



**SOLANACEAE FAMILİYASINA AİT FARKLI
TÜRLERİN TOKSİK POTANSİYELLERİNİN
DROSOPHILA MELANOGASTER'DE KISA SÜRELİ
TEST TEKNİKLERİ İLE BELİRLENMESİ**

Şebnem LOKUMCU

Danışman: Prof. Dr. Handan UYSAL

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Ana Bilim Dalı

2022

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**SOLANACEAE FAMILİYASINA AİT FARKLI TÜRLERİN TOKSİK
POTANSİYELLERİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'DE KISA SÜRELİ TEST
TEKNİKLERİ İLE BELİRLENMESİ**

(Determination of Toxic Potentials of Different Species Belonging to Solanaceae Family in
Drosophila melanogaster by Short-term Test Techniques)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şebnem LOKUMCU

Danışman: Prof. Dr. Handan UYSAL

Erzurum
Haziran, 2022

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**SOLANACEAE FAMILİYASINA AİT FARKLI TÜRLERİN TOKSİK
POTANSİYELLERİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'DE KISA SÜRELİ TEST
TEKNİKLERİ İLE BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Handan UYSAL danışmanlığında, Şebnem LOKUMCU tarafından hazırlanan bu çalışma, .../.../20... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisan tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Özkan AKSAKAL <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Handan UYSAL <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. İsmail BEZİRGANOĞLU <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Enstitü Yönetim
Kurulunun .../.../.... tarih
ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Handan UYSAL danışmanlığında sunulan “*Solanaceae Familyasına ait Farklı Türlerin Toksik Potansiyellerinin Drosophila melanogaster’de Kısa Süreli Test Teknikleri ile Belirlenmesi*” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	6	30
Kuramsal Temeller	17	30
Materyal ve Yöntem	18	35
Bulgular	19	20
Tartışma	4	20
Tezin Geneli	14	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5’den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Şebnem LOKUMCU	Prof. Dr. Handan UYSAL
13.5.2022	13.5.2022
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayımlanmasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmam boyunca yakın ilgisini esirgemeyen, bilim insanı kişiliğinden çok şey öğrendiğim ve tezimin hazırlanma aşamasında büyük emeği olan çok değerli hocam Prof. Dr. Handan UYSAL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince bana destek olan Dr. Halit Kızılet'e, Uzm. Hatice Çelik'e, Uzm. Kakageldi Amandurdyev'e ve Uzm. Hüsnü Bayam'a,

Son olarak sevgi, güven ve desteklerini her daim arkamda hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Şebnem LOKUMCU

Haziran, 2022

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SOLANACEAE FAMILİYASINA AİT FARKLI TÜRLERİN TOKSİK
POTANSİYELLERİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'DE KISA SÜRELİ TEST
TEKNİKLERİ İLE BELİRLENMESİ

Şebnem LOKUMCU

Danışman: Prof. Dr. Handan UYSAL

Amaç: Günümüzde insanların doğala dönüş sloganı sebebiyle farklı bitki türleri içerdikleri biyoaktif maddeler yönünden araştırılmakta ve bu biyoaktif maddeler insanlar tarafından günlük hayatta kullandıkları çeşitli ürünler ile vücuda alınmaktadır. Bu bitkilerin biyoaktif maddeleri gıda, ilaç, tekstil ve kozmetik sektörlerine ait ürünlerde kullanılmaktadır. Düşük miktarlarda iyileştirici özellik gösteren etken maddeler, yüksek miktarlarda kullanılıncı zehirleyici olabilmektedir. *Datura stramonium* L. (boru otu), *Hyoscyamus niger* L. (ban otu) ve *Nicotiana rustica* L. (Maraş otu) türleri Solanaceae familyasına dahildir ve dağlık, ormanlık alanlar, boş araziler ve bahçelerde yetişirler. Bu bitkilerin keyif verici özelliklerinden dolayı halk arasında yaygın şekilde kullanıldığı da bilinmektedir. Özellikle bu üç türün bazı vejetatif ve generatif kısımları sigara gibi ya da çiğneyerek kullanılmakta ve uyuşturucu potansiyeli ile insanlarda bağımlılık yaratmaktadır. Ayrıca insanlar tarafından vücuda alındığında toksik etki de gözlenebilmektedir. Bu tez çalışmasının amacı da bağımlılık yapıcı özelliğe sahip olduğu bilinen bitki türlerinin *Drosophila melanogaster*'de toksik ve genotoksik etkili olup olmadığının kısa süreli test teknikleri ile belirlenmesidir.

Yöntem: Çalışmada her bitkiye ait farklı ekstraktların toksik etkisi ömür uzunluğu testi, genotoksik etkisi ise somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile araştırılmıştır. Bu amaçla model organizma olarak *D. melanogaster*'in Oregon-R yabanıl soyu ve mutant soyları kullanılmıştır.

Bulgular: *D. stramonium*, *H. niger* ve *N. rustica* bitkilerine ait su ve metanol ekstraktları farklı dozlarda olmak üzere *D. melanogaster*'in Oregon-R yabanıl soyuna ait dişi ve erkek popülasyonlarına uygulanmıştır. Artan uygulama dozuna bağlı olarak hem maksimum hem de ortalama ömür uzunluğunda kontrol gruplarına göre kısalma tespit edilmiştir ($p<0,05$). SMART'dan elde edilen verilere göre de bitkisel ekstraktların mutant klon frekansını artırdığı ve somatik mutasyonları uyardığı gözlenmiştir.

Sonuç: İnsanlar tarafından keyif verici olarak kullanılan *D. stramonium*, *H. niger* ve *N. rustica* bitkilerine ait ekstraktların toksik ve genotoksik etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Patlıcangiller familyası, ömür uzunluğu, somatik mutasyon, toksisite, genotoksisite.

Haziran 2022, 121 Sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

DETERMINATION OF TOXIC POTENTIALS OF DIFFERENT SPECIES BELONGING TO SOLANACEAE FAMILY IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* BY SHORT-TERM TEST TECHNIQUES

Şebnem LOKUMCU

Supervisor: Prof. Dr. Handan UYSAL

Purpose: Today, due to the slogan of people's return to nature, different plant species are investigated in terms of the bioactive substances they contain and these bioactive substances are taken into the body by various products that people use in their daily life. The bioactive substances of these plants are used in products belonging to the food, medicine, textile and cosmetics sectors. Active substances that show healing properties in low amounts can be toxic when used in high amounts. *Datura stramonium* L., *Hyoscyamus niger* L. and *Nicotiana rustica* L. species belong to the Solanaceae family and grow in mountainous, wooded areas, vacant lots and gardens. It is also known that these plants are widely used among the people due to their pleasing properties. In particular, some vegetative and generative parts of these three species are used as cigarettes or by chewing, and they are addictive in humans with their drug potential. In addition, toxic effects can be observed when taken into the body by humans. The aim of this thesis is to determine whether plant species known to have addictive properties are toxic and genotoxic in *Drosophila melanogaster* by short-term test techniques.

Method: In the study, the toxic effect of different extracts of each plant was investigated by the longevity test, and the genotoxic effect was investigated by the somatic mutation and recombination test (SMART). For this purpose, Oregon-R wild strain and mutant strains of *D. melanogaster* were used as model organisms.

Findings: Water and methanol extracts of *D. stramonium*, *H. niger* and *N. rustica* plants were applied at different doses to female and male populations of the Oregon-R wild strain of *D. melanogaster*. Depending on the increasing application dose, both the maximum and mean lifespan were shortened compared to the control groups ($p < 0,05$). According to the data obtained from SMART, it was observed that herbal extracts increased the frequency of mutant clones and stimulated somatic mutations.

Results: It has been determined that the extracts of *D. stramonium*, *H. niger* and *N. rustica* plants, which are used as pleasure by humans, are toxic and genotoxic.

Keywords: Solanaceae, longevity, somatic mutation, toxicity, genotoxicity.

June 2022, 121 pages

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xii
GİRİŞ.....	1
Sekonder Metabolitler	3
Terpenler	3
Fenolik bileşikler.....	4
Alkaloidler.....	5
Yaşlanma.....	8
Somatik mutasyon teorisi.....	8
Serbest radikaller teorisi.....	9
Nöroendokrin teori	10
İmmünolojik teori	10
Proteinlerin değişikliğe uğraması teorisi.....	10
Telomer kısalması teorisi	11
Antagonistik pleiotropi teorisi.....	12
Uzun yaşam genleri teorisi.....	12
Aşınma ve yıpranma teorisi	12
Yaşam oranı teorisi	13
İvmelenmiş yaşlılık sendromları teorisi	13
Çapraz bağlama teorisi	13
Genetik Toksikoloji.....	13
Ömür uzunluğu testi	15
Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)	17
KURAMSAL TEMELLER.....	22
MATERYAL METOT	28
Materyal	28

Kullanılan organizma	28
Çalışmada kullanılan bitkiler	38
Kullanılan kimyasal maddeler, alet ve cihazlar	43
Metot	44
Kullanılan bitkilerin toplanması ve kurutulması.....	44
Kullanılan bitkilerin metanol ekstraktlarının hazırlanması.....	44
Kullanılan bitkilerin su ekstraktlarının hazırlanması	44
<i>Drosophila</i> besi yerinin hazırlanması	45
<i>D. melanogaster</i> için eterizasyon (bayılma) işleminin yapılması	45
Ömür uzunluğu testi için ergin birey seçimi	46
Bitki ekstraktlarına ait stok solüsyonların hazırlanması ve ergin bireylere bitki ekstraktlarının uygulanması	46
SMART için ergin birey seçimi	47
3. evre larvalara bitkisel ekstraktların uygulanması ve elde edilen ergin bireylerin kanat preparatlarının hazırlanması.....	47
Hazırlanan kanat preparatlarının mikroskopik analizi.	48
Klon indüksiyon frekansının hesaplanması	49
İstatistiksel analiz yöntemleri.....	49
Mikrofotografi.....	50
ARAŞTIRMA BULGULARI	51
Ömür Uzunluğu Testinden Elde Edilen Bulgular	51
Kontrol gruplarında ömür uzunluğunun belirlenmesi.....	51
NR _{su} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi	52
NR _{met} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi	54
HN _{su} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi	56
HN _{met} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi.....	58
DS _{su} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi	60
DS _{met} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi	62
Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinden Elde Edilen Bulgular	65
Negatif ve pozitif kontrol gruplarına ait SMART bulguları	66
NR _{su} ekstraktına ait SMART bulguları	71
NR _{met} ekstraktına ait SMART bulguları.....	73
HN _{su} ekstraktına ait SMART bulguları	75
HN _{met} ekstraktına ait SMART bulguları.....	77
DS _{su} ekstraktına ait SMART bulguları.....	79

DS _{met} ekstraktına ait SMART bulguları	81
TARTIŞMA ve SONUÇ	83
KAYNAKLAR.....	92
ÖZGEÇMİŞ.....	106



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Alkaloidlerin Sınıflandırılması	5
Tablo 2. <i>Drosophila</i> Besi Yerinin İçeriği	45
Tablo 3. Faure Solüsyonunun İçeriği.....	48
Tablo 4. <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Kontrol Gruplarına ait Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması	52
Tablo 5. Kronik NR _{su} Uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması	53
Tablo 6. Kronik NR _{met} Uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması	55
Tablo 7. Kronik HN _{su} Uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması	57
Tablo 8. Kronik HN _{met} Uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması	59
Tablo 9. Kronik DS _{su} Uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması	61
Tablo 10. Kronik DS _{met} Uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması	63
Tablo 11. <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Ortalama Ömür Uzunluğu İçin Belirlenen Regresyon Katsayısı ve Toksisite Sıralaması.....	64
Tablo 12. Distile Su, DMSO ve EMS Kontrol Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları.....	67
Tablo 13. NR _{su} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları	72
Tablo 14. NR _{met} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları	74
Tablo 15. HN _{su} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları	76
Tablo 16. HN _{met} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları	78
Tablo 17. DS _{su} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları	80
Tablo 18. DS _{met} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. a) Skopolamin b) atropin ve c) hiyosiyamin tropan alkaloidlerinin kimyasal.	7
Şekil 2. a) Nikotin b) anabasin ve c) anatabin piridin alkaloidlerinin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 3. Genotoksik ajanların DNA üzerindeki etki mekanizması ve sonuçları.	15
Şekil 4. <i>D. melanogaster</i> 'in larval dönemine ait imajinal disklerin ergin bireyde oluşturdukları vücut kısımları.	17
Şekil 5. <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinin uygulama şekli.	19
Şekil 6. Somatik mutasyon ve rekombinasyonların oluşum mekanizmalarının şematik gösterimi.....	21
Şekil 7. <i>D. melanogaster</i> 'in vücut yapısı.	31
Şekil 8. <i>D. melanogaster</i> 'in baş kısmı.	31
Şekil 9. <i>D. melanogaster</i> 'in arista tipi anteni.	32
Şekil 10. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon-R yabanıl soyuna ait ergin dişi ve erkek bireyler.	32
Şekil 11. <i>D. melanogaster</i> 'in hayat döngüsü.	34
Şekil 12. <i>Drosophila</i> 'nın vücut yapısını oluşturan genlerin sınıflandırılması.	35
Şekil 13. <i>mwh</i> ve <i>flr³</i> genlerinin kromozom üzerindeki konumu.....	37
Şekil 14. a) <i>D. melanogaster</i> 'in yabanıl tip bireylerine ait uzun, düz kanat kıllarının ve b) <i>flr³</i> geni taşıyan bireylere ait kısa, körelmiş kanat kıllarının mikroskopik görüntüsü (10x40).	37
Şekil 15. a) <i>D. melanogaster</i> 'in yabanıl tip bireylerine ait kanat kıllarının ve b) <i>mwh</i> geni taşıyan bireylere ait kanat kıllarının mikroskopik görüntüsü (10x40).	38
Şekil 16. a) <i>flr³</i> genini taşıyan bireylerin testere dişi kanat fenotipi. b) <i>mwh</i> genini taşıyan bireylerin normal kanat fenotipi.	38
Şekil 17. <i>D. stramonium</i> L.'nin ülkemizde yayılış gösterdiği bölgeler.	39
Şekil 18. <i>D. stramonium</i> L.'nin dikensi çıkıntılara sahip meyvesi ve tohumları.	39
Şekil 19. Doğal ortamında farklı renklerde <i>Datura stramonium</i> L. bitkisi.	40
Şekil 20. <i>N. rustica</i> L.'nin ülkemizde bulunduğu şehirler.	41
Şekil 21. Doğal ortamında <i>Nicotiana rustica</i> L. bitkisinin görünüşü.	41
Şekil 22. <i>H. niger</i> L.'nin ülkemizde bulunduğu bölgeler.	42
Şekil 23. <i>H. niger</i> L. bitkisine ait meyve ve tohumların görünüşü.	42
Şekil 24. Doğal ortamında <i>Hyoscyamus niger</i> L. bitkisinin çiçekleri.	43
Şekil 25. Normal ve serrat kanatlara ait sektörler.	48

Şekil 26. NR _{su} uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.	54
Şekil 27. NR _{met} uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.	56
Şekil 28. HN _{su} uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.	58
Şekil 29. HN _{met} uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.	60
Şekil 30. DS _{su} uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.	62
Şekil 31. DS _{met} uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.	64
Şekil 32. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon-R yabanıl bireylerine ait normal kanat kıllarının mikroskopik görünüşü (10X40).	65
Şekil 33. a) <i>flare</i> bireyleri ile b) <i>mwh</i> bireylerine ait kanat kıllarının mikroskopik görünüşü (10X40).	66
Şekil 34. Küçük tek tip (KTT) mutant klonların mikroskopik görünüşü (10X40).	68
Şekil 35. Büyük tek tip (BTT) mutant klonların mikroskopik görünüşü (10X40).	69
Şekil 36. İkiz klonların mikroskopik görünüşü (10X40).	70

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ADA	: Adenozin Deaminaz
ALP	: Alkalen Fosfataz
AMPK	: Adenozin Monofosfata Bağımlı Protein Kinaz
Bd^s	: <i>Beaded (Serrat)</i> Geni
BTT	: Büyük Tek Tip Klon
CAT	: Katalaz
<i>D. stramonium</i> L.	: <i>Datura stramonium</i> Linnaeus
DIM	: <i>Drosophila</i> Instant Medium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DS_{met}	: <i>Datura stramonium</i> L. Metanol Ekstresi
DS_{su}	: <i>Datura stramonium</i> L. Su Ekstresi
EMS	: Etil Metansülfonat
<i>flr³</i>	: <i>Flare</i> Geni
G6PD	: Glikoz 6-Fosfat Dehidrogenaz
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Oranı
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
<i>H. niger</i> L.	: <i>Hyoscyamus niger</i> Linnaeus
H₀	: Orijinal (null) Hipotez
H_a	: Alternatif Hipotez
HGPS	: Hutchinson-Gilford Progeria Sendromu
HN_{met}	: <i>Hyoscyamus niger</i> L. Metanol Ekstresi
HN_{su}	: <i>Hyoscyamus niger</i> L. Su Ekstresi
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1
KA	: Kromozom Aberasyonu
KKD	: Kardeş Kromatit Değişimi
KTT	: Küçük Tek Tip Klon
M1	: Mortalite 1
M2	: Mortalite 2
MDA	: Malondialdehit

mg/kg	: Miligram/Kilogram
mg/ml	: Miligram/Mililitre
MN	: Mikronükleus
mwh	: <i>Multi wing hair</i> (Çoklu Kanat Kılığı Geni)
<i>N. rustica</i> L.	: <i>Nicotiana rustica</i> Linnaeus
NR_{met}	: <i>Nicotiana rustica</i> L. Metanol Ekstresi
NR_{su}	: <i>Nicotiana rustica</i> L. Su Ekstresi
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
ppm	: Milyonda Bir Birim (<i>Parts Per Million</i>)
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SGOT	: Aspartat Transaminaz
SGPT	: Alanin Transaminaz
SMART	: Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TAK	: Total Antioksidan Kapasitesi
TM3	: Dengeleyici Kromozom
TOS	: Total Oksidan Seviyesi
TP53	: Tümör Proteini 53
TSA	: Total Sialik Asit
UV	: Ultra viyole
WS	: Werner Sendromu
°C	: Santigrat Derece
Σ	: Toplam
%	: Yüzde
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
±	: Artı Eksi Değer
♀	: Dişi
♂	: Erkek

GİRİŞ

Doğada geniş yer kaplayan bitkiler (*Plantae*), Dünya’da yaklaşık 375.000 tür ile temsil edilen (Öztürk 2010), bazı tek hücreli canlılar ile birlikte fotosentez yaparak kendi besinini kendisi üretebilen, ökaryotik, ağaçlar, çalılar, çiçekler, otlar, yosunlar ve benzeri organizmaları içinde bulunduran çok büyük bir alemdir. Bu aleme dahil olan pek çok tür, insanlar ve hayvanlar için hem besin kaynağı hem de sağlık sorunlarının giderilmesi için iyileştirici olarak kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’ne göre, hastalıkların önlenmesi veya tedavi edilmesi için kullanılan bu tür bitkiler “tıbbi bitki” olarak adlandırılmaktadır (Ersöz 2010). Tıbbi amaçlı kullanımının yanında bitkilere ait farklı etken maddeler temizlik ürünlerinin kokusunda, diş macunlarının ferahlığında, gıdalarda tatlandırıcı veya baharat gibi lezzet verici olarak da birçok farklı şekilde bulunabilmektedir (Başaran 2012). Özellikle Billing and Sherman (1998)’a göre, baharatların yalnızca lezzetlendirici olarak değil aynı zamanda gıdalardaki patojenleri temizleme, insanlarda ömür uzunluğunu artırma ve üreme aktivitesine katkıda bulunma gibi fonksiyonları da bulunmaktadır.

Bitkilerin tedaviye yönelik olarak kullanımının antik çağlara dayandığı, Afrika, Amerika, Avustralya, Güneydoğu Asya, Hint ve Çin’e kadar birçok farklı kültüre mensup insanların da bitkileri farklı şekillerde uyguladıkları/kullandıkları bilinmektedir (Gurib-Fakim 2006). Tıbbi bitkilere dair en eski yazılı kanıt Sümer kil tabletleridir ve bu tabletlerde Sümerler döneminde *Commiphora myrrha* (mirra ağacı) bitkisinden elde edilen mür’ün bağırsak solucanlarını tedavi ettiği yazmaktadır. Bazı yazıtlara göre, Mısırlılar ve Çinliler bitkilerden hazırladıkları ilaçları tedavi için kullanan ilk insanlardır. Antik Yunan döneminde yaşayan insanların bitkileri tedavi yöntemi olarak kullandığı, tıbbın babası olarak bilinen Hipokrat ve onun öğrencisi Aristoteles’in de hastalıkların tedavisinde tıbbi bitkilerden yararlandığı bilinmektedir (Gurib-Fakim 2006; Jamshidi-Kia *et al.* 2018). Ayrıca Antik Roma’nın doktorlarından birisi olan Claudius Galen Pergamum, hastalık tedavilerinde kullanılmak için doğal bileşiklerle yapılan ilaçları formüle edip bunun üzerine 300’den fazla kitap yazmıştır (Khan 2014). Yine Antik Roma’nın önemli doktorlarından olan Dioscorides Pedanius, *Matricaria recucita* L. (papatya) bitkisini yaraları iyileştirmede, ülser tedavisi, ağız ve burun temizliğinde kullanmış ve “bitkilerin vejetatif (kök, gövde, yaprak) ve generatif (tohum ve meyve) kısımlarının idrarın, adet kanamasının ve böbrek taşlarının atılmasını sağlayacağını savunmuştur. Aynı zamanda *Urginea maritima* (ada soğanı)’yı idrar söktürücü, *Salix alba* (ak söğüt)’yı ateş düşürücü ve meşe kabuklarını da jinekolojik tedavilerde kullanmıştır (Petrovska 2012). Halberstein (2005) tarafından bildirildiğine göre, Antik Aztek toplumunda burun

kanaması, cilt, gut ve epilepsi gibi birçok hastalığın tedavisinde 132'den fazla bitki türünden yararlanılmıştır. Ayrıca İbn-i Sina'nın "El Kanun fi't Tıb" kitabında, tıbbi bitkilerden ve onların bileşenlerinden hazırlanan ilaçlardan da detaylı şekilde bahsedilmiştir (Aslan ve Karakuş 2019; Çelik 2020). Eski Mısır, Asur ve Babil dönemlerinden beri tesadüfen ya da deneme yanılma yöntemiyle elde edilen ve hangi bitkinin hangi hastalığın tedavisinde kullanılacağı hakkındaki bilgiler günümüze kadar ulaşmıştır (İli 2003; Kızılarıslan 2008). Örneğin, *Glycyrrhiza glabra* (meyan), *Papaver somniferum* (haşhaş), *Commiphora* spp. (mür) ve *Cedrus* spp. (sedir) bitkileri enfeksiyon, öksürük, grip gibi hastalıkların tedavileri için günümüzde de kullanılmaktadır (Gurib-Fakim 2006).

19. yüzyılda sentetik ilaç üretiminde artan bir talep görülmekle birlikte son yıllarda teknolojinin ilerlemesiyle farklı sağlık sorunlarının ortaya çıkması insanların tekrar tıbbi bitkileri hayatlarına dahil etmesine neden olmuştur (Sewell and Kopaei 2014). Bu eğilim ile birlikte "doğala dönüş/doğaya dönüş" ve "doğanın iyileştirici etkisi" adı altında tüm bitkilerin yararlı ve sağlık için oldukça önemli olduğu vurgusu yapılmaya başlanmıştır (Erdem ve Eren 2009). Bu kez de bir başka sorun ile karşı karşıya kalınmış ve insanlar bilimsel yöntemlerle etkileri araştırılmamış bitkileri, tavsiyelerle veya kulaktan dolma bilgilerle bitkisel çay, bitki suları ve merhem olarak günlük hayatta bilinçsizce kullanmaya başlamıştır (Göktaş ve Gıdık 2019). Ayrıca "her bitkinin güvenli ve sağlığa iyi geldiği/iyi gelebileceği" görüşünün de yanlış olduğunu belirtmemiz gerekmektedir. 16. yüzyılın önemli bilim insanlarından ve modern tıbbın kurucularından birisi olan İsviçreli doktor ve kimyager Paracelsus (Phillipus Theophrastus Bombastus von Hohenheim)'un "her şey zehirdir mühim olan dozdur" ve "ilacı zehirden ayıran şey dozdur" sözleri de bu durumu kanıtlar niteliktedir. Örneğin, fazla kilolarından kurtulmak isteyen kişilerin kullandıkları *Aristolochia fangchi* (Çin otu) bitkisinin nefropati yani böbrek hasarlarına yol açtığı bir olgu sunumunda tanımlanmıştır (Bent and Ko 2004). Bu yüzden bitkilerin vejetatif ve generatif organlarında bulundurdıkları bileşenlerin sebep olduğu/olabileceği durumlar araştırmacılar da merak uyandırmıştır. Böylece tıbbi bitkilerin içerdikleri biyoaktif maddelerin ve fonksiyonlarının ne olduğunun anlaşılabilmesi için çalışmalar başlatılmıştır (NCAHF Home Page 2009). İlaç firmaları da tedavi edici etkiye sahip bileşenlerin etkinlik ve güvenliğini değerlendirerek oluşabilecek yan etkilerini önceden tahmin edebilmektedirler. Ayrıca kontrollü klinik denemelere rağmen piyasaya sürülen ilaçlarda bile potansiyel yan etkilerin ortaya çıkabileceği de unutulmamalıdır (Calixto 2000). Burada bilinmesi gereken, bitkilerin doğal olmasının onların her zaman olumlu etkiler gösterebileceği anlamına gelmemesidir.

Sekonder Metabolitler

Organizmanın yaşamını devam ettirebilmesi için gerekli olan primer metabolitlerin (protein, karbonhidrat, yağlar, nükleik asit, amino asit gibi) dışında yaşamsal faaliyetler ile doğrudan bağlantısı olmayan ürünlere sekonder metabolit adı verilmektedir. Daha önceleri bitkinin organlarında biriken atık maddeler olarak bilinen bu metabolitlerin (Alaca ve Arslan 2012) yapılan araştırmalar neticesinde bitkinin böcekleri kendilerine çekmelerinde, herbivorlara karşı savunmalarında, tozlaşmada, UV ışını, sıcaklık ve nem gibi çevresel faktörlere karşı korunmalarında rol aldığı ortaya çıkmıştır (Dixon 2001; Karataş vd 2016).

Sekonder metabolitler, bitkilerin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarında bulunan önemli biyoaktif bileşenlerdir. Bu metabolitler gıda, kozmetik, eczacılık ve tıp gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır (Bayram vd 2011). Özellikle antidiyabetik, antienflamatuar, antikarsinojenik ve kardioprotektif etki göstermelerinden dolayı ilaç yapımında tercih edilmektedirler (Ülger ve Ayhan 2020). *Atropa belladonna* L. (güzel avrat otu) içeriğinde bulunan atropin antikolinergik, *Coptis japonica* (Japon pamukçuk kökü)'da bulunan berberin antienflamatuar, *P. somniferum* L.'de bulunan morfin ve kodein ağrı kesici, *Rauvolfia serpentina* (yılan kökü)'da bulunan reserpin tansiyon düşürücü ve *Erythroxylum coca* L. (koka ağacı)'da bulunan kokain lokal anesteziye kullanılmaktadır (Balandrin et al. 1993). *Thaumatococcus danielli* (Yoruba yumuşak kamışı/mucize dut)'den elde edilen thaumatin tatlandırıcı olarak, *Vitis vinifera* (yerli asma/gök üzüm)'dan elde edilen antosiyanin ve *Beta vulgaris* (pancar)'den elde edilen betalain ise renklendirici olarak gıda sektöründe kullanılan sekonder metabolit örnekleridir (Çakır 2004). Yine parfüm, şampuan, macun, sabun gibi birçok kozmetik ürünlerinde sekonder metabolitlerden yararlanılmaktadır. Örneğin, *Nigella sativa* (çörek otu)'dan elde edilen çörek otu yağı saç beslemede, *Pelargonium graveolens* (ıtır)'den elde edilen sardunya yağı ve *Citrus limonum* (limon)'dan elde edilen limon yağı cilt bakımında kullanılmaktadır.

Sekonder metabolitler terpenler, fenolik bileşikler ve alkaloidler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır.

Terpenler

Terpenler, hidrokarbonların en geniş sınıfı olup esansiyel yağ, reçine, kauçuk gibi bileşiklerin yapısında bulunan sekonder metabolitlerdir. Çoğunlukla bitkisel kökenli olup bitkinin gelişiminde ve bitkinin kendisini korumasında rol oynamaktadır (Tholl 2006). Örneğin, bitkinin boyuna büyümesini sağlayan giberellin bu gruba dahildir. Yine *Chrysanthemum* spp. (kasımpatı)'nın çiçek ve yapraklarında bulunan monoterpenler insektisidal aktivite göstererek

herbivora laraya karşı bitkiyi korumaktadır (Aydın ve Mammadov 2017). Bu özellik sayesinde de böcek öldürücü ilaç yapımında kullanılmaktadır. Aynı zamanda *Papilionidae* (Kırlangıç kuyruklular) familyasına ait kelebeklerden de terpenlerin salgılandıkları bilinmektedir.

İzopren birimlerine göre çeşitlilik gösteren terpenler tıp alanında ağrı kesici, antioksidan, antienflamatuar ve antikarsinogenik olarak tercih edilmektedir (Çetin 2020). *Timus vulgaris* (bahçe kekiği)'in içeriğinde bulunan timol monoterpeninin, akciğer hastalıklarında kullanılabileceği Manou *et al.* (1988) tarafından bildirilmiştir. Üç izopren biriminden oluşan guazilen seskiterpeni hem spazm giderici olarak hem de antimikrobiyal aktivitelerinden dolayı tıp, kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde tercih edilmektedir (Tanaka *et al.* 2000; Fiori *et al.* 2011). Dört izopren biriminden oluşan abietik asit diterpeninin de *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarına karşı etkili olduğu Fallarero *et al.* (2013) tarafından ifade edilmiştir. Ayrıca altı izopren biriminden oluşan ve triterpenler arasında yer alan lupeol, *Cucumis sativus* (salatalık), *Glisin max* (soya fasulyesi) ve *Olea europe* (zeytin) gibi birçok bitkiden elde edilmektedir. Bu bileşik eklemlerde iltihaplanma, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, böbrek ve karaciğer yetmezliğine karşı iyileştirici etki göstermektedir (Saleem 2009). Ancak yapılan çeşitli çalışmalar ile terpenlerin mutajenik ve genotoksik etkilere de sahip olduğu gösterilmiştir. Timol, guazilen, abietik asit, skualen ve astaksantin gibi terpenlerin *Drosophila melanogaster* (meyve sineği)'in yabani soylarında ömür uzunluğunu kısalttığı ve somatik mutasyonları uyardığı Çelik (2020) tarafından bildirilmiştir.

Fenolik bileşikler

Sekonder metabolitlerin bir diğer grubu olan fenolik bileşikler, bitkinin tüm organlarında bulunan başta flavonoidler olmak üzere fenolik asit, antosiyanidin, flavanon, flavanoller (kateşin), proantosiyanin, izoflavonoid, flavon ve flavonoller olarak bilinen doğal antioksidanlardır. Örneğin *Camellia* cinsine ait *Camellia sinensis* L. (çay bitkisi)'nin etken maddesi flavonoid, *Mentha piperita* L. (nane)'nin etken maddesi flavonlar, *Brassica oleracea* (brokoli)'nin etken maddesi flavonoller, *Vitis spp.* (üzüm asma s) etken maddesi antosiyanidin ve narenciye etken maddesi flavanonlar insanlarda kemik erimesi, iltihaplanma, kardiyovasküler hastalıklar, akciğer, pankreas, yumurta ve göğüs kanserlerinin önlenmesinde rol almaktadır (Summanen 2001; Koca ve Karadeniz 2005; Deveci vd 2016; Ayar *et al.* 2021). Bu bileşikler herhangi patolojik durumlarda da serbest radikalleri önleyerek organizmada gerçekleşecek hücre ölümlerini inhibe etmektedirler. Ayrıca *Pisum sativum* (bezelye) bitkisinde bulunan izoflavonoidler ile *Thalassia testudinum* (kaplumbağa otu)'da bulunan flavonoidler antifungal etki göstermektedir (Harborne and Williams 2000). Aynı araştırmacılara göre,

yapraklardaki flavonoidler de 280-315 nm dalga boyundaki UV-B ışınlarını emerek fotosentezde görev alan dokularda oluşabilecek zararları önlemektedir.

Alkaloidler

Yaygın olarak bitkilerde bulunan alkaloidler hayvan, mantar ve bakteri gibi çeşitli organizmalar tarafından da üretilmektedir (Robert and Wink 2013). Alkaloidlerin birçoğu (gerçek alkaloidler) heterosiklik halkada azot içeren farklı amino asitlerden örneğin konin lizinden, morfin tirozinden, atropin fenilalanin, ornitin veya arjininden sentezlenmektedir. Ancak bazı alkaloidler azot atomunu heterosiklik halkanın dışında yani yan zincirde (proto-alkaloid) bulundururken bazıları poliamin veya amino asitten kaynaklanmayan (psödo-alkaloid) terpen ve steroid benzeri olarak da sentezlenmektedir (Tablo 1).

Tablo 1. Alkaloidlerin Sınıflandırılması

Gerçek Alkaloidler		Proto-Alkaloidler	Psödo-Alkaloidler
Pirolidin alkaloidleri	Pirolizidin alkaloidleri	Feniletilamin alkaloidleri	Steroid alkaloidleri
Tropan alkaloidleri	İndolizidin alkaloidleri	Kolşisin alkaloidleri	Terpenoid alkaloidleri
İzokinolin alkaloidleri	Piperidin alkaloidleri		
Kinolin alkaloidleri	Piridin alkaloidleri		
İndol alkaloidleri			

Kimyasal yapıları birbirinden farklı olan yaklaşık 12.000 çeşit alkaloid, öksürük giderici, yatıştırıcı, ağrı kesici, uyarıcı olarak ve hatta kansere karşı kullanılmaktadır (Hashimoto and Yamaha 2003; Facchini and St-Pierre 2005). Örneğin, *Taxus brevifolia* (Pasifik porsuğu) ağacından elde edilen toksol ve *Camptotheca acuminata* (mutluluk ağacı)'dan elde edilen kamptotesin alkaloidi kanser tedavilerinde kullanılan ilaçlardaki önemli bileşiklerdir (Kutchan 1995). *Lobelia inflata* (hint tütünü) bitkisinden elde edilen lobelin uyuşturucu tedavisinde, *Huperzia serrata* (çin kulübü yosunu) bitkisinden elde edilen huperzin Alzheimer hastalığının tedavisinde, *Datura stramonium* L. (boru otu)'dan elde edilen atropin göz hastalıklarının tedavisinde ve *P. somniferum* L.'den elde edilen morfin ağrı kesici olarak tıp alanında kullanılmaktadır (Bai *et al.* 2000; Dwoskin and Crooks 2002; Gurib-Fakim 2006).

Ancak geçmişten günümüze tıbbi amaçla kullanılan birçok alkaloidin, yüksek miktarda vücuda alındığı zaman yüzde kızarıklık ve kusma ile kişide huzursuzluk ve halüsinasyon gibi durumlara yol açabildiği de görülmüştür. Örneğin, *D. stramonium* bitkisini yanlışlıkla tüketen 3,5 yaşındaki kız çocuğunun konuşma bozukluğu, saldırganlık ve halüsinasyon gibi şikayetleri olduğu Bouziri *et al.* (2011) tarafından ifade edilmiştir. Bu

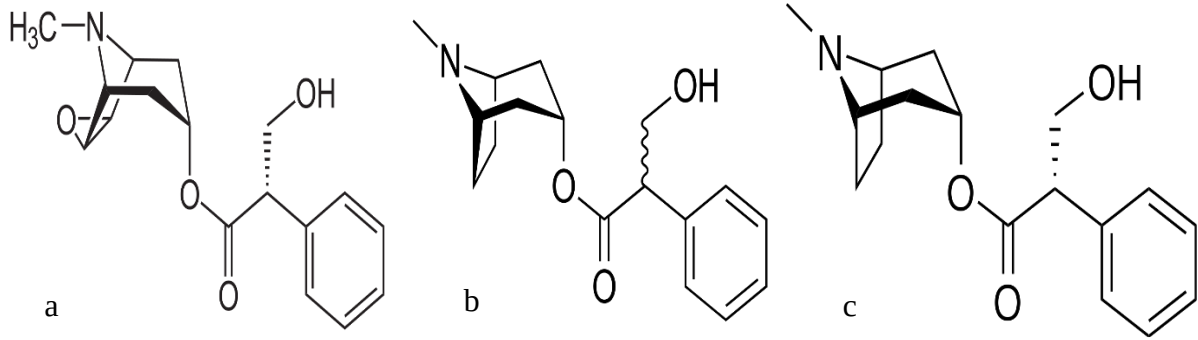
istenmeyen durumların nedeni olarak da bitkinin bünyesinde bulunan tropan alkaloidleri gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada, çayır ve meralarda bulunan *Heliotropium europaeum* L. (akrep otu) bitkisini tüketen sığırlarda toplu ölümlerin görülmesi Shimshoni *et al.* (2015)'a göre, bitkinin içeriğindeki heliotrin ve lasiokarpin alkaloidlerinden kaynaklanmaktadır. Yine *Brugmansia pittieri* (melek trompet çiçeği), *Scopolia carniolica* (henbane çanı), *Datura metel* (hint dikenleri) ve *A. belladonna* L. gibi bitkilerde bulunan atropin, bu türleri yüksek miktarda tüketen kişilerin halüsinasyon görmesine sebebiyet vermektedir (Ciechomska *et al.* 2019). *Cynoglossum officinale* (çingene çiçeği) bitkisinde bulunan ekinatin ve heliosupin alkaloidleri de kişilerde depresyona ve anormal davranış sergilemesine neden olabilmektedir (Azzeme and Zaman 2019). Ge *et al.* (2015) tarafından yapılan bir başka çalışmanın sonuçlarına göre de *Cynanchum mongolicum* (bacırgan/ köpek boğan) bitkisinde bulunan antofin N-oksit, antofin ve tiloforin alkaloidleri, *Lipaphis erysimi* (hardal yaprak biti) ve *Spodoptera litura* (pamuk yaprak kurdu) üzerinde insektisidal etki göstermiştir.

Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda düşük dozlarda bile toksik etkili olduğu gösterilen alkaloidlerin, halk arasında “kafa yapıcı” olarak tabir edilen uyuşturucu amaçlı olarak kullanıldığı da ifade edilmektedir. Örneğin *P. somniferum* L., *E. coca* L. ve *Nicotiana tabacum* L. (ekili tütün) bitkileri biyokütlelerinde yer alan farklı alkaloidlerden dolayı uyuşturucu ve keyif verici olarak kullanılmaktadır (Dewey and Xie 2013; Dinis-Oliveira 2015; Martinez and Ballesteros 2019). Sunulan bu tez çalışmasında, Solanaceae familyasına ait *D. stramonium* L., *Hyoscyamus niger* L. (ban otu) ve *Nicotiana rustica* (Maraş otu) türlerinden elde edilen farklı ekstraktlar kullanılmış olduğu için bu türlerde bulunan ve sentezlenmeleri farklı yollarla gerçekleşen alkaloidlerden (Tablo 1) özellikle tropan ve piridin alkaloidlerine ait literatür bilgileri verilmiştir.

Tropan alkaloidleri

Gerçek alkaloidler olarak da tanımlanan tropan alkaloidleri, fenilalanin, ornitin veya arjinin gibi amino asitlerden sentezlenmektedir. Bu alkaloidler özellikle Solanaceae (Patlıcangiller), Brassicaceae (Turpgiller), Erythroxylaceae (Koka ağacıgiller) ve Convolvulaceae (Kahkahacıçeğigiller) familyalarında doğal olarak bulunmaktadır (Robins *et al.* 1991; Jirschitzka *et al.* 2012) ve her ne kadar temel yapıları aynı olsa da biyolojik, kimyasal ve farmakolojik özellikleri bakımından önemli ölçüde farklılıklar göstermektedirler. Örneğin, skopolamin alkaloidi (Şekil 1a) mide bulantısı, kusma ve kas spazmı gibi sağlık sorunlarının giderilmesinde kullanılan farmakolojik bir ajan iken kokain alkaloidi (benzoylemetil ekgonin) dünyada en sık kullanılan uyuşturucu maddeler arasında yer almaktadır. Yine *A. belladonna* L.'dan elde edilen atropinin (Şekil 1b) göz bebeğini büyütme, *H. niger* L.'den elde edilen

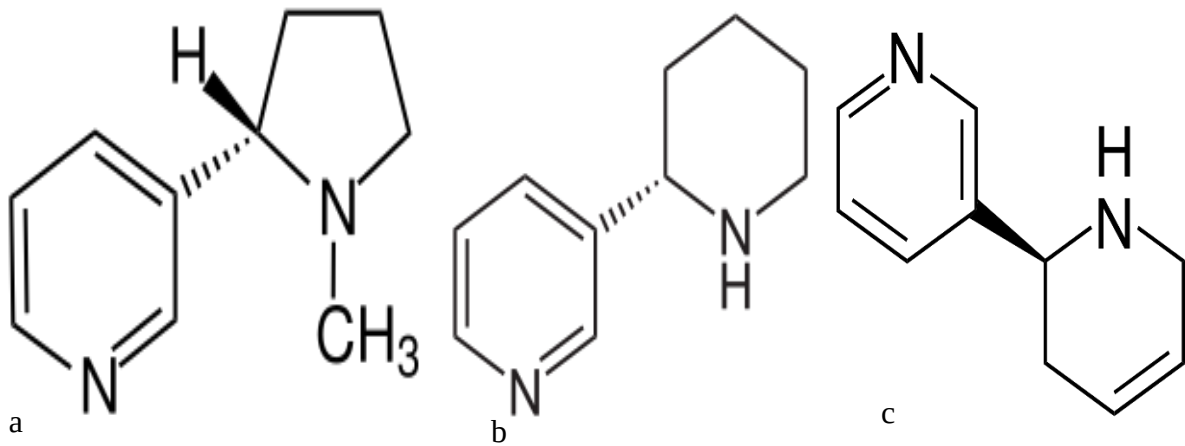
hiyosiyaminin (Şekil 1c) yatıştırıcı olarak kullanımı farmakolojik etkilerine örnek olarak verilebilir. Aynı zamanda kokain, hiyosiyamin ve skopolamin kan-beyin bariyerinden geçebildikleri için doza bağlı olarak kullanan kişilerde halüsinasyonlara da yol açmaktadır (Kohnen-Johannsen and Kayser 2019). Bu yüzden bu alkaloidleri bulunduran bitkiler, keyif verici/uyuşturucu olarak halk arasında kullanılmaktadır (Bayam 2021).



Şekil 1. a) Skopolamin b) atropin ve c) hiyosiyamin tropan alkaloidlerinin kimyasal.

Piridin alkaloidleri

Gerçek alkaloidlerin bir diğer grubu piridin alkaloidleridir. Bu alkaloid grubu triptofan amino asidinden sentezlenen nikotinik asit bileşiğinden meydana gelmektedir. *Nicotiana* cinsine ait türlerin ana bileşeni olan ve onların yapraklarından elde edilen nikotin (Şekil 2a), keyif verici ve bağımlılık yapıcı özellik gösteren bir piridin alkaloididir (Hakkinen *et al.* 2007). Düşük dozlarda vücuda alındığında merkezi sinir sistemini uyarıcı etki gösteren nikotin, yüksek dozda alımlarda baş ağrısı, terleme, kusma ve ishal gibi semptomlara neden olmaktadır (Güneş ve Sarışık 2020). Nikotin dışında anabasin (Şekil 2b) ve anatabin (Şekil 2c) piridin alkaloidleri de *Nicotiana* spp. için karakteristiktir (Hakkinen *et al.* 2007).



Şekil 2. a) Nikotin b) anabasin ve c) anatabin piridin alkaloidlerinin kimyasal yapısı.

Yaşlanma

Yaşlanma, organizmanın yaşam için gerekli olan işlevlerini zamanla yitirmesi, hücre, doku ve organların fonksiyonlarının azalmasıyla kayıplara kadar devam eden ve ölümle sonuçlanan oldukça karmaşık bir biyolojik süreçtir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre yaşlanma, çevreye uyum kabiliyetinin zaman içerisinde azalması sonucunda doku ve organlarda oluşan yıpranma süreci olarak da tanımlanmaktadır (Can ve Aslan 2014). Rose *et al.* (2012)' a göre, Alex Comfort, 1979'da yayınladığı *The Biology of Senescence* isimli kitabında “bireyin, birbirini takip eden zaman biriminin belli bir döneminden sonra rastgele nedenlerden dolayı ölme ihtimalindeki artış” diyerek yaşlanmanın genel tanımını yapmıştır. 1991 yılında Michael R. Rose tarafından yayınlanan *Evolutionary Biology of Aging* adlı kitapta da bu süreç “dahili/içsel fizyolojik değişiklikler nedeniyle organizmanın olduğu yaşa özel uygunluk bileşenlerinde kalıcı bir düşüş” olarak tanımlanmıştır (Rose *et al.* 2012). Yine “yaşla birlikte fizyolojik kapasitedeki azalmalar, bireylerin hastalıklara karşı hassasiyetini artırarak yaşlanma sürecinin ilerlemesine neden olur” şeklinde de yaşlanma tanımı yapılmıştır (Nalbant 2006).

Tüm canlıların yaşamlarındaki bir dönem olan yaşlılık, insanlar için yıllar boyunca merak konusu uyandıran bir süreç olup aydınlatılması için yüzlerce teori geliştirilmiş ancak kesin bilgi elde edilememiştir. Biyolojik yaşlanmanın yalnızca bir mekanizma üzerinden açıklanamayıp birçok nedene bağlı olduğu ise Medvedev (1990) tarafından yapılan derlemede 300'den fazla teorinin bulunması ile ifade edilmiştir. Bu teoriler arasında yer alan somatik mutasyon, serbest radikal, nörendokrin, immünolojik, proteinlerin değişikliğe uğraması, telomer kısalması ve antagonistik pleiotropi teorisi en bilinen teorilerdir. Ayrıca Jin (2010)'e göre henüz üzerinde çalışılan uzun yaşam genleri, ivmelenmiş yaşlılık sendromları, yaşam oranı, çapraz bağlama ile aşınma ve yırtılma teorileri de yaşlanmayı açıklamak için kullanılan oldukça önemli teorilerden birkaçıdır.

Somatik mutasyon teorisi

Somatik mutasyon teorisi; radyasyon, ultraviyole ışınları, çeşitli kimyasallar, reaktif oksijen ve serbest radikaller gibi etkenler sonucunda somatik hücrelerde geri dönüşümsüz hasarların meydana gelmesi ve birikmesi olarak tanımlanmaktadır (Vijg 2000). Ortaya çıkan hasarlara karşı DNA hücresel cevap oluşturmaktadır. Yaşlanmada belirleyici rol oynayan bu cevap, DNA'da hasar tespiti, hücre döngüsünün kontrolü ve tamiri gibi aşamaları içermektedir (Slijepcevic 2006). DNA tamir mekanizmasının hasarları tamir edememesi sonucunda da mutasyonlar birikerek yaşlanmaya ve hastalıklara neden olmaktadır. Kennedy *et al.* (2012)'a göre, özellikle organ sistemlerindeki mutasyonların birikmesi, hücrelerin işleyişinde önemli

olan genlerin işlevlerini olumsuz etkileyerek organ fonksiyonunda azalmalara neden olmaktadır.

İnsan lenfosit hücrelerinde yaşa bağlı olarak DNA hasarlarının arttığı Ramsey *et al.* (1995) tarafından bildirilmiştir. Yine yaşın ilerlemesiyle birlikte mutasyon sıklığındaki artış, insan lenfosit ve eritrositlerinde de gözlemlenmiştir (Branda *et al.* 1993; Kyoizumi *et al.* 1996). Buna benzer yapılan birçok çalışmada da “yaş ile birlikte somatik mutasyonların arttığı” kanıtlanmıştır. Somatik mutasyon teorisinin en önemli örneği, erken yaşlanmanın oluşmasıyla karakterize, otozomal resesif bir hastalık olan Werner sendromudur (yetişkin progeriası). WRN genindeki mutasyondan kaynaklanan bu sendromda, resesif gene bağlı olarak somatik mutasyonların birikmesi katarakt, ateroskleroz (damar sertliği), diyabet, felç ve kansere neden olmaktadır (Oota 2020).

Serbest radikaller teorisi

Bu teoriye göre, yapılarında tek ve eşleşmemiş elektron bulunduran atom veya moleküller olarak bilinen serbest radikallerin dokularda birikmesi yaşlanmaya yol açmaktadır. Serbest radikaller biyolojik sistemde heksoz monofosfat yolu, mitokondriyal elektron transportu, ksenobiyotiklerin metabolizması, biyosentetik ve biyokimyasal yıkım olayları sonucunda doğal olarak oluşmaktadır. Bu radikallerin en önemlisi oksijen kullanımı sırasında mitokondri tarafından üretilen Reaktif Oksijen Türleridir (ROT). Hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit en çok bilinen ROT'lardır (Şekeroğlu ve Şekeroğlu 2009; Ögüt ve Atay 2012). Normal şartlarda serbest radikaller organizmanın ürettiği süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) enzimleri dışında besinler ile alınan A (β - karoten), C (askorbik asit) ve E (α - tokoferol) gibi antioksidan sistemler tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Ancak dengeli şekilde hareket eden sistemler ROT artışıyla birlikte bozulmaktadır (Gürgöze vd 2007; Atmaca ve Aksoy 2009). Oksidatif stres olarak adlandırılan bu olaylar ile lipid, protein ve nükleik asit gibi moleküller hasar görmeye başlar (Halliwell and Chirico 1993).

Serbest radikaller örneğin lipidlerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu ve hücre membranı geçirgenliğinin bozulması gibi geri dönüşümsüz zararlara neden olmaktadır. Aynı şekilde triptofan, tirozin, sistein ve histidin amino asitlerini içeren proteinlerle de kolay reaksiyona giren serbest radikaller, proteinlerin işlevlerini ve enzim aktivitelerini önleyerek hasarlara yol açmaktadır (Karabulut ve Gülay 2016). Oksidanların yol açtığı oksidatif stres, antioksidan mekanizmaların işlevi azaldığında veya antioksidan reaksiyonların oksidatif reaksiyonlardan daha az olduğu süreçte meydana gelmektedir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte oksidan-antioksidan arasındaki dengenin bozulması ve antioksidan miktarının düşmesi

yaşlanma, kanser, diyabet, damar sertliği, solunum ve boşaltım bozuklukları gibi birçok rahatsızlığın oluşumunu hızlandırmaktadır. Yapılan çalışmalarda güvercin ve sıçanların ömür uzunluğu arasındaki farkın mitokondrial ROT üretimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Burçak ve Andican 2004).

Nöroendokrin teori

Nöroendokrin teoriye göre, nöral ve endokrin işlev değişiklikleri yaşlanmaya yol açmaktadır (Zjačić-Rotkvić *et al.* 2010). Bu teorinin en önemli bileşeni olan hipotalamus-hipofiz aksı, büyümenin düzenlenmesi ve yaşlanmada rol almaktadır (Nalbant 2006). Jayanthi *et al.* (2010) tarafından yaşlılıkta strese direnme yeteneğindeki azalmanın hipotalamus-hipofiz aks işlevindeki yetersizliğe bağlı olabileceği düşünülmektedir. Meites (1988)'in yaptığı bir çalışmada, nörepinefrin ve dopamin aktivitelerindeki düşüşün dişi sıçanlarda üremeyi azalttığı bulunmuştur. Aynı zamanda uyku ve uyanıklık döngüsünü kontrol eden melatonin hormonu düzeyindeki azalmanın da yaşlanmaya yol açtığı Reiter (1995) tarafından bildirilmiştir.

İmmünolojik teori

İnsanların ilk doğduklarında bağışıklık sistemleri oldukça zayıftır. Ancak ergenliğe kadar vücudun çevresel etkenlere karşı oluşturduğu antikorlar ve yapılan aşılar bağışıklık sistemini güçlendirmektedir (Jin 2010; Aslan ve Hocoğlu 2017). Bu teoriye göre, bağışıklık sistemi etkinliğindeki azalmalar zaman içerisinde vücudun yaralanmalar, bulaşıcı hastalıklar ya da dışarıdan gelen mikroorganizmalara karşı daha duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır. Sitokin ve diğer moleküllerin üretiminin yaşa bağlı olarak değişmesi ile immün sistem fonksiyonlarındaki azalma canlılarda enfeksiyonlara karşı hassasiyet oluşturmaktadır (Yalçın vd 2011). Yaşlanmayla birlikte organizmanın “self toleransı” yani “kendine ait olanı tanıma özelliğini” kaybetmesi sonucunda sistemde yıkımların olması da yaşlanmanın immünolojik teorisi içerisinde yer almaktadır (Baştürk ve Boyacıoğlu 2004; Aydemir 2013). Özellikle T lenfositlerin olgunlaştığı timus bezinin küçülmesine bağlı olarak gerçekleşen fonksiyon kayıpları ve hücrel farklılaşma bu durumun başlangıcı olarak bilinmektedir. Bağışıklık sistemindeki bu değişikliklerin kanser, Alzheimer ve kardiyovasküler hastalıkların oluşumuyla ilişkili olduğu da Jin (2010) tarafından ifade edilmiştir.

Proteinlerin değişikliğe uğraması teorisi

Yaşlanmayla birlikte proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında değişiklikler meydana gelmektedir (Nalbant 2006). Hatalı sentez, glikasyon (kan dolaşımında bir şekerin proteinlere bağlanması sonucunda meydana gelen protein hasarı), reaktif oksijen türleri, reaktif azot türleriyle meydana gelen değişiklikler protein yapısındaki enzimlerin fonksiyonlarının

azalmasına neden olmaktadır (Sağlam ve Özdamar 2012; Başbüyük 2017). Özellikle hücre dışı matriks proteinlerinde görülen değişiklikler protein-protein etkileşimlerini arttırarak damar sertliği, katarakt gibi sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Nalbant 2006). Bir çeşit protein olan enzimlerin de hasara uğraması sonucunda öncül maddelerin son ürünü meydana getirememesi, ara metabolitlerin ortamda birikerek artması ve ara metabolitin başka bir ara ürüne dönüşerek oluşan son ürünün ortamda birikmesi gibi reaksiyonlar da yaşlanmayı tetiklemektedir (Öztürk 2021). Daha önce yapılan bir çalışmada, protein sentezi sırasında herhangi bir hatanın olmaması durumunda mantarlarda yaşlanmanın yavaşladığı ve yaşam süresinin uzadığı ifade edilmiştir (Holbrook and Menninger 2002).

Telomer kısalması teorisi

Kromozomların her iki ucunda bulunan telomerler özel konsensus dizilerinden (özelleşmiş DNA tekrar dizilerinden) oluşan heterokromatik bölgelerdir. Bu kısmın işlevi DNA'daki tek zincirli uçları nükleaz enzimlerinden korumak, kromozomların stabilitesini sağlamak ve kırık uçlu kromozomların birbirlerine yapışmasını engellemektir (Atlı ve Bozcuk 2002). İlk olarak Leonard Hayflick tarafından ortaya atılan “telomer uzunluğu yaş ile ilişkilidir” düşüncesi biyolojik yaşlanmanın temeli olarak savunulmuştur. Yine aynı bilim insanının insan fibroblast hücreleriyle yaptığı çalışmasında hücrelerin belirli sayıdaki bölünmeden sonra bölünmediği ancak işlevlerini sürdürdüklerini gözlemlenmiştir (Hayflick 1985). Somatik hücrelerdeki telomerler her hücre bölünmesi sonucunda kısalır ve belirli bir uzunluğa ulaşıldığında da hücre daha fazla bölünemez. Yaşlanmanın telomer teorisine göre, telomerlerin kritik kısalığa ulaşması yaşlanmaya neden olmaktadır. Yaşlı bireylerdeki telomer uzunluğunun genç bireylere göre daha kısa olması bu teoriyi kanıtlar niteliktedir (Karan ve Tufan 2010). Ancak üreme hücreleri, kanser hücreleri ve kök hücrelerinde kısalan telomeri onaran telomeraz enziminin aktivitesinden dolayı somatik hücrelerde olduğu gibi yaşlanma olmaz. Bu nedenle somatik hücrelerin telomer uzunlukları üreme hücrelerine göre daha kısadır (Jayanthi *et al.* 2010).

İnsan hücrelerinde yaşlanma mortalite 1 (M1) ve mortalite 2 (M2) evresi olmak üzere iki evrede gerçekleşmektedir. M1 evresinde, kromozomlar telomerlerin kısalmasından dolayı kritik boya ulaşarak hücre döngüsünü durdurur böylece yaşlılık süreci başlar. Eğer genomun gardiyanı/koruyucu melek olarak da tanımlanan tümör proteini (TP53) geni devreye girerse ve hücrenin G0 ya da G1'den S fazına geçişi engellenirse hücre yaşlı olarak hayatına devam eder. Ancak TP53 geni mutasyona uğrayıp TP53 proteini inaktive olursa hücre M2 evresine geçer. “Kriz noktası” olarak adlandırılan bu evrede telomer uzunluğu giderek kısaldığından hücre ölümleri kaçınılmazdır (Güzelgöl ve Aksoy 2011).

Bilim insanlarına göre telomer uzunluğunun kısa olması ile ateroskleroz, vasküler demans (beyne kanı ulaştıran damarların zarar görmesi) ve Alzheimer gibi hastalıkların arasında bağlantı olabileceği ifade edilmiştir (Karan ve Tufan 2010). Cawthon *et al.* (2003)'ın yaptığı çalışmada da kısa telomer uzunluğunun yaşlılık ile ilişkili hastalıklarda ölümü hızlandırdığı bildirilmiştir.

Antagonistik pleiotropi teorisi

İlk olarak 1957 yılında George Williams tarafından ortaya atılan bu teoride, yaşamın erken dönemlerinde yararlı etkileri yüksek olan bazı genlerin yaşın ilerlemesiyle zararlı etkiler gösterebileceği ve böylece yaşlanmaya katkıda bulunacağı ne sürülmektedir (Gaiimo and Fagagna 2012). Antagonistik pleiotropi teorisi için büyüme ve gelişmenin düzenlenmesinde önemli rolü olan insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) rnek verilebilir. Bu hormon Zhang *et al.* (2021)'a göre, erken yaşlarda kişiye hastalıklara karşı koruma ile ilişkiliyken ilerleyen yaşlarda diyabet, osteoporoz (kemik erimesi) ve demans (bunama) gibi hastalıklara yakalanma riskini arttırmakla ilişkilidir. Yine bir başka örnek olarak hücrelerin anormal çoğalmasını önleyerek kansere karşı koruma sağlayan TP53 geni verilebilir. Genç yaşta olumlu etkilerini gösterirken yaşamın sonraki dönemlerinde doku onarımı için gerekli kök hücrelerin çoğalmasını engelleyip doku homeostazını bozabilir. Bu durumun da yaşlanmayı hızlandırdığı Ungewitter and Scrable (2009) tarafından ifade edilmiştir.

Uzun yaşam genleri teorisi

Organizmalarda bulunan kontrol mekanizmalarının hasarlara karşı cevap oluşturmaması hasarların birikimine neden olmaktadır. “Uzun yaşam genleri teorisine” göre, bu mekanizmalarda bulunan ve cevap oluşturan “uzun yaşam genleri” ömür uzunluğunu artırmaktadır (Nalbant 2006). Genetik alanında yapılan çalışmalarda model organizma olarak sıklıkla kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* (bira mayası), *Caenorhabditis elegans* (iplik kurdu) ve *D. melanogaster*'de adenozin monofosfat bağımlı protein kinaz (AMPK)'ın yaşlanmayı yavaşlattığı ve sirtuin genlerinin de ömür uzunluğunu artırdığı gösterilmiştir (Karan ve Tufan 2010). Yine Lin *et al.* (1998) tarafından yapılan bir çalışmada *D. melanogaster*'in *methuselah* (*mth*) genini taşıyan mutant bireylerde ömür uzunluğu %35 oranında artmıştır.

Aşınma ve yıpranma teorisi

İlk olarak 1882'de Dr. August tarafından ortaya atılan bu teori de yaşlanmanın, oksidatif stres, radyasyon, UV ışınları ve birçok kimyasal maddelere maruz kalan vücut hücreleri ve dokulardaki bozulmadan kaynaklandığı savunulmaktadır. Organizmaların bu ajanlara sürekli maruz kalması hücre, doku ve organların zamanla yıpranmasına ve lme neden olmaktadır

(Jin 2010). Aşınma ve yıpranma teorisini doğrudan destekleyen bir verinin olmamasından dolayı araştırmacılar tarafından merakla araştırmalar sürdürülmektedir. Ancak bu teoriyi somatik mutasyon teorisi ve serbest radikaller teorisinden bağımsız düşünmemek de gereklidir.

Yaşam oranı teorisi

Metabolik hızın ömür uzunluğu üzerine olan etkisi ilk olarak *D. melanogaster* üzerinde ortam sıcaklığının değiştirilmesiyle incelenmiş ve ergin bireylerin yüksek sıcaklıkta ömür uzunluğunun daha kısa olduğu belirlenmiştir. Ömür uzunluğundaki bu değişimin nedeni olarak, artan enerji harcama hızı ile bağlantılı maddelerin tükenmesi veya ortamda birikmesi gösterilmiştir (Sohal 1986). Bu teoriye göre bir organizmanın metabolik hızı ne kadar yüksekse ömür uzunluğu o kadar kısadır (Jin 2010).

İvmelenmiş yaşlılık sendromları teorisi

İnsanlarda görülen hızlı/hızlanmış yaşlanma üzerine en fazla çalışma yapılan iki hastalık Werner sendromu (WS) ve Hutchinson-Gilford Progeria sendromu (HGPS)'dur. Werner sendromu bir helikaz olan Werner RecQ helikazındaki, HGPS ise lamin A'daki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Erken yaşlanmaya neden olan bu enzimlerin sentezinden sorumlu genlerde meydana gelen bu mutasyonlar, özellikle telomerik bölgelerde DNA hasarlarının artmasına sebep olmaktadır (Dreesen and Stewart 2011). Her iki sendromda da yaşlanmanın tüm fenotipik özelliklerinin gözlenmesinden dolayı "ivmelenmiş yaşlılık sendromları teorisi" de yaşlanmayı tanımlayan teorilerden birisi olarak kabul görmektedir (Nalbant 2006).

Çapraz bağlama teorisi

İlk defa 1942 yılında Johan Bjorksten tarafından önerilen bu teoriye göre, çapraz bağlanan proteinlerin artması yaşlanma süreci ile yakından ilişkilidir. Şöyle ki; normalde proteazlar tarafından parçalanmış protein molekülleri yaşlanma ile birlikte hücrelerde birikerek elastikiyet kaybı, enzimlere karşı direnç ve hücre içi taşıma kapasitesinde azalma gibi hasarlara yol açmaktadır (Bjorksten 1968; Pittman 2007). Pittman (2007)'a göre, örneğin kişide yaşın ilerlemesiyle birlikte göz merceğinde artan çapraz proteinler katarakt gelişimine neden olmaktadır. Ancak her ne kadar yaşlanma ile ilgili en eski moleküler temelli teori olarak bilinmekte olsa da bu teori üzerinde hala çalışmalar devam etmektedir.

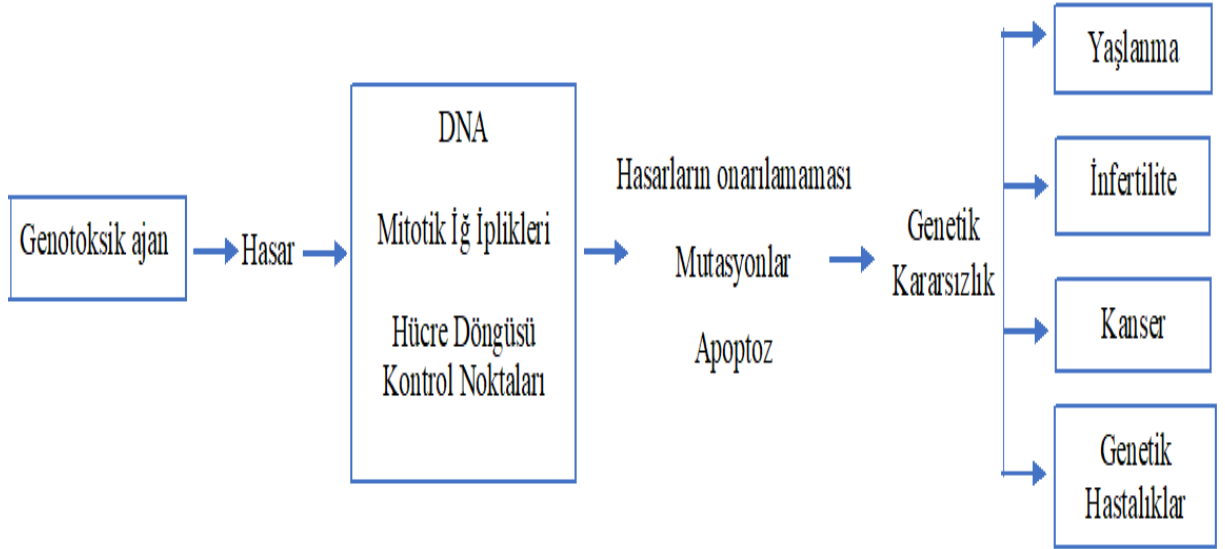
Genetik Toksikoloji

Toksikoloji, organizmanın biyolojik işleyişine zarar veren toksinlerin etki mekanizmalarını inceleyen bilim dalı olarak tanımlanmaktadır. Zehir bilimi olarak da tanımlanan toksikoloji, kimyasal maddelerin organizma üzerindeki zararlı etkilerini ortaya

koyabilmekte ve bu şekilde risk değerlendirmesi de yapabilmektedir. Saygı (2003)'ya göre, uygun bir doz ile iyileştirici özellik gösterebilen bir madde doz aşımına bağlı olarak zehirleyici hatta öldürücü olabilmektedir. Herhangi bir maddenin organizmaya zarar verme derecesi de o maddenin toksisitesidir. Genetik toksisite veya genotoksisite kelimeleri ise gen mutasyonları ile kromozomlardaki yapısal (klastojenik) ve sayısal (anöjenik) değişiklikleri kapsamaktadır.

Genotoksik etkiye sebep olan tüm genotoksik ajanların hedefi DNA'dır ve somatik hücrelerde olduğu gibi gametlerde de genetik bilginin değişmesine neden olabilen bu ajanlar, anne ve babadan farklı genotipe sahip yavruların oluşmasına yol açabilmektedirler. Genotipte meydana gelen ve geri dönüşümsüz olan tüm değişimler de makro ya da mikro mutasyonlara sebep olmaktadır. Mutajenik özellik gösteren farklı ajanlar somatik hücrelerde etkili olurlarsa (Uysal ve Çelik 2021; Lokumcu ve Uysal 2021; Bayam ve Uysal 2021) bu durum Vural (2005)'a göre, daha çok hücre ölümü veya karsinogeneze yol açmaktadır.

Genetik toksikoloji, toksikolojinin bir alt bilim dalı olarak DNA molekülünün kimyasal, fiziksel veya biyolojik ajanlarla etkileşime girmesi sonucu oluşan hasarları incelemektedir. İlk kez 1927 yılında X ışınlarına bağlı olarak *D. melanogaster*'de mutasyon oranının arttığını belirleyen Müller ile birlikte bu bilim dalı, günümüzün önemli araştırma alanlarından birisi olmuştur (Young 2002). Özellikle yapılan araştırmalar ile farklı ilaçlar, gıda katkı maddeleri, tarımsal ya da evsel olarak kullanılan pestisitler, sigara, alkol ve UV ışınları gibi pek çok farklı genotoksik ajanın karsinojen olup olmadığını ölçebilmek, DNA molekülünde meydana gelen hasarları belirleyebilmek son derece önemlidir (Choy 2001; Rama *et al.* 2002; Mateuca *et al.* 2006). Çünkü genotoksik ajanlar, DNA üzerindeki etkilerini ya doğrudan ya da lipid ve protein gibi farklı makromoleküller ile etkileşime girerek dolaylı yolla gösterirler. DNA onarımında rol alan kilit moleküllerde ve yolaklardaki bozulmalar ise yaşlanma, infertilite, kanser ve bazı multifaktöriyel genetik hastalıklara neden olmaktadır (Şekil 3). Her ne kadar genetik hastalıklar ve kanser vakalarında gözlenen artış farklı araştırmacılar tarafından spontan mutasyonlara bağlanmış olsa da (Kirsch-Volders *et al.* 2003; Mateuca *et al.* 2006) çevremizdeki fiziksel ve kimyasal ajanların etkilerinin de bu tür durumların tetikleyicisi olduğunu söyleyebiliriz. Bu nedenle genotoksik risk oluşturabilecek mutajenlerin belirlenmesinde *in vivo* ve *in vitro* genotoksisite testlerinin kullanımı önem arz etmektedir. Bu testlerin seçiminde ise yapılacak çalışmanın niteliğine göre uygulanması kolay, düşük maliyetli, hızlı sonuç veren ve analiz için az sayıda örneğin yeterli olması en önemli parametrelerdir.



Şekil 3. Genotoksik ajanların DNA üzerindeki etki mekanizması ve sonuçları

Kimyasal maddelerin organizmalar üzerindeki toksik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesi için tek bir test yöntemi de yeterli olmamaktadır. Bu nedenle organizmaya veya onların hücrelerine uygulanabilecek kısa süreli *in vivo* ve *in vitro* farklı test yöntemleri geliştirilmiştir. En çok kullanılan test yöntemleri arasında ömür uzunluğu testi, comet testi, *Allium* testi, ames testi, kardeş kromatit değişimi (KKD) testi, mikronükleus testi (MN) ve somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) bulunmaktadır. Sunulan bu çalışmada, bitkisel ekstraktların toksik etkilerinin belirlenmesi için ömür uzunluğu testi ve genotoksik etkilerinin belirlenmesi için de SMART kullanılmıştır.

Ömür uzunluğu testi

Yaşlanma, doğum ile başlayıp organizmanın biyolojik yaşıyla birlikte artış gösteren çok faktörlü bir süreçtir. Hiç durmadan sürekli devam eden bu durum, biyokimyasal ve fizyolojik kapasitelerde azalmalara yol açarak organizmalarda ölüm riskini de arttırmaktadır (Nalbant 2006). Aynı zamanda adaptasyon gücünün azalması olarak tanımlanan yaşlanma, ömür uzunluğu ve üreme başarısındaki düşüşün en önemli sebeplerindendir.

Bir organizmanın gelişimi, büyümesi, üremesi, hayatta kalması ve ömür uzunluğu o organizmanın yaşam öyküsünü ifade etmektedir. Türlerin yaşam öykülerindeki farklılıkların ortaya çıkarılması “yaşam öyküsü karakteri teorisinin” hedefini oluşturmaktadır. Yaşam öyküsü teorisi, çevresel bileşenlere karşı organizmaların hayatta kalabilmeleri ve üremelerinin, doğal seçim, gen akışı ve diğer evrimsel mekanizmalar ile nasıl uygun hale getirildiğini açıklamaya çalışmaktadır. David Reznice göre (Fabian and Flatt 2012) de, yaşam öyküsü teorisinde “organizmalar kaynaklarını üreyebilmek için nasıl kullanmaktadırlar? Böylece doğum oranı, ölüm oranından fazla olabilirse popülasyon yaşlanmasının önüne geçilebilir mi?”

sorularının cevabı ana düşüncedir.

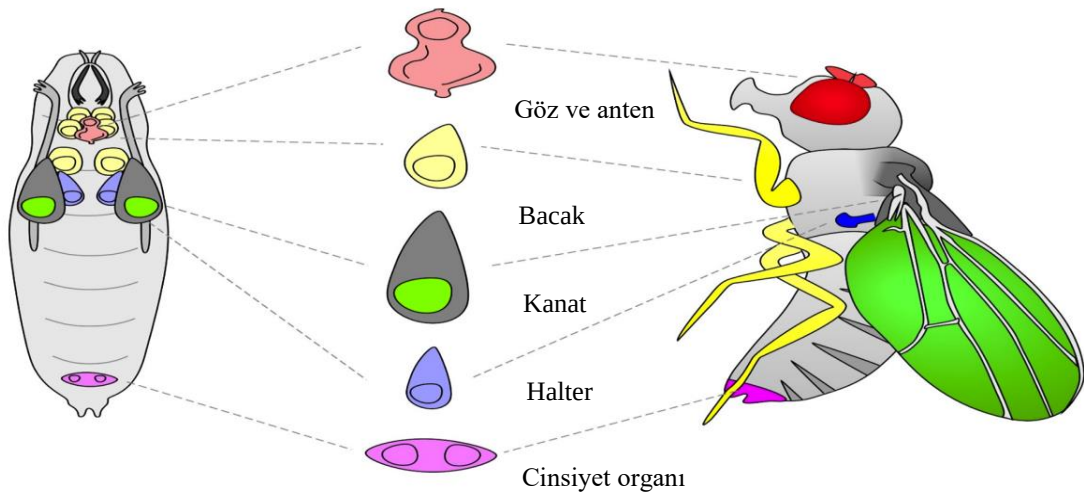
Yine bu kurama göre, adaptasyon bileşenleri ve onların uzantıları, canlının yaşamı boyunca genetiksel ve çevresel etkilere bağlı olarak şekillenmektedir. Roff (2000)'a göre de organizmanın en önemli adaptasyon bileşenleri, onun gelişim süresi, erişkinlikte vücut büyüklüğü ve vücut yapısı, yumurtlama verimi (fekundite), yavru sayısı, cinsiyeti ve ömür uzunluğudur. Bu adaptasyon bileşenlerinden ömür uzunluğu, yaşlanmanın gözlenebilmesini sağlayan önemli bir karakterdir. Yaşlanma sürecinin açıklanabilmesi için de model organizmalar ve onların gelişim süresi, vücut büyüklüğü, yumurta verimi (fekundite) ve ömür uzunluğu gibi uygunluk bileşenleri kullanılmaktadır. Eğer yaşın ilerlemesi ile beraber ölüm oranında artış gözleniyorsa “popülasyon yaşlanmaktadır” diyebiliriz. Ayrıca UV, radyasyon, beslenme, pestisitler gibi çevresel etkenlerden kaynaklanan toplu ölümler sonucunda popülasyondaki birey sayısının azalması da “popülasyonun yaşlanması” olarak tanımlanmaktadır. Biz insanlarda kırışık deri, beyazlaşmış saç, demans ve Alzheimer gibi çeşitli hastalıkların fenotipte gözlenmeye başladığı yaşlanma süreci ise oldukça kompleks bir olgudur (Güler 2014). Çeşitli araştırmacılara göre ömür uzunluğu, biyolojik faktörler ile sıcaklık, beslenme, yaşama alışkanlıkları veya psikolojik pek çok faktöre bağlı olarak varyasyon göstermektedir. Bu yüzden yaşlanma mekanizmalarının her birisi henüz cevaplanmayı bekleyen birçok soruyu da barındırmaktadır.

Yaşam öyküsü karakterlerinden biri olan ömür uzunluğu, yaşlanmayı kantitatif olarak incelememize olanak sağlamaktadır. Canlıların yaşlanma sürecini araştırmak ve biyolojik, fiziksel veya kimyasal ajanların biyotoksik etkilerini gözlemlemek için *S. cerevisiae*, *C. elegans* ve *D. melanogaster* gibi farklı model organizmalar toksikoloji çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Özellikle ömür uzunluğunun genetiği ile ilgili araştırılmalarında *Drosophila*'ya ait başlıca *vestigal* (kertik kanat), *white eyes* (beyaz gözlü), *ebony* (siyah vücutlu) ve *miniature* (kısa kanatlı) gibi mutant soyları kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda mutant soyların yabanıl soylara göre daha kısa ömürlü olduğu ve bu durumun doğrudan tek bir gen veya gen ailesi ile değil tüm genetik alt yapı ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (Bozcuk 1981; Semerdöken 2012; Demir 2017; Amandurdyev 2021). Kısa süreli test tekniklerinden birisi olan *in vivo* ömür uzunluğu testinin yaşlanma çalışmalarında tercih edilmesinin en önemli nedenleri sadece bir neslin yeterli olması, deneysel prosedür sırasında maliyetin düşük olması, hızlı ve doğru sonuç vermesi, toksik potansiyele sahip çevresel ajanların ömür uzunluğu üzerine olan etkilerinin kısa sürede gözlemlenebilmesidir.

Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

SMART, çeşitli maddelerin mutajenik ve rekombinojenik etkilerinin belirlenmesi için *Drosophila* cinsi ile yapılan *in vivo* test yöntemlerinden birisidir. Bu test, *Drosophila*'nın göz ve kanatlarında oluşan mutant hücre klonlarının saptanması amacıyla yapılmaktadır ve bu amaçla kanat benek testi ile göz benek testi olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Her iki testte esas olarak larvanın embriyonik gelişimi sırasında bulunan ve ergin sineğin vücut yapısını oluşturuncaya kadar mitozla çoğalan büyük hücre grupları yani imajinal diskler hedef alınmaktadır (Şekil 4). İmajinal disklerde meydana gelen mutasyonel değişiklikler de mitoz bölünme ile çoğalan tüm hücelere aktarılmaktadır. Bu değişiklikler, ergin sineklerin göz ve kanatlarında mutant hücre gruplarında/klonlarda ortaya çıkmakta ve mikroskopik olarak gözlenebilmektedir.

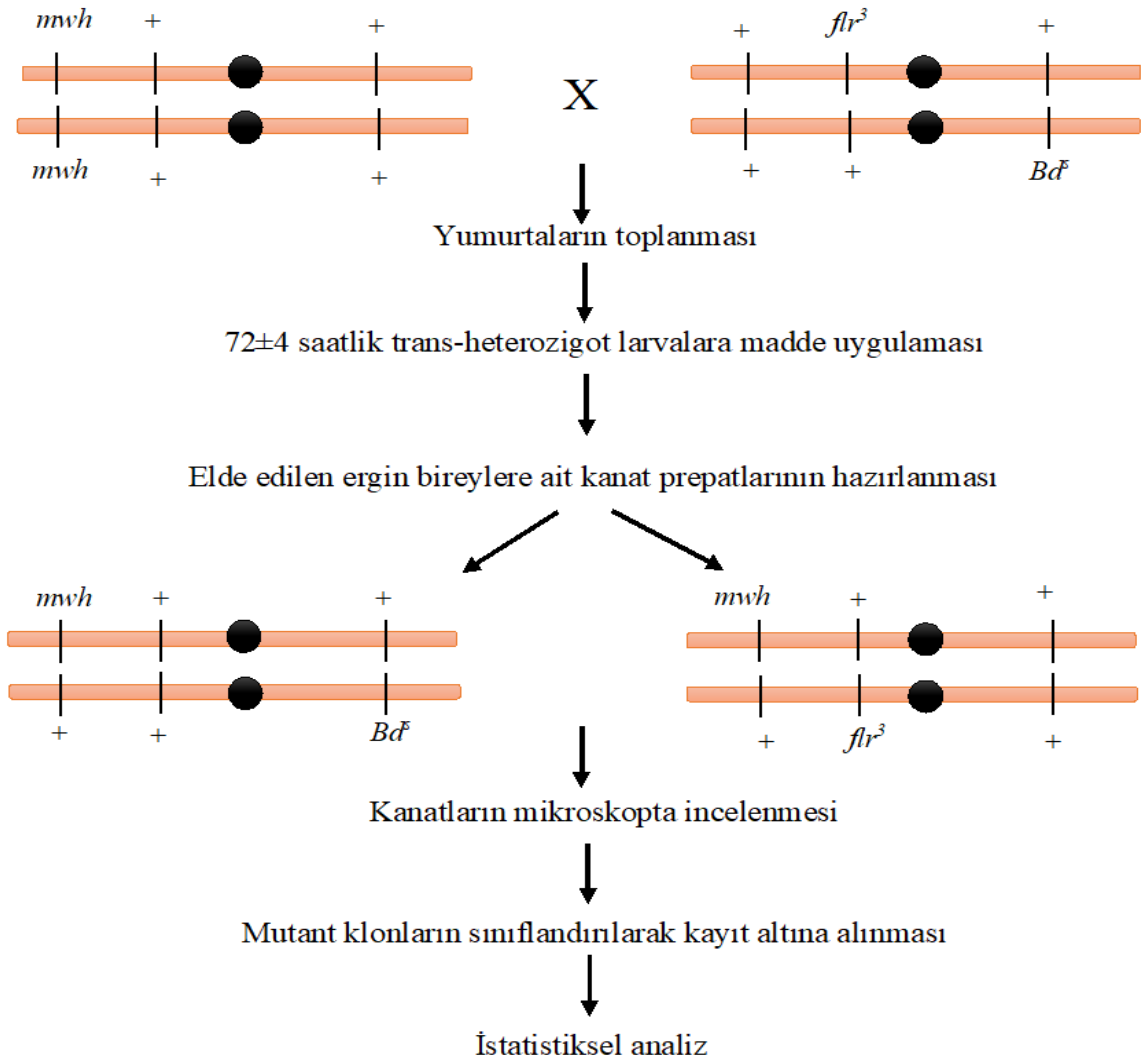
SMART yöntemi, resesif belirleyici genlerde heterozigotluk kaybı ile ergin sineklerin göz veya kanatlarındaki somatik hücrelerde mutant klon oluşumuna yol açabilme esasına dayanmaktadır (Graf *et al.* 1998). Genotoksik ajanlara maruz bırakılan ergin bireylerde indüklenmiş klonların toplam sayısı, uygulanan ajanın toplam genotoksik aktivitesi ile ilgili istatistiksel sonuç verirken klonların tipi klon oluşumunda rol oynayan mutasyonel mekanizmalar hakkında bilgi vermektedir (Graf *et al.* 1984; Guzman-Rincon and Graf 1995). SMART ile nokta mutasyon, delesyon, kromozom kaybı ve mitotik rekombinasyon gibi kromozomal aberasyonların belirlenmesi sağlamaktadır. Ayrıca mutasyonların etkileri de mikroskopik olarak fenotipte kolaylıkla gözlenebilmektedir (Graf *et al.* 1984; Graf *et al.* 1996). SMART'ın uygulanabilmesi ve sonuçların alınabilmesi için yalnızca bir nesil gerekmesi, çok sayıda hücrenin analizine imkan vermesi, maliyetinin düşük ve hızlı sonuç alınmasından dolayı bu test sıklıkla tercih edilmektedir (Graf and Wurgler 1996).



Şekil 4. *D. melanogaster*'in larval dönemine ait imajinal disklerin ergin bireyde oluşturdukları vücut kısımları.

SMART yönteminde kullanılan çoklu kanat kılı (*multiple wing hair*) *mwh/mwh* mutant soyunda belirleyici *mwh* resesif geni, 3. kromozomun telomerine yakın kısımda yer almaktadır (3-0,3). Bu belirleyici gen bir hücreden üç veya daha fazla sayıda kanat kılı (trikom) çıkmasına neden olmaktadır. Bu testte kullanılan diğer mutant soy *flare (flr³/TM3, Bd^s)* soyudur ve açık genotipi “*flare (flr³)/ln (3LR) TM3, ri pp sep l(3)89Aa bx34e es Bd^s*” şeklindedir. *flr³* resesif belirleyici geni de *mwh* resesif geni ile aynı kromozom üzerinde yani 3. otozomun sentromere yakın 38,8. lokusunda (3-38,8) yer almaktadır. *flr³* genotipindeki ergin bireylerin kanat kılları normal, düz ve uzun iken mutasyon sonucu kalın ve düzgün olmayan kısalmış, nokta veya koyu renkli balon şeklinde kıllar oluşmuştur. Bu resesif gen aynı zamanda homozigot durumda letal etkilidir ve bireylerin erken embriyonik evrede ergin döneme ulaşmadan ölmesine neden olmaktadır. Embriyonik evrede gerçekleşen letalitenin ortadan kaldırılması için *Bd^s (beaded-serrat)* genini taşıyan TM3 dengeleyici kromozomu kullanılmaktadır. Dominant *Bd^s* geni, TM3 dengeleyici kromozomunun üzerinde yer alır ve normal kanatlar düzgün kenarlı iken TM3 dengeleyici kromozomuna sahip ergin bireylerin kanat kenarları düzgün olmayıp testere dişi şeklindedir ve serrat kanatlı olarak da tanımlanırlar (Graf *et al.* 1998).

SMART ile *mwh* ve *flr³* mutant soyları çaprazlanıp oluşan trans-heterozigot larvalardan elde edilen ergin bireylerin kanatlarındaki mutant klonlar tespit edilmektedir (Şekil 5). Normal kanatlı (düzgün kenarlı) bireylerin kanat sektörleri hem mutasyon hem de rekombinasyon sonucu oluşan mutant klonları içerirken, serrat kanatlı (düzgün olmayan testere dişi şeklinde kanat) erginlerde dengeleyici TM3 kromozomu rekombinasyonu baskılar ve klonlar sadece mutasyonlar sonucu oluşurlar. Bu nedenle SMART sonuçları değerlendirilirken kanat preparatları kanat morfolojilerine göre normal kanatlı (düzgün kenarlı) ve serrat kanatlı olmak üzere ikiye ayrılarak incelenir. Mutasyon veya rekombinasyonlara bağlı olarak kanatlarda oluşan klonlar, iki mutant soya ait kıl tiplerinden yalnızca birini *mwh* veya *flr³* mutant fenotipini taşırsa tekli benekler olarak sınıflandırılır. Tekli beneklerde ise 1 veya 2 tane *mwh* mutant hücre varsa küçük tek tip klon (KTT), 3 veya daha fazla *mwh* mutant hücre ya da 4 veya daha fazla *flr³* mutant hücre varsa büyük tek tip klon (BTT) olarak tanım yapılmaktadır. Hem *mwh* hem de *flr³* mutant hücre klonlarının her ikisini birlikte taşıyan klonlar da ikiz klon olarak adlandırılmaktadır. İkiz klonlarda dikkate alınması gereken durum ise *mwh* ve *flr³* mutant hücre klonlarının yan yana mı oluştukları yoksa komşu klonlar oldukları mı ayrımının yapılabilmesidir. Bu durumda da iki mutant klon arasında “üç ya da daha fazla sayıda yabancı tip trikom sırası varsa” bunlar komşu klon, “*mwh* ve *flr³* mutant hücre klonları yan yana bulunuyorsa” ikiz klon şeklinde değerlendirilir. Komşu klonların oluşumunun varyasyonlara dayalı olduğu da Graf *et al.* (1998) tarafından bildirilmiştir.



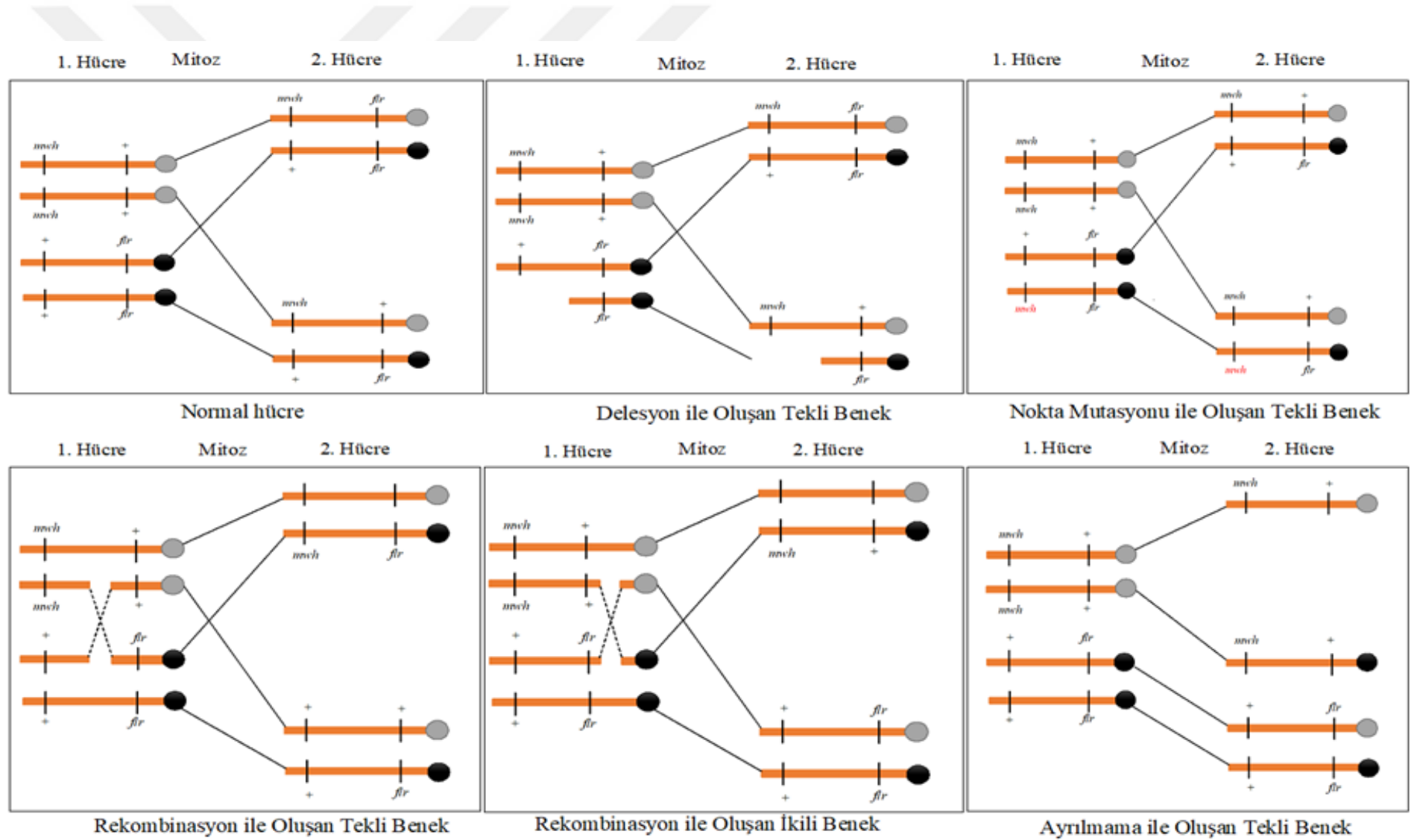
Şekil 5. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinin uygulama şekli.

Kanatlarda farklı mutant klonların oluşması da farklı genetik mekanizmalardan kaynaklanmaktadır (Şekil 6). Tek tip klonlar nokta mutasyon, delesyon, ayrılmama (nondisjunction) ve mitotik rekombinasyon sonucu oluşurken *flr*³ klonlar ile ikiz klonlar 3. kromozomun sentromeri ve *flr*³ geni arasındaki mitotik rekombinasyon sonucu meydana gelmektedir (Graf *et al.* 1998).

Son yıllarda doğaya dönüş eğiliminin artması ile gelişen “ne kadar doğal o kadar yararlı” düşüncesi, bitkilerin bilinçsiz tüketilmesine ve beraberinde bitkisel zehirlenmelere neden olmaktadır. Özellikle halk arasında keyif verici özelliklerinden dolayı (Bayam 2021) sık ve sürekli olarak kullanılan Solanaceae familyasına ait *D. stramonium* L., *H. niger* L. ve *N. rustica* L. türleri bilinçli olarak veya yanlışlıkla tüketildiğinde içeriğindeki alkaloidlerden dolayı zehirleyici hatta öldürücü olabilmektedir. Bu türlerin kişiler tarafından kısa süreli ya da uzun süreli alımlarından/kullanımlarından doğabilecek muhtemel etkileri, doz-süre etkileşimi

ile organ ya da sistemlerde birikmeye bağlı olarak meydana gelebilecektir. Sunulan tez kapsamında “Solanaceae familyasına ait bu bitkilerin su ve metanol ekstraktlarının kısa süreli uygulanması ile canlı sistemlerde genotoksik etkiyi uyarıp/uyarmadığı” *Drosophila melanogaster*’de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile ve “bu bitkilere sürekli maruz kalmanın organizmanın yaşam süresini etkileyip/etkilemediğı” de yine aynı model organizma kullanılarak *in vivo* ömür uzunluğu testi ile araştırılmıştır.





Şekil 6. Somatik mutasyon ve rekombinasyonların oluşum mekanizmalarının şematik gösterimi.

KURAMSAL TEMELLER

Maraş otu, sigarayı bırakmak isteyen insanlar tarafından zararlı etkisinin az olduğu gerekçesiyle kullanılmakta ve “dumansız tütün” olarak bilinmektedir. Ozkul *et al.* (1995) tarafından dumansız tütünün insanlar üzerindeki olumsuz etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, sigara içen, Maraş otu kullanan ve bu alışkanlıkları olmayan sağlıklı bireylerden alınan lenfosit hücrelerinde kardeş kromatit değişim (KKD) düzeyleri belirlenmiştir. Her iki tütünü kullanan bireyler arasındaki KKD frekanslarına ait istatistiksel farklılık anlamlı olmasa da kontrol grupları ile deney grupları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Yine Ozkul *et al.* (1997) yaptığı bir çalışmada, Maraş otunun bukkal mukoza (yanak içi mukoza) hücrelerindeki mikronükleus (MN) düzeylerini araştırmak amacıyla sigara içen, Maraş otu kullanan ve her ikisini de kullanmayan bireylerden örnekler alınmıştır. Maraş otu kullananların MN düzeyi sağlıklı bireylere göre oldukça yüksek bulunmuştur.

Cok and Ozturk (2000) tarafından yapılan bir başka çalışmada da Maraş otu kullanıcılarının idrarında bulunan kotinin (nikotinin pirolidin halkasının C ve N atomlarından oksitlenmesiyle oluşan metabolit) düzeyi sigara içenlere göre üç kat daha fazla olarak belirlenmiştir.

Yine sigara içen, Maraş otu kullanan ve sağlıklı bireyler ile yapılan bir çalışmada, total sialik asit (TSA) düzeyleri belirlenmiştir (Paçacı 2003). Elde edilen verilere göre, Maraş otu kullananların TSA düzeyi sigara içenlere göre daha yüksek bulunmuş ancak aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bu sonuçlar sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında ise sigara ve Maraş otunu kullanan bireylerde ki TSA düzeyi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Yapılan başka bir çalışmada, Maraş tozu kullanan ve sağlıklı kişilerden alınan venöz kan örneklerinde malondialdehit (MDA), süperoksit (SOD), glikoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve katalaz (CAT) düzeyleri belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda da Maraş tozu kullanıcılarının SOD, G6PD ve CAT düzeylerinin düşük olmasına karşın lipid peroksidasyonunun en önemli belirteci olan MDA düzeyinde artış görülmüştür (Kılinc *et al.* 2004).

Bir diğer çalışmada da sigara içen, Maraş otu kullanan ve hiçbirini kullanmayan sağlıklı kişilerde bağışıklık sisteminde görev alan adenoazin deaminaz (ADA) enzim aktiviteleri hesaplanmış ve kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Sigara içen ve Maraş otu kullananların

arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı olmasa da Maraş otu kullananlarda serum ADA aktivitesi sigara içenlere göre artmıştır (Köksal vd 2004).

48 yaşında bir kadının avuç dolusu *D. stramonium* L. tohumu tüketmesi sonucunda, önce sersemleme sonra yüzde kızarıklık ve görme bozukluğu gibi şikayetlerinin olduğu Deniz vd (2004) tarafından yapılan olgu sunumunda ifade edilmiştir.

Tez kapsamında kullanılan *D. stramonium* L. türünün toksisitesinin belirlenmesi için yapılan bir çalışma da Kumral *et al.* (2013) tarafından yapılmıştır. *Datura* yapraklarından hazırlanan etanol ekstraktı farklı konsantrasyonlarda ve farklı sürelerle (24-48 saat) *Panonychus ulmi* (Avrupa kırmızı örümceği) ve onun predatörü olan *Stethorus gilvifrons* (uğur böceği)'a uygulanmıştır. Artan doza ve süreye bağlı olarak ergin *P. ulmi* ve *S. gilvifrons* bireylerinde ölüm oranlarının arttığı görülmüştür.

Yanlışlıkla *D. stramonium* L. çiçeğini tüketen 8 yaşındaki kız çocuğu yaklaşık 5 saat sonra bilinç kaybı ile acil servise getirilmiş ve yapılan testler sonucunda *D. stramonium*'dan kaynaklanan karaciğer yetmezliği ve rabdomiyoliz (çizgili kasın parçalanması) tanısı konulmuştur (Ertekin *et al.* 2005).

D. stramonium L.'nin oral yolla alımları insanlarda olduğu gibi hayvanlarda da toksik etkiye yol açmaktadır. Binev *et al.* (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, *D. stramonium* L.'nin içinde bulunduğu at yemini tüketen 34 atta vücut sıcaklığında değişme, düzensiz solunum, göz bebeği büyümesi, dışkılama ve idrara çıkamama gibi sorunlar görülmüştür.

Donbak *et al.* (2007)'ın yaptığı bu çalışmada, 3-22 yıl boyunca Maraş tozu kullanıcıları ile sağlıklı kişilerden alınan periferik kan lenfosit hücrelerinde MN ve kromozomal aberasyon (KA) seviyeleri belirlenmiştir. Yapılan karşılaştırmalar sonucunda da Maraş tozunu kullanan bireylerde MN ve KA seviyelerinde artış olduğu ve kronik olarak vücuda alınan Maraş tozunun genotoksik hasara yol açtığı bildirilmiştir.

D. stramonium L. yapraklarından hazırlanan etanol ekstraktı, 50 ve 200 mg/kg olmak üzere beş hafta boyunca sıçanlara uygulanmıştır. Her iki dozda da serum kreatin düzeyinde gözlenen artış, *D.stramonium* L.'nin böbrek fonksiyonları üzerindeki toksik etkisini ifade etmektedir (Gidado *et al.* 2007).

Ahmad *et al.* (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, boyun (FaDu), göğüs (MDA-MB231) ve akciğer (A549) hücre hatları, 1 mg/ml *D. stramonium* L. sulu yaprak ekstraktına 24-48 saat boyunca maruz bırakıldığında hücresel canlılığın yitirildiği gözlenmiştir.

Sigara içen ve Maraş otunu kullanan kişilerde glomerüler filtrasyon oranı (GFR) ve proteinüri miktarının sağlıklı kişilere göre anlamlı derecede yüksek olması, böbreklerde ciddi hasarların olduğunu ve böbrek fonksiyonlarının etkilendiğini göstermektedir (Cerit 2010).

Maraş otunu kullanan ve sağlıklı bireylerden alınan kan örneklerinden total oksidan seviyesi (TOS), total antioksidan kapasitesi (TAK) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplanmıştır. Bunun sonucunda Maraş otunun TOS düzeyini artırıp TAK düzeyini düşürdüğü Köse vd (2011) tarafından ifade edilmiştir.

Ulker (2011), *D. stramonium* L. tohumlarından hazırlanan metanol ekstraktının insan lenfosit hücrelerinde hücre büyümesini inhibe ettiğini ve KKD'ye sebep olduğunu gözlemlemiştir.

Meselhy (2012) tarafından yapılan çalışmada, *D. stramonium* L. yapraklarından izole edilen krisin, kemferol ve 3,7-dimetil eter kuersetin flavonoidlerinin göğüs (MCF7), karaciğer (HEPG2) ve serviks (HELA) hücre hatlarında sitotoksik aktiviteyi uyardığını bildirmiştir. Yine Meselhy (2012) tarafından bildirildiğine göre, *D. stramonium* L.'den izole edilen bu üç flavonoid *Musca domestica* (karasinek) için de kovucu etki göstermiştir.

Bir olgu sunumunda, 23 yaşında 32 haftalık hamile kadının *H. niger* L.'nin doğal ortamında marula benzediği için yanlışlıkla tüketmesi sonucunda sersemleme, konuşma bozukluğu, görme sorunu, taşikardi, mide bulantısı ve kusma gibi şikayetleri olduğu belirtilmiştir (Karadaş vd 2012).

Kurtul *et al.* (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, Maraş tozu kullanan ve sağlıklı erkeklerden alınan kan örneklerinden MDA, paraoksonaz (PON) ve arilesteraz (ARE) düzeyleri belirlenmiştir. Maraş tozunu kullanan kişilerin sağlıklı bireylere göre MDA düzeyleri yüksek, antioksidan enzim olan PON ve ARE düzeylerinin ise düşük olduğu bildirilmiştir.

Bir diğer çalışmada da Maraş otunun kardiyak otonom disfonksiyonuna neden olup olmadığı araştırılmıştır. Akkoyun (2014), sigara içen, Maraş otu kullanan ve sağlıklı kişilerin elektrokardiyografi (EKG) ile kalp hızı toparlanma (KHT) ve kalp hızı değişkenliği (KHD) indekslerini belirlemiştir. Maraş otunu kullananlar da sağlıklı kişilere göre KHT değeri düşük bulunurken KHD değerinde de bozulmalar olduğu görülmüştür. Ancak sigara içen ile Maraş otu kullanan bireyler karşılaştırıldığında değerler yaklaşık olsa da aralarındaki fark anlamlı bulunmamıştır.

Yine bir olgu sunumunda *D. stramonium* L.'nin tohumlarını tüketen 38 yaşındaki erkek hastanın ağız kuruluğu, yüzde kızarıklık, şuur kaybı ve saldırganlık şikayetleriyle acil servise başvurduğu ifade edilmiştir (Kandemir vd 2014).

Collak *et al.* (2015), 7 yaşındaki kız çocuğunun *H. niger* L.'yi tüketmesi sonucunda ağız kuruluğu, konuşma bozukluğu, tutarsız davranışlar, görme sorunu gibi şikayetlerinin olduğunu yaptığı vaka takdiminde belirtmiştir.

D. stramonium L.'nin dikenli meyvesini kendisine keyif verdiği gerekçesiyle tüketen ergen gençte kısa süre sonra ağız kuruluğu, göz bebeğinde genişleme, tansiyon yüksekliği ve taşikardi gibi şikayetler görülmüştür (Kakkar *et al.* 2015).

D. stramonium L. üzerine yapılan başka bir olgu sunumunda, 30 yaşındaki erkek hastanın yaklaşık olarak 1 saat önce 1-2 avuç (50-60 adet) *D. stramonium* L. tohumundan bilinçsizce tükettiği ve yüzde kızarma ile baş dönmesi şikayetiyle acil servisi başvurduğu ifade edilmiştir. Yüksek miktarda tohum tüketimi sonucunda görülen bu semptomların tropan alkaloidlerine bağlı olarak gelişebileceği Yavuz vd (2016) tarafından bildirilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada, Maraş otu kullanan ve kullanmayan öğrenciler arasında yapılan karşılaştırmalar sonucunda Maraş otu kullananlarda nikotinden kaynaklı diş etlerinde şişlik, kızarıklık ve diş destekleyen dokularda iltihaplanma olduğu görülmüştür (Begaliyev ve Işıkov 2017).

Akut olarak Maraş otuna maruz kalan erkek bireylerin kalp hızlarındaki değişim, sistolik ve diastolik kan basıncı Ketten *et al.* (2017) tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmada yapılan ilk ölçümler kontrol olarak kabul edilmiş ve sonrasında 5., 10., 15. ve 20. dakikalarda yapılan ölçümler de kaydedilmiştir. Araştırmacılar tarafından belirlenen ilk iki ölçümde 1.5 gr Maraş otu diş ile alt dudak arasındayken, 15. ve 20. dakikalarda Maraş otu olmadan ölçümler yapılmıştır. Sonuç olarak farklı sürelerde yapılan ölçüm sonuçlarına göre sistolik ve diastolik kan basıncı kontrole göre oldukça yüksek bulunmuştur.

Baharshahi *et al.* (2017) yaptığı bir çalışmada, *H. niger* L.'nin çiçek, sap ve yapraklarından hazırlanan metanol ekstraktlarının fil hastalığı etkeni olan *Wuchereria bancrofti* (Bankroft solucanı) vektörü *Culex* spp.'in larvaları üzerindeki öldürücü etkisi araştırılmıştır. Bu bitkinin çiçek ekstraktı en öldürücü etkiye sahipken bunu yaprak ve sap ekstraktı takip etmiştir. Böylece çevreye zarar vermeden *Culex* spp.'nin gelişimi engellenerek insanlarda görülen ve özellikle bacaklardaki toplardamarlarda tıkanmaya sebep olan bir dolaşım bozukluğu olan fil hastalığına son verilebileceği araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir.

H. niger L.'nin larvasidal etkisi üzerine yapılan benzer bir çalışma, bu bitkinin kök, yaprak, gövde ve çiçeklerinden hazırlanan metanol ekstraktının, sıtmaya yol açan *Anopheles* spp.'in larvalarına farklı dozlarda (0.25, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/ml) uygulanması ile yapılmıştır. Çiçek metanol ekstraktı, larvalar üzerinde yüksek insektisidal etkiye sahip iken kök metanol ekstraktı

daha düşük etki göstermiştir. Ancak artan konsantrasyon ve maruz bırakılma süresine (6, 12, 24, 48 ve 72 saat) bağlı olarak bu bitkiye ait ekstraktların tümünün çalışılan larvalar üzerinde öldürücü etki gösterdiği Behravan *et al.* (2017) tarafından bildirilmiştir.

Bir başka olgu sunumunda *H. niger* L.'nin kökünü pişirip tüketen 65 yaşındaki kadın ve 71 yaşındaki erkek hastada kafa karışıklığı, taşikardi ve halüsinasyon gibi semptomlar görülmüştür. 27. saate kadar halüsinasyon ve algılama güçlüğü çekmeye devam ettikleri ayrıca tedavilerinin tamamlanmasına rağmen 3 hafta boyunca yorgunluk hislerinin devam ettiği de belirtilmiştir (Shams *et al.* 2017).

Uddin *et al.* (2017) tarafından yapılan çalışmada, *D. stramonium* L. yapraklarından hazırlanan macun, 200 gram ağırlığındaki 20 sıçana dört farklı (T0, T1, T2 ve T3) gruba ayrılarak uygulanmıştır. T0 grubundaki sıçanlar kontrol grubu olarak macuna maruz bırakılmazken T1, T2 ve T3 grupları farklı dozlarda (50, 100 ve 200 mg/kg) macunlara maruz bırakılarak vücut ağırlığı, hemoglobin, alkalen fosfataz (ALP), aspartat transaminaz (SGOT) ve alanin transaminaz (SGPT) düzeyleri belirlenmiştir. Sonuç olarak, kontrol grubuyla karşılaştırma yapıldığında artan macun konsantrasyonuna bağlı olarak sıçanların vücut ağırlığında azalma, ALT, SGOT ve SGPT düzeylerinde ise artış görülmüştür.

Yine bir olgu sunumunda, 76 yaşındaki kadının hemoroid tedavisine iyi geldiği gerekçesiyle *D. stramonium* L. bitkisinin yaprak ve çiçeğini kaynatarak içtiği, yaklaşık 30 dakika sonra konuşma bozukluğu ve baş dönmesi şikayetleri ile 2. saatten sonra halüsinojenik etkilerin görüldüğü belirtilmiştir (Eroğlu vd 2017).

Diğer bir olgu sunumunda da *D. stramonium* tohum ve yaprağını yanlışlıkla tüketen 6 ve 8 yaşındaki iki erkek çocukta konuşma bozukluğu, halüsinasyon, ajitasyon ile huzursuzluk, kafa karışıklığı ve paranoya gibi öforik semptomlar gözlenmiştir (Nalbantoğlu vd 2017).

D. stramonium L. yapraklarına ait su ekstraktı ile yapılan farklı bir çalışmada, bu ekstrakt farklı konsantrasyonlarda (%2, %4, %6 ve %8) *Vigna unguiculata* L. (börülce) ve *Triticum aestivum* L. (buğday) bitkilerine uygulanmış ve artan konsantrasyona bağlı olarak bitkilerin çimlenmelerinde önemli ölçüde azalma olduğu Sakadzo *et al.* (2018) tarafından bildirilmiştir.

Aldatmaz (2018), Maraş otu kullanan kişilerin trigliserit ve glukoz düzeylerinin sağlıklı kişilere göre daha yüksek olduğunu ve Maraş otu kullanımının insülin direncini arttırdığını yaptığı çalışmada ifade etmiştir.

Yiğit vd (2019) yaptığı çalışmada, *H. niger* L., *Coriandrum sativum* L. (kişniş), *Mentha piperita* L. (bahçe nanesi), *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye) yapraklarından, *Lavandula*

officinalis (lavanta) çiçeklerinden, *Silybium marianum* L. (deve dikenini) toprak üstü kısımlarından metanol ekstratları hazırlamıştır. Bu altı farklı bitki ekstraktı *Culex pipens* (ev sivrisineği)'in 3. evre larvalarına beş gün süreyle uygulandığı zaman *H. niger* L. ekstraktı %100 oranında larvasidal etki göstermiştir. Bu oran diğer ekstraktlar da *R. officinalis* için %95, *C. sativus* için %80, *M. piperita* için %38 ve *S. marianum* için de %25 olarak belirlenmiştir.

Yorulmaz (2019) tarafından bildirildiğine göre, *D. stramonium* L.'nin çiçeklenme dönemindeki yapraklarından hazırlanan su ve metanol ekstraktları *Amaranthus retroflexus* L. (kırmızı köklü horozibiği), *Chenopodium album* L. (sirken/yabani ıspanak) ve *Beta vulgaris* L. (şeker pancarı) bitki tohumlarının çimlenmesini engellemektedir.

Yine benzer bir çalışmada *Datura*'nın tohumlarından hazırlanan sulu ekstraktın *Sorghum bicolor* L. (sorgum), *Pennisetum glaucum* L. (inci darısı), *Zea mays* L. (mısır) ve *Triticum vulgare* L. (yumuşak buğday) bitkilerinin tohum çimlenmesini inhibe ettiği Dafaallah *et al.* (2020) tarafından ifade edilmiştir.

Comez *et al.* (2020) tarafından yapılan bir başka çalışmada, Maraş tozunu akut ve kronik olarak kullanan bireylerin gözlerindeki damar tabakalarında incelme ve mikrovasküler yapıların kan dolaşımında azalma olduğu gözlemlenmiştir.

Akkol *et al.* (2020) tarafından *H. niger* L.'nin tohumlarından hazırlanan alkaloid ekstraktı, *Lucillia sericata* (yeşil şişe sineği)'nin birinci, ikinci ve üçüncü evre larvalarına uygulandığında ölüm oranı bir önceki larval döneme göre artış göstermiş ve üçüncü evre larvalarda bu oran %100'e ulaşmıştır.

Bayam (2021), *H. niger* L. ve *D. stramonium* L.'nin tohumlarından, *N. rustica* L.'nin yapraklarından hazırladığı su ve metanol ekstraktlarının içeriğinde bulunan ve oksidatif etkiye sahip olan bileşikleri belirleyerek onların genotoksik etkilerini ortaya koymuştur. Bu amaçla kullanılan GC-MS (Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi) yöntemi ile ekstraktların içeriğinde yüksek oranda atropin, skopolamin, nikotin ve geranilgeraniol bulunmuştur ki özellikle atropin, skopolamin ve nikotinin oksidatif etkili olduğu da bilinmektedir (Hassine *et al.* 2013; Diaz 2015). Ayrıca insan periferik kan kültürüne uygulanan su ve metanol ekstraktlarının mikronükleus sayısını/oranını arttırdığı ancak mitotik indeksi azaltmış olduğu da bu çalışmada tespit edilmiştir.

MATERYAL METOT

Materyal

Kullanılan organizma

Canlıların biyolojik işleyişini kompleks şekilde anlaşılması ve fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanların oluşturdukları etkileri gözlemlemek için kullanılan canlılara “model organizma” denilmektedir. Özellikle laboratuvar ortamında yetiştirilmeleri kolay, beslenmeleri düşük maliyetli, kısa yaşam döngüsüyle birlikte çok sayıda yavru birey verebilen türler model organizma olarak kullanılmaktadır (Leonelli and Ankeny 2013). Ancak organizmalar, araştırmanın amacına uygun seçilmeli ve böylece araştırmacı özellikle genetik denemelerde kontrollü çaprazlamalar yapabilmelidir. Örneğin, *Xenopus laevis* (Afrika pençeli kurbağası) ve *Gallus gallus domesticus* (tavuk) hücre ve gelişim biyolojisi çalışmalarında, *Danio rerio* (zebra balığı), *Fugu rubripes* (şişen balık/ japon kirpi balığı) ve *Oryzias latipes* (japon pirinç balığı/ medaka) ise kısa genoma sahip olmalarından dolayı gen transferi ve insanlarda görülen bazı hastalıklar ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda kullanılmaktadır (Elgar *et al.* 1996; Wittbrodt *et al.* 2002; Borondinsky 2017; Kayhan vd 2018; Beacon and Davie 2021). Ayrıca *D. melanogaster*, *Caenorhabditis elegans* (yuvarlak solucan) ve *Saccharomyces cerevisiae* (bira mayası) genetik ve yaşlanma üzerine yapılan araştırmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (Karan ve Tufan 2010; Kayhan vd 2018).

Bu tez kapsamında genetik ve toksikoloji alanlarında yapılan çalışmalarda sıklıkla tercih edilen ve ökaryotik bir model organizma olan *D. melanogaster* Oregon- R yabanıl soyu ile iki ayrı mutant soy kullanılmıştır. İlk defa 1910 yılında Thomas Morgan tarafından genetik çalışmalarda kullanılan *Drosophila*, sonraki yıllarda birçok bilimsel araştırmalarda tercih edilmiştir. Morgan, *D. melanogaster* ile yaptığı çalışmalarda modern genetik biliminin temelini oluşturan kalıtımın kromozom teorisini geliştirmiş ve Nobel-Fizyoloji Tıp ödülünü kazanmıştır. Daha sonra Hermann Müller, *D. melanogaster*'de X ışınları ile öldürücü mutasyonlar arasındaki bağlantıyı keşfederek 1946 yılında Nobel ödülü almaya layık görülmüştür. Bir diğer önemli araştırma ise Eric Wieshaus, Nusslein-Volhard ve Edward Lewis adlı üç ayrı bilim insanı tarafından yapılmış ve *D. melanogaster*'in gelişim sürecinde rol alan genler keşfedilmiştir. Bu keşif sayesinde üç bilim insanı 1995 yılında Nobel ödülünü almışlardır. Genetik alanında birçok keşifte önemli yere sahip olan *D. melanogaster*, gelişim biyolojisi, hücre biyolojisi, yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarının incelenmesi gibi birçok alanda tercih edilen model organizma olmuştur (Rogina 2011).

Böcekler sınıfında (Insecta) yer alan *D. melanogaster*, halk arasında fermente olan ürünler üzerinde yaşadıkları için meyve sineği veya sirke sineği olarak adlandırılmaktadır. *D. melanogaster*'in genom dizisi 2001 yılında belirlenmiş ve insanlarda kanser, parkinson ve alzheimer gibi hastalıklara neden olan %60'dan fazla genin *Drosophila* ile ortolog gen olduğu belirlenmiştir. "Ortolog gen", farklı türlerde bulunan homolog gen demektir. Bu gen/genler türleşme yoluyla farklı türlerde evrimleşmişlerdir. Bununla birlikte, atasal gen ve onun işlevi türleşme süreci boyunca korunmuştur. Bu durumda ortolog genler, "ortak bir atayı paylaşan farklı türlerin genomlarında bulunan homolog genlerdir ve genellikle benzer işlevleri sürdürürler" diye daha geniş şekilde tanımlanabilir (Bernards and Harihan 2001).

İki organizma arasında birçok moleküler mekanizmanın benzerlik göstermesi *Drosophila*'nın mutajenik ve genotoksik etkisi belirlenmek istenen ajanlar için yapılacak testlerde kullanılmasını mümkün kılmıştır (Uysal vd 2006; Ugur et al. 2016). Ayrıca *D. melanogaster*'in tüm larval evrelerinde görülen politen kromozomlar, mRNA sentezi yapılan ve puf olarak bilinen aktif gen bölgeleri sayesinde toksik ajanların gen aktivitesi üzerindeki etkisini inceleyebilme fırsatı sunmaktadır (Uysal 1990). *D. melanogaster*'in bu kadar geniş araştırma alanlarında tercih edilme sebeplerinden biri de bilhassa boyutlarının küçük oluşu ve kısa sürede çok sayıda verimli döl verebilmeleridir. Yavru bireyler yaklaşık 9-10 günlük yaşam döngülerinin (Şekil 11) tamamlanmasının ardından kısa zamanda büyük popülasyonlar oluşturmaktadır. Böylece göz rengi, göz şekli, kıl tipi, kanat şekli, vücut rengi bakımından çeşitli varyasyonlara sahip mutant bireylerin fenotopini makroskobik veya binoküler mikroskop altında incelemek mümkündür (Graf and Singer 1992). *D. melanogaster*'in sahip olduğu bu özellikler, toksisite ve genotoksisite çalışmalarında tercih edilmelerinin en önemli sebepleridir (Uysal vd 2006).

***Drosophila melanogaster*'in sistematikteki yeri**

Kingdom/Alem: Animalia (Hayvanlar alemi). İçinde bulundukları çevrelerine yüksek derecede uyum yeteneği olan, diğer canlı türlerinden beslenen (heterotrof) ve kompleks yapıya sahip çok hücreli (*Eukaryota*) canlılardan oluşmaktadır.

Phylum/Şube: Arthropoda (Eklem bacaklılar). Eklem bacaklıların en önemli özelliği segmentli vücut yapısı ve eklemli ekstremitelere (yürüme bacaklarına) sahip olmasıdır. Vücutlarının etrafı kutikula denilen bir kitin yapıyla çevrilidir. Canlıların dış kısmını saran bu tabaka sklerotin ve kalsiyum karbonat tuzları içerdiğinden dolayı oldukça serttir. Bu yüzden kutikula tabakasının varlığında canlının büyümesi ve deri değiştirmesi sınırlanır ancak birkaç kez gerçekleşen deri değiştirme ile ilk tabaka atılarak büyüme gerçekleşmektedir.

Classis/Sınıf: Insecta (Hexapoda/Böcekler). Eklem bacaklılar şubesinin en kalabalık sınıfıdır. Bu sınıfa dahil olan canlıların vücutları baş, göğüs ve karın olmak üzere üç kısımdan meydana gelmiştir. Baş kısmında bir çift bileşik göz, ağız parçaları ve anten, göğüs kısmında ise genellikle 2. ve 3. segmentlerde birer çift kanat bulunmaktadır. Altı bacaklılar (Hexapoda) olarak da bilinen böceklerin her göğüs segmentinde bir çift bacak mevcuttur. Son olarak karın kısmı 11 segmentten oluşmaktadır ve herhangi bir ekstremit taşımamaktadır.

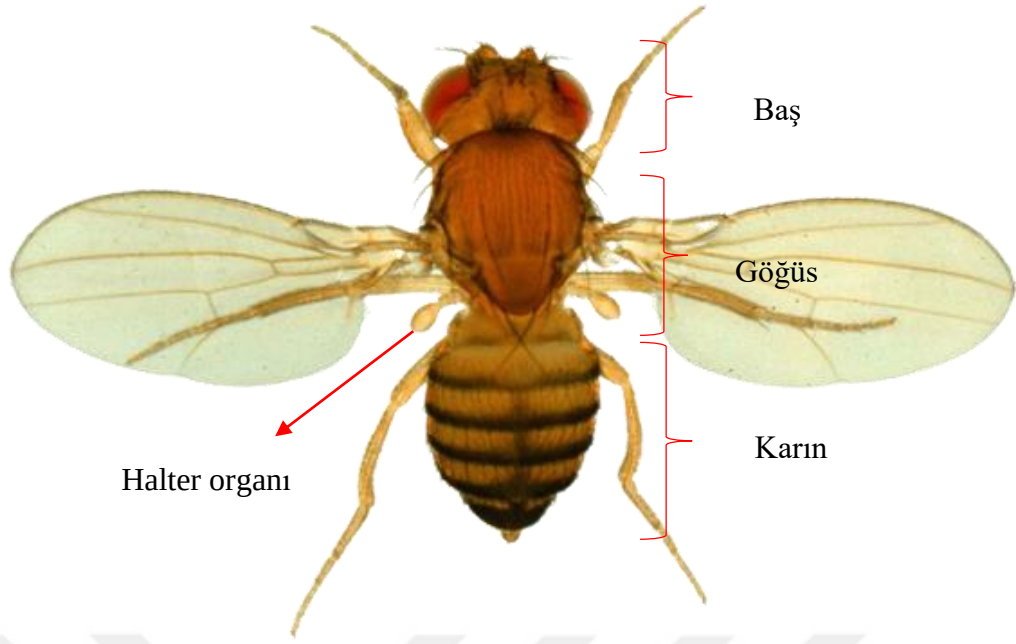
Ordo/Takım: Diptera (Çift kanatlılar). Bu takıma dahil olan hayvansal organizmaların en önemli özelliği iki çift kanada sahip olmalarıdır. Ancak genellikle bazı türlerde evrimsel süreç içerisinde ikinci çift kanat körelerek denge organı olarak görev yapan “halter organına” dönüşmüştür (Şekil 7).

Subordo/Alt takım: Brachycera (Kısa antenliler). İçerisinde yaklaşık olarak 120 familya bulunduran Diptera’nın en büyük alt takımlarından birisidir. Duyu organı olarak görev yapan küçük antenler, uçuş ile ilgili mesajları doğrudan beyne iletirler.

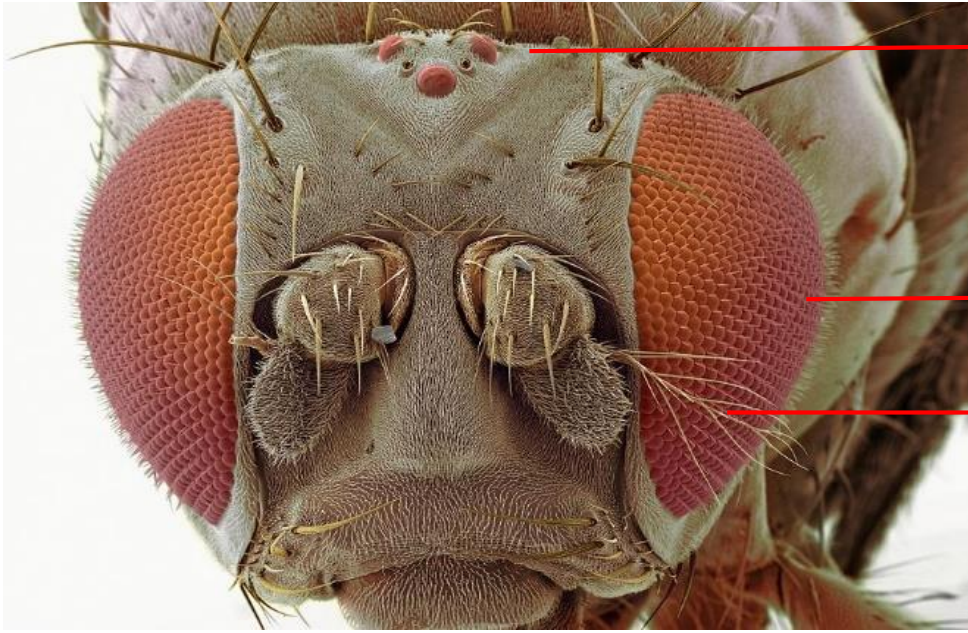
Familia/Aile: Drosophilidae (Meyve sinekleri). Bu sinekler özellikle çürümekte olan meyveler, mayalar ve bazı mikrofunguslar açısından zengin besin kaynaklarına ilgi duyarlar.

Genus/Cins: *Drosophila*. Bu cinse ait türlerin bazıları *Musca domestica* (kara sinek)’dan daha küçük olup yaklaşık 2-4 mm vücut uzunluğuna sahiptir. Genellikle vücut renkleri soluk sarı veya kahverengi, gözleri ise kiremit kırmızısı rengindedir. Larval dönemden ergin döneme kadar gelişim gösteren beyin yapısına sahip olması sebebiyle nöro-genetik çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedirler.

Species/Tür: *Drosophila melanogaster*’in vücutu baş (caput), göğüs (thorax) ve karın (abdomen) olmak üzere üç kısımdan meydana gelmektedir (Şekil 7). *D. melanogaster*’in baş kısmı incelendiğinde (Şekil 8) yuvarlak-kırmızı renkli bir çift bileşik göz, tepede (vertex) üç ayrı basit göz (ocel) ve bir çift arista (kamçı benzeri/kıla benzeyen ek yapı) tipi anten (Şekil 9) bulunduğu görülür. Göğüs kısmı üç segmentli olup bu segmentler önden arkaya doğru protoraks, mesotoraks ve metatoraks olarak isimlendirilir ve her bir segmentten bir çift yürüme bacağı çıkar. Ayrıca mesotoraksta bir çift uzun kanat ve metatoraksta da evrimsel süreç içinde körelmiş ikinci çift kanattan orjinlenen halter organı bulunmaktadır (Şekil 7).



Şekil 7. *D. melanogaster*'in vücut yapısı.

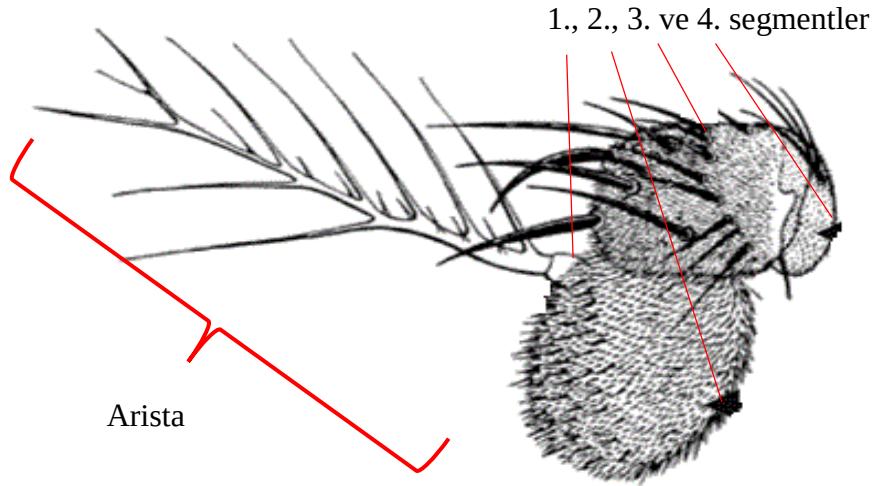


Başın verteks kısmı ve üç basit göz

Bileşik göz

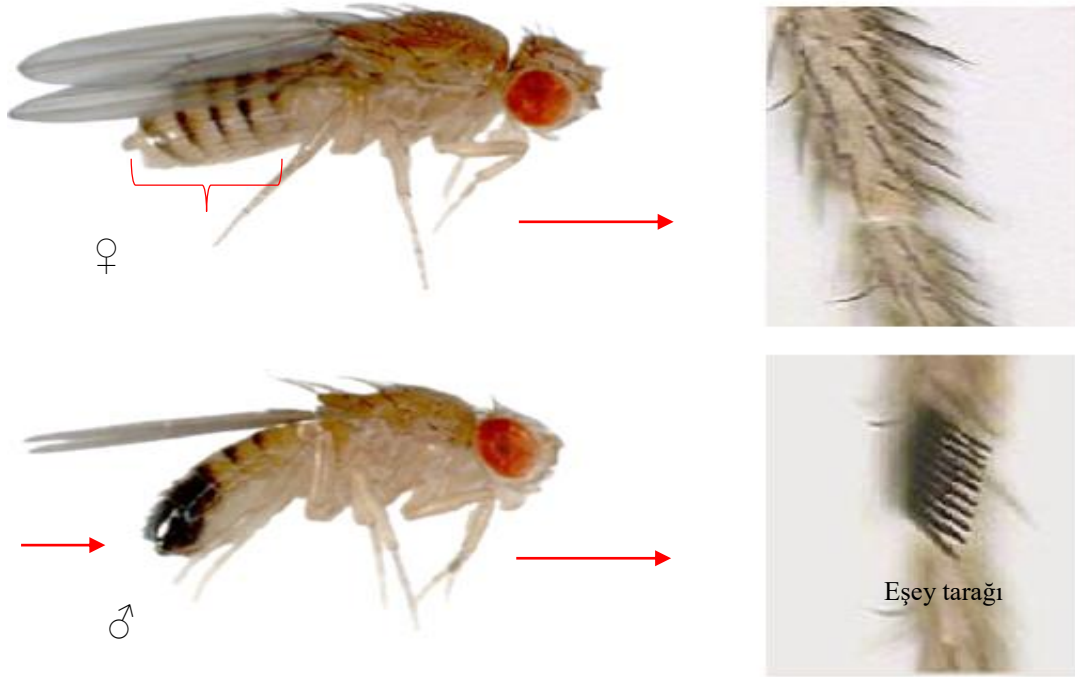
Arista tipi anten

Şekil 8. *D. melanogaster*'in baş kısmı.



Şekil 9. *D. melanogaster*'in arista tipi anteni.

Drosophila'da vücudun son kısmı olan karın bölgesinde cinsiyete bağlı olarak değişen sayıda segmentler bulunmaktadır. Dişilerde abdomen kısmı uca doğru sivrileşen 7 segmentten oluşurken (Şekil 10) erkeklerde ucu yuvarlak ve son segmenti koyu renkli toplam 5 segmentten meydana gelmektedir. Ayrıca yalnızca erkek bireylerin birinci çift bacağının birinci tarsus segmentinde bulunan ve yoğun kıllardan oluşan eşey tarağı (metatarsal tarak) makroskobik eşey belirleme kriterlerindendir. Bir diğer eşey belirleme kriteri ise erkeklerin karın kısmında yer alan koyu renkli segmentlerdir (Şekil 10).

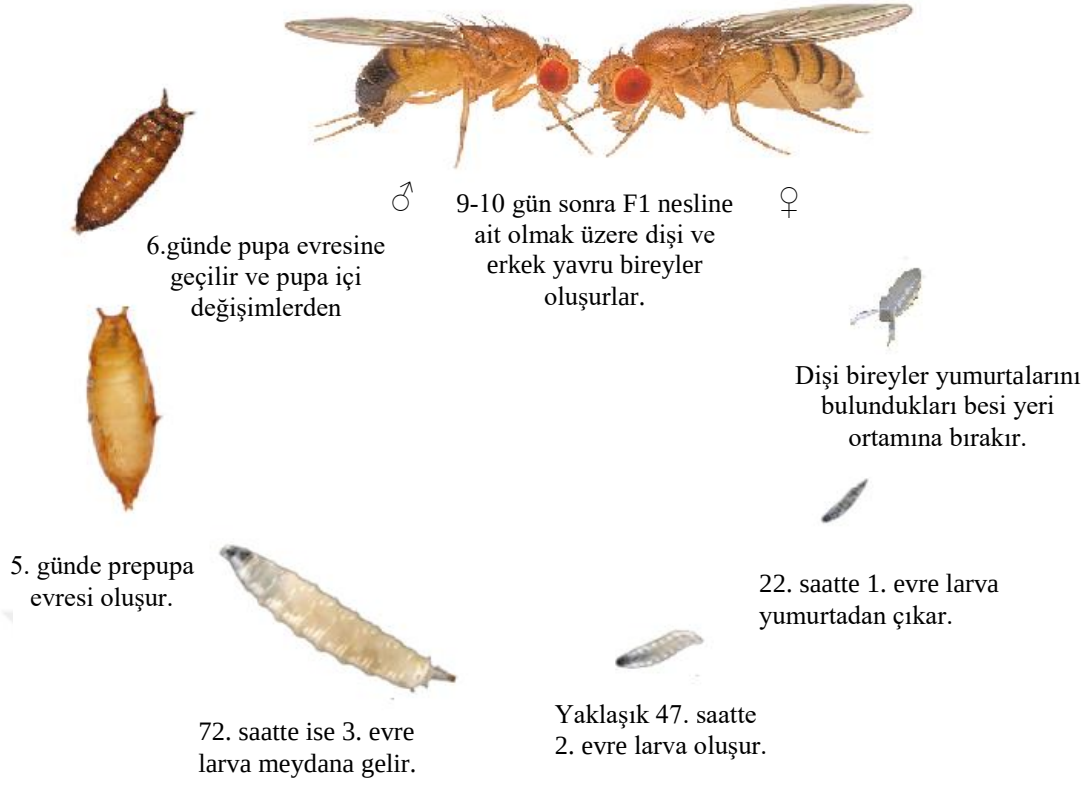


Şekil 10. *D. melanogaster*'in Oregon-R yabanıl soyuna ait ergin dişi ve erkek bireyler.

***D. melanogaster*'in hayat döngüsü**

D. melanogaster'in hayat döngüsü, döllenmeden sonra yumurta, üç larva, prepupa, pupa ve ergin olmak üzere yaklaşık 9-10 günde tamamlanmaktadır (Şekil 11). Döllenmeden hemen sonra başlayan embriyonik periyot, döllenmenin başlangıcını ve yumurta içi segmental süreci ve 1.evre larvanın oluşumuna kadar olan dönemi içermektedir. Postembriyonik periyot ise larvanın yumurtadan çıktığı ve ergin hale gelinceye kadar geçirdiği tüm metamorfoz evrelerini kapsamaktadır. Ancak gelişim devam ederken sıcaklık (Sorensen and Lowschcke 2002; Sinclair and Roberts 2005; Uysal vd. 2006), beslenme (Chippindale *et al.* 1993; Mair *et al.* 2003; Partridge *et al.* 2005; Grandison 2009), nem, çiftleşme, popülasyon yoğunluğu (Kızılet ve Uysal 2012), radyasyon (Moskalev *et al.* 2011) gibi faktörler hayat döngüsünü etkilemektedir.

Olgun yumurta sitoplazması, yeni gelişecek embriyo için gerekli olan birtakım transkript ürünleri ile proteinleri taşımaktadır ve bu moleküler yapılar, gametogenezin büyüme evresinde oluşurlar. Mayotik döngü sırasında sentezlenmiş olan tüm bu ürünler, döllenmeden önce anneden gelecek şeklinde düzenlenmiştir. Böcek yumurtaları genellikle sentrolesital tipte olup *Drosophila*'da da aynı tip yumurta bulunmaktadır. Bu yumurta tipinde nükleus merkezi pozisyonlu, vitellüs maddesi bol ve sitoplazma yumurtanın çevresinde ince bir tabaka halindedir. Döllenmeyle birlikte zigot çekirdeği (2n) sitokinez olmaksızın art arda dokuz bölünme geçirerek yaklaşık 512 çekirdekli *sinsityum* denilen yapıyı oluşturur. Bu çekirdekler yumurtanın dış yüzeyine doğru göç ettikten sonra yaklaşık dört bölünme daha geçirerek *sinsityal blastoderm* yapısını meydana getirirler. Yumurtanın dış yüzeyinde bulunan ve embriyonun simetri eksenini belirleyecek olan çekirdeklerin etrafı moleküler yapılar içeren sitoplazma ile çevrilir. Embriyoda gonadal yapının oluşacağı posterior kısımda da eşey hücrelerine ait öncüller yer alırlar.

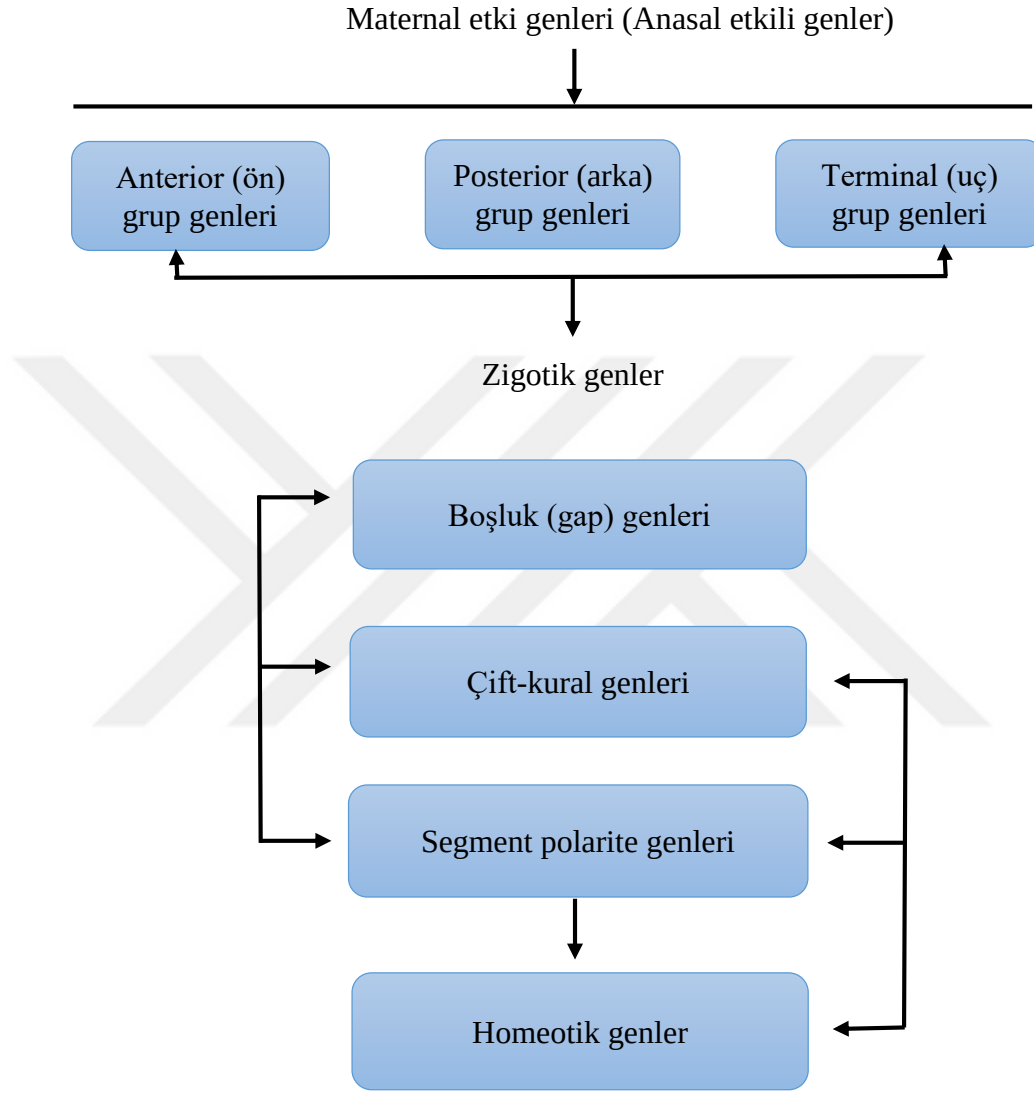


Şekil 11. *D. melanogaster*'in hayat döngüsü.

D. melanogaster'de döllenmiş yumurtada 0-22 saat içinde embriyo oluşur. 22. saatin sonunda da yumurtadan larva çıkar ve toplu iğne başı kadar olan, gözle görülebilen bu larva birinci larva evresidir. Yaklaşık 47. saatte 1. deri değişimi sonucunda ikinci evre larvalar, 72. saatte ise 2. deri değişimi sonucunda üçüncü evre larvalar meydana gelmektedir. 1., 2. ve 3. evre larvalar besi yerinde oyuklar açarak beslenmeye devam ederler. 5. günde 3.evre larvalar, kitin plaka ile sarılmaya ve yavaş yavaş hareketsizleşmeye başlayarak 4.larva evresi olarak da tanımlanan prepupa evresine geçerler. Tamamen hareketsiz evre ise pupa evresidir ve fiçi tipi pupa 6.günde oluştuktan sonra imaginal disklerin histolizi ve ergin bireylere ait organogenez ile pupa içi değişiklikler başlar. Yaklaşık 9-10 gün sonra da ergin bireyler pupa kılıfından çıkarlar.

D. melanogaster'in embriyonik ve postembriyonik gelişiminde rol oynayan birtakım genler bulunmaktadır (Şekil 12). Bu genlerin bir bölümü (%30) vital genlerdir ve Miklos and Rubin (1996) tarafından bildirildiğine göre, bu genlerdeki herhangi bir mutasyona bağlı olarak *Drosophila*'da ya gelişim döngüsü tamamlanamamakta ya da gelişen bireylerde ölüm meydana gelebilmektedir. "Maternal etkili genler", *Drosophila*'da vücudun anterior (ön), posterior (arka) ve terminal (uç) kısımlarının oluşumundan/düzenlenmesinden sorumlu genlerdir. Bu genlerden en önemlileri *bicoid* ve *nanos* genleridir. *Bicoid* genlerindeki mutasyonlar sonucunda baş ve

toraks bölgesi bulunmayan larvalar oluşurken *nanos* genlerindeki mutasyonlarda eksik abdominal segmentler meydana gelmektedir. Maternal etkili genlerin mRNA veya protein ürünleri, oogenez esnasında gelişmekte olan yumurta sitoplazmasının belirli bölgelerine dağılmıştır. Bu gen ürünleri ile gap (boşluk) genleri uyarılarak embriyonun geniş bölgelere ayrılması sağlamaktadır.



Şekil 12. *Drosophila*'nın vücut yapısını oluşturan genlerin sınıflandırılması.

“Zigotik genler” olarak bilinen boşluk, çift-kural ve segment polarite genleri *Drosophila*'da segment oluşumunda görev alırlar. Embriyo, boşluk genlerinin ifade edilmesi sonucunda baş, göğüs ve karın olmak üzere üç geniş kısma ayrılır. Ancak boşluk genlerinin mutasyona uğraması ile segmentler arasında büyük boşluklar oluşmaktadır. Örneğin, *hunchback* geninde gerçekleşen mutasyonlarda baş ve göğüs, *knirps* geninde gerçekleşen mutasyonlarda da karın kısmının büyük çoğunluğu kaybolmaktadır. *Drosophila*'nın embriyonal gelişimi sırasında vücut segmentlerinin sırasını belirleyen boşluk genleri aynı zamanda çift kural genlerinin transkripsiyonunu da kontrol etmektedir. Bu durum da boşluk genleri hem kontrol

geni hem de çift kural genlerinin çalışmasını aktive ettiği için regülatör (düzenleyici) gen olarak işlevseldir.

Çift-kural genleri, boşluk genleri tarafından oluşturulan baş, göğüs ve karın gibi vücudun geniş kısımlarını bir segment büyüklüğünde parçalara bölerek segment sınırlarını belirlemektedir. Ayrıca yine çift-kural genleri tarafından sentezlenen gen ürünleri, bir diğer maternal etkili gen olan segment polarite genlerinin ifadesini de kontrol ederek her bir segmentte bulunan hücrelerin gelişim sürecini belirlemektedir. Segment polarite genleri ise segmentlerin antero-posterior organizasyonunu belirlemektedir. *Drosophila*'nın segment sınırlarının belirlenmesiyle bu kez homeotik genler aktive olurlar ve hangi segmentin hangi vücut yapılarını (anten, kanat, karın, ağız parçaları ve göğüs) oluşturacağı homeotik genler tarafından belirlenir. Ancak homeotik genlerde meydana gelen mutasyonlar, mutant sineklerin oluşmasına yol açmaktadır. Örneğin, *antennapedia* geninde ki mutasyon ergin sineklerin baş bölgesinde anten yerine bacak oluşumuna neden olmaktadır.

Tüm embriyonik ve postembriyonik gelişim sürecinde görev alan genlerin etkileşimi sonucunda *D. melanogaster*'in larvaları vücut kısımları bakımından şekillenmektedir. Larvalar baş bölgesinde bir, göğüs bölgesinde üç ve karın bölgesinde de sekiz tane olmak üzere toplam 12 segmente sahiptir. Ergin bireylerde ise baş ve göğüste üç, karın bölgesinde de sekiz olmak üzere toplam 14 segment bulunmaktadır (Uysal vd. 2006).

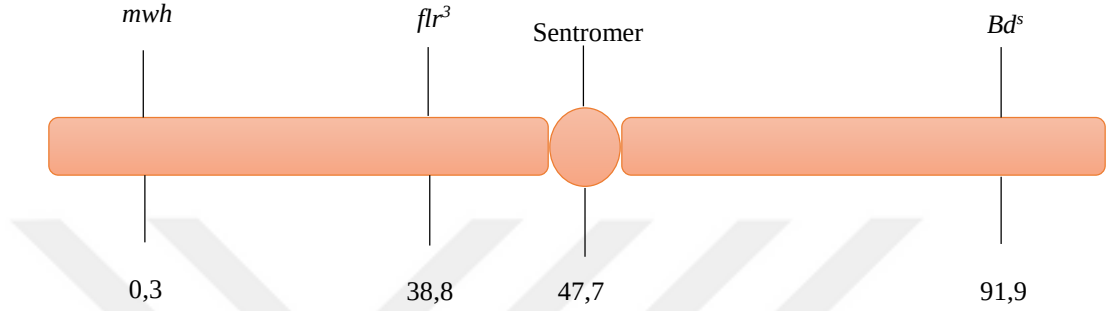
***D. melanogaster*'in Oregon-R yabanıl ve mutant soyları**

Bu tez çalışması için genetik alanında yapılan araştırmalarda model organizma olarak kullanılan *D. melanogaster*'in Oregon-R yabanıl soyu ile *multiple wing hair (mwh)* ve *flare (flr³)* mutant soyları kullanılmıştır. Bu iki soy, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda uzun yıllardan beri kendileştirilen (bacı-kardeş eşleştirmeleri), genetik açıdan homojen soylar olup %60 bağıl nem içeren, 25±1°C sıcaklık ve sürekli karanlık şartlara sahip ısıtılmalı-soğutmalı sıcaklık kabinlerinde muhafaza edilmektedir.

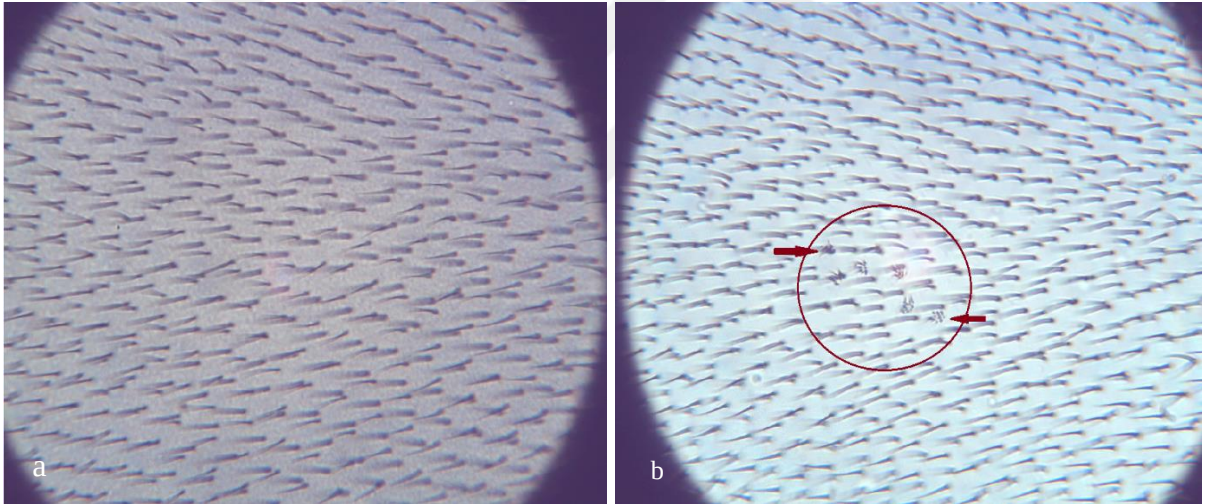
In vivo ömür uzunluğu testinde kullanılan *D. melanogaster* Oregon- R yabanıl soyu, herhangi bir mutant karakter taşımayan kiremit kırmızısı göz rengine, bir çeşit nokta (basit) göz olan ommatidiumlardan oluşan birleşik ya da petek gözlere (Şekil 8), segmentli vücut yapısına, kahverengi vücut rengine, uzun ve düzgün kenarlı kanatlara sahiptir (Şekil 10 ve Şekil 16b).

Somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde (SMART) kullanılan *flr³* mutant soyuna ait *flr³* belirleyici (marker) resesif geni, 3. kromozomun sentromerine yakın 38,8. lokasyonda (3-38,8) yer almaktadır (Şekil 13). Bu gen fenotipte uzun, düz ve normal kanat kılları (Şekil 14a, Şekil 15a) yerine kısa, belli bir biçimi olmayan, körelmiş, koyu renkli kılların (Şekil 14b)

oluşumuna yol açmaktadır (Graf *et al.* 1984). *flr³* belirleyici geni homozigot durumda canlının embriyonik gelişimini tamamlamadan letalite göstermesine neden olmaktadır. Bu yüzden ergin birey oluşumu gözlenememektedir. Embriyonik evrede gerçekleşen letal etkinin ortadan kaldırılması için *Bd^s* (beaded-serrat) genini taşıyan TM3 dengeleyici kromozomu kullanılmaktadır. Ayrıca normal bireylerde uzun kanatların kenarları düzgün iken 3. kromozomda *Bd^s* genini (3-91,9) taşıyan bireylerde kanatlar normalin aksine testere dişi şeklinde (Şekil 16a) görülmektedir (Graf *et al.* 1998).

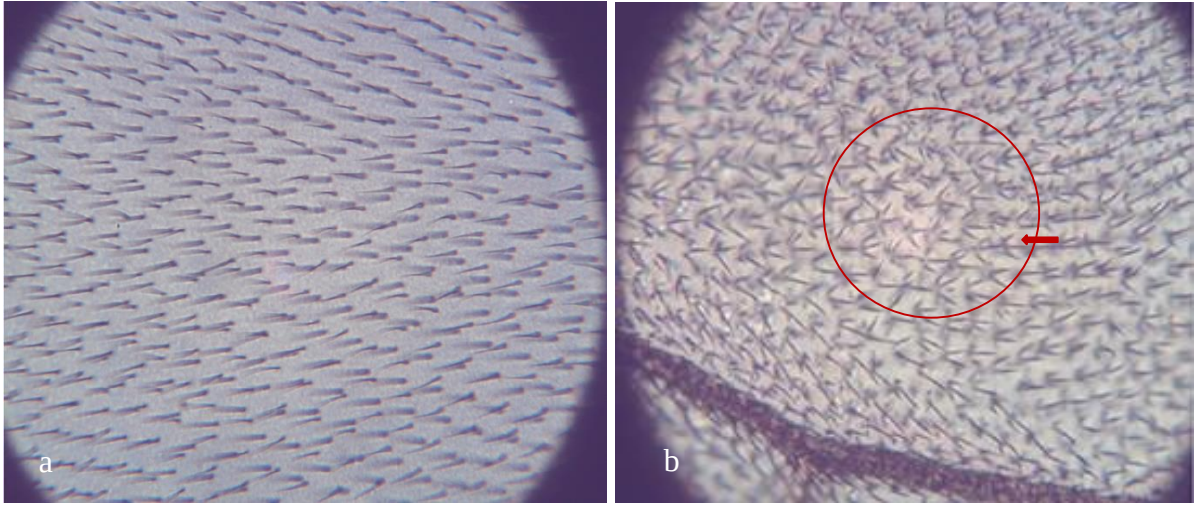


Şekil 13. *mw h* ve *flr³* genlerinin kromozom üzerindeki konumu.



Şekil 14. a) *D. melanogaster*'in yabancıl tip bireylerine ait uzun, düz kanat kıllarının ve b) *flr³* geni taşıyan bireylere ait kısa, körelmiş kanat kıllarının mikroskopik görüntüsü (10x40).

Diğer belirleyici gen olan *mw h* geni, resesif bir gen olup bir hücreden üç veya daha fazla sayıda kanat kılının (Şekil 15b) çıkmasına neden olmaktadır (Graf *et al.* 1998). Bu belirleyici gen de 3. kromozomun telomerine yakın 0,3. lokasyonda (3-0,3) yer almaktadır (Şekil 13).



Şekil 15. a) *D. melanogaster*'in yabanıl tip bireylerine ait kanat kıllarının ve b) *mwh* geni taşıyan bireylere ait kanat kıllarının mikroskopik görüntüsü (10x40).

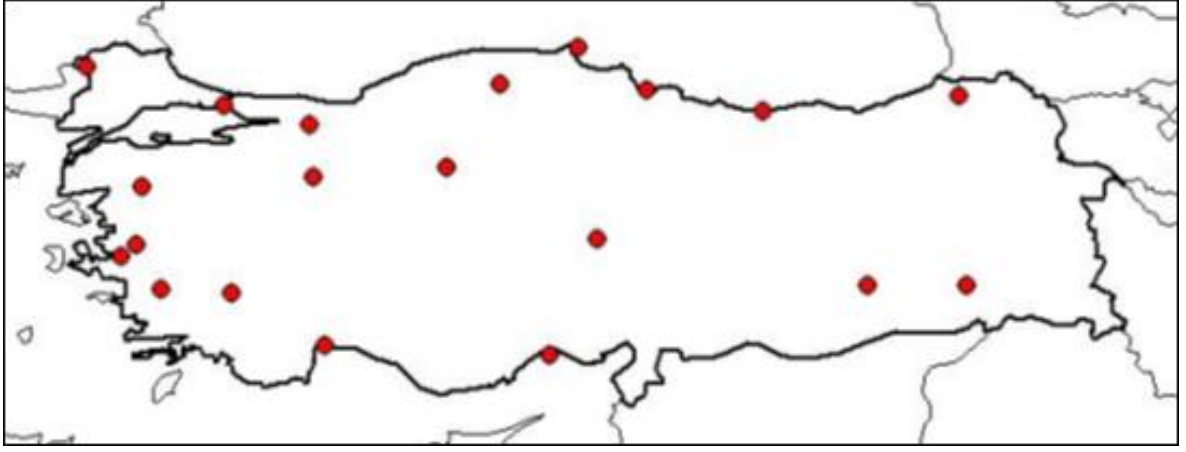


Şekil 16. a) *flr³* genini taşıyan bireylerin testere dişi kanat fenotipi. b) *mwh* genini taşıyan bireylerin normal kanat fenotipi.

Çalışmada kullanılan bitkiler

Datura stramonium L. (boru otu)

Orta Amerika ve Meksika kökenli olan *D.stramonium* L. türü, bulunduğu bölgedeki halk tarafından cin otu, boru otu, şeytan elması ve tatula gibi isimlerle bilinmektedir (Greene *et al.* 1996). Ilıman iklim bölgelerinde yayılış gösteren bu tür, ülkemizin İç Anadolu, Ege, Marmara, Karadeniz, Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve Akdeniz olmak üzere tüm bölgelerinde bulunmaktadır (Şekil 17).



Şekil 17. *D. stramonium* L.'nin ülkemizde yayılış gösterdiği bölgeler.

1-1,5 m boyunda tek veya çok yıllık bir bitki olan *D.stramonium* L., dik gövdeli, yuvarlak saplı, dikensi meyve (Şekil 18) ile beyaz, pembe, mor veya kırmızı renkte çiçeklere (Şekil 19) sahiptir.



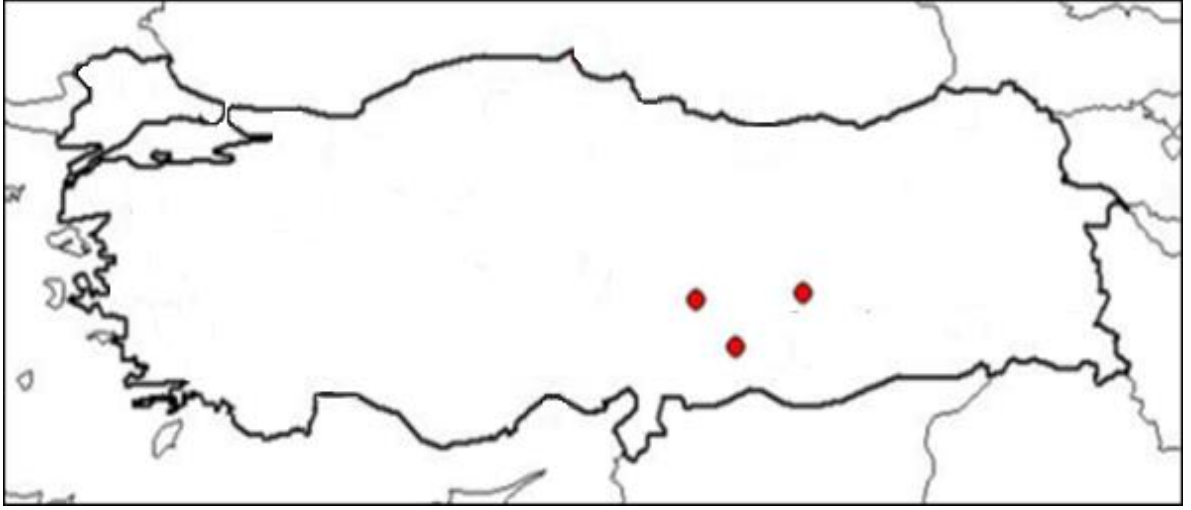
Şekil 18. *D. stramonium* L.'nin dikensi çıkıntılara sahip meyvesi ve tohumları.



Şekil 19. Doğal ortamında farklı renklerde *Datura stramonium* L. bitkisi.

***Nicotiana rustica* L. (Maraş otu)**

Dünyanın birçok yerinde dumansız tütün olarak kullanılan *N. rustica* L., halk arasında deli tütün, Maraş otu, Aztek tütünü veya Hasankeyf tütünü olarak da bilinmektedir. Ülkemizin özellikle Gaziantep, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa çevresinde keyif verici olarak sıklıkla tüketilmektedir (Şekil 20).



Şekil 20. *N. rustica* L.'nin ülkemizde bulunduğu şehirler.



Şekil 21. Doğal ortamında *Nicotiana rustica* L. bitkisinin görünüşü.

N. rustica L., yaklaşık 1,5 m boyunda yaprakları oval, kaliks tüpü kadehe benzeyen, salgı tüyleri bulunan tek veya çok yıllık bitkilerdir (Şekil 21). Bu bitki türünün kurutulan yaprakları, ya sigara ya da çene ile dudak arasına yerleştirilen Maraş otu yapımında kullanılmaktadır (Baytop 1984; Erenmemisoglu *et al.* 1992).

***Hyoscyamus niger* L. (ban otu)**

Solanaceae familyasına ait *H. niger* L., Avrupa ve Kuzey Afrika kökenli bir bitki olup tıpkı *Datura stramonium* L. gibi ülkemizin yedi ayrı bölgesinde yol kenarları ve boş arazilerde bulunmaktadır. Bu bölgelerle ilgili coğrafik harita Şekil 22'da verilmiştir.



Şekil 22. *H. niger* L.'nin ülkemizde bulunduğu bölgeler.

Halk arasında siyah ban otu, gavur haşhaşı, bengildek, berç ve dağdağan gibi isimlerle bilinen bu bitkinin boyu 30-70 cm olup, sapları dik, yaprakları oval, koyu renk tohum (Şekil 23) ve soluk sarı çiçeklere sahip tek veya çok yıllık bitkilerdir (Şekil 24). Ayrıca kadehe benzeyen meyvelerinde de (Şekil 23) çok sayıda tohum bulunmaktadır (Baytop 1984).



Şekil 23. *H. niger* L. bitkisine ait meyve ve tohumların görünüşü.



Şekil 24. Doğal ortamında *Hyoscyamus niger* L. bitkisinin çiçekleri.

Kullanılan kimyasal maddeler, alet ve cihazlar

Çalışma kapsamında yapılan ömür uzunluğu testinde propiyonik asit (Cas No: 79-09-4), agar-agar (Cas No: 9002-18-0) ve dietil eter (Cas No: 60-2-7), somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde ise dimetil sülfoksit (DMSO: Cas No: 67-68-5), *Drosophila* Instant Medium (DIM), gliserol (Cas No: 56-81-5), arap zımkı (Cas No: 9000-01-5), kloral hidrat (Cas No: 302-17-0), etil metansülfonat (EMS: Cas No: 62-50-0), sodyum hidroksit (Cas No: 1310-73-2) ve entellan (Cas No: 97-88-1) gibi kimyasal maddeler kullanılmış ve bu kimyasal maddelerin tümü Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) firmasından temin edilmiştir.

Çalışma kapsamında kullanılan cihaz, cam ve metal malzemeler Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genetik Araştırma Laboratuvarından sağlanmıştır. Bunlar; hassas terazi (KERN ABJ 220-4M), ısıtmalı-soğutmalı sıcaklık kabini (BİNDER ETÜV RE 53), no-frost buzdolabı (VESTEL IDEA 465 A NF), kuru hava sterilizatörü (BINDER ED 115), stereo mikroskobu (NIKON/ SMZ-10), kameralı trinoküler ışık mikroskobu (BOECO, BM-180/T/SP), binoküler mikroskop (LEİTZ) gibi cihazlar ile kurutma kağıdı, beher, cam kroze, cam şişe, tıkaç, erlenmayer, baget, petri kabı, ince uçlu tweezer (pens), lam ve lamel gibi cam ve metal malzemelerdir.

Metot

Kullanılan bitkilerin toplanması ve kurutulması

Çalışma kapsamında kullanılan *D. stramonium* Muğla iline bağlı Menteşe ilçesinden (37,207348°Kuzey, 28,368521°Doğu), *N. rustica* Kahramanmaraş iline bağlı Türkoğlu ilçesinden (37.378052°Kuzey, 36.841424°Doğu) ve son olarak *H. niger* Erzurum iline bağlı Pasinler ilçesinden (40.023718°Kuzey, 41.593414°Doğu) toplanmıştır.

Bitkilerin tez çalışmasında kullanılabilmesi ve ekstraktların yapılabilmesi için tüm bitkiler önce ayrı ayrı olmak üzere kurutma kağıtlarına sarılıp oda sıcaklığında (22-24 °C) ve doğrudan güneş ışığı görmeyen karanlık bir ortamda kurumaya bırakılmıştır. Bu aşamada bitkilerin çürümemesi için kurutma kağıtları sıklıkla değiştirilmiştir. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra ekstraksiyon için *D. stramonium* ve *H. niger*'in tohumları, *N. rustica*'nın ise yaprakları kullanılmıştır. Bu amaçla da bitkilerin tohum ve yaprakları havan içerisindeki sıvı azot ile dondurularak öğütülmüştür. Böylece küçük ve ince granüler tanecikler edilmiştir.

Kullanılan bitkilerin metanol ekstraktlarının hazırlanması

Kurutulmuş ban otu ve boru otunun tohumları ile Maraş otunun yaprakları 25 gr olacak şekilde tartılıp içinde 200 ml metanol bulunan balon joje içerisine konulmuştur. 24 saat boyunca oda sıcaklığında ekstrakte edilen bitkiler, süzgeç kağıdı ile süzölmüş ve bu işlem üç kez tekrarlanmıştır. Daha sonra elde edilen süzöntüden metanolü ayırtmak için 50°C sıcaklığa ayarlı Soxhlet ekstraktör düzeneği kurulmuştur. Yoğunlaştırma sonucu elde edilen bitki özütleri, ayrı ayrı olmak üzere steril cam şişelere konulmuş ve kullanılıncaya kadar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Bitkisel ekstraktlar, *D. stramonium* için DS_{met}, *N. rustica* için NR_{met} ve *H. niger* için de HN_{met} olarak isimlendirilmiştir.

Kullanılan bitkilerin su ekstraktlarının hazırlanması

Kurutulan Maraş otu, ban otu ve boru otuna ait su ekstraktlarının hazırlanması için, her bir bitki kurusu ayrı ayrı olmak üzere erlenmayere konulmuştur. Daha sonra üzerine 60-80°C sıcaklıkta saf su ilave edilerek bu sıcaklığın 21-24 °C'ye düşmesi için beklenilmiştir. Yapılan süzme işlemi sonucunda bu karışımdan sulu bitki çözeltisi elde edilmiş ve çözeltiler *D. stramonium* için DS_{su}, *N. rustica* için NR_{su} ve *H. niger* için de HN_{su} olarak kısaltılmıştır. Çözeltilerdeki suyun uzaklaştırılması için de ürünün esas şeklini ve özelliklerini koruyup dondurarak kurutma yani liyofilizasyon yöntemi ile çalışılmıştır. Bu amaçla ilk olarak petri kaplarına alınan sulu bitki özütleri bu şekilde -80°C'de 24 saat bekletilmiştir. Liyofilizasyon işleminin vakumlama basamağında meydana gelebilecek olası bozulmalara karşı petri kaplarının üstleri parafilm ile kapatılmış ancak hava sirkülasyonunun olabilmesi için parafilm

üzerine küçük delikler açılmıştır. En son liyofilizatörün iç bölümünde bulunan tablaya petri kapları yerleştirilmiş ve 85°C’de 48 saat vakumlanarak kurumaya bırakılmıştır. Liyofilizasyon işlemi, Atatürk Üniversitesi, Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM)’nde bulunan Christ Alpha 2-4 LSC Plus marka liyofilizatör ile yapılmıştır.

***Drosophila* besi yerinin hazırlanması**

Drosophila stok kültürleri ve uygulama grupları, Standart *Drosophila* besi yeri’nde (SDB) yetiştirilmektedir. SDB yapımında kullanılan malzemeler ve miktarları Tablo 2’de verilmiştir. Besi yeri hazırlamak için öncelikle 440 cc saf su kaynatılır. Aynı zamanda başka bir beherde 125 cc saf suya mısır unu ve bira mayası eklenerek ikinci karışım hazırlanır. Kaynayan 440 cc saf suya önce agar-agar daha sonra toz şeker eklenerek bu maddelerin saf su içinde homojen olarak çözünmesi gerçekleşinceye kadar baget yardımıyla karıştırılır. Elde edilen karışıma mısır unu ve bira mayasından oluşan ikinci karışım da eklenerek kısık ateşte kıvam alıncaya kadar kaynatmaya devam edilip (yaklaşık 15 dk) soğumaya bırakılır. SDB’ye son olarak küf inhibitörü olarak propiyonik asit eklenip 250 ml’lik steril kültür şişelerine yaklaşık iki parmak yüksekliğe denk gelecek şekilde dökülür. Kültür şişeleri içerisindeki besi yerinin kontamine olmaması için üzerleri kurutma kağıdı ile kapatılıp 1 gün boyunca oda sıcaklığında soğumaya bırakılır. Soğuyan şişelerin ağızları ertesi gün steril sünger tıkaçlarla kapatılıp stok kültürlerin aktarımında veya deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere buzdolabında muhafaza edilir.

Tablo 2. *Drosophila* Besi Yerinin İçeriği

Kullanılan malzemelerin adı	Kullanım miktarları
Saf su	565 ml
Mısır unu	50 gr
Bira mayası	19 gr
Agar-agar	9 gr
Toz şeker	60 gr
Propiyonik asit	3,5 ml

Bu tez kapsamında SMART için kullanılacak olan mutant soylar ise *Drosophila* Instant Medium (DIM) olarak bilinen hazır besi yerinde yetiştirilmiştir. Bu amaçla da deney tüpleri içine 1,5gr DIM konularak üzerine 4 ml saf su ilave edilerek besi yeri ortamı hazırlanmıştır.

***D. melanogaster* için eterizasyon (bayıltma) işleminin yapılması**

Eterizasyon işlemi, *Drosophila* türlerinin fenotipik olarak detaylı incelenebilmesi, deneysel prosedüre uygun olarak stok kültürlerin veya uygulama gruplarının aktarılabilmesi ve özellikle ömür uzunluğu testlerinde popülasyonda yaşayabilen/ölen bireylerin sayımları için

yapılmaktadır. Çünkü *Drosophila* türleri pozitif fototropik (ışığa doğru), pozitif kemotropik (kimyasal maddelere) ve negatif geotropik (yerçekiminin tersi) yönelim gösterirler ve kültür şişelerinin tıkaçları açıldığı zaman oldukça hızlı hareket ederek dış ortama kaçışabilmektedirler. Bu nedenle deneysel manüpilasyonların yapılabilmesi için onların hareketlerinin yavaşlatılması gereklidir. Ergin bireyler eterizasyon için cam kroze içerisine aktarıldıktan sonra krozenin ağzı cam veya plastik bir petri ile kapatılır. Daha sonra cam kroze, bir miktar dietil eter içeren erlenmayere yerleştirilir. Krozenin tabanında bulunan torfdaki gözeneklerden yukarıya doğru nüfus eden eter, kısa süre içinde *Drosophila*'nın yarı hareketsiz (baygın) hale gelmesini sağlar. Böylece baygın ergin bireyler tercih edilen çalışmalar için hazır hale getirilmiş olurlar.

Ömür uzunluğu testi için ergin birey seçimi

Ömür uzunluğu testinde kullanılan *D. melanogaster*'in Oregon-R yabanıl soyuna ait ergin bireyler, SDB içeren çok sayıda kültür şişesinde ön çaprazlamalara tabi tutulmuştur (P: 10 ♀ X 10 ♂). Ebeveynlerin metamorfozu tamamlanmasının ardından F₁ nesline ait aynı yaşlı (72±4 saatlik) ve henüz çiftleşmemiş yavru bireyler, eşey ayrımı yapılarak 4'er saatlik periyotlarla 3 gün boyunca ayrı ayrı olmak üzere toplanmıştır. Daha sonra toplanan bireyler ile 100 dişi ve 100 erkek bireyden oluşacak şekilde kontrol ve uygulama grupları oluşturulmuştur.

Bitki ekstraktlarına ait stok solüsyonların hazırlanması ve ergin bireylere bitki ekstraktlarının uygulanması

Tez çalışmasında kullanılan üç ayrı bitkiye ait metanol ve su ekstraktları, önce %1'lik DMSO'da çözülüp 600 ppm'lik stok solüsyon hazırlanmış ve bu stok solüsyonlar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Solüsyonların taze hazırlanıp kullanılmasına da dikkat edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında yapılan ön denemeler ile DS_{su}, DS_{met}, NR_{su}, NR_{met}, HN_{su} ve HN_{met} bitki ekstraktları için dört farklı uygulama dozu (10, 20, 30 ve 40 ppm) belirlenmiştir. 10 ppm uygulama grubundan daha düşük dozlar ömür uzunluğu üzerinde herhangi bir negatif etki göstermezken 40 ppm uygulama grubundan daha yüksek dozlar toplu ölümlere yol açmıştır. Bu nedenle daha düşük ve daha yüksek dozlar ile çalışılamamıştır.

Ömür uzunluğu testinde negatif kontrol grupları olarak yalnızca distile su ile hazırlanan SDB ve bitkisel ekstraktların çözücüsü olan %1 DMSO içeren SDB (SDB+DMSO) kullanılmıştır. Uygulama grupları ise bitkisel ekstraktları dört farklı dozda (10,20,30,40 ppm) içeren SDB (SDB+metanol/su ekstraktları) ile hazırlanmıştır. Deneyler, gerek negatif kontrol gerekse uygulama grupları için 100 ♀♀ ve 100 ♂♂ birey ile eş zamanlı başlatılmıştır. Fakat popülasyon yoğunluğundan kaynaklanabilecek sorunları engellemek amacıyla her uygulama

grubuna ait 100'er bireyden oluşan popülasyon, 25'er bireylik 4 gruba ayrılmış ve böylece özellikle sayımlar sırasında bireylerin kaçışlarına bağlı veri hatalarının önüne geçilmiştir. Kronik uygulamaya maruz bırakılan deney grubuna ait bireyler, başlangıç dozlarına uygun şekilde haftada 2 kez olmak üzere taze besi ortamına aktarılmış ve aktarımlar sonucunda ölen ergin bireyler kaydedilmiş ve besi yeri ortamından uzaklaştırılmıştır. Üç tekerrürlü olarak yapılan bu işlemler, besi yeri ortamında ki son birey ölünceye kadar devam etmiştir.

SMART için ergin birey seçimi

Bir diğer *in vivo* test olan SMART için de *D. melanogaster*'in *mwh* ve *flr³* mutant soylarına ait ergin bireyler ayrı ayrı olmak üzere SDB içeren kültür şişelerinde ön çaprazlamalara tabi tutulduktan sonra yavru bireyler elde edilmiştir.

Her iki soya ait çiftleşmemiş yavru bireyler, 4'er saatlik periyotlarla dişi ve erkek ayrımı yapılarak ayrı ayrı kültür şişelerinde toplanmıştır. Trans-heterozigot larvaların elde edilebilmesi amacıyla da çiftleşmemiş ergin bireyler ile;

a) P: *flr³*♀ X *mwh* ♂ çaprazlaması ve b) P: *flr³*♂ X *mwh* ♀ “resiprokal çaprazlamaları” yapılmıştır. Her iki soya ait dişi ve erkek bireylerin çiftleşmeleri için 1 gün süreyle beklenilmiştir. Çiftleşmeler gerçekleştiğinde dişiler tarafından besi yeri üzerine bırakılan yumurtalardan çıkan larvaların aynı evrede olabilmeleri için aynı ebeveynler farklı besi yeri ortamına aktarılmıştır. Böylece aynı ebeveyn bireylerden her yeni besi yerine yumurta bırakarak daha fazla larva elde edilebilmesi sağlanmıştır.

3. evre larvalara bitkisel ekstraktların uygulanması ve elde edilen ergin bireylerin kanat preparatlarının hazırlanması

SMART için ergin birey elde edebilmek amacıyla distile su ve bitki ekstraktlarının çözücüsü olan %1 DMSO negatif kontrol grupları ve mutajenik etkisi bilinen etil metansülfonat (1ppm EMS) ile de pozitif kontrol grupları oluşturulmuştur. DS_{su}, DS_{met}, NR_{su}, NR_{met}, HN_{su} ve HN_{met} bitki ekstraktlarına ait uygulama grupları için de bu ekstraktlar farklı dozlarda (10, 20, 30 ve 40 ppm) olmak *Drosophila* Instant Medium (DIM) bulunan kültür şişelerine eklenmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarına ait her besi yeri ortamına yaklaşık 150 trans-heterozigot larva konulmuş ve larvalar hayat döngüleri tamamlanıncaya kadar ısıtmalı-soğutmali etüvlerde tutulmuştur.

Hayat döngülerini tamamlayan ergin bireyler günlük olarak toplanmıştır. Kanat preparatlarını hazırlamak için toplanan ergin bireyler, eppendorf tüplerinde bulunan %70'lik etil alkol içerisinde +4 °C'de saklanmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarına ait preparatlar normal (*mwh/flr³*) ve serrat (*mwh/TM3, Bd^S*) kanat fenotiplerine göre ayrı ayrı hazırlanmıştır.

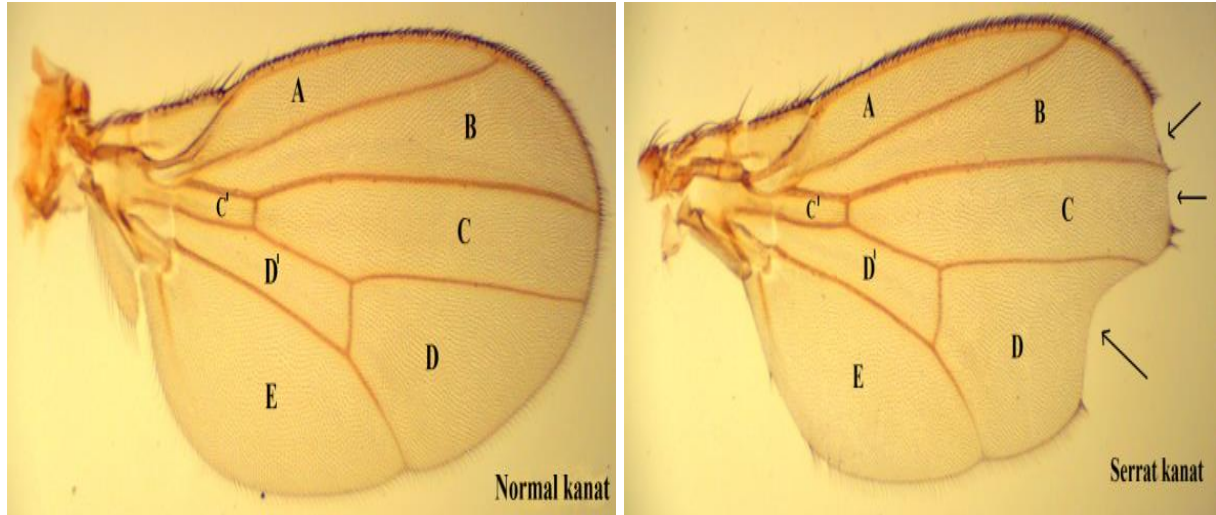
Bu amaçla, ergin bireyler birkaç damla faure solüsyonu (Tablo 3) içeren çukur lam içerisine konularak onların kanatları binoküler mikroskop altında ince uçlu tweezer (cımbız) yardımıyla vücutlarından ayrılmıştır. 40 ergine ait 80 adet kanat lam üzerinde aralarında boşluklar kalacak şekilde yan yana dizilmiş ve preparatların kuruması için oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Kanatlara ait daimi preparatların yapılabilmesi için de entellan damlatılarak lamel (24x60 mm) ile kapatılmış ve yine oda sıcaklığında 24 saat bekletildikten sonra kanat preparatları mikroskopik analiz için hazır hale gelmiştir.

Tablo 3. Faure Solüsyonunun İçeriği

Madde	Madde Miktarı
Gam arabik	30 gr
Gliserol	20 ml
Kloral hidrat	50 gr
Distile su	50 ml

Hazırlanan kanat preparatlarının mikroskopik analizi.

Kanat preparatları kameralı trinoküler ışık mikroskobu (BOECO, BM-180/T/SP) altında A, B, C, C', D, D' ve E kanat sektörlerine (Şekil 25) ayrılarak incelenmiştir (10x40). Kanatların mutant klon taşıyıp taşımadıklarını belirlemek için dorsal ve ventral yüzeylerindeki hücre tabakalarının her biri ayrı ayrı taranmış ve öylece her bitki ekstraktına ait uygulama gruplarında görülen mutant klon sayıları, uygun klon tipine göre kayıt altına alınmıştır.



Şekil 25. Normal ve serrat kanatlara ait sektörler.

Kanatlardaki *mwh* ve/veya *flr*³ mutant klonları küçük tek tip, büyük tek tip ve ikiz klon şeklinde kaydedilmiştir. Küçük tek tip klonlar yalnızca 1-2 *mwh* hücrelerinden, büyük tek tip klonlar ≥ 3 *mwh* veya ≥ 4 *flr*³ hücre gruplarından ve ikiz klonlar ise *mwh* ve *flr*³ hücrelerinin ikisinin birlikte tek klon içerisinde yer alması ile meydana gelmektedir.

Klon indüksiyon frekansının hesaplanması

Bitkisel ekstraktlar ile yapılan kronik uygulamalar sonucunda elde edilen mutant klon sayıları dikkate alınarak klon indüksiyon frekansı da (KİF) aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Szabad *et al.* 1983).

$$f = \frac{n}{NC} \times 10^5$$

Yalnızca *mwh* klonlarının göz önüne alındığı bu denkleme göre, denklemdaki “f” *mwh* klon indüksiyonunun ortalama frekansını, “n” gözlenmiş olan toplam *mwh* klon sayısını, “N” analiz edilmiş olan kanat sayısını ve “C” bir kanat üzerindeki incelenebilecek hücre sayısını göstermektedir. Wurgler and Vogel (1986)’a göre, bir kanadın her iki yüzeyinde (dorsal ve ventral) incelenebilecek 24 400 hücre bulunmaktadır.

Çaprazlamalar sonucunda oluşan trans-heterozigot larvalardan gelişen bireyler, kanat bakımından normal ve serrat kanat olmak üzere, iki farklı fenotiptedir. Serrat kanatlara sahip bireylerde bulunan dengeleyici kromozomun (*TM3*) varlığı, bu kromozom parçası üzerine yerleştirilmiş dominant mutant bir gen olan *Serrate* (*Ser*) sayesinde tespit edilebilmektedir. Dengeleyici kromozomun rekombinasyonu baskılaması nedeniyle bu fenotipe sahip bireylerde gözlenen mutant klonlar, sadece mutasyon sonucu meydana gelmektedir. Böylece, serrat kanatlı bireylerden elde edilen verilerle normal kanatlı bireylerden elde edilen verilerin karşılaştırılmasıyla çalışmada kullanılan ajanın mutajenik ve/veya rekombinojenik etkileri ayrı ayrı tespit edilebilmektedir (Frei and Wurgler 1996).

İstatistiksel analiz yöntemleri

SMART yönteminde elde edilen verilerin analizleri Microsta istatistik programı ile yapılmıştır. Orijinal (null) hipotez (H_0), kontrol grubu ile uygulama grupları arasında herhangi bir fark olmadığını, alternatif hipotez (H_a) ise uygulama grubunda oluşan indüklenmiş mutasyon oranının kontrol grubundan m defa daha fazla olduğu varsayımına göre değerlendirilmiştir. Her iki hipotezin hesaplanmasından elde edilen değerler; önemsiz fark (i), negatif (-), pozitif (+) ve zayıf pozitif (z) olarak belirtilmiştir (Frei and Wurgler 1988).

Ömür uzunluğu testinden elde edilen verilerin analizleri de SPSS13.0 istatistik programı ile yapılmıştır. Hem kontrol hem de uygulama gruplarının maksimum ve ortalama ömür uzunluklarına ait grup içi ve gruplar arası karşılaştırmalarda Tukey ve Duncan testleri kullanılmıştır. Ayrıca Microsoft Windows Office Excel programı kullanılarak her iki popülasyona ait bireylerin hayatta kalış eğrileri çizilmiştir.

Mikrofotografi

Tez kapsamında kullanılan *D. melanogaster*'in *mwh* ve *flr³* mutant ergin bireylerine ait fotoğraflar, stereo mikroskoba bağlı 5,0 megapiksel kameraya sahip dijital fotoğraf makinesiyle, SMART testi ile ilgili mutant klonların fotoğrafları ise kameralı ışıık mikroskobu ile çekilmiştir.



ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada *N. rustica* (NR), *H. niger* (HN) ve *D. stramonium* (DS) bitkilerine ait su ve metanol ekstraktlarının *D. melanogaster*'de toksik ve genotoksik etkili olup olmadığı iki ayrı *in vivo* test yöntemi olan ömür uzunluğu ve somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile araştırılmıştır. Bu amaçla uygulama ve kontrol grubu olmak üzere iki farklı çalışma grubu oluşturulmuştur. Uygulama gruplarının oluşturulabilmesi için yapılan ön denemeler ile dört farklı konsantrasyon belirlenmiş ve bitkisel ekstraktlar 10, 20, 30 ve 40 ppm olmak üzere Standart *Drosophila* besi yerine (SDB) ilave edilerek hem ömür uzunluğu hem de SMART testlerinde kullanılmıştır. Uygulama gruplarına ait en düşük ve en yüksek konsantrasyonların seçiminde akut ölümlerin meydana gelmediği 10 ppm ve 40 ppm tercih edilmiştir. 40 ppm'den daha yüksek uygulamalar ise birkaç gün içerisinde gerçekleşen toplu ölümler sebebiyle kullanılamamıştır. Ayrıca yalnızca distile su ile hazırlanan SDB ve tüm bitkisel ekstraktların çözücüsü olan %1'lik dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılarak negatif kontrol grupları oluşturulmuştur. SMART için distile su ve DMSO negatif kontrol gruplarının dışında mutajenik etkili olduğu bilinen etil metan sülfonat (EMS) ile pozitif kontrol grubu da hazırlanmış ve uygulama gruplarından elde edilen sonuçlar tüm kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır.

Ömür Uzunluğu Testinden Elde Edilen Bulgular

Kontrol gruplarında ömür uzunluğunun belirlenmesi

Sunulan tez kapsamında öncelikle *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonları yalnızca distile su (no 1) ve DMSO (no 2) içeren SDB'de ayrı ayrı olmak üzere yaşatılarak kontrol gruplarına ait ömür uzunlukları belirlenmiştir (Tablo 4). Yapılan uygulamalar sonucunda distile su ve DMSO negatif kontrol gruplarında maksimum ömür uzunluklarının ♀ popülasyonu için sırasıyla 80 ve 77 gün, ♂ popülasyonu için 79 ve 77 gün olduğu bulunmuştur. Bu çalışmadan elde edilen veriler ile maksimum ömür uzunluklarının yanı sıra ortalama ömür uzunlukları da belirlenmiştir. Distile su ve DMSO kontrol gruplarının ortalama ömür uzunlukları ♀ popülasyonunda $65,87 \pm 1,43$ ve $63,02 \pm 1,38$ gün; ♂ popülasyonunda ise $58,95 \pm 1,63$ ve $56,34 \pm 1,64$ gün olarak belirlenmiştir (Tablo 4). Her iki kontrol grubunun maksimum ve ortalama ömür uzunlukları kendi aralarında istatistiki olarak karşılaştırıldığında aralarındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$).

Tablo 4. *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Kontrol Gruplarına ait Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması

KONTROL GRUPLARI								
Deney Grupları (no)	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	♀♀	P	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	♂♂	P
			Ortalama Ömür Uzunluğu±SH				Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	
Kontrol (1)	100	80	65,87±1,43	>0,05	100	79	58,95±1,63	>0,05
DMSO (2)	100	77	63,02±1,38		100	77	56,34±1,64	

SH: Standart Hata

NR_{su} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi

Bu uygulamada *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonları NR_{su} ekstraktına maruz bırakılarak maksimum ve ortalama ömür uzunlukları hesaplanmıştır. Elde edilen verilere göre, distile su ve DMSO kontrol gruplarının maksimum ömür uzunluğu ♀ popülasyonunda sırasıyla 80 ve 77 gün, ♂ popülasyonunda 79 ve 77 gün olarak belirlenmiştir. Her iki popülasyon için kontrol grupları arasındaki fark istatistiki olarak ayrı ayrı değerlendirilmiş ve sonuçların $p>0,05$ düzeyinde anlamlı olmadığı görülmüştür (Tablo 4). Ancak distile su (no 1) ve DMSO (no 2) kontrol grubu ile NR_{su} uygulama gruplarına ait veriler karşılaştırıldığı zaman maksimum ömür uzunluğunun kısaldığı ve bu kısılmanın konsantrasyon artışına paralel olarak arttığı görülmüştür. Şöyle ki; NR_{su} ekstraktının 10, 20, 30 ve 40 ppm uygulama gruplarında, maksimum ömür ♀♀ için sırasıyla 73, 73, 70 ve 66 gün; ♂♂ için 73, 70, 66 ve 63 gün olarak bulunmuştur (Tablo 5). Elde edilen bu verilere göre, ♀ popülasyonu için kontrol gruplarında 80 ve 77 gün olan maksimum ömür en yüksek uygulamada (40 ppm, no 6) 66 güne, ♂ popülasyonunda da 79 ve 77 günden yine en yüksek uygulamada (40 ppm, no 6) 63 güne kadar kısalmıştır.

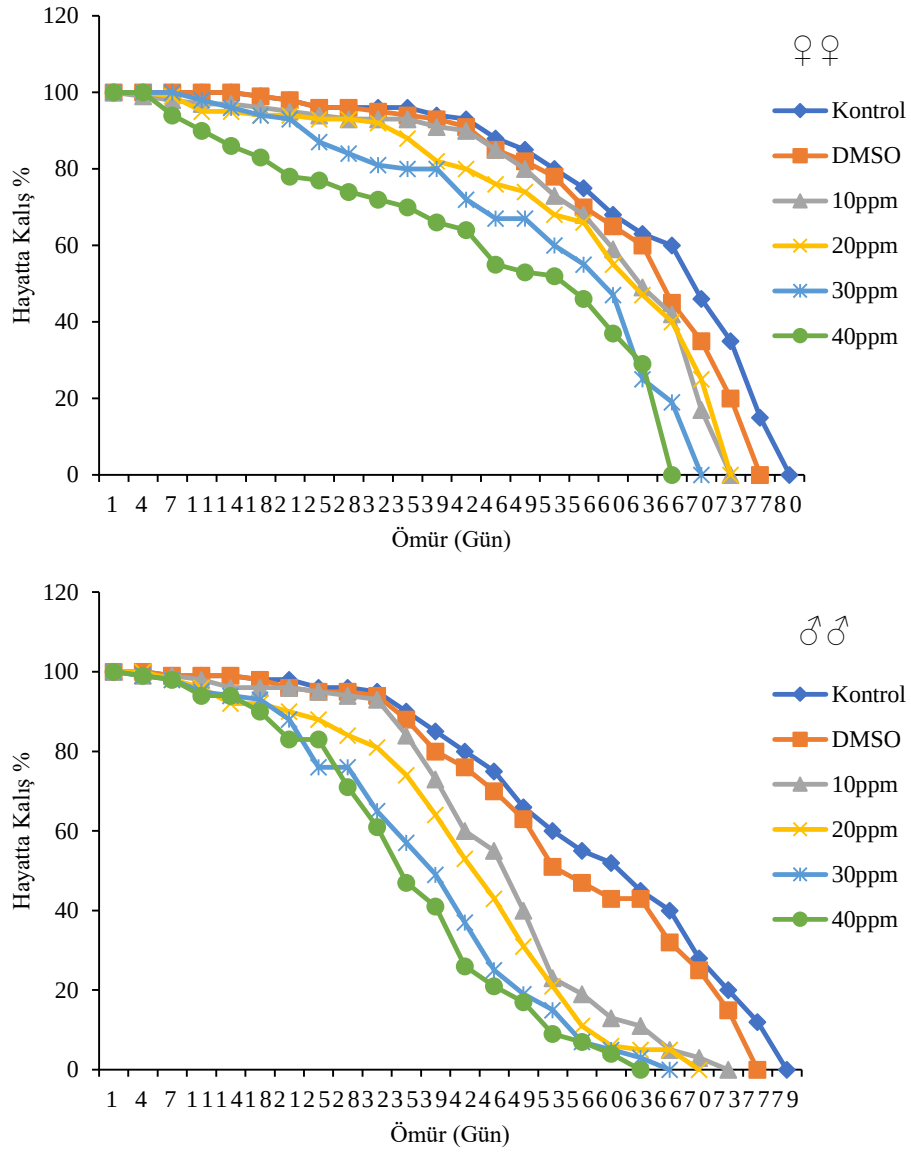
Maksimum ömür uzunluğuna ait veriler ile ♀ ve ♂ popülasyonu için hayatta kalış eğrileri de çizilmiş ve Şekil 26'de verilmiştir. Laboratuvar koşullarında yapılan yaşlanma çalışmalarında kronik çevresel değişikliklere bağlı olarak hayatta kalış eğrileri, tipik dikdörtgensel eğri olarak ifade edilmektedir ve Şekil 26'de NR_{su} ekstraktına bağlı olarak her iki popülasyon için elde edilen dikdörtgensel eğri açıkça görülmektedir.

Tablo 5. Kronik NR_{su} Uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması

<i>Nicotiana rustica</i> L. (NR _{su})								
♀♀				♂♂				
Deney Grupları (no)	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P
Kontrol (1)	100	80	65,87±1,43		100	79	58,95±1,63	
DMSO (2)	100	77	63,02±1,38		100	77	56,34±1,64	
10 ppm (3)	100	73	59,83±1,51	1-4,5,6* 2-5,6*	100	73	47,49±1,29	1-3,4,5,6* 2-3,4,5,6*
20 ppm (4)	100	73	57,97±1,71	3-6*	100	70	43,40±1,42	3-5,6* 4-6*
30 ppm (5)	100	70	52,81±1,70		100	66	38,79±1,38	
40 ppm (6)	100	66	46,43±2,06		100	63	36,78±1,33	
Regresyon düzeyi			R= -0,358		R= -0,489			

SH: Standart Hata, *: Ortalama ömür uzunluğuna ait değerler arasındaki fark, belirtilen gruplar arasında 0,05 düzeyinde önemlidir.

Elde edilen veriler ile NR_{su} uygulaması için ortalama ömür uzunlukları da hesaplanmış ve bu değerler ♀ popülasyonunda DMSO kontrol grubu için 63,02±1,38 günden uygulama gruplarında (10, 20, 30 ve 40 ppm) sırasıyla 59,83±1,51, 57,97±1,71, 52,81±1,70 ve 46,43±2,06 güne; ♂ popülasyonunda da DMSO kontrol grubu için 56,34±1,64 günden uygulama gruplarında yine sırasıyla 47,49±1,29, 43,40±1,42, 38,79±1,38 ve 36,78±1,33 güne kadar gerilemiştir. Uygulama ve kontrol gruplarının maksimum ömür uzunluğu değerleri için önem kontrolleri yapılmış ve * ile belirtilen gruplar arasındaki farklılıklar $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 5). NR_{su} ekstraktına ait uygulama grupları için regresyon düzeyi de hesaplanmış ve bu değer dişi popülasyonunda R= -0,358, erkek popülasyonunda da R= -0,489 olarak bulunmuştur.



Şekil 26. NR_{su} uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.

NR_{met} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi

NR_{met} ekstraktı da NR_{su}'da olduğu gibi farklı konsantrasyonlarda (10, 20, 30 ve 40 ppm) SDB'ye ilave edilerek *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarına kronik olarak uygulanmış ve bu ekstraktın ömür uzunluğu üzerine toksik etkileri belirlenmiştir. ♀ popülasyonunda distile su kontrol (no 1) için 80 gün ve DMSO kontrol (no 2) grubu için 77 gün olan maksimum ömür uzunluğuna ait değerler, NR_{met} ekstraktının ilk iki uygulama grubu olan 10 ppm (no 3) ve 20 ppm (no 4) için 73 gün iken 30 ppm (no 5)'de 70 ve 40 ppm (no 6)'de 66 gün olarak bulunmuştur. ♂ popülasyonunda da kontrol grupları için sırasıyla 79 (no 1) ve 77 (no 2) gün olan maksimum ömür uzunlukları, NR_{met}'in aynı uygulama gruplarında (no 3-6) sırasıyla 70, 66, 63 ve 60 güne gerilemiş ve doz artışına bağlı olarak hem ♀ hem de ♂

popülasyonunda ömür uzunluğunun kısalmış olduğu gözlenmiştir (Tablo 6). Şekil 27’de de her iki popülasyona ait hayatta kalış eğrileri verilmiştir.

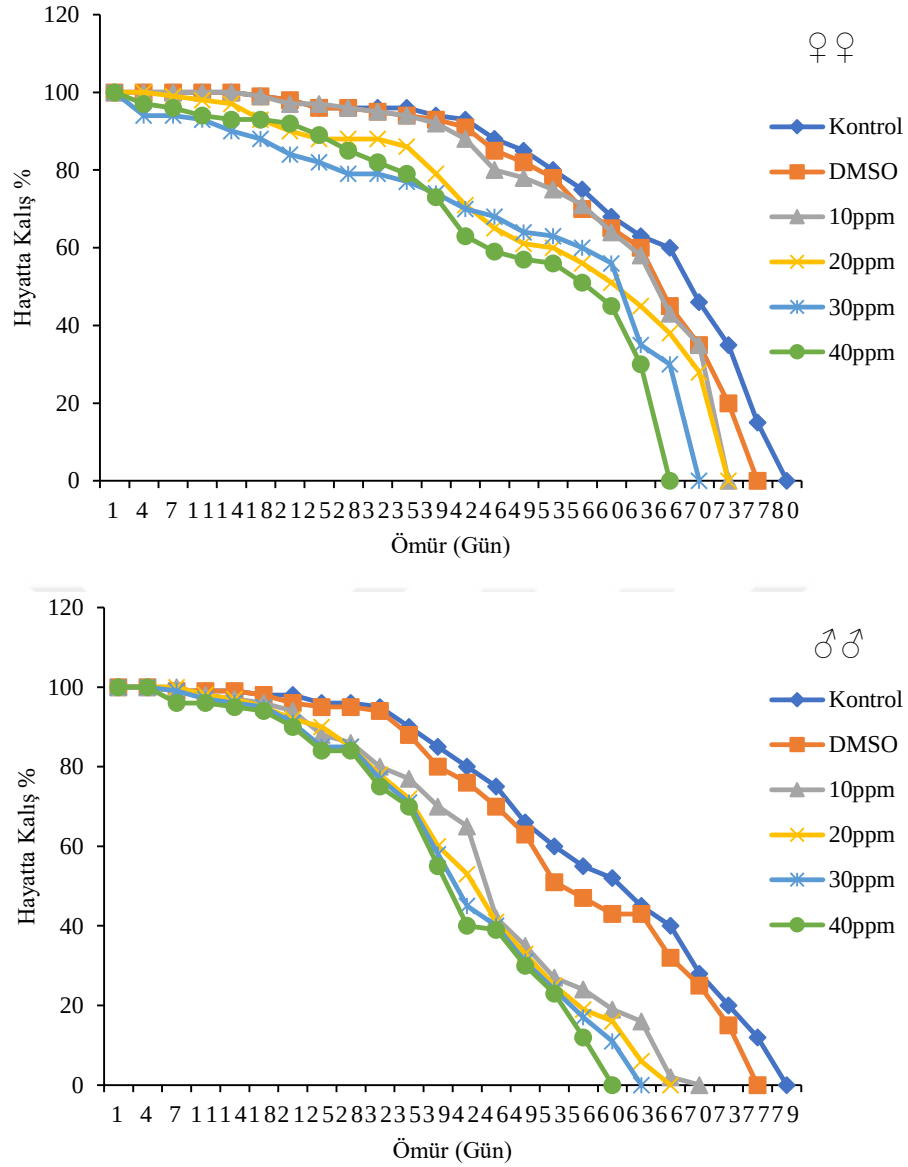
Tablo 6. Kronik NR_{met} Uygulanmış *D. melanogaster*’in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması

<i>Nicotiana rustica</i> L. (NR _{met})								
♀♀				♂♂				
Deney Grupları (no)	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P
Kontrol (1)	100	80	65,87±1,43		100	79	58,95±1,63	
DMSO (2)	100	77	63,02±1,38		100	77	56,34±1,64	
10 ppm (3)	100	73	61,53±1,36	1-4,5,6* 2-4,5,6*	100	70	46,28±1,42	1-3,4,5,6* 2-3,4,5,6*
20 ppm (4)	100	73	55,29±1,85		100	66	44,31±1,38	
30 ppm (5)	100	70	51,88±2,11		100	63	43,11±1,38	
40 ppm (6)	100	66	50,21±1,78		100	60	41,66±1,36	
Regresyon düzeyi			R= -0,325				R= -0,387	

SH: Standart Hata, *: Ortalama ömür uzunluğuna ait değerler arasındaki fark, belirtilen gruplar arasında 0,05 düzeyinde önemlidir.

NR_{met} uygulama gruplarına ait ortalama ömür uzunluğu da hesaplanmış ve bu değerler ♀ popülasyonuna ait distile su kontrol (no 1) ve DMSO kontrol (no 2) gruplarında sırasıyla 65,87±1,43 ve 63,02±1,38 gün; ♂ popülasyonunda da 58,95±1,63 ve 56,34±1,64 gün olarak bulunmuştur. NR_{met} uygulamasının ortalama ömür uzunluğu üzerine olan etkisine bakıldığı zaman en düşük uygulama grubu olan 10 ppm’e ait değerler ♀’ler için 61,53 ±1,36 gün; ♂’ler için de 46,28±1,42 gün olarak belirlenmiştir. En yüksek uygulama grubu olan 40 ppm’de ise bu süre ♀’lerde 50,21±1,78 ve ♂’lerde 41,66±1,36 gün olarak bulunmuştur (Tablo 6).

Tablo 6’de de görüldüğü gibi, ortalama ömür uzunluğu tüm NR_{met} uygulama gruplarında kontrol gruplarına göre kısalmıştır. Her iki popülasyon için kontrol ve uygulama grupları istatistiki olarak birbiri ile karşılaştırıldığı zaman, ♀’ler için en düşük uygulama grubu olan 10 ppm dışında tüm uygulama grupları (20-40ppm) ile kontrol grupları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). ♂’ler de ise tüm uygulama grupları ile kontrol grupları arasındaki fark aynı düzeyde önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca NR_{met} uygulaması sonucu ♀ popülasyonu için regresyon düzeyi R= -0,325, ♂ popülasyonu için de R= -0,387 olarak hesaplanmıştır (Tablo 6).



Şekil 27. NR_{met} uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.

HN_{su} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi

Yapılan tekerrürlü çalışmalar sonucunda distile su kontrol grubuna ait ♀ ve ♂ popülasyonunun maksimum ömür uzunluğu sırasıyla 80 ve 79 gün iken DMSO kontrol grubunda bu değerler her iki popülasyon için de 77 gün olarak belirlenmiştir (Tablo 7). HN_{su} ekstraktının dört farklı konsantrasyonda ve kronik olarak *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına uygulanması sonucunda maksimum ömür uzunluğu, en düşük uygulama grubu olan 10 ppm'de sırasıyla 73 ve 66 gün, 20 ppm'de 70 ve 63 gün, 30 ppm'de 66 ve 60 gün ve en yüksek uygulama grubu olan 40 ppm'de ise 60 ve 53 gün olarak belirlenmiştir (Tablo 7). Elde edilen değerler, artan HN_{su} konsantrasyona bağlı olarak maksimum ömür uzunluğunun

kısalıldığını açıkça göstermektedir. Bu durum ♀ ve ♂ popülasyonları için çizilen dikdörtgensel hayatta kalış eğrilerinde de görülmektedir (Şekil 28).

Tablo 7. Kronik HN_{su} Uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması

<i>Hyoscyamus niger</i> L. (HN _{su})								
♀♀				♂♂				
Deney Grupları (no)	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P
Kontrol (1)	100	80	65,87±1,43		100	79	58,95±1,63	
DMSO (2)	100	77	63,02±1,38		100	77	56,34±1,64	
10 ppm (3)	100	73	56,67±1,79	1-3,4,5,6* 2-4,5,6*	100	66	42,50±1,43	1-3,4,5,6* 2-3,4,5,6*
20 ppm (4)	100	70	54,44±1,82	3-5,6* 4-6*	100	63	40,73±1,57	3-6* 4-6*
30 ppm (5)	100	66	49,92±1,69	5-6*	100	60	37,33±1,51	5-6*
40 ppm (6)	100	60	41,09±1,65		100	53	31,13±1,24	
Regresyon düzeyi			R= -0,442					R= -0,534

SH: Standart Hata, *: Ortalama ömür uzunluğuna ait değerler arasındaki fark, belirtilen gruplar arasında 0,05 düzeyinde önemlidir.

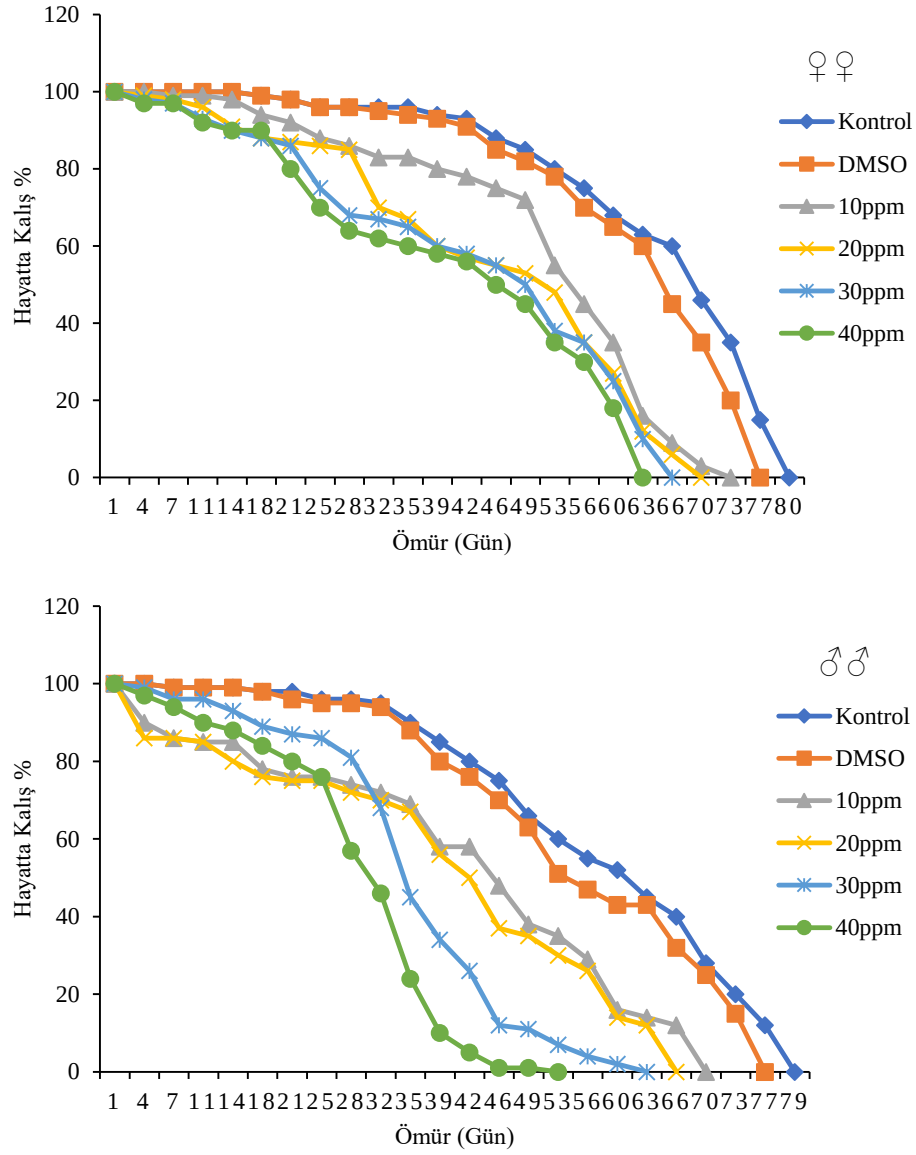
D. melanogaster'in her iki popülasyonu için maksimum ömür uzunluğunun yanı sıra ortalama ömür uzunluğu da hesaplanmıştır. Distile su ve DMSO kontrol grubuna ait ortalama ömür uzunluğu, ♀♀ için sırasıyla 65,87±1,43 ve 63,02±1,38 gün; ♂♂ için 58,95±1,63 ve 56,34±1,64 gün olarak belirlenmiştir (Tablo 7). HN_{su} uygulama gruplarında ise bu değerler ♀ popülasyonları için sırasıyla 10 ppm uygulamada (no 3) 56,67±1,79, 20 ppm uygulamada (no 4) 54,44±1,82, 30 ppm uygulamada (no 5) 49,92±1,69 ve 40 ppm uygulamada (no 6) 41,09±1,65 gün; ♂ popülasyonunda ise sırasıyla 42,50±1,43 (no 3), 40,73±1,57 (no 4), 37,33±1,51 (no 5) ve 31,13±1,24 (no 6) gündür (Tablo 7). HN_{su} konsantrasyonunun artışına bağlı olarak dişi ve erkek popülasyonlarında ortalama ömür uzunluğu bakımından gözlenen kısalma, özellikle en yüksek uygulama gruplarında (no 4, 5 ve 6) istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunmuştur (Tablo 7). Elde edilen bu verilere göre, regresyon düzeyi de ♀ popülasyonunda R= -0,442, ♂ popülasyonunda R= -0,534 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 8. Kronik HN_{met} Uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması

<i>Hyoscyamus niger</i> L. (HN _{met})								
♀♀					♂♂			
Deney Grupları (no)	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P
Kontrol (1)	100	80	65,87±1,43		100	79	58,95±1,63	
DMSO (2)	100	77	63,02±1,38		100	77	56,34±1,64	
10 ppm (3)	100	73	50,63±1,48	1-3,4,5,6* 2-3,4,5,6* 3-5,6*	100	70	42,24±2,10	1-3,4,5,6* 2-3,4,5,6* 3-6* 4-6*
20 ppm (4)	100	70	45,01±1,69		100	66	40,26±2,07	
30 ppm (5)	100	66	43,48±1,98		100	63	36,51±1,20	
40 ppm (6)	100	63	42,53±1,81		100	53	30,08±1,03	
Regresyon düzeyi			R= -0,468			R= -0,514		

SH: Standart Hata, *: Ortalama ömür uzunluğuna ait değerler arasındaki fark, belirtilen gruplar arasında 0,05 düzeyinde önemlidir.

HN_{met} uygulaması ile *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ popülasyonlarında yalnızca maksimum ömür uzunluğu değil aynı zamanda ortalama ömür uzunluğu da kısalmış ve yapılan istatistiki karşılaştırmalar kontrol grupları ile uygulama grupları arasındaki farkın önemli olduğunu göstermiştir ($p<0,05$). HN_{met} uygulamasına ait tüm veriler Tablo 8'de yer almaktadır. Tablo 8'de kontrol gruplarının ♀ popülasyonunda ortalama ömür uzunluğunun 65,87±1,43 (no 1) ve 63,02±1,38 (no 2) gün, ♂ popülasyonunda da 58,95±1,63 (no 1) ve 56,34±1,64 (no 2) gün olduğu görülmektedir. HN_{met} uygulama gruplarında ise ♀♀'de ortalama ömür uzunluğu 10 ppm'de 50,63±1,48 gün, 20 ppm'de 45,01±1,69 gün, 30 ppm'de 43,48±1,98 gün, 40 ppm'de 42,53±1,81 gün; ♂♂'de de 10 ppm'de 42,24±2,10 gün, 20 ppm'de 40,26±2,07 gün, 30 ppm'de 36,51±1,20 gün ve 40 ppm'de 30,08±1,03 gün olarak belirlenmiştir (Tablo 8). Her iki popülasyon için ortalama ömür uzunluğunda gözlenen kısalmaya bağlı olarak regresyon düzeyi de hesaplanmış ve bu değer ♀ popülasyonu için R= -0,468 ve ♂ popülasyonu için de R= -0,514 olarak bulunmuştur.



Şekil 29. HN_{met} uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.

DS_{su} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan DS_{su} ekstraktı da NR_{su} ve HN_{su} ekstraktları gibi *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarında hem maksimum hem de ortalama ömür uzunluğunu kontrol gruplarına göre kısaltmıştır (Tablo 9). Kontrol gruplarında maksimum ömür uzunluğu ♀ popülasyonu için 80 (distile su, no 1) ve 77 (DMSO, no 2) gün, ♂ popülasyonu için de 79 (distile su, no 1) ve 77 gün (DMSO, no 2) iken DS_{su} ekstraktı bu süreyi ♀ popülasyonunda en düşük (10 ppm, no 3) ve en yüksek (40 ppm, no 6) uygulama gruplarında 66 günden 56 güne; ♂ popülasyonunda da yine en düşük (10 ppm, no 3) ve en yüksek (40 ppm, no 6) uygulama gruplarında 49 günden 35 güne kadar düşürmüştür. Bu değerlere göre hem ♀ hem de ♂ popülasyonu için çizilen hayatta kalış eğrileri de Şekil 30'da verilmiştir. Şekil 30'daki

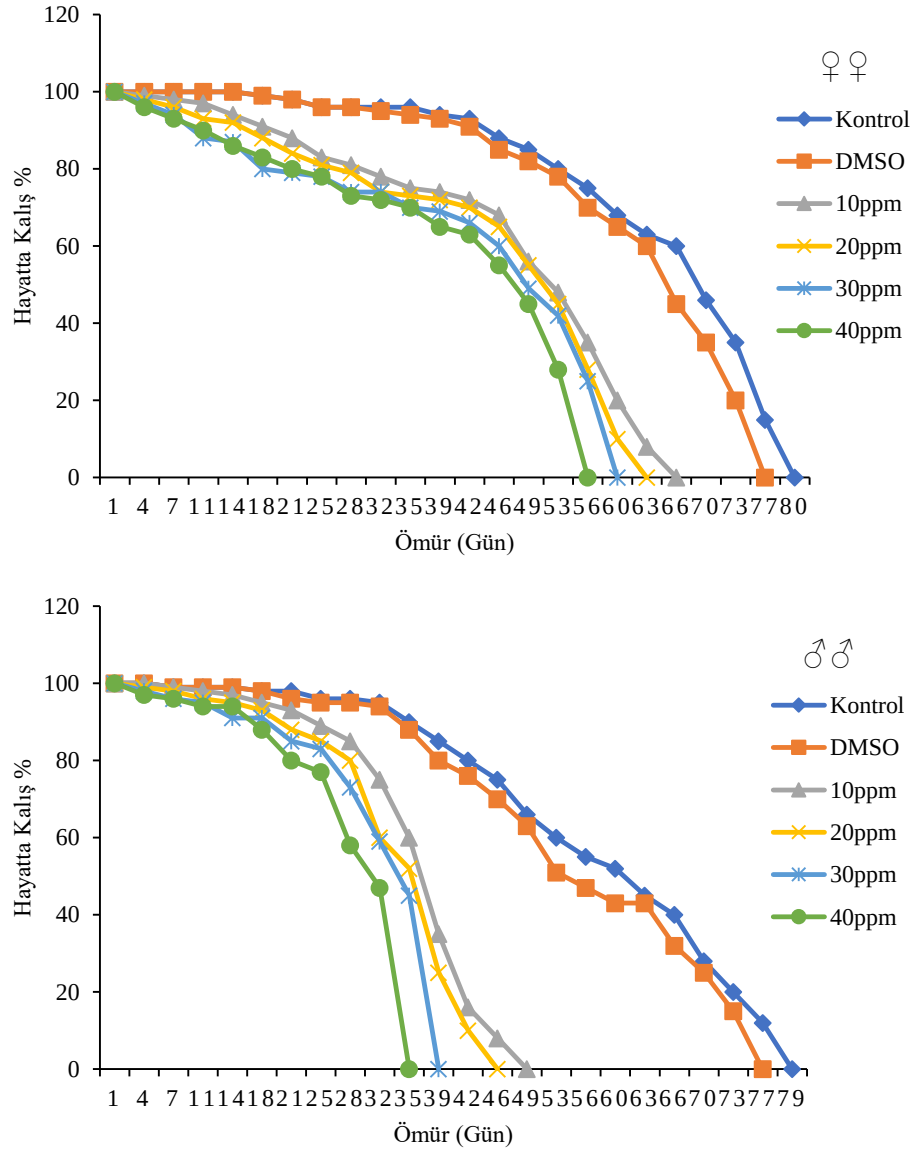
dikdörtgensel hayatta kalış eğrileri, diğer tüm uygulamalarda olduğu gibi DS_{su} uygulamasının da maksimum ömür uzunluğu üzerine etkisini belirgin şekilde göstermektedir.

Tablo 9. Kronik DS_{su} Uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması

<i>Datura stramonium</i> L. (DS _{su})								
♀♀				♂♂				
Deney Grupları (no)	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P
Kontrol (1)	100	80	65,87±1,43		100	79	58,95±1,63	
DMSO (2)	100	77	63,02±1,38		100	77	56,34±1,64	
10 ppm (3)	100	66	47,94±1,64	1-3,4,5,6* 2-3,4,5,6*	100	49	35,53±0,81	1-3,4,5,6* 2-3,4,5,6*
20 ppm (4)	100	63	45,86±1,70		100	46	34,46±0,89	3-6* 4-6*
30 ppm (5)	100	60	43,40±1,82		100	39	32,66±0,90	
40 ppm (6)	100	56	41,41±1,69		100	35	29,21±0,78	
Regresyon düzeyi			R= -0,476			R= -0,648		

SH: Standart Hata, *: Ortalama ömür uzunluğuna ait değerler arasındaki fark, belirtilen gruplar arasında 0,05 düzeyinde önemlidir.

Tüm bitkisel ekstrakt uygulamalarında olduğu gibi DS_{su} uygulaması için de ortalama ömür uzunluğu belirlenmiş ve ♀♀'de kontrol (no 1) ve DMSO (no 2) kontrol gruplarında 65,87±1,43 ve 63,02±1,38 gün olarak bulunan değerlerin en düşük (10 ppm, no 3) ve en yüksek (40 ppm, no 6) DS_{su} uygulama gruplarında 47,94±1,64 ve 41,41±1,69 güne kadar kısaldığı bulunmuştur. Benzeri durum ♂ popülasyonunda da gözlenmiştir. Kontrol gruplarında ortalama ömür uzunluğu sırasıyla 58,95±1,63 ve 56,34±1,64 gün iken, 10-40 ppm uygulama gruplarında bu değerler 35,53±0,81 ve 29,21±0,78 güne kadar kısalmıştır (Tablo 9). DS_{su} uygulamasına bağlı olarak dişi ve erkek popülasyonlarında ortalama ömür uzunluğu bakımından gözlenen kısılma, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında aradaki fark anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca elde edilen verilere göre regresyon katsayısı da hesaplanmış ve bu değer ♀ popülasyonu için R= -0,476, ♂ popülasyonu için de R= -0,648 olarak bulunmuştur.



Şekil 30. DS_{su} uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.

DS_{met} ekstraktının ömür uzunluğu üzerine etkisi

Sunulan bu çalışmada toksik etkisi değerlendirilen bitkisel su ve metanol ekstraktlarının sonuncusu DS_{met}'tir. Bu ekstrakta ait uygulama gruplarında da diğer ekstraktlarda kullanılan konsantrasyonlar (10, 20, 30 ve 40 ppm) ile çalışılarak tüm uygulamalar için deneysel stabilite sağlanmıştır. DS_{met} uygulamasından elde edilen maksimum ve ortalama ömür uzunluğuna ait veriler Tablo 10'da toplu olarak verilmiştir. ♀ popülasyonunda en düşük uygulama grubunda (10 ppm, no 3) maksimum ömür uzunluğu 70 gün iken en yüksek uygulama grubunda (40 ppm, no 6) bu süre 60 gün olarak belirlenmiştir. 20 ppm (no 4) ve 30 ppm (no 5) uygulama gruplarında ise maksimum ömür uzunluğu sırasıyla 66 ve 63 gündür. ♂ popülasyonunda ise bu değerler en düşük uygulamadan en yüksek uygulamaya doğru (10, 20, 30 ve 40 ppm) 56, 53, 49 ve 46 gün olarak bulunmuştur. Distile su ve DMSO kontrol gruplarına ait veriler, uygulama

grupları ile karşılaştırıldığı zaman aradaki fark hem ♀ hem de ♂ popülasyonu için $p<0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Tablo 10).

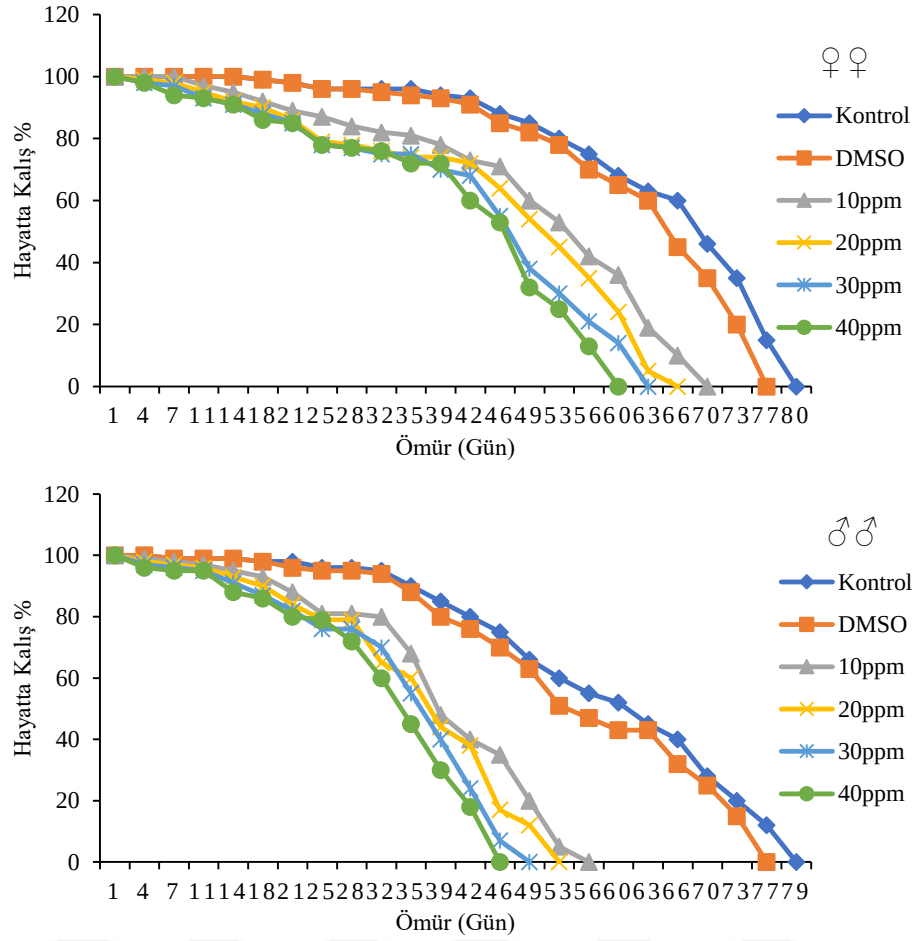
Bu verilere göre çizilen hayatta kalış eğrileri de Şekil 31’de gösterilmiştir ve her iki popülasyonda da kontrol ve uygulama grupları bakımından elde edilen dikdörtgensel eğriler ömür uzunluğundaki kısalma bakımından dikkat çekicidir.

Tablo 10. Kronik DS_{met} Uygulanmış *D. melanogaster*’in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Maksimum ve Ortalama Ömür Uzunluğu Değerlerinin Karşılaştırılması

<i>Datura stramonium</i> L. (DS _{met})								
♀♀				♂♂				
Deney Grupları (no)	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P	Birey Sayısı	Maksimum Ömür Uzunluğu	Ortalama Ömür Uzunluğu±SH	P
Kontrol (1)	100	80	65,87±1,43		100	79	58,95±1,63	
DMSO (2)	100	77	63,02±1,38		100	77	56,34±1,64	
10 ppm (3)	100	70	50,79±1,65	1-3,4,5,6* 2-3,4,5,6* 3-5,6*	100	56	38,13±1,16	1-3,4,5,6* 2-3,4,5,6*
20 ppm (4)	100	66	45,55±1,61		100	53	37,08±1,22	
30 ppm (5)	100	63	43,81±1,63		100	49	35,15±1,14	
40 ppm (6)	100	60	42,39±1,87		100	46	33,88±1,15	
Regresyon düzeyi			R= -0,487			R= -0,549		

SH: Standart Hata, *: Ortalama ömür uzunluğuna ait değerler arasındaki fark, belirtilen gruplar arasında 0,05 düzeyinde önemlidir.

DS_{met} uygulanan dişi ve erkek popülasyonları için maksimum ömür uzunluğunun yanı sıra ortalama ömür uzunluğu da hesaplanmıştır. Distile su ve DMSO kontrol gruplarında ortalama ömür uzunluğu ♀ popülasyonunda 65,87±1,43 ve 63,02±1,38 iken ♂ popülasyonunda 58,95±1,63 ve 56,34±1,64 gün olarak belirlenmiştir. ♀ popülasyonunda 10, 20, 30 ve 40 ppm uygulamalar için ortalama ömür uzunluğu da sırasıyla 50,79±1,65, 45,55±1,61, 43,81±1,63 ve 42,39±1,87 gün iken ♂ popülasyonunda 38,13±1,16, 37,08±1,22, 35,15±1,14 ve 33,88±1,15 gün olarak hesaplanmıştır (Tablo 10). Elde edilen bu verilerden artan DS_{met} konsantrasyonuna bağlı olarak her iki popülasyonda da ortalama ömür uzunluğunun kısalmış olduğu görülmektedir ve bu kısalma kontrol gruplarına göre $p<0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Bu uygulama grubunda regresyon katsayısı da ♀♀ için R= -0,487 ve ♂♂ için R= -0,549 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 31. DS_{met} uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ popülasyonlarına ait hayatta kalış eğrileri.

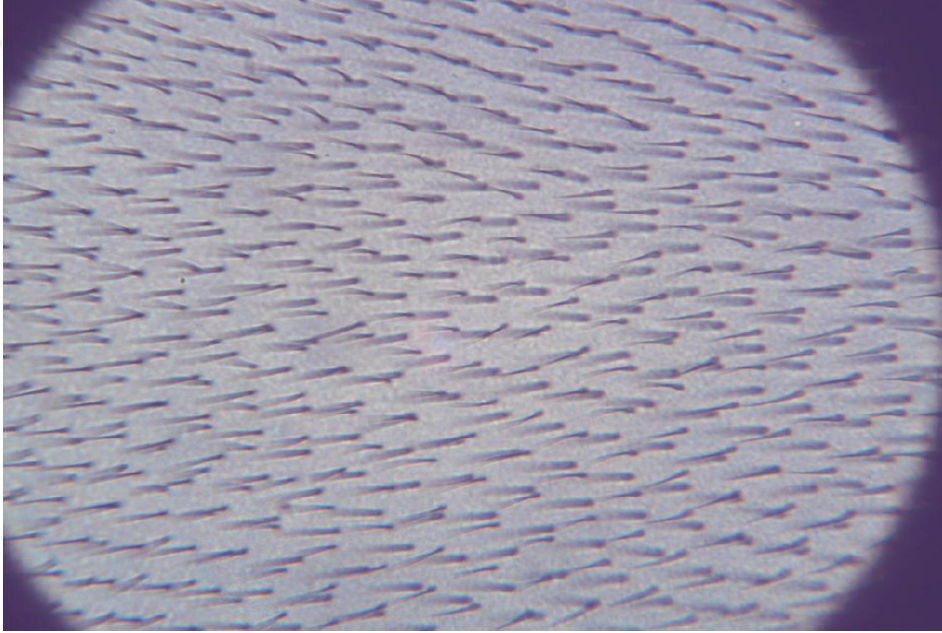
Tez çalışmasında üç ayrı türe ait su ve metanol ekstraktları *D. melanogaster*'in hem ♀ hem de ♂ popülasyonlarına farklı konsantrasyonlarda ve kronik olarak uygulanmıştır. Elde edilen tüm veriler, maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun kontrol gruplarına göre kısalmış olduğunu göstermektedir (Tablo 5-10). Şekil 26-31'de verilen hayatta kalış eğrileri de ömür uzunluğunda meydana gelen kısalmanın şekilsel göstergesidir. Ortalama ömür uzunluğu değerlerine göre hesaplanan Regresyon katsayısı (R) ise kısalmanın derecesini istatistiki olarak ifade etmektedir. Tablo 11'de toplu olarak verilen R değerlerine göre toksisite sıralaması NR_{met}, NR_{su} < HN_{met}, HN_{su} < DS_{met}, DS_{su} şeklindedir. Bu sıralamaya göre, *N. rustica* diğer iki türe göre her iki popülasyonda da daha az toksiktir. *D. stramonium* ise hem ♀ hem de ♂ popülasyonunda *H. niger* ve *N. rustica*'ya göre en toksik etkiye sahip tür olarak belirlenmiştir (Tablo 11).

Tablo 11. *D. melanogaster*'in ♀ ve ♂ Popülasyonlarında Ortalama Ömür Uzunluğu İçin Belirlenen Regresyon Katsayısı ve Toksisite Sıralaması

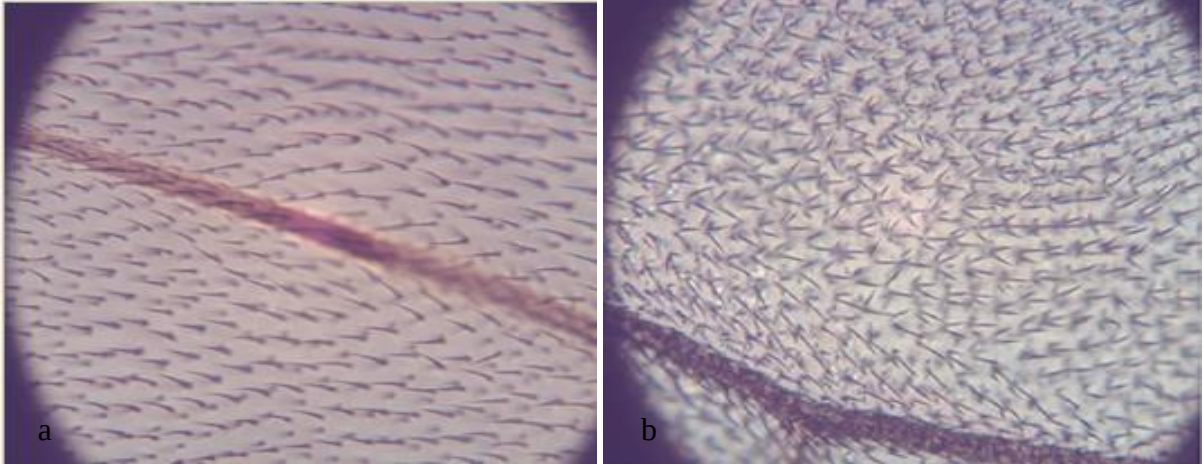
Kullanılan türler	Su ekstraktı		Metanol ekstraktı	
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
<i>N. rustica</i>	- 0,358	- 0,489	- 0,325	- 0,387
<i>H. niger</i>	- 0,442	- 0,534	- 0,468	- 0,514
<i>D. stramonium</i>	- 0,476	- 0,648	- 0,487	- 0,549

Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinden Elde Edilen Bulgular

Tez çalışmasının ilk kısmında toksik etkili olduğu belirlenen bitkisel ekstraktların bu kez de genotoksik etkilerinin belirlenmesi için çalışılmıştır. Bu amaçla, SMART yöntemi için pozitif (EMS) ve negatif (distile su ve DMSO) kontrol grupları ile farklı konsantrasyonlarda (10, 20, 30 ve 40 ppm) bitkisel ekstraktları içeren uygulama grupları hazırlanmıştır. Daha sonra hem kontrol hem de uygulama grupları için deneysel prosedüre uygun hazırlanan normal ve serrat kanat fenotipine ait preparatlar mikroskopik olarak incelenmiş ve normal kıl yapısı ile mutant kılların fotoğrafları çekilmiştir. Şekil 32’de yabancı bireylere ait kanatlarda her hücreden bir kılın (trikom) çıktığı normal kıl yapısı, Şekil 33a’da *flare (flr)* bireylerin kısa ve körelmiş kanat kılları ile Şekil 33b’de de *multi wing hair (mwh)* bireylerin her kanat hücrelerinden çıkan üç veya daha fazla sayıda çoklu kanat kılları görülmektedir. Bitkisel ekstraktların sebep olduğu somatik mutasyonlar ile gelişen genotoksik etkinin göstergesi, uygulama gruplarına ait preparatlarda gözlenen küçük tek tip (KTT, Şekil 34), büyük tek tip (BTT, Şekil 35) ve ikiz klonlardır (Şekil 36). İncelenen preparatlarda tüm kanat sektörleri taranarak mutant klonlar sayılmış, fotoğrafları çekilmiş ve kaydedilmiştir. İncelemeler sonucu elde edilen verilere göre, uygulama grupları ile DMSO negatif kontrol grubu arasında istatistiki değerlendirmeler yapılmıştır.



Şekil 32. *D. melanogaster*’in Oregon-R yabancı bireylerine ait normal kanat kıllarının mikroskopik görünüşü (10X40).



Şekil 33. a) *flare* bireyleri ile b) *mwh* bireylerine ait kanat kıllarının mikroskopik görünüşü (10X40).

Negatif ve pozitif kontrol gruplarına ait SMART bulguları

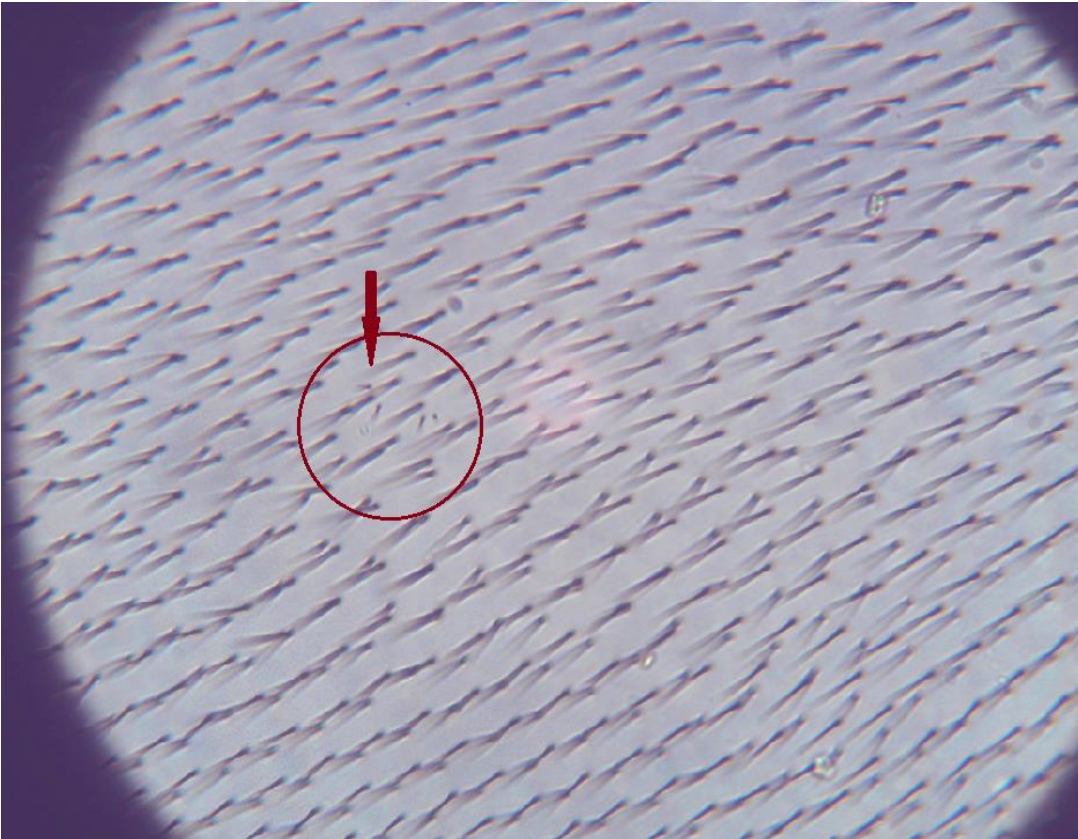
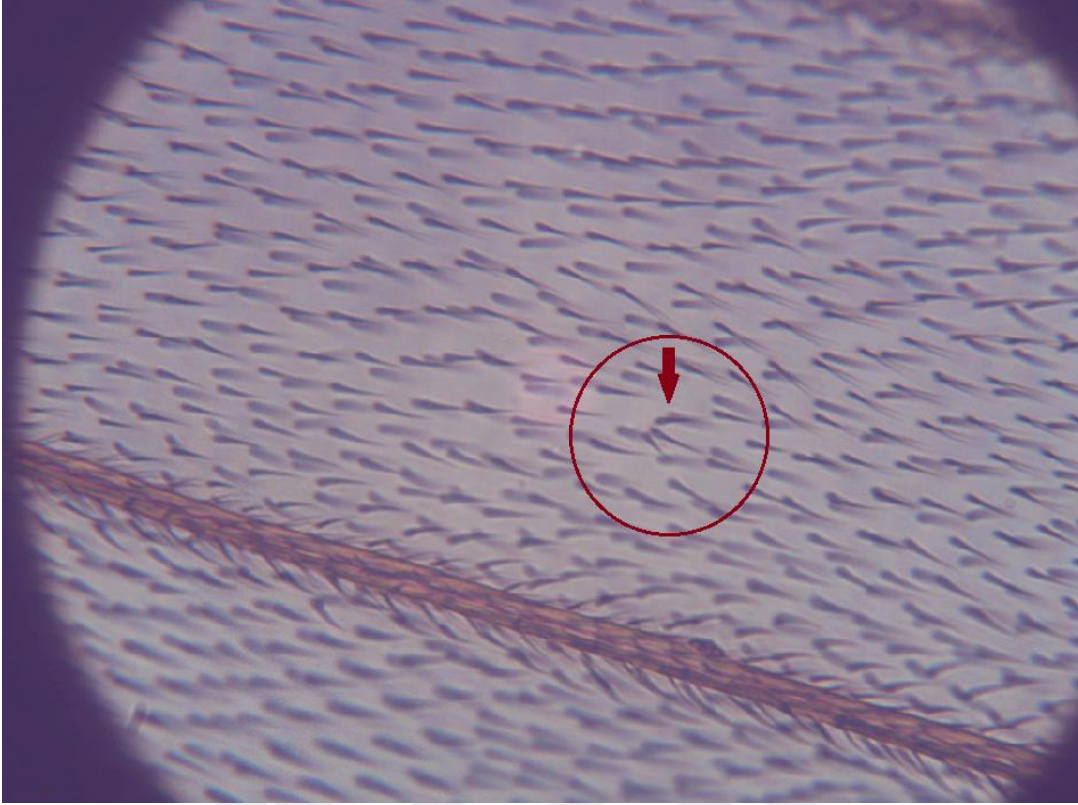
Normal kanat fenotipine (*mwh/flr³*) ait preparatlar incelendiğinde, distile su negatif kontrol grubunda 8 KTT (Şekil 34), DMSO kontrol grubunda ise 9 KTT ve 2 de BTT (Şekil 35) klon gözlenmiştir. Her iki kontrol grubuna ait toplam (Σ) klon frekansı da sırasıyla 0,10 ve 0,13 olarak hesaplanmıştır. Her iki kontrol grubu arasındaki fark istatistiki olarak değerlendirilmiş ve aradaki farkın $p>0,05$ düzeyinde anlamlı olmadığı görülmüştür. Negatif kontrol grupları dışında pozitif kontrol grubu olarak belirlenen ve mutajenik etkisi bilinen EMS uygulamasında ise 27 KTT, 11 BTT ve 8 ikiz mutant klon (Şekil 36) gözlenmiştir. Bu gruba ait Σ klon frekansı da 0,57 olarak bulunmuştur. EMS pozitif kontrol grubuna ait tüm klon frekanslarında gözlenen artış, negatif kontrol gruplarına göre pozitif (+) etkilidir ($p<0,05$). Normal kanat fenotipine ait distile su, DMSO ve EMS kontrol gruplarının Klon İndüksiyon Frekansı değerleri (KİF) de sırasıyla 0,40, 0,56 ve 1,94 olarak hesaplanmıştır (Tablo 12).

Kanat benek testi için serrat kanat fenotipinin (*mwh/TM3*) negatif kontrol gruplarından distile su da 6 KTT klon gözlenmiş ve Σ klon frekansı 0,07 olarak bulunmuştur. Yine negatif kontrol grubu olan DMSO'da 8 KTT, 1 BTT klon gözlenmiş ve Σ klon frekansı da 0,11 olarak belirlenmiştir. Pozitif kontrol grubu olan EMS'de ise yine tıpkı normal kanat fenotipinde olduğu gibi tüm klon frekanslarında artış görülmüştür. Şöyle ki; 20 KTT ve 6 BTT mutant klon bulunan EMS kontrol grubunda Σ klon frekansı 0,32 olarak hesaplanmıştır. Distile su ve DMSO kontrol grupları arasındaki fark istatistiki olarak $p>0,05$ düzeyinde önemsiz etkili (i) bulunurken bu gruplar EMS pozitif kontrol ile karşılaştırıldığında aradaki fark bu kez istatistiki olarak pozitif (+) etkili bulunmuştur ($p<0,05$). Serrat kanat fenotipi için hazırlanan distile su, DMSO ve EMS kontrol gruplarına ait KİF değerleri de hesaplanmış ve sırasıyla 0,30, 0,46 ve 1,33 olarak belirlenmiştir (Tablo 12).

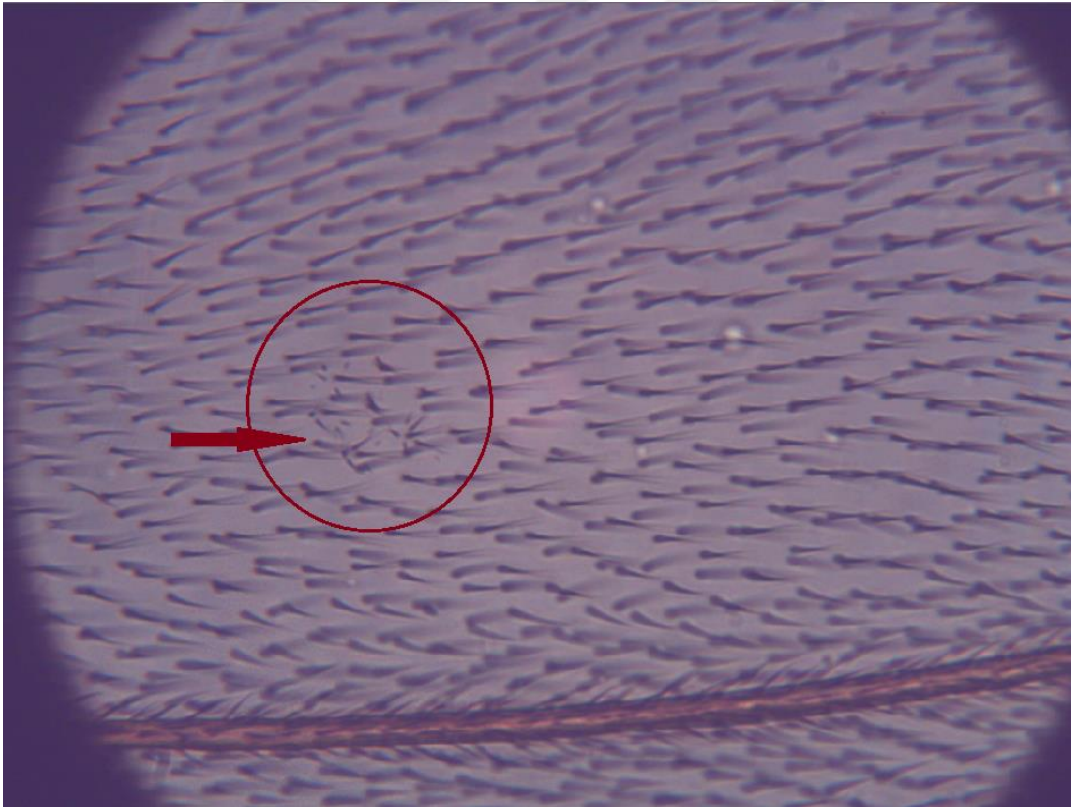
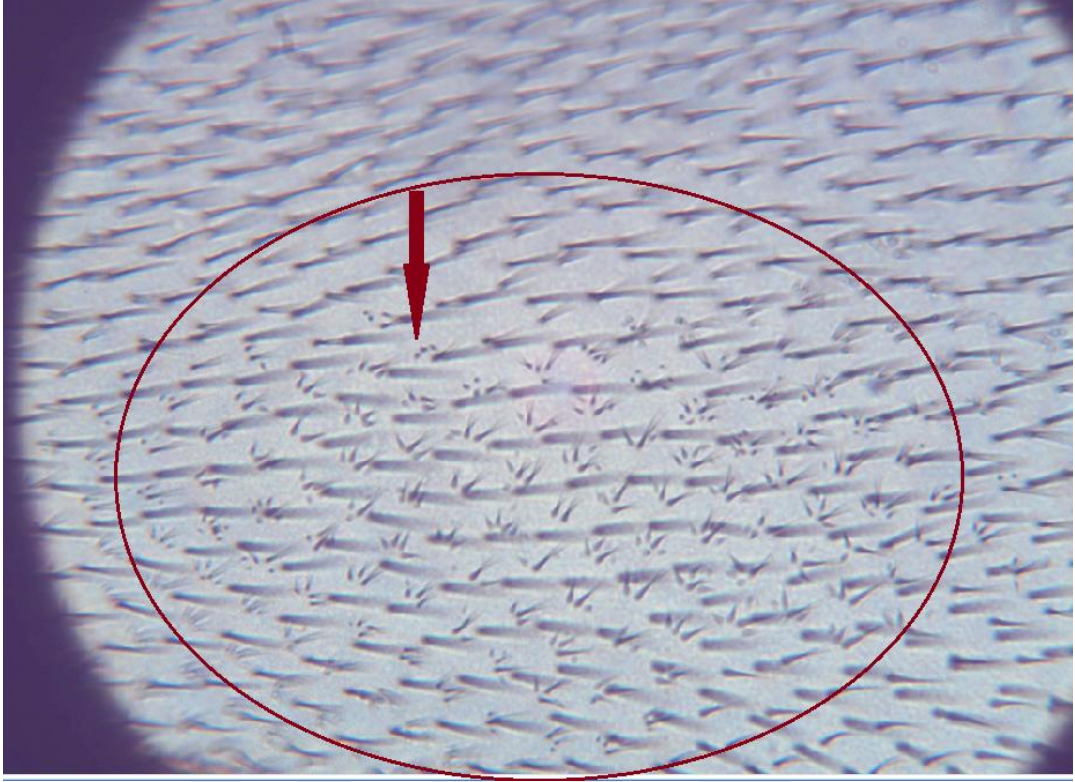
Tablo 12. Distile Su, DMSO ve EMS Kontrol Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m = 2)			Σ klon (m = 2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (mwh/flr ³)																		
Distile su	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
DMSO (%1)	80	9	(0,11)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	11	(0,13)	i	11	(0,13)	i	0,56	
EMS (1 ppm)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
Serrat kanat (mwh/TM3)																		
Distile su	80	6	(0,07)		0	(0,00)		Dengeleyici TM3			6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
DMSO (%1)	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i	kromozomu varlığında			9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46	
EMS (1 ppm)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	flr ³ mutasyonu gözlenmez.			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	

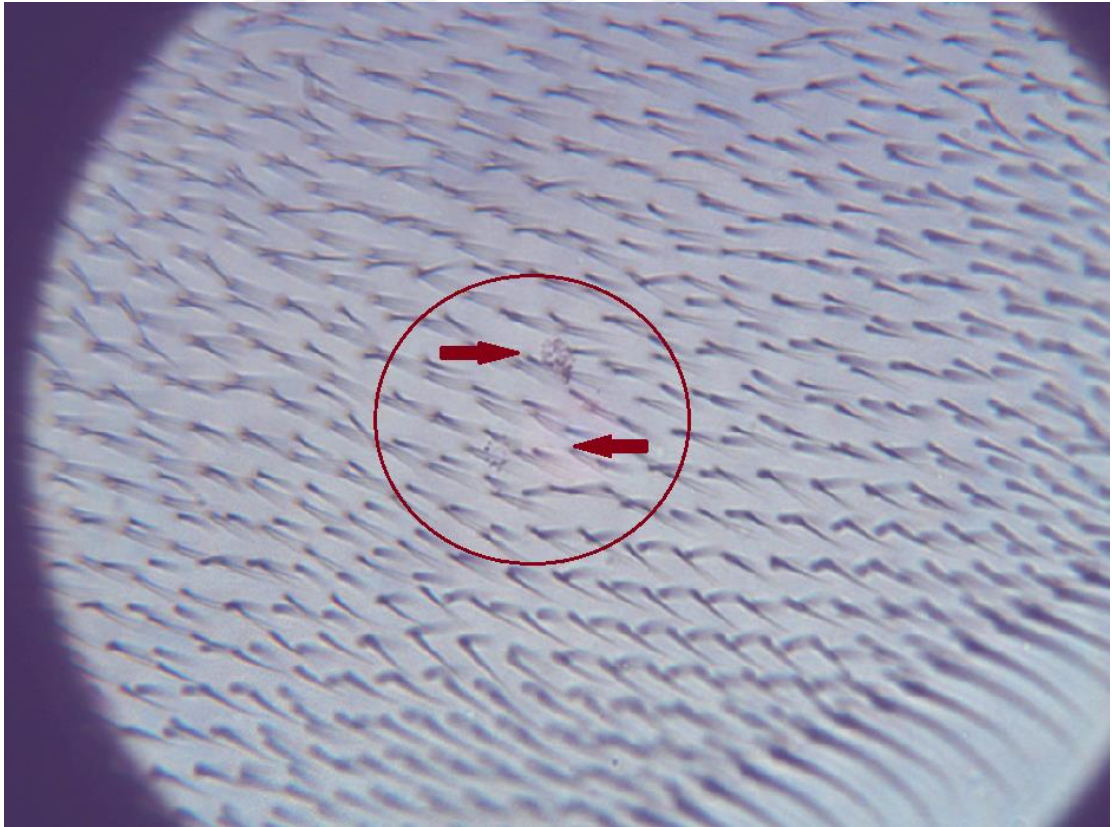
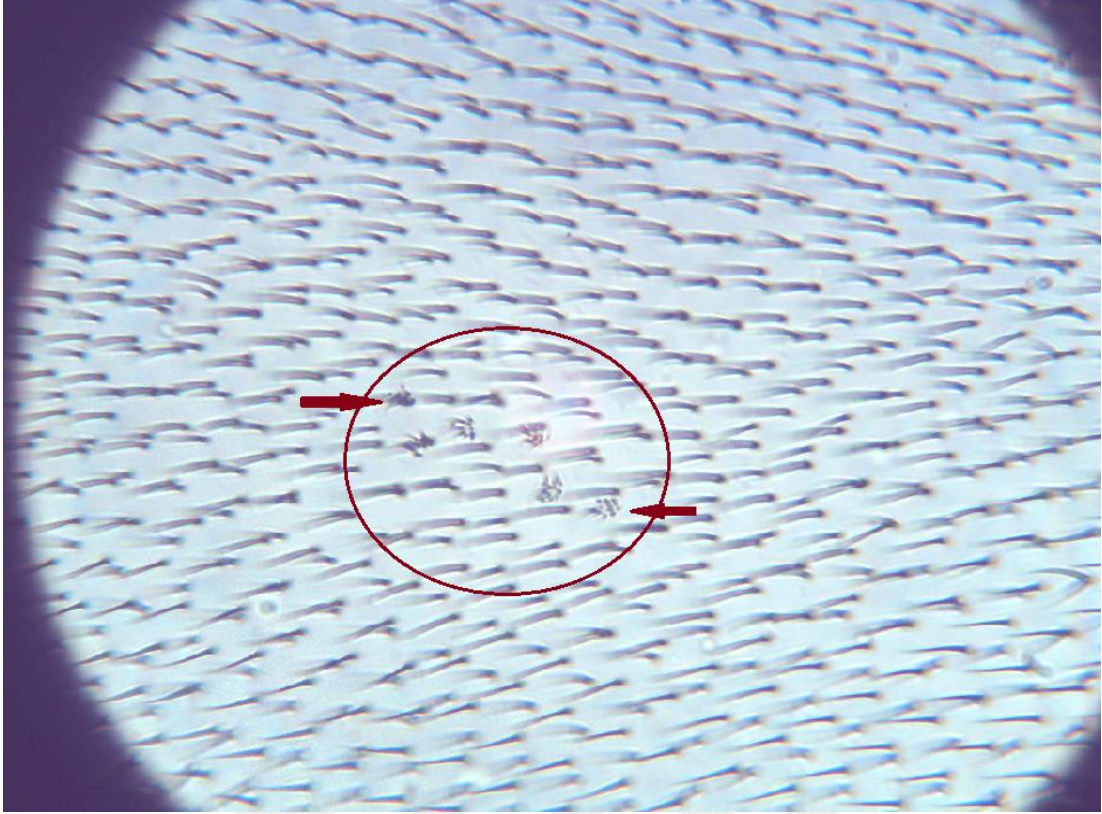
No: Klon Sayısı, Fr: Mutasyon Frekansı, D: İstatistiki Tanı, +: Pozitif, -:Negatif, i: Önemsiz Etkili, m: Tesir Faktör



Şekil 34. Küçük tek tip (KTT) mutant klonların mikroskopik görünüşü (10X40).



Şekil 35. Büyük tek tip (BTT) mutant klonların mikroskopik görünüşü (10X40).



Şekil 36. İkiz klonların mikroskobik görünüşü (10X40).

NR_{su} ekstraktına ait SMART bulguları

Çalışma kapsamında olası genotoksik etkisi araştırılan NR_{su} ekstraktına ait dört farklı uygulama grubu (10, 20, 30 ve 40 ppm) oluşturulmuştur. Normal kanat fenotipinde NR_{su}'nun en düşük uygulama grubu olan 10 ppm'de 8 KTT ve 2 BTT mutant klon gözlenirken 20 ppm uygulama grubunda 9 KTT ve 4 BTT klon gözlenmiş ve Σ klon frekansları sırasıyla 0,12 ve 0,16 olarak bulunmuştur. Diğer uygulama grubu olan 30 ppm'de 14 KTT ve 1 BTT mutant klon, en yüksek uygulama grubu 40 ppm'de ise 15 KTT ve 2 BTT mutant klon görülmüştür. Her iki uygulama grubuna ait Σ klon frekansları ise sırasıyla 0,18 ve 0,21 olarak hesaplanmıştır (Tablo 13). Tablo 13' de de görüldüğü gibi NR_{su} için özellikle en yüksek iki uygulama grubu olan 30 ve 40 ppm'de KTT klon frekansı ve Σ klon frekansında artış olmakla birlikte bu sonuçlar DMSO kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman gözlenen artış önemsiz (i) etkilidir. DMSO kontrol grubunda KİF değeri 0,56 iken NR_{su} uygulama gruplarına (10, 20, 30 ve 40 ppm) ait KİF değerleri de sırasıyla 0,51, 0,66, 0,76 ve 0,87 olarak hesaplanmıştır. Artan NR_{su} konsantrasyona bağlı olarak KİF değerlerindeki artış klon uyarımını göstermektedir.

Tüm NR_{su} uygulama gruplarına ait serrat kanat fenotipinde de özellikle KTT klon gözlenmiştir. Ancak bu klonların sayısı, DMSO kontrol grubuna oldukça yakındır. Şöyle ki; 10 ppm uygulama grubunda 4, 20 ppm'de 6 ve 30 ppm'de 7 KTT klon, en yüksek uygulama grubu olan 40 ppm'de ise 7 KTT ve 1 BTT mutant klon görülmüştür. Uygulama gruplarının hiç birisinde ise ikiz klon gözlenmemiştir. Bu nedenle DMSO kontrol ve tüm uygulama grupları arasındaki fark, KTT klon frekansı, Σ *mwh* ve Σ klon frekansı bakımından istatistiki olarak önemsiz (i) etkili bulunmuştur (Tablo 13). Ayrıca NR_{su} uygulama gruplarının KİF değerleri de hesaplanmış ancak bu değerler bakımından da önemli bir fark gözlenmemiştir. Hem normal hem de serrat kanat fenotipi için elde edilen değerlerin tümü göz önüne alındığı zaman, NR_{su} ekstraktının “genotoksik olmadığı” görülmektedir.

Tablo 13. NR_{su} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m = 2)			Σ klon (m = 2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (mwh/flr ³)																		
Distile su	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
DMSO (%1)	80	9	(0,11)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	11	(0,13)	i	11	(0,13)	i	0,56	
EMS (1 ppm)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
10 ppm	80	8	(0,10)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	10	(0,12)	i	10	(0,12)	i	0,51	
20 ppm	80	9	(0,11)	i	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	13	(0,16)	i	13	(0,16)	i	0,66	
30 ppm	80	14	(0,17)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	-	15	(0,18)	i	15	(0,18)	i	0,76	
40 ppm	80	15	(0,18)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	17	(0,21)	i	17	(0,21)	i	0,87	
Serrat kanat (mwh/TM3)																		
Distile su	80	6	(0,07)		0	(0,00)					6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
DMSO (%1)	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46	
EMS (1 ppm)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	Dengeleyici TM3			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	
10 ppm	80	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	kromozomu			4	(0,05)	i	4	(0,05)	i	0,20	
20 ppm	80	6	(0,07)	i	0	(0,00)	-	varlığında flr ³			6	(0,07)	i	6	(0,07)	i	0,30	
30 ppm	80	7	(0,08)	i	0	(0,00)	-	mutasyonu			7	(0,08)	i	7	(0,08)	i	0,35	
40 ppm	80	7	(0,08)	i	1	(0,01)	i	gözlenmez.			8	(0,10)	i	8	(0,10)	i	0,40	

No: Klon Sayısı, Fr: Mutasyon Frekansı, D: İstatistiki Tanı, +: Pozitif, -:Negatif, i: Önemsiz Etkilli, m: Tesir Faktörü

NR_{met} ekstraktına ait SMART bulguları

Genotoksik etkisinin belirlenmesi için NR_{met} ekstraktı 10, 20, 30 ve 40 ppm olmak üzere uygulanmış ve trans-heterozigot larvalardan elde edilen ergin bireylerin normal kanat fenotipine ait olmak üzere KTT, BTT, Σ *mwh*, Σ klon frekansı ve KİF değerlerinde artış görülmüştür. Şöyle ki; NR_{met}'in en düşük uygulama grubu olan 10 ppm'de 10 KTT ve 2 BTT, toplamda 12 mutant klon gözlenmiş ve Σ klon frekansı 0,15 olarak hesaplanmıştır. 20 ppm uygulama grubunda da 12 KTT ve 3 BTT olmak üzere toplam 15 mutant klon görülmüş ve Σ klon frekansı 0,18 olarak belirlenmiştir. 10 ve 20 ppm uygulama gruplarında KTT ve BTT klon sayısı, DMSO kontrol grubuna yakın olduğu için sonuçlar istatistiki olarak önemsiz (i) etkili bulunmuştur. 30 ppm uygulamada 15 KTT, 3 BTT ve toplam 18 mutant klon, en yüksek uygulama grubu olan 40 ppm'de ise 15 KTT ve 5 BTT olmak üzere toplam 20 mutant klon incelenmiştir. Her iki uygulama grubuna ait Σ klon frekansı sırasıyla 0,22 ve 0,25 olarak belirlenmiştir. 30 ppm uygulama grubunda elde edilen veriler sonucunda KTT ve BTT oluşumu önemsiz (i) etkili iken Σ *mwh* ve Σ klon frekansı pozitif (+) etkili bulunmuştur. Yine 40 ppm uygulama grubunda KTT klon frekansı önemsiz (i) etkili iken BTT, Σ *mwh* ve Σ klon frekansı $p<0,05$ düzeyinde pozitif (+) etkili olarak değerlendirilmiştir. Tüm uygulama gruplarına ait KİF değerlerinde de artış gözlenmiş ve bu değerler sırasıyla 0,61, 0,76, 0,92 ve 1,02 olarak hesaplanmıştır (Tablo 14).

Serrat kanat fenotipinde her ne kadar uygulama grupları arasında artış görülse de kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bu sonuçlar negatif (-) ve önemsiz (i) etkili olarak belirlenmiştir ($p<0,05$). Çünkü 10 ppm NR_{met} uygulama grubunda yalnızca 4 KTT, 20 ppm'de 5 KTT, 30 ppm'de 6 KTT ve 40 ppm'de 7 KTT mutant klon gözlenmiştir. Bu uygulama gruplarına ait Σ klon frekansı ise sırasıyla 0,05, 0,06, 0,07 ve 0,08 olarak bulunmuştur (Tablo 14). Bu veriler doğrultusunda hesaplanan KİF değerleri en düşük konsantrasyondan en yüksek konsantrasyona doğru sırasıyla 0,20, 0,25, 0,30 ve 0,35 olarak hesaplanmıştır. Tüm veriler göz önüne alındığı zaman, özellikle normal kanat fenotipinde NR_{met}'in artan konsantrasyonuna bağlı olarak en yüksek uygulama gruplarında “genotoksik etki” gözlenmiştir.

Tablo 14. NR_{met} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m = 2)			Σ klon (m = 2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (mwh/flr³)																		
Distile su	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
DMSO (%1)	80	9	(0,11)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	11	(0,13)	i	11	(0,13)	i	0,56	
EMS (1 ppm)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
10 ppm	80	10	(0,12)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	12	(0,15)	i	12	(0,15)	i	0,61	
20 ppm	80	12	(0,15)	i	3	(0,03)	i	0	(0,00)	-	15	(0,18)	i	15	(0,18)	i	0,76	
30 ppm	80	15	(0,18)	i	3	(0,03)	i	0	(0,00)	-	18	(0,22)	+	18	(0,22)	+	0,92	
40 ppm	80	15	(0,18)	i	5	(0,06)	+	0	(0,00)	-	20	(0,25)	+	20	(0,25)	+	1,02	
Serrat kanat (mwh/TM3)																		
Distile su	80	6	(0,07)		0	(0,00)					6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
DMSO (%1)	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46	
EMS (1 ppm)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	Dengeleyici TM3			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	
10 ppm	80	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	kromozomu varlığında			4	(0,05)	i	4	(0,05)	i	0,20	
20 ppm	80	5	(0,06)	i	0	(0,00)	-	flr³ mutasyonu			5	(0,06)	i	5	(0,06)	i	0,25	
30 ppm	80	6	(0,07)	i	0	(0,00)	-	gözlenmez.			6	(0,07)	i	6	(0,07)	i	0,30	
40 ppm	80	7	(0,08)	i	0	(0,00)	-				7	(0,08)	i	7	(0,08)	i	0,35	

No: Klon Sayısı, Fr: Mutasyon Frekansı, D: İstatistiki Tanı, +: Pozitif, -:Negatif, i: Önemsiz Etkili, m: Tesir Faktörü

HN_{su} ekstraktına ait SMART bulguları

Genotoksitesisi araştırılan bir diğer bitkisel ekstrakt, HN_{su} ekstraktıdır. Yine farklı dozlarda olmak üzere uygulanan HN_{su}, normal kanat fenotipinde en düşük uygulama grubu olan 10 ppm’de 12 KTT ve 3 BTT olmak üzere toplamda 15 mutant klon oluşumuna sebep olmuştur ve Σ klon frekansı 0,18 olarak belirlenmiştir. Diğer uygulama grubu olan 20 ppm’de 13 KTT, 3 BTT olmak üzere toplam 16 mutant klon incelenmiştir. Bu uygulama grubuna ait Σ klon frekansı da 0,20 olarak hesaplanmıştır. HN_{su} uygulaması sonucunda her iki uygulama grubuna ait KTT, BTT, Σ *mwh* ve Σ klon frekansları, DMSO kontrol grubuyla karşılaştırılmış ve bu değerlere göre sonuç önemsiz (i) etkili bulunmuştur ($p>0,05$). Bir diğer uygulama grubu olan 30 ppm’de 15 KTT, 3 BTT ve toplam 18 mutant klon, 40 ppm uygulama grubunda ise 16 KTT ile 4 BTT olmak üzere toplam 20 mutant klon gözlenmiştir. Bu uygulama gruplarına ait Σ klon frekansı sırasıyla 0,22 ve 0,25 olarak belirlenmiştir. DMSO kontrol grubuyla karşılaştırılarak yapılan istatistiki analiz sonucunda son iki uygulama grubu için, Σ *mwh* ve Σ klon frekansları pozitif (+) etkili iken diğer klon frekansları negatif (-) veya önemsiz (i) etkili bulunmuştur.

Normal kanat fenotipinin kontrol grubunda 0,56 olan KİF değeri en düşük uygulama grubu olan 10 ppm’de 0,76 iken artan konsantrasyona bağlı olarak 40 ppm’de 1,02’ye kadar yükselmiştir (Tablo 15). Bu da mutant klon oluşumunun artan HN_{su} uygulamasına bağlı olarak uyarıldığını ve HN_{su} ekstraktının “genotoksik etkili” olduğunu göstermektedir.

Serrat kanat fenotipinde ise tüm HN_{su} uygulama gruplarında (10, 20, 30 ve 40 ppm) KTT, BTT, Σ *mwh* ve Σ klon frekansları negatif (-) ve önemsiz (i) etkili olarak değerlendirilmiştir. 10 ppm HN_{su} uygulama grubunda 5 KTT, 20 ppm’de 6 KTT ve 30 ppm’de 7 KTT mutant klon gözlenmiştir. Σ klon frekansları ise sırasıyla 0,06, 0,07 ve 0,08 olarak hesaplanmıştır. En yüksek HN_{su} uygulama grubu olan 40 ppm’de ise 8 KTT ve 1 BTT olmak üzere toplamda 9 mutant klon gözlenmiş ve Σ klon frekansı 0,11 olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda KİF değeri de hesaplanmış ve tüm uygulama grupları için sırasıyla 0,25, 0,30, 0,35 ve 0,46 olarak bulunmuştur (Tablo 15).

Tablo 15. HN_{su} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon (<i>m</i> =2)			BTT klon (<i>m</i> =5)			İkiz klon (<i>m</i> =5)			Σ <i>mwh</i> klon (<i>m</i> = 2)			Σ klon (<i>m</i> = 2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (<i>mwh/flr</i> ³)																		
Distile su	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
DMSO (%1)	80	9	(0,11)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	11	(0,13)	i	11	(0,13)	i	0,56	
EMS (1 ppm)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
10 ppm	80	12	(0,15)	i	3	(0,03)	i	0	(0,00)	-	15	(0,18)	i	15	(0,18)	i	0,76	
20 ppm	80	13	(0,16)	i	3	(0,03)	i	0	(0,00)	-	16	(0,20)	i	16	(0,20)	i	0,81	
30 ppm	80	15	(0,18)	i	3	(0,03)	i	0	(0,00)	-	18	(0,22)	+	18	(0,22)	+	0,92	
40 ppm	80	16	(0,20)	i	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	20	(0,25)	+	20	(0,25)	+	1,02	
Serrat kanat (<i>mwh/TM3</i>)																		
Distile su	80	6	(0,07)		0	(0,00)					6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
DMSO (%1)	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46	
EMS (1 ppm)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	Dengeleyici <i>TM3</i> kromozomu varlığında			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	
10 ppm	80	5	(0,06)	i	0	(0,00)	-	<i>flr</i> ³ mutasyonu			5	(0,06)	i	5	(0,06)	i	0,25	
20 ppm	80	6	(0,07)	i	0	(0,00)	-	gözlenmez.			6	(0,07)	i	6	(0,07)	i	0,30	
30 ppm	80	7	(0,08)	i	0	(0,00)	-				7	(0,08)	i	7	(0,08)	i	0,35	
40 ppm	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46	

No: Klon Sayısı, Fr: Mutasyon Frekansı, D: İstatistiki Tanı, +: Pozitif, -:Negatif, i: Önemsiz Etkili, m: Tesir Faktörü

HN_{met} ekstraktına ait SMART bulguları

Farklı konsantrasyonlarda HN_{met} uygulaması sonucu ergin bireylerden elde edilen normal kanat fenotipine ait preparatlar incelenmiş ve en düşük HN_{met} uygulama grubu olan 10 ppm'de 12 KTT ve 1 BTT mutant klon olmak üzere toplam 13 mutant klon gözlenmiştir. Bu uygulama için Σ klon frekansı da 0,16 olarak hesaplanmıştır. Diğer uygulama grubu olan 20 ppm'de 12 KTT ve 4 BTT olmak üzere 16 mutant klon için Σ klon frekansı 0,20 olarak belirlenmiştir. HN_{met}'in 10 ve 20 ppm uygulama gruplarının KTT, BTT, Σ *mwh* ve Σ klon frekansına ait değerler DMSO kontrol grubuyla karşılaştırılmış ve sonuç istatistiksel olarak önemsiz (i) etkili bulunmuştur ($p>0,05$).

HN_{met}'nin 30 ppm uygulama grubunda 13 KTT, 3 BTT ve ayrıca 2 de ikiz klon olmak üzere toplamda 18 mutant klon, 40 ppm uygulama grubunda 13 KTT, 6 BTT ve 1 ikiz klon olarak toplam 20 mutant klon gözlenmiştir. Her iki uygulama grubuna ait Σ klon frekansları da hesaplanmış ve sırasıyla 0,22 ve 0,25 olarak bulunmuştur. Elde edilen verilerin DMSO kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda 30 ppm uygulama grubunda KTT, BTT mutant klon frekansları için sonuçlar önemsiz (i) etkili iken Σ klon frekansı pozitif (+) etkili olarak belirlenmiştir. 40 ppm uygulama grubunda ise KTT ve ikiz klon frekansı önemsiz (i) etkili iken BTT, Σ *mwh* ve Σ klon frekansı pozitif (+) etkili bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca kontrol grubunda 0,56 olan KİF değeri artan konsantrasyona bağlı olarak 40 ppm'de 0,97'ye yükselmiştir (Tablo 16). KİF değerindeki bu yükseliş de HN_{met}'e ait "genotoksik etkinin" göstergesidir.

Serrat kanat fenotipinde en düşük uygulama grubu olan 10 ppm'de 4 KTT mutant klon, 20 ppm uygulama grubunda 6 KTT mutant klon, 30 ppm uygulama grubunda 7 KTT mutant klon ve en yüksek uygulama grubu olan 40 ppm'de ise 8 KTT mutant klon gözlenmiştir. Σ klon frekansı 10, 20, 30 ve 40 ppm uygulama grupları için sırasıyla 0,05, 0,07, 0,08 ve 0,10 olarak hesaplanmıştır (Tablo 16). Tüm HN_{met} uygulama gruplarının KTT, BTT, Σ *mwh* ve Σ klon değerleri, DMSO kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemsiz (i) etkili bulunmuştur ($p>0,05$). Ayrıca serrat kanat fenotipinde en düşük uygulama grubunda (10 ppm) KİF değeri 0,20 iken en yüksek uygulama grubunda (40 ppm) bu değer 0,40 olarak bulunmuştur.

Tablo 16. HN_{met} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı	KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m = 2)			Σ klon (m = 2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
Normal kanat (mwh/flr ³)																	
Distile su	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40
DMSO (%1)	80	9	(0,11)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	11	(0,13)	i	11	(0,13)	i	0,56
EMS (1 ppm)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94
10 ppm	80	12	(0,15)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	-	13	(0,16)	i	13	(0,16)	i	0,66
20 ppm	80	12	(0,15)	i	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	16	(0,20)	i	16	(0,20)	i	0,81
30 ppm	80	13	(0,16)	i	3	(0,03)	i	2	(0,02)	i	16	(0,20)	i	18	(0,22)	+	0,81
40 ppm	80	13	(0,16)	i	6	(0,07)	+	1	(0,01)	i	19	(0,23)	+	20	(0,25)	+	0,97
Serrat kanat (mwh/TM3)																	
Distile su	80	6	(0,07)		0	(0,00)					6	(0,07)		6	(0,07)		0,30
DMSO (%1)	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46
EMS (1 ppm)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	Dengeleyici TM3			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33
10 ppm	80	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	kromozomu varlığında			4	(0,05)	i	4	(0,05)	i	0,20
20 ppm	80	6	(0,07)	i	0	(0,00)	-	flr ³ mutasyonu			6	(0,07)	i	6	(0,07)	i	0,30
30 ppm	80	7	(0,08)	i	0	(0,00)	-	gözlenmez.			7	(0,08)	i	7	(0,08)	i	0,35
40 ppm	80	8	(0,10)	i	0	(0,00)	-				8	(0,10)	i	8	(0,10)	i	0,40

No: Klon Sayısı, Fr: Mutasyon Frekansı, D: İstatistiki Tanı, +: Pozitif, -:Negatif, i: Önemsiz Etkili, m: Tesir Faktörü

DS_{su} ekstraktına ait SMART bulguları

Tez çalışması kapsamında genotoksik etkisi araştırılan son tür *D. stramonium*'dur. Bu bitkiye ait su ekstraktının uygulandığı ergin bireylere ait normal kanat fenotipinde en düşük uygulama grubu 10 ppm'de 16 KTT ve 1 BTT toplam 17 mutant klon incelenmiş ve Σ klon frekansı 0,21 olarak hesaplanmıştır. DMSO kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda KTT, BTT, Σ *mwh* ve Σ klon sayısında artış görülmesine rağmen istatistiki fark $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) etkili olarak değerlendirilmiştir. Diğer uygulama grubu olan 20 ppm'de ise 18 KTT ve 1 BTT olmak üzere toplam 19 mutant klon gözlenmiş ve Σ klon frekansı 0,23 olarak belirlenmiştir. Yine DMSO kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KTT ve BTT klon frekansı önemsiz (i) etkili, Σ *mwh* ve Σ klon frekansları ise $p<0,05$ düzeyinde pozitif (+) etkili bulunmuştur. Mutant klon frekanslarındaki artışın en fazla olduğu son iki DS_{su} uygulama gruplarından 30 ppm uygulama grubunda 19 KTT ve 4 BTT gözlenmiş ve toplam 23 mutant klon incelenmiştir. En yüksek uygulama grubu olan 40 ppm'de ise toplamda 24 mutant klon gözlenmiş ve bunlardan 22'sinin KTT ve 2'sinin de BTT olduğu belirlenmiştir. Her iki uygulama grubuna ait Σ klon frekansları sırasıyla 0,28 ve 0,30 olarak hesaplanmıştır (Tablo 17). Son iki uygulama grubu için BTT klon frekansı önemsiz (i) etkili, KTT, Σ *mwh* ve Σ klon frekansları $p<0,05$ düzeyinde pozitif (+) etkili bulunmuştur. Normal kanat fenotipinde DS_{su} uygulama gruplarına ait KİF değerleri sırasıyla 0,87, 0,97, 1,17 ve 1,22 olarak hesaplanmıştır. DS_{su} ekstraktının artan konsantrasyonuna bağlı olarak KİF değerlerinin artması "genotoksik etkinin uyarıldığını" göstermektedir.

Serrat kanat fenotipinde yapılan incelemede ise 10, 20 ve 30 ppm uygulama gruplarında sırasıyla 5, 7 ve 9 KTT, 40 ppm'de ise 9 KTT ve 1 BTT mutant klon gözlenmiştir. 10, 20, 30 ve 40 ppm uygulama gruplarına ait Σ klon frekansı da sırasıyla 0,06, 0,08, 0,11 ve 0,12 olarak belirlenmiştir. Elde edilen KTT, BTT, Σ *mwh* ve Σ klon frekansları kontrol grubuna göre negatif (-) ve önemsiz (i) etkili olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca DMSO kontrol grubunda 0,46 olan KİF değeri, en yüksek uygulama grubu olan 40 ppm de 0,51 olarak belirlenmiştir (Tablo 17).

Tablo 17. DS_{su} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı	KTT klon (m=2)			BTT klon (m=5)			İkiz klon (m=5)			Σ mwh klon (m = 2)			Σ klon (m = 2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
Normal kanat (mwh/flr³)																	
Distile su	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40
DMSO (%1)	80	9	(0,11)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	11	(0,13)	i	11	(0,13)	i	0,56
EMS (1 ppm)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94
10 ppm	80	16	(0,20)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	-	17	(0,21)	i	17	(0,21)	i	0,87
20 ppm	80	18	(0,22)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	-	19	(0,23)	+	19	(0,23)	+	0,97
30 ppm	80	19	(0,23)	+	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	23	(0,28)	+	23	(0,28)	+	1,17
40 ppm	80	22	(0,27)	+	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	24	(0,30)	+	24	(0,30)	+	1,22
Serrat kanat (mwh/TM3)																	
Distile su	80	6	(0,07)		0	(0,00)					6	(0,07)		6	(0,07)		0,30
DMSO (%1)	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46
EMS (1 ppm)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	Dengeleyici TM3			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33
10 ppm	80	5	(0,06)	i	0	(0,00)	-	kromozomu			5	(0,06)	i	5	(0,06)	i	0,25
20 ppm	80	7	(0,08)	i	0	(0,00)	-	varlığında flr³			7	(0,08)	i	7	(0,08)	i	0,35
30 ppm	80	9	(0,11)	i	0	(0,00)	-	mutasyonu			9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46
40 ppm	80	9	(0,11)	i	1	(0,01)	i	gözlenmez.			10	(0,12)	i	10	(0,12)	i	0,51

No: Klon Sayısı, Fr: Mutasyon Frekansı, D: İstatistiki Tanı, +: Pozitif, -: Negatif, i: Önemsiz Etkili, m: Tesir Faktörü

DS_{met} ekstraktına ait SMART bulguları

Çalışma kapsamında genotoksik etkinin belirlenmesi için uygulanan son ekstrakt DS_{met}'dir. Normal ve serrat kanat fenotipi için dört farklı DS_{met} uygulama grubuna (10, 20, 30 ve 40 ppm) ait sonuçlar ve istatistiki değerlendirmeler Tablo 18'te toplu olarak verilmiştir. DS_{met}'in en düşük uygulama grubu olan 10 ppm'de normal kanat fenotipi için 11 KTT ve 4 BTT gözlenmiş ve Σ klon frekansı 0,18 olarak belirlenmiştir. DMSO kontrol grubuna göre KTT ve BTT bakımından artış olmasına rağmen bu artış istatistiki olarak $p>0,05$ düzeyinde önemsiz (i) etkili bulunmuştur. Diğer uygulama grubu olan 20 ppm'de 15 KTT ve 1 BTT mutant klon, 30 ppm'de ise 17 KTT ve 4 BTT mutant klon incelenmiş ve Σ klon frekansı sırasıyla 0,20 ve 0,26 olarak hesaplanmıştır. En yüksek uygulama grubu olan 40 ppm'de 19 KTT, 3 BTT ve 1 ikiz mutant klon gözlenmiştir. Bu uygulama grubuna ait Σ klon frekansı da 0,28 olarak belirlenmiştir. 20 ve 30 ppm DS_{met} uygulama grupları ile DMSO kontrol grubu karşılaştırıldığında KTT, BTT ve ikiz klon hariç Σ *mwh* ve Σ klona ait sonuçlar $p<0,05$ düzeyinde pozitif (+) etkili bulunmuştur. En yüksek uygulama grubu olan 40 ppm'de ise BTT ve ikiz klon frekansları önemsiz (i) etkili iken KTT, Σ *mwh* ve Σ klon frekansları pozitif (+) etkili bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca kontrol grubunda 0,56 olan KİF değeri, uygulama gruplarında artan konsantrasyona bağlı olarak 0,76, 0,81, 1,07 ve 1,12'ye yükselmiştir (Tablo 18). KİF değerlerdeki bu artış da "genotoksik etkinin" göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Serrat kanat fenotipinde ise tüm mutant klon frekansları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sonuçlar negatif (-) ve önemsiz (i) etkili bulunmuştur. Şöyle ki; DS_{met} uygulama gruplarından 10 ppm'de 5 KTT, 20 ppm'de 6 KTT ve 30 ppm'de 8 KTT mutant klon gözlenmiştir. Bu uygulama gruplarına ait Σ klon frekansları sırasıyla 0,06, 0,07 ve 0,10 olarak bulunmuştur. DS_{met}'nin 40 ppm uygulama grubunda ise 8 KTT ve 1 BTT olmak üzere toplam 9 mutant klon incelenmiş ve Σ klon frekansı 0,11 olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda tüm uygulama gruplarına ait KİF değerleri de sırasıyla 0,25, 0,30, 0,40 ve 0,46 olarak hesaplanmıştır (Tablo 18).

Tablo 18. DS_{met} Uygulama Gruplarına ait Kanat Benek Testi Bulguları ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı		KTT klon ($m=2$)			BTT klon ($m=5$)			İkiz klon ($m=5$)			Σ mwh klon ($m = 2$)			Σ klon ($m = 2$)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D			
Normal kanat (mwh/flr^3)																		
Distile su	80	8	(0,10)		0	(0,00)		0	(0,00)		8	(0,10)		8	(0,10)		0,40	
DMSO (%1)	80	9	(0,11)	i	2	(0,02)	i	0	(0,00)	-	11	(0,13)	i	11	(0,13)	i	0,56	
EMS (1 ppm)	80	27	(0,33)	+	11	(0,13)	+	8	(0,10)	+	38	(0,47)	+	46	(0,57)	+	1,94	
10 ppm	80	11	(0,13)	i	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	15	(0,18)	i	15	(0,18)	i	0,76	
20 ppm	80	15	(0,18)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	-	16	(0,20)	+	16	(0,20)	+	0,81	
30 ppm	80	17	(0,21)	i	4	(0,05)	i	0	(0,00)	-	21	(0,26)	+	21	(0,26)	+	1,07	
40 ppm	80	19	(0,23)	+	3	(0,03)	i	1	(0,01)	i	22	(0,27)	+	23	(0,28)	+	1,12	
Serrat kanat ($mwh/TM3$)																		
Distile su	80	6	(0,07)		0	(0,00)					6	(0,07)		6	(0,07)		0,30	
DMSO (%1)	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46	
EMS (1 ppm)	80	20	(0,25)	+	6	(0,07)	+	Dengeleyici $TM3$			26	(0,32)	+	26	(0,32)	+	1,33	
10 ppm	80	5	(0,06)	i	0	(0,00)	-	kromozomu			5	(0,06)	i	5	(0,06)	i	0,25	
20 ppm	80	6	(0,07)	i	0	(0,00)	-	varlığında flr^3			6	(0,07)	i	6	(0,07)	i	0,30	
30 ppm	80	8	(0,10)	i	0	(0,00)	-	mutasyonu			8	(0,10)	i	8	(0,10)	i	0,40	
40 ppm	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i	gözlenmez.			9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46	

No: Klon Sayısı, Fr: Mutasyon Frekansı, D: İstatistiki Tanı, +: Pozitif, -: Negatif, i: Önemsiz Etkili, m: Tesir Faktörü

TARTIŞMA ve SONUÇ

Tarih öncesi dönemden itibaren insanlar gerek besin kaynağı olarak gerekse birçok hastalığın tedavisinde bitkilerden yararlanmışlardır. Bitkilerle tedavi yönteminin kullanımı, ilaçların üretime girmesi ile beraber azalmış bu da insanların doğaldan kaçarak sentetik ürünlere yönelmesine neden olmuştur. Ancak 20. yüzyılın sonlarına doğru sağlık sorunlarının artması, ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve sentetik ürünlerin güvenilirliğini kaybederek “sağlığa zararlı” bilincinin oluşması ile beraber tekrar tıbbi bitkilere olan talep artmıştır. DSÖ, dünya nüfusunun yaklaşık %80’inin geleneksel tıba güvendiğini ve birçoğunun sağlık sorunlarını bitki özleri veya bileşenleri ile giderdiğini düşünmektedir (Craig, 1999). Dünya da yaygın olarak bulunan Solanaceae familyasında da bu amaçla kullanılan birçok tür bulunmaktadır. Örneğin, *D. stramonium* gut, romatizma, siyatik (sinirin sıkışması veya zarar görmesine bağlı oluşan ağrı), ülser, iltihaplanma, astım ve bronşit gibi çeşitli hastalıkların tedavilerinde kullanılan tıbbi bir bitkidir (Gaire and Subedi 2013). Yine bir başka tür olan *N. rustica*, Maya kabileleri tarafından ateş düşürücü ve sakinleştirici, Antik Çin’de ağrı kesici, soğuk algınlığı ve mide hastalıklarına çare olarak kabul edilmiştir. Günümüzde de bu tür, *Origanum vulgare* (keklik otu) ile karıştırılıp boğaz ağrısı, *Okaliptüs* (sıtma ağacı) ile karıştırılıp bronşit ve *Datura* ile karıştırılıp astım tedavisinde sigara gibi sarılarak kullanılmaktadır. Ayrıca diş ağrısını ve çürümelerini önlemek amacıyla çiğneme yoluyla da vücuda alınmaktadır (Bensalah *et al.* 2009). Çalışmadaki son tür olan *H. niger* ise geleneksel Çin tıbbında öksürük, mide krampları ve karın ağrısı, Tibet tıbbında ateş düşürücü, antitümör ve antihelmintik (bağırsak solucanlarını öldürücü) olarak tercih edilen bir bitkidir (Begum *et al.* 2010). Aynı zamanda bronkodilatasyon (bronş ve bronşioollerin boşluklarında genişleme olması), ishal önleyici ve Ca^{+2} kanal blokajı gibi etkilere de sahip olduğu bilinmektedir (Gilani *et al.* 2008).

Tez kapsamında kullanılan *D. stramonium*, *N. rustica* ve *H. niger* türleri biyo-kütlelerinde bulundurdıkları alkaloidlerden dolayı iyileştirici özellik göstermelerinin yanında zehirleyici hatta öldürücü de olabilmektedir. *D. stramonium*, yabani bir bitki türü olarak boş araziler ve yol kenarlarında yetişmektedir. Bu bitki macun veya solüsyon şeklinde kullanıldığında zararlı etkileri olmayabilir fakat oral yolla alındığında huzursuzluk, baş dönmesi, yüzde kızarıklık, sersemleme, kasılmalar, çarpıntı ve halüsinasyon gibi ciddi semptomlara yol açabilmektedir (Gaire and Subedi 2013; Karakuş vd 2017). Bir olgu sunumunda *D. stramonium* bitkisini yanlışlıkla yutan 3,5 yaşındaki kız çocuğunda, ağız kuruluğu, göz bebeğinde genişleme, saldırganlık, deliryum ve halüsinasyon gibi şikayetlerinin

olduğu belirtilmiştir (Bouziri *et al.* 2011). Yine bu çalışmada kullanılan *N. rustica*, özellikle sigarayı bırakmak isteyen kişiler tarafından yaprakları kurutularak toz haline getirildikten sonra meşe, asma veya ceviz çubuğu külleri ile karıştırılmaktadır. Hazırlanan karışım su ile nemlendirilerek ya doğrudan toz halinde ya da sigara kağıdına sarılıp alt dudak, üst dudak veya yanak ile çene arasına yerleştirilmektedir (Köse vd 2011). Kullanıcı kişiler kendilerini her alımda daha iyi ve rahatlamış olarak ifade etmiş olsalar bile Sogut *et al.* (2009)'a göre, bu toz insan sağlığı üzerinde oldukça ciddi sorunlara sebep olmaktadır. Özellikle dişte çürüme, diş eti iltihabı gibi ağız sağlığı sorunlarının yanı sıra mide, mesane kanseri ile kalp ve damar hastalıkları sıklıkla görülmektedir (Çok 1998). Ülkemizde bitkilere bağlı zehirlenmede en sık karşılaşılan *H. niger*'in bilinçsizce tüketimi ise ağız kuruluğu, yüksek ateş, taşikardi, kabızlık ve halüsinasyon gibi zehirlenme tablolarını oluşturmaktadır (Erkal vd 2006). Atay ve Seçkin (2011), hemoroide iyi geldiği gerekçesiyle *H. niger* tohumlarını tüketen 65 yaşındaki kadının kendi kendine konuşma, davranış bozukluğu ve uykusuzluk gibi şikayetlerinin olduğunu vaka takdiminde sunmuştur. Ayrıca keyif verici özelliğe sahip olan bu bitki türleri insanlar tarafından uyuşturucu olarak da kullanılmaktadır (Bayam ve Uysal 2021).

Çalışmalarımızda bu üç türe ait su ve metanol ekstraktlarının toksik etkileri, *D. melanogaster*'in Oregon-R yabani soyunun dişi ve erkek popülasyonlarında ömür uzunluğu testi ile belirlenmiştir. Bu test için popülasyonu etkileyebilecek sıcaklık, bağıl nem gibi tüm çevresel faktörlerin, anasal yaş ve çiftleşme aktivitesinin stabil kalması, tek değişkenin ise farklı dozlarda uygulanan bitkisel ekstraktlar olması sağlanmıştır. Ömür uzunluğu testi için negatif kontrol grubu olarak yalnızca distile su ile hazırlanan SDB ve bitkisel ekstraktların çözücüsü olan %1 DMSO kullanılırken uygulama grupları farklı konsantrasyonlarda bitkisel ekstraktlar kullanılarak (SDB+ 10, 20, 30 ve 40 ppm NR_{su}/NR_{met} , HN_{su}/HN_{met} , DS_{su}/DS_{met}) oluşturulmuştur. Distile su ve DMSO kontrol gruplarından elde edilen ömür uzunluğuna ait veriler istatistiki olarak karşılaştırıldığında aralarındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Fakat kronik olarak bitki ekstraktlarına maruz bırakılan *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarında ömür uzunluğunun kontrol gruplarına göre gün olarak kısaldığı, uygulama gruplarına ait veriler ile kontrol gruplarına ait veriler karşılaştırıldığı zaman aradaki farkın $p<0,05$ düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur (Tablo 5-10).

Çeşitli araştırmacılar, canlı organizmaların hücre, doku ve organları fonksiyonlarında ilerleyici bozulmaların meydana gelmesini ve buna bağlı homeostazın sağlanamamasını yaşlanma olarak tanımlanmaktadır (Karan ve Tufan 2010; Döğüş ve Çürük 2018). Yaşlanmaya sebep olabilecek etkenler araştırılırken temel olarak model organizmanın ömür uzunluğu göz önünde bulundurulmaktadır. Ömür uzunluğunun çevresel faktörlere göre, türden türe ve hatta

aynı tür içerisindeki bireyler arasında dahi farklılık göstermesi tez kapsamında model organizma olarak kullanılan *D. melanogaster* için de söz konusudur. Örneğin; daha önce yapılan bir araştırmada, *D. melanogaster*'in ergin bireyleri sürekli ışığa maruz bırakıldıklarında ömür uzunluğunda kısalma gözlenirken karanlık ortamdaki dişilerin %43, erkeklerin de %20 oranında daha uzun ömürlü oldukları belirlenmiştir (Allemand *et al.* 1973; Paranjpe *et al.* 2005). Yine bu organizmanın hayat döngüsünü tamamlamasında ve yaşamına devam edebilmesinde ortam sıcaklığı oldukça önemlidir (Uysal vd 2006). Ancak Bourg *et al.* (2001) tarafından yapılan çalışmada 37°C gibi yüksek ısının, Ayar *et al.* (2009) tarafından yapılan çalışmada da -3°C gibi çok düşük ısının ergin sineklerin ömür uzunluğunda kısaltmaya neden olduğu görülmüştür. *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunda ışık ve ısı dışında beslenme (Sohal and Weindrich 1996), radyasyon (Moskalev 2007), nem oranı (Hodge 2001) ve besi yerinde biriken metabolik artıklar (Simmons and Bradley 1997) gibi çevresel faktörlerde meydana gelen değişiklikler de etkili olmaktadır.

In vivo ömür uzunluğu testi ile *D. melanogaster*'in yalnızca yabanıl soylarında değil mutant soylarında da çalışmalar yapılmış ve mutant soyların ömür uzunluğunun yabanıl soylara göre daha kısa olduğu bulunmuştur (Ayar 2008; Ünver 2015; Demir 2017) Ancak Unlu and Bozcuk (1979) tarafından yapılan bir çalışmada, *D. melanogaster*'in yabanıl bireyleri ile *wmf* üçlü mutant bireyleri (*white eyes*, *miniature* ve *forked* /beyaz gözlü, kısa kanatlı, çatal kıllı) çaprazladıklarında F₁ bireylerinin ebeveynlerinden daha uzun ömürlü oldukları gözlenmiştir. F₁ bireylerinin ebeveynlerine göre daha uzun yaşamasının temel sebebi, melezlerin (heterozigot) kazandığı genetik üstünlük (heterozis)'dür ve diğer bir ifade ile heterozigot üstünlüğü, ömür uzunluğunun genetik mekanizma tarafından kontrol edildiğini göstermektedir. Bu durum heterozisin baskınlık hipotezine (dominance hypothesis) göre bir ebeveynde bulunan baskın allelin diğer ebeveyndeki çekinik alleli bastırmasından, aşırı baskınlık hipotezine (over dominance hypothesis) göre de ebeveynlerden gelen farklı allellerin birbiriyle etkileşime girmesinden (kantitatif kalıtım) kaynaklanmaktadır (Fu *et al.* 2015). Baranwal *et al.* (2012)'a göre, DNA metilasyon, kromatin modifikasyon ve histon modifikasyon mekanizmaları olarak bilinen epigenetik mekanizmalar da heterozise katkıda bulunmaktadır. Ancak Unlu and Bozcuk (1979)'un çalışmalarında F₁ melezlerinin kendileştirilmesi ile oluşan F₂ bireylerinin ömür uzunluğunda regresyon (gerileme) olduğu görülmüştür. Bunun nedeni Vaiserman *et al.* (2013) tarafından heterozisin yalnızca F₁ neslinde görülebilmesi sonraki nesillerde ise kademeli olarak kaybolabileceği şeklinde açıklanmıştır. Bize göre ise heterozigot ebeveynler arasındaki çaprazlamalar ile meydana gelen F₂ bireyleri "transgressif varyasyona" bağlı olarak hem ebeveynlerinden daha üstün (daha uzun ömürlü) hem de daha zayıf (daha kısa ömürlü) karakter gösterebilirler.

Çalışma kapsamında kullanılan bitki türlerinin farklı canlı grupları ve özellikle insanlar üzerinde de toksik etkilerinin olduğu literatürde yer almaktadır. Kepenekci *et al.* (2016), *H. niger*, *Melia azedarach* L. (tesbih ağacı) ve *Xanthium strumarium* L. (pıtrak) yapraklarına ait etanol ekstraktlarının *Meloidogyne* spp (kök-ur nematodu)'nin yumurtadan çıkamamasında ve 2. evre larvaların ölümünde %100 etkili olduğunu belirlemiştir. Turan (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, *D. stramonium* tohumlarından hazırlanan su ve metanol ekstraktlarının *Amaranthus retroflexus* L. (kırmızı köklü horozibiği), *Beta vulgaris* L. (şeker pancarı) ve *Chenopodium album* L. (sirken/yabani ıspanak) bitkilerinin çimlenmesini azalttığı, özellikle de metanol ekstraktının *C. album* L. ve *A. retroflexus* L.'nin çimlenmesini %100 engellediği bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da *N. rustica* yapraklarından hazırlanan dumansız tütünün Sprague Dawley sıçanının dil altına yerleştirmesi sonucunda plazmadaki kotinin değerinin yükseldiği belirlenmiştir. Yine bu çalışmada tütünün deri fleplerinde (vücudun bir kısmından kesilip diğer bir kısmına eklenen kitlesi) nekroz oranını artırdığı Eroglu *et al.* (2009) tarafından ifade edilmiştir. Verma *et al.* (2020), *D. stramonium* tohum ekstresine maruz kalan Wistar sıçanlarında iştahsızlık, huzursuzluk, depresyon ve susuzluk gibi belirtilerin ortaya çıktığını gözlemlemiştir. Aynı zamanda 30., 60. ve 90. günlerde alınan kan örneklerinde AST, bilirubin, üre, kolesterol değerlerinin arttığı ve belirgin lenfositopeni (lenfosit sayısının azalması) varlığı tespit edilmiştir.

Bir olgu sunumunda, *D. stramonium* tohumlarını tüketen 16 yaşındaki erkek ve 15 yaşındaki kız çocuğunda çevreyle uyum sorunu, anlaşılamayan konuşma, halsizlik ve halüsinasyon gibi şikayetler görülmüştür (Spina and Taddei 2007). Utku *et al.* (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, Maraş otu kullanıcıları ile sağlıklı kişiler arasında yapılan karşılaştırmalar sonucunda, Maraş otunun serebral kan akım hızını artırdığı ve bunun da inme riskini tetikleyebileceği ifade edilmiştir. Çeşitli araştırmacılara göre, *D. stramonium* tüketimi sonucu oluşan semptomların ve diğer canlı gruplarında meydana gelen letalitenin en önemli sebebi, bitkinin içeriğinde bulunan tropan alkaloidleridir (Pavela 2004; Berkov *et al.* 2006; Yavuz vd 2016). Bunlardan atropin, skopolamin ve hiyosiyamin yüksek dozda alındığında göz bebeklerinde genişleme, taşikardi, cilt kuruluğu, huzursuzluk, halüsinasyon ve hatta komaya kadar ilerleyen durumlara neden olmaktadır (Aga and Gayed 1992; Celbek vd 2010; Ullrich *et al.* 2017). Özellikle atropin ve skopolamin, nörotransmitter molekülü olan asetilkolinin reseptörlerine bağlanarak asetilkolin aktivitesini bloke etmektedir. Ancak reseptör üzerinde herhangi bir uyarıcı etki oluşturamayan bu alkaloidler yalnızca asetilkolinin reseptörlere bağlanmasını engelleyip onların antagonisti gibi davranarak merkezi sinir sistemini etkilemektedir (Stella *et al.* 2010). Yine *H. niger*'in biyokütlesinde bulunan tropan alkaloidleri

vücuda alındığında ağız kuruluğu, konuşma güçlüğü, kızarıklık, bulantı ve kusma gibi çeşitli semptomlara sebebiyet vermektedir (Erkal vd 2006; Alizadeh *et al.* 2014).

Sigarayı bırakmak isteyen kişiler tarafından alternatif olarak kullanılan Maraş otunun ana bileşeni olan ve bitkinin yapraklarından elde edilen nikotin, oldukça keyif veren ve bağımlılık yapan bir alkaloiddir. Düşük dozlarda vücuda alındığında merkezi sinir sistemini uyarıcı etki gösteren bu bileşen yüksek dozda ki alımlarda baş ağrısı, terleme, kusma ve ishal gibi semptomlara neden olmaktadır. Her ne kadar zararsız olduğu düşünülse de *N. tabacum*'dan hazırlanan sigaranın nikotin içeriği yaklaşık 10-20 mg iken *N. rustica*'dan hazırlanan dumansız tütünün nikotin içeriği sigaradan yaklaşık 8-10 kat fazla bulunmuştur (Güneş ve Sarışık 2020). Daha önce yapılan çeşitli araştırmaların sonuçlarına göre de yetişkinlerde ki öldürücü doz 40-60 mg olarak belirlenmiştir (Connolly *et al.* 2010; Corkery *et al.* 2010; Güneş ve Sarışık 2020). *Nicotiana* cinsine ait türlerde nikotin dışında başka alkaloidlerde yer almaktadır. Bunlardan anatabin, nikotine benzeyen yapıya sahip olmasına rağmen terapötik dozlarda (etken maddenin en etkili minimum düzeyiyle yan etki görülmeyen maksimum değeri arasında kalan dozları) bağımlılık yapıcı özellik göstermemektedir (Wiersinga 2013). Ancak diğer bir bileşen olan anabasinin oldukça toksik ve hatta ölüme dahi neden olabileceği bilinmektedir. Örneğin, *Nicotiana glauca* (ağaç tütünü) bitkisinin yapraklarını yiyen iki kişide anabasine bağlı olarak baş dönmesi, halsizlik ve kusma gibi semptomların olduğu Kurkeu *et al.* (2011) tarafından ifade edilmiştir. Sunulan bu çalışmada kullanılan *N. rustica*, *H. niger* ve *D. stramonium* bitkilerinin su ve metanol ekstraktlarında bulunan skopolamin, atropin ve nikotin miktarları Bayam (2021) tarafından GC-MS (Gas chromatography–mass spectrometry) yöntemiyle belirlenmiştir.

D. melanogaster'in 1., 2. ve 3. evre larvalarında bulunan ve ergin bireye ait organları oluşturacak imaginal disklerde oluşabilecek herhangi bir değişikliğin bir sonraki hücre gruplarına aktararak mutant hücre gruplarını meydana getirdiği ve bunların da ergin sineklerin kanatlarında mutant hücre klonları olarak gözlendiği bilinmektedir. *Drosophila*'da göz benek testi ya da kanat benek testi olarak bilinen SMART yöntemi, herhangi bir sebeple oluşan mutant hücre klonlarını saptamak amacıyla uygulanmaktadır. Bölüm 1'de belirtildiği gibi nokta mutasyonlar, delesyon, kromozom kaybı ve mitotik rekombinasyon sonucunda küçük ve büyük tek tip klonlar, yalnızca mitotik rekombinasyon sonucunda da ikiz klonların olduğu bilinmektedir. Tez kapsamında *D. stramonium*, *N. rustica* ve *H. niger* bitkilerine ait su ve metanol ekstraktlarının olası genotoksik etkilerinin belirlenmesi için de SMART yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde distile su ve DMSO negatif grupları haricinde genotoksitesisi iyi bilinen EMS pozitif kontrol grubu ile farklı konsantrasyonda (10, 20, 30 ve 40 ppm) bitki ekstraktlarını içeren uygulama grupları oluşturulmuştur. Elde edilen değerlerin tümü

incelendiği zaman, NR_{su} ekstraktının genotoksik olmadığı, NR_{met}'in özellikle normal kanat fenotipine ait en yüksek uygulama grubunda (40 ppm) genotoksik etkili olduğu belirlenmiştir (Tablo 13 ve Tablo 14). Yine *H. niger* ve *D. stramonium* bitki ekstraktlarının artan konsantrasyonuna bağlı olarak mutant klon oluşumunun uyarıldığı gözlenmiş ve bu durum da genotoksik etki olarak değerlendirilmiştir (Tablo 15, Tablo 16, Tablo 17 ve Tablo 18). Çeşitli araştırmacılara göre, Solanaceae familyasına ait türlerde bulunan alkaloidlere dayalı meydana gelen oksidatif stres, genotoksik etkiyi uyararak somatik mutasyonlara neden olmaktadır (Hassine *et al.* 2013; Diaz 2015). Bu bilgiler doğrultusunda “tez çalışmaları sırasında gözlemiş olduğumuz somatik mutasyonlardaki artışın bitkisel ekstraktlarda bulunan alkaloidlerden kaynaklanarak oluşması kuvvetle muhtemeldir” diyebiliriz. Çünkü daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda farklı alkaloidlerin genotoksik etkileri de SMART yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Örneğin, *Senecio brasiliensis* (ruh çiçeği)'de bulunan integerrimin alkaloidinin mutant klonları indüklediği *D. melanogaster*'de SMART kullanılarak belirlenmiştir (Campesato *et al.* 1998). Yine *Ocotea acutifolia* (kara defne)'den elde edilen talikminin, disentrin ve okotein alkaloidlerinin mitotik rekombinasyonlara neden olduğu bu yöntem ile ortaya konulmuştur (Guterres *et al.* 2013). Sekonder metabolitler arasında yer alan terpenlerin de tıpkı alkaloidler gibi KTT, BTT ve ikiz klonların oluşumuna yol açtığı Uysal ve Çelik (2021) tarafından yapılan bir çalışmada gösterilmiştir.

Ismeel (2011)'in yaptığı çalışmada AMN-3 (Ahmed- Mohammed- Nahi-2003), Hep-2 (laringeal kanser hücresi) ve RD (rabdomiyosarkom/yumuşak doku tümörü) kanser hücre hatlarının *H. niger*'in toprak üstü kısımlarından hazırlanan alkaloid ekstraktına maruz bırakılması sonucunda hücresel canlılığını yitirdiği gözlenmiştir. Bir başka çalışmada *D. stramonium*'un yaprak ve tohumlarından hazırlanan sulu ekstraktların genotoksik etkisi *Allium cepa* testi ile belirlenmiştir. *A. cepa* köklerine 72 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda (12,5, 25, 50, 75 ve 100) uygulanan iki ekstraktın kromozomal aberasyonları artırdığı bildirilmiştir (Ashiru *et al.* 2020). Demirhan (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, Maraş otunun insan periferik lenfosit hücrelerinde, kromozomal aberasyonları indüklediği ve anormal hücre frekansını artırdığı görülmüştür. Yine *H. niger*'in farklı konsantrasyonlarda etanol ve su ekstraktları insan lenfosit hücrelerine uygulandığı zaman mikronükleus frekansının arttığı belirlenmiştir (Bayam ve Uysal 2021). Saatci *et al.* (2008) yaptığı bir çalışmada, Maraş tozu kullanımının DNA hipometilasyonu ve MN oluşum sıklığını artırdığını bildirmiştir. Şöyle ki; sigara içen, Maraş tozu kullanan ve sağlıklı bireylerden alınan lenfosit hücreleri ile aynı deneklerden alınan yanak içi mukoza hücrelerine bakıldığında sigara içenler ve Maraş tozu kullanıcılarında genomik hipometilasyonun mevcut olduğu tespit edilmiştir. Yine sigara ve Maraş tozu kullanıcılarının yanak içi hücrelerinde MN frekansı sağlıklı bireylere göre anlamlı

derecede yüksek bulunmuştur. Bir diğer çalışmada da Maraş otu kullanan bireylerden alınan iç dudak ve yanak içi mukoza hücrelerinin MN frekansları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek bulunmuştur (Burgaz *et al.* 2000). Sardas *et al.* (2009) tarafından yapılan bir çalışmada sigara içen, Maraş tozu kullanan ve sağlıklı bireylerden alınan periferik lenfosit hücrelerinde toplam kuyruk skor frekansları (TCS) comet testi ile belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre Maraş tozunu kullanıcılarının TCS frekansı sağlıklı kişilere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca Maraş tozu kullanıcılarında comet testi ile gözlenen DNA hasarı da sigara içenlere göre daha yüksek bulunmuştur.

Solanaceae familyasına ait bitkilerin içeriğinde yaygın olarak bulunan alkaloidler, bir organizmaya girdiğinde lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarına sebep olan reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna yol açarak oksidatif stres meydana getirmektedir. Serbest radikaller teorisine göre, serbest radikaller normal metabolizma esnasında üretilmekte ve bunların olası toksik etkileri süperoksit dismutaz, glutatyon S-transferaz, glutatyon peroksidaz veya katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivasyonu sayesinde dengede tutulmaktadır (Chowanski *et al.* 2016). Ancak ROT oluşumu, antioksidan sistem kapasitesini aşarsa organizma için birincil derecede gerekli olan lipid, protein ve nükleik asit gibi primer metabolitler zarar görmeye başlarlar (Biesalski 2002). Zaman içerisinde bu hasarların onarılamaması ve homeostazın bozulması da Bourg (2001)'a göre, Parkinson, serviks kanseri, diabetes mellitus, serebrovasküler bozukluklar gibi hastalıkları ve yaşlanmayı tetiklemektedir.

Hücrenin membran ve organellerinin yapısında bulunan lipitler, serbest radikallerin etkilerine karşı en duyarlı biyomoleküllerdir. Serbest radikaller, membran yapısında yer alan çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girdiğinde lipid peroksidasyonu başlar ve lipid peroksil radikalleri oluşur. Membranlarda gerçekleşen zincirleme peroksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan lipid peroksitler de son ürün olan 4-hidroksinonenal (HNE) ve malondialdehit (MDA) adı verilen aldehitlere dönüşmektedir (Wickens 2001; Gürgöze vd 2007; Özcan vd 2015). Özellikle glutatyon peroksidazın inhibasyonu veya yokluğunda bu lipid peroksitler, hücrenin yırtılmasına yol açarak membran akışkanlığı ve geçirgenliğini geri dönüşümsüz olarak bozmaktadır (Yang *et al.* 2014; Gaschler and Stockwell 2017). Serbest radikallerden etkilenen bir diğer makromolekül de proteinlerdir. Bu radikaller özellikle triptofan, tirozin, metionin ve histidin gibi amino asitlerden oluşan proteinlerle kolayca reaksiyona girerek protein yapısında kovalent modifikasyonlara neden olmaktadır (Büyükgüzel 2013; Karabulut ve Gülay 2016). Protein oksidasyonu adı verilen bu durum, hücrenin yapısına ve enzimatik sürecine etki ederek oksidatif strese katkıda bulunmaktadır (Cecarini *et al.* 2007). Proteinlerin oksidatif modifikasyonu sonucunda oluşan oksitlenmiş proteinlerin hücre ve dokularda fazla birikimi

hem çeşitli patolojik durumlara hem de yaşlanmanın daha hızlı ilerlemesine yol açmaktadır (Dean *et al.* 1997). Yine serbest radikaller DNA molekülünde zararlı olayları başlatan bazı modifikasyonları veya zincir kopmalarına da neden olmaktadır. Bu hasarların tamir mekanizmaları tarafından düzeltilmemesi kanser, hücre ölümü veya yaşlanmaya yol açan mutasyonları indüklemektedir (Hoeijmakers 2009).

Çalışma kapsamında kullanılan *D. stramonium* ve *H. niger*'in tohumlarında, *N. rustica*'nın ise yapraklarında bulunan sekonder metabolitlerin bir grubu olan alkaloidlerin toksik ve genotoksik potansiyele sahip oldukları daha önce yapılan farklı araştırmacılara ait çalışmalarda da ifade edilmiştir. Gerek ömür uzunluğu testi gerekse SMART sonucu elde ettiğimiz sonuçların tümü literatür taramalarından elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Tez çalışması kapsamında “kullanılan her üç bitkinin su ve metanol ekstraktlarına bağlı olarak *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunda meydana gelen kısalma yaşlanma teorilerinden birisi olan “Serbest Radikal Teorisi” ile açıklanabilir” diye düşünmekteyiz. Şöyle ki; üç bitkiye ait ekstraktlar hücre içerisinde serbest radikal oluşumunu indükleyip oksidasyon reaksiyonlarına yol açarak vücut içerisindeki tüm molekülleri etkilemiştir. Hücre içi membranda bulunan lipitler, serbest radikaller ile etkileşime girdiğinde lipit peroksitleri meydana gelmekte bu da geri dönüşü olmayan hücre bozulmasına neden olmaktadır (Wickens 2001). Lipit peroksidasyonu dışında membranda bulunan proteinler de hasar görmektedir. Ayrıca “Proteinlerin Değişikliğe Uğraması Teorisi”ne göre, protein yapısındaki enzimlerde meydana gelen değişiklikler de, enzim fonksiyonlarını etkileyip yaşlanmaya neden olmaktadır (Poon *et al.* 2004; Nalbant 2006). Ayrıca DNA'daki bazı ile reaksiyona giren serbest radikaller, bazların modifiye olmasına sebebiyet vermektedir. Sonuç olarak lipit peroksidasyonu, protein modifikasyonları ve DNA hasarlarına neden olan serbest radikaller hücre, doku ve organ fonksiyonlarını etkileyerek yaşlanmaya katkıda bulunmaktadır. Yapılan literatür taramalarında da ömür uzunluğundaki kısalmanın artan serbest radikal üretimi ile ilişkili olduğu bilgisi ön plana çıkmaktadır (Rahman 2007).

Ömür uzunluğunda meydana gelen kısalmayı “Somatik Mutasyon Teorisi” ile de açıklamak mümkündür. Bu teoriye göre, hücrelerin iç veya dış etkenlere maruz kalması ile oluşan hasarlar, somatik mutasyonlara neden olabilmektedir. Ancak DNA tamir mekanizmalarının işlevini yerine getirememesi veya TP53 geninin etkinliğindeki değişiklik yaşlanmaya neden olmaktadır (Slijepcevic 2006). Şöyle ki; TP53 geni, tümör oluşumunu engelleyen p53 proteinini kodlamaktadır. p53 proteini de hasarların onarılmasında, oksidatif stres ortadan kaldırmasında, apoptozun olup/olmayacağını belirlenmesinde, hücrenin hayati devamlılığını sağlanması için antioksidan ve prooksidan (oksidan üretimine yol açan maddeler)

aktivitelerin dengesinin sağlanmasında kritik rol oynamaktadır. Aynı zamanda yaşlanma ve uzun ömürlülük üzerinde de etkiye sahip olan p53'ün alkaloidlerden etkilenmiş olması kuvvetle muhtemeldir (Hasty and Christy 2013). Bu çalışmada da bitki ekstraktlarına bağlı DNA'da oluşan hasarların, “genomun koruyucu” olarak bilinen TP53 geninin mutasyona uğramasından kaynaklı önlenemediğini düşünmekteyiz. Gerontologlara göre de uzun ömür ile DNA tamir mekanizmalarının kapasitesi arasında pozitif bir ilişki vardır (Heemst *et al.* 2005).

Sunulan bu çalışmada Solanaceae familyasına ait *D. stramonium*, *N. rustica* ve *H. niger* türlerinin toksik ve genotoksik potansiyelleri, *in vivo* ömür uzunluğu ve *in vivo* SMART ile belirlenmiştir. Her iki yöntemde de kullanılan uygulama dozlarının artışı ile ömür uzunluğu kısalması arasında negatif korelasyon, somatik mutasyonların uyarılması arasında pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. Bu üç bitkinin hem sağlığa iyi geldiği gerekçesiyle bilinçsizce kullanımının hem de uyuşturucu ve keyif verici özelliklerinden dolayı alternatif olarak kullanımının verdiği zararlar göz önünde bulundurulmalı ve konu ile ilgili olarak insanların bilinçlendirilmesi ve denetimlerin yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Aga, A. and Geyid, A., 1992. An outbreak of acute toxicity caused by eating food contaminated with *Datura stramonium*. Ethiopian Journal of Health Development, 6 (1), 25-31.
- Ahmad, I.M., Abdalla, M.Y., Mustafa, N.H., Qnais, E.Y. and Abdulla, F.A., 2009. *Datura* aqueous leaf extract enhances cytotoxicity via metabolic oxidative stress on different human cancer cells. Jordan Journal of Biological Sciences, 2 (1), 9-14.
- Akkol, E.K., Ilhan, M., Kozan, E., Dereli, F.T.G., Sak, M. and Sobarzo- Sánchez, D., 2020. Insecticidal activity of *Hyoscyamus niger* L. on *Lucilia sericata* causing myiasis. Plants, 9 (5), 655.
- Akkoyun, M., 2014. Maraş Otu ve Sigaranın Kardiyak Otonomi Üzerine Etkileri. Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Alaca, F. ve Arslan, N., 2012. Sekonder metabolitlerin bitkiler açısından önemi. Ziraat Mühendisliği, 358, 48-55.
- Aldatmaz, O., 2018. Maraş Otu (Ağız Otu) Kullanımının İnsülin Direnci Üzerine Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Alizadeh, A., Moshiri, M., Alizadeh, J. and Balali-Mood, M., 2014. Black henbane and its toxicity—a descriptive review. Avicenna Journal of Phytomedicine, 4 (5), 297-311.
- Allemand, R., Cohet, Y. and David, J., 1973. Increase in the longevity of adult *Drosophila melanogaster* kept in permanent darkness. Experimental Gerontology, 8 (5), 279-283.
- Amandurdyev, K., 2021. *Drosophila melanogaster*'in Farklı Soylarına Ait Erkek ve Dişi Popülasyonlarında Nanopartiküllere Bağlı Ömür Uzunluğu Toksisitesinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ashiru, O.M., Sifau, M.O. and Oluwatonioba, O., 2020. Leaves and seeds of gegemu (*Datura stramonium*) on *Allium cepa*. Annals of West University of Timişoara, Series of Biology, 23 (1), 11-20.
- Aslan, M. ve Hocaoglu, Ç., 2017. Yaşlanma ve yaşlanma dönemiyle ilişkili psikiyatrik sorunlar. Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7 (1), 53-62.
- Aslan, R. ve Karakuş, Z., 2019. Gelenekten günümüze tıbbi ve aromatik bitkiler. Ayrıntı Dergisi, 7 (73), 60-66.
- Atay, İ.M. ve Seçkin, D., 2011. Warfarin birlikteliğinde *Hyoscyamus niger* kullanımına bağlı deliryum olgusu. Journal of Academic Emergency Medicine Case Reports, 2 (2), 48-50.
- Atlı, K. ve Bozcuk, N., 2002. Telomer ve hücre yaşlanma. Turkish Journal of Geriatrics, 5 (3), 111-114.
- Atmaca, E. ve Aksoy, A., 2009. Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 20 (2), 79-83.
- Ayar, A., 2008. *Drosophila melanogaster*'in Oregon-R Yabanıl ve *Vestigial* Mutant Soylarında Ekstrem Sıcaklık Şartlarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ayar, A., Colak, D.A., Uysal, H. and Fidan, M., 2021. Survival rate and lifespan in *Drosophila melanogaster* feeding with white tea. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 14 (2), 582-594.
- Ayar, A., Uysal, H. and Altun, D., 2009. The effects of cold shock on the longevity in Oregon-R wild *vestigial* mutant of *Drosophila melanogaster* (Diptera:Drosophilidae). Ekoloji, 19 (74), 38-44.
- Aydemir, E.H., 2013. Deri yaşlanması. Okmeydanı Tıp Dergisi, 29 (2), 89-93.

- Aydın, Ç. ve Mammadov, R., 2017. İnsektisit aktivite gösteren bitkisel sekonder metabolitler ve etki mekanizması. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21, 30-37.
- Azzeme, A. and Zaman, M.A.K., 2019. Plant toxins: alkaloids and their toxicities. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 6 (2), 21-29.
- Baharshahi, A., Vaezi-Kakhki, M., Mahdavi, B. and Behravan, M.R., 2017. Comparing larvicidal effect of methanol extract of the aerial parts of oleander (*Nerium oleander* L.) and henbane (*Hyoscyamus niger* L.) plants on *Culex* spp. larvae. *Pars Journal of Medical Sciences*, 14 (4), 25-32.
- Bai, D.L., Tang, X.C. and He, X.C., 2000. Huperzine A, a potential therapeutic agent for treatment of Alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry*, 7 (3), 355-374.
- Balandrin, M.F., Kinghorn, A.D. and Farnsworth, N.R., 1993. Plant Derived Natural Products in Drug Discovery and Development. *Human Medicinal Agents from Plants*, Ed: Kinghorn A.D. and Balandrin M.F. American Chemical Society, USA, 2-12.
- Baranwal, V., Mikkilineni, V., Zehr, U.B., Tvagi, A.K. and Kapoor, S., 2012. Heterosis: emerging ideas about hybrid vigour. *Journal of Experimental Botany*, 63 (18), 6309-6314.
- Başaran, A.A. 2012. Ülkemizdeki bitkisel ilaçlar ve ürünlerde yasal durum. *MİSED*, 27-28, 22-26.
- Başıbüyük, H.H., 2017. Biyogerontolojide güncel gelişmeler: yeni araştırma perspektifleri. *Yaşlı Sorunları Araştırma Dergisi*, 10 (1), 51-59.
- Baştürk, B. ve Boyacıoğlu, S., 2004. İmmün yaşlanma. *Türk Geriatri Dergisi*, 7 (3), 159-161.
- Bayam, H., 2021. Halk Arasında Keyif Verici Olarak Kullanılan Bazı Kozmopolit Bitki Türlerinin Uyuşturucu Özelliklerinin ve Genotoksitesinin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Bayam, H. ve Uysal, H., 2021. Keyif verici özelliği ile halk arasında kullanılan *Hyoscyamus niger* L.'nin genotoksik etkilerinin belirlenmesi. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 14 (2), 1-12.
- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S. ve Telci, İ., 2011. Tıbbi ve aromatik bitkilerin üretiminin artırılması olanakları. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1), 52-67.
- Baytop, T., 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 336 s, İstanbul, Türkiye.
- Beacon, T.H. and Davie, J.R., 2021. The chicken model organism for epigenomic research. *Genome*, 64 (4), 476-489.
- Begaliyev, B.S. ve Işıkov, İ.A., 2017. Maraş otunun ağız içi mukoza tabasına etkileri. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 39 (2), 26-31.
- Begum, S., Saxena, B., Goyal, M., Ranjan, R., Joshi, V.B., Rao, C.V., Krishnamurthy, S. and Sahai, M., 2010. Study of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of seeds of *Hyoscyamus niger* and isolation of a new coumarinolignan. *Fitoterapia*, 81 (3), 178-184.
- Behravan, M.R., Baharshahi, A., Vaezi-Kakhki, M. and Naghizadeh, A., 2017. Comparing larvicidal effect of methanolic extract of the different parts of henbane (*Hyoscyamus niger* L.) plant on *Anopheles* spp. larvae *in vitro*. *Archives of Hygiene Sciences*, 6 (3), 288-293.
- Bensalah, A., Aboufatima, R., Benharref, A. and Chait, A., 2009. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Nicotiana rustica* total extract. *Pharmaceutical Biology*, 47 (7), 572-577.
- Bent, S. and Ko, R., 2004. Commonly used herbal medicines in the United States: a review. *The American Journal of Medicine*, 116 (7), 478-485.
- Berkov, S., Zayed, R. and Doncheva, T. 2006. Alkaloid patterns in some varieties of *Datura stramonium*. *Fitoterapia*, 77 (3), 179-182.

- Bernards, A. and Hariharan, I.K., 2001. Of flies and men-studying human disease in *Drosophila*. *Current Opinion in Genetics/Development*, 11 (3), 247-278.
- Biesalski, H.K., 2002. Free radical theory of aging. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 5 (1), 5-10.
- Billing, J. and Sherman, P.W., 1998. Antimicrobial functions of spices: why some like it hot. *The Quarterly Review of Biology*, 73 (1), 3-49.
- Binev, R., Valchev, I. and Nikolov, J., 2006. Clinical and pathological studies of jimson weed (*Datura stramonium*) poisoning in horses. *Trakia Journal of Sciences*, 4 (3), 56-63.
- Bjorksten, J., 1968. The crosslinkage theory of aging. *Journal of the American Geriatrics Society*, 16 (4), 408-427.
- Borondinsky, L.N., 2017. *Xenopus laevis* as a model organism for the study of spinal cord formation, development, function and regeneration. *Frontiers in Neural Circuits*, 11, 1-9.
- Bourg, E.L., 2001. Oxidative stress, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *FEBS Letters*, 498 (2-3), 183-186.
- Bourg, E.L., Valenti, P., Lucchetta, P. and Payre, F., 2001. Effects of mild heat shocks at young age on aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology*, 2, 155-164.
- Bouziri, E., Hamdi, E., Borgi, Hadj, S.B., Fitouri, Z., Menif, K. and Jaballah, N.B., 2011. *Datura stramonium* L. poisoning in a geophagous child: a case report. *International Journal of Emergency Medicine*, 4 (1), 1-3.
- Bozcuk, A.N., 1981. Genetics of longevity in *Drosophila*: V. the specific and hybridised effects of rolled, sepia, ebony and eyeless autosomal mutants. *Experimental Gerontology*, 16 (5), 415-427.
- Branda, R.F., Sullivan, L.M., O'Neill, J.P., Falta, M.T., Nicklas, J.A., Hirsch, B., Vacek, P.M. and Albertini, R.J., 1993. Measurement of HPRT mutant frequencies in T-lymphocytes from healthy human populations. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 285 (2), 267-279.
- Burçak, G. ve Andican, G., 2004. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 35 (4), 159-169.
- Burgaz, S., Ok, I., Uysal, B.T. and Karakaya, A.E., 2000. Monitoring of genotoxic damage in smokeless tobacco (Maras powder) consumers using micronucleated oral cells. *Journal of Biomarkers*, (5), 219-224.
- Büyükgüzel, E., 2013. Protein oksidasyonun biyokimyasal ve moleküler mekanizması. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3 (1), 40-51.
- Calixto, J.B., 2000. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 33 (2), 179-189.
- Campesato, V.R., Graf, U., Reguly, M.L. and Andrade, H.H.R, 1998. Recombinagenic activity of integerrimine, a pyrrolizidine alkaloid from *Senecio brasiliensis*, in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 29 (1), 91-97.
- Can, M.İ. ve Aslan, A., 2014. Yaşlanmanın moleküler temelleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 30 (2), 107-112.
- Cawthon, M.D., Smith, K.R., Obrien, E., Sivatchenko, A. and Kerber, R.A., 2003. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *The Lancet*, 361 (9355), 393-395.
- Cecarini, V., Gee, J., Fioretti, E., Amici, M., Angeletti, M., Eleuteri, A.M. and Keller, J.N., 2007. Protein oxidation and cellular homeostasis: emphasis on metabolism. *BBA Molecular Cell Research*, 1773 (2), 93-104.
- Celbek, G., Güneş, H., Güngör, A., Çeçen, F., Başar, C., Sarıtaş, A. ve Kandiş, H., 2010. *Datura stramonium* denenmesi sonucu antikolinerjik sendrom: olgu sunumu. *Konuralp Tıp Dergisi*, 2 (1), 35-37.

- Cerit, M., 2010. Maraş Otu Kullanımının Sağlıklı Erkeklerde Böbrek Fonksiyonlarına Etkisi. Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Chippindale, A.K., Leroi, A.M., Kim, S.B. and Rose, M.R., 1993. Phenotypic plasticity and selection in *Drosophila* life history evolution. I. nutrition and the cost of reproduction. *Journal of Evolutionary Biology*, 6, 171-193.
- Chowanski, S., Adamski, Z., Marciniak, P., Rosinski, G., Büyükgüzel, E., Büyükgüzel, K., Falabella, P., Scrano, L., Ventrella, E., Lelario, F. and Bufo, S.A., 2016. A review of bioinsecticidal activity of Solanaceae alkaloids. *Toxins*, 8 (60), 1-28.
- Choy, W.N., 2001. Regulatory Genetic Toxicology Tests. *Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment*, Ed: Choy, W.N. Marcel Dekker, USA, 93-112.
- Ciechomska, M., Woźniakiewicz, M., Machlowska, K., Klepacki, P. and Kościelniak, P., 2019. Differentiation of Solanaceae psychoactive plants based on GC-MS analysis supported by chemometric tools. *Microchemical Journal*, 150, 1-9.
- Cok, I. and Ozturk, R., 2000. Urinary cotinine levels of smokeless tobacco (Maras powder) users. *Human and Experimental Toxicology*, 19 (11), 650-655.
- Collak, Z., Kara D., Karaman, E.U., Karakoc, F. and Collak, A., 2015. *Hyoscyamus niger* intoxication: a case report. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, 11(6), 1-3.
- Comez, A., Karakucuk, Y. and Beyoglu, A., 2020. Evaluation of the effect of smokeless tobacco (Maras powder) on choroidal and retinal blood flow: an optical coherence tomography angiography study. *International Ophthalmology*, 40 (6), 1367-1376.
- Connolly, G.N., Richter, P., Aleguas, A., Pechacek, T.F., Stanfill, S.B. and Alpert H.R., 2010. Unintentional child poisonings through ingestion of conventional and novel tobacco products. *Pediatrics*, 15 (5), 896-899.
- Corkery, J.M., Button, J., Vento, A.E. and Schifano, F., 2010. Two UK suicides using nicotine extracted from tobacco employing instructions available on the internet. *Forensic Science International*, 199 (1-3), 9-13.
- Craig, W.J., 1999. Health-promoting properties of common herbs. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70 (3), 491-499.
- Çakır, Ö., 2004. Kimyasal Kültürleme Koşullarının *Astragalus chrysochlorus* Hücre Süspansiyon Kültürleri Üzerindeki Çeşitli Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Çelik, H., 2020. Terpenlerin *In Vivo* Genotoksik Etkilerinin Doz-Süre Etkileşimine Bağlı Olarak *Drosophila melanogaster*'de Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Çetin, M., 2020. Terpenoidlerin Kansere Hücreleri Üzerindeki Antitümör Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Eskişehir.
- Çok, İ., 1998. Dumansız tütün kullanımının insan sağlığı üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 18 (1), 24-29.
- Dafaallah, A.B., Hussein, Y.H. and Mustafa, W.N., 2020. Phytotoxic effects of thorn apple (*Datura stramonium* L.) seed aqueous extract on seed germination of some cereal crops using probit analysis. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*, 4 (1), 89-98.
- Dean, R.T., Shanlin, F.U., Stocker, R. and Davies, M.J., 1997. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal*, 324 (1), 1-18.
- Demir, B., 2017. *Drosophila melanogaster*'in Yabancıl ve Mutant Türlerinde İnkübe Edilen *In Vivo* Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Demirhan, I., 2006. Maraş Otu Kullanımının Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.

- Deniz, T., Narğis, C., Güven, H. ve Tanyeri, F., 2004. *Datura stramonium* zehirlenmesi: olgu sunumu. Journal of Experimental and Clinical Medicine, 21 (1), 28-31.
- Deveci, H.A., Nur, G., Kırpık, M.A., Harmankaya, A. ve Yıldız, Y., 2016. Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9 (1), 26-32.
- Dewey, R.E. and Xie, J., 2013. Molecular genetics of alkaloid biosynthesis in *Nicotiana tabacum*. Phytochemistry, 94, 10-27.
- Diaz, G.J., 2015. Toxicosis by plant alkaloids in humans and animals in Colombia. Toxins, 7 (12), 5408-5416.
- Dinis-Oliveira, R.J., 2015. Metabolomics of cocaine: implications in toxicity. Toxicology Mechanisms and Methods, 25 (6), 494-500.
- Dixon, R.A., 2001. Natural products and plant disease resistance. Nature, 411, 843-847.
- Donbak, L., Celik, M., Demirhan, I. and Nagas, S., 2007. Genotoxic damage in Maras powder consumers from Kahramanmaraş province of Turkey. Russian Journal of Genetics, 43 (5), 513-517.
- Döğüş, Y. ve Çürük, M.A. 2018. Yaşlanmanın mitokondrial bütünlüğünün denetlenmesi. Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 4 (1), 680-705.
- Dreesen, O. and Stewart, C.L., 2011. Accelerated aging syndromes, are they relevant to normal human aging?. Aging, 3 (9), 889-895.
- Dwoskin, L.P. and Crooks, P.A., 2002. A novel mechanism of action and potential use for lobeline as a treatment for psychostimulant abuse. Biochemical Pharmacology, 63 (2), 89-98.
- Elgar, G., Sandford, R., Aparico, S., Macrae, A., Venkatesh, B. and Brenner, S., 1996. Small is beautiful: comparative genomics with the pufferfish (*Fugu rubripes*). Trend in Genetics, 12 (4), 145-150.
- Erdem, S. ve Eren, P.A., 2009. Tedavi amacıyla kullanılan bitkiler ve bitkisel ürünlerin yan etkileri. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 66 (3), 133-141.
- Erenmemisoğlu A, Tekol Y, Kartal M and Kurucu S., 1992. The use of smokeless tobacco in our country "Maras powder". Turkish Journal of Medical Sciences, 16, 567-576.
- Erkal, H., Özyurt, Y. ve Arıkan, Z., 2006. Yaşlı hastada henbana (*Hyoscyamus niger*) sonrası antikolinergik sendrom. Turkish Journal of Geriatrics, 9 (3), 188-191.
- Eroglu, L., Orak, İ. and Haktanır, N.T., 2009. Effect of short-term use of oral smokeless tobacco on random-pattern skin flap survival in rat. Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery, 39 (5), 272-276.
- Eroğlu, O., Coşkun T., Kaya, H.A., Vural S. ve Coşkun F., 2017. Bir çaydanlık dolusu *Datura*: hemoroidim var ama umrumda değil. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 19 (3), 228-233.
- Ersöz, T., 2010. Bitkisel ürünler ve güvenilirliği. Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, İstanbul.
- Ertekin, V., Selimoğlu M.A. and Altınaynak, S., 2005. A combination of unusual presentations of *Datura stramonium* intoxication in a child: rhabdomyolysis and fulminant hepatitis. The Journal of Emergency Medicine, 28 (2), 227-228.
- Fabian, D. and Falst, T., 2012. Life history evolution. Nature Education Knowledge, 3 (10), 1-13.
- Facchini, P. and St-Pierre, B., 2005. Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic enzymes. Current Opinion in Plant Biology, 8 (6), 657-666.
- Fallarero, A., Malena, S., Kujala, J., Rajaratnam, M., Moreira, V.M., Yli-Kauhaluoma, J. and Vuorela, P., 2013. (+) Dehydroabietic acid, an abietane-type diterpene, inhibits *Staphylococcus aureus* biofilms *in vitro*. International Journal of Molecular Sciences, 14 (6), 12054-12072.

- Fiori, J., Teti, G., Gotti, R., Mazzotti, G. and Falcon, M., 2011. Cytotoxic activity of guaiazulene on gingival fibroblasts and the influence of light exposure on guaiazulene-induced cell death. *Toxicology in Vitro*, 25, 64-72.
- Frei, H. and Wurgler, F.E., 1988. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive result. *Mutation Research*, 203, 297-308.
- Frei, H. and Wurgler, F.E., 1996. Induction of somatic mutation and recombination by four inhibitors of eukaryotic topoisomerases assayed in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutagenesis*, 11 (4), 315-325.
- Fu, D., Xiao, M., Hayward, A., Jiang, G., Zhu, L., Zhou, Q., Li, J. and Zhang, M., 2015. What is crop heterosis: new insights into an old topic. *Plant Genetics*, 56, 1-13.
- Gaire, B.P. and Subedi, L., 2013. A review on the pharmacological and toxicological aspects of *Datura stramonium* L. *Journal of Integrative Medicine*, 11 (2), 73-79.
- Gaschler, M.M. and Stockwell, B.R., 2017. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482 (3), 419-425.
- Ge, Y., Liu, P., Yang, R., Zhang, L., Chen, H., Camara, I., Liu, Y. and Shi, W., 2015. Insecticidal constituents and activity of alkaloids from *Cynanchum mongolicum*. *Molecules*, 20 (9), 17483-17492.
- Giaimo, S. and Fagagna, F.D., 2012. Is cellular senescence an example of antagonistic pleiotropy?. *Aging Cell*, 11 (3), 378-383.
- Gidado, A., Zainab, A.A., Hadiza, M.U., Serah, D.P., Anas, H.Y. and Milala, M.A., 2007. Toxicity studies of ethanol extract of the leaves of *Datura stramonium* in rats. *African Journal of Biotechnology*, 6 (8), 1012-1015.
- Gilani, A.H., Khan, A., Raoof, M., Ghayur, M.N., Siddiqui, B.S., Vohna, W. and Begum, S., 2008. Gastrointestinal, selective airways and urinary bladder relaxant effects of *Hyoscyamus niger* are mediated through dual blockade of muscarinic receptors and Ca²⁺ channels. *Fundamental/Clinical Pharmacology*, 22 (1), 87-99.
- Göktaş, Ö. ve Gıdık, B., 2019. Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanları. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2 (1), 136- 142.
- Graf, U. and Singer, D., 1992. Genotoxicity testing of promutagens in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 8 (1), 15-27.
- Graf, U. and Wurgler, F.E., 1996. The somatic white-ivory eye spot does not detect the same spectrum of genotoxic events as the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 27, 219-226.
- Graf, U., Abraham, S.K., Guzmán-Rincón, J. and Wurgler, F.E., 1998. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 402 (1-2), 203-209.
- Graf, U., Spano, M.A., Rincon, J.G., Abraham, S.K. and Andrade, H.H., 1996. The wing somatic mutation and recombination test (SMART) in *Drosophila melanogaster*: an efficient tool for the detection of genotoxic activity of pure compounds or complex mixtures as well as for studies on antigenotoxicity. *The Africa Journal*, 1, 9-13.
- Graf, U., Wurgler, F.E., Katz, A.J., Frei, H., Juon, H., Hall, C.B. and Kale, P.G., 1984. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental Mutagenesis*, 6 (2), 153-188.
- Grandison, R., 2009. Establishing a Role for Specific Nutrients in *Drosophila* Dietary Restriction. Doctoral Thesis, University of London Department of Genetics, Evolution and Environment, London.
- Greene, G.S., Patterson, S.G. and Warner, E., 1996. Ingestion of angel's trumpet: an increasingly common source of toxicity. *South Medical Journal*, 89 (4), 365-369.

- Gurib-Fakim, A., 2006. Medicinal plants: traditions of yesterday and drug of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27 (1), 1-93.
- Guterres, Z.R., Da Silva, A.F.G., Garcez, W.S., Garcez, F.R., Fernandes, C.A. and Garcez, F.R., 2013. Mutagenicity and recombinogenicity of *Ocotea acutifolia* (Lauraceae) aporphinoid alkaloids. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 757 (1), 91-96.
- Guzman-Rincon, J. and Graf, U., 1995. *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor. *Environmental Science Research*, 50, 169-182.
- Güler, P., 2014. *Drosophila melanogaster*'de Larval ve Ergin Dönem Besin Kısıtlamasının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Güneş, H. ve Sarışık, N., 2020. Maraş otu intoksikasyonu ile çocuk hastalıkları acil kliniğine başvuran olguların değerlendirilmesi: bir üniversite hastanesi örneği. *Lokman Hekim Dergisi*, 10 (3), 495-501.
- Gürgöze, S.Y., Şahin, T. ve Durak, M.H., 2007. Memelilerde ortalama yaşam süresi ve yaşlanma sürecinde serbest radikallerin rolü. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 33 (1), 43-49.
- Güzelgöl, F. ve Aksoy, K., 2011. Telomeraz enziminin tanı ve tedavide kullanım alanı. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20 (2), 69-88.
- Hakkinen, S.T., Tilleman S., Swiatek, A., Sutter, V.D., Rischer, H., Vanhoutte, I., Onckelen, H.V., Hilson, P., Inze, D., Oksman-Caldentey, K.M. and Goossens, A., 2007. Functional characterisation of genes involved in pyridine alkaloid biosynthesis in tobacco. *Phytochemistry*, 68 (22-24), 2773-2785.
- Halbestein, R.A., 2005. Medicinal plants: historical and cross-cultural usage patterns. *Annals of Epidemiology*, 15 (9), 689-699.
- Halliwell B. and Chirico S., 1993. Lipid peroxidation: its mechanism measurement and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57 (5), 715-725.
- Harborne, J.B. and Williams, C.A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55 (6), 481-504.
- Hashimoto, T. and Yamaha, Y., 2003. New genes in alkaloid metabolism and transport. *Biotechnology*, 14 (2), 163-168.
- Hassine, T.B., Mansour, A.B. and Hammami, S., 2013. Case report of fatal poisoning by *Nicotina tabacum* in cattle in Tunisia. *Revue de Medecine Veterinaire*, 164 (3), 141-144.
- Hasty, P. and Christy, B.A., 2013. P53 as an intervention target for cancer and aging. *Pathobiology of Aging/Age-Related Diseases*, 3, 1-11.
- Hayflick, L., 1985. Theories of biological aging. *Experimental Gerontology*, 20 (3-4), 145-159.
- Heemst, D.V., Mooijaart, S.P., Beekman, M., Schreuder, J., Craen, A.J.M., Brandt, B.W., Slagboom, P.E. and Westendorp, R.G.J., 2005. Variation in the human TP53 gene affects old age survival and cancer mortality. *Experimental Gerontology*, 40 (1-2), 11-15.
- Hodge, S., 2001. The effect of pH and water content of natural resources on the development of *Drosophila melanogaster* larvae. *Drosophila Information Service*, 84, 38-43.
- Hoeijmakers, J.H.J., 2009. DNA damage, aging and cancer. *New England Journal of Medicine*, 361, 1475-1485.
- Holbrook, M.A. and Menninger, J.R., 2002. Erythromycin slows aging of *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journals of Gerontology*, 57 (1), 29-36.
- Ismeel, A.O., 2011. Cytogenetic and Cytotoxic Studies on the Effect of Phytoinvestigated Active Compounds of *Hyoscyamus niger*. Doctoral Thesis, Biotechnology Science Institute, Baghdad.

- İli, P., 2003. Bazı Tıbbi Bitkilerin Kimyasal İçerikleri ve Hayvanlara Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Jamshidi- Kia, F., Lorigooini, Z. and Amini-Khoei, H., 2018. Medicinal plants: past history and future perspective. Journal of Herbmmed Pharmacology, 7 (1), 1-7.
- Jayanthi, P., Joshua, E. and Ranganathan, K., 2010. Ageing and its implications. Journal of Oral and Maxillofacial Pathology, 14 (2), 48-51.
- Jin, K., 2010. Modern biological theories of aging. Aging and Disease, 1 (2), 72-74.
- Jirschitzka, J., Schmidt, G.W., Reichelt, M., Schneider, B., Gershenzon, J. and D'Auria, J.C., 2012. Plant tropane alkaloid biosynthesis evolved independently in the Solanaceae and Erythroxylaceae. Proceedings of the National Academy of Sciences, 109 (26), 10304-10309.
- Kakkar, A., Tiwari, B. and Kumar, S., 2015. Intoxication due to *Datura stramonium* in an adolescent: a case report. Rama University Journal of Medical Science, 1 (2), 74-76.
- Kandemir, A., Tatlı, M., Mutlu, A. ve Güneysel, Ö., 2014. Özkıyım amaçlı *Datura stramonium* alımına bağlı antikolinerjik sendrom: olgu sunumu. Akademik Adli Tıp Olgu Sunumları Dergisi, 5, 43-46.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş., 2016. Serbest radikaller. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4 (1), 50-59.
- Karadaş, S., Güler, A., Şahin, M. ve Behçet, L., 2012. 32 haftalık gebede banotu zehirlenmesi. Van Tıp Dergisi, 19 (1), 36-38.
- Karakuş, A., Parlar, T. ve Bucak, A., 2017. Deliryum ayırıcı tanısı: *Datura stramonium* zehirlenmesi. Genel Tıp Dergisi, 27 (3), 112-114.
- Karan, M.A. ve Tufan, F., 2010. Yaşlanma mekanizmaları. Ege Tıp Dergisi, 49 (3), 11-17.
- Karataş, İ., Karataş, R. ve Elmastaş, M., 2016. Antosiyaninlerin kallus ve hücre süspansiyon kültürüyle üretimi. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 12, 80-91.
- Kayhan, F.E., Kaymak, G., Esmerduruel, H.E. ve Tartarkızılya, Ş., 2018. Biyolojik araştırmalarda zebra balığının (*Danio rerio* hamilton, 1822) kullanılması ve önemi. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 7 (2), 38-45.
- Kennedy, S.R., Loeb, L.A. and Herr, A.J., 2012. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration. Mechanisms of Ageing and Development, 133 (4), 118-126.
- Kepenekci, I., Erdogan, D. and Erdogan, P., 2016. Effects of some plant extracts on root-knot nematodes *in vitro* and *in vivo* conditions. Türk Entomoloji Dergisi, 40 (1), 3-14.
- Keten, H.S., Olmez, S., Ucer, H., Isik, O., Yildirim, F. and Celik, M., 2017. Acute effects of Maras powder (smokeless tobacco) on blood pressure and heart rate. Cukurova Medical Journal, 42 (2), 210-215.
- Khan, H., 2014. Medicinal plants in light of history: recognized therapeutic modality. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine, 19 (3), 216-219.
- Kılinc, M., Okur, E., Kurutas, E.B., Güler, F.I. and Yıldırım I., 2004. The effects of Maras powder (smokeless tobacco) on oxidative stress in users. Cell Biochemistry and Function, 22 (4), 233-236.
- Kızıllarslan, Ç., 2008. İzmit Körfezi'nin Güney Kesiminde Etnobotanik Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kızılet, H. ve Uysal, H., 2012. Ergin *Drosophila*'nın ömür uzunluğunda kronik zeralenon alımına bağlı olarak toksisitenin uyarılması. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 43 (1), 1-5.
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U. and Decordier, I., 2003. Indirect mechanisms of genotoxicity. Toxicology Letters, 140, 63-74.
- Koca, N. ve Karadeniz, F., 2005. Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. Gıda, 30 (4), 229-236.

- Kohnen-Johannsen, K.L. and Kayser, O., 2019. Tropane alkaloids: chemistry, pharmacology, biosynthesis and production. *Molecules*, 24 (4), 1-23.
- Köksal, N., İnanç, F. ve Kılınç, M., 2004. Sigara ve dumansız tütün (Maraş otu) kullananlarda serum adenosin deaminaz düzeyleri. *Tıp Araştırma Dergisi*, 2 (3), 7-11.
- Köse, E, Moçin, Ö.Y., Çelik, H. ve Gencer, M., 2011. Dumansız tütün “Maraş otu” kullanımına bağlı artmış oksidatif stres/Increased oxidative stress related to using smokeless tobacco “Maras powder”. *Türk Toraks Dergisi*, 12 (3), 94-99.
- Kumral, N.A., Cobanoglu, S. and Yalcın, C., 2013. Sub-lethal and lethal effects of *Datura stramonium* L. leaf extracts on the European red mite *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae) and its predator, *Stethorus gilvifrons* (Muls.) (Col.: Coccinellidae). *International Journal of Acarology*, 39 (6), 494-501.
- Kurkcu, V., Hersch, M., Silvetzki, N., Breuer, G.S. and Zevin, S., 2011. *Nicotiana glauca* (tree tobacco) intoxication--two cases in one family. *Journal of Medical Toxicology*, 7 (1), 47-51.
- Kurtul, N., Soylemez, S. and Celik, M., 2014. Plasma paraoxonase and arylesterase activities in smokers and smokeless tobacco users as Maras powder. *Inhalation Toxicology*, 26 (4), 235-239.
- Kutchan, T.M., 1995. Alkaloid biosynthesis-the basis for metabolic engineering of medicinal plants. *The Plant Cell*, 7, 1059-1070.
- Kyoizumi, S., Akiyama, M., Köln, J.B., Tanabe, K., Nakamura, N., Awa, A.A., Hirai, Y., Kusunoki, Y. and Umeki, S., 1996. Somatic cell mutations at the glycophorin a locus in erythrocytes of atomic bomb survivors: implications for radiation carcinogenesis. *Radiation Research*, 146, 43-52.
- Leonelli, S. and Ankeny, R.A., 2013. What makes a model organism?. *Endeavour*, 37 (4), 209-212.
- Lin, Y. J., Seroude, L. and Benzer, S., 1998. Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*. *Science*, 282 (5390), 943-946.
- Lokumcu, Ş. ve Uysal, H., 2021. *Datura stramonium* L. tohumlarına ait metanol ve su ekstraktlarının *Drosophila melanogaster*'de *in vivo* toksik ve genotoksik etkileri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 14 (1), 1-13.
- Mair, W., Goymer, P., Pletcher, S.D. and Partridge, L., 2003. Demography of dietary restriction and death in *Drosophila*. *Science*, 301 (5640), 1731-1733.
- Manou, I.L., Bouillard, M., Devleeschouwer, J. and Barel, A.O., 1988. Evaluation of the preservation properties of *Thymus vulgaris* essential oil in applied formulations under a challenge test. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 368-376.
- Martinez, M.A. and Ballesteros, S., 2019. Opium poisoning in modern times. an overview. *Forensic Science International*, 302, 1-10.
- Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I. and Kirsch-Volders, M., 2006. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, 88 (11), 1515-1531.
- Medvedev, Z.A., 1990. An attempt at a rational classification of theories of aging. *Biological Reviews*, 65 (3), 375-398.
- Meites, J., 1988. Neuroendocrine biomarkers of aging in the rat. *Experimental Gerontology*, 23 (4-5), 349-358.
- Meselhy, K.M., 2012. Cytotoxic and insect-repellent activities of surface flavonoids from *Datura stramonium* L. grown in Egypt. *Life Science Journal*, 9 (4), 3154-3158.
- Miklos, G.L.G. and Rubin, G.M., 1996. The role of the genome project in determining gene function: insights from model organism. *Cell*, 86, 521-529.
- Moskalev, A., 2007. Radiation-induced life span alteration of *Drosophila* lines with genotype differences. *Biogerontology*, 8, 499-504.

- Moskalev, A.A., Plyusnina, E.N. and Shaposhnikov, M.V., 2011. Radiation hormesis and radioadaptive response in *Drosophila melanogaster* flies with different genetic backgrounds: the role of cellular stress resistance mechanisms. *Biogerontology*, 12, 253-263.
- Nalbant, S., 2006. Yaşlanmanın biyolojisi. *Türk Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Dergisi*, 52, A12-A17.
- Nalbantoğlu, A., Aslan, M.T., Samancı, N. ve Taş, D.Y., 2017. *Datura stramonium* zehirlenmesi sonucu antikolinergik sendrom: iki olgu sunumu. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*, 48 (4), 173-176.
- NCAHF Home Page, NCAHF Position Paper on Overthe Counter Herbal Remedies 1995; www.ncahf.org, 25.04.2009.
- Oota, S., 2020. Somatic mutations-evolution within the individual. *Methods*, 176, 91-98.
- Ozkul, Y., Donmez, H., Erenmemisoglu, A., Demirtas H. and Imamoglu N., 1997. Induction of micronuclei by smokeless tobacco on buccal mucosa cells of habitual users. *Mutagenesis*, 12 (4), 285-287.
- Ozkul, Y., Erenmemisoglu, A., Cucer, N., Menevse, A. and Saatci, C.A., 1995. Sister-chromatid exchange inducing effect of smokeless tobacco using on T-lymphocyte chromosomes. *Mutation Research/ Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 334 (2), 209-212.
- Öğüt, S. ve Atay, E., 2012. Yaşlılık ve oksidatif stres. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Dergisi*, 19 (2), 68-74.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. ve Yönden, Z., 2015. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3), 331-336.
- Öztürk, E., 2021. *Drosophila melanogaster* Oregon-R’de Çeşitli Tekstil Boyalarının Larval Yaşayabilirlik ile Ergin Dişi ve Erkek Popülasyonlarında Ömür Uzunluğu Üzerine *In Vivo* Biyotoksik Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Paçacı, S.D., 2003. Ağız Otu (*Nicotiana rustica*)'nın Serum Sialik Asit Düzeyine Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Paranjpe, D.B., Anita, D., Chandrashekar, M.K., Joshi, A. and Sharma V.K., 2005. Possible role of eclosion rhythm in mediating the effects of light-dark environments on pre-adult development in *Drosophila melanogaster*. *BMC Developmental Biology*, 5 (5), 1-6.
- Partridge, L., Piper, M.D.W. and Mair, W., 2005. Dietary restriction in *Drosophila*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 126 (9), 938-950.
- Pavela, R., 2004. Insecticidal activity of certain medicinal plants. *Fitoterapia*, 75 (7-8), 745-749.
- Petrovska, B.B., 2012. Historical review of medicinal plants usage. *Pharmacognosy Review*, 6 (11), 1-5.
- Pittman, J., 2007. Effect of aging on wound healing current concepts. *Journal of Wound Ostomy/ Continence Nursing*, 34 (4), 412-417.
- Poon, H.F., Calabrese, V., Scapagnini, G. and Butterfield, D.A., 2004. Free radicals: key to brain aging and heme oxygenase as a cellular response to oxidative stress. *Journal of Gerontology*, 59 (5), 478-493.
- Rahman, K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2 (2), 219.
- Rama, R.P., Kaul, C.L. and Jena, G.B., 2002. Genotoxicity testing, a regulatory requirement for drug discovery and development: impact of ICH guidelines. *Indian Journal of Pharmacology*, 34 (2), 86-89.

- Ramsey, M.J., Moore, D.H., Briner, J.F., Lee, D.A., Olsen, L.A., Senft, J.R. and Tucker, J.D., 1995. The effects of age and lifestyle factors on the accumulation of cytogenetic damage as measured by chromosome painting. *Mutation Research/DNAging*, 338 (1-6), 95-106.
- Reiter, R.J., 1995. The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Experimental Gerontology*, 30 (3-4), 199-212.
- Robert, M.F. and Wink M., 2013. Chapter 1 Introduction. *Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications*, Ed: Roberts, M.F. and Wink, M. Springer, USA, 1-7.
- Robins, R.J., Parr, A.J., Bent, E.G. and Rhodes, M.J.C., 1991. Studies on the biosynthesis of tropane alkaloids in *Datura stramonium* L. transformed root cultures. *Planta*, 183 (2), 185-195.
- Roff, D.A., 2000. Trade-offs between growth and reproduction: an analysis of the quantitative genetic evidence. *Journal of Evolutionary Biology*, 13 (2), 434-445.
- Rogina, B., 2011. For the special issue: aging studies in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 46 (5), 317-319.
- Rose, M., Flatt, T., Graves Jr, J. L., Greer, L. F., Martinez, D. E., Matos, M., Mueller, D. L., Reis, J.S.R. and Shahrestani, P., 2012. What is aging?. *Frontiers in Genetics*, 3 (134), 1-3.
- Saatci, C., Ozkul, Y., Tahiri, S., Caglayan, A.O., Turhan, A.B. and Dundar, M., 2008. The effect of Maras powder on DNA methylation and micronucleus formation in human buccal tissue. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 71 (6), 396-404.
- Sağlam, E. ve Özdamar, E.N., 2012. Yaşlanma teorileri ve tedavi yaklaşımları. *Maltepe Tıp Dergisi*, 4 (1), 56-61.
- Sakadzo, N., Masum, P., Simbarashe, M., Ronald, M. and Kasirayi, M., 2018. Thorn apple (*Datura stramonium* L.) allelopathy on cowpeas (*Vigna unguiculata* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) in Zimbabwe. *African Journal of Agricultural Research*, 13 (29), 1460-1467.
- Saleem, M., 2009. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. *Cancer Letters*, 285 (2), 109-115.
- Sardas, S., Cimen, B., Karsli, S., Yurdun, T. and Donbak, L., 2009. Comparison of genotoxic effect between smokeless tobacco (Maras powder) users and cigarette smokers by the alkaline comet assay. *Human/Experimental Toxicology*, 28 (4), 214-219.
- Saygı, Ş., 2003. Deneysel toksikolojide toksisite testleri ve test sonuçlarının önemi. *Gülhane Tıp Dergisi*, (45), 291-298.
- Semerdoğan, S., 2012. Gıda Maddelerine Katılan Bazı Sentetik Azo Gıda Boyalarının *Drosophila melanogaster*'in Oregon-R Yabanıl ve *Vestigial* Mutant Soylarında Larval Mortalite ve Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Sewell, D.E.R. and Kopaei, M.R., 2014. The history and ups and downs of herbal medicines usage. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 3 (1), 1-3.
- Shams, T.A., Gosselin, S. and Chuang, R., 2017. Unintentional ingestion of black henbane: two case reports. *Toxicology Communications*, 1 (1), 37-40.
- Shimshoni, J.A., Mulder, P.P.J., Bouznach, A, Edery, N., Pasval, I., Barel, S., Abd-El Lhaliq, M. and Perl, S., 2015. *Heliotropium europaeum* poisoning in cattle and analysis of its pyrrolizidine alkaloid profile. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 63 (5), 1664-1675.
- Simmons, F.H. and Bradley, T.J., 1997. An analysis of resource allocation in response to dietary yeast in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 43 (8), 779-788.
- Sinclair, B.J. and Roberts, S.P., 2005. Acclimation, shock and hardening in the cold. *Journal of Thermal Biology*, 30 (8), 557-562.
- Slijepcevic, P., 2006. The role of DNA damage response proteins at telomeres an “integrative” model. *DNA Repair*, 5 (11), 1299-1306.

- Sogut, O., Sayhan, M.B., Ustundag, M. and Orak, M., 2009. Paroxysmal atrial fibrillation after smokeless tobacco (Maras powder) use. *Journal of the Chinese Medical Association*, 72 (5), 265-267.
- Sohal, R.S., 1986. The Rate of Living Theory: A Contemporary Interpretation. *Insect Aging: Strategies and Mechanisms*, Ed: Collatz, K.G. and Sohal, R.S. Springer, Germany, 22-44.
- Sohal, R.S. and Weindruch, R., 1996. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science*, 273 (5271), 59-63.
- Sorensen, J.G. and Loeschcke, V., 2002. Decreased heat shock resistance and downregulation of Hsp70 expression with increasing age in adult *Drosophila melanogaster*. *Functional Ecology*, 16, 379-384.
- Spina, S.P. and Taddei, A., 2007. Teenagers with jimson weed (*Datura stramonium*) poisoning. *Canadian Journal of Emergency Medicine*, 9 (6), 467-469.
- Stella, L., Vitelli, M.R., Palazzo, E., Oliva, P., Novellis, V.D., Capuano, A., Scafuro, M.A., Berrino, L., Rossi, F. and Maione, S., 2010. *Datura Stramonium* intake: a report on three cases. *Journal of Psychoactive Drugs*, 42 (4), 507-512.
- Summanen, J., Vuorela, P., Rauha, J.P., Tammela, P., Marjamaki, K., Pasternack, M., Tornquist, K. and Vuorela, H., 2001. Effects of simple aromatic compounds and flavonoids on Ca^{2+} fluxes in rat pituitary CH₄C₁ cell. *European Journal of Pharmacology*, 414 (2-3), 125-133.
- Szabad, J., Soos, I., Polgar, G. and Hejia, G. 1983. Testing the mutagenicity of malondialdehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mozaik and the sex-linked recessive lethal test. *Mutation Research*, 113, 117-133.
- Şekeroğlu, Z.A. ve Şekeroğlu, V., 2009. Oksidatif mitokondrial hasar ve yaşlanmadaki önemi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2 (2), 69-74.
- Tanaka, Y., Kamibayashi, M., Yamaki, F., Saitoh, M., Nakazawa, T., Tanaka, H., Kazuo, N., Hashimoto, K. and Shigenobu, K., 2000. Relaxant action of azulene-1-carboxamide derivative N¹, N¹-dimethyl-N²-(2-pyridylmethyl)-5-isopropyl-3,8-dimethylazulene-1-carboxamide (HNS-32) in pig coronary artery. *Pharmacy and Pharmacology Communications*, 6 (9), 397-404.
- Tholl, D., 2006. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9 (3), 297-304.
- Turan, M., 2021. Şeytan Elması (*Datura stramonium* L.) Tohum Ekstraktlarının Kırmızı Köklü Horozibıği (*Amaranthus retroflexus* L.), Sirken (*Chenopodium album* L.) ve Şeker Pancarının (*Beta vulgaris* L.) Tohum Çimlenmesine Allelopatik Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Uddin, F., Hossain, A., Das, R., Rahman, M., Ahmad S.U., Akanda, R. and Islam, S., 2017. Evaluation of toxic effects of *Datura* leaves (*Datura stramonium*) in rat. *International Journal of Agriculture and Environmental Research*, 3 (4), 3486-3497.
- Ugur, B., Chen, K. and Bellen, H.J., 2016. *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases. *Disease Models/Mechanisms*, 9 (3), 235-244.
- Ulker, Z., 2011. Cytotoxic and Genotoxic Effects of *Datura stramonium* Extracts on Cultured Human Lymphocytes. Master Thesis, Fatih University Graduate Institute of Sciences and Engineering, Istanbul.
- Ullrich, S.F., Hagels, H. and Kayser, O., 2017. Scopolamine: a journey from the field to clinics. *Phytochemistry Reviews*, 16 (2), 333-353.
- Ungewitter, E. and Scrable, H., 2009. Antagonistic pleiotropy and p53. *Mechanisms of Ageing and Development*, 130(1-2), 10-17.
- Unlu, H. and Bozcuk, A. N., 1979. Genetics of longevity in *Drosophila*—I. The effects of w, m and f mutant genes in various genotype combinations. *Experimental Gerontology*, 14 (3), 117-124.

- Utku, U., Atilla, N., Cetin, G.Y., Gisi, K. and Gökcei M., 2015. Effects of smokeless tobacco "Maras powder" use on cerebral blood flow velocity. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 13 (2), 50-53.
- Uysal, H. ve Çelik, H., 2021. *Drosophila melanogaster*'in farklı soylarında astaksantin'in *in vivo* kronik etkilerinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11 (1), 135-146.
- Uysal, H., 1990. *Drosophila melanogaster*'in Politen Kromozomlarında Bazı Çevresel Faktörlerin Gen Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum,
- Uysal, H., Şişman, T. ve Aşkın, H., 2006. *Drosophila* Biyolojisi ve Çaprazlama Yöntemleri. Atatürk Üniversitesi Yayınları, ISBN: 975-442-111-0, No: 941, 53 s, Erzurum, Türkiye.
- Ülger, T.G. ve Ayhan, N.Y., 2020. Bitki sekonder metabolitlerinin sağlık üzerine fonksiyonel etkileri. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 11 (3), 384-390.
- Ünver, S., 2015. Bazı Neonikotinoid İnsektisitlerin *Drosophila melanogaster*'de Ömür Uzunluğu ile Asetilkolinesteraz Enzimi Üzerine Etkileri ve Olası Toksik Etkilerinin Çeşitli Bitki Ekstraktları Kullanılarak İyileştirilmesi Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Vaiserman, A.M., Zabuga, O.G., Kolyada, A.K., Pisaruk, A.V. and Kozaretska, I.A., 2013. Reciprocal cross differences in *Drosophila melanogaster* longevity: an evidence for non-genomic effects in heterosis phenomenon?. *Biogerontology*, 14 (2), 153-163.
- Verma, S.K., Srivastava, A., Gangwar, N.K., Singh, R. and Prabhu, S.N., 2020. Clinicohaemato-biochemical alterations in rats exposed to *Datura stramonium* seed toxicity. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8 (4), 1130-1137.
- Vijgy, J., 2000. Somatic mutations and aging: a reevaluation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 447 (1), 117-135.
- Vural, N., 2005. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:73, 659 s, Ankara, Türkiye.
- Wickens, A.P., 2001. Ageing and the free radical theory. *Respiration Physiology*, 128 (3), 379-391.
- Wiersinga, W.M., 2013. Smoking and thyroid. *Clinical Endocrinology*, 79 (2), 145-151.
- Wittbrodt, J., Shima, A. and Scharlt, M., 2002. Medaka- a model organism from the far east. *Nature Reviews Genetics*, 3, 53-64.
- Wurgler, F.E. and Vogel, E.W., 1986. *In vivo* Mutagenicity Testing Using Somatic Cells of *Drosophila melanogaster*. *Chemical Mutagens: Principle and Methods for Their Detection*, Ed: Serres, F.J. Plenum Press, USA, 1-72.
- Yalçın, A.D., Terzioğlu, E. ve Gorczynski, R.M., 2011. İmmün yaşlanma. *Türk Geriatri Dergisi*, 14 (3), 276-280.
- Yang, W.S., SriRamaratnam, R., Welsch, M.E., Shimada, K., Skouta, R., Viswanathan, V.S., Cheah, J.H., Clemons, P.A., Shamji, A.F., Clish, C.B., Brown, L.M., Girotti, A.W., Cornish, V.W., Schreiber, S.L. and Stockwell, B.R., 2014. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, 156 (1-2), 317-331.
- Yavuz, S., Ural, S.G., Çeltik, E. ve Yazıcıoğlu, D., 2016. *Datura stramonium* zehirlenmesi: olgu sunumu. *Kocaeli Tıp Dergisi*, 5, 49-52.
- Yiğit Ş., Saruhan İ. ve Akça İ., 2019. Farklı bitki ekstratlarının *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae) larvalarına karşı öldürücü etkilerinin belirlenmesi. *Turkish Journal of Weed Science*, 22 (2), 169-174.
- Yorulmaz, M., 2019. Şeytan Elması (*Datura stramonium* L.) Bitkisinin Kırmızı Köklü Horozibiği (*Amaranthus retroflexus* L.), Sirken (*Chenopodium album* L.) ve Şeker Pancarı (*Beta vulgaris* L.) Üzerine Allelopatik Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

- Young, R.R., 2002. Genetic toxicology: web resources. *Journal of Toxicology*, 173 (1-2), 103-121.
- Zhang, W.B., Ye, K., Barzilai, N. and Milman, S., 2021. The antagonistic pleiotropy of insulin-like growth factor 1. *Aging Cell*, 20 (9), 1-12.
- Zjačić-Rotkvić, V., Kavur, L. and Cigrovski-Berković, M., 2010. Hormones and aging. *Acta Clinica Croatica*, 49, 549-554.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Şebnem Lokumcu
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Piraziz Sağlık Meslek Lisesi
Lisans:	Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı
Tezden Üretilmiş Yayınlar	
1. Lokumcu, Ş. ve Uysal, H., 2021. <i>Datura stramonium</i> L. tohumlarına ait metanol ve su ekstraktlarının <i>Drosophila melanogaster</i>'de <i>in vivo</i> toksik ve genotoksik etkileri. TÜBAV Bilim Dergisi, 14 (1), 1-13. 2. Lokumcu, Ş. ve Uysal, H., 2021. <i>Drosophila melanogaster</i>'in Oregon-R yabanıl soyunda <i>Nicotiana rustica</i> L. (Solanaceae) yaprak ekstraktlarının ömür uzunluğunu sınırlandırıcı etkilerinin belirlenmesi. 1st International Congress on Natural Sciences, Erzurum. 3. Lokumcu, Ş. ve Uysal, H., 2021. Maraş otunun farklı ekstraktları ile somatik mutasyonların uyarılması. 1st International Symposium on Recent Advances in Fundamental and Applied Sciences, Erzurum.	