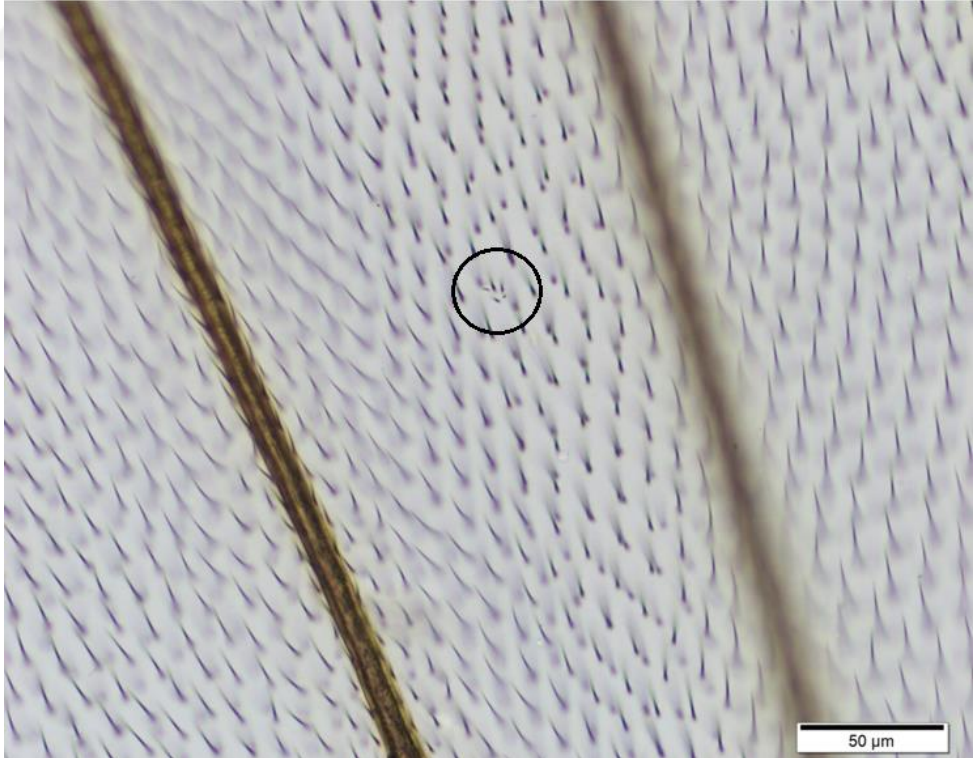
Metaflumizon'un transheterozigot flr³/mwh bireylere uygulanması sonucunda düz kanat fenotipine sahip bireylerde toplam 240 kanatta; 0,5 mL/L konsantrasyonunda 83 adet küçük tek tip, 19 büyük tek tip ve 4 adet ikiz klon, 1 mL/L konsantrasyonunda 83 adet küçük tek tip, 22 adet büyük tek tip ve 6 adet ikiz klon, 2 mL/L konsantrasyonunda 129 adet küçük tek tip mwh, 30 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz klon ve 4 mL/L konsantrasyonunda ise 111 adet küçük tek tip, 17 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz klon kaydedilmiştir. Metaflumizon'un en yüksek doz grubu olan 4 mL/L konsantrasyonunun transheterozigot serrat kanat (mwh/ TM3 Bds) fenotipine sahip olan bireylerde toplam 240 adet kanatta; 50 adet küçük tek tip ve 5 adet büyük tek tip klon tespit edilmiştir (Şekil 4.20.-Şekil 4.25.).

72±4 transheterozigot larvalara Metaflumizon ve *L. officinalis* ekstresinin birlikte uygulanması sonucu elde edilen sineklerin normal kanat fenotipli bireylerinde toplam 240 adet kanatta; 2 mL/L+1,5 mg/mL konsantrasyonunda 38 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip klon, 2 mL/L+3 mg/mL konsantrasyonunda 45 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip klon, 2 mL/L+6 mg/mL konsantrasyonunda 50 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip klon kaydedilmiştir. Serrat kanat fenotipli bireylerin en yüksek doz grubu olan 2 mL/L+6 mg/ml konsantrasyonunda ise sadece 13 adet küçük tek tip klon görülmüştür (Şekil 4.20.-Şekil 4.25.).

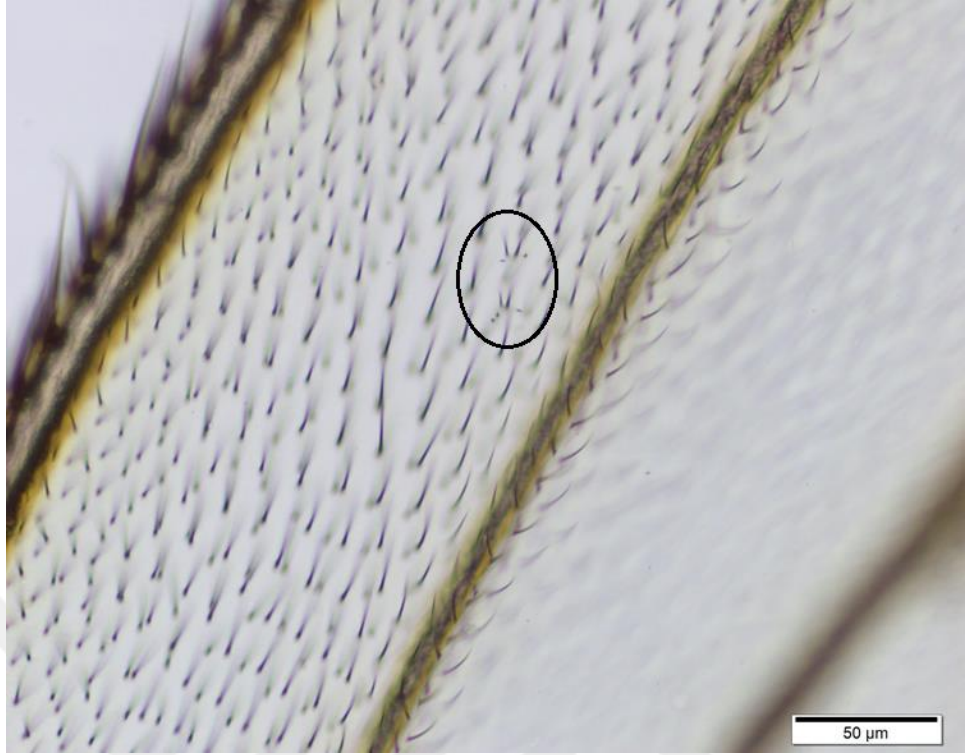
Transheterozigot flr³/mwh larvalara Metaflumizon ve *A. eupatoria* ekstresinin birlikte uygulanması sonucu elde edilen sineklerin normal kanat fenotipli bireylerinde toplam 240 adet kanatta; 2 mL/L+25 mg/ml konsantrasyonunda 59 adet küçük tek tip, 7 adet büyük tek tip klon, 2 mL/L+50 mg/ml konsantrasyonunda 40 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz klon, 2 mL/L+100 mg/ml konsantrasyonunda 44 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip klon kaydedilmiştir. Serrat kanat fenotipli bireylerin en yüksek doz grubu olan 2 mL/L+100 mg/ml konsantrasyonunda ise sadece 13 adet küçük tek tip klon tespit edilmiştir (Şekil 4.20.-Şekil 4.25.).



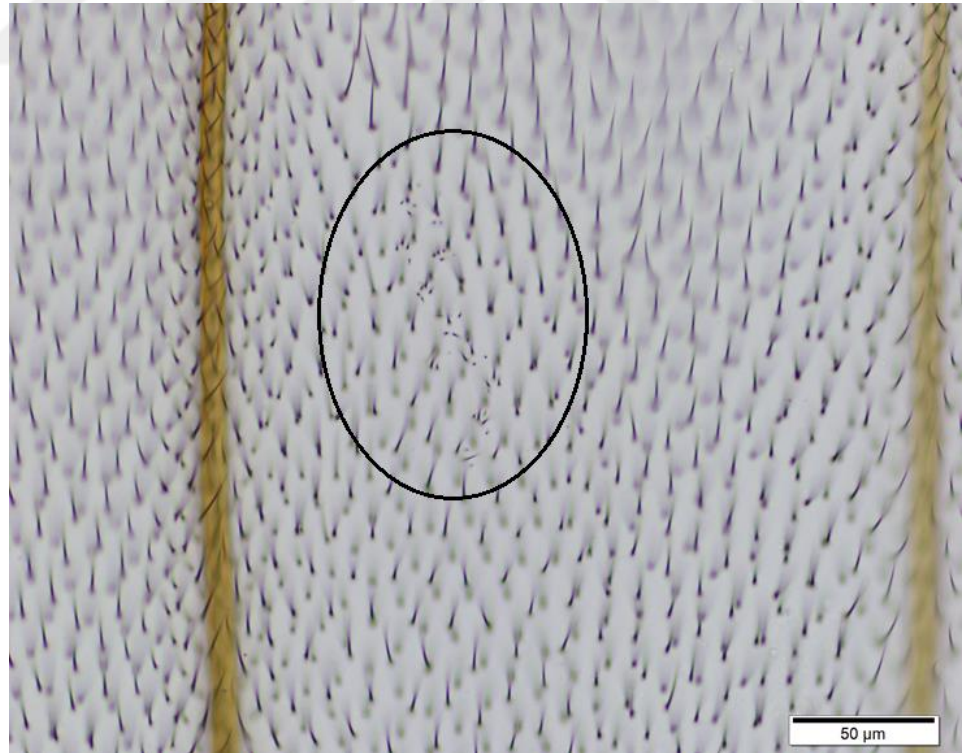
Şekil 4.20. Yabanıl tip kanat kılların görünüşü



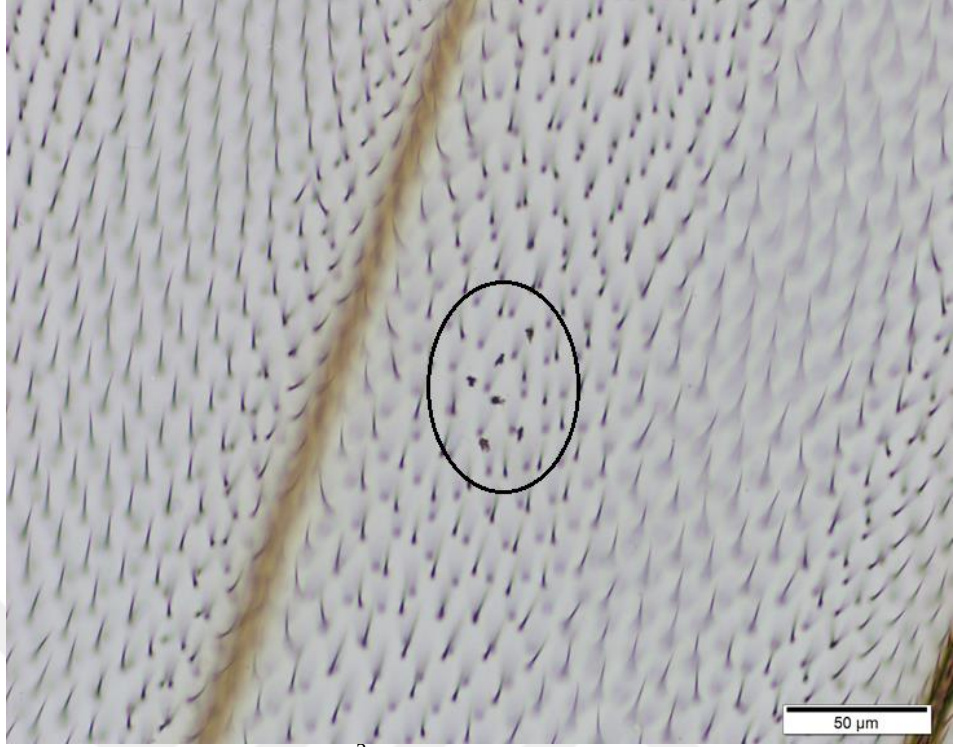
Şekil 4.21. Mwh fenotipine ait küçük tek tip klon



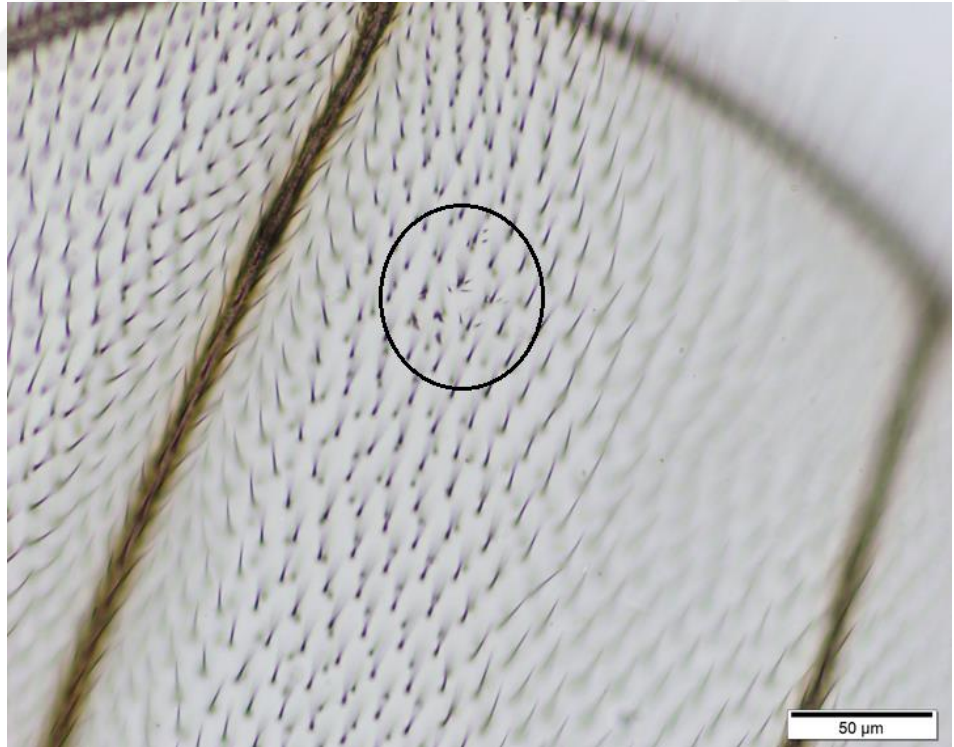
Şekil 4.22. Mwh fenotipine ait küçük tek tip klon



Şekil 4.23. Mwh fenotipine ait büyük tek tip klon



Şekil 4.24. Flr^3 fenotipine ait büyük tek tip klon



Şekil 4.25. Flr^3 ve mwh hücrelerine ait ikiz mutant klonlar

5. BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER

Yabani otlar ve hastalıklara karşı bitki korumada birçok sentetik kimyasal olarak pestisitlerle mücadele edilmektedir. Bu durum, insanlar ve diğer hedef dışı organizmalar için toksisiteye, gıda ve içme sularında kalıntıların varlığı gibi yan etkileri konusunda ciddi bir olumsuz etkiye neden olabilmektedir. Bu olumsuzluklar, kimyasal pestisitlerin kullanımında büyük bir azalmayı ve daha güvenli ve yeni alternatif yöntemlere yer verilmesini gerektirmiştir.

Yapılan çalışmalarda semikarbazon grubu üyesi olan Metaflumizon ile ilgili toksikolojik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Çalışmalar daha çok, kedi ve köpekler üzerindeki pire ya da kene istilasına karşı mücadele ve insektisit direnç durumu üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalara göre Mtf'nin genotoksik potansiyelini değerlendirebilmek için farklı test sistemlerinin kullanıldığı araştırmalara ihtiyaç olduğu dikkati çekmektedir.

Xin ve Wenhua (2022) 0,1, 1 ve 10 $\mu\text{mol/L}^{-1}$ konsantrasyonlarda Metaflumizon ile muamele edilen zebra balığı (*Danio rerio*) embriyolarının kuluçka ve hayatta kalma oranlarını araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda Mtf'nin zebra balığının erken embriyogenez sırasında yüzme mesanesinin gelişimini olumsuz etkilediği ve kuluçka süresini uzattığı bildirilmiştir. Karaman (2023)'ın yaptığı "Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'da Metaflumizon'un oksidatif stres aracılı hematoksisitesi ve kolemanitin modülatör etkisi" başlıklı çalışmada Mtf'nin 96 s'lik maruziyeti sonucu gökkuşığı alabalığının kan dokusunda meydana gelen toksik değişimleri (DNA hasarı, sitotoksisite, hematoksisite ve oksidatif stres) araştırmıştır. Mtf uygulamasının gökkuşığı alabalığında antioksidan savunma sistemini bozabildiği, DNA hasarını teşvik ettiği ve oksidatif stres üretebildiği sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan Mtf insektisitinin *Allium cepa* L. kök ucu testindeki genotoksik etkisini değerlendirebilmek için ortalama kök uzunlukları ve mitotik indeks gibi

parametreler kullanılmıştır. Pestisit 24 ve 48 s uygulama süresinin ardından negatif kontrol grubunda ortalama kök uzunluğu sırasıyla $1,53 \pm 0,11$ ve $2,52 \pm 0,23$ cm olarak hesaplanmıştır. Çözeltilerin Mtf konsantrasyonu arttıkça dozlara bağlı olarak kök uzamaları azalmıştır. En yüksek doz grubu olan 3,4 mL/L'de ise kök uzaması baskılanarak hem 24 saatte hem de 48 saatte maksimum 0,1 cm'lik bir uzama gerçekleşmiş ve kök uçlarında yapışmalar meydana gelmiştir. Kök uçlarında yapışmaların olması, kalınlıkların artması ve renginin değişmesi gibi kök morfolojisinde meydana gelen değişimler, toksisitenin göstergesidir (Fiskesjö 1988). Ayrıca kök uzunluğundaki bu azalmalar, uç meristematik hücre aktivasyonunun farklılaşarak hücre döngüsü sırasında bölünme ile ilgili enzimlerin baskılanmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Fusconi ve ark. 2006). Hücre döngüsü sırasında bölünen hücrelerin toplam gözlenen hücre sayısına bölünmesiyle karakterize edilen mitotik indeks (Mİ) değeri, çeşitli kimyasal maddelerin sitotoksitesini değerlendirmek için bir parametre olarak kullanılmıştır. Bu maddelerin sitotoksitesinin belirlenmesinde Mİ değerindeki artışlar ya da azalışlar dikkate alınmıştır. Bu nedenle yapılan çalışmalarda *Allium* kök ucu meristematik hücrelerin Mİ değerindeki azalmalar, çevredeki genotoksik ajanların varlığını tespit etmek için güvenilir bir test olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (Leme ve Marin-Morales 2009). Araştırmacılar tarafından insektisitlerin toksik etkileri nedeniyle Mİ değerinin azaldığı birçok çalışma rapor edilmiştir (Lamsal ve ark. 2010; Ahmadi 2013; Sheikh ve ark. 2020). Mtf'nin Mİ üzerindeki etkisine dair bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda Mtf'nin 24 ve 48 saat maruziyeti sonucunda 0,425 mL/L, 0,85 mL/L, 1,7 mL/L ve 3,4 mL/L konsantrasyonlarında belirlenen Mİ değerleri negatif kontrol ile karşılaştırıldığında azaldığı ve bu durumun Mtf'nin artan konsantrasyonlarıyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.

A. cepa kök meristematik hücrelerde Mtf'nin genotoksitesinin değerlendirildiği diğer parametreler ise faz indeksleri ve kromozom anomalileridir. Bölünme evrelerinin faz indeks değerleri 24 s'de negatif kontrol grubuna göre kıyasla metafaz evresinde gözlemlenen hücre sayısında artış olduğu ve doz gruplarında metafaz-anafaz aralığında daha fazla yoğunlaştığı gözlemlenmiştir. 48 s'de 3,4 mL/L konsantrasyonunda profaz ve metafaz evresindeki hücre sayısında artışa, anafaz ve telofaz evresinde ise azalmaya

neden olmuştur. Büyüme kontrolü ile 3,4 mL/L doz grubu arasında faz indeks değeri açısından anlamlı bir fark görülmüştür ($p \leq 0,05$). Pandey ve Sakya (2009)'nın yapmış olduğu çalışmada ise, triazophos insektisitinin *A. cepa* kök meristem hücrelerinde mitotik aktivite ve kromozomal davranışlarını araştırmıştır. 24 s uygulamada gözlemlenen metafazın faz indeksindeki bu artışını, mitotik iğ ipliği mekanizmasının anormal davranış bozukluğu ile açıklamıştır.

Mtf, mitotik hücre bölünmesi sırasında *A. cepa*'nın kök ucu hücrelerinde çeşitli tipte kromozomal anomalilerin tetiklenmesine sebep olmuştur. Mtf'nin konsantrasyonu ve uygulama süresi arttıkça kromozomal anormalliklerin (KA) sayısında da artış gözlenmiştir. Düzensizlik, c-mitoz ve yapışıklık, profaz ve metafaz evresinde görülen anormalliklerdir. Anafaz-telofaz evresinde ise vagrant, laggard, kutup kayması, köprü, fragment ve multipolarite en sık görülen anormallikler arasında kaydedilmiştir. İnterfazda gözlemlenen mikronükleus, uygulanan kimyasalların toksisite etkilerinin değerlendirilmesinde anahtar bir rol oynamaktadır. Çalışmamızda hesaplanan MN frekansında insektisitinin doz-cevap ilişkisine göre negatif kontrole kıyasla 48 saat sürede bir artış gözlenmiştir.

Kromozomal düzensizlikler metafaz ve anafaz evresinde kaydedilen bir anomali çeşididir. Buradaki düzensizlik, maruz kalınan kimyasalların iğ ipliği oluşum mekanizmasındaki başarısızlıktan ya da mikrotübül oluşumundaki düzensizlikten kaynaklandığını göstermektedir (Soliman ve Ghoneam 2004). Gözlemlenen mitotik anormalliklerden yapışıklık; toksisitenin bir göstergesi olup, kromatinin fiziksel durumunda geri dönüşü olmayan etkilere neden olmaktadır (Fiskesjö ve Levan 1993). KA tipleri arasında fragment oluşumu kromatinin fonksiyon bozukluğu sonucunda, kromozom köprüleri ise kromozom ya da kromatinin kırılması ve füzyonundan kaynaklanmaktadır. Gecikmeli kromozom, multipolarite ve c-mitoz oluşumu iğ ipliğinin işlevindeki hatadan kaynaklandığı belirlenmiştir (Grover ve Kaur 1999). Bu anormalliklerin dışında Mtf'nin maruziyeti sonucunda artan konsantrasyonlara bağlı iki çekirdekli (binükleer) hücrelerin sayısında artış tespit edilmiştir. Binükleer hücreler, hücre kontrol mekanizmalarında sitokinezin engellenmesi sonucu oluşmaktadır (Ateeq ve ark. 2002).

L. officinalis bitkisi ile ilgili çalışmalar 2 başlık altında toplanabilir: İlk olarak karayemiş bitkisinin biyoaktivitesi ve fitokimyasal içeriklerini ele alan çalışmalar, ikinci olarak ise *L. officinalis*'in çeşitli toksik maddelere karşı iyileştirici etkisinin araştırıldığı alışmalar.

Yıldız (2021), karayemişin metanol meyve ekstresinin (KYME) muhtemel genotoksik-antigenotoksik etkisini 24 ve 48 s sürede insan periferel lenfosit kan hücre kültürü yaparak in vitro ortamda MN ve kromozomal anormallik testleri ile belirlemiştir. Her iki test sisteminde de KYME'nin çözücü kontrole göre genotoksik bir etki görülmemiştir. Mitomisin-C (MMC)'nin oluşturduğu hasarı nlemede KYME olumlu bir etki göstermiştir. Karayemişin, MMC'nin neden olduğu sitotoksik etkiyi azaltmaya yönelik bir davranış sergilediği belirtilmiştir.

Eken ve ark. tarafından (2017), sıçanlarda organofosfat grubu insektisitlerden olan dimetoatla oluşturulan hepatoksisitesine karşı karayemiş meyve ekstresinin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Karaciğer fonksiyon testleriyle elde edilen sonuçlara göre pestisit kaynaklı rat karaciğerinde oluşan toksik etkiler, *L. officinalis*'in meyve ekstresi ile iyileşme göstermiştir. Çalışma, *L. officinalis*'in dimetil sülfoksit (DMSO) meyve ekstresi in vitro koşullarda insan kanser hücrelerinin (akciğer, karaciğer, kolon ve serviks) sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Karayemişin içerdiği fitokimyasal bileşenlerden dolayı farklı kanser hücrelerinde antiproliferatif bir aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Demir ve ark. 2017). Ayrıca karayemiş meyve özütünün sıçanların testisleri ve ovaryumları üzerindeki antiapoptotik ve antioksidatif etkileri ortaya çıkarılmıştır. Buna göre, karayemiş meyve özütünün testis ve ovaryumda meydana gelen hasarı azalttığı ve hem ovaryum rezervini korumada hem de sperm kalitesini arttırmada olumlu etki gösterdiği bulunmuştur (Bayrak ve ark. 2015) (ztrk Okatan ve ark. 2021).

Parlak Akyüz ve ark. (2019), karayemiş yaprağı ekstresinin gökkuşağı alabalığı yemine ilave edilmesiyle büyüme parametreleri ve yaşama oranına etkisini araştırmıştır. Buna göre ekstrenin yeme eklenmesiyle balıkların yaşam oranının arttığı ve bitkinin antioksidan bir madde olabilme potansiyeline sahip olabileceği önerilmiştir.

Çalışmamızda *L. officinalis* (LO) metanol yaprak ekstresinin farklı konsantrasyonlarda (0,105 mg/mL, 0,21 mg/mL, 0,42 mg/mL ve 0,84 mg/mL) 24 ve 48 s süreye maruz bırakılarak soğan kök uçlarına verilmesiyle genotoksisite/antigenotoksisite durumu değerlendirilmiştir. Profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evrelerin faz indeks değerleri ve kromozom hasarları tespit edilmiştir. LO ekstresinin 24 ve 48 süre ile muamele edilmesi sonucunda negatif kontrole göre metafaz evresinde görülen hücre sayısında yoğunlaşma görülmüştür. LO'nun en yüksek doz grubu olan 0,84 mg/mL'de faz frekansındaki değer, anlamlı bulunmuştur. Dolayısıyla Mİ'deki konsantrasyon artışına bağlı azalışlar da anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Kromozom anomali çeşitlerinden en fazla düzensizlik ve kutup kaymasına rastlanılmıştır. 24 saat *L. officinalis* ekstresine maruz kalan soğan kök ucu hücrelerindeki genetik hasar frekansındaki artış anlamlı bulunmamıştır ($p \geq 0,05$). Bu durum, diğer çalışmalarla birlikte desteklenerek karayemişin *A. cepa* meristematik hücrelerde genotoksik bir etki göstermediğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma, LO özütünün meristematik hücreler üzerindeki etkisini in vivo koşullarda araştıran ilk kapsamlı araştırma bakımından önemlidir. LO ekstresi ve Metaflumizon'un *A. cepa* kök ucu hücrelerine birlikte etkilerinin uygulaması sonucunda 24 saat boyunca Metaflumizon'un genotoksik etkisine karşı belirlenen konsantrasyonlarda *L. officinalis* ekstresinin hem binükleer hücre sayısında azalmaya hem de genotoksik hasarı azaltması, bitki yapısında bulunan fenolik bileşiklerden dolayı antigenotoksik bir etki gösterdiği önerilebilir. Bu bakış açısından yola çıkarak test yönteminden elde edilen veriler, LO ekstresinin etkinliğinin tam olarak ortaya çıkarılmasına da katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz Rosaceae familyasına ait bir diğer bitki türü olan koyun otunun antigenotoksik potansiyeli birkaç çalışmayla desteklenmiştir. Pukalskienė ve ark. (2018), *Filipendula* ve *Agrimonia* cinsine ait farklı türlerin biyoaktivitelerini ve antioksidan özelliklerini incelemiştir. Türlerin metanol ekstrelerinin etkisi; komet, Ames/Salmonella-mikrozom ve insan lenfositlerinde in vitro sitokinez blok mikronükleus analizleri, genotoksik potansiyelleri ile araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ekstreler, bakteri hücresinde ters mutasyon üretmemiştir. Ames ve mikronükleus testinde bitki ekstreleri genotoksik bir etki göstermemiştir. *A. eupatoria* yüksek oranda fenolik bileşik içermekte ve antioksidan aktivite göstermektedir. Bu

nedenle çalışılan bu türlerin potansiyel bir nutrasötik bir ajan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Bisfenol-A (BPA), çeşitli plastik malzemelerin üretiminde kullanılan kimyasal bir ana bileşendir. Bağırsak domuz epitel hattı hücreler 12,5-25-50-100 ve 200 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda BPA'ya maruz bırakılarak proliferatif hücre tepkisi analiz edilmiştir. BPA'nın neden olduğu sitotoksositeye karşı *A. eupatoria* bitki ekstresi incelenmiş ve sonuç olarak BPA ve koyun otunun kombinasyonu hücrelerde metabolik aktivitenin iyileştiği, koyun otunun sitotoksositeye karşı koruyucu bir rol oynadığı ortaya konulmuştur (Marcincakova ve ark. 2022). *A.eupatoria* çiçekli tomurcuk ekstresinden elde edilen bazı fenolik bileşiklerin çeşitli patojen bakteri türlerine (*Bacillus cereus*, *Salmonella typhymurium*, *Corynebacterium diphtheria* ve *Enterococcus faecalis*) karşı biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Koyun otuna ait fenolik bileşiklerin dört bakteri izolatına karşı antibakteriyel etkili olduğu belirtilmiştir (Mohammed ve ark. 2022).

A. eupatoria L.'nin in vitro kanser hücre hatları (insan servikal kanser ve birincil hücre kültürü)'na karşı sitotoksik etkileri araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Bitkinin kök, yaprak ve çiçek kısımları sulu ve metanollü özüte maruz bırakılmıştır. Kanser hücre hatları 24, 48 ve 72 saat inkübasyon süresine dahil edilmiştir. Sonuçlar, bitki özütün beş farklı konsantrasyonunda doz artışına bağlı olarak anti-tümör özellikleri gösterdiğini ve metanol ekstresinin servikal hücre hatlarında sulu ekstreden daha iyi sonuç verdiğini göstermiştir. Bu tür tümör önleyici etkilerin bitkinin yapısında bulunan kimyasal bileşenlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Ad'hiah ve ark. 2013). Çalışmamızda ise *A. eupatoria* (AE) metanol yaprak ekstresinin 24 ve 48 süre ile 5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL ve 40 mg/mL doz grupları soğan kök uçlarına verilmesiyle genotoksosite/antigenotoksosite durumu araştırılmıştır. Deneyde mitoz evrelerin bölünme frekansları ve kromozom anomalileri tespit edilmiştir. AE ekstresinin 48 saat süre sonunda soğan kök hücrelerinde etkisi büyüme kontrolüne göre anafaz evresinde faz frekansında artış görülmüştür. Ancak deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Hem 24 s hem de 48 s sürede en fazla kromozom anomali çeşitlerinden düzensizlik, kutup kayması ve anafazda köprü tespit edilmiştir.

Toplam genetik hasardaki azalışlar istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. 24 saat boyunca sırasıyla 1,7 mL/L Metaflumizon + 5 mg/mL *A. eupatoria* ekstresi, 1,7 mL/L+ Metaflumizon 10 mg/mL *A. eupatoria* ekstresi ve 1,7 mL/L- Metaflumizon +20 mg/mL *A. eupatoria* ekstresine birlikte maruz bırakılan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde toplam genetik hasar miktarı *A. eupatoria* ekstresinin konsantrasyon artışına bağlı olarak sırasıyla azalmış olup bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Ayrıca insektisit+AE ekstrenin birlikte verildiği uygulamada binükleer hücre sayısında önemli ölçüde bir azalma görülmüştür. Araştırmamızda elde edilen sonuçlar önceki çalışmalarla desteklenerek bu çalışmamızın sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Sonuç olarak Metaflumizon'un genotoksik etkisine karşı belirlenen konsantrasyonlarda AE ekstresinin genotoksik etkiyi azaltması antigenotoksik bir etki gösterdiği ileri sürülebilir.

Somatik mutasyon ve rekombinasyon test yöntemi-SMART flr³ ve mwh'nin işaretleyici genlerin heterozigotluk kaybından kaynaklanan indüklenme potansiyellerini *Drosophila* sinek kanatlarıyla tanımlanmasına ve analizine dayanmaktadır. Bu test aracılığıyla kimyasal ajanların genotoksik etkilerini tek tip klonlar ve ikiz klonlar ile tespit etmek mümkündür. Transheterozigot larvalardan gelişen mwh/ flr³ bireylere metaflumizon uygulaması sonucu elde edilen ergin *D. melanogaster*-SMART testinde normal ve serrat kanatlarda oluşan mutant bulguların istatistik olarak değerlendirilmesinde klon indüksiyon frekansları ve klon tiplerinin frekans değerleri negatif kontrole göre karşılaştırılarak belirlenmiştir. Klon indüksiyon frekanslarının negatif kontrol grubuna kıyasla arttığı tespit edilmiştir. Negatif kontrole göre kıyaslandığında normal kanatların tüm deney gruplarında MTF'nin büyük ve küçük tek tip mwh ya da flr³ klon ve ikiz klon oluşumunu indükleyerek toksik bir etki gösterdiği tespit edilmiştir. Toplam mwh klon sayısı açısından negatif kontrol grubu ile 0,5 mL/L, 1 mL/L, 2 mL/L ve 4 mL/L konsantrasyonları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Serrat kanatlı bireylerde 2mL/L doz grubunda ise klon indüksiyon frekans değeri negatif kontrole göre pozitif bir etki göstererek toksik etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Pestisitler içerisinde yer alan insektisitlerin pek çok çalışmada sinekler üzerinde toksik etkisi SMART yöntemiyle incelenmiştir. Sentetik pirethroid pestisit grubunda yer alan

sipermetrin insektisitinin *Drosophila melanogaster*'da ergin dişilerin yumurtlama oranları- gelişimleri ve larvaların gelişimlerinin toksik etkisinin olup olmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak sipermetrin insektisitin maruz bırakılan yumurtaların gelişim hızının azaldığı ve embriyolojik gelişmeyi olumsuz etkilediğı rapor edilmiştir (Karataş ve Bahçeci 2009).

Frantzios ve ark. (2008), insektisit imidaklopridin genotoksik etkisini SMART yöntemi kullanarak araştırmıştır. Farklı konsantrasyonlarda muamele edilen insektisitinin *Drosophila* larva ve erginlerinde rekombinojenik ya da mutajenik bir aktivite sergilemediğı ortaya konulmuştur.

Metil paration, azametifos, diklorvos ve diazinon organofosfatlı insektisitlerin farklı konsantrasyonlarda *D. melanogaster*'ın kanat testinde genotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Pestisitlerdeki toplam mutasyon sayısı mwh klon sayısı arasında doz-etki ilişkisine göre pozitif bir etki göstermiştir. Diazinon'un *Drosophila* ergin kanat fenotipinde en fazla pozitif genotoksik etki gösterdiği bulunmuştur (Çakır ve Sarıkaya 2005). Başka bir çalışmada metil paration ve fosfamidonun genotoksik potansiyeli balık solungaç dokularında kromozom anomalileri ve kardeş kromatit değişimleri test edilerek araştırılmıştır. 96 s süreyle pestisitlere maruz bırakılan balıklarda anomali frekans değerinde pozitif bir artış gözlenmiştir (Das ve John 1999). Blasiak ve ark. tarafından (1995) metil parationun doğrudan DNA ile etkileşime girebileceğini ve DNA'nın konformasyonunu bozabileceğini göstermiştir. Metil parationun kemik iliğı ve periferik kan MN testleri kullanılarak in vivo genotoksik etkisi albino farelerde araştırmıştır. Uygulanan her iki test yönteminde de MN frekans değeri istatistiksel olarak pozitif bir korelasyon göstermiştir. Bu nedenle metil paration ve diğerk kullanılan insektisitlerin çevre ve insan sağılığında potansiyel bir risk oluşturabileceğı söylenebilir.

Organofosfatlardan permetrinin ve Deltametrin insektisitleri *D. melanogaster*'da SMART ile analiz edilmiştir. Transheterozigot larvalar, pestisitlerin 25, 50 ve 75 ppm doz gruplarına maruz bırakılmıştır. İnsektisitlerin yaşam yüzdesi ve toplam mutasyon frekansı arasında pozitif etki gözlenmiş ve deltametrinin permetrinden daha toksik olduğı rapor edilmiştir (Budak 2005).

Fipronil insektisiti, nöroregülatör reseptörlerin etkisini ortadan kaldırarak böcek sinir sistemini hedef almaktadır. Pestisite maruz kalan böcekler, sinir sisteminde klor reseptörlerine bağlanarak Cl⁻ iyonlarına zarar verme ya da bloke etme, hücresel yolda akışın bozulmasına ve sinir sisteminin aşırı uyarılmasına neden olmaktadır. Morais ve ark. (2016), Fipronilin (FİP) *D. melanogaster*'in somatik hücrelerinde mutajenik, karsinojenik ve rekombinojenik etkisini araştırmıştır. Yüksek biyoaktivasyon ve standart melezlerden elde edilen 72±4 L3 larvalar, 0,3-0,7-1,5- 3 ve 10⁻⁵ mM konsantrasyonlarda FİP'e maruz bırakılmış ve elde edilen sonuçlara göre tüm konsantrasyonlardaki tümör frekansı istatistiksel olarak anlamlı bir artışa yol açmıştır. Böylece Fipronil insektisit, *D. melanogaster*'in somatik hücrelerinde kanserojen, mutajenik ve rekombinojenik bir etki gösterdiği belirlenmiştir.

Nörotoksik bir etkiye sahip olan organofosfat grubu insektisiti klorpyrifos, AChE enziminin aktif bölgesindeki serin amino asidine bağlanarak merkezi sinir sistemini inhibe etmektedir. Bu olay sonucu otonom ve merkezi sinir sisteminde asetilkolinin birikmesine ya da reseptörlerin aşırı bir şekilde uyarılmasına ve neticede sinaptik bir felce neden olmaktadır. Bu durum hedef organizmanın hareket fizyolojisini kısıtlamaktadır. Çalışmada ergin *Drosophila* besiyerine eklenen klorpyrifos insektisit 2 ve 24 saat sonraki sineklerin hareket yeteneklerindeki değişimler raporlanmıştır. İnsektisit artan miktarıyla orantılı olarak dişi ve erkek bireylerin hareketlerinde yavaşlamaya ve tırmanma potansiyellerinde ise artışa neden olduğu belirlenmiştir. Tırmanma hareketliğindeki bu artışın, pestisit direncine karşı oluşabileceği düşünülmektedir (Güneş ve Şensoy 2021).

Sentetik insektisitler, kolinerjik sinapta AChE (Asetilkolin esterase) ve nAChR (Nikotinik asetilkolin reseptörleri) olarak iki bölgeyi hedef almaktadır. AChE'nin inhibitörü olan karbamat ve organofosfat grubu insektisitler, enzimin bağlanma bölgesine bağlanarak işlevlerini inhibe ederler ve ACh birikimine yol açarlar. Bu durum sinir sisteminin aşırı uyarılmasına ve canlıda felce neden olmaktadır. İnsektisitlerin iyon kanal hedefleri arasında voltaj kapılı sodyum kanalı (VKSK), glutamat kapılı klor kanalı ve gama-aminobütirik asit (GABA) kapılı klor kanalı yer almaktadır. VKSK'lar

aksiyon potansiyelin başlatılma sürecinden sorumludur. İndoksakarp ve metaflumizon insektisitleri VKSK'yı bloke ederek sodyum iletimini durdurur ve böceğin felç olmasına neden olur (Cash 2015). Çalışmamızda kullandığımız metaflumizon insektisiti, hedef organizmada artan konsantrasyonlara bağlı olarak sinir hücreleri zarında sodyum (Na) kanallarının açılıp kapanmasını etkileyerek nörotoksik bir etkiye neden olmaktadır. Yüksek konsantrasyonlarda Mtf insektisiti, sineklerin larval ve pupa aşamasında gelişimlerini olumsuz etkileyerek ergin forma dönüşmesini geciktirmiştir. Ayrıca araştırmacılar, metaflumizon'un bal arısı (*Apis mellifera*), güve (*Spodoptera eridania*) ve *Xenopus* (Afrika pençeli kurbağası) oositlerinde ifade edilen Na kanalları üzerinde etkisini incelemişler. Sonuçların Mtf'nin voltaja bağlı sodyum kanalı bloke edici bir insektisit olduğunu göstermişlerdir (Gosselin Badaroudine ve ark. 2017) (Salgado ve Hayashi 2007).

L. officinalis'in meyve ve yapraklarından su, metanol, etil asetat, aseton ve diklorometan ile hazırlanan özütler, Alzheimer hastalığının teşhisinde bilinen enzimlerden AChE'ye karşı kolinesteraz inhibitör aktiviteleri yönünden ve antioksidan kapasitesi araştırılmıştır. Araştırmada yaprak metanol ekstresinin en fazla fenol bileşenleri, aseton ekstresinin ise flavonoidler açısından zengin olduğu tespit edilmiştir. Sonuçta LO yaprak ekstresinin nöroprotektif bir etki sergilemesi, yaprak özütü yapısında bulunan fenol bileşiği ve antioksidan kapasitesi arasındaki ilişkiden kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Erdoğan Orhan ve Küpeli Akkol 2011). Çalışmamızda karayemişin *D. melanogaster* ergin düz kanatlar ile yapılan SMART yönteminde toplam mwh klon sayısı uygulama konsantrasyonlarından 1,5 mg/mL'de toksik etki göstermemiştir. Ancak yüksek doz grubunda karayemiş ekstresi sinek kanatlarında toksik bir etkiye neden olmuştur. Bu durumun Rosaceae familyasına ait türlerin birçoğunda yaygın olarak bulunan siyanür içerikli amigdalin glikozitini içermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Amigdalin glikozitinin hidrolizasyonu sonucu açığa çıkan hidrosiyanik asitin bazı enzimleri etkisiz hale gelmesine sebep olmasından dolayı zehirlenmelere neden olabileceği araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir (Dursun ve İslam, 2020). Karayemiş ekstresinin de yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında toksik olabileceği düşünülmektedir. Serrat kanatlı bireylerde ise klon indüksiyon frekansı negatif kontrole göre (-) bir etki göstererek

toksik etki göstermediği tespit edilmiştir. Metaflumizon insektisiti ve karayemiş ekstresinin birlikte uygulanması sonucu elde edilen mwh klon indüksiyon frekansı negatif kontrol ile doz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Elde edilen verilere göre *D. melanogaster* bireylerde düşük dozlarda toksik bir etki göstermediği ve böylece karayemiş ekstresinin Mtf'nin neden olduğu toksik etkiyi iyileştirebildiği önerilebilir.

Agrimonia eupatoria bitkisi ile yapılan antiviral, antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamator, antikanser, antidiyabetik, hepatoprotektif ve nöroprotektif çalışmalarda bitkinin koruyucu etkili olduğu gösterilmiştir. Lee ve ark. (2010), *A. eupatoria*'nın yapısında bulunan flavonoidlerin HT22 hipokampal hücrelerde glutamat kaynaklı oksidatif hasar üzerindeki nöroprotektif etkisini araştırmıştır. Koyun otunun metanol özütünden izole edilen bileşiklerin HT22 hipokampal hücrelerde glutamat kaynaklı hasara karşı nöroprotektif aktivite gösterdiği ortaya konulmuştur. Çalışmamızda *A. eupatoria* ekstresinin Mwh/flr3 bireylere farklı konsantrasyonlarda uygulanması sonucu toplam mwh klon sayısı negatif kontrole kıyasla doz grupları arasında (-) olduğu ve toksik etki göstermediği bulunmuştur. Metaflumizon ve koyun otu ekstresinin birlikte uygulaması sonucu elde edilen verilere göre klon indüksiyon frekansı doz artışına bağlı olarak negatif kontrole kıyasla düşük oranda toksik etki gösterebileceği tespit edilmiştir. Bu durumun kullanılan insektisit ile bitki ekstresinin içeriğinde bulunan bileşenlerle sinerjistik bir etkileşime sebep olabileceği düşünülmektedir.

Tarımsal üretimde istenmeyen organizmalarla mücadele amacıyla yoğun olarak kullanılan pestisitlerin insan sağlığı ve çevre üzerine artan olumsuz etkileri göz önüne alındığında, bu sentetik kimyasallara karşı alternatif bir yöntem olarak karşımıza çıkan bitkisel ekstraktların önemi gün geçtikçe artmaktadır. Kullanılan kimyasalların ve bitki bileşenlerin farklı etkilerinin belirlenmesi için başka çalışmaların yapılması ile daha kesin sonuçlara ulaşılabilmesi, farklı model organizmalarda in vivo ve in vitro test yöntemleri kullanılarak desteklenmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak pestisit kirliliğinin evre ve hedef olmayan organizmalar üzerindeki olumsuz etkilerini en aza indirebilmek için entegre mücadele yöntemiyle kontrol altına alınması gerekmektedir. Bu kapsamda kullanılan pestisit ve bitkisel ekstrelerin uygun konsantrasyonlarda kullanılmasının daha etkili olabileceği önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Abubakar Y, Tijjani H, Egbuna C, Adetunji C, Kala S, Kryeziu T (2020) Pesticides, History and Classification. Natural Remedies for pest, disease and weed control, 103:29-42.
- Ad'hiah A, Al-Bederi O, Al-Sammarrae K (2013) Cytotoxic Effects of *Agrimonia eupatoria* L. Against Cancer Cell Lines in Vitro. Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences, 14:87-92.
- Ahirrao D, Desale N (2019) A Text Book of Genetics. Harshwardhan Publication, Maharashtra.
- Ahmadi S (2013) Effects of Organic Insecticides, Kingbo and Azdar 10 EC, on Mitotic Chromosomes in Root Tip Cells of *Allium cepa*. International Journal of Genetics and Molecular Biology, 5(5):64-70.
- Aktar W, Sengupta D, Chowdhury A (2009) Impact of Pesticides Use in Agriculture: Their Benefits and Hazards. Interdisc Toxicol., 2(1):1-12.
- APG IV (2016) An Update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the Orders and Families of Flowering Plants: APG IV. Botanical Journal of the Linnean Society, 181:1-20.
- Ateeq B, Farah M, Ali M, Ahmad W (2002) Clastogenicity of Pentachlorophenol, 2,4-D and Butachlor Evaluated by Allium Root Tip Test. Mutation Research, 514: 105-113.
- Atlı Şekeroğlu Z, Şekeroğlu V (2011) Genetik Toksisite Testleri. Türk Bilim Araştırma Vakfı Bilim Dergisi, 4(3):221-229.
- Bacanlı M, Taner G, Başaran A, Başaran N (2015) Bitkisel Kaynaklı Fenolik Yapıdaki Bileşikler ve Sağlığa Yararlı Etkileri. Türkiye Klinikleri J Pharm Sci, 4(1):9-16.
- BASF (2019) "Alverde-BASF Tarım Çözümleri Türkiye" <https://www.agro.basf.com.tr>

Baydar H (2020) Biyoçeşitlilik ve Sınıflandırma, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilim ve Teknolojisi, Nobel Yayıncılık, Ankara.

Bayrak G, Aktaş N, Yenilmez E, Yuluğ E, Kerimoğlu G, Reis Köse G (2015) Sıçanlarda Methotrexate Kaynaklı Testis Hasarına Karşı *Laurocerasus officinalis* Roem. (Karayemiş)' in Antiapoptotik ve Antioksidan Etkileri. TEMD 22. Ulusal Elektron Mikroskopi (uluslararası katılımlı) Kongresi, İstanbul, 112.

Bhambhani S, Kondhare K, Giri A (2021) Diversity in Chemical Structures and Biological Properties of Plant Alkaloids. Molecules, 26(3374):1-29.

Birişik N (2018) Teoriden Pratiğe Kimyasal Mücadele. Gıda ve kontrol genel müdürlüğü yayıncılık, Ankara.

Blasiak J, Kleinwachter V, Walter Z, Zaludova R (1995) Interaction of Organophosphorus Insecticide Methylparathion with Calf Thymus DNA and a Synthetic DNA Duplex. Z. Naturforsch. Section C, Biosci., 50(11):820-823.

Broertjes C, Van Harten A (1988) Applied Mutation Breeding for Vegetatively Propagated Crops. Elsevier science, Amsterdam.

Budak F (2005) The Detection of Genotoxic Activity of the Deltamethrin and Permethrin by Somatic Mutation And Recombination Test with *Drosophila melanogaster*. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi, 6(1):87-93.

Cabuga Jr C, Abelada J, Apostado R, Hernando B, Lador J, Obenza O (2017) *Allium cepa* Test: An Evaluation of Genotoxicity. Proceeding of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences, 7(1):12-19.

Cash F (2015) *Drosophila melanogaster* as a Model to Study Insecticide Mode of Action . A Thesis Submitted to the University of Manchester for the Degree of Doctor of Philosophy in the Faculty of Life Sciences, Manchester.

Collins A (2004) The Comet Assay for DNA Damage and Repair: Principles, Applications and Limitations. Molecular biotechnology, 26:249-261.

Çakır Ş, Sarıkaya R (2005) Genotoxicity Testing of Some Organophosphate Insecticides in the Drosophila Wing Spot Test. Food and Chemical Toxicology, 43:443-450.

Çelik M (2022) Kardeş Kromatit Değişimi Testi. Genetik toksikoloji, 1:186-188.

Das P, John G (1999) Induction of sister Chromatid Exchanges and Chromosome Aberrations in vivo in Etroplus Suratensis (Bloch) Following Exposure to Organophosphorus Pesticides. Toxicology Letters, 104:111-116.

Demir S, Turan İ, Ayazoğlu Demir E, Aliyazıcıoğlu Y (2017) Cytotoxic Effect of *Laurocerasus officinalis* Extract on Human Cancer Cell Lines. Marmara Pharmaceutical Journal, 21:121-126.

Dixit M, Kumar A (2011) İn Vitro Gene Genotoxicity Test Methods. Genetic Toxicology, 1:69-91.

Dizdari A, Kopliku D (2013) Cytotoxic and Genotoxic Potency Screening of Two Pesticides on *Allium cepa* L. Procedia Technology, 8:19-26.

Dubrovina AS, Kiselev KV (2017) Regulation of Stilbene Biosynthesis in Plants. Planta, 246:597-623.

Dursun S, İslam A (2020) Karayemişte Siyanür İçerikli Amigdalın ve Prunasın Miktarlarının Belirlenmesi. Akademik Ziraat Dergisi , 9(2):213-222.

Eken A, Endirlik B, Bakır E, Baldemir A, Yay A, Cantürk F (2017) Effect of *Laurocerasus officinalis* Roem. (Cherry Laurel) Fruit on Dimethoate Induced Hepatotoxicity in Rats. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 23(5): 779-787.

Erdoğan Orhan İ, Küpeli Akkol E (2011) Estimation of Neuroprotective Effects of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) by İn Vitro Methods. Food Research International, 44:818-822.

Ertaş E, Kılıç İ, Kurt B, Tonus S, Bayıl Oğuzkan S, Özaslan M (2017) Investigation of DNA Protective Activities and Effect on Stenotrophomonas Maltophilia of *Rosa canina* and *Lycium barbarum* Plant Extracts. International symposium on medicinal aromatic and dye plants, Malatya, 388.

Ertuğrul K, Dural H, Tugay O, Uysal T, Demirelma H (2012) Çiçekli Bitkilerin Çeşitliliği ve Sınıflandırılması. Nobel yayıncılık, Ankara.

FAO (2023, 10 29) "International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides" https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Code/Annotated_Guidelines2013.pdf.

FAOSTAT (2024, 03 11) "Pesticides Use, Pesticides Trade and Pesticides Indicators" <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>.

Fat A, Beyhan N, Balık H (2022) Karayemişte (*Laurocerasus officinalis* Roemer) Çiçek Tozu Kalite Düzeylerinin Belirlenmesi. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, 8(2):166-178.

Fenech M (2020). Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay Evolution into a More Comprehensive Method to Measure Chromosomal Instability. Genes, 11: 1-13.

Fiskesjö G (1985) The Allium Test as a standard in Environmental Monitoring. Hereditas, 102:99-112.

Fiskesjö G (1988) The Allium Test-an Alternative in Environmental Studies: The Relative Toxicity of Metal İons. Mutation Research, 197(2):243-260.

Fiskesjö G, Levan A (1993) Evaluation of the First Ten MEIC Chemicals in the Allium Test. Alternatives to Laboratuvarı Animals, 21(2):139-149.

Frantzios G, Papsiki K, Sidiropoulou B, Lazaridis I, Theophilidis G, Mavragani Tsipiidou P (2008) Evaluation of Insecticidal and Genotoxic Effects of Imidacloprid and Acetochlor in *Drosophila melanogaster*. J. Appl. Entomol., 132:583-590.

Frei H, Würgler F (2003) Statistical Methods to Decide Whether Mutagenicity Test Data from *Drosophila* Assays Indicate a Positive, Negative, or Inconclusive Result. Mutation Research, 203(4):297-308.

Fusconi A, Repetto O, Bona E, Massa N, Gallo C, Dumas Gaudot E (2006) Effects of Cadmium on Meristem Activity and Nucleus Ploidy in Roots of *Pisum sativum* L. cv. Frisson Seedlings. Environmental and Experimental Botany, 58:253-260.

Ghasemzadeh A, Ghasemzadeh N (2011) Flavonoids and Phenolic Acids: Role and Biochemical Activity in Plants and Human. Journal of Medicinal Plants Research, 5(31):6697-6703.

Glei M, Liegibel M, Ebert M, Böhm V, Pool-Zobel B (2002) β -Carotene Reduces Bleomycin-Induced Genetic Damage. Toxicology and Applied Pharmacology, 179: 65-73.

Gosselin Badaroudine P, Charnet P, Collet C, Chahine M (2017) Metaflumizone Inhibits the honeybee NaV1 Channel by Targeting Recovery from Slow Inactivation. Federation of European Biochemical Societies, 591:3842-3849.

Grace George J, TP A (2017) Risk Alleviation of Pesticides in Agriculture: From History to Analytical. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, 1:1203-1204.

Graf U, Würgler F, Frei H, Juon H, Hall C, Kale P (1984) Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. Environmental Mutagenesis, 6: 153-188.

Grover I, Kaur S (1999) Genotoxicity of Wastewater Samples from Sewage and Industrial Effluent Detected by the Allium Root Anaphase Aberration and Micronucleus Assays. Mutation Research, 426:183-188.

Gunasekarana V, Victor Raj G, Chand P (2015) A Comprehensive Review on Clinical Applications of Comet Assay. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 9(3): 1-5.

Gupta P (2018) Toxicity of Fungicides. Veterinary Toxicology, Academic Press, New York.

Gül G (2017) Karayemişin (*Laurocerasus officinalis* Roem.) Bazi Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri Üzerine Kurutmanın Etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Samsun.

Güler Ç, Çobanoğlu Z (1997) Pestisitler. İlköz yayıncılık, Ankara.

Güneş E, Şensoy E (2021) Investigation of the Effects of Chlorpyrifos Toxicity on Movement Physiology in *Drosophila melanogaster*. J. Int. Environmental Application & Science, 16(4):192-197.

Hassanpour S, Maheri-Sis N, Eshratkhah B, Mehmandar F (2011) Plants and Secondary Metabolites (Tannins): A Review. International Journal of Forest, Soil and Erosion, 1(1):47-53.

Herrmann K, Weaver L (1999) The Shikimate Pathway. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol, 50:473-503.

Hidalgo D, Sanchez R, Lalaleo L, Bonfill M, Corchete P, Palazon J (2018) Biotechnological Production of Pharmaceuticals and Biopharmaceuticals in Plant Cell and Organ Cultures. Current Medicinal Chemistry, 25(30):3577-3596.

Hough RL (2021) A World View of Pesticides. Nature Geoscience, 1:183-184.

IRAC (2020) "IRAC Mode of Action Classification Scheme" <https://irac-online.org/documents/moa-classification/>.

Ivanova E, Staikova T, Velcheva I, Kostadinova P (2003) Somatostatic Effect of Heavy Metal Contaminated Waters in the Region of the Town of Panagjurishte, Bulgaria. Journal of Environmental Protection and Ecology, 4(2):284-287.

Karabegovic I, Stojicevic S, Velickovic D, Todorovic Z, Nikolic N, Lazic M (2014) The Effect of different Extraction Techniques on the Composition and Antioxidant Activity of Cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) Leaf and Fruit Extracts. Industrial Crops and Products, 54:142-148.

Karaman A (2023) Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda Metaflumizonun Oksidatif Stres Aracılı Hematotoksisitesi ve Kolemonitin Modülatör Etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.

Karataş A, Bahçeci Z (2009) Effect of Cypermethrin on Some Developmental Stages of *Drosophila melanogaster*. Bull Environ Contam Toxicol, 82:738-742.

Karataş E, Uçar A (2018) Karayemiş’in Sağlık Üzerine Etkisi. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 27:70-75.

Kastenbaum M, Bowman K (1970) Tables for Determining the Statistical Significance of Mutation Frequencies. Mutation Research, 9:527-549.

Khanna N, Sharma S (2013) *Allium cepa* Root Chromosomal Aberration Assay: A Review. Indian J. Pharm. Biol. Res., 1(3):105-119.

Klug WS, Cummings MR, Spencer CA, Palladino MA, Killian D (2018) Genetik Kavramlar. Palme Yayınevi, Ankara.

Knasmüller S, Fenech M (2019) The Micronucleus Assay in Toxicology. The Royal society of chemistry, Canada.

Konopacka M, Wolny J (2001) Antioxidant Vitamins C, E and β -carotene Reduce DNA Damage Before as well as After g-ray Irradiation of Human Lymphocytes in Vitro. Mutation Research, 491:1-7.

Kortekamp A (2011) Herbicides and environment. In Tech, Croatia.

Lakhotia S, Ranganath H (2021) Experiments with *Drosophila* for Biology Course. Indian Academy of Sciences, India.

Lamsal K, Ghimire B, Sharma P, Ghimiray A, Kim S, Yu C (2010) Genotoxicity Evaluation of the Insecticide Ethion in Root of *Allium cepa* L. African Journal of Biotechnology, 9(27):4204-4210.

Lee K, Hwang L, Jeong E, Kim S, Kim Y, Sung S (2010) Effect of Neuroprotective Flavonoids of *Agrimonia eupatoria* on Glutamate-Induced Oxidative Injury to HT22 Hippocampal Cells. Biosci. Biotechnol. Biochem., 74(8):1704-1706.

Leme D, Marin-Morales M (2009) *Allium cepa* Test in Environmental Monitoring: A Review on its Application. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 682:71-81.

Levan A (1938) The Effect of Colchicines in Root Mitosis in *Allium*. Hereditas, 24: 471-486.

Lewis E (1960) A New Standart Food Medium. *Drosophila* Information Service, 34: 118-119.

Lewis R (2010) Human Genetics: Concepts and applications. Routledge, London.

Li X, Yang X, Zheng X, Bai M, Hu D (2020) Review on Structures of Pesticide Targets. International Journal of Molecular Sciences, 21(7144):1-16.

Lussier F, Colatiriano D, Wiltshire Z, Page J, Martin V (2012) Engineering Microbes for Plant Polyketide Biosynthesis. Computational and Structural Biotechnology Journal, 3(4):1-11.

Malheiros J, Simoes D, Figueirinha A, Cotrim M, Fonseca D (2022) *Agrimonia eupatoria* L.: An Integrative Perspective on Ethnomedicinal Use. Journal of Ethnopharmacology, 296:1-20.

Marcincakova D, Kolesarova M, Falis M, Horn C, Milek M, Legath J (2022) Potential Role of *Agrimonia eupatoria* L. Extract in Cell Protection Against Toxicity Induced by Bisphenol A. *Folia Veterinaria*, 66(1):33-41.

Marcos R, Carmona E (2013) The Wing-Spot and the Comet Tests as Useful Assays Detecting Genotoxicity in *Drosophila*. *Methods in Molecular Biology*, 1044: 417-427.

Matos M, Santana L, Uriarte E, Abreu O, Molina E, Yordi E (2015) Coumarins-an Important Class of Phytochemicals. *Phytochemicals Isolation, Characterisation and Role in Human Health*, 1:113.

Mi Cho Y, Eun Kwon J, Lee M, Lea Y, Jeon D, Jun Kim H (2018) *Agrimonia eupatoria* L. (Agrimony) Extract Alters Liver Health in Subjects with Elevated Alanine Transaminase Levels: A Controlled, Randomized, and Double-Blind Trial. *Journal of Medicinal Food*, 21(3):1-7.

Mohammed M, Ali J, Saeed Y, Yaseen İ, Ahmad B (2022) Biological Activity of Some Phenolic Compounds Extracted from *Agrimonia eupatoria* against Several Pathogenic Bacteria Species. *Biodiversitas*, 23(9):4912-4917.

Morais C, Bonetti A, Malfitano Carvalho S, Alves de Rezende A, Rodrigues Araujo G, Antonio Spano M (2016) Assessment of the Mutagenic, Recombinogenic and Carcinogenic Potential of Fipronil Insecticide in Somatic Cells of *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, 165:342-351.

Oğuz S, Omurtag G, Arıcıoğlu F, Şardaş S (2013) Mutajenik Karsinojenik Etkinin Ames Testi ile Araştırılması. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2):75-82.

Oney-Birol S (2019) Exogenous L-Carnitine Promotes Plant Growth and Cell Division by Mitigating Genotoxic Damage of Salt Stress. *Scientific Reports Nature Research*, 9(17229):1-12.

Öz S, Çakır Arıca Ş (2019) *Myrtus communis* L. (Mersin) Yaprak Ekstraktının Genoprotektif Etkisinin Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile Değerlendirilmesi. BEÜ Fen Bilimleri Dergisi, 8(3):875-882.

Öztürk Okatan D, Kerimoğlu G, Güney C (2021) Erişkin Sıçanlarda Metotreksatın Neden Olduğu Barsak Hasarı Üzerine Karayemişin Etkisi. 1 st International Medicine, Health and Communication Sciences Congress, Turkey, 180-181.

Pagare S, Bhatia M, Tripathi N, Pagare S, Bansal Y (2015) Secondary Metabolites of Plants and Their Role: Overview. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy, 9(3):293-304.

Palabaş Uzun S, Uzun A, Alıcı E (2020) Seed Morphology of Some Selected Species of Fabaceae, Polygonaceae, Primulaceae, Violaceae, Rosaceae and Phyllanthaceae. Journal of the Institute of Science and Technology, 10(3):2028-2036.

Paluch Z, Biriczova L, Pallag G, Marques E, Vargova N, Kmonickova E (2020) The Therapeutic Effects of *Agrimonia eupatoria* L. Physiol. Res., 69(4):555-571.

Panchal K, Tiwari A (2017) *Drosophila melanogaster* "A potential model organism" for Identification of Pharmacological Properties of Plants/Plant-Derived Components. Biomedicine & Pharmacotherapy, 89:1331-1345.

Pandey A, Sakya S (2009) Effect of Triazophos on Mitotic Activity and Chromosomal Behavior in Root Meristems of *Allium cepa* L. Botanica Orientalis. Journal of Plant Science, 6:4-7.

Parlak Akyüz A, Karayücel İ, Dernekbaşı S (2019) Ticari Yetiştiricilik Ortamında Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yemine İlave Edilen Karayemiş Yaprığı (*Laurocerasus officinalis*) Ekstraktının Büyüme, Yaşama Oranı ve Karaciğer Katalaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi (GBAD), 8(1):37-51.

Parvathi D, Amritha A, Paul S (2009) Wonder Animal Model for Genetic Studies - *Drosophila Melanogaster* –Its Life Cycle and Breeding Methods- A Review. Sri Ramachandra Journal of Medicine, 2(2):33-38.

Pitchakarn P, Inthachat W, Karinchai J, Temviriyankul P (2021) Human Hazard Assessment Using *Drosophila* Wing Spot Test as an Alternative in Vivo Model for Genotoxicity Testing-A Review. International Journal of Molecular Sciences, 22:1-24.

Plants of the World Online (2023, 11 11) <https://powo.science.kew.org/>

Polat A (2022) Tarımda pestisitler: Dünya'da ve Türkiye'de kullanımları. ResearchGate, 26(2):1-13.

Prijono D, Pusporini A, Arifatil Aini H, Munawaroh (2019) Susceptibility of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.), from West Java, Indonesia to Five Non-Classical Insecticides. International Journal of Agriculture, Environment and BioResearch, 4(1):51-60.

Pukalskiene M, Slapsyte G, Dedonyte V, Lazutka J, Mierauskiene J, Venskutonis P (2018) Genotoxicity and Antioxidant Activity of Five Agrimonia and Filipendula Species Plant Extracts Evaluated by Comet and Micronucleus Assays in Human Lymphocytes and Ames Salmonella/Microsome Test. Food and Chemical Toxicology, 113:303-313.

Rao P, Bellin C, Brusseau M (1993) The Mobility and Degradation of Pesticides in Soils and the Pollution of Groundwater Resources. SSSA special publication, Wisconsin.

Saaeedi Saravi S, Shokrzadeh M (2011) Role of Pesticides in Human Life in the Modern Age: A review. Pesticides in the modern world: Risks and benefits. InTech, Rijeka.

Saffari P, Majd A, Jonoubi P, Najafi F (2021) Study on the Reproductive Organs Development and Embryological Features of *Agrimonia eupatoria* L. (Rosaceae). Botany Letters, 168(2):270-282.

Saks M, Upreti S, SV R, Dang R (2017) Genotoxicity: Mechanisms, Testing Guidelines and Methods. Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science, 1(5): 1-6.

Salgado V, Hayashi J (2007) Metaflumizone is a Novel Sodium Channel Blocker Insecticide. Veterinary Parasitology, 150:182-189.

Samanta A, Das G, Kumar Das S (2011). Roles of Flavonoids in Plants. Int J Pharm Sci Tech, 6(1):12-13.

Sandayuk Ş, Aksu Kılıç P (2020) Investigation of the Genotoxic Effect of Acetamiprid in Mouse Bone Marrow Cells by CA (chromosomal aberration) and MN (micronucleus) Test Methods. Atatürk University Journal of Veterinary Sciences, 15(2):130-137.

Santos T, Costa G, Ferreira P, Liberal J, Francisco V, Paranhos A (2017) Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Analgesic Activities of *Agrimonia eupatoria* L. Infusion. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1:1-13.

Savic T, Patenkovic A, Sokovic M, Milan Glamoclija J (2011) The Effect of Royal Sun Agaricus, Agaricus brasiliensis S. Wasser et al., Extract on Methyl Methanesulfonate Caused Genotoxicity in *Drosophila melanogaster*. International Journal of Medicinal Mushrooms, 13(4):377-385.

Sehgal R, Roy S, Kumar V (2006) Evaluation of Cytotoxic Potential of Latex of Calotropis Procera and Podophyllotoxin in *Allium cepa* Root Model. Biocell, 30(1):9-13.

Sheikh N, Patowary H, Amin Laskar R (2020) Screening of Cytotoxic and Genotoxic Potency of Two Pesticides (Malathion and Cypermethrin) on *Allium cepa* L. Molecular & Cellular Toxicology, 16:291-299.

Shin S, Joo B, Lee J, Ryu G, Han M, Kim W (2020) Phytochemicals as Anti-Inflammatory Agents in Animal Models of Prevalent Inflammatory Diseases. *Molecules*, 25:1-27.

Silver K, Dong K, Zhorov B (2017) Molecular Mechanism of Action and Selectivity of Sodium Channel Blocker Insecticides. *Curr Med Chem.*, 24(27):2912-2924.

Singh D (2012) Toxicology: Agriculture and Environment, Pesticide Chemistry and Toxicology. Bentham, Delhi- India.

Soliman M, Ghoneam G (2004) The Mutagenic Potentialities of Some Herbicides Using *Vicia faba* as a Biological System. *Biotechnology*, 3(2):140-154.

Tagorti G, Kaya B (2022) Publication Trends of Somatic Mutation and Recombination Tests Research: A Bibliometric Analysis (1984–2020). *Genomics & Informatics*, 20(1):1-15.

Takagi K, Hamaguchi H, Nishimatsu T, Konno T (2007) Discovery of Metaflumizone, a Novel Semicarbazone Insecticide. *Veterinary Parasitology*, 150:177-181.

Tavşanlı N, Taner G (2021) Comparison of the Cytotoxic Effects of *Inula Viscosa* Methanol and Water Extracts on Normal and Cancer Human Lung Cell Lines. 1 st International Conference on Applied Engineering and Natural Sciences, Konya, 602.

Tedesco S, Laughinghouse H (2012) Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. Environmental Contamination, In Tech, Croatia.

Tejs S (2008) The Ames Test: A Methodological Short Review. *Environmental Biotechnology*, 4(1):7-14.

Temel M, Tınmaz A, Öztürk M, Gündüz O (2018) Dünya'da ve Türkiye'de Tıbbi-Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Ticareti. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 21:198-214.

Terziev V, Georgieva S (2019) The Pesticides Toxic Impact on the Human Health Condition and the Ecosystem. IJASOS-International E-Journal of Advances in Social Sciences, 5(15):1316.

Tiring G, Satar S, Özkaya O (2021) Sekonder Metabolitler. Journal of Agricultural Faculty of Bursa Uludağ University, 35(1):203-215.

TİSİT (2023, 10 29) "Pestisit ve pestisitlerin sınıflandırılması. TİSİT- Tarım ilaçları sanayici, ithalat ve temsilciler derneği" http://tisit.org.tr/pdf_dosya/pestisit_ve_pestisitlerin_siniflandirilmesi.pdf.

TOB (2023, 10 29) "T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve kontrol Genel Müdürlüğü. Tarımsal İlaç İstatistikleri" <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Menu/115/Resmi-Tarimsal-Ilac>.

Toğay V A, Yavuz Türel G, Aşçı Çelik D, Özgöçmen M, Evgen Tülüceoğlu E, Şen İ, (2020) DNA Damage Effect of Cyprodinil and Thiacloprid in Adult Zebrafish Gills. Environmental Science and Pollution Research, 28:14482-14487.

Turkez H, Arslan M, Özdemir Ö (2017) Genotoxicity Testing: Progress and Prospects for the Next Decade. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, 13(10):1089-1098.

Uysal H, Demir B (2017) Insecticides, One of the Environmental Factors, Limit the Longevity, XIII. Congress of Ecology and Environment with International Participation-UKECEK, Edirne, 445.

Uysal H, Ünver S, Kızılet H (2015) The Effects of Neonicotinoids on the Longevity Of the Male and Female Populations of *Drosophila melanogaster*. Ecology, 24(96): 57-63.

Ülger TG, Yabancı Ayhan N (2020) Bitki Sekonder Metabolitlerinin Sağlık Üzerine Fonksiyonel Etkileri. ACU Sağlık Bil. Derg., 11(3):384-390.

Valles SM, Koehler PG (2003) Insecticides Used in the Urban Environment: Mode of Action. IFAS, Florida.

Vats S (2015) Herbicides: History, Classification and Genetic Manipulation of Plants for Herbicide Resistance. Sustainable Agriculture, 15:153-192.

Venkateshwarlu M (2021) Cell Biology and Cytogenetics. Bhumi Publishing, India.

Verna PS, Agarwal VK (2005) Cell Biology, Genetics, Molecular Biology, Evolution and Ecology. Ram Nagar, New Delh.

Vijay U, Gupta S, Mathur P, Suravajhala P, Bhatnagar P (2018) Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test. Bio-Protocol, 8(6):1-15.

Vranova E, Coman D, Grussem W (2012) Structure and Dynamics of the Isoprenoid. Molecular Plant, 5(2):318-333.

Vural N (2005) Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara.

WFO (2024) WFO plant list. World flora online: <https://wfoplantlist.org/>.

Xin C, Wenhua L (2022) Metaflumizone Disrupts Swim Bladder Development in Zebrafish (*Danio rerio*). Asian Journal of Ecotoxicology, 3:454-461.

Yadav I, Linthoingambi Devi N (2017) Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. Environ. Sci. & Engg. (Toxicology), 6:143.

Yalçın M, Mermer S, Kozacı L, Turgut C (2015) Insecticide Resistance in Two Populations of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) from Turkey. Türk. entomol. derg., 39(2):137-145.

Yıldız E. (2021) Karayemiş'in (*Laurocerasus officinalis* Roem.) Genotoksik / Antigenotoksik ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Sakarya.

Young R (2002) Genetic Toxicology: Web Resources. Toxicology, 173:103-121.

Yüzbaşıoğlu D, Ünal F, Sancak C (2009) Genotoxic Effects of Herbicide Illoxan (Diclofop-Methyl) on *Allium cepa* L. Turkish Journal of Biology, 33(4):282-290.

Zhang Z, Li J, GAO X (2012) Sublethal Effects of Metaflumizone on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Integrative Agriculture, 11(7):1145-1150.

Zubrod J, Bundschuh M, Arts G, Brühl C, Imfeld G, Knabel A (2019) Fungicides: An Overlooked Pesticide Class? Environ. Sci. Technol., 53:3347-3365.

