

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

*CITRUS AURANTIUM*'UN *DROSOPHILA MELANOGASTER* ÜZERİNE  
GERONTOLOJİK VE GENOTOKSİK ETKİSİ

ÖZLEM DİZMAN

HAZİRAN 2016

**Biyoloji Anabilim Dalında** Özlem DİZMAN tarafından hazırlanan “ *Citrus aurantium*’ un *Drosophila melanogaster* ÜZERİNE GERONTOLOJİK VE GENOTOKSİK ETKİSİ“ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İlhami TÜZÜN  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof.Dr. Şerife BAYRAM

Üye (Danışman) : Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Üye :Yrd.Doç.Dr. F. Azize BUDAK YILDIRAN

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

### *CİTRUS AURANTIUM* 'UN *DROSOPHILA* *MELANOGASTER* ÜZERİNE GERONTOLOJİK VE GENOTOKSİK ETKİSİ

DİZMAN, Özlem

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Haziran, 2016, 74 sayfa

Bu çalışmada *Citrus aurantium* (turunç) meyve suyunun ömür uzunluğu üzerine etkileri *Drosophila melanogaster*'in Oregon ırkında araştırıldı. Turunç meyve suyunun 30mL/100mL lik uygulama ve su kontrol gruplarında dişi ve erkek populasyonları ayrı ayrı çalışıldı. Bu çalışmada turunç meyve suyunun 30ml/100ml dozuna maruz bırakılan erkek ve dişi populasyonlarında kontrol grubuna göre pozitif bir gerontolojik etki gözlemlendi. Ayrıca deney ve kontrol gruplarında dişi bireylerin erkeklere göre daha uzun yaşadıkları saptandı.

Turunç suyunun farklı konsantrasyonlarının *Drosophila melanogaster*'de genotoksik ve antigenotoksik etkisi Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile araştırıldı. Bunun için *Drosophila melanogaster* 'in çoklu kanat kılı (*mwh*) ve düzensiz kanat kılı (*flr*) mutant ırklarının 72 saatlik transheterozigot larvalarına uygulama yapıldı. Turunç suyunun genotoksik etkisinin değerlendirilmesi için 100 ml/100ml ve 50ml/100ml dozları ve antigenotoksik etkilerinin değerlendirilmesi için doksorubisinin 0,125 mg/ml ile beraber 50ml/100ml (turunç+Dxr) dozu uygulandı. Elde edilen verilere göre turunç suyunun genotoksik etkiye sahip olmadığı gözlemlendi. *Citrus aurantium*

meyve suyunun genotoksik etkisi bilinen doksorubisine karşı antigenotoksik etkisinin olduğu saptandı.

**Anahtar Kelimeler:** *Drosophila melanogaster*, *Citrus auriantum*(turunç), SMART, Ömür Uzunluğu, Doksorubisin, Genotoksisite, Anti-genotoksisite



## ABSTRACT

### GERONTOLOGIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF *CITRUS AURANTIUM* ON *DROSOPHILA MELANOGASTER*

DİZMAN, Özlem

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and applied Sciences

Department of Biology, MSc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

June 2016, 74 Pages

In this study, effects of *Citrus auriantium* (bitter orange) fruit juice on longevity of *Drosophila melanogaster* (Oregon) was investigated. Experimental 30 mL/100mL fruit juice and water control groups were studied separately in male and female populations. A positive gerontological impact was observed in male and female populations, which exposed to 30 ml/100 ml doses of orange juice, compared to the control group. In addition, it is detected that female individuals live longer than male in both experimental and control groups.

Genotoxic and antigenotoxic effects of different concentrations of bitter juice were investigated on *Drosophila melanogaster* with Somatic Mutation and Recombination Test (SMART). For this, the application was made to 72-hour transheterozygote larvae of *Drosophila melanogaster*'s multiple wing hairs (*mwh*) and flare (*flr*) mutant race. To evaluate the genotoxic effect of bitter juice, doses of 100 ml /100ml and 50ml /100ml, as well as 0.125 mg / ml doxorubicin along with 50ml / ml (bitter orange + Dxr) doses were applied for evaluation of the antigenotoxic effects. According to the data obtained, it was observed that, orange juice has not genotoxic effects on *Drosophila melanogaster*. It was found that, *Citrus auriantium* fruit juice has anti-genotoxic effect against doxorubicin which is known as genotoxic.

**Key Words:** *Drosophila melanogaster*, *Citrus aurantium* (bitter orange), SMART, Longevity, Doxorubicin, Genotoxicity, Anti-genotoxicity



## TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım sűresince bilimsel bilgi ve tecrűbesi ile yol gűsterici olan, tezimi yűnlendirirken emeđini ve desteđini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr.Őűkran ÇAKIR ARICA'ya; bilgi ve tecrűbesi ile çalıŐmalarıma destek olan ve yol gűsteren, karŐılaŐtıđım tűm zorluklarda yanımda olan, vaktini, sabrını, anlayıŐını eksik etmeyen deđerli hocam ArŐ. Gűr. Selda ŐZ'e; tez çalıŐmalarım sűresince bilimsel bilgi ve tecrűbesi ile yol gűsterici olan sayın hocam Yrd. Doç.Dr. F.Azize BUDAK YILDIRAN'a; tez çalıŐmamda hiçbir zaman desteđini benden esirgemeyen hayallerime ortak olduđu için can arkadaŐım Durdane KAYA'a; yolumu aydınlatıkları her anımda yanımda olan can arkadaŐlarım Neriman KILIÇ ve Tuđba KESKİN'e; tez çalıŐmalarımda bana yardımcı olan arkadaŐım Hakan ŐĐŪT 'e; hayatım boyunca aldıđım kararlarımın en bűyűk destekçileri olan, attıđım adım, yaptıđım iŐlerde bana gűvenen, sevgilerini, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen ve tűm eđitim hayatım boyunca olduđu gibi bilim uzmanlıđı tez çalıŐmam sırasında da sabır gűstererek daima yanımda olan kıymetli annem Gűlzade DİZMAN, babam Serdar DİZMAN ve kardeŐım YeŐim DİZMAN'a teŐekkűrlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

## Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	v
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	vi
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	xi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	xii
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xiii
<b>1.GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Turunç Bitkisi Hakkında Genel Bilgi.....	1
1.1.1. Turunç Bitkisinin Bileşenleri ve Etkileri.....	1
1.2. Doksorubisin.....	3
1.3. <i>Drosophila melanogaster</i> Hakkında Genel Bilgi.....	5
1.3.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Sistematığı.....	6
1.3.2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Yaşam Döngüsü.....	6
1.3.3 <i>Drosophila melanogaster</i> 'i Diğer Organizmalara Göre.....	9
Üstün Kılan Özellikleri	
1.4. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ile İlgili Genel Bilgiler.....	10
1.5. Yaşlanma Biyolojisi ve Ömür Uzunluğu ile İlgili Genel Bilgiler.....	15
1.5.1. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler.....	16
1.5.2. Yaşlanma Teorileri.....	17
1.6. Kaynak Özetleri.....	21
1.6.1. <i>Drosophila melanogaster</i> ile Yapılan Antigenotoksite Çalışmaları.....	21
1.6.2 <i>Drosophila melanogaster</i> ile Yapılan Gerontolojik Çalışmaları.....	28
<b>2.MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	32
2.1.Deneylerde Kullanılacak Olan Meyvenin Adı.....	32
2.2.Yöntem.....	32



2.2.1.Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi.....	32
2.2.1.1. <i>Drosophila</i> Stokları.....	32
2.2.1.2. Doksorubisin.....	33
2.2.2. Deneyde Kullanılan apraz.....	33
2.2.3. Deney Koşulları.....	33
2.2.3.1. evre Koşulları.....	33
2.2.4. Besiyerinin Hazırlanışı.....	34
2.2.5. Bayıltma Yöntemi.....	35
2.2.6. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ‘nin Uygulanışı.....	36
2.2.7.Kanat Preparatlarının Hazırlanması.....	38
2.2.8. Kanatların Mikroskopik Analizleri.....	38
2.2.9. İstatiksel Değerlendirmeler.....	40
2.2.9.1. Verilerin Değerlendirilmesi.....	41
2.2.9.2. Klon İndüksiyon Frekansının Hesaplanması.....	41
2.3. Ömür Uzunluğu.....	42
2.3.1. <i>Drosophila</i> Stokları.....	42
2.3.2. Kullanılan Maddeler.....	43
2.3.3 Deneyde Kullanılan apraz.....	43
2.3.4. Deney Koşulları.....	43
2.3.5. Besiyerinin Hazırlanışı.....	43
2.3.6. Bayıltma Yöntemi.....	44
2.3.7. Ömür Uzunluğuna Uygulanışı.....	45
2.3.8. İstatiksel Analizleri.....	45
<b>3.ARAŞTIRMA BULGULARI.....</b>	<b>46</b>
3.1. Turunç Suyunun Genotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi.....	46
3.2. Turunç Suyunun Antigenotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi.....	48
3.3. Ömür Uzunluğu Deney Sonuçları.....	49
<b>4.TARTIŞMA.....</b>	<b>53</b>
4.1.Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi.....	53
4.2.Ömür Uzunluğu.....	56
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>59</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Ho ve Ha Hipotez Değerlendirme Tablosu.....	41
3.1. SMART Bulguları ve İstatiksel Değerlendirmeler.....	48
3.2. 30 ml/100ml 'lik Konsantrasyona maruz bırakılan <i>Drosophila melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerinde belirlenen maksimum hayatta kalış süresi.....	50

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Doksorubisinin Yapısı.....	3
1.2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Yaşam Döngüsü.....	7
1.3. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in gelişiminde imajinal diskler .....	8
1.4. Mutasyon Ve Rekombinasyon Oluşum Mekanizmaları.....	14
2.1. Uygulanacak Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon.....	37
Testinin Şematik Gösterimi	
2.2. Kanat Sektörlerinin Şematik Gösterimi.....	38
2.3. Kanat Yüzeyindeki Kılılar .....	39
3.1. Turunç suyu uygulamsında klon tiplerine göre klon sayılarının dağılımı.....	47
3.2. Tüm uygulamaların klon tiplerine göre klon sayılarının dağılımı.....	47
3.3. 30ml/ml 'lik konsantrasyona maruz bırakılan <i>Drosophila melanogaster</i> erkek ve dişi bireylerdeki maximum hayatta kalış eğrileri.....	50
3.4. Kontrol grubundaki <i>Drosophila melanogaster</i> erkek ve dişi bireylerdeki maximum hayatta kalış eğrisi.....	51
3.5. 30 ml/ml 'lik turunç suyuna maruz bırakılan dişi bireylerin ve kontrol grubu dişi bireylerin hayatta kalış eğrisi.....	51
3.6. 30 ml/ml 'lik turunç suyuna maruz bırakılan erkek bireylerin ve kontrol grubu erkek bireylerin hayatta kalış eğrisi.....	52

## SİMGELER DİZİNİ

<i>flr</i>	Flare
<i>mwh</i>	Multiple wing hair
♀	Dişi
♂	Erkek

## KISALTMALAR DİZİNİ

ml	Milimetre
mg	miligram
%	yüzde
Dxr	Doksorubisin
SMART	Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Turunç Bitkisi Hakkında Genel Bilgiler

Turunçgiller, Rutaceae familyasının Aurantoideae alt familyasından olup birçok türe sahiptir. Turunçgillerin bazı türleri ülkemizde yetiştirilmekte iken bir kısmı ise yetiştirilmemekte ve hatta tanınmamaktadır. Limon (*Citrus limon*), tatlı portakal (*Citrus sinensis*), mandarin (*Citrus reticulata*), altıntop (greyfurt) (*Citrus paradisi*), turunç (*Citrus aurantium*) ülkemizde tarımı yaygın olarak yapılan turunçgillerdendir (Braverman, 1949; Cemeroglu ve Karadeniz, 2001).

Turunç dünyada acı portakal (*bitter orange*), ekşi portakal (*sour orange*), Sevil portakal (*Seville orange*), *Aurantii cortex*, *Aurantii amari cortex*, Bigarad portakal (*Bigarade orange*) gibi isimlerle bilinmektedir (Anon, 2004). Dünyada farklı isimlerle bilinen turuncun anavatanın Güneydoğu Asya olduğu, 10 ve 11. asırlarda Akdeniz ülkelerine getirildiği bildirilmiştir (Morton, 1987; Davies ve Albrigo, 1994).

### 1.1.1. Turunç Bitkisinin Bileşenleri Ve Etkileri

Turunçgillerin bileşimleri tür, çeşit, ekolojik ortam ve iklim gibi faktörlere göre farklılık göstermektedir. Moufida vd. (2003) turunç meyvesinin %26.53 meyve suyu, % 4.99 asit

ve %12.25 toplam şeker içerdiğini tespit etmişlerdir. Turunç, toplam şeker içeriği ile portakalla, meyve suyu verimi ve asitlik içeriği ile de limonla benzerlik göstermektedir.

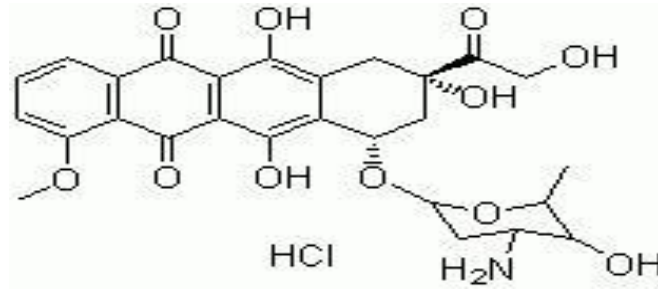
Turunç meyvesinin toplam kuru madde içeriği çeşitli faktörlere göre değişmekte olup ortalama %14'dur. Meyvelerde toplam kuru maddenin önemli bir kısmını karbonhidratlar oluşturmakta olup, turunç meyvesinin yenilebilir kısmında bu oran ortalama %12'dir. Genel olarak diğer meyvelerde de olduğu gibi turunç meyvesinde de karbonhidratların önemli bir kısmını şekerler oluşturmaktadır. Meyve ve sebzelerde genellikle karbonhidratlara oranla oldukça düşük düzeyde olan protein miktarı turunç meyvesinde ortalama %0,8 dir, yağ miktarı ise % 0,1'in altındadır. Toplam mineral madde miktarının bir göstergesi olan kül %0,5, lif miktarı da %0,4 olarak bildirilmiştir (Mortan, 1987).

Turunçgillerin insan beslenmesindeki yeri dikkate alındığında özellikle C vitamini açısından oldukça zengin bir kaynak olduğu görülecektir (Cemeroğlu vd. , 2001). Turunç meyvesi de 45-90 mg/100 g C vitamini içeriği ile oldukça önemli bir kaynaktır. Ayrıca turunç meyvesinin 100 gram yenilebilir kısmının 290 µg A vitamini (karotenoid formunda), 100 µg tiamin (B1 vitamini), 40 µg riboflavin ve 0,3 mg niasin içerdiği bildirilmiştir (Mortan, 1987). Turunç suyunun 100 ml'sinde 1.97 mg naringin, 0.87 mg neohesperidin, 0.77 mg neoeriositrin, 0.73 mg poncirin, 0.15 mg diosmin, 0,2 mg nobiletin, 0.08 mg tangeretin ve 0.14 mg kamferol bulunduğu tespit edilmiştir (Gattuso vd. , 2007). Sağlıkla ilişkisi olan fenolik madde gruplarından olan flavonoidlerden naringenin, hesperidin ve neohesperidin turunçgillerin karakteristik bileşenlerinden olup

bu meyvelerde önemli düzeyde bulunmaktadır. Bu bileşenlerden naringinin antimitojen ve antioksidan özellik gösterdiği, hesperidinin de damar geçirgenliği üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Ortuna vd. , 1997).

## 1.2. Doksorubisin (Adriamisin)

Doksorubisinin dahil olduğu antrasiklinler akut lösemi ve lenfomalar, kemik ve yumuşak doku sarkomları, Wilms tümörü, nöroblastom ve hepatoblastom başta olmak üzere çocukluk çağı kanserlerinde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ilaçlardır (Holcenberg vd., 2002). Doksorubisin ilaca özgün kırmızı rengini veren parlak fluoressan tetrasiklik kromofor adriamisinon ile ona glikozidik bağ ile bağlanmış bir amino şeker olan daunosaminden oluşur (Holcenberg vd., 2002). 14.karbonunda bir hidroksil grubu taşımasıyla daunorubisinden farklılık gösterir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Doksorubisinin yapısı

Doksorubisin DNA interkalasyonu, topoizomeraz II ve helikaz inhibisyonu yoluyla DNA hasarı, serbest radikal oluşumu, tümör anjiojenez inhibisyonu gibi farklı mekanizmalar ile etkisini gösterir ( MS vd. , 2003). Doksorubisin normal hücrelerde ve kanser hücrelerinde üç farklı reaksiyona girer: Bunlardan ikisi molekülün, hücrenin elektron transport zinciri ile etkileşimi üçüncüsü ise kromofor yan zincirin karbonil redüksiyonunu kapsar (Holcenberg vd. ,2002 ). Bu son reaksiyon daunorubisin reduktaz tarafından katalize edilir, kofaktör olarak NADPH 'a bağımlıdır ve doksorubisinol ya da adriamisinol olarak adlandırılan, güçlü antiproliferatif ve antineoplastik etkileri olan alkol metabolitini oluştururlar. Adriamisinol öncül ilaç molekülünün kendisinden daha polardır; hücre membranını geçerek ekstrasellüler aralığa dönme olasılığı azdır. Bunun sonucunda doksorubisinin metabolize olması ve hücre içinde kalışını ve sitotoksik etkisini artırır. Diğer iki reaksiyon tek bir elektronun doksorubisin halka sisteminin kinon kısmına transferi ile başlar. Serbest oksijen radikal oluşumuna yol açan başlıca olay antrasiklin kinonun kofaktör varlığında NADPH dehidrogenaz tarafından indirgenmesidir. Flavin içeren dehidrogenazlar tarafından antrasiklin semikinon oluşumu gerçekleşir.

Doksorubisin semikinon aerobik koşullarda eşlenmemiş elektronunu moleküler oksijene verdiği ve böylece süperoksit radikal oluştuğu gösterilmiştir. Açığa çıkan hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri DNA, RNA, lipidler ve proteinleri hasara uğratar. Bunun sonucunda nükleus, mitokondri, sitoplazmik yapılar ve hücre membranında hasar meydana gelir (Rigss, 2001).



### 1.3. *Drosophila melanogaster* Hakkında Genel Bilgi

İlk kez 1911 yılında Thomas Morgan tarafından deneysel çalışmalarda kullanılmış olan *Drosophila melanogaster*, kullanım açısından pek çok avantaja sahiptir (Gui vd. , 2008; Rincon vd. , 1995; Letmann vd. , 2003; Graf vd. , 1996 ).

Bunlar:

- Kısa generasyon zamanlı ökaryotik bir organizmadır. (Yaklaşık 25 °C'de %40- 60 bağıl nemde 10 gündür.)
- Küçük organizmalar olduklarından laboratuarda kültür ortamında çok sayıda üretilmeleri oldukça kolay ve ekonomiktir.
- Holometabol canlılardır. Yani gelişimleri tam metamorfoz ile olur.
- Genetik olarak kontrol edilebilen çok çeşitli morfolojik karakterlere ve mutant soylara sahiptir.
- Larvalarının tükrük bezi hücrelerinde kolayca tanınabilen dev kromozomlar bulunur. Bunlar sitogenetik çalışmalar için ideal yapılardır. Kromozom haritaları ve kromozom fonksiyonu analizlerinin yapılmasına imkân sağlamaktadır.
- İnsanlar için kanserojenik olan pek çok madde *Drosophila* testlerinde de pozitif sonuçlar vermektedir. Ayrıca promutajen ve prokarsinojenleri test etmek için ayrıca metabolik aktivasyona gerek yoktur. Bilindiği gibi birçok bileşik doğrudan mutajenik ya da karsinojenik etkiye sahip değildir. Bu bileşikler memeli metabolizmasında karsinojenlere ya da mutajenlere çevrilebilir. Bu tür bileşiklere promutajen ya da prokarsinojen denir (Hoffman, 1991).

### 1.3.1. *Drosophila melanogaster*'in Sistematikteki Yeri

Alem: Animalia

Şube: Arthropoda

Altşube: Mandibulata-Antennata

Sınıf: İsecta- Hexapoda

Altsınıf: Pterygota

Üsttakım: Mecopteroidea

Takım: Diptera

Alttakım: Brachycera

Aile: Drosophilidae

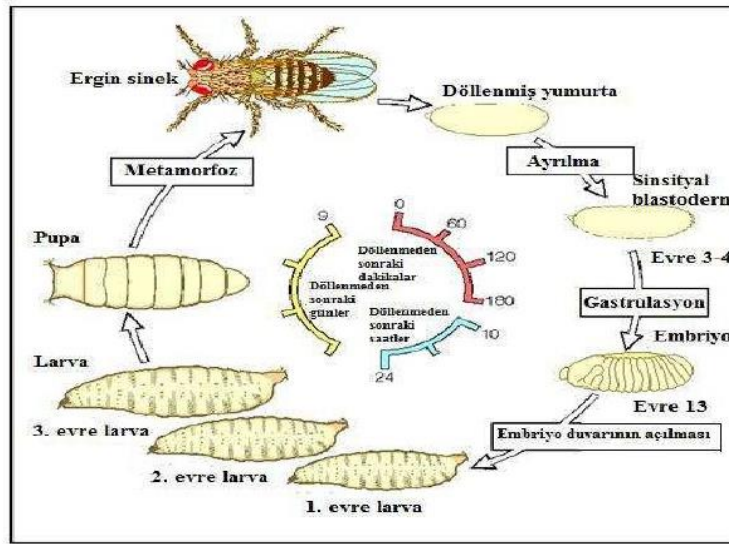
Cins: *Drosophila*

Tür: *Drosophila melanogaster*

### 1.3.2. *Drosophila melanogaster*'in Yaşam Döngüsü

*Drosophila* hayat döngüsünde dört farklı evreye sahip holometabol bir böcektir (Şekil 1.3 ). Bu evrelerin tipik sırası: yumurta (embriyonik), larva, pupa ve ergin şeklindedir (Gui vd. ,2008). Döllenme ve zigot oluşumunu takiben ergine gelişmesi süre bakımından ortam sıcaklığına bağımlılık gösterir (Hamamcı,1993). Yumurtadan ergine geçiş, 25 °C'de yaklaşık 10 gün alır (Bozcuk, 2000). Bir ergin dişi tüm yaşamı boyunca 300'e kadar varan sayıda yumurta bırakabilir. Genelde bunların %95'i olgunlaşıp açılabilir.

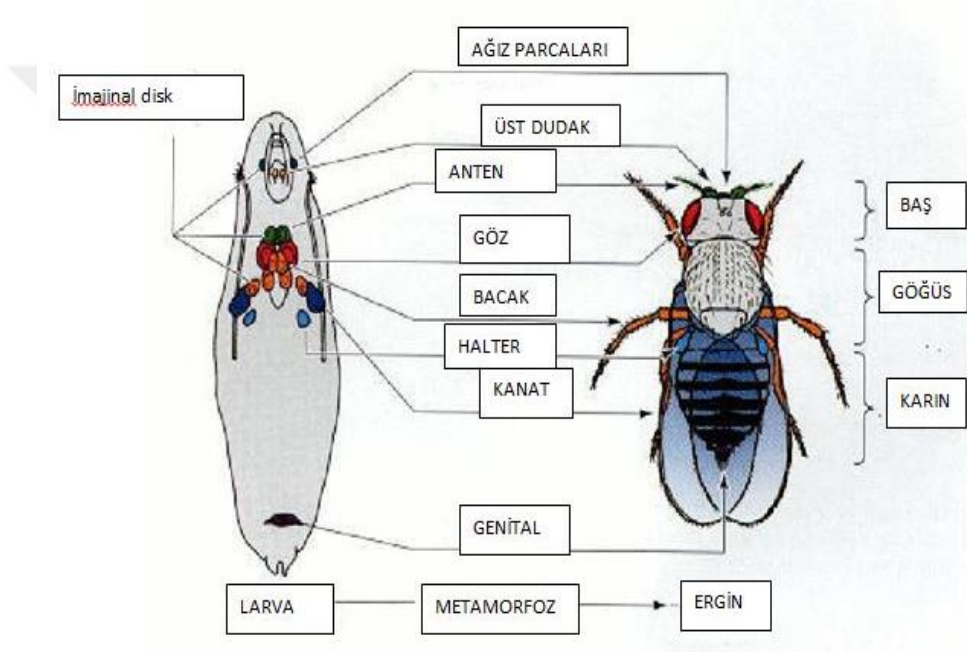
Diğer böceklerde olduğu gibi *Drosophila*'da da gelişme iki aşamada olur. Birincisi embriyonik dönemdir. Bu dönem yumurtanın döllenmesiyle başlar ve genç larvaların yumurtadan çıkmasına kadar devam eder. İkinci dönem ise postembriyonik dönemdir ve genç larvanın yumurtadan çıktığı andan itibaren başlayarak larvanın ergin hale gelinceye kadar geçirdiği bütün değişiklikleri içerir (Özata, 2006). Ayrıca *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü ve ömür uzunluğu; sıcaklık, beslenme, populasyon yoğunluğu, çiftleşme, radyasyon ve nem gibi çeşitli faktörler tarafından farklı şekillerde etkilenmektedir (Osaba vd. ,2002).



Şekil 1.2. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü

*D. melanogaster* larvalarında ileride ergin bireydeki vücut parçalarını oluşturmak için mitotik olarak sürekli çoğalan hücre kitleleri vardır. Bu hücre kitlelerine imajinal diskler

denir ve larvanın L1 evresinde kanat imajinal disklerindeki hücre sayısı 50100 iken, bu sayı ergin bireyin kanatlarında 24.400'e ulaşır (Garcia-Bellido vd. , 1971). *D. melanogaster* larvasında, imajinal diskler ve imajinal disklerin başkalaşım sonrası oluşturdukları doku ve organlar Şekil 1.3.'te görülmektedir.



**Şekil 1.3.** *Drosophila melanogaster*'in gelişiminde imajinal diskler (Mathews vd. ,1999).

### 1.3.3. *Drosophila*'yı Diğer Organizmalara Göre Üstün Kılan Özellikleri

*Drosophila* birçok sebepten deneysel araştırmalarda kullanımı tercih edilen bir model organizmadır. Bu sebepler şöyle sıralanabilir:

1. Çok çeşitli doğal ya da yapay varyasyonların gözlenebildiği bir organizmadır. Bu varyasyonları taşıyan mutant bireylerde göz rengi, göz şekli, kıl tipi, vücut rengi, kanat şekli açısından farklı fenotipik özellikleri görebilmek mümkündür. Bu tip zıt karakterleri çıplak gözle ya da binoküler mikroskop altında incelemek oldukça kolaydır.
2. Hayat devri çok kısadır. Yumurtadan çıktıktan sonra yaklaşık 9-10 günde erginleşir ve yeniden üremeye başlar.
3. *Drosophila*'nın dişi bireyi günde 40-50 yumurta bırakır, bir defada oldukça fazla sayıda döl elde edilebilir. Bir nesilde elde edilen birey sayısının fazla olması, onun genetiksel özellikleriyle ilgili bilginin doğru tespit edilmesi ve sonuçların güvenilirliği açısından önemlidir.
4. Laboratuvar ortamında kolayca yetiştirilebilir ve besinleri ucuzdur. Kolayca temin edilebilecek malzemeler kullanılarak hazırlanan besi ortamları, araştırmacıya fazla bir maddi külfet getirmez.

5. Kontrollü çaprazlama (araştırmacının kontrolü altında belli özellikleri taşıyan organizmaların çaprazlanması), genetik denemelerde kullanılan çalışma yöntemlerinden biridir. Eğer eşleşmeler kontrol edilebiliyorsa, bir organizmanın genetiğinin incelenmesi çok daha kolaydır. Çaprazlamanın özelliğine bağlı olarak özel ata soylar seçilip eşleşmeleri sağlanır ve elde edilen yavru bireylerin ayıtları birkaç nesil dikkatle kaydedilip, çıkan sonuçlara göre ilgilenilen özelliğin kalıtımı hakkında bir sonuca varılabilir. *Drosophila*, kontrollü çaprazlama yapılabilen en uygun canlılardan biridir.

6. Mitotik kromozomlardan kolayca ayırt edilebilen ve özellikle larvaların tükrük bezi hücrelerinde görülebilen dev kromozomları (=politen kromozom) taşır. Bu kromozomlar, sitogenetik olarak, kromozom haritaları ve kromozom fonksiyon analizlerinin yapılmasını sağlar.

7. Promutajen ve prokarsinojenleri test etmek için, ayrıca metabolik aktivasyona gerek yoktur.

#### **1.4. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ile İlgili Genel Bilgiler**

Bu çalışmada turunç meyvesinin genotoksik ve antigenotoksik etkilerinin araştırılmasında *D. melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) kullanılmıştır. SMART birçok kimyasalların genotoksik etkilerinin

araştırılmasında kullanılan bir yöntemdir (Kaya vd. , 2004; Gabriel vd. , 2013; Budak ve Çakır Arıca, 2005; Sarıkaya vd. , 2016; Çakır Arıca vd., 2006) .

Göz ve kanat benek testi olarak iki gruba ayrılan SMART testi, uygun işaret genlerinin heterozigotluğunun kaybını temel alarak geliştirilmiştir. Larvanın imajinal disklerinde mitotik olarak çoğalan hücrelerde genetik bir değişiklik olması durumunda, bundan sonraki oğul hücrelere bu değişiklik aktarılarak mutant hücre grupları (klonları) oluşur. Bu genetik değişiklik fenotipte gözlenebilen bir değişikliğe neden olursa, klonlar ergin sineğin kanatlarında ve gözlerinde mutant hücre benekleri olarak ortaya çıkar.

Kimyasallara maruz bırakılan bireylerde indüklenmiş klonların toplam sayısı, uygulanan kimyasalın toplam genotoksik aktivitesi ile ilgili sayısal sonuçlar verirken, klonların tipi, klon oluşumunda rol oynayan mutasyon mekanizmaları ortaya çıkarır (Henderson, 2004).

Kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için fenotipte gözlemlenebilen işaret genleri çoklu kanat kılı (*mwh*) ve düzensiz kanat kılı (*flr<sup>3</sup>*) dir. *mwh*, resesif bir gen olup, üçüncü kromozomun sol kolunun uca yakın bölümünde lokalize olmuştur (3-0.3). Homozigot olarak bulunduğu zaman hücre başına bir kanat kılı yerine çoklu kanat kıllarının oluşumuna neden olur. Diğer işaret geni olan *flr<sup>3</sup>* kanat kıllarının şeklini etkileyen resesif mutant bir gen dir, üçüncü kromozomun sol kolunda fakat sentromere daha yakın (3-38.8) olarak yer alır. *flr<sup>3</sup>* geninin üç mutant aleli bilinmektedir ve hepsi homozigot letaldir. Fakat kanat imajinal disklerindeki homozigot hücreler yaşayabilir ve

mutant kanat hücrelerine gelişir (Taira vd. ,2005; Rincon vd. ,1995) . Homozigot letalite nedeniyle *flr* allelleri birçok inversiyonlar ve yine homozigot letal olan dominant işaret gen taşıyan dengeleyici bir kromozomla birlikte *flr<sup>3</sup>/TM3, Bd<sup>S</sup>* stok olarak tutulur. Bu stokta kanat kenarları testere dışı şeklindedir (Doğan, 2002; Özata, 2006). Kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için iki ayrı çaprazlama kullanılmaktadır. Bunlardan biri standart çapraz (ST), diğeri de yüksek biyoaktivasyon çaprazı (YB) dır. Standart çapraz için, ♀ *flr<sup>3</sup> / In (3LR), TM3 Bd<sup>S</sup>* X ♂ *mwh/mwh*, yüksek biyoaktivasyon çaprazında ise, ♀ NORR/NORR; *flr<sup>3</sup> /In (3LR), TM3 Bd<sup>S</sup>* X ♂ NORR/NORR; *mwh/mwh* çaprazları kullanılır.

Yüksek biyoaktivasyon çaprazında kullanılan soylar *Drosophila melanogaster*'in DDT'ye dirençli Oregon-R soyundan geliştirilmiştir ve yüksek sitokrom P450 seviyesine sahiptir (Amaral, 2005).

Her iki çapraz sonucunda heterozigot larvalara olası genotoksin uygulanır. Bu larvalardan gelişen ergin bireyler fenotipik olarak ayırt edilebilen iki farklı fenotipe sahiptir.

(a) Trans-heterozigot sinekler (*mwh flr<sup>+</sup>/mwh<sup>+</sup>flr* fenotipik olarak yabancı tip kanatlara sahiptir).

(b) Dengeleyici-heterozigot sinekler (*mwh flr<sup>+</sup>/ TM3,BdS* fenotipik olarak kanat kenarları testere dışıdır). Dengeleyici-heterozigot sineklerde çok sayıdaki inversiyonlar



nedeniyle rekombinasyonlar engellenmiştir ve mutasyonlar nedeniyle sadece *mwh* tekli benekleri ortaya çıkar (Graf vd. ,1992).

Kanat kıllarında beklenen somatik mutasyonları belirlemek amacıyla, ergin sineklerin kanatları kesilerek mikroskop altında taranır. Böylece mutasyon ya da mitotik rekombinasyon sonucu heterozigotluğun kaybedilmesiyle ortaya çıkan mutant hücre klonları araştırılır (Amaral,2005). Mutant hücre klonları farklı benek gruplarına ayrılarak kaydedilir.

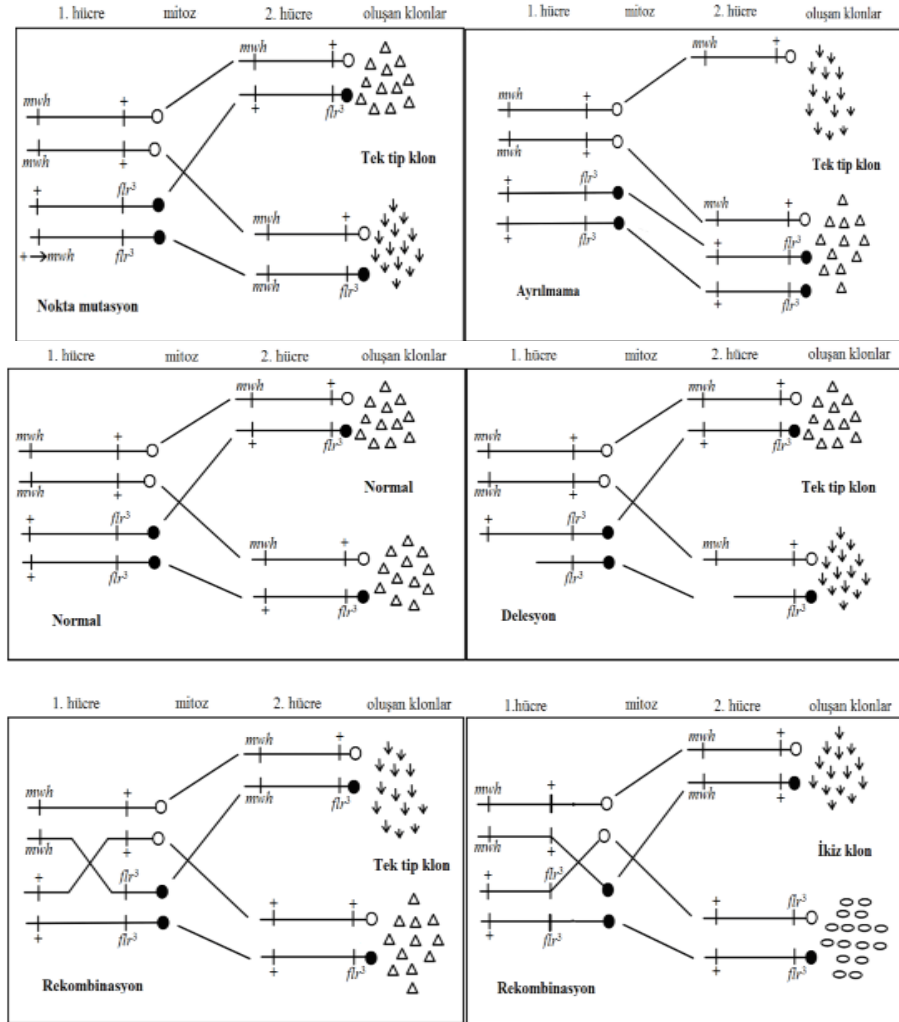
Tekli benekler: *mwh* ya da *flr<sup>3</sup>* fenotipinde iken, ikili benekler *mwh* ve *flr<sup>3</sup>* fenotiplerini birlikte taşımaktadır (Rincon vd. ,1998). İstatistiksel analiz için benekler; küçük tekli benek, büyük tekli benek ve ikili benek olarak sınıflandırılır.

Tekli benekler: *mwh* veya *flr<sup>3</sup>* fenotipindeki hücrelerden oluşur. Tekli benekler arasında 1-2 hücreli olanlar küçük tekli benekler olarak isimlendirilirken, 3 ve daha fazla sayıda hücre gruplarından oluşan beneklere ise büyük tekli benekler denir.

İkili benekler: *mwh* ve *flr<sup>3</sup>* fenotipinin her ikisinin yan yana hücre gruplarında birlikte bulunduğu beneklerdir (Sarıkaya vd. , 2005).

Beneklerin farklı tipleri farklı genetik mekanizmalar nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Tekli benekler nokta mutasyon, delesyon ve iki işaret gen (*mwh* ve *flr<sup>3</sup>*) arasındaki mitotik rekombinasyon sonucu oluşurken, ikili benekler 3. kromozomun sentromeri ve *flr<sup>3</sup>* geni

arasındaki mitotik rekombinasyon sonucu oluşmaktadır (Sarıkaya vd. ,2005; Watanace vd. , 1996; Çakır vd. , 2005). Somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde mutasyon ve rekombinasyon oluşum mekanizmaları şekil 1.4. de gösterilmiştir.



**Şekil 1.4.** Somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde mutasyon ve rekombinasyon oluşum mekanizmaları (Graf vd. , 1984)

## 1.5. Yaşlanma Biyolojisi ve Ömür Uzunluğu İle İlgili Genel Bilgiler

Yaşlanma insanlarda her şeye rağmen asla durmayan, devam eden biyolojik bir süreçtir. Birçok araştırmacı ve bilim adamı tarafından çeşitli yaşlanma tanımları yapılmıştır. Fizyolojik tanıma göre yaşlanma, onarımın ve durumun artan yaşla birlikte gerilemesidir. İstatistiki tanıma göre yaşlanma, artan yaşla birlikte mortalite (ölüm) hızının artmasıdır. Evrimsel tanıma göre ise yaşlanma, artan yaşla birlikte uyum (fitness) bileşenlerinin (hayatta kalma ve üreme hızlarının) devamlı azalmasıdır. (Mangel, 2001).Kısaca yaşlanma, strese uyum cevabında azalmaya yol açan ve yaşla ilişkili hastalıkların riskinin arttığı, fonksiyonlarda ilerleyici ve yaygın bir bozukluk olarak tanımlanabilir.

Kesin olarak sebebi bilinmemekle beraber, yapılan araştırmalar sonucunda, yaşlanmanın nedenlerini açıklamaya yönelik pek çok teori geliştirilmiştir. Bu teorilerin hepsi, zaman içinde vücut hücrelerimize ne olduğu konusunda odaklanmıştır. Zaman içinde, hücrelerin fonksiyonlarında ya da dışarıdan gelen stress ve enfeksiyonlara cevap verme yeteneğinde değişiklikler olmaktadır. Son yıllarda evrimsel genetiğin daha fazla gelişmesiyle yaşlanma olayının daha çok genlerle ve mutasyonların birikimi ile ilgili olduğu fikri egemen olmaya başlamış ve bu konudaki çalışmalara ağırlık verilmiştir.

## 1.5.1. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler

### A. İç Faktörler

- 1- Genetik Yapı
- 2- Soy Farkları
- 3- Eşey
- 4- Metabolik Hız ve Metabolik Olaylar
- 5- Anasal Yaşın Ömür Uzunluğuna Etkisi
- 6- Yumurtlama
- 7- Genetik Yapıda Melez Dinçliği

### B. Dış Faktörler

- 1- Sıcaklık
- 2- İyonize Edici Radyasyonun Ömür Uzunluğuna Etkisi
- 3- Nem
- 4- Işık
- 5- Beslenme
- 6- Popülasyon yoğunluğu

### 1.5.2. Yaşlanma Teorileri

Yaşlanmanın temel prensip ve özelliklerini açıklamaya çalışan biyolojik mekanizmalar genellikle teori seviyesindedir ve hiç biri tek başına yaşlanmayı açıklamak için yeterli değildir. Bu nedenle bu teorilerin öğrenim kolaylığını da saptamak için çeşitli sınıflamalar yapılmıştır.

1. Somatik mutasyon teorisi: Somatik mutasyon teorisinde, DNA hasarına hücre sel cevap kapasitesinin, yaşlanma olayında önemli bir belirleyici olduğu bildirilmiştir. DNA hasarına cevap, DNA'da meydana gelen hasarların tespiti, tamiri ve apoptoz ile hücre siklusunun kontrolü aşamalarından oluşmaktadır (Slijepcevic vd.,2008).

2. Serbest radikal teorisi: En çok kabul gören ve incelenen teoridir (Harman, 1956). Bu teori, yaşlanmaya serbest radikallerin sebep olduğunu savunmaktadır. Bu kimyasallar oksijen kullanan tüm hayvanlarda doğal olarak oluşmaktadır. Vücut hücreleri içinde oluşarak, hücre zarını, hayati proteinleri, yağları ve DNA'yı hasara uğrattırır. Serbest radikaller en dış elektron zarfında bir elektron kaybetmiş ve dolayısıyla bu elektron açığını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalışan atomlardır.

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalleridir.

Bu teoriye göre, vücudumuzda oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge söz konusudur, yaşla birlikte bu denge hasar yapıcıların lehine değişmekte ve vücut sistemlerimiz hasara uğramaktadır. Bu teoriye göre bazı insanlar yaşam süresini uzatmak için, antioksidan maddeleri dışarıdan fazla miktarda almanın faydalı olabileceğini düşünmektedirler. Bugün için bu düşüncüyü kesin olarak kanıtlayacak insan üzerinde yapılmış çalışma yoktur, fakat hayvan deneyleri diyetle antioksidan eklenmesinin faydalı olduğunu göstermektedir.

Doğal olarak, vücudun ihtiyacı olan antioksidanlar farklı besin maddelerinin dengeli olarak alınması ile karşılanabilir. Kaldı ki, antioksidan olarak görev yapan C vitamini, fazla miktarda alındığı takdirde, kendisi oksidasyon olayını tetiklemektedir. Bu teoriye göre, yaşam boyu sürekli serbest radikallere maruziyet sonucunda hücre hasarı oluşturmakta, hücrelerin büyüme, gelişme ve farklılaşma fonksiyonlarında bozulma, kanser, ateroskleroz gibi hastalıklar veya ölüm olmaktadır. Serbest radikaller DNA hasar teorisinde belirtilen hasarın en önemli nedenidir. Tüm bu sonuçlar vücudun antioksidan sisteminin çok önemli olduğunu ve yeterli düzeyde tutulması gerektiğini ortaya koymaktadır. Vücudumuz doğal metabolizmamız esnasında da oluşan, dışarıdan da alabildiğimiz bu hasar yapıcı maddelere (serbest radikallere) karşı kendisini koruyabilmek için "antioksidanlar" olarak tanımlanan yapıları kullanır, bu sayede serbest radikal hasarının çoğunu bloke eder. Bazı antioksidanlar (SOD, GSH, katalaz) vücut tarafından üretilir, bazıları da (vitamin A, C, E) besinlerle dışarıdan alınır (Ames vd., 1993).

3- Genetik yaşlanma teorisi: Kişilerin yaşam süresini soy, cins ve ırktan gelen DNA programlarına dayandıran bir teoridir. Örneğin, dünya çapında kadınların erkeklere göre beklenen yaşam süresi daha uzundur. Yaşlanmanın genetik teorisi (yaşlanmanın moleküler saat teorisi) yaşlanma prosesini, gittikçe ilerleyen arterioskleroz (artherosclerosis=damar sertleşmesi) gibi bozukluklara neden olan genetik ön karakter değişimlerine bağlamaktadır. Bu teoriyi savunan bilim adamları, yaşlanmanın nedeninin genetik şifremizde yazılı olduğunu, yani bizim ne zaman yaşlanacağımızın belli olduğunu ileri sürmektedirler. Bu bilim adamlarına göre, erken dönemdeki büyüme ve gelişmenin bir program izlemesi gibi, olgunluk, yaşlanma ve ölüm de bir program izlemektedir (Jazwinski 1996).

4- Endokrin teorisi: Endokrin bezlerin hormon salgılamalarındaki düzensizlik veya yetersizlik yaşlanmayı başlatmaktadır. Yaşlanmanın nedeni olarak pineal bezden salgılanan uyku-uyanıklık dönem regülasyonunda önemli rolü olan melatonin hormonunu (Reiter 1994) ya da böbrek üstü bezinden salgılanan dehidroepiandrosteron (DHEA)'un azalması (Barrou vd.,1997) gösterilmektedir. Genç insanlarda kan düzeyi, yaşlılardakinden daha fazladır ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda DHEA takviyesinin sağlıklı kalmak ve daha uzun süre yaşamak konusunda etkili olduğu gösterilmiştir.

5- İmmünolojik teori: Bu teoriye göre yaşlanmanın nedeni, yaş ile birlikte bazı hormonların düzeyindeki azalma ya da bağışıklık sistemindeki zayıflamadır. Hücresel bağışıklık için çok önemli bir görevi olan timus bezinin ergenlikten sonra fonksiyonlarında önemli oranda azalma olması, yaşlanmada timus bezinin önemli bir

rolü olduğunu düşündürmektedir. Yaşlanma ile birlikte vücudumuzun hastalıklarla savaşan silahı olan bağışıklık sisteminin fonksiyonları azalmakta, viral, bakteriyel ya da diğer hastalık yapıcı etkenlere giriş yolu açılmaktadır. Ayrıca vücudun yaşlanma ile beraber yabancı ile kendi vücut elemanlarını tanıma (yabancıyı ayırma) yeteneği azalmaktadır. Yani, immün sistem yaşlanınca, vücudun kendi dokuları ile yabancı maddeler arasındaki farkı tanıma yeteneğini kaybetmeye başlar ve sonuç olarak da, eskiden istila eden organizma ile savaşırken, şimdi kendi vücuduna saldırır ve hastalık oluşturur (Walford, 1974).

6- Nöroendokrin teori: Bu teoriye göre yaşlanma, vücudun kimyasalları engelleme ve dışarı atma (negative feedback mechanism) mekanizmasının hassasiyetinin azalması neticesinde oluşmaktadır. Bu sistem sayesinde, hayat boyu hormonal denge sistemimiz hipotalamus tarafından yönetilmektedir. Bu teorinin en önemli dayanağı, hipotalamo-hipofizer aksın büyümenin düzenlenmesinde ve yaşlanmanın temel mekanizmalarında yer alıyor olmasıdır. Özellikle kadınlarda üretkenlik sona erince bu aksın fonksiyonlarında da hızlı bir azalma olmaktadır. Bu teori hipofizektomi (hipofiz bezinin çıkartılması) yapılmış farelerde de test edilmiş ve doğrulanmıştır (Mobbs, 1996).

7- Antagonistik pleiotropi teorisi: Bu teori, viabilite (= yasayabilirlik, canlılık) ve fekunditeyi (= yumurta üretimi) düzenleyen allellerin ilerleyen yaşlarda ömür uzunluğu üzerinde negatif bir etkiye sahip olduklarını ileri sürmektedir (Williams 1957; Rose 1985). Diğer bir ifadeyle, ömür uzunluğunun gen allellerinin genç ve ileri yaşlardaki pleiotropik etkisi dolayısıyla ortaya çıkabileceği, erken yaşlarda yararlı etkisi olan



genlerin sonraki dönemlerde zararlı etkilerinin görülebileceği ileri sürülmektedir. Partridge (2001)'e göre, antagonistik pleiotropinin yaşlanma üzerine etkisi mutasyon birikiminden daha fazladır. Yukarıda açıklanan teorilerin hiç birisi, tek başına yaşlanmayı açıklamak için yeterli değildir. Tüm bu teorilerin yanında, yaşlanmayı ve ömür uzunluğunu etkileyecek başka faktörler de mevcuttur.

Bu çalışmada, *Citrus aurantium* (turunç) meyve suyunun *Drosophila melanogaster* üzerine gerontolojik ve SMART testi ile genotoksik, anti-genotoksik etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır.

## **1.6. Kaynak Özetleri**

### **1.6.1. *Drosophila melanogaster* ile Yapılan Anti-genotoksite Çalışmaları**

*Drosophila melanogaster* bugüne kadar çeşitli kimyasal ve fiziksel etkenlerin genotoksik etkilerinin araştırılmasında kullanılmıştır.

Graf vd. (1994) üç bitkisel çay, bir siyah çay, bir brendi ve beş şarap çeşidini SMART ile test etmişler ve kırmızı şaraplardan biri belirgin bir genotoksik etkiye neden olmuştur. Bitki çaylarının (*Urtica dioica*, *Achillea millefolium*) ve siyah çayın (*Camelia sinensis*) zayıf genotoksik olduğunu belirlemişlerdir.

Abraham vd. (1996), kahvenin siklofosfamid, mitomisin C ve üretanın indüklediği somatik mutasyon ve mitotik rekombinasyona karşı koruyucu etkisini araştırmışlardır. Çalışmada standart çapraz ve promutajenlere daha duyarlı yüksek biyoaktivasyon çaprazı kullanılmış ve genotoksinler değişik dozlarda ayrı ayrı ve/veya kahveyle birlikte besiyerine eklenerek uygulanmıştır. Çalışma sonucunda her iki çaprazda da artan kahve dozuna bağlı olarak genotoksinlerin indüklediği somatik mutasyon ve mitotik rekombinasyonun azaldığı belirtilmiştir.

Yeşilada vd. (1999) zeytinyağı fabrikası atık suyunun genotoksik etkisini *Drosophila* kanat benek testi ile araştırmışlardır. Bu araştırmacılar, zeytinyağı fabrikası atık suyunun yüksek konsantrasyonlarda letaliteyi arttırdığını ve tüm dozlarda genotoksik etki gösterdiğini saptamışlardır.

Kaya vd. (2002) yaptıkları bir çalışmada, antioksidan özelliğe sahip olan askorbik asitin (vitamin C) mutajenlerin genotoksikitesini üzerindeki hafifletici etkisini araştırmışlardır. Çalışmada mwh ve *flr* çaprazı sonucu oluşan transheterozigot 3 günlük larvalar, kobalt klorid (CoCl<sub>2</sub>), 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) ve potasyum di kromat referans mutajen bileşenleriyle muamele edilmiştir. Larvalara uygulanan askorbik asidin üç farklı dozunun ( 25, 75 ve 250 mM) mutant kolonilerin frekansında önemli bir artışa neden olmadığı gözlenmiştir. Mutajen bileşenlerle askorbik asitin beraber uygulanmasında ise farklı sonuçlar elde edilmiştir. Askorbik asit K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>'nin genotoksik etkisini azaltıcı özellik gösterirken, 4-NQO mutajenik bileşenin genotoksikitesini üzerinde hiçbir antigenotoksik etki göstermemiştir. Askorbik asidin, CoCl<sub>2</sub> ile birlikte

uygulanmasında ise, CoCl'nin tek başına uygulanması sonucu gözlenen mutant kolonilerin frekansından daha yüksek değerde mutant koloni frekansı gözlenmiştir. Araştırmacılar bunu antioksidan özelliğe sahip olan vitamin C'nin, aktif oksijenin etkisini azaltmasına rağmen, Cu<sup>+2</sup>, Mn<sup>+2</sup>, Fe<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup> gibi metallerin askorbik asit varlığında daha tehlikeli hale gelmeleriyle açıklamışlardır. Yapılan çalışma sonucunda araştırmacılar, in vivo modellerde askorbik asitin genotoksik görülmemesine rağmen, bazı şartlar altında genotoksik etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

El Hamss vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada, kırmızıbiber (*Capsicum annuum*) ve karabiberin (*Piper nigrum*) metil metan sulfonata (MMS) ve bir promotajen olan etil karbamata karşı antigenotoksik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada biberlerin eşit miktarları suda bekletilmiş ve süzöldükten sonra ayrı ayrı ve genotoksinlerle ön uygulama ve birlikte uygulama olmak üzere verilmiştir. Kırmızıbiberin her iki genotoksinin de neden olduğu benek tiplerini azalttığı, karabiberin ise sadece etil karbamatin indüklediği benek tipleri üzerine inhibitör etki gösterdiği ancak metil metan sulfonatin genotoksik etkisini önleyemediği belirtilmektedir. Her iki türünde antimutajenik etkilerinin metabolik aktivasyonu baskılamalarından veya mutajenlerin aktif gruplarıyla etkileşime girmelerinden kaynaklanmış olabileceği rapor edilmiştir.

Romero vd. (2005) yaptıkları çalışmada yaygın olarak kullanılan altı bitkisel içeceğin *Matricaria chamomilla* (papatya), *Tilia cordata* (ıhlamur), *Mentha piperita* (nane), *Menthapulegium* (yarpuz, yabancı nane), *Uncaria tomentosa* (kedi pençesi) ve *Valeriana officinalis* (kedi otu) genotoksik ve oksidatif bir madde olan hidrojen peroksitine karşı

antigenotoksik etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla insanların genellikle günlük aldıkları miktar olacak şekilde hazırlanmış ve standart çapraz larvalarına değişik dozlarda ayrı ayrı ve tek doz hidrojen peroksitle birlikte verilmiştir. Test edilen bitkilerden ıhlamurun en yüksek dozu toplam benek sayısında pozitif sonuç vermiş ancak diğerlerinin hiçbir dozu genotoksik çıkmamıştır. Hidrojen peroksitin indüklediği tüm benek tiplerini ise tüm içeceklerin azalttığı yani hidrojen peroksitle karşı antigenotoksik etkilerinin olduğu ve bu durumun içeceklerin içeriğindeki fenolik bileşiklerin hidrojen peroksit kaynaklı reaktif oksijen türlerini süpürmelerinden kaynaklandığı belirtilmektedir.

Sarıkaya vd. (2005) *Drosophila* SMART testi ile dört gıda koruyucusunun (sodyum nitrat, sodyum nitrit, potasyum nitrat ve potasyum nitrit) genotoksitesini ve bu maddelerin letal dozlarını belirlemişlerdir. Uygulama gruplarında toplam mutasyon ve mutasyona sahip kanat sayısı arasında pozitif bir korelasyon görülmüştür. Ayrıca, her iki kanatta gözlenen mutasyonlar mutasyonun tipine ve boyutuna göre de sınıflandırmışlardır. Kullanılan kimyasalları toksik ve genotoksik etkilerine göre sodyum nitrit, potasyum nitrit, sodyum nitrat ve potasyum nitrat olarak sıralamışlardır. Dahası, özellikle dört kimyasal karıştırıldığında, toksik ve genotoksik etkinin önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir.

Çakır vd. (2005), bazı organofosfat insektisitlerinin (methyl parathion, azamethiphos, dichlorvos ve diazinon) farklı dozlarının *Drosophila* kanat SMART testi ile genotoksitesilerini değerlendirmişler ve toplam mutasyon ile mutasyona sahip kanat sayısı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca, kullanılan

kimyasalların genotoksik etkilerine göre diazinon, dichlorvos, methyl parathion, azamethiphos olarak sıralandığını belirlemişlerdir.

Costa vd. (2006) yaptıkları bir çalışmada, vitamin (vitamin C, E ve B-karoten) ve mineral (bakır, selenyum ve çinko) karışımlarının, serbest radikallerin oluşuma neden olan kanserojen özellikle doksorubisin'e karşı olan antigenotoksik etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada *Drosophila melanogaster*'in kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testini kullanmışlardır. Çalışmada hem standart hem de yüksek biyoaktivasyon çaprazı kurulmuştur. Her iki çapraz sonucu oluşan larvalar, vitamin/mineral karışımlarının çeşitli dozlarıyla beslenmişlerdir. Bunun sonucunda karışımların herhangi bir genotoksik etkiye sahip olmadığı saptanmıştır. Multivitamin/mineral (MV) karışımının 0.125 mg/ml doksorubisin ile beraber ya da ön uygulama ile verildiğinde ise doksorubisin'nin genotoksitesinde önemli bir azalma gözlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda MV karışımının herhangi bir genotoksik etkiye sahip olmadığı ancak doksorubisin'nin genotoksik etkisine karşı antigenotoksik etkili olduğu rapor edilmiştir.

Fragiorge vd. (2007) *Drosophila melanogaster* üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, antioksidan özelliğe sahip olan askorbik asidin, antitümör etki gösteren doksorubisin'in genotoksitesisi üzerindeki hafifletici etkisini araştırmışlardır. Çalışmada hem standart hem de yüksek biyoaktivasyon çaprazı kurulmuştur. 50 ve 100mM'lık 2 farklı konsantrasyonda uygulanan askorbik asidin tek başına benek frekansı üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı saptanmıştır. Çalışma sonucunda askorbik asidin doksorubisin

tarafından oluşturulan serbest radikalleri ve muhtemel diğer reaktif metabolitleri engellediği belirtilmiştir. Askorbik asidin *Drosophila melanogaster*'in somatik hücreleri üzerindeki doksorubisin'e karşı olan bu koruyucu etkinin direkt olarak sitokrom P450 enzimlerinin aktivitesiyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir.

Valaderes vd. (2008) antitümör bir ajan olan doksorobisine karşı propolisin (arıların reçinelerden doğal olarak yaptığı, kovanlarının çatlaklarını kapattıkları, peteklerin içini kapladıkları, dış saldırılara karşı savunmada ve kovana steril etmede kullandıkları yapışkan bir madde) antigenotoksik etkisini araştırmışlardır. Propolis suda 12,5, 25,0 ve 50.0 mg/mL dozlarında olacak şekilde çözülerek ortalama 48 saatlik larvalara her doz ayrı ayrı ve doksorobisinin 0.125 mg/mL dozuyla birlikte verilmiş ve sonuçlar değerlendirildiğinde; hiçbir propolis dozu genotoksik etki göstermemiş ve hatta negatif kontrolde beklenen mutasyonları bile engellediği rapor edilmiştir.

Bitkilerden elde edilen antioksidan maddelerin mutajenik, karsinojenik ve rekombinojenik aktiviteleri engellediği bilinmektedir.

Patenkovic vd. (2009) yapmış oldukları çalışmada adaçayının (*Salvia officinalis*) kuvvetli bir genotoksik madde olan metil metansülfonatın (MMS) induksiyonu ile oluşan genotoksisiteyi giderdiğini göstermişlerdir.

Mendanha vd. (2010) yaptıkları çalışmada brezilyada murci diye bilinen *Byrsonima verbascifolia*'nın SMART ile *Drosophila melanogaster*'in somatik hücrelerinde

antineoplastik bileşik doksorubisinin hasarını azaltabilecek etkisinin olup olmadığını belirlemek için genotoksik etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana gelmiştir.

Passos vd. (2010) yaptıkları çalışmada Brezilyada halk arasında bilinen adıyla “douradinha”, bir şifalı bitki olan *Palicourea coriacea*'nın SMART ile *Drosophila melanogaster*'in somatik hücrelerinde *P. coriacea* sulu sitotoksik, genotoksik ve olası antigenotoksik etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *P. coriacea* sulu özütü belirlenen dozlarda sitotoksik veya genotoksik olmadığı sonucuna, ancak doksorubisin genotoksik etkisine karşı koruyucu olduğu tespit edilmiştir.

Felício vd. (2011) yaptıkları çalışmada *Luehea divaricata* "açoita-Cavalo" olarak bilinen Brezilya da yetişen bir bitki kullanılmıştır. Bu dizanteri, kanama, tümörler, ülserler ve kangren yaralarının tedavisinde popüler bir bitkisel ilaç olarak kullanılır. Bitkisel ilaçlar bazen tümörlerin yok olmasına ve / veya mutasyon olayları önleyebildiği düşünülürse, DNA üzerindeki bu doğal ilaçların etkisini incelenmiştir. *L. divaricata* kabuğunun sulu ekstresi, üç farklı konsantrasyonda (0.10, 0.30, 0.50 mg / ml), tek tek ve SMART ile neoplastik ilaç, doksorubisin ile *Drosophila melanogaster*' de SMART testi ile değerlendirildi. Sonuç olarak noktaların sıklığında azalmalar görülmüştür.

Demir vd. (2011) yaptıkları çalışmada ayçiçeği ve soya yağlarının, *Drosophila melanogaster*'in kanat somatik mutasyon testi (SMART) ile genotoksik etkisi test edilmiştir.

### 1.6.2. *Drosophila Melonagaster* ile Yapılan Gerontolojik Çalışmalar

*Drosophila melonagaster* genotoksisite çalışmalarında olduğu kadar gerontolojik araştırmalarda da kullanımı tercih edilen bir model organizmadır.

Economus (1986) *Drosophila*'da ergin dönemdeki sıcaklık değişimlerinin ömür uzunluğunu etkilediği ve yüksek sıcaklıklarda daha kısa ömür uzunluğuna sahip oldukları bildirmiştir.

Pearl vd. (1923) *D. melanogaster*'de melez genotipin ömür uzunluğunun denetiminde çok etkili olduğu ve melezlerin arı döl ebeveynlerden daha uzun yaşadıkları göstermişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada *D. melanogaster*'de yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, virjin (döllenenmemiş) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları gözlemlenmiştir (Gowen vd., 1946).

Sürekli karanlık ortamda yaşatılan *D. melanogaster* erkeklerinde %20, dişilerinde ise %43'e varan ömür uzunluğu artışı gözlenmiştir (Allemand vd., 1973; Bağcı vd., 1991).

Ömür uzunluğunun stres dirençliliğine bağlı olduğu ve strese cevap veren genlerin yaşlanma hızına büyük bir etkisinin olduğu belirtilmiştir (Lithgow vd., 1995; Lin vd., 1998; Harshman vd., 1999; Tatar 1999; Arking vd., 2000; Le Bourg vd 2001).



Setsini (1991), yüksek sıcaklığın metabolik aktiviteyi ve bu bağlamda solunum hızını ve serbest radikal oluşumunu arttırarak hücrel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya neden olduğunu göstermiştir.

Ames vd. (1993) canlıların vücutlarında oksidan-antioksidan oranlarını iyi ayarlanmasının sağlıklı yaşam ve verim fonksiyonları açısından son derece önemli olduğunu savunmaktadır. Bu teoriye göre, yaşam boyu sürekli serbest radikallere maruz kalınması sonucunda hücre hasarı oluşmakta, hücrelerin büyüme, gelişme ve farklılaşma fonksiyonlarında bozulma, kanser veya ölüm meydana gelmektedir.

Lithgow vd. (1995) tarafından, ömür uzunluğunun stres dirençliliğine bağlı olduğu ve strese cevap veren genlerin yaşlanma hızına büyük bir etkisinin olduğu bildirilmektedir.

Cook vd. (1996), antioksidan aktivitenin yaşam için çok önemli olduğunu ve antimitojenite, antikarsinojenite, antiaging gibi biyolojik fonksiyonların birçoğunun bu özellikten kaynaklandığını belirtmişlerdir.

*Drosophila melanogaster*'in normalden daha uzun yaşayan soylarında ömür uzunluğundaki artışın antioksidan sisteme ait genlerin ekspresyonu, Cu/Zn-SOD protein üretimi ve ADS (antioksidan savunma sistemi) enzim aktivitelerinde meydana gelen artıştan kaynaklandığı ve bu sebeple oksidatif strese karşı direnç gösterdikleri belirtilmiştir (Arking vd., 2000).

Yeşilada vd. (2000) yaptıkları çalışmada Kadmiyum nitratın *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırmışlardır. Ergin yaşamda sürekli olarak verilen kadmiyum nitrat bütün gruplarda ortalama ömür uzunluğunun kısalmasına neden olduğu tespit edildi. Ayrıca kadmiyum nitratın genç ve yaşlı populasyonlar üzerine etkileri karşılaştırmışlardır. Genç populasyonlar kadmiyumlu besiyerinde yaşlılara göre daha uzun yaşadığını tespit etmişlerdir.

Uysal vd. (2002) yaptıkları çalışmada halk arasında sakal likeni (Old men's beard) olarak bilinen *Usnea longissima* Ach. (Ascomycota, Parmeliaceae) likeninin *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırma yapmışlardır. Çalışma sonucunda Ule uygulanan hem dişi hem de erkek bireylerde ilk üç konsantrasyonda (0,5-1,5) ortalama ömür kontrole göre artarken, son iki konsantrasyonda (2,0- 2,5) ortalama ömür kontrol ve diğer uygulama gruplarına göre kısaldığı bildirilmiştir.

Yılmaz (2006) yaptığı çalışmada anasal yaşın yavru döl ömür uzunluğu üzerine olan etkisi populasyon ve eşey bazında incelemiştir. Çalışma sonucunda yapılan analiz de anasal yaş gruplarına göre yaşlandırılan bireylerin yaşlanma örüntüsünün populasyon ve eşeye göre farklılık gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Ayar (2008) yaptığı çalışmada *Drosophila melanogaster*'in oregon R yabanıl ve *vestigial* mutantsoylarında ekstrem sıcaklık şartlarının ömür uzunluğu üzerine etkilerini incelemiştir. Bu amaçla deney gruplarına farklı sürelerde (1, 2 ve 3 saat) 39°C sıcak soku ve -3°C soğuk şoku uygulamıştır. Çalışma sonucunda kontrol ve deney

gruplarından elde edilen verilere göre, hem Oregon R yabanıl, hem de *Vestigial* mutant soyların dişi ve erkek gruplarında artan uygulama sürelerine paralel olarak ortalama ömür uzunluklarının kısaldığı rapor edilmiştir.

Sarıkaya (2003) yaptığı çalışmada sodyum nitrit, sodyum nitrat, potasyum nitrit ve potasyum nitrat içeren çeşitli katkı maddelerinin de *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunu kısalttığı belirtilmiştir.

Dumlupınar vd. (2008) tarafından yüksek sıcaklığa maruz bırakılan *D. melanogaster*'in ergin bireylerinde, Si, Cu, Al, Ca gibi çeşitli elementlerin miktarları ölçülmüş ve uygulama süresine bağlı olarak bu elementlerin miktarlarında değişimler olduğunu bildirmiştir.

Zahira Fernández-Bedmar vd. (2011) yaptıkları çalışmada limon ve portakal sularının *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak her ikisinde olumlu yönde bir etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Shilpa Rawal vd. (2014) yaptıkları çalışmalarında beктаşi üzümü ve zerdaçal üzerine yaptıkları çalışmada *Drosophila melanogaster*'in ömrünü uzattığı görülmüştür. Zerdaçalın etkisinin beктаşi üzümünden fazla olduğu gözlemlenmiştir. Her iki bitki türü de yüksek reaktif oksijen türleri (ROS) olarak yaşlanmanın serbest radikal teorisini destekler faaliyet göstermiştir.

## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

### 2.1. Bitki materyali

Ömür uzunluğu ve anti-genotoksisite araştırmalarında kullanılan *Citrus aurantium* (turunç) meyvesi Hatay ilinin İskenderun ilçesi Güzelköy sınırları içinde tarımsal ilaç ve zirai gübre kullanılmayan tarım alnından temin edilmiştir. Meyveler taze olarak, suyu sıkılmak suretiyle kullanılmıştır.

### 2.2. Yöntem

#### 2.2.1 Somatik Mutasyon Ve Rekombinasyon Testi

##### 2.2.1.1. *Drosophila* Stokları

SMART için *Drosophila melanogaster*'in sık kanat kıllığı ( multiple wing hair, *mwh* /*mwh* ) ve düzensiz kanat kıllığı (*flair*, *flr<sup>3</sup>/TM3*, *Bd<sup>S</sup>*) genlerine sahip 2 mutant ırkı kullanılacaktır. *mwh* geni 9.kromozom üzerinde 0,3 bölgesinde bulunur, homozigot çekinik bir mutasyondur. Kanat hücrelerinde normalde tek hücreden tek kıl çıkarken, *mwh* geni taşıyan bireylerde her bir kanat hücresinden birden fazla kıl çıkar. *flr<sup>3</sup>* geni 3.kromozomda 38,8 bölgesinde bulunur. Fenotipte körelmiş kıl şeklinde görülür ve homozigot olduğunda olduğundan da lethal olup TM3 geni ile dengededir.

### 2.2.1.2.Doksohubisin

Turuncun antigenotoksik etkisinin değerlendirilmesinde doksohubisin (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, USA) kullanılmıştır.

### 2.2.2.Çalışmada Kullanılan Çapraz

Çalışmada normal düzeyde sitokrom P-450 aktivitesine sahip standart çapraz (ST) kuruldu. Standart çaprazı kurmak için *mwh* erkekleri ve yumurta verimi daha fazla olan *flr<sup>3</sup>/TM3, Bd<sup>S</sup>* soyunun bakire dişileri kullanıldı.

### 2.2.3.Deney Koşulları

#### 2.2.3.1. Çevre Koşulları

*Drosophila* stok kùltürleri, %40-60 bağıl nem, 25±1°C sıcaklık ile sürekli karanlık koşullarını taşıyan ısıtmalı-soğutmalı sıcaklık kabinlerinde, Standart *Drosophila* Besi yeri (SDB) içeren şişelerde yaşatılmaktadır. Kùltür şişeleri 250 ml'lik süt şişeleri olup dip kısmından 2-3 cm yüksekline kadar besin maddesi içermektedir. Stokların yenilenmesi, taze hazırlanmış besin içeren şişelerin her birine 5 ♀♀ X 5 ♂♂ birey çaprazlaması yapılarak sağlanmıştır. Stokların yenilenme işlemi, ortalama her 15 günde bir tekrarlanmıştır. Sinekler sadece taze besin ortamına aktarılmaları sırasında aydınlığa çıkarılmıştır.

#### 2.2.4. Besiyerinin Hazırlanışı

Çalışmalarımız sırasında *Drosophila* kültürlerinin saklanması, çoğaltılması ve çaprazlanması aşamalarında standart besi yeri kullanıldı. SMART testinin bir bölümünde ise hazır *Drosophila* besiyeri kullanıldı. Standart besiyeri mısır unu, toz şeker, bira mayası, agar agar ve asit karışımından oluşmaktadır. Besiyerinde kullanılan asit karışımında propiyonik asit, ortofosforik asit ve distile sudan oluşmaktadır. Bu asit karışımı besiyerinin kontaminasyonunu engellemek amacıyla antifungal olarak kullanılmaktadır. Bu karışım kullanılmadığı takdirde besi yeri fungus ile kontamine olduğundan, bireylerin gelişimi olumsuz yönde etkilenmekte ve dişilerde yumurta verimi düşmektedir. Asit karışımı stok olarak hazırlanır ve besiyeri pişirildikten sonra stok iyice çalkalanarak yeterli miktarı besin ortamına eklenir. Besiyeri hazırlamak için asit karışımı hariç gerekli tüm katı maddeler ve distile su yeterli büyüklükte ve ateşe dayanıklı bir kap içine konulur ve karıştırılarak kaynatılır. Karışım kaynamaya başlayınca 10 dakika daha kısık ateşte karıştırılarak pişirilir.

Ateşten indirilen besiyerine gerekli miktarda asit karışımı ilave edilerek asidin eşit olarak dağılması için iyice karıştırılır. Bu şekilde hazırlanan besi yeri soğumadan steril olarak bekletilen 250 ml lik kültür şişelerine 1-2 cm yüksekliğinde dökülür. Şişelerin üzerleri temiz kurutma kâğıdı ile kapatılarak besiyerleri soğutulur ve katılaşmaya bırakılır. Besiyeri katılaştıkça şişelerin ağzı hidrofob pamuk ve gazlı bezden yapılmış steril tampon ile kapatılır. Hazırlanan besi yeri üç gün içerisinde kullanılmadığı takdirde bozulur. Bu nedenle larva toplama aşamasına kadar yapılan deneyler için, her seferinde

taze besiyerleri hazırlandı. Çalışmalarımızın bir bölümünde Instant *Drosophila* Medium, Carolina Biological Supply Company, Burlington, N.C'den temin edilen hazır besiyeri kullanıldı. Bunun için 7.5 cm yüksekliğinde 2.5 cm çapında steril olarak bekletilen tüplere 0.5'er gram hazır besiyeri konuldu. Bu besi yerine daha sonra distile su, turunç suyu ve/veya doksorubisin çözeltileri çalışma gruplarına uygun olarak eklendi.

### **2.2.5. Bayıltma Yöntemi**

Çalışmaların çeşitli aşamalarında, çalışmayı olası kılmak amacıyla ergin bireyler bayıltıldı. Bu amaçla eter kullanıldı. Bayıltma işlemi şu şekilde gerçekleştirildi:

Kapalı bir kap içerisindeki süngere bir kaç damla eter damlatıldı. Sinekler kapalı kap içerisine alındı. Eterli tampon ile kapatılmış bayıltma şişesinde bir iki dakika kalan sinekler baygın halde gerekli alana alınarak çalışmalar yapıldı.

### **2.2.6. SMART 'ın Uygulanışı**

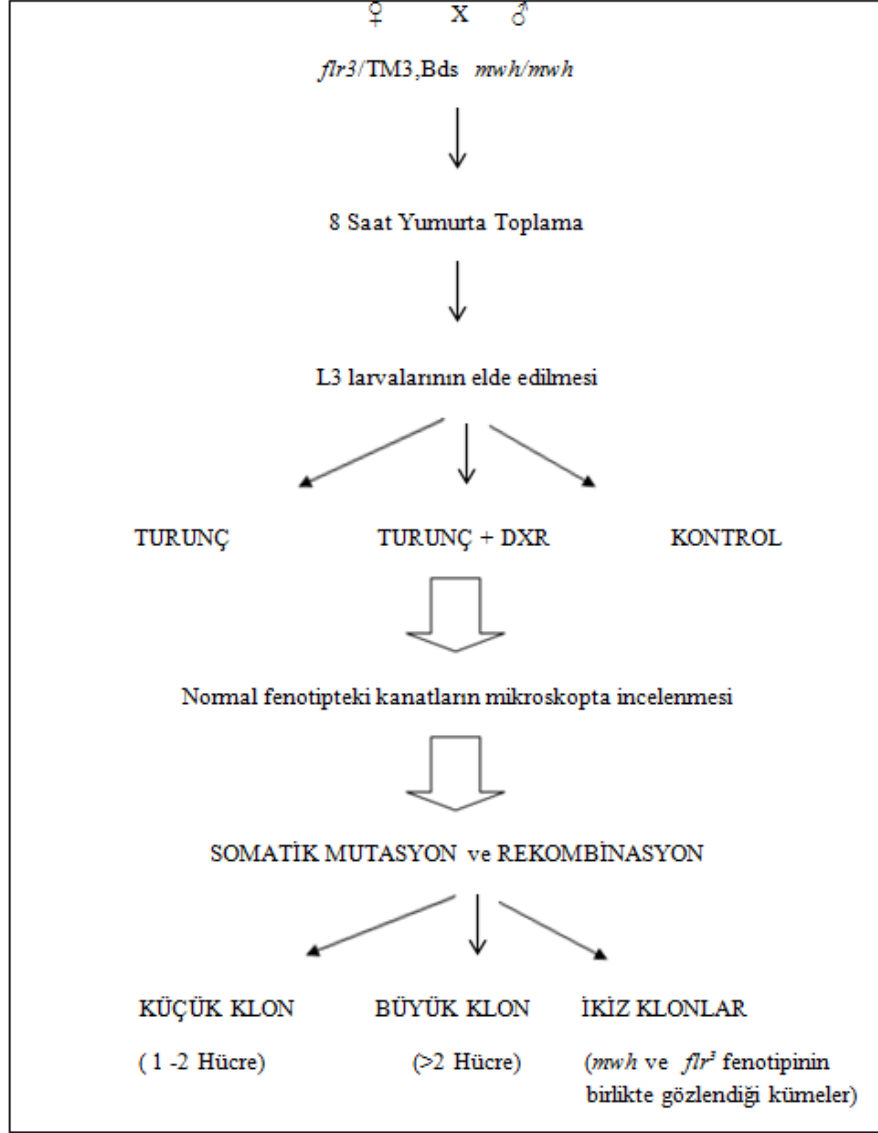
Uygulamaların yapılacağı trans-heterozigot larvaları elde etmek için, erkek *mwh* bireyleri ile virjin *flr<sup>3</sup>* dişi bireyleri kullanılarak çaprazlamalar yapılmıştır. Dişilerin döllenmesi için bilinen bir genotipten spermlerin kullanılması *Drosophila* somatik mutasyon ve rekombinasyon test sisteminde temeldir. Bakire dişi bireylerin toplanabilmesi için, *flr<sup>3</sup>* stokunun bulunduğu kültür şişesindeki ergin bireyler ortamdan

uzaklaştırılmıştır. Hiç ergin bireyin bırakılmadığı *flr* kültür şişesinden 4'er saat aralıklarla pupadan çıkan dişi bireyler toplanarak yeni besiyerine aktarılmıştır. Bireylerin yaşı üreme verimi üzerine etkili olduğundan benzer şekilde *mwh* stokundan genç erkek bireyler seçildi ve farklı bir besiyerine aktarılmıştır. Yeterince birey toplandıktan sonra taze besiyeri kullanılarak standart çapraz yapılmıştır. Döllenmenin ve embriyogenezin gerçekleşebilmesi için bireyler bir gün süre ile çaprazlama şişesinde bırakılmıştır. Çaprazlanan bireyler yeni bir besi yerinde sekiz saat bekletilerek yumurta bırakmaları sağlanmıştır. Bu süre sonunda erginler yumurta bıraktıkları besiyerinden uzaklaştırılarak farklı bir kültür şişesine alınmıştır. Besiyerine bırakılan döllenmiş yumurtalardan çıkan larvaların üçüncü larva evresine (üçüncü instar) erişmesi için 72 saat sonra larva toplama işlemi yapılmıştır. Ardından, 100'erli gruplar halinde ayrılmıştır. 1,5 gram hazır *Drosophila* ortama (Instant *Drosophila* Medium, Carolina Biological Supply Company, Burlington, N.C.) turunç suyuyla ıslatılarak, larvalar ortama gömülmüştür. Ön denemelerle belirlenen farklı dozlarda alınarak *Drosophila*'nin besiyerine katılmıştır. Her bir konsantrasyon için uygulama en az üç kez tekrarlanmıştır.

Ayrıca su ve doksorubisin ile kontrol grubu deneyleri yapılmıştır. Meyve suları, doksorubisin ve su içeren standart besi ortamına alınan larvalar gelişimlerini tamamlamaya bırakılmıştır. Pupadan çıkan ergin bireyler eterle bayılarak cinsiyet ve fenotiplerine göre normal kanatlı dişi, normal kanatlı erkek, kırık kanatlı dişi ve kırık kanatlı erkek şeklinde gruplandırılmıştır. Her doz için pupadan çıkan birey sayıları tespit edildikten sonra normal kanat şekline sahip bireylerden sadece dişiler ayrılarak diğerleri atılmıştır. Seçilen bu dişi bireyler kanat preparatları hazırlanana kadar bekletilmek üzere



%70'lik etanol içeren tüplere alınıp +4°C de saklanmıştır. Bu çalışmada uygulanan SMART testinin uygulanma biçimi Şekil 2.1 de gösterilmiştir.



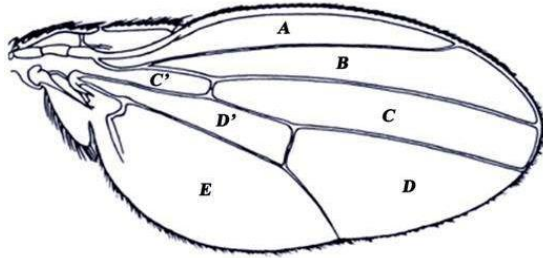
**Şekil 2.1.** Uygulanacak Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinin şematik gösterimi (Demir, 2011' den değiştirilerek)

### 2.2.7. Kanat preparatlarının Hazırlanması

Normal fenotipli dişi bireyler içerisinde distile su bulunan petriye alınmıştır. Sterio mikroskop altında pens yardımıyla kanatlara gövdelerinden ayrılarak lam üzerine yerleştirilmiştir. Preparatlar kuruduktan sonra faure solüsyonu kullanılarak kanatlar lam üzerine tespit edilmiştir. Lamel ile kapatılan preparatlar petri kaplarının içinde kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra kenarları tırnak cilası ile kapatılarak uzun süreli preparatlar elde edilmiştir. (Graf vd., 1984).

### 2.2.8. Kanatların Mikroskopik Analizleri

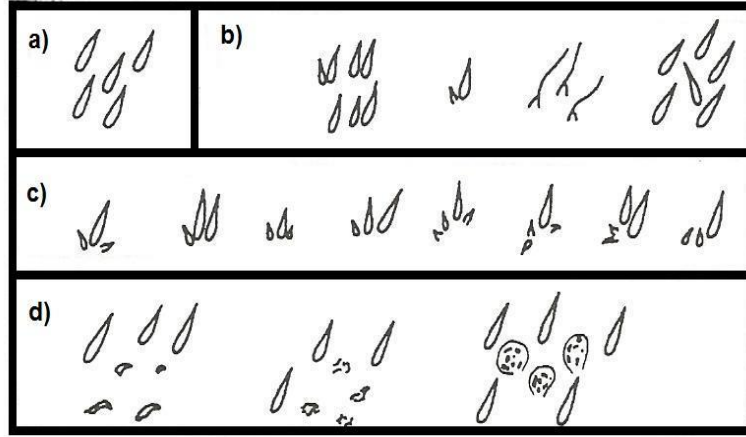
Hazırlanan kanat preparatları mikroskop altında 10x40 büyütme ile incelenerek uygulanan turunç suyu ve doksorubisin'nin genotoksik ve antigenotoksik etkiler belirlenmiştir. İncelemenin kolay olabilmesi için kanatlar A,B,C,C',D,D',E sektörlerine ayrılarak incelenmiştir.(Şekil 2.2. , Graf vd., 1984).



**Şekil: 2.2.** Kanat sektörlerinin şematik görünümü (Graf vd., 1984)

*flr* fenotipinde kanat kılları nokta, kısa, ince kıllar şekillerinde gözlemlenirken; *mwh* fenotipinde tek hücreden 1-2 kıl çıktığı görülmektedir. Mutasyonlar oluşum şekillerine göre, mutasyon taşıyan hücre küme( S 1-2, small single spot) , 3-4 hücre olduğunda büyük küme ( S>2 ,large spot ) ve twin ( *mwh* ve *flr* fenotipinin her ikisinin de birlikte gözlemlendiği kümeler) şeklinde sınıflandırılır (Şekil 2.3. , Browder vd., 1991).

Tek benekler, nokta mutasyon , delesyon, ayrılmama ve iki belirleyici gen ( *mwh* ve *flr* arasındaki mitotik rekombinasyonla oluşurken ikili benekler üçüncü kromozomun sentromeri ile *flr* geni arasındaki mitotik rekombinasyon sonucu oluşmaktadır (Graf vd., 1984).



**Şekil 2.3.** Kanat yüzeyindeki kıllar: a) normal kanat kılları, b) *mwh* ya da *flr* olarak sayılmayacak bozuk kanat kılları, c) *mwh* tipinde trikomlar, d) tipik *flr* kıllar (Graf vd., 1984).

### 2.2.9. İstatiksel Analizler

Kullanılan turunç suyunun genotoksik etkileri ile doksorubisin'nin antigenotoksik etkilerinin belirlenmesi için, uygulama gruplarındaki kanat başına düşen mutasyon frekansa su kontrol grubundaki ile karşılaştırılmıştır. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için hazırlanmış olan MICROSTA adlı bilgisayar programı kullanarak elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Değerlendirmenin yapılabilmesi için öncelikle iki farklı hipotez kuruldu. Kurulan hipotezlerden biri  $H_0$  (null, orjinal) da uygulamalarla kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark olup olmadığı varsayılırken;  $H_a$  (alternatif) da ise uygulama grubundaki indüklenen mutasyon oranının kontrol grubundan 'm' defa daha fazla olduğu varsayıldı. Kurulan hipotezlerin hesaplanması binomial şartlı test ile yapılmaktadır. Kurulan  $H_0$  ve  $H_a$  hipotezlerinin kabul ya da reddine Kastenbaum ve Bowman (1970) çizelgesine göre karar verilmiştir (Çizelge 2.1.). Hesaplamalar yapıldıktan sonra uygulama grubundaki mutant klon sayısı (nt), çizelgedeki değere eşit veya bu değerden büyükse  $H_0$ , kontrol grubundaki mutant klon sayısı (nc) çizelgedeki değere eşit veya bu değerden büyükse  $H_a$  reddedilmiştir. Sonuçlar kabul ya da reddedilen hipoteze bağlı olarak pozitif (+), zayıf pozitif (z), önemsiz fark (i) ve negatif (-) olarak değerlendirilmiştir (Frei vd., 1988).

**Çizelge 2.1.** Ho ve Ha hipotez değerlendirme tablosu (Kastenbaum vd., 1970)

HİPOTEZLER		H <sub>A</sub>	
		KABUL (1-β)	RED (β)
H <sub>0</sub>	KABUL (1-α)	ÖNEMSİZ FARK $P = (1 - \alpha)(1 - \beta) = 1 - \alpha - \beta + \alpha\beta$	NEGATİF $P = \beta(1 - \alpha) = \beta - \alpha\beta$
	RED (α)	POZİTİF $P = \alpha(1 - \beta) = \alpha - \alpha\beta$	ZAYIF POZİTİF $P = \alpha\beta$

### 2.2.9.1. Verilerin değerlendirilmesi

### 2.2.9.2. Klon İndüksiyon Frekansının Hesaplanması

Bu çalışmadaki her bir uygulama grubu için her hücre bölünmesindeki indüksiyon frekansı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Szabad vd., 1983).

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

f: mwh klonların indüksiyonunun ortalama frekansını.

n: toplam mwh klon sayısını

N: incelenen kanat sayısını,

C: bir kanatta incelenebilecek hücre sayısını göstermektedir.

Yapılan alışmalarda *Drosophila melanogaster*'in bir kanadındaki incelenebilecek hücre sayısının 24400 olduğu belirlenmiştir (Garcia-Bellido vd., 1971).

Antigenotoksik etkinin değerlendirilmesinde kullanılan inhibisyon/indüksiyon yüzdelerinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır (Abraham, 1994).

$$\text{İnhibisyon/indüksiyon} = (a-b)/a \times 100$$

Bu formülde ‘‘a’’ genotoksik madde uygulamasındaki toplam klon frekansını, ‘‘b’’ genotoksik madde ile birlikte ekstrakt uygulamasındaki toplam klon frekansını göstermektedir.

### 2.3. Ömür Uzunluğu

#### 2.3.1. *Drosophila* Stoklara

Bu çalışmada ömür uzunluğu için *Drosophila melanogaster*in Oregon (R) yabanıl tipi ırkı kullanılmıştır. *Drosophila melanogaster* Oregon R soyu normal yuvarlak, kırmızı gzli ve herhangi bir mutant karakter taşımayan yabanıl tip soydur.

### **2.3.2. Kullanılan Maddeler**

Ömür uzunluğu deneylerinde turunç suyu ve kontrol grubu için su kullanıldı.

### **2.3.3. Deneyde Kullanılan Çapraz**

Standart çaprazda Oregon ırkının erkek ve bakire dişileri kullanıldı.

### **2.3.4. Deney Koşulları**

*Drosophila* stok kültürleri %40-%60 bağıl nem,  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ile sürekli karanlık koşullarını taşıyan, ısıtmalı ve soğutmalı sıcak kabinlerde, standart *Drosophila* besiyeri (SDB) içeren şişelerde yaşatılmaktadır.

### **2.3.5. Besiyerinin Hazırlanışı**

Çalışmalarımız sırasında *Drosophila* kültürlerinin saklanması, çoğaltılması ve çaprazlanması aşamalarında hazır besi yeri kullanıldı. Instant *Drosophila* Medium, Carolina Biological Supply Company, Burlington N.C'den temin edilen hazır besiyeri kullanıldı. Bunun için 7.5 cm yüksekliğinde 2.5 cm çapında steril olarak bekletilen tüplere 0.5'er gram hazır besiyeri konuldu. Bu besiyerine daha sonra distile su, turunç suyu çalışma gruplarına uygun olarak eklendi.

### 2.3.6. Bayıltma Yöntemi

*Drosophila* negatif geotropik (yerçekimini tersine ) ve pozitif fototropik (ışığa) yönelim (davranış) gösterdiklerinden eterize edilirler (Doone, 1967).

Deneylelerimizde ekonomik oluşu ve çalışma kolaylığı nedeniyle dietil eter kullanılmıştır. Bayıltma işlemi şu şekilde gerçekleştirilir. Kapalı kap içerisindeki süngere birkaç damla eter damlatılır, sinekler kapalı kap içerisine alınır ve eterli tamponla kapatılır. Bu şekilde bayıltılmış olur. Bayıltma işlemi, ana-baba stoklarının kurulması ve uygulama gruplarının oluşturulması için kullanılmıştır. Ömür uzunluğu deneylerindeki transfer işlemleri sırasında eterizasyon yapılmamıştır.

### 2.3.7.Ömür Uzunluğunun Uygulanışı

*D. melanogaster* 'in Oregon R yabancı soyunda turunç suyunun ömür uzunluğu üzerine etkileri dişi ve erkek popülasyonlarında ayrı ayrı çalışılmıştır. Oregon ırkına ait stoklar boşaltıldıktan sonra ortalama 4 saat içinde virgin (çiftleşmemiş) dişiler ve erkekler toplanır. Aynı yaştaki dişiler ve erkeklerin çaprazlanmasından 72 saat sonra larva toplama işlemi yapılır. Larvalar standart besiyeri ortamına alınır ve 100' erli gruplar halinde ayrılır. 1,2 gr hazır *Drosophila* ortama (Instant *Drosophila* Medium, Carolina Biological Supply Company, Burlington, N.C) turunç suyuna ısıtılarak larvalar ortama gömülür. 9. ve 10. Gününde pupadan çıkmaya başlayan bireyler 6 saat sonra çiftleşme yeteneğini kazandıkları için, dişi ve erkeler ayrı ayrı her 5 saatlik periyotlarla



toplanmıştır. Bu şekilde aynı yaşlı ve çiftleşmemiş erkek ve dişiler sineklerden bir deney grubu için 100 birey toplanmıştır. Bireyler daha sonra 25'erli gruplar halinde hazır *Drosophila* ortamı bulunan kültür şişelerine aktarılmıştır. Kontrol ve deney gruplara için çalışmalar eş zamanlı başlatılmıştır. Deney süresince besinler 3 günde bir (Pazartesi-Perşembe) tazelenmiştir. Bu tazeleme işlemlerinde bireyler bayıltılmadan direkt olarak aktarılmıştır. Birey sayıları her uygulama günü başında ve sonunda kontrol edilmiş ve ölen bireyler kaydedilerek ortamdan uzaklaştırılmıştır. Her bir deney ve kontrol grubunda en son birey ölene kadar uygulamaya devam edilmiştir.

### **2.3.7. İstatiksel analizler**

Deneylerimizde kullandığımız bütün grafikler Microsoft Windows Office – Excel programı kullanılarak çizildi.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. Turunç Suyunun Genotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

Turunç suyunun genotoksik etkisinin değerlendirilmesi için 100ml/100ml ve 50ml/100ml dozları 72 saatlik 3. Evre transheterozigot *Drosophila melanogaster* larvalarına uygulanmıştır.

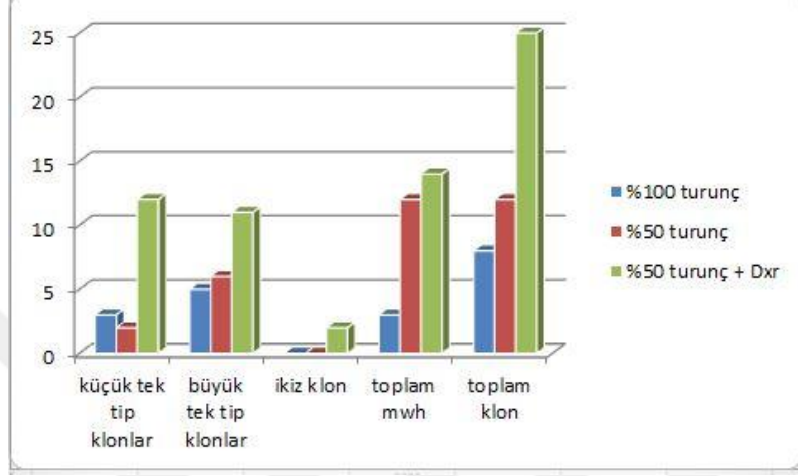
Turunç suyu ekstratı uygulamalarının her iki dozunda hem *mwh* hemde *flr* fenotipinde büyük tek tip ve kk tek tip klonlar gözlenirken, ikiz klona rastlanılmamıŐtır (Şekil 3.1.).

Negatif kontrol grubu olan distile su ile turunç suyuna ait uygulamalar karşılaştırıldığında, 50ml/100ml ve 100 ml/100ml dozlarında tüm klon tipleri için farklar gözlenmiştir (Şekil 3.2.).

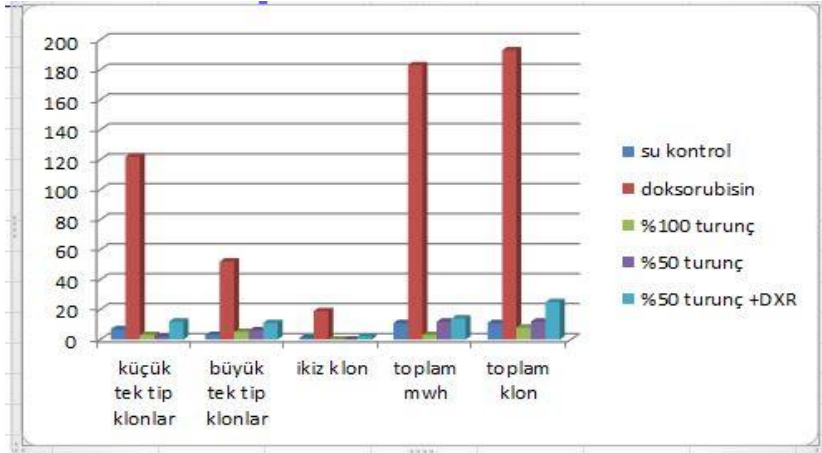
100ml/100ml lik dozunda kk tek tip klonlar ve büyük tek tip klonlarda istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmezken toplam *mwh* klonlarında negatif etki göstermiştir (Şekil 3.1.).

50ml/100ml lik dozunda kk tek tip klonunda istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmezken toplam *mwh* ve büyük tek tip klonunda negatif etki göstermiştir.

Elde edilen verilere göre turunç suyu ekstratının uygulanan dozlarının genotoksik etkiye sahip olmadığı görüldü.



Şekil 3.1. Turunç suyu uygulamasında klon tiplerine göre klon sayılarının dağılımı



Şekil 3.2. Tüm uygulamaların klon tiplerine göre klon sayılarının dağılımı

### 3.2. Turunç Suyunun Antigenotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

Turunç suyunun antigenotoksik etkilerinin değerlendirilmesi için ekstraktın tek dozu 0,125 mg/ml doksorubisin ile kombine olarak, 50ml/100ml (turunç+Dxr) dozunda, 72 saatlik 3. Evre transheterozigot *Drosophila melanogaster* larvalarına uygulanmıştır.

Turunç suyunun doksorubisinle kombine uygulandığı denemenin sonucuna bakıldığında tüm klon tiplerinde pozitif kontrole göre istatistiksel olarak önemli fark gözlenmiştir (Çizelge 3.1). İkiz klon sayısında doza bağlı olarak bir azalma gözlenirken diğer tipteki klonlarda da sayıca azalma olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.1). Toplam klon frekanslarına bakıldığında doz arttıkça frekansın azaldığı görülmektedir (Şekil 3.2)

Elde edilen sonuçlara göre turunç ekstraktının uygulanan dozunda doksorubisinin genotoksik etkisine karşı antigenotoksik etki göstermiştir. İnhibisyon / indüksiyon yüzdesi incelendiğinde inhibisyon olduğu %88 oranında engellediği görülmüştür.

**Çizelge 3.1.** SMART bulguları ve istatistiksel değerlendirmeler

Test Maddesi	Kanat sayısı (N)	SSS(Küçük tek tip klonlar) (1-2 hücre) (m=2)			LSS (Büyük tek tip klonlar) (>2 hücre) (m= 5)			TS (İkiz klonlar) (m=5)			Toplam mvh klonları (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (10 <sup>5</sup> hücre)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Distile su	80	7	(0.09)		3	(0.04)		1	(0.01)		11	(0.14)		11	(0.14)		0.56
Doksorubisin (Dxr)	80	122	(1.53)	+	52	(0.65)	+	19	(0.24)	+	183	(2.29)	+	193	(2.41)	+	9.38
%100 Turunç	70	3	(0.04)	i	5	(0.07)	i	0	(0)	i	3	(0.04)	-	8	(0.11)	-	0.64
%50 Turunç	174	2	(0.01)	i	6	(0.03)	-	0	(0)	i	12	(0.06)	-	12	(0.07)	-	0.28

### Çizelge 3.1. (devamı)

Test Maddesi	Kanat sayısı (N)	SSS(Küçük tek tip klonlar) (1-2 hücre) (n=2)			LSS (Büyük tek tip klonlar) (>2 hücre) (n=5)			TS (İkiz klonlar) (n=5)			Toplam mwh klonlar (n=2)			Toplam klon (n=2)			Klon induksiyon frekansı (10 <sup>5</sup> hücre)	% İnhibisyon/indüksiyon
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D		
Distile su	80	7	(0.09)		3	(0.04)		1	(0.01)		11	(0.14)		11	(0.14)		0.56	
Doksozobisin (Dxr)	80	122	(1.53)	+	52	(0.65)	+	19	(0.24)	+	183	(2.29)	+	193	(2.41)	+	9.38	
%50+Dxr	89	12	(0.13)	+	11	(0.12)	+	2	(0.02)	+	14	(0.16)	+	25	(0.28)	+	0,64	88,00

No: klon sayısı, Fr: frekans, D:istatistiksel değerlendirme sonucu (Frei ve Würzler 1988), +: pozitif fark, -: negatif fark, i: önemsiz fark, *m*:çarpım faktörü; olasılık düzeyi:  $\alpha=\beta= 0.05$

### 3.3. Ömür Uzunluğu Deneyi Sonuçları

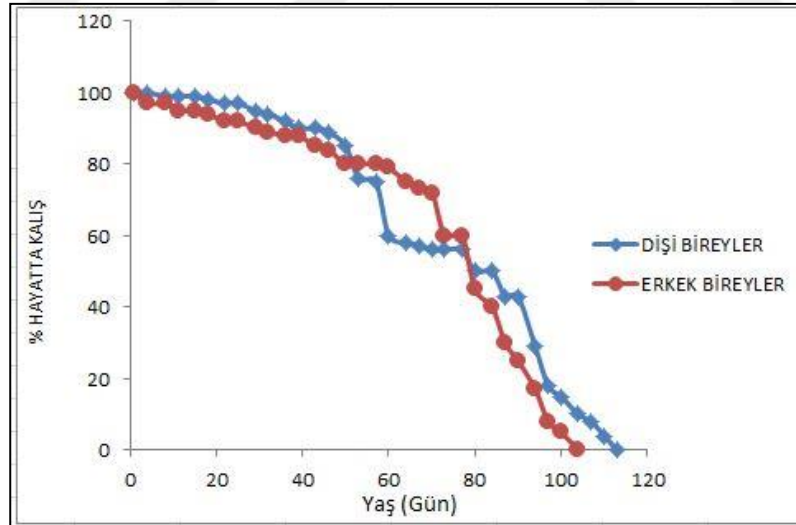
Turunç suyunun 30ml/100ml'lik konsantrasyonuna maruz bırakılan *Drosophila melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerinde maksimum hayatta kalış süreleri Çizelge 3.2. de verilmiştir.

30 ml/100ml konsantrasyonuna maruz bırakılan *Drosophila melanogaster*' in dişi ve erkek bireylerindeki hayatta kalış eğrileri şekil 3.3.'de ve kontrol grubu için ise şekil 3.4.'de verildi.

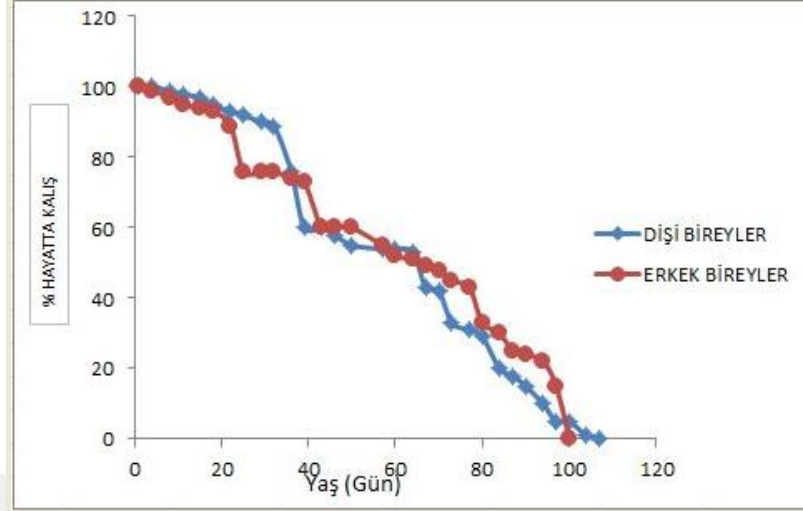
30ml/100ml'lik turunç suyuna maruz bırakılan dişi bireylerin ve kontrol grubu dişi bireylerinin hayatta kalış eğrisi Şekil 3.5.' de verilmiştir.

**Çizelge 3.2.** 30ml/100ml lik konsantrasyona maruz bırakılan *Drosophila melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerinde belirlenen maksimum hayatta kalış süresi

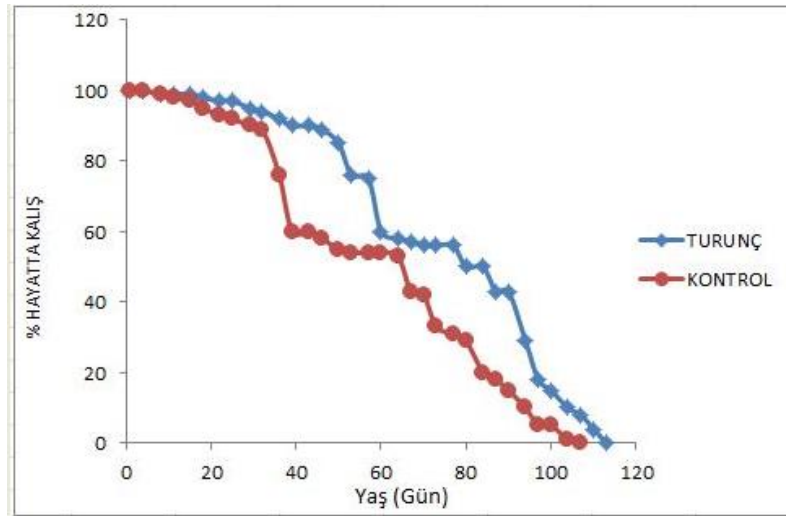
Uygulanan meyve suyu (Konsantrasyon: 30ml/100ml)	Maksimum Hayatta Kalış (Gün)	
	DİŞİ	ERKEK
TURUNÇ	113	104
SU KONTROL	107	100



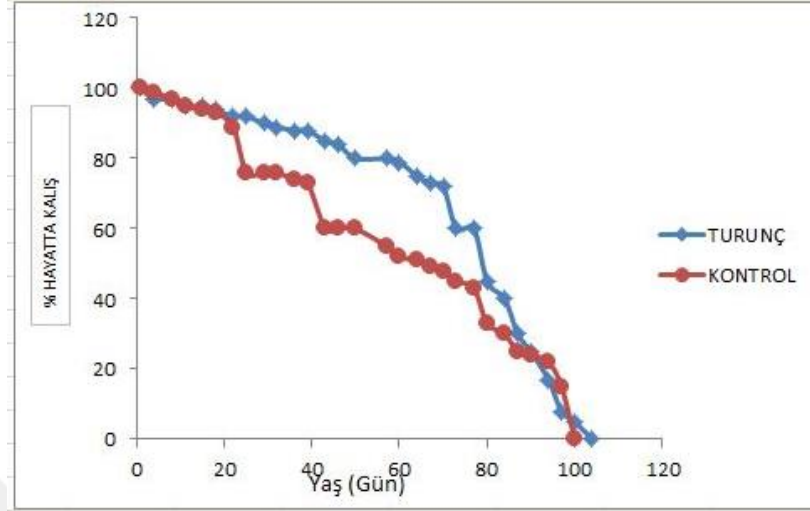
**Şekil 3.3.** 30ml/100ml lik konsantrasyona maruz bırakılan *Drosophila melanogaster* erkek ve dişi bireylerindeki maksimum hayatta kalış eğrileri



Şekil 3.4, Kontrol grubundaki *Drosophila melanogaster* erkek ve dişi bireylerindeki maksimum hayatta kalış eğrisi



Şekil 3.5. 30ml/100ml lik Turunç suyuna maruz bırakılan dişi bireylerin ve kontrol grubu dişi bireylerinin hayatta kalış eğrisi



Şekil 3.6. 30 ml/ml lik Turunç suyuna maruz bırakılan erkek bireylerin ve kontrol grubu erkek bireylerinin hayatta kalış eğrisi

Hayat tablosu verileri değerlendirilerek turunç suyunun 30ml/100ml'lik konsantrasyonuna maruz bırakılan *Drosophila melanogaster*'in dişi ve erkek bireyleri ile kontrol grubundaki dişi ve erkek bireyler (Şekil 3.2) için ayrı ayrı ortalama ömür uzunluğu değerleri bulunmuştur. Tüm ömür uzunluğu deneyleri dikkate alındığında *Drosophila melanogaster* için ömür uzunluğu en fazla turunç suyunda bulunmuştur.

Ayrıca turunç suyu ve kontrol gruplarında dişi bireylerin erkeklere göre daha uzun yaşadıkları saptanmıştır.



## 4. TARTIŞMA

Anavatani Güneydoğu Asya olarak tahmin edilen turunç, kendiliğinden yabani olarak yetişebilen, güçlü köklere sahip, Portakal ve Mandalina türlerinin aşılmasında anaç olarak kullanılan bir bitkidir. (Muğla İli Narenciye Yatırım Raporu,2012). Beslenme açısından zengin bir C vitamini kaynağı olmasının yanı sıra içeriğinde niasin, folik asit, diyet lif, pektin, potasyum, kalsiyum, magnezyum gibi gıda bileşenleri olduğu da bilinmektedir. Ayrıca, içermis olduğu limonoidler, C vitamini, fenolik bileşikler, pektin, diyet lif gibi bileşenler ile de sağlık üzerindeki olumlu etkileri oldukça önemlidirler (Baker, 1994, Rouseff vd., 1994, Farnworth, 2001, Yılmaz, 2002).

Turunç meyve suyunun kullanıldığı bu çalışma iki aşamada gerçekleştirildi. Birinci kısımda, genetik analizlerde yaygın olarak kullanılan bir model hayvan olan *D. melanogaster*'de genotoksik ve antigenotoksik etkisinin olup olmadığına Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile bakıldı. Kontrol deneylerinde kemoterapide kullanılan ve genotoksik etkisi olduğu bilinen doksorubisin ile su kullanıldı. İkinci kısımda ise, aynı canlıda ömür uzunluğu üzerine etkisine bakıldı.

### 4.1. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART):

Kullanım kolaylığı sunması, ayrıntılı veriler vermesi ve uygulama esnekliği sağlaması nedeniyle SMART, pestisitler (Kaya vd., 2000); insektisitler (Osaba vd., 1999),

antidepresan ilaçlar (Van Schaik vd., 1991), gıda katkıları (Wakabayashi vd., 1990), ve tekstil boyaları (Doğan, 2002) gibi maddelerin genotoksisitelerinin araştırılmasında kullanılmıştır. Özellikle halk arasında sıkça kullanılan ve içeriği bilinen ya da bilinmeyen pek çok doğal karışımın; örneğin, uçucu yağlar (Idoamar vd., 2002), bitki çayları (Santana-Rios vd., 2001), bitki özsuvarı (Iciek, 2009) ve daha birçok maddenin antigenotoksik etkilerinin ölçülmesinde kullanılmıştır.

Bitkilerden elde edilen antioksidan maddelerin mutajenik, karsinojenik ve rekombinojenik aktiviteleri engellediği bilinmektedir. Patenkovic vd. (2009) yapmış oldukları çalışmada adaçayının (*Salvia officinalis*) kuvvetli bir genotoksik madde olan metil metansülfonatın (MMS) indüksiyonu ile oluşan genotoksisiteyi giderdiğini göstermişlerdir. Yapılan araştırmalarda birçok bitki ve bitki bileşeninin, genotoksik maddelerin olumsuz etkilerini önleyebilecek ya da azaltabilecek antigenotoksik etki potansiyeline sahip olduğu benzer metodlarla olduğu gösterilmiştir (Robson vd., 2016 ; Munari vd., 2014 ; Guterres vd., 2015; Amkiss vd., 2013; Khalil vd., 2015).

Halk arasında tüketilen birçok bitkinin anti genotoksik etkisi bu çalışmada başvuru olan SMART testi ile sınıanmış ve bu konuda zengin bir literatür mevcuttur. Örneğin, Noni diye bilinen, *Morinda citrifolia* L. meyvesi arterit, diyabet, astım, hipertansiyon ve kanser dahil olmak üzere bir çok hastalığın tedavisinde kullanılan geleneksel tıbbi bir bitkidir. Noni suyu ( TNJ ) ile mitomisin C ( MMC) ve doksorubisin ( DXR ) nin mutajenik rekombinojenik etkileri bu test ile sınıanmış ve bu meyvenin MMC ve

doksozubisinin genotoksik etkilerinde bir azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir(Franchi vd. ,2016).

Turunçgiller başta C vitamini olmak üzere birçok zengin içeriğe sahip meyvelerdir. (Yılmaz,2002). Bu çalışmada zengin içeriği nedeniyle sağlık üzerine olumlu etkisi bilinen ve narenciye türü meyvelerin atası olarak kabul edilen turuncun suyunun güçlü içeriği ile, doksozubisinin genotoksik etkilerine karşı antijenotoksik etkisinin olup olmayacağı araştırılmış ve antimutajenik etki göstererek, doksozubisinin neden olduğu mutajenik etkileri azalttığı tespit edilmiştir. Uygulanan dozlarda *Drosophila melanogaster* üzerinde genotoksik etkiye neden olmamıştır. Doksozubisinin klon indüksiyon frekansı üzerine etkilerinin araştırıldığı ön uygulama ve birlikte uygulama grupları karşılaştırıldığında, turunç suyu uygulamasının daha güçlü antijenotoksik etki gösterdiği, yani mutasyona karşı direnç sağladığı düşünülmektedir. Turunç suyunun doksozubisinin genotoksik etkisine karşı antijenotoksik etkilerinin *Drosophila melanogaster* üzerinde değerlendirmesi sonucunda test edilen dozda doksozubisin tarafından indüklenen genotoksik etkiyi inhibe edici etki gösterdiği belirlenmiştir. Antijenotoksik etkinin göstergesi olan inhibisyon oranı incelendiğinde turunç suyunun inhibisyon değerinin yüksek olduğu görülmektedir.

Literatür de turunç başta olmak üzere diğer turunçgiller ve meyvelerin antijenotoksik etkisinin olduğu(Alexandre vd.,2009; Wang vd.,2016; Penga vd.,2012) birçok meyvede gözlenmiştir.

## 4.2. Ömür Uzunluğu

Yaşam öyküsü karakterleri teorisine göre; uyum bileşenleri ve birbirleriyle olan uzlaşmaları, doğal seçim etkisiyle canlının uyum süreci boyunca farklı dengeler içindedirler (Roff, 2000; Sterns,1992). Yaşlanma, temelde uyum bileşenlerinin gücünün azalması olarak tanımlanmaktadır. Bu yüzden organizmanın hayatta kalma ve uyum başarısındaki düşüşün en temel nedenlerinden biri yaşlanmadır.

Ömür uzunluğu temel yaşam öyküsü karakterlerinden biridir ve canlının uyum süreci boyunca yaşlanmaya ilişkin genetik altyapı, epistasi ve çevresel etkilere bağlı olarak varyasyon göstermektedir. Ömür uzunluğunda gözlenen varyasyon gelişimsel süreçlerin belirlediği sınırlara yani organizmanın sahip olduğu fenotipik esnekliğe göre şekillenir (Sterns, 2005).

*Drosophila*'da ömür uzunluğu, farklı türlerde, aynı türün farklı eşeylerinde ve mutantlar arasında farklılık gösterdiği gibi aynı genotipe sahip popülasyonlar farklı çevresel koşullarda farklı ömür uzunluklarına sahip olabilirler (Ünlü vd.,1979).

Yapılan deneylerde, yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, yumurta üretimi düşük bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür (Tatar vd., 1997). Çalışmamızda, tüm dişi bireylerin virjin olması için pupadan çıkan bireyler çiftleşme yeteneği kazanmadan dişi ve erkek olmak üzere ayrı ayrı şişelerde

toplanmışlardır. Böylece hem erkek hem de dişilerin aynı yaşlı, çiftleşmemiş bireyler olması sağlanmış ve anasal yaşın ömür uzunluğunu etkileyici bir faktör olması da önlenmiştir (Lansing,1952).

Ömür uzunluğu dimorfizm gösteren bir özelliktir. Ömür uzunluğu çalışmalarına bakıldığında, dişilerin erkeklere göre daha uzun ömürlü olduğu görülmektedir. Yumurta verimi ve ömür uzunluğu arasındaki uzlaşılı ilişkisinden dolayı, dişilerin ömür uzunluğunun görece kısalması ile erkek ve dişilerin ömür uzunluğunun benzer olması mümkündür (Komitopoulou, 1983; Partridge ,1992).

Yaptığımız çalışmada dişi bireyler de yapılan incelemeler sonucunda turunç suyuna maruz bırakılan grupların kontrol grubuna göre ömürlerinin arttığı tespit edilmiştir (Şekil 3.5.). Erkek bireyler için yapılan incelemelerde de dişi bireylerde olduğu gibi kontrol grubuna göre ömrün arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.6). Turunç suyuna maruz bırakılan bireyler kendi aralarında karşılaştırıldığında Şekil 3.3. 'de görüldüğü gibi dişi bireyler erkeklere oranla daha uzun yaşamıştır. Aynı şekilde kontrol grubunda da dişi ve erkek bireyler birbiriyle karşılaştırıldığında dişilerin erkeklere göre daha uzun yaşadığı gözlenmiştir (Şekil 3.4.).

Beslenmenin ömür uzunluğu üzerine doğrudan etkisinin olduğu bilinmektedir (Can vd.,2014; Güler, 2014; Güneş,2015). Bu çalışmada da, standart *Drosophila* besin ortamına zengin içeriği bilinen turunç suyunun uygulanan dozda ilavesinin, *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine pozitif etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bu

veriler, birçok meyva özütü ilavesi ile *Drosophila*'da yapılan ömür uzunluğu çalışmalarının (Uysal vd., 2009 ; Cheng vd., 2014; Zahira vd.,2011 ;Rawal vd. ,2014; Balasubramani vd., 2014;Lijun vd.,2015) sonuçları ile paralellik arz etmektedir.



## KAYNAKLAR

Abraham, S.K., Graf, U., Protection by coffee against somatic genotoxicity in *drosophila*: Role of bioactivation capacity, Food and Chemical Toxicology,34:1 , 1-14,1996.

Allemand, R, Cohet, Y., David, J.,Increase in the longevity of adult *D. melanogaster* kept in permanenet darkness. Exp. Geront., 8, 279-283, 1973.

Amaral, V.S., Silva, R.M., Reguly, M.L., Andrade, H.H.R., *Drosophila* wing-spot test for genotoxic assessment of pollutants in water samples from urban and industrial origin, Mutation Research, 583 ,67-74,2005.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagen,T.M., Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of ageing. Proc. Natl. Acad. Sci. , 90, 7915–7922, 1993.

Amkiss, S., Dallouh, A., Idaomar, M., Amkiss, B., Genotoxicity and anti-genotoxicity of fennel plant (*Foeniculum vulgare* Mill) fruit extracts using the somatic mutation and recombination test (SMART). African Journal of Food Science, 7(8): 193-197, 2013.

Anderson, D., Bishop,J.B., Garner, R.C., Ostrosky-Wegman, P., Selby,P.B.,  
Cyclophosphamide:Review of its mutagenicity for an assessment of potential  
germ cell risks, Mutation Research, 330 115-181, 1995.

Aslan, A., Can, İ., Yaşlanmanın moleküler temelleri , Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri  
Enstitüsü Dergisi, 30(2):107-112 ,2014.

Bağcı, G., Bozcuk, A. N., Ergin *Drosophila*'nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın  
etkisi. Doğa-Tr. J. of Biology, 15, 124-131, 1991.

Baker, R.A., Potential Dietary Benefits of Citrus Pectin and Fiber. Food Tech., 48:  
133,1994.

Balasubramani, S.P., Mohan, J., Chatterj, A., Patnaik, E., Kukkupuni, S.K.,  
Nongthomba, U., Venkatasubramanian, P., Pomegranate Juice Enhances Healthy  
Lifespan in *Drosophila melanogaster*: An Exploratory Study ,2014.

Balis, F.M., Holcenberg, J.S., Blaney, S.M., General Principles of Chemotherapy. 4.  
Baskı. Pizzo and Poplack (ed): Principles and Practice of Pediatric Oncology.  
Lippincot Williams and Wilkins, Philadelphia, 237-309,2002.

Bedmara, Z.F., Antera, J., Serranoa, A.M., Moragaa, A.A., Guisadoa,J.P.,Role of Citrus  
Juices and Distinctive Components in the Modulation of Degenerative Processes:



Genotoxicity, Antigenotoxicity, Cytotoxicity, and Longevity in *Drosophila* ,  
Volume 74, Issue 15-16, 2011.

Bozcuk, A.N., Genetik, Palme Yayıncılık, Ankara, s.269,2000.

Braverman, J.B.S., Citrus Products Chemical Composition and Chemical Technology.  
Interscience Publishers Inc., New York, 424 s. Morton, J.F., 1987. Sour orange  
(Morton, J.F. (Editör) Fruits of Warm Climates). s: 130-133, 1949.

Budak, F.A., Çakır Arıca, Ş. , The Detection of the Deltamethrin and Permethrin By  
Somatic Mutation And Recombination Test With *Drosophila Melanogaster*. Gazi  
Üniversitesi Eğitim Fak. Dergisi. 6(1):87-93, 2005.

Budak, F.A., Çakır, Ş., Kence, A., Pyretroid Pestisid Grubundan Deltamethrin ve  
Permetrinin Genotoksik Etkileri Üzerine bir Araştırma. XVI. Ulusal Biyoloji  
Kongresi. 4-7 Eylül, Malatya,2002.

Cemeroğlu, B., Karadeniz, F., Meyve ve Sebze işleme Teknolojisi 2. Cilt: Meyve Suyu  
Üretim Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 25, Ankara, 384 s.  
,2001.

Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, M., Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1.

Cilt: Meyve ve Sebzelerin Bileşimi Soğukta Depolanmaları. Gıda Teknolojisi

Derneği Yayınları No: 24, Ankara, 328 s, 2001.

Costa, W.F., Nepomuceno, J.C., Protective effects of a mixture of antioxidant vitamins

and minerals on the genotoxicity of doxorubicin in somatic cells of *Drosophila*

*melanogaster*, Environmental and Molecular Mutagenesis, 47 , 18-24,2006.

ÇAKIR, Ş., “Bazı Pestisidlerin Genotoksik Etkilerinin Somatik Mutasyon ve

Rekombinasyon Testi (SMART) ile Araştırılması”, IV. Ulusal Ekoloji ve Çevre

Kongresi, 5-8 Ekim , Bodrum, s. 335-338, 2001.

Çakır, Ş., Sarıkaya, R., Genotoxicity testing of some organophosphate insecticides in the

*Drosophila* wing spot test, Food and Chemical Toxicology, 43 , 443-450,2005.

D.Hamamcı, *Drosophila melanogaster* Oregon Yabanıl Tipi Vestigial Mutantı Arasında

Ömür Uzunluğu; Antioksidatif Enzimlerin ve ACE Vitamin Kompleksinin

Yaşlanma İle Olan İlişkileri, İnönü Üniversitesi, Yüksek lisans Tezi, 1993.

E.Demir, Ayçiçek ve Soya Yağlarının Kızartma ve Kaynatma Ürünlerinin *Drosophila*

*melanogaster*'de Genotoksik Etkilerinin Araştırılması, Akdeniz Üniversitesi, Fen

Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi,2009.

E.E. Doğan, Bazı Astrozon Grubu Tekstil Boyalarının Genotoksik Etkisinin *Drosophila melanogaster* Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) İle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, 2002.

Economus, A.C.,Lints, F.A., Developmental temperature and life span in *Drosophila melanogaster*. Gerontology, 32 (1), 18-27,1986.

El Hamss, R., Idaomar, M., Alonso-Moraga, A., Muñoz Serrano, A., Antimutagenic properties of bell and black peppers, Food and Chemical Toxicology, 41:1 41-47,2003.

Farnworth, E.R., Lagace, M., Couture, R., Yaylayan,V., Stewart, B., Thermal Processing, Storage Conditions, and The Composition and Physical Properties of Orange Juice. Food Research Interational, 34: 25-30,2001.

Felício, L.P., Silva, E.M., Ribeiro,V., Miranda, C.T., Vieira ,I.L.B.F., Passos, D.C.S,Ferreira, A.K.S., Vale,C.R., Lima,D.C.S.,Carvalho, S., Nunes, W.B., Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: SMART/wing , 10 (1): 16-24 ,2011.

Fragiorge, E.J., Spano, M.A., Antunes, L.M.G., Modulatory effects of the antioxidant ascorbic acid on the direct genotoxicity of doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*, Genetics and Molecular Biology, 30 ,2007.

Franchi, L.P., Guimarães, N.N., De Andrade, L.R., De Andrade, H.H., Lehmann, M., Dihl, R.R., Cunha, K.S., Antimutagenic and antirecombinagenic activities of noni fruit juice in somatic cells of *Drosophila melanogaster* ,2016.

Gabriel, K.C., Dihl, R.R., Lehmann, M., Reguly, M.L., Richter, M.F., Andrade, H.H., Homologous recombination induced by doxazosin mesylate and saw palmetto in the *Drosophila* wing-spot test. Journal of Applied Toxicology, 33(3): 209-213, 2013.

Gattuso, G., Barreca, D., Gargiulli, C., Leuzzi, U. ve Caristi, C. Flavonoid composition of Citrus juices (Review). Molecules, 12: 1641-1673,2007.

Gowen, J.W., Johanson, L.E., 1946. On the mechanism of heterosis. I. Metabolic capacity of different races of *Drosophila melanogaster* for egg production. Am. Natur., 80, 149-179,1946.

Graf, U., Würgler, F.E., Katz, A.J., Frei,H., Juon, H., Hall, C.B., Kale, P.G., Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*, Environmental and Molecular Mutagenesis, 6 ,153-188 ,1984.

Graf,U.,Schaik, N.V., Improved high bioaktivasyon cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, Mutation Research, 271, 59-67,1992.

Gui, Y., Grant, A., Joint effects of density dependent and toxicant exposure on *Drosophila melanogaster* populations, Ecotoxicology and Environmental Safety, 70, 236-243, 2008.

Guterres, Z.R., Zanetti, T.A., Sennes-Lopes, T.F. Gomes, da S.A.F., Genotoxic and Antigenotoxic Potential of Momordica charantia Linn (Cucurbitaceae) in the Wing Spot Test of *Drosophila melanogaster*, Journal of Medicinal Food., 18(10): 1136-1142, 2015.

GÜNEŞ, E., *Drosophila melanogaster*'de Yulaf Unu (*Avena sativa* L.)'nun Total Oksidatif Stres Üzerinde Etkisi, Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi 6: 134-140, 2015.

Harman, D., Ageing: a theory based in free radical and radiation chemistry. J. Gerontol., 2, 298-300,1956.

Henderson, D.S., *Drosophila* Cytogenetic Protocols, Humana Press, 2004.

Hoffman, G.R., Casarett and Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons, Pergamon Press, New York ,201-217,2011.

Kaya, B., Creus, A., Velazquez, A., Yanikoğlu, A., Marcos, R., Genotoxicity is modulated by ascorbic acid Studies using the wing spot test in *Drosophila*, Mutation Research, 520 93-101, 2002.

Kaya, B., Marcos, R., Yanikoğlu, A., Creus, A., Evaluation of the genotoxicity of four herbicides in the wing spot test of *Drosophila melanogaster* using two different strains. Mutation Research, 557, 53-62, 2004.

Khalil, W.K., Abidli, N., Ghaly, I.S., Hassanane, M.M., Sharafeldin, E.A., *Myrtus* Species Prevents Reproductive Toxicity Induced By Doxorubicin In Male Mice. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 8(3), 169-175, 2015.

Komitopoulou, K., Gans, M., Margaritis, L.L., Kafatos, F.C., Masson, M., Isolation and Characterization of Sex-Linked Female-Sterile Mutants in *Drosophila melanogaster* with Special Attention to Eggshell Mutants, Genetics, 897-920, 1983.

L. Özata, Bazı tekstil boyalarının *Drosophila melanogaster* üzerinde toksik ve genotoksik etkilerinin araştırılması, İnönü Üniversitesi, Doktora Tezi, 2006.

Lehmann, M., Franco de Souza Prudente Vilar, A., Reguly, K.S.P., Andrade, M.L., H.H.R, Doxorubicin and two of its analogues are preferential inducers of homologous recombination compared with mutation, Mutat. Res., 539, 2003.

Lithgow, G.J., White, T.M., Melov, S., Johnsen, T. E., Thermotolerance and extended life-span conferred by single-gen mutations and induced by thermal stres. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 92, 7540-7544,1995.

M.P. Özcan, *Drosophila* somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) yöntemiyle bazı anestezi ajanlarının genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi, Yüksek Lisans tezi, Erzincan Üniversitesi, 2015.

Matalon, S.T., Ornoy, A., Lishner, M., Review of the potential effects of three commonly used antineoplastic and immunosuppressive drugs (cyclophosphamide, azathioprine, doxorubicin on the embryo and placenta), Reproductive Toxicology, 18 , 219–230,2004.

Mendanha, D.M., Ferreira, H.D., Felício, L.P., Silva, E.M., Pereira, D.G., Nune, W.B., Carvalho, S., Modulatory effect of *Byrsonima verbascifolia*(Malpighiaceae) against damage induced bydoxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster* , Genet. Mol. Res. 9 (1): 69-77, 2010.

Michael, S., Ewer, M.D., Robert, S., Benjamin, M.D., Edward, T.H., Yeh, M.D., Cardiac complications of cancer treatment , Holland-Frei Cancer Medicine. 6th edition, 2003.

Miyamura, S., Shigeno, N., Matsui, M., Wakaki, S., Uzu, K., The biological studies On mitomycin I. Antibacterial activities of mitomycin derivatives, Journal Antibiotics, 20:2, 72-76, 1967.

Moufida, S., Marzouk, B. Biochemical Characterization of Blood Orange, Sweet Orange, Lemon, Bergamot and Bitter Orange. Phytochem., Phytochemistry, 62(8):1283-1289, 2003.

Muğla İli Narenciye Yatırım Raporu, 2012.

Munari, C.C., Oliveira, P.F.D., Leandro, L.F., Pimenta, L.M., Ferreira, N.H., Costa J.D.C.D., Bastos, J.K., Tavares, D.C., In Vivo Assessment of Genotoxic, Antigenotoxic and Anticarcinogenic Activities of Solanum lycocarpum Fruits Glycoalkaloidic Extract. PLoS One, 9(11): e111999, 2014.

Ortuno, A., Reynaldo, I., Fuster, M.D., Botia, J., Puig, D.G., Sabater, F., Lidon, A.G., Porras, J., Del Rio, J.A. Citrus Cultivars with High Flavonoid Contents in The Fruits. Scientia Horticulturae, 68: 231-236, 1997.

Osaba, L., Rey, M.J., Aguirre, A., Alonso, A., Graff, U., Evaluation of genotoxicity of captan, maneb and zineb in the wing spot test of *Drosophila melanogaster* role of nitrosation, Mutation Research, 518, 95-106, 2002.



P. Ö. Özcan, Probolisin antimutajenik etkilerinin *drosophila melanogaster* de araştırılması, Hacettepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 2011.

Partridge, L., Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms. *Exp. Geront.*, 36, 641-650, 2001.

Partridge, L., Fowler, K., Direct and Correlated Responses to Selection on Age at Reproduction in *Drosophila Melanogaster*, *Evolution*, 76-92, 1992.

Passos, D.C.S., Ferreira, H.D., Vieira, I.L.F.B., Nunes, W.B., Silva, E.M., Vale, C.R., Duarte, C.R., Silva, E.S., Felício, L.P., Carvalho, S., Modulatory effect of *Palicourea coriacea* (Rubiaceae) against damage induced by doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*, 9 (2): 1153-1162, 2010.

Pearl, R., Parker, S.L., Gonzales, B.M., Experimental studies on the duration of life. VII. The Mendelian inheritance of duration of life in crosses of wild type and quinuple stocks of *Drosophila melanogaster*. *Amer. Natur.*, 57, 153-192, 1923.

Penga, C., Zuoa, Y., Kwana, K.M., Lianga, Y., Maa, K.Y., Chana, H.Y.E., Huangc, Y., Yud, H., Chena, Z.Y., Blueberry extract prolongs lifespan of *Drosophila melanogaster*, 2012.

Pigliucci, M., Evolution of Phenotypic Plasticity: Where Are We Going Now?, Trends in Ecology & Evolution, 481-486, 2005.

Rawal, S., Singh, P., Gupta, A., Mohanty, S., Dietary Intake of *Curcuma longa* and *Emblica officinalis* Increases Life Span in *Drosophila melanogaster* , BioMed Research International Volume ,2014 .

Reiter, R.J. Pineal function during ageing; attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. Acta. Neurobiol. Exp, 54, 31-39,1994.

Rezendea, A.A.A.A., Graf, U., Guterresa, Z.R., Kerra, W.E., Antônio, M., Protective effects of proanthocyanidins of grape (*Vitis vinifera* L.) seeds on DNA damage induced by Doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster* Spanóa,2009.

Riggs, C.E., Antitumor Antibiotics and Related Compounds. 3. Baski. Perry MC (ed): Chemotherapy Source Book. Lippincot Williams and Wilkens, Philadelphia, 2001.

Rincon, J.G., Espinosa, J., Graf, U., Analysis of the in vivo nitrosation capacity of the larvae used in the wing somatic mutation and recombination test of *Drosophila melanogaster*, Mutation Research, 412, 69-81,1998.

Rincon, J.G., Graf, U., *Drosophila melanogaster* Somatic Mutation and Recombination Test As a Biomonitor,, Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of

Environmental Change. Edited by F.M.Butterworth et.al., Plenum Press, New York, p.169-179,1995.

Rincon, J.G., Graf, U., *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor, Plenum Press, New York, 169-179,2005.

Robson, A.S., Rafael R.D., Lucas, P. D., Maiane, P.C., Bianca, R. R.A., Kênya, S.C., Mauricio, L., DNA damage protective effect of honey-sweetened cashew apple nectar in *Drosophila melanogaster*, 2016.

Roff, D.A., Trade-Offs between Growth and Reproduction: An Analysis of the Quantitative Genetic Evidence, *Journal of Evolutionary Biology* ,434-445, 2000.

Romero-Jiménez, M., Campos-Sánchez,J., Analla, M.,Muñoz-Serrano, A., AlonsoMoraga, A., Genotoxicity and anti-genotoxicity of some traditional medicinal herbs, *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 585:1-2 , 147-155,2005.

Rose, M.R., Ufe-history evolution with antagonistic pleiotropy and overlapping generations. *Theror. Pop. Biol.*, 28, 342-358,1985.

Rouseff., R.L., Nagy, S., Health and Nutritional Benefits of Citrus Fruit Components. *Food Techology*, 48: 125-132,1994.

S. Söylemez, Dişi ve erkek sıçanlarda uzun süreli resveratrol tedavisinin endotel hücre reaktivitesi ve eNOS, iNOS ekspresyonları üzerindeki etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi, Ankara, 2007.

Sarıkaya, R., Çakır Arıca, Ş., Solak, K., “Gıdalardaki koruyucu maddelerin *Drosophila melanogaster*'de (*mwh x flr*) ömür uzunluğuna etkisi”, Kastamonu Eğitim Dergisi ,2006.

Sarıkaya, R., Çakır, Ş. “Genotoxicity testing of four food preservatives and their combinations in the *Drosophila* wing spot test” , Environmental Toxicology and Pharmacology 20 (3): 424-430 ,2005.

Sarıkaya, R., Çakır, Ş., Genotoxicity testing of four food preservatives and their combination in the *Drosophila melanogaster*, Environmental Toxicology and Pharmacology, 20 ,424-430,2004.

Sarıkaya, R., Çakır, Ş., Solak, K., Gıdalardaki koruyucu maddeleri *Drosophila melanogaster*' de (*mwh/flr*) ömür uzunluğuna etkisi. Kastamonu Eğitim Dergisi, 14 (1), 173-184,2006.

Sarıkaya, R., Çakır, Ş., Solak, K.,Gıda Katkı Maddelerinden Sodyum Nitrat ve Sodyum Nitritin Genotoksik Etkisinin *Drosophila melanogaster*'de SMART Yöntemi ile Araştırılması. XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi. 4-7 Eylül, Malatya,2002.

Sarıkaya, R., Erciyas, K., Kara, M.I., Sezer, U., Erciyas, A.F., Ay, S., Evaluation of genotoxic and antigenotoxic effects of boron by the somatic mutation and recombination test (SMART) on *Drosophila* Drug Chem Toxicol, Early Online: 1-7, 2016 .

Setsini, E.A., Carlson, J.C., Allsopp, R., 1991. The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*. Exp. Geront., 26, 385-395,1991.

Slijepcevic, P. DNA damage response, telomere maintenance and ageing in light of the integrative model. Mech Ageing Dev ; 129(1-2):11-16,2008.

Taira, K., Miyashita, Y., Okamoto, K., Arimoto, S., Takahashi, E., Negishi, T., Novel antimutagenic factors derived from the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*, Mutation Research, 586 , 115-123,2005 .

Uysal, H., Altun, D., Aşkın, H., Aslan, A., *Drosophila melanogaster*'de *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. likeninin ömür uzunluğu üzerine etkisinin araştırılması. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi, 2008.

Ünlü, H., Bozcuk, A.N. ,Genetics of Longevity in *Drosophila*. II. The Effects of Three Autosomal Genes on the Life Span of *Drosophila*. Hac. Bul. Nat. Sci. Eng., 8: 13-19,1979.

Valadares, B.L.B., Graf, U., Spanó, M.A., Inhibitory effects of water extract of propolis on doxorubicin-induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*, Food and Chemical Toxicology, 46: 3, 2008.

Walford, R.L., Immunologic theory of ageing: current status. Fed. Proc. 33, 20-27,1974.

Wang,L., Li, Y.M., Lei, L., Liu,Y., Wang,X., Ma,K.Y, Zhang,C., Zhu,H., Zhao,Y., Chen, Z.Y., Purple sweet potato anthocyanin attenuates fat-induced mortality in *Drosophila melanogaster*,2016.

Watanabe ,T., Kasai ,T., Arima ,M., Okumura ,K., Kawabe ,N. , Hirayama ,T. , Genotoxicity in vivo of phenazine and aminophenazines assayed in the wing spot test and the DNA-repair test with *Drosophila melanogaster*, Mutation Research/Genetic Toxicology, 369 75-80,1996.

Williams, G.C., Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. Evolution, 11, 398-411,1957.

Yılmaz, E. ,Turunçgil Meyvelerinin İnsan Sağlığına Etkileri ,Gıda Mühendisliği ,cilt 6 , ss. 47-52 ,2002 .