

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Myrtus communis, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis* Bitkilerinin
Antigenotoksik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması

Özlem SİNAPLI

HAZİRAN 2010

ÖZET

MYRTUS COMMUNIS, PISTACIA TEREBINTHUS, CONYZA BONARIENSIS BİTKİLERİNİN ANTİGENOTOKSİK VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

SİNAPLI, Özlem

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Haziran 2010, 114 sayfa

Antik çağlardan beri, çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel tıp yöntemi olarak bitkisel ekstraktlar kullanılmıştır. Son yıllarda, bitki ekstraktlarının antibakteriyel, antifungal, antimutajenik ve antioksidan etkilerinden dolayı kullanımları artmıştır. Bitkisel ilaçlar genellikle etkili olarak kabul edilmekle beraber, bazen ciddi yan etkilere neden olabilirler. İnsanlar tarafından kullanılan bitkilerin mutajenik ve karsinojenik etkilere sahip olabileceği ve ilaçlarla bitkilerin kombine kullanımının yan etkilere neden olabileceği bilinmektedir. Bu nedenle, tedavi amaçlı kullanılacak olan bitkiler ve bitkisel ürünler kesin bir şekilde test edilmeden kullanılmamalıdır. Özellikle bitkilerin antibiyotiklerle ve diğer ilaçlarla birlikte kullanılmadan önce test edilmesi gerekliliği üzerinde durulmuştur.

Bu çalışmada 3 bitki ekstraktının (*Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis*) 0,5 mL, 2,5 mL ve 5 mL'lik konsantrasyonlarının genotoksik ve antigenotoksik etkileri *Drosophila melanogaster*'da kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) kullanarak araştırılmıştır. Bitki ekstraktları farklı dozlarda transheterozigot larvalara uygulanmıştır ve kanat kılları mikroskop altında incelenmiştir. Buna ilâve olarak her kanatta gözlenen mutasyonlar sayı ve tipine

göre sınıflandırılmışlardır. Uygulamalar sonucunda *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis* bitkilerinin sulu ekstraktlarının genotoksik etkisi bulunmamıştır. Bu bitkilerin antigenotoksik etkisini araştırmak için, mutajenik kimyasal olduğu iyi bilinen AF B1 kullanılmıştır. Bu amaçla 3 bitki ekstraktı Aflatoxin B1 ile kombine uygulanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, en yüksek toplam mutasyon frekansı *Pistacia terebinthus*'un 5 mL denemesinde (0,51) belirlenmiştir. Toplam mutasyon frekansı *Conyza bonariensis*'in 0,5 mL ekstraktında (0, 33) ve *Myrtus communis*'in 0,5 mL ekstraktında ise (0,24) izlemektedir. İstatistiksel analizlere göre, *Myrtus communis* ve *Conyza bonariensis* bitkileri toplam mutasyon yüzdesini azaltmada anlamlı etki göstermiş, fakat *Pistacia terebinthus* bitkisinin ekstraktı anlamsız antigenotoksite göstermiştir.

Ayrıca bu çalışmanın son aşamasında, aynı bitkilerle hazırlanan ekstraktların antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. bu bitki uçucu yağlarının Nistatin (100 U), Seftazidim (30µg) ve Seftriakson (30µg) antibiyotiklerle beraber kullanıldığında meydana gelen etkileri invitro olarak araştırıldı. Elde edilen ekstraktların antibakteriyel etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Trichophyton rubrum* 'a karşı denemiştir. Çalışma sonucunda bu bitki ekstraktlarının adı geçen test mikroorganizmaları üzerine farklı değerlerde antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca denenen test bakterileri üzerine bitki ekstraktlarını üç farklı antibiyotik ile in-vitro etkileşimleri de farklılık göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis*, Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi, SMART, antigenotoksik, antibakteriyel, antifungal, Disk difüzyon metodu

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIGENOTOXIC AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *MYRTUS COMMUNIS*, *PISTACIA TEREBINTHUS*, *CONYZA BONARIENSIS* PLANTS

SİNAPLI, Özlem

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, MSc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

June 2010, 114 pages

Since ancient times, several diseases have been treated by administration of plant extracts based on traditional medicine. In recent years, usage has increased due to the antibacterial, antifungal, antimutagen, and antioxidant effects of plant extracts. Although herbal medicines are generally accepted as efficacious, they may sometimes cause serious adverse effects. It is known that plants which are used by people may have mutagenic, carcinogenic effect and plants with combined use of drugs can cause side effects. Therefore, plants and plants products used for medical treatment could not be applied before tested clearly. Specifically, the necessity of testing was emphasized prior to use of plants together with antibiotics and other drugs.

In this study, three plant extracts (*Myrtus conmmunis*, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis*) have been investigated for potential genotoxicity and antigenotoxicity at concentrations of 0,5 mL, 2,5 mL and 5 mL in the wing Somatic Mutation And Recombination Test (SMART) of *Drosophila melanogaster*. Different doses of plant extracts on larvae of transheterozygous were administered and hair structure of the wings were examined under a microscope. In addition, the mutations observed

were classified according to the size and type of the mutation per wing. Results of the experiments have showned that aqueous extract of *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis* plants have no genotoxicity effect on *Drosophila melanogaster*. To determine antigenotoxic effect of these plants, AF B1 was used as a well known mutagenic chemical.. Result of the experiments the highest total mutation frequency was determined *Pistacia terebinthus* extract at a concentration 5mL exposure (0,51). Total mutatin frequency was 0.33 for *Conyza bonariensis* extract (0,33) and 0,247 for *Myrtus communis* extract at a concentration 0,5 mL. According to statistical calculations, *Myrtus communis* and *Conyza bonariensis* showed a statistically significant effect, but *Pistacia terebinthus* extract demonstrated inconclusive antigenotoxicity.

Moreover, antimicrobial activities of extracts of the extract of the these three plants were studied. In addition to this, the effects of these plant extracts, when used with the antibiotics Nystatin (100 U), Ceftazidime (30µg) and Ceftriaxone (30µg), have been investigated as in-vitro. The antibacterial effects of plant extracts were evaluated by using disc diffusion method against *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Trichophyton rubrum*. The results indicated that these plants extracts of three plants have different antibacterial and antifungal activities on the tested microorganisms. In addition, the in-vitro interactions of plant extracts with three different antibiotics on bacteria tested gave different values.

Key Words: *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis*, Somatic Mutation and Recombination Test, SMART, antigenotoxicity, antibacterial, antifungal, Disc diffusion method

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Labaratuvar çalışmalarım sırasında bilgilerini benimle paylaşan arkadaşım Fadime YILMAZ'a, tanıdığım günden beri yanımda olup bana destek veren, benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayıp yardımına koşan canım arkadaşlarım Gamze KARAKAYA'ya ve Nisa TANDOĞAN'a, teşekkürlerimi sunarım.

İleriye doğru attığım her adımda ve yapmayı başarabildiğim her işin arkasında sonsuz sevgi ve desteği olan, çocukları olmaktan her zaman onur duyduğum, haklarını hiçbir zaman ödeyememeğim çok değerli annem Döndü SİNAPLI, babam Metin SİNAPLI, kardeşim Ozan SİNAPLI'ya bana gösterdikleri özveri, anlayış ve duydukları güvenden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1.Çalışmada Kullanılan Bitkiler Hakkında Genel Bilgi	4
1.2. Genotoksite Testleri İle İlgili Genel Bilgiler	9
1.3. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinde (SMART) Kullanılan <i>Drosophila melanogaster</i> İle İlgili Genel Bilgiler	15
1.3.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Sistematikteki Yeri	15
1.3.2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Yaşam Döngüsü	15
1.3.3. Genetik Çalışmalarda <i>Drosophila Melonagaster</i> ' in Tercih Edilme Nedenleri	18
1.4. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinde Kullanılan <i>Drosophila</i> Hatlarının Genetik Yapısı	19
1.5. Aflatoxin B1'in Kimyasal Yapısı ve Etkileri	22
1.6. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmasında Kullanılan Mikroorganizmalar Hakkında Genel Bilgiler	25
1.7. Literatür Özetleri	29
2. MATERYAL VE YÖNTEM	35
2.1. Çalışmada Kullanılan Bitki Yapraklarının Ekstraksiyonu	35
2.2. Antigenotoksite Aktivitesinin Belirlenmesi	35
2.2.1. Deneyde Kullanılan <i>Drosophila</i> Stokları	35
2.2.2. Deneyde Kullanılan Aflatoxin B1 Stoğunun Hazırlanması	36
2.2.3.Uygulama	36

2.2.4. Kanat Preparatlarının Hazırlanması.....	38
2.2.5. Kanatların Mikroskopik Analizi.....	39
2.2.6. Laboratuar Koşulları.....	42
2.2.7. İstatistiksel Analizler.....	42
2.3. Antimikrobiyal Aktivite Çalışması.....	44
2.3.1. Deneyde Kullanılan Mikroorganizmalar.....	44
2.3.2. Besi Yerlerinin Hazırlanması.....	44
2.3.3. Besi Yerlerinin Petri Kaplarına Dökülmesi.....	45
2.3.4. Mikroorganizmaların Standardize Edilmesi.....	45
2.3.5. Besi Yerlerinin İnokülasyonu.....	45
2.3.6. Bitki Ekstraktların Disklere Emdirilmesi ve Disklerin Ortama Yerleştirilmesi.....	46
2.3.7. İnkübasyon Aşaması.....	47
2.3.8. İnhibisyon Zonlarının Ölçümü.....	47
2.3.9. İstatistiksel Analizler.....	47
3. BULGULAR.....	48
3.1. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) Bulguları.....	48
3.1.1. <i>Myrtus communis</i> 'in Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi Bulguları.....	51
3.1.2. <i>Pistacia terebinthus</i> 'un Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi Bulguları.....	59
3.1.3. <i>Conyza bonariensis</i> 'in Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi Bulguları.....	63
3.2. Antimikrobiyal aktivite çalışması bulguları.....	67
3.2.1. <i>Myrtus communis</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi.....	68
3.2.2. <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi.....	74
3.2.3. <i>Conyza bonariensis</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi.....	80
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	86
4.1. Tartışma.....	86
4.2. Sonuçlar.....	94
KAYNAKLAR.....	97

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

1.1. Ülkemizde Bulunan <i>Myrtus communis</i> 'in Taksonomik Sınıflandırması.....	5
1.2. Ülkemizde Bulunan <i>Pistacia terebinthus</i> 'in Taksonomik Sınıflandırması.....	7
1.3. Ülkemizde Bulunan <i>Conyza bonariensis</i> 'in Taksonomik Sınıflandırması.....	9
1.4. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in sistematikteki yeri.....	15
2.1. Orijinal ve alternatif hipotezlerin değerlendirilmesi.....	42
3.1. <i>Myrtus communis</i> , <i>Pistacia terebinthus</i> ve <i>Conyza bonariensis</i> ekstrakt etkisinin SMAR Testi'nden elde edilen sonuçları.....	53
3.2. <i>Myrtus communis</i> , <i>Pistacia terebinthus</i> ve <i>Conyza bonariensis</i> 'in genotoksitesitesi ile ilgili sonuçları.....	54
3.3. Aflatoxin B1'in mutajen etkisine karşı <i>Myrtus communis</i> , <i>Pistacia terebinthus</i> ve <i>Conyza bonariensis</i> 'in antijenotoksik etkisi ile ilgili sonuçları.....	55
3.4. Aflatoxin B1'in mutajen etkisine karşı <i>Myrtus communis</i> ekstrakt etkisinin SMAR Testi'nden elde edilen sonuçları.....	58
3.5. Aflatoxin B1'in mutajen etkisine karşı <i>Pistacia terebinthus</i> ekstrakt etkisinin SMAR Testi'nden elde edilen sonuçları.....	61
3.6. Aflatoxin B1'in mutajen etkisine karşı <i>Conyza bonariensis</i> ekstrakt etkisinin SMAR Testi'nden elde edilen sonuçları.....	64
3.7. <i>Myrtus communis</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi.....	69
3.8. <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisinin Antimikrobiyal aktiviteleri.....	75
3.9. <i>Conyza bonariensis</i> bitkisinin Antimikrobiyal aktiviteleri.....	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Sayfa

1.1. Türkiye’de bulunan <i>Myrtus communis</i> bitkisinin görünümü.....	4
1.2. Türkiye’de bulunan <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisinin görünümü.....	6
1.3. Türkiye’de bulunan <i>Conyza bonariensis</i> ’in Taksonomik sınıflandırması.....	9
1.4. <i>Drosophila melanogaster</i> ’in İmaginal disk hücrelerinin larvadaki pozisyonları..	14
1.5. <i>Drosophila melanogaster</i> ’in yaşam döngüsü.....	16
1.6. <i>Drosophila melanogaster</i> ’in üçüncü kromozomunun yapısı.....	19
1.7. <i>Drosophila melanogaster</i> ’da <i>mwh</i> kanat yapısı (Normal kanat yapısı).....	21
1.8. <i>Drosophila melanogaster</i> ’da <i>flr</i> ³ kanat yapısı (Serrat kanat yapıları).....	21
1.9. Aflatoksin B1’in kimyasal yapısı.....	23
1.10. AFB ₁ -N-Guanil kompleksi.....	24
2.1. <i>Drosophila</i> Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi uygulama Yöntemlerinin Şematik Gösterimi.....	37
2.2. Kanat sektörlerinin şematik görünümü.....	39
2.3. Tekli ve ikili beneklerin oluşumuna neden olan farklı genetik mekanizmalar...	40
3.1. Küçük tekli benek, <i>mwh</i> tip mutasyon.....	49
3.2. Büyük tekli benek, <i>mwh</i> tip mutasyon.....	49
3.3. Büyük tekli benek, <i>flr</i> tip mutasyon.....	50
3.4. İkiz benek (<i>mwh</i> + <i>flr</i>).....	50
3.5. Aflatoxin B1’in su kontrol grubu ile hayatta kalış, mutasyon gözlenen kanat ve toplam mutasyon yüzdesi arasındaki fark.....	56
3.6. <i>Myrtus communis</i> ekstraktının uygulanan farklı dozlarının toplam mutasyon yüzdesi bakımından AFB1 ile karşılaştırılması.....	59
3.7. <i>Pistacia terebinthus</i> ekstraktının uygulanan farklı dozlarının toplam mutasyon yüzdesi bakımından AFB1 ile karşılaştırılması.....	62
3.8. <i>Conyza bonariensis</i> ekstraktının uygulanan farklı dozlarının toplam mutasyon yüzdesi bakımından AFB1 ile karşılaştırılması.....	65

3.9. Çalışmada kullanılan 3 bitkinin toplam mutasyon yüzdesi bakımından AF B1 ile karşılaştırılması.....	66
3.10. <i>E. coli</i> bakterisine karşı;1. <i>Myrtus communis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi....	70
3.11. <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisine karşı <i>Myrtus communis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	70
3.12. <i>Listeria monocytogenes</i> bakterisine karşı <i>Myrtus communis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	71
3.13. <i>Micrococcus luteus</i> bakterisine karşı <i>Myrtus communis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	71
3.14. <i>Streptococcus mutans</i> bakterisine karşı <i>Myrtus communis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi	72
3.15. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisine karşı <i>Myrtus communis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi	72
3.16. <i>Klebsiella pneumonia</i> bakterisine karşı <i>Myrtus communis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	73
3.17. <i>Trychophyton rubrum</i> mantarına karşı <i>Myrtus communis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	73
3.18. <i>E. coli</i> bakterisine karşı <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	76
3.19. <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisine karşı <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	76
3.20. <i>Streptococcus mutans</i> bakterisine karşı <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	77
3.21. <i>Klebsiella pneumonia</i> bakterisine karşı <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	77
3.22. <i>Listeria monocytogenes</i> bakterisine karşı <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	78
3.23. <i>Trychophyton rubrum</i> mantarına karşı <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	78
3.24. <i>Micrococcus luteus</i> bakterisine karşı <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	79
3.25. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisine karşı <i>Pistacia terebinthus</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	79

3.26. <i>E. coli</i> bakterisine karşı <i>Conyza bonariensis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	79
3.27. <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisine karşı <i>Conyza bonariensis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	82
3.28. <i>Micrococcus luteus</i> bakterisine karşı <i>Conyza bonariensis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	82
3.29. <i>Streptococcus mutans</i> bakterisine karşı <i>Conyza bonariensis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	83
3.30. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisine karşı <i>Conyza bonariensis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	84
3.31. <i>Klebsiella pneumonia</i> bakterisine karşı <i>Conyza bonariensis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	84
3.32. <i>Listeria monocytogenes</i> bakterisine karşı <i>Conyza bonariensis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	85
3.33. <i>Trychophyton rubrum</i> mantarına karşı <i>Conyza bonariensis</i> bitkisine ait ekstraktın etkisi.....	85

KISALTMALAR DİZİNİ

AF B1	Aflatoxin B1
Bd ^s	Beaded–Serrat
CRO	Ceftriaxone (Seftriakson)
CAZ	Ceftazidime (Seftazidim)
flr3	Düzensiz Kanat Kılılılığı (flare)
Mwh	Sık Kanat Kılılılığı (multiple wing hair)
NA	Nutrient Agar
NYS	Nystatin
PDA	Patates Dekstroz Agar

1. GİRİŞ

Günümüzden binlerce yıl önce insan, doğanın tedavi edici gücünü tanımış ve sağlıklı yaşayabilmek için bitkilerden yararlanmıştır. Bitkilerle tedavi, insanlık tarihi kadar eski olmakla beraber, modern tıbbın ve sentetik ilaçların gelişmesine paralel olarak bir gerileme süreci göstermiştir. Ancak bu süreç uzun sürmemiştir. Son zamanlarda modern tıbbın, sentetik ilaçlar yerine doğal kaynakların kullanılmasındaki faydaları kabullenmesiyle birlikte, tedavi amaçlı kullanılan bitki sayısında ve tüketilen bitkisel materyal miktarında yıldan yıla bir artış gözlenmiştir. Ayrıca şehir yaşamında insanların maruz kaldığı stresli iş ortamı, kimyasal maddeler, endüstri ve sanayileşmenin sebep olduğu çevre ve hava kirliliği gibi faktörler birçok hastalığın artmasına ve kanser hastalığının yaygınlaşmasına zemin hazırlamıştır. Bu süreçte hücre DNA'sındaki hasarın onarılmasında, tamir mekanizmasının aktivasyonunu sağlayacak antioksidan özelliğine sahip doğal kaynakların arayışı hızlanmıştır. Ayrıca sentetik yapılı antimikrobiyal ilaçlara karşı mikroorganizmaların direnç kazanması ve bu ilaçların yan etkilerinin fazla olması, tıbbi bitkilerin önemini daha da çok arttırmış, insanlar doğal şifa kaynaklarına yönelmişlerdir.

Buna rağmen bitkisel kaynaklı her doğal ürünün mutlak surette olumlu etkide bulunacağı şeklinde halk arasında yaygın olan görüşün tümüyle doğru olmadığı, bitkilerin içeriğindeki kimi maddelerin hastalığa olumsuz etkide bulunabildiği, ilaçlarla etkileşime girerek zarar verebileceği de belirtilmektedir. Bitkinin doğrudan toksik etkileri, alerjik reaksiyonlar, kontaminasyona bağlı etkiler, ilaç ve diğer bitkilerle olan etkileşimlerinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımında son yıllarda dikkatleri üzerine çeken bir başka konu ise; bazı şifalı bitkilerin yan etkilere sahip olduğunun bulunmasıdır. Yapılan çalışmalarda; bitki ve bitkisel ürünler herhangi bir hastalığın önlenmesinde kullanılırken, ilaçlarla beraber kullanıldığında potansiyel ilaç etkisini değiştirebileceği veya yan etkilerinin ortaya çıkabileceği vurgulanmaktadır (1). Antibiyotik kullanımı sırasında, günlük olarak alınan bazı bitkilerin ve yiyeceklere ilave edilen baharatlardaki maddelerin etkileşime geçerek istenmeyen yan etkilere ve ilaç etkililiğinin azaltılmasına neden olduğu belirtilmektedir (2,3). Bitkilerin tedavi edici özellikleri yanında zarar verici yönleri de olduğu göz önünde bulundurulmalı, kullanılacağı yer ve dozunun da çok iyi bir

şekilde ayarlanması gerekmektedir. Özellikle bitki uçucu yağlarının ve bileşenlerinin bazılarının genotoksik aktivitesinin belli doz artışına paralel olarak ortaya çıktığı da yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (4-6).

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın 91 ülkenin farmakopelerine ve tıbbi bitkileri üzerine yapılan çalışmalardan yararlanarak hazırladığı bir araştırma sonucuna göre tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20.000 civarındadır (7,8). Türkiye florası da bu açıdan oldukça zengin bir yapıya sahiptir. Bu zenginliğin başlıca sebepleri;

- Üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması,
- Güney Avrupa ile Güneybatı Asya floraları arasında köprü olması,
- Pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu oluşu,
- Muhtemelen ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek oluşundan ileri gelmektedir (9).

Ülkelerin sahip olduğu bitki örtüsü zenginlikleriyle ilgili rakamlar incelendiğinde tüm Avrupa'da 12.000 bitki türü bulunurken, Türkiye'de doğal olarak yetişen 9.000'e yakın bitki türü yer almaktadır. Dünyada pek çok ülkede olduğu gibi Türkiye'de de çeşitli bitkiler çok eski yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Buna rağmen sahip olunan floral zenginlikten yeterince istifade edilmemektedir (10). Ülkemizin her yıl ilaç hammaddeleri ithali için 30 milyara yakın döviz karşılığı para harcadığı ve bu ithalde zaman zaman büyük güçlüklerle karşılaştığı bildirilmektedir (11). Tedavi amacıyla bu sentetik ilaçları yabancı ülkelere yüksek fiyatlar ödeyip ithal etmek yerine, ülkemizde daha ucuza elde edilebilecek bitkisel ilaç veya ekstraktlar kullanılabilir. Ayrıca bazı bitkilerin geleneksel olarak kullanımının fazla olması nedeniyle, bu bitki türleri giderek yok olmakta ve doğal kaynakların sürdürülebilir kullanımı azalmaktadır. Bu nedenle hem tedavi amacıyla geleneksel olarak kullanılan hem de potansiyeli henüz keşfedilmemiş pek çok bitkinin yok olmadan araştırılması önem taşımaktadır.

Türkiye’de doğal tedavi yöntemi olarak görülen bitkilerin içerdikleri etkin maddelerin araştırılması ve bu konuda ki çalışmaların hız kazanması, bitkisel çeşitliliği bakımından zengin olan ülkemize ekonomik ve tıbbi yönden destek olacaktır. Ayrıca invitro olarak yapılan pek çok çalışma, gelecekte yapılacak olan in-vivo çalışmaları destekleyerek Türkiye’de bulunan biyolojik zenginlikten tıp, farmakoloji, eczacılık, tarım ve endüstri alanlarında faydalanılmasına katkı sağlayacaktır.

Yapılan bu çalışmanın amaçları şu şekilde sıralanmıştır;

1. Halk arasında sıklıkla kullanılan *Myrtus communis*, *Conyza bonariensis*, *Pistacia terebinthus* bitkilerinin antigenotoksik ve genotoksik etkilerinin *Drosophila melanogaster*’da Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile araştırılması.
2. Bu 3 bitkinin antimikrobiyal etkilerinin Disk Difüzyon Metodu ile araştırılması ve antibiyotiklerle bitkilerin kombine kullanılması sonucu, bitkilerle ilaçların arasında meydana gelen etkileşimi saptamaktır.

1.1.Çalışmada Kullanılan Bitkiler Hakkında Genel Bilgi

Myrtus communis'in Genel Özellikleri

Myrtaceae familyası yaklaşık 100 cins ve 3000 türü kapsayan büyük bir familyadır (Çizelge 1.1). Çoğunluğu Güney Amerika ve Avustralya'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yetişir (12). Akdeniz Havzasının tipik doğal bitkilerinden olan mersin bitkisi ülkemizde de Adana, Antalya, İçel, Çanakkale, İstanbul, Zonguldak, Sinop, Ordu, Trabzon, İzmir, Samsun, Muğla ve Hatay çevresinde yaygındır (13).

Mersin bitkisi (*Myrtus communis*) Türkiye'de çam ormanında ve nehir kenarlarında, özellikle deniz seviyesinden 500–600 metre yükseklikte Toros dağlarında yetiştiği bildirilmiştir (Şekil 1.1). Bitki yöresel olarak “hambeles”, “mersin” veya “murt” olarak da bilinmektedir (14).



Şekil 1.1. Türkiye’de bulunan *Myrtus communis* bitkisinin görünümü (15)

Çizelge 1.1. Türkiye’de bulunan *Myrtus communis* ‘in Taksonomik sınıflandırması (16).

TÜBİTAK - Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı	
Kingdom:	<i>Plantae</i>
Subkingdom:	<i>Tracheobionta</i>
Division:	<i>Magnoliophyta</i>
Class:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclass:	<i>Rosidae</i>
Order:	<i>Myrtales</i>
Family:	<i>Myrtaceae</i>
Species	<i>Myrtus communis</i> Linnaeus

Çok yıllık bir bitki olan mersin eski zamanlardan beri tıpta, gıda sektöründe ve baharat amaçlı kullanılmıştır. Yaprakları uçucu yağın yanı sıra tanen, flavonoid (kesretin, kateşin, myrsetin türevleri gibi) içermektedir (8,17). Bunun yanında meyveler çoğunlukla uçucu yağ, şeker ile sitrik ve malik asit gibi organik asitler içermektedir (8,18,19). Yapılan bir araştırmada mersin bitkisinin meyvelerinde en fazla bulunan mineralin potasyum olduğu belirtilmiştir. Ayrıca fosfor ve sodyum açısından da iyi bir kaynak olduğu görülmektedir. Diğer meyvelere oranla daha fazla magnezyum ve yüksek düzeyde demir içerdikleri bulunmuştur (20).

Halk ilaçlarında karın ağrısı tedavisinde, kan şekerini düşürücü, öksürtük tedavisinde, ağız yaralarının tedavisinde, antimikrobiyal ve antigenotoksik olarak, kabızlık tedavisinde, romatizmaya karşı iyileştirici, iştah açıcı, antihemoroidal ve haricen yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır (11, 21-23). Uçucu yağı yüksek dozda alındığında uterin kasılmalara yol açarak gebe hanımlarda düşüklere yol açabilir (11).

Yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ parfümeride, kolonya gibi şeylerde koku verici olarak kullanılır, çeşitli içeceklerde, şekerlemelerde, çeşni karışımlarında, soslarda, dondurmada ve fırıncılık ürünlerinde kullanılmaktadır

(11,12,24). Ayrıca yüksek oranda içerdüği tanen dolayısıyla dericilikte tabaklama işlemleri için, fotoğrafçılıkta ve lastik endüstrisinde kısacası tanenin kullanılduğı tüm alanlarda kullanılabilmektedir (25).

***Pistacia terebinthus*'un Genel Özellikleri**

Pistacia terebinthus Akdeniz ve Batı Asya'nın tipik bir bitkisidir. *Anacardiaceae* familyasına ait olan ağaç (Çizelge 1.2), Türkiye'nin batı ve güney bölgelerinde yaygın olarak yetişir ve menengiç adıyla bilinir (Şekil 1.2). Türkiye'de menengiç ağacı, kıyı kesimlerdeki kayalık ve tepelik yerlerde veya Toros dağlarındaki çam ormanlarında, yaklaşık 1600 m yükseklikte yetişir (11,26).



Şekil 1.2. Türkiye’de bulunan *Pistacia terebinthus* bitkisinin görünümü (27).

Çizelge 1.2. Türkiye’de bulunan *Pistacia terebinthus* ‘un Taksonomik sınıflandırması (28).

TÜBİTAK - Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı	
Kingdom:	<i>Plantae</i>
Subkingdom:	<i>Tracheobionta</i>
Division:	<i>Magnoliophyta</i>
Class:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclass:	<i>Rosidae</i>
Order:	<i>Sapindales</i>
Family:	<i>Anacardiaceae</i>
Species	<i>Pistacia terebinthus</i> Linnaeus

Pistacia türleri yapısında içerdiği flavonoidler, diğer fenolik bileşenlerden ve antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, sitotoksik, antiparaziter, kas gevşetici, balgam söktürücü ve diüretik olarak kullanılmasının yanında, yanık, güneş çarpması, karın ağrısı, mide hastalıkları, romatizma ve öksürük tedavisi için Türk alternatif tıbbında kullanılır (11, 29, 30). Ayrıca *P. Terebinthus* ‘un dallarından toplanan reçine solunum ve üriner sistem hastalıklarında kullanılır. Astım tedavisine de yardımcı olduğu gibi ateş düşürücü etkiside vardır. Ayrıca hiperkolesterolami ve arterioskleroz olgusunda *Pistacia terebinthus* ‘un kullanılan dozu klinik yönden anlamlı bir etkiye sahiptir (11,31).

Menengiç Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde doğal olarak yetişen ve yağı çıkarılıp çeşitli amaçlarla kullanılan yabani fıstık türleri (*Pistacia*) arasındadır. Yöresel isimlerinden birisi “Bıttım” ya da “Buttum” olan bu bitkilerin tohumlarını yöre halkı çeşitli maksatlarla kullanmaktadır. Özellikle bu tohumlardan çıkarılan yağdan üretilen sabunlar piyasada “Bıttım” sabunu olarak bilinmekte ve kozmetikte kullanılmaktadır (11,32). Güney Anadolu Bölgesinde de meyveleri kavrularak yenir (33). Ayrıca pres artığı olarak elde edilen küspe hayvancılıkta özellikle domuz yetiştiriciliği için aranan bir gıda maddesi olup yurt dışına ihraç edilmektedir. Köylü ise at ve merkep dışında hayvanlarına yem olarak yedirmektedir (34).

***Conyza bonariensis*'in Genel Özellikleri**

Conyza bonariensis Asteraceae familyasına ait Güney Amerika da yayılış gösteren tek yıllık ot topluluğudur (Çizelge 1.3) (35). Çiçekler büyük, 1 cm genişliğinde; gövde genişleyen (Şekil 1.3) yünsü örtü tüylü ve bastırılmış tüylüdür (36).



Şekil 1.3. Türkiye’de bulunan *Conyza bonariensis* bitkisinin görünümü (37).

Çizelge 1.3. Türkiye’de bulunan *Conyza bonariensis*’in Taksonomik sınıflandırması (38).

TÜBİTAK - Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı	
Kingdom:	<i>Plantae</i>
Subkingdom:	<i>Tracheobionta</i>
Division:	<i>Magnoliophyta</i>
Class:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclass:	<i>Asteridae</i>
Order:	<i>Asterales</i>
Family:	<i>Asteraceae</i>
Species	<i>Conyza bonariensis</i> (Linnaeus) Cronquist

Conyza bonariensis’ in toprak üstü organları antiseptik, antioksidan, hemostatik ve kas gevşetici özelliklerinden dolayı modern tıpta kullanılır (39). Bunun yanında gastrit, ülser, pamukçuk, akne, ishal tedavisinde kullanılmasının yanında insektisid olarak da kullanılır (40).

1.2. Genotoksite Testleri İle İlgili Genel Bilgiler

İnsanlar günlük yaşamlarında veya çalışma ortamlarında genotoksik ajanların mutajenik ve karsinojenik etkisi ile karşılaşmaktadırlar. Gelişen teknoloji ile birlikte üretilen yeni kimyasallar, ilaçlar, gıda katkı maddeleri, tarım ilaçları ve çevreye verilen atıklar canlıların genetik yapısında mutasyon oluşturma ihtimalini taşımaktadır. Bu nedenle mutajenik, karsinojenik, anti mutajenik ve anti karsinojenik maddelerin etkilerinin araştırılması önem kazanmıştır (41). Bu bağlamda gen mutasyonları ile kromozomların sayısında ve yapısında meydana gelen değişimler başlıca ilgi odaklarını oluşturmaktadır. Bu mutasyonların herhangi birini belirlemek amacı ile çok çeşitli in vivo ve in vitro test sistemleri geliştirilmiştir (42).

İn vitro yöntemler kromozomal hasarının, gen mutasyonlarının ve DNA hasarının gösterilmesine imkân veren kısa süreli yöntemlerdir. Bu yöntemler canlı organizma kullanmaksızın, deneysel biyolojik sistemlerde geçen süreçlerdir. Test organizmaları bakteriden mayaya, kültüre alınmış hayvan hücrelerine kadar geniş bir yelpaze oluşturmaktadır. Pratik olarak in vitro prosedürde, test edilen kimyasalın DNA ile reaksiyona girebilme yeteneği ve mutasyon oluşturabilmesi araştırılır (43).

İn vivo mutajenite testlerinde ise mutajenik etkisi araştırılacak madde belli konsantrasyonlarda ve çeşitli yollarla canlıya verilmektedir. Bu testlerde genellikle böcekler ve memeliler kullanılarak yapılır (44).

Mutajenleri tanımlamakta kullanılan test sistemlerinin her biri farklı bir mutasyonu gösterdiği için değişik test sistemleri geliştirilmiştir. Son günlerde sık kullanılan bu testlerden bazıları; Kardeş Kromatid Değişimi (SCE = sister chromatid exchange), Mikronukleus testi (MN), Kromozom Bozulma Testi (CA=chromosome aberration), Comet Testi (gen dönüşümleri ve DNA kırılmaları), SOS Kromotest ve Ames / Salmonella Yöntemi şeklinde sıralanabilir. Ayrıca invivo mutajenite testleri arasında son yıllarda oldukça popüler olan testlerden biri de model organizma olarak Drosophila melanogaster'in kullanıldığı Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)'dır (45). Bu yöntemler laboratuvar çalışmalarında olduğu kadar popülasyon taramalarında ve çevre kirliliği araştırmalarında da kullanılmaktadır. Ayrıca bu yöntemler ile doğal ürünlerin anti-karsinojenik ve anti-mutajenik özellikleri de incelenabilmektedir (46).

Bakteriyel Ames Testi

Canlıların maruz kaldıkları kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin araştırılmasında yaygın olarak kullanılan bakteriyel test sistemlerinden birisi Salmonella/mikrozom test sistemidir. İlk defa 1973 yılında Dr. Bruce N. Ames tarafından geliştirilmiş bir yöntemdir. Ames testi olarak da adlandırılan Salmonella/mikrozom test sistemi ile bu güne kadar 5000'den fazla kimyasal

maddenin mutajenik ve karsinojenik etkileri araştırılmıştır. Ayrıca bu test sisteminde karaciğer mikrozom enzimleri (S9) kullanılarak, kimyasal maddenin metabolitlerinin de mutajenik olup olmadığı araştırılabilmektedir. S9 kullanıldığında pozitif sonuç alınması, bu kimyasal maddenin kendisinin zararsız olduğunu, fakat canlı vücutuna alındığında ortaya çıkacak metabolitlerin zararlı etkiye sahip olduğunu gösterir.

Ames yönteminde genellikle *Salmonella typhimurium* mutant suşları (TA98 ve TA100) kullanılmaktadır. Her test suşu histidin operonunun değişik bölgelerinde çeşitli mutasyonlar içermektedir. Bunlar ya DNA'daki tek bir bazın değişmesi ile ortaya çıkan baz değişimleri ya da bir bazın eklenmesi veya çıkarılması ile kendini gösteren çerçeve kayması mutasyonlarıdır (47,48).

Bu test yöntemi kullanılarak daha önce yapılan çalışmalarda safra asilerinin (49), gıda katkı maddesi olan Azo boyalarının (50) mutajenliği sınanmıştır.

COMET (Gen dönüşümleri ve DNA kırılmaları) Yöntemi

Singh ve vd. (1988) tarafından, tek hücre düzeyinde DNA hasarını saptamak için alkali şartlar (pH>13) altında elektroforezi içeren, mikrojel tekniği kullanılarak uygulanmıştır. Diğer genotoksisite tayin yöntemleri ile karşılaştırıldığında; düşük düzeylerde DNA hasarlarının saptanabilmesindeki yüksek sensitivitesi, tek hücre düzeyinde çalışılabilir olması, kısa sürede ve kolay uygulanabilirliği ve düşük maliyeti COMET yönteminin avantajlarından (51).

Mikronukleus (MN) yöntemi

Mikronukleuslar (MN) hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme

hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak; klastojenler ise kromozom kırıkları oluşturarak MN oluşumuna katkıda bulunmaktadır (52,53).

MN testi sitogenetik harabiyetin tespitinde, kromozom analizine göre kolay uygulanabilmesi, daha fazla sayıda hücre sayılması ve istatistiksel yönden daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi avantajı sağlamasıyla yaygın kullanım alanı bulan bir teknik olmuştur (54,55).

Kardeş Kromatid Değişimi (SCE) yöntemi

Genotoksik ajanların DNA'da oluşturduğu hasarı kromozom düzeyinde tespit etmemizi sağlayan doğrudan metodlardan birisi kardeş kromatid değişimi (KKD) analizidir. KKD, kromozomun her iki kromatidinin homolog bölgelerinde DNA da kırık oluşması ve kırılan bölgelerin yer değiştirip yeniden birleşmesi sonucunda oluşmaktadır (56).

Kardeş Kromatid Değişimi, DNA'daki çok küçük harabiyetlerin bile hassas göstergesi olarak kabul edilir. DNA hasarının ve indüklenmiş DNA tamirinin gösterilmesinde en basit, duyarlı ve kısa zamanda sonuç veren bir yöntem olarak kullanılmaktadır (57,58).

S.O.S Kromotest

Temeli, *E.coli*'de hasarlı DNA da S.O.S. cevabının uyarılması yöneliktir. *E.coli*'de S.O.S. sisteminin genel reseptörleri ile gen kontrol edildiğinden dolayı S.O.S. kromotest, DNA hasarlarını tespit etme olanağı sağlar (59).

Yapısal Kromozom Bozulma Testi (Chromosome Aberration =CA)

Bu test tekniğinde mutasyon sonucu kromozomda oluşmuş olan gaplar (kromatide dislokasyonlar olmadan oluşan akromatid lezyonlar), kırıklar, yer değiştirmeler ve fragmentler sayılır (60). Anöploidi ve poliploidi gibi sayısal kromozom bozuklukları ile kromozom tipi, kromatid tipi kopmalar ve anormal birleşme gibi yapısal bozukluklar çok yaygın olarak, bölünen hücrelerin metafazda olanların kolsemid ya da kolşisin gibi bir tübülün polimerizasyon inhibitörü kullanarak tutuklama ile saptanmaktadır (61). Herbisit olarak kullanılan triflualin'in insan lenfosit hücrelerinde kromozom aberasyonlarını arttırdığı bu test sistemi kullanılarak tespit edilmiştir (60).

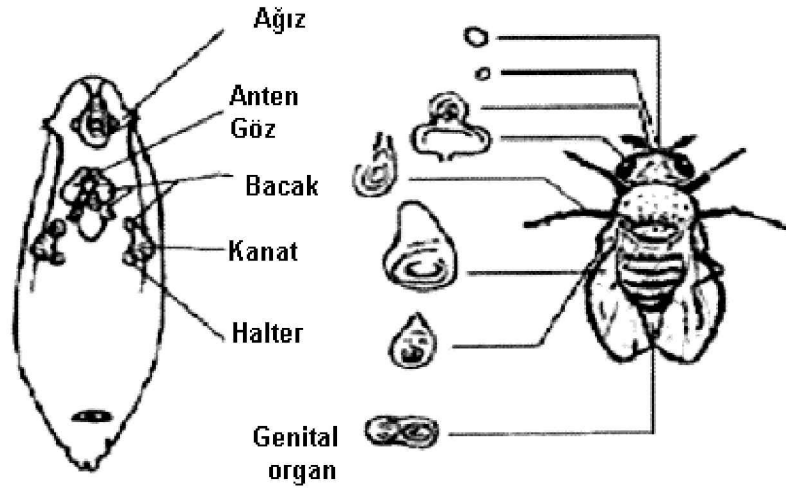
Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)

Ökaryotik organizma *Drosophila melanogaster* ile gerçekleştirilen testler de genotoksisite testleri içinde önemli bir yere sahiptir. Gen mutasyonları ile kromozom hasarlarının belirlenmesi için *Drosophila*'da değişik mutant formlar oluşturulmuştur (43). Son yıllarda çok fazla kullanılan *Drosophila* Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART), kimyasalların mutajenik ve rekombinojenik aktivitelerinin saptanması için uygun bir test sistemidir (62).

SMART yöntemi; Kimyasalın neden olduğu mutasyon etkisini fenotipte göstererek mitotik rekombinasyon içermesi, çalışmanın yöntem olarak kolay ve ucuz olması bunun yanında işaret genlerinin trans- heterozigot sineklerde bulunması, genotoksik denemelerde bu özelliklerinin gözlenmesinin kolay olması gibi avantajlardan dolayı sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir (63). Ayrıca yapılan birçok çalışma ile SMART'ın güvenilirliğinin kanıtlanması sıklıkla tercih edilen bir yöntem olmasını sağlamıştır (64).

SMART yönteminde kullanılan iki test vardır. Bunlar kanat benek testi ve göz benek testidir. Bunların her ikisi de nokta mutasyon, delesyon, kromozom bozukluklarını tespit etmemize yarar. Bu testler embriyonik gelişim sırasında farklı imajinal disk

hücrelerinden temel alırlar. İmajinal disk hücreleri mitozla çoğalarak, birinci dönem larva evresinde yaklaşık olarak 50–100 kadarken, üçüncü larva evresinde (72 saat) bu sayı yaklaşık olarak 24.000'e ulaşır (65). Uygulama yapılan larvalarda bulunan 24.000 hedef hücre, larvanın gelişimi ile birlikte çoğalır, metamorfoz geçirerek bireyin farklı vücut yapılarını oluşturur (Şekil 1.4). Eğer bu imaginal disk hücrelerinin herhangi birinde bir genetik değişiklik olursa bundan sonraki oğul hücrelere bu değişiklik aktararak mutant hücre grupları oluşur. Bu genetik farklılık fenotipte gözlenebilen bir değişikliğe neden olursa, mutant hücre grupları ergin sineğin kanatlarında ve gözlerinde mutant hücre benekleri olarak ortaya çıkar. SMART, uygun gen işaretlerinin heterozigotluginin kaybını temel alınarak geliştirilmiştir. Böylece heterozigotlugin herhangi bir mutasyonla kaybedilmesi mutant fenotipin ortaya çıkmasına neden olur (62,66).



Şekil 1.4. *Drosophila melanogaster*' in İmajinal disk hücrelerinin larvadaki pozisyonları (67).

Bu çalışmada *Drosophila melanogaster*'in Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ya da diğer adıyla Kanat Benek Testi kullanılmıştır.

1.3. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinde Kullanılan *Drosophila melanogaster* İle İlgili Genel Bilgiler

1.3.1. *Drosophila melanogaster*'in Sistematikteki Yeri

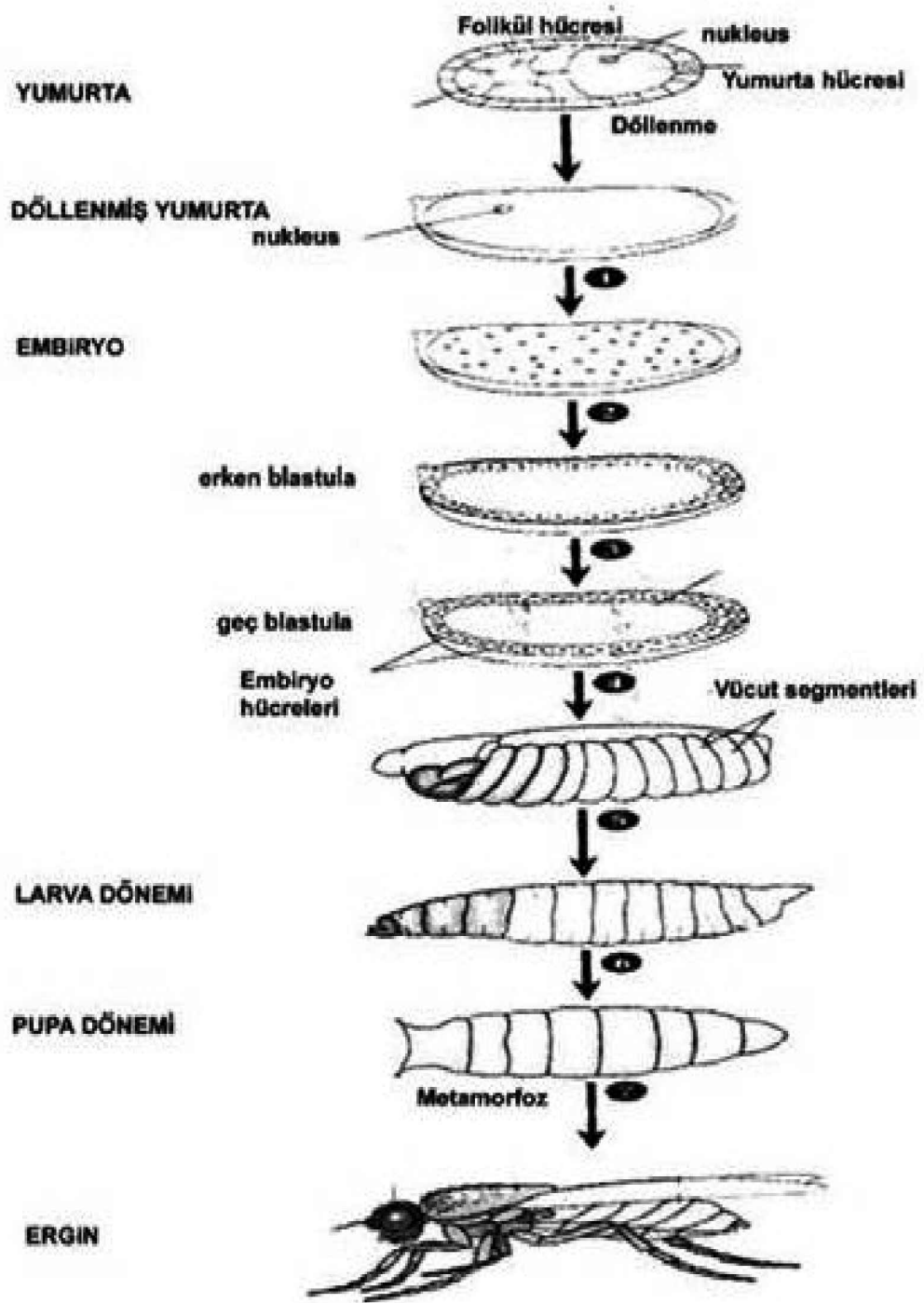
Hayvanlar aleminin *Insecta* sınıfına dâhil olan *Diptera* takımının *Drosophilidae* familyası içinde yer alır (Çizelge 1.4). Larvaları ekşimiş meyveler üzerinde geliştiği için meyve sinekleri de denilen bu familya, genetikte deney hayvanı olarak kullanılan pek çok türü kapsar. Bunlardan biri de *Drosophila melanogaster* türüdür (68).

Çizelge 1.4. *Drosophila melanogaster*'in sistematikteki yeri

Alem:	Animalia
Sube	Arthropoda
Sınıf:	İnsecta-Hexapoda
Takım:	Diptera
Alt takım:	Brachycera
Aile:	<i>Drosophilidae</i>
Cins:	<i>Drosophila</i>
Tür:	<i>Drosophila melanogaster</i>

1.3.2. *Drosophila melanogaster*'in Yaşam Döngüsü

Drosophila melanogaster'in döllenme ve zigot oluşumunu takiben ergin bireye dönüşmesi süre bakımından ortam sıcaklığına bağımlılık gösterir. 25 °C' de bu süre 7- 8 gündür. Bir ergin dişi yaşamı boyunca yaklaşık 300 yumurta bırakabilir ve genelde bunların %95'i olgunlaşıp açılabilir. Optimum şartlarda bir genetikçi yılda maksimum 30 generasyon elde edebilir. Yumurtayı takiben holometabol oluşlarından dolayı bütün dipterler için aynı olan larva, pupa ve ergin dönemleri (Şekil 1.5) tüm hayat çemberini oluşturur (69).



Şekil 1.5. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü (70)

Yumurtalar, yaklaşık 0,5 mm uzunluğunda olup beyaz renklidir. Yumurtanın dış tarafı korion adı verilen bir zarla kaplıdır. Anterior ucunda dorsalden uzanan bir çift filament, yumurtanın bırakıldığı yumuşak besin ortamına batmamasını sağlar (71). Döllenmiş yumurtalar, çiftleşmeden hemen sonra bırakılır. *Drosophila melanogaster* yumurtaları 25 °C' de 22 -24 saat içinde açılır ve larva çıkar (65).

Larvalar yumurtadan çıktıktan sonra sürekli beslenerek gelişmeye başlar. Larval gelişim sırasında kütikül tabakası iki kez atılarak yenisi ile değiştirilir. Gömlek değiştirme olarak adlandırılan bu olay larval yaşamı üç evreye ayırır. Ayrıca iki gömlek değiştirme arasındaki dönem bir evre (instar) olarak adlandırılır (65).

Larval gelişimdeki üç evrenin süreleri şöyledir:

- Birinci larval evre (1 gün sürer)
- İkinci larval evre (2 gün sürer)
- Üçüncü larval evre (2 gün sürer)

İlk instar larvalarda yumurtadan çıkmadan 1,5 saat sonra gonodal dokuların ayrılması görülür. Beyaz segmentli kurt benzeri larvalar sürekli beslenirler, mamanın içine doğru ilerlerler ve beş günlük varlıkları boyunca kendi ağırlıklarının üç katını tüketirler. Ağırlıkları 0.05 mg dan 2,0 mg'a ulaşır. Pupalasma sırasında larval materyal dejenere olur ve imajinal disklerden kaynaklanan yetişkin dokular oluşur. Bu safha sırasında kütikül kararır, sertleşir ve pupa şişenin yüzeyine yapışır. Beş gün sonra pupa, yetişkin sineğe gelişir (72).

Ergin bireylerde vücut ilk önce açık renkli ve uzundur. Ancak birkaç saat içinde vücut rengi koyulaşır. Başlangıçta kırışık olan kanatları açılır ve normal ergin görünümüne ulaşırlar (73). Yetişkin sinekler 2- 3 mm uzunluğunda olup, dişiler erkeklerden biraz daha uzundur. *Drosophila melanogaster* da vücut baş, toraks ve abdomen olmak üzere üç segmentten oluşur. Dişilerde kuyruk yoğun bir şekilde melaninlenmiş olarak abdomenin sonundadır ve kuyruğun sonu tam olarak yuvaraktır. Dişilerin abdomeni dengeli olarak renklenmiştir. Bu özellikler cinsiyetin belirlenmesinde

yeterlidir. Ancak, çok genç erkeklerde abdomen yoğun bir şekilde melaninlenmediğinden dişi birey seçiminde hatalar olabilir. Cinsiyetin tam olarak anlaşılması için erkeklerin her bir ön ayağındaki seks tarağı karakteristiktir (72). Türlerle göre değişmekle birlikte çiftleşmemiş dişiler (virgin), pupadan çıktıktan 3,5-4 saat sonra eşeysel olgunluğa erişerek 12 saat sonra yumurtlayabilirler. Erkekler ise pupadan çıktıktan birkaç saat sonra çiftleşebilirler (73).

1.3.3. Genetik Çalışmalarda *Drosophila Melonagaster*'in Tercih Edilme Nedenleri

Drosophila melonagaster ilk defa 1909 yılında T.H. Morgan tarafından genetik deneylerde kullanılmıştır. Kendilerini fenotipik ya da letal mutasyonlar olarak ifade eden *Drosophila* genleri belirlenip haritalandırılmıştır. Genetik olaylar bu canlının hem somatik hem de germ hücrelerinde analiz edilebilir. Bakterilerden farklı olarak çok hücreli Ökaryot *Drosophila*, memelilere daha benzer hücresel ve kromozomal yapıya sahiptir. Ayrıca *Drosophila* memeli benzeri detoksifikasyon yolunu kullanmaktadır. *Drosophila*'nın genetik çalışmalarda tercih edilmesini sağlayan birçok özelliğinden bazıları aşağıda verilmektedir (73).

- Kültürünün kolay olması
- Çok sayıda yavru döl vermesi
- Yaşam döngülerinin kısa oluşu
- Küçük yapılı oluşları
- Az sayıda (8 çift kromozom) ve kolay incelenilebilen kromozoma sahip olmaları
- Arı döl olarak saklanabilmeleri
- Ekonomik oluşu
- Üçüncü evre larvalarının tükürük bezlerinde dev kromozomların bulunması
- Birçok mutant karaktere sahip olması

Daha önce yapılan çalışmalarda gösterildiği gibi *Drosophila* birçok kimyasal ve kimyasal karışımın metabolize edilmesi için gerekli metabolik yolların çok büyük bir

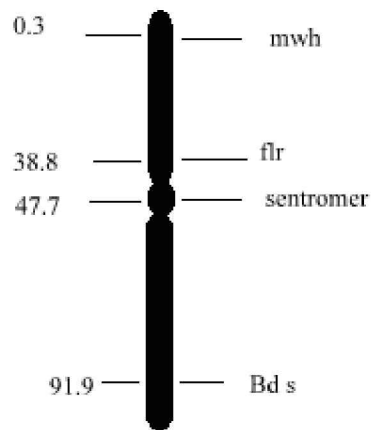
bölümüne sahiptir. Ayrıca insanlar için kanserojenik olan pek çok madde *Drosophila* testlerinde de pozitif sonuçlar vermiştir (74-76).

1.4. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinde Kullanılan *Drosophila* Mutantlarının Genetik Yapısı

Çalışmada belirleyici olarak kullanılan *mwh*, *flr* ve *Bd^S* genleri *Drosophila*'nın en büyük kromozomu olan 3. kromozom üzerinde yer alır (Şekil 1.6). *Drosophila*'nın Üçüncü kromozomu, en büyük kromozom olması ve kullanılan genler arasındaki mesafenin de oldukça uzak olması nedeniyle, rekombinasyon ve mutasyonların incelenmesi için büyük bir avantaj sağlar (62). Belirleyici olarak kullanılan *mwh*, *flr* ve *Bd^S* genleri;

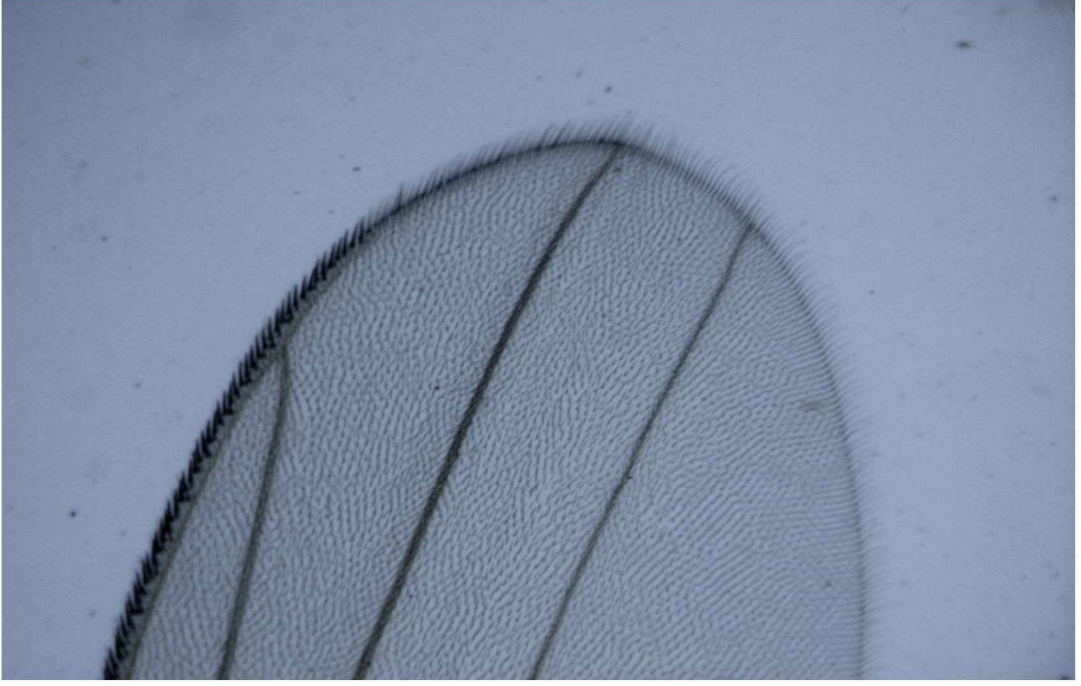
- *mwh* / *mwh* (multiple wing hair)
- *flr³* / *TM³*, *Bd^S* olarak gösterilmektedir.

Belirleyici olarak kullanılan genlerden ilki çoklu kanat kılı (*mwh*) genidir (*mwh*, 3-0,3). *mwh* geni, normal tek trikomların yerine kıllarının aynı hücreden üç veya daha fazla çıkması şeklinde kendini ifade etmektedir (77).

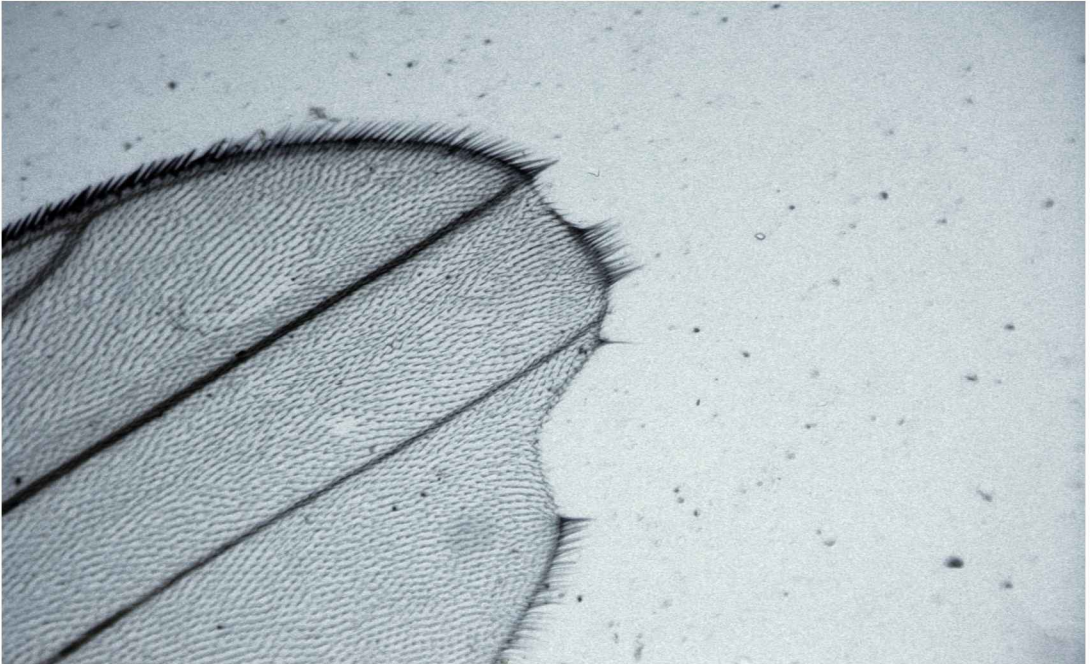


Şekil 1.6. *Drosophila melanogaster*'in üçüncü kromozomunun yapısı

Diğer işaret geni flare (flr^3) ise kanat kıllarının şeklini etkileyen resesif mutant bir gendir. Bu gen de yine üçüncü kromozomun sol kolu üzerinde lokalize olmuştur ve sentromere daha yakın (3-38.8) olarak yer alır (65). Flare geni resesif bir gen olup, homozigot halde, iken embriyonik evrede letal etki göstermektedir. Bu nedenle flr^3 alelleri, dengeleyici bir kromozomla birlikte heterozigot olarak $flr^3/TM3, Bd^S$ stokları şeklinde tutulur. *Drosophila*'da yirmiden fazla dengeleyici kromozom tanımlanmıştır. Bunların bazıları belli bir kromozom üzerindeki rekombinasyonları baskımlarken bazıları da bütün kromozomlardaki rekombinasyonları baskılamaktadır (78). Üçüncü kromozom üzerindeki rekombinasyonları baskılayan dengeleyici kromozom TM3'dür. Dengeleyici kromozom, inversiyon ve homozigot letal olan dominant bir işaret geni taşımaktadır. Bu dominant gen olan Bd^S (beaded-serrat) homozigot halde letal etki göstermektedir. Normal kanatlardaki yapı düzgün bir şekilde (Şekil 1.7–8) iken Bd^S genini taşıyan bireylerde kanat kenarları düzgün değildir (64). Dengeleyici kromozomlar sayesinde homozigot olduğunda embriyonik evrede letal etki gösteren genlerin bu öldürücü etkisinden o hattı korumak mümkündür.



Şekil 1.7. *Drosophila melanogaster*'da *mwh* kanat yapısı (Normal kanat yapısı)



Şekil 1.8. *Drosophila melanogaster*'da *flr*³ kanat yapısı (Serrat kanat yapıları)

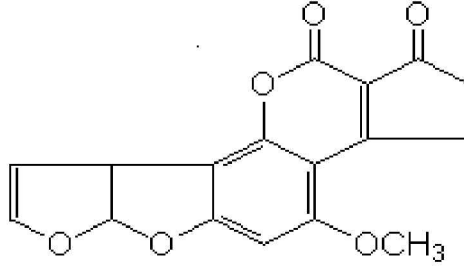
1.5. Aflatoxin B1' ın Kimyasal Yapısı ve Etkileri

Gıda maddelerinde mikotoksin varlığı halk sağılığını ilgilendiren ve gelecek nesillerin de sağılığını tehdit eden önemli bir problemdir. Mikotoksinler, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* başta olmak üzere bazı patojenik ve bozulma etkeni küfler tarafından üretilen ikincil metabolizma ürünleridir. Doğada 100'ün üzerinde küf tarafından üretilen, yaklaşık 400 kadar ikincil metabolitin toksik aktiviteye sahip olduğu ve dünyada üretilen tarım ürünlerinin yaklaşık dörtte birinin mikotoksinlerle kontamine olduğu öne sürölmektedir (79,80).

Toksin oluşturan küf *Aspergillus flavus* (1961) olarak tespit edilmiş ve toksine kaynağından dolayı "Aflatoksin" adı verilmiştir. Aflatoksin kontaminasyonu bakımından en yüksek riske sahip gıdalar arasında mısır, fıstık, fındık ve pamuk tohumu, incir, badem ve baharatlar gelmekteyse de, küf gelişimi için uygun olan tüm besin grupları ve besin hammaddelerinde de mikotoksin oluşturma ihtimali her zaman vardır. Ayrıca hayvanların aflatoksin içeren yemlerle beslenmesi sonucu yumurta ve et ürünlerinin de bazen aflatoksin bakımından kontamine oldukları gözlenir (81).

Aflatoksinler bifuran halkası ve lakton bağlantısı taşıyan yüksek yapılı kumarin bileşikleridir. Bunlardan 4 tanesi (aflatoksin B1, B2, G1, G2) yaygındır ve ağırlıklı olarak *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilmektedir. Grubun diğer üyeleri ise aflatoksin türevleri olarak adlandırılmaktadır (82).

Aflatoksinler içerisinde Aflatoksin B1 (AFB1) (C₁₇H₁₂O₆) grubun en toksik ve kanserojenik potansiyele sahip olanıdır (Şekil 1.6). Gıda maddesi yoluyla alınan AFB1'in orijinal formda toksik aktivite göstermediğı, muhtemelen karaciğere taşınım sonrasında çeşitli enzimler vasıtasıyla biyotransformasyona uğrayarak kanserojenik ve mutajenik bir özellik kazandığı belirtilmektedir (83).

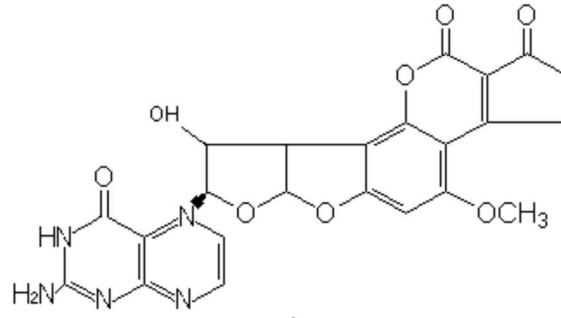


Aflatoksin B₁

Şekil 1.9. Aflatoksin B₁'in kimyasal yapısı (84)

Aflatoksin B₁, Dünya Sağlık teşkilatı-Uluslararası Kansere Araştırma Enstitüsü (WHOIARC) tarafından kanıtlanmış (1A grubu) tek mikotoksin olması bakımından ayrı bir önem taşımaktadır. Bu konuda IARC tarafından Asya ve Afrika' da yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda AFB₁ ile kontamine olmuş gıda tüketimiyle karaciğer kanserine yakalanma riski arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (84).

Aflatoksin B₁'in karsinojenite ve mutajenitesi vücuttaki metabolizması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Aflatoksinler, hayvanlarda öncelikle mikrozomal ve stoplazmik oksijenaz enzim sistemleri tarafından metabolize edilmektedir. Bu enzim sistemleri, esas olarak karaciğer hücrelerinin endoplazmik retikulumunda bulunan, sitokromla ilişkili enzimlerle, O₂'ye ve NADPH'a bağımlı enzimlerin kompleks bir organizasyonudur. Bu enzimler, çeşitli hidroksillenmiş türevlerin ve yüksek reaktif özelliğe sahip epoksid metabolitin oluşmasıyla sonuçlanan aflatoksin B₁'in oksidatif metabolizmasını katalize etmektedir (85). Aflatoksin B₁ DNA, RNA ve protein gibi hücresel makromoleküllerdeki çeşitli nükleofilik merkezlere kovalent olarak bağlanabilir. Aflatoksin B₁'in bu şekilde aktifleşme reaksiyonunun sonucunda DNA ile birleşerek AFB₁-N-Guanil kompleksini oluşturduğu bilinmektedir. (Şekil 1.7). Bu kompleks organizma veya hücreler için biyolojik bir tehlike oluşturmakta ve karsinojenik ve genotoksik etkilerin sorumlusu olarak değerlendirilmektedir. Kenya'nın aflatoksin B₁ alımı ile karaciğer kanseri arasında pozitif ilişki bulunan bir bölgesinde hastalardan toplanan idrarlarda AFB₁-N-Guanil kompleksi belirlenmiştir (83, 84).



Şekil 1.10. AFB₁-N-Guanil kompleksi (85).

Aflatoksin B1 (AF B1) ile kontamine olmuş yemlerin süt veren hayvanlar tarafından tüketimiyle metabolizma faaliyeti sonucunda Aflatoksin M1 (AFM1) oluşmaktadır. AFB1' in hidrosillenmiş metaboliti olan AFM1 “süt toksini” olarak da adlandırılmaktadır (87,88). AFM1'in toksik ve kanserojenik potansiyelinin AFB1'e yakın olduğu bildirilmektedir (82,89). Süt ve süt ürünlerinin bebek ve gelişme çağındaki çocukların temel besin kaynakları arasında yer aldığı ve kanserojenik maddeleri biyotransformasyon mekanizmasının yetişkinlere oranla yeterince gelişmediği düşünüldüğünde tehlikenin boyutları büyümektedir (90).

Aflatoksinler insanlarda ve birçok hayvan türlerinde karsinojenik, mutajenik ve immün baskılayıcı etkilere sahiptirler (91). Aflatoksinler yüksek dozlarda akut toksisiteye neden olabilirler. Hayvanların çoğunda gözlenen akut aflatoksikozisin klinik bulguları; iştah azalması, ağırlık kaybı, nörolojik anormallikler, mukoz membranlarda sarılık, kasılmadır. Ayrıca karaciğerde rengin açılması veya tamamen renksizleşme ve yağ birikimi belirgin olarak görülür. Vücut boşluklarında sıvı birikimi ile böbrek ve bağırsaklarda kanama da meydana gelebilir (92).

1.6. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmasında Kullanılan Mikroorganizmalar Hakkında Genel Bilgiler

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) hastane kaynaklı enfeksiyonlardan en sık izole edilen etkenlerdendir. *S.aureus*, Gram pozitif bakteriler arasında en sık hastalık oluşturan ajan olmasının yanı sıra deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları, pnömoni gibi çok farklı dokularda ciddi enfeksiyonlara neden olur (93,94).

Ayrıca *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) menenjitin nadir bir sebebi olup, bakteriyel menenjit olgularının % 1 ile % 9'unu oluşturmaktadır. Bunun dışında hastalık oluşumunda zemin hazırlayan faktörler arasında diyabet, alkolizm, kronik böbrek yetmezliği, intravenöz ilaç bağımlılığı yer almaktadır. *Staphylococcus aureus*'un sebep olduğu hastalıkların mortalitesi yüksek olup, % 14 ile % 77 arasında değişmektedir (95).

Escherichia coli

Escherichia coli, ilk olarak Theodor Escherich tarafından 1885'te *Bacterium coli* adı ile yeni doğan bebeklerin dışkılarından izole edilmiştir. Daha sonra *Escherichia coli* adını almıştır. *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae* ailesine dahil olan fakültatif anaerob, gram negatif bir bakteridir. Hasta ve sağlıklı hayvan ve insanların bağırsaklarında yaşar. *Enterobacteriaceae*, sağlık açısından çok önemlidir. Bu familyada, insan barsak patojenlerinden olan *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* gibi cinsler yer alır (96).

Escherichia coli, uzun yıllar kalın barsakta kommensal yaşayan bir canlı olarak düşünülmüş fakat 1935 yılında bebeklerde görülen ishal salgını ile bu bakterilerin

sadece normal barsak florasında bulunmakla yetinmeyip, bazen insanlarda hastalıklara neden olabilecekleri belirtilmiştir (96).

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella cinsi bakteriler, *Enterobacteriaceae* familyasının genel özelliklerini gösteren Gram negatif çomakçıklardır (97). Üst solunum yolunda ve dışkı florasında bulunabilen *Klebsiella pneumoniae* bakterileri, bulundukları yerde uygun koşulların oluşması veya yerlerini değiştirerek diğer organ ve sistemlere yerleşmeleri halinde birçok hastalıklara neden olurlar (98).

Klebsiella pneumoniae, Piyelit, piyelonefrit ve sistit şeklinde ortaya çıkan enfeksiyonların, antibiyotiklerle yapılan tedavilerde oldukça dirençli oldukları görülmüştür (99). *Klebsiella pneumoniae*'nin sebep olduğu üriner sistem enfeksiyonları, % 40' lık oran ile en sık görülen enfeksiyonlardır (100).

Listeria monocytogenes

Listeria, fakültatif anaerob ve mikroaerofil, basit boyamada çubuk ve kokobasil, bazen Çin alfabesi harfleri gibi görülen Gram pozitif bir bakteridir. *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) 30 °C 'ın üzerindeki sıcaklıklarda hareketsizdir. Kolay gelişen bakteriler içinde yer aldığından dolayı basit besiyerlerinde ve 3- 45 °C gibi geniş bir inkübasyon sıcaklık sınırında gelişebilirler (101).

En sık rastlanan klinik tablosu diyare olmakla birlikte, bakteriyemi, menenjit, beyin absesi, endokardit ya da pnömoni yapabilir. *Listeria monocytogenes*'e bağlı beyin absesi ise çok nadir olmakla birlikte ciddi enfeksiyon özelliği taşımaktadır. *L.monocytogenes*'in santral sinir sistemi tutulumu yüksek mortaliteye, yaşayan hastalarda ağır sekillere neden olur (102,103).

Streptococcus mutans

Streptococcus mutans çoğunlukla insan ağız boşluğunda bulunan gram-pozitif, fakültatif anaerobik bir bakteridir ve diş çürüğünün oluşumunda önemli bir etkindir. Diş yüzeyinin ilk yerleşimcileri en yüksek oranda *Neisseria sp.* ve *S. mutans*'ı da içeren *Streptokoklardır*. Bu öncü türlerin sayısının artması ve metabolizmaları, diş bakteri plağını oluşturacak daha etkili organizmaların onlardan sonra buraya yerleşmesine neden olacak şekilde ortamın şartlarını değiştirmektedir (104).

Yapılan bir araştırmada çürüğü olan ve çürüğü olmayan bireylerden alınan tükürük örneklerinde *Streptococcus mutans* sayılarının çürüğü olan bireylerde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bunun sonucunda çürük dağılımının *Streptococcus mutans* sayısı ile doğru orantılı olduğunu belirtmiştir (105).

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa Gram negatif bakteriler içinde nozokomiyal patojenlerin en sık rastlanılanıdır (106). *Pseudomonas* cinsi bakteriler doğada yaygın olarak bulunmakta ve hastane enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Hastane enfeksiyonu etkenleri içinde ilk sıralarda yer alan *P. aeruginosa* çeşitli antibiyotiklere karşı direnç kazanmıştır. Ayrıca oluşturduğu enfeksiyonlara bağlı yüksek mortalite neden olmaktadır (106).

Pseudomonas'lar 1990–1996 yılları arasında National Nosocomial Infection Society (NNIS) tarafından nozokomiyal pnemonilerin %17'sinden, üriner sistem enfeksiyonlarının %11'inden, cerrahi yara enfeksiyonlarının %8'inden ve bakteriyemilerin %3'ünden sorumlu olarak belirtilmiştir (107).

Micrococcus luteus

Micrococcus grubu bakteriler, Gram pozitif ve katalaz negatif, aerobik ve kok şeklinde bakterilerdir (108). *Micrococcus*’ların birçok suşu 100 °C’de gelişebilir. Bu mikroorganizmalar tuza dayanıklı oldukları için tuzlu besinlerde de bulunurlar. *Micrococcus luteus* parlak sarı renkte pigment oluşturur. *Micrococcus luteus* insan, hayvan derilerinden, su ve topraktan izole edilebilirler. Ayrıca üst solunum yollarında, orta farinkste, ağız ve mukozada koloni oluşturur. *Micrococcus luteus* patojenik olmamasına rağmen genellikle kontaminant olarak düşünülmektedir. İmmün sistemi zayıf olanlarda örneğin AIDS’li bireylerde septik şok ya da penömoniye neden olabilmektedir (109).

Trichophyton rubrum

Dermatofitler canlılarda keratinize dokuya saldıran keratinofilik mantarlardır. Dermatofitler üç ana grupta değerlendirilebilirler. İnsanlarda bulunan ve insandan insana bulaşan türlere antropofilik, hayvanlarda bulunan ve hayvanlardan insanlara bulaşabilen türlere zoofilik, toprakta bulunan ve topraktan insanlara bulaşan türlere jeofilik türler denir. Dermatofitler, insan, hayvan ve kuşların keratinize dokularını (saç, tırnak, cilt) tutan mantarlar olarak tanımlanmışlardır. Özekinci vd. Dermatofitler içinde *Trichophyton rubrum*’un en sık görülen dermatofit olduğu bildirmişlerdir (111).

Trichophyton türleri deri ve tırnakta hastalık oluşturabilirler (110). Daha çok saçsız deri ve tırnak örneklerinde saptanır. Baş saçlı derisinde nadiren görülür, ancak literatürde 0- 3 yaş arası çocuklarda tinea capitis etkeni olduğu bildirilmiştir (112). Ayrıca, iki prematüre bebeğin saçsız deri örneklerinde de saptanmış (113) ve yine ilginç olarak *Trichophyton rubrum*’un iki taraflı meme büyümesine neden olduğu bildirilmiştir (114).

1.7. Literatür Özetleri

Bu çalışmada kullanılan bitkiler ile daha önce yapılan çalışmalar;

Al-Anbori vd. (2008), *Myrtus communis*'in yapraklarından hazırlanan etanolik ekstraktın tükürkte bulunan *Streptococcus mutans* üzerinde antibakteriyal bir etkiye sahip olduğunun belirtmişlerdir (115).

Hayder vd. (2008), *Myrtus communis*'in antimutajenik etkisini Salmonela/Mikrozom test yöntemi ile araştırmışlardır. Metanol ve etil asetatla hazırlanan ekstraktların AFB-1 ve sodium azide ile indüklenen mutajeniteye karşı koyucu bir etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır (116).

Ereçevit (2007), *Pistacia terebinthus* ekstraktlarının bakterilerden; *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve Dermofit funguslardan; *Trichophyton* sp. üzerinde yüksek oranda (10-24 mm) inhibisyon zonu gösterirken *Epidermophyton* sp. üzerinde çok az etkili olduğu tespit etmiştir (117).

Uyar (2006), siyah ve beyaz mersin yapraklarından elde edilen ekstraktlardan beyaz mersin yapraklarının metanol ekstraktı hariç diğer ekstraktlar genel olarak bakteristatik etkiye sahip olduğu ve ekstraktların % 5'lik konsantrasyonlarının antibakteriyal etkileri maksimum seviyede olduğu bulunmuştur. Ayrıca gerek beyaz mersin gerekse siyah mersin yapraklarından su distilasyonu yoluyla elde edilen uçucu yağların antibakteriyal özellikleri çok düşük seviyede olduğunu belirtmiştir (118).

Hayder vd. (2004), Mersin bitkisinin uçucu yağının antigenotoksik aktivitesini *Escherichia coli* PQ37'de SOS kromotesti kullanarak saptamaya çalışmışlardır. Bu çalışmada mersin uçucu yağının Aflatoxin B1 ve Nifuroxazide karşı oldukça önemli bir antigenotoksik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (23).

Dülger ve Gönüz (2004), Türkiye'de halk ilacı olarak kullanılan 16 bitkinin etanolik ekstraktının antimikrobiyal etkisini 6 bakteri türü (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*,

Mycobacterium smegmatis, *Listeria monocytogenes* ve *Micrococcus luteus*) ve 3 maya (*Kluyveromyces fragilis* ve *Rhodotorula*) üzerinde saptamaya çalışmışlardır. 16 bitki arasında bakteri ve mayalara karşı en iyi etkiyi *Myrtus communis*'e ait ekstraktın gösterdiğini rapor etmişlerdir (119).

Kordali vd. (2003), Türkiye'de üç *Pistacia* türünün yapraklarından hazırlanan ekstraktın antifungal aktivesini araştırmış ve *Pistacia terebinthus*'un bütün ekstraktlarının *Rhizoctania solani*'nin büyümesini durdurucu önemli bir aktiviteye sahip olmadığını bulmuşlardır. Bunun yanında *Fusarium sambucinum* ve *Phythium ultimum*'un büyümesini engellediği fakat diğer türlerden daha düşük antifungal aktivite gösterdiği saptamışlardır (120).

Sağdıç vd. (2002), *Escherichia coli* 0157:H7'nin gelişmesi üzerine baharat ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarını denedikleri çalışmada antibakteriyel etkinin konsantrasyonla değiştiğini, mersin bitkisi ekstraktının kısmen etkili olduğunu tespit etmişlerdir (121).

Özcan ve Erkmen (2001), yerli baharat uçucu yağlarının % 1, 10 ve 15 konsantrasyonlarının etkilerini çeşitli mikroorganizmalar (*Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *Rhizopus oryzae* ve *A. niger*) üzerine denemişler ve mersin uçucu yağının denenen konsantrasyonlarda etkili olmadığını bulmuşlardır (122).

Keleş vd. (2000), yaptıkları bir çalışmada on dört bitki türüne ait etanolik ekstraktı 2 Gram pozitif ve 5 Gram negatif bakteri türüne karşı denemişler, *Pistacia terebinthus*'a ait etanolik ekstraktın sadece *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinaru* bakterilerine karşı inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir (123).

Akın vd. (2001), yılında bazı bitki uçucu yağlarının hayvan patojenlerine karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlar ve *Myrtus communis*'in *Salmonella thypimurium* ve *Sarcinia lute*'nin üremesini engellediği fakat *E. coli*, *Staphylococcus aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı zon oluşturmadığını bildirmişlerdir (124).

Mansouri vd. (2001), *Myrtus communis*'in kaba ekstraktının *Staphylococcus aureus* ve *Micrococcus luteus*'a karşı en geniş inhibisyon zonu oluşturduğu bunu takiben *Pseudomonas aeruginosa*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* ve *E. Coli*'nin de *Myrtus communis*e karşı duyarlı olduğunu, en az inhibisyon zonunu ise *Streptococcus agalactiae*'nin gösterdiği bulunmuştur. *Myrtus communis*'in kaba ekstraktı *Campylobacter jejuni*'nin gelişimini inhibe etmediği bildirilmiştir (125).

İlçim ve Dıǧrak (1998), yaptıkları çalışmada *Myrtus communis* yapraklarından elde edilen ekstraktların *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus brevis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* bakterilerinin gelişimlerini inhibe ettiği tespit etmişlerdir (10).

Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ile yapılan çalışmalar;

Kaya vd. (2004), *Drosophila melanogaster*'de Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ile bazı antidepresan ilaçların (Fluoksetine ve Tianeptine) etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda bulunan sonuçların ya negatif ya da istatistiksel olarak anlamsız sonuçlar verdiğini ve test edilen tüm antidepresan ilaçların mutasyon veya rekombinasyon oluşumunu artırıcı etkileri bulunmadığını rapor etmişlerdir (126).

Sarıkaya ve Çakır (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 (127), Yine Sarıkaya (2003), gıdalarda koruyucu olarak kullanılan benzoik asit'in genotoksik etkisi *Drosophila melanogaster*'de Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ile araştırmıştır. İki işaret geni taşıyan üç günlük

trans-heterozigot larvalara farklı konsantrasyonlarda (50 mM, 75 mM ve 100 mM) test maddesi uygulanmış ve konsantrasyon arttıkça yaşama yüzdesinin azaldığı ve toplam mutasyonun arttığını saptamış, benzoik asidin hem toksik hem de mutajenik olduğunu tespit etmiştir (128).

Kaya vd. (2002), *Drosophila melanogaster*'de wing spot testi ile çeşitli mutajenlerin genotoksik aktivitelerinin düzenlenmesinde askorbik asit'in rolünü araştırmışlardır. Araştırmacılar kobalt klorit (CoCl_2), 4-nitrokinolin ve potasyum dikromat'ın ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) *Drosophila*'da Somatik Mutasyon Ve Rekombinasyon Testlerinde (SMART) genotoksik aktivite gösterdiğini ve 25, 75 ve 250 mM askorbik asit'in mutasyon frekansını arttırmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar askorbik asit ile üç test maddesini kombine uygulamışlar ve potasyum dikromat'ın genotoksik aktivitesini azalttığını, 4- nitrokinolin'in genotoksisitesini etkilemediğini ve kobalt klorit'in neden olduğu mutasyon frekansını arttırdığını belirlemişlerdir (129).

Ekebaş vd. (2000), Diklorvos (Dichlorvos, DDVP), Parathion metil (Parathion-methyl), Azametifos (Azamethiphos) ve mikotoksin olan Aflatoksin B1' in (bu madde, bilinen genotoksik etkisinin diğer kimyasalların oluşturacağı mutasyonlar ile karşılaştırılması amacıyla kullanılmıştır.) genotoksik etkisinin Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon testi ile araştırılmıştır. Aflatoksin B1'in mutajenik etkisinin yüksek olduğu görülmüştür. Kullanılan organik fosforlu pestisidlerin mutajenik etkileri, süre ve dozları göz önüne alınarak genotoksite dereceleri Diklorvos, Metil Parathion ve Azametifos şeklinde sıralanmıştır (130).

Graf vd. (1994), Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testinde genotoksisiteleri bakımından üç bitkisel çay, bir siyah çay, bir brendi ve beş şarap test edilmiştir. Üç günlük larvalar, içeceklerin farklı konsantrasyonlarıyla beslenmiştir. Kırmızı şaraplardan biri etanol içeriğinden kaynaklanmayan açık bir genotoksik aktivite göstermiştir. Bitki çayları ve siyah çayın zayıf genotoksik olduğu ortaya çıkmıştır. Bitki orijinli içeceklerde bulunan 2-flavanol quersetin ve rutin *Drosophila* somatik hücrelerinde zayıf genotoksik aktivite göstermiştir (131).

Lazutka vd. (2001) Nane ve am bitkisinden ekstrakt edilen uçucu yağların genotoksik etkiye sahip olduğu yine SMART ile tespit edilmiştir (132).

Negishi vd. (1997), SMART ile klorofilin antimutajenik etkilerini araştırmışlardır. Mutejen olduğu bilinen (3- hydroxyamino-1-methyl-5H-pyrido 4,3- indole ve 4-nitroquinoline-1-oxide (4 NQO)' nun genotoksik etkisinin klorofil ile baskılandığını bulmuşlardır (133).

Lassmar (2002), tarafından yapılan bir çalışmada (*Apis mellifera*)'nın tomurcuklarından elde edilen halk arasında iltihap iyileştirici olarak kullanılan doğal reçineli bir maddenin (propolis) antigenotoksik aktivitesini araştırmışlardır. Standart ve ysek bioaktivasyon çaprazlarının her ikisinden de benzer sonuçlar elde edilmiş ve bu maddenin anti rekombinajenik etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca kullanılan dozların artısına bağlı olarak bu antirekombinajenik etkinin arttığı rapor edilmiştir (134).

Idamar vd. (2002), tıbbi amaçla kullanılan *Helichrysum italicum*, *Ledum groenlandicum* ve *Ravensara aromatica* bitki çeşidinden eksrakte ettikleri uçucu yağların genotoksik etkisini SMART ile araştırmışlar ve bu maddelerin genotoksik değil antigenotoksik etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (74).

Ramirez vd. (2001), sodyum nitridin genotoksik etkisine karşı yeşil biber (*Capsicum* spp.) ekstraktının antimutajenik etki gösterdiğini saptamışlardır (135).

Karekar vd. (2000), antioksidan olan E vitamini, kafeik asit ve glutatyonun olası antimutajenitesini test etmek için *Salmonella* ve *Drosophila* test yöntemini kullanmışlardır. Promutajen aflatoksin B1'in *Drosophila* kanat imajinal disk hücrelerinde mutasyonlara neden olduğu için seçildiği bu çalışmada kafeik asit ve glutatyon, AFB1 tarafından arttırılan mutasyonel olayların indirgenmelerinde etkili olurken, E vitamininin böyle bir antimutajenik yanıtı gözlemlemiştir (136).

Hamss vd. (1999), SMART ile karışık diyetle zerdeçalın anti genotoksisitesini veya genotoksisitesini değerlendirmek istemişlerdir. İyi bilinen güçlü mutajen ürethan,

zerdeçal anti-genotoksisitesini değerlendirmek için kullanılmıştır. Ürethan'ın yalnız kullanılan tüm konsantrasyonlarda üç leke kategorisini de arttırdığı gösterilmiştir. Zerdeçalın ürethan ile birlikte içeri alımı tüm leke kategorilerinin frekanslarında istatistiksel olarak benzer azalmaya neden olmuştur (137).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Çalışmada Kullanılan Bitki Yapraklarının Ekstraksiyonu

Bu çalışmada kullanılan Mersin (*Myrtus communis* L.), *Conyza bonariensis* ve Menengiç (*Pistacia terebinthus*) bitkilerinin yaprakları 2009 yılının Ağustos ayında Hatay ilinden yol kenarından uzak dağ eteklerinden toplanmıştır. Toplanan bitki örneklerinin Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünde teşhisi yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan Mersin (*Myrtus communis* L.), *Conyza bonariensis* L. ve Menengiç (*Pistacia terebinthus*) bitkilerinin gölgede kurutulan yaprakları cam havanda toz haline getirilmiştir. Öğütülmüş yapraklar 30 g tartılmış ve 250 ml distile su içinde ayrı ayrı 24 saat oda sıcaklığında Kuru Hava İle Çalkalayıcı İnkübatörde (Labon Shaking Incubator) 150 rpm’de ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda 250 ml’ lik cam balon içinde, vakum altında 50 °C’ de Rotary Evaporatör cihazında 2,5 saat süreyle buharlaştırılmıştır. Çıkarılan ekstraktlar antimikrobiyal ve antigenotoksite çalışmalarında kullanılıncaya kadar +4 °C’ de muhafaza edilmiştir.

2.2. Antigenotoksite Aktivitesinin Belirlenmesi

2.2.1. Deneyde Kullanılan *Drosophila* Stokları

Deneyde kullanılan *Drosophila melanogaster*’in sık kanat kıllılığı (multiple wing hair, *mwh/ mwh*) ve düzensiz kanat kıllılığı (flare, *flr3 / In (3LR)*, *TM3 Bd*) genlerine sahip iki mutant ırkı kullanılmıştır.

2.2.2. Deneyde Kullanılan Aflatoxin B1 Stoğunun Hazırlanması

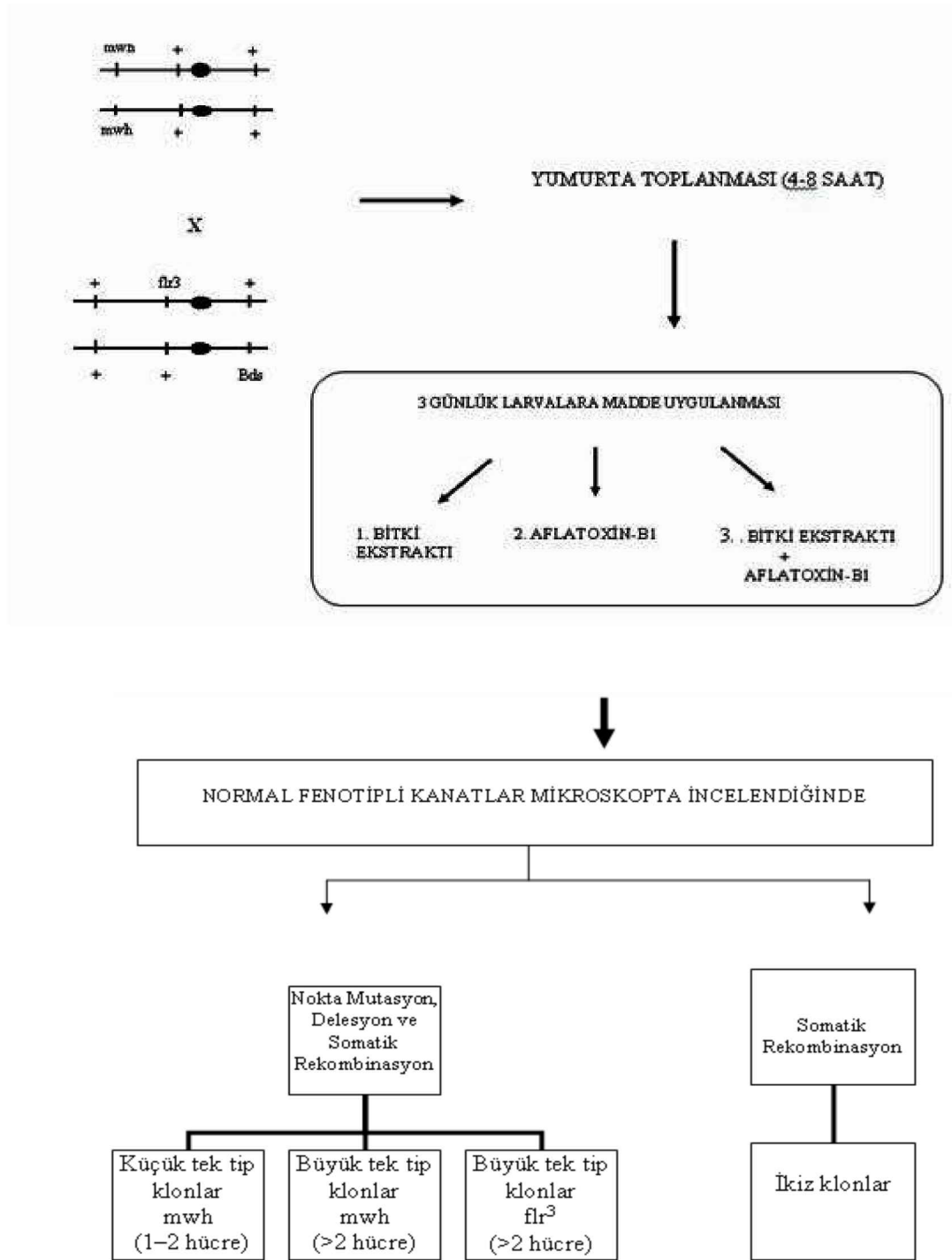
Aflatoxin B-1 solüsyonunun (Acros Organics) hazırlanmasında çözücü olarak %1 Tween 80 + %3 Etanol kullanılmıştır (Merck). Aflatoxin B1 solüsyonu 3 konsantrasyonda (125, 250, 500 nmol) hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılacak Aflatoxin B1 solüsyonunu seçmek için bu 3 konsantrasyonda *Drosophila melanogaster* üzerinde denenmiş, Aflatoxin B1' in organizmada yarattığı mutasyon sayısına ve hayatta kalma oranlarına bakılmıştır. Çalışmaya tek konsantrasyonla devam edilmiş, *Drosophila* stoklarına 500 nmol Aflatoxin B1 solüsyonu uygulanmıştır (136).

2.2.3. Uygulama

Bu çalışmada mwh ırkının daha önce çiftleşmemiş (virgin) dişileri, stoklar boşaltıldıktan ilk 4- 8 saat içinde eşeyssel olgunluğa ulaşmadan toplanmıştır. Mutant soylardan 5 günlük mwh işaret geni taşıyan virgin dişi ile aynı yaştaki flr³ erkeklerin çaprazlanmasından 72±4 saat sonra (yumurta veriminin en yüksek olduğu dönemde), standart besi ortamından alınarak yıkanan larvalar 100'erli gruplar halinde ayrılmıştır. Ön denemeler yapılarak deneyde kullanılacak konsantrasyonlar belirlenmiştir. 1,5 gram standart *Drosophila* besiyeri (Instant *Drosophila* Medium, Carolina Biological Supply Company, Burlington, N.C.) test solüsyonu ile ıslatılmıştır. *Myrtus communis*, *Conyza bonariensis*, *Pistacia terebinthus* bitkilerinin yapraklarından elde edilen ekstraktlardan farklı dozlarda (0.5, 2.5, 5 mL) alınarak *Drosophila*'nın besi ortamına katılmıştır. Antigenotoksik etkiyi bitkide saptamak için, bu bitki ekstraktları farklı dozlarda alınarak mutajen olduğu bilinen 2.5 mL 500 nmol Aflatoxin B1 solüsyonuyla birlikte besi ortamına uygulanmıştır (Şekil 2.1). Ayrıca ekstrakt hazırlamak için kullanılan distile su, Aflatoxin B1'i çözmede kullanılan %1 Tween80+ %3 Etanol ve Aflatoxin B1 ile kontrol grubu deneyleri yapılmıştır.

Kimyasal içeren standart besi ortamına alınan larvalar gelişmelerinin tamamlamaya bırakılmışlardır. Pupadan çıkan ergin bireyler eterizasyon yöntemi ile bayıltılarak

diseksiyon mikroskopi altında cinsiyet ve fenotipine göre; normal kanatlı dişi, normal kanatlı erkek, kırık kanatlı dişi ve kırık kanatlı erkek şeklinde ayrılmışlardır.



Şekil 2.1. *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi uygulama yöntemlerinin şematik gösterimi

Uygulanan her doz ekstrakt ve aflatoxin B1 için, pupadan çıkan birey sayıları tespit edilmiş ve dominant Blade işaret geni taşımayan (normal kanat şekline sahip) bireyler ayrılarak diğerleri atılmıştır. Bu normal kanat şekline sahip bireyler kanat preparatı hazırlanıncaya kadar bekletilmek üzere % 70'lik alkol içeren tüplere alınıp + 4 C 'de muhafaza edilmişlerdir. Ayrıca her bir deneme için uygulama paralel olarak üç kez tekrarlanmıştır.

2.2.4. Kanat Preparatlarının Hazırlanması

Kanat preparatlarının hazırlanmasında kullanılan Faure solüsyonu Graf vd. (1984) çalışmasındaki tarife göre hazırlandı (62).

Faure solüsyonun içeriği aşağıdaki gibidir:

Gum arabik 30 g

Gliserol 20 ml

Kloral hidrat 50 g

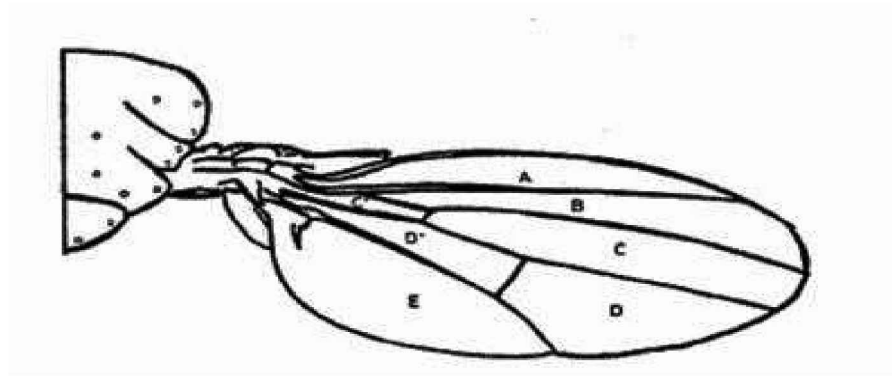
Distile su 50 ml

Daha önce kanat morfolojilerine göre ayrılmış % 70 etanol içerisinde bekletilen sinekler kanat preparatı hazırlamak için içerisinde distile su bulunan petriye alındılar. Sterio mikroskop altında ince uçlu pens ile kanatlar vücuttan dikkatlice ayrıldı. Kanatların vücuttan ayrılması işleminde, kanatlar vücuda bağlandığı yerden tutularak kanat üzerindeki kıllara ve kanat bütünlüğüne zarar vermeden ayrıldı. Kopartma işleminde kanat üzerindeki kılların zarar görmesi halinde bu kanatlar kullanılmadı. Her bir bireyin kanadı ayrıldıktan sonra aynı bireye ait kanatlar lam üzerine uygun aralıklarla karşılıklı yerleştirildi. Preparatlar kuruduktan sonra lamlara bir iki damla faure solüsyonu damlatılarak hava kabarcığı kalmayacak şekilde üzeri lamel (24 x 60 mm) ile kapatıldı. Kanatların düzgün bir şekilde kuruması için kapatılan preparatların üzerine küçük ağırlıklar konularak, Preparatlar ışık mikroskobunda sayım işlemi için hazır hale getirildi (62).

2.2.5. Kanatların Mikroskopik Analizi

Farklı dozlarda uygulanan kimyasalların mutajenik etkisi, hazırlanan kanat preparatlarının mikroskop (ZEISS Scope. A1) altında 10×40 büyütme ile incelendi.

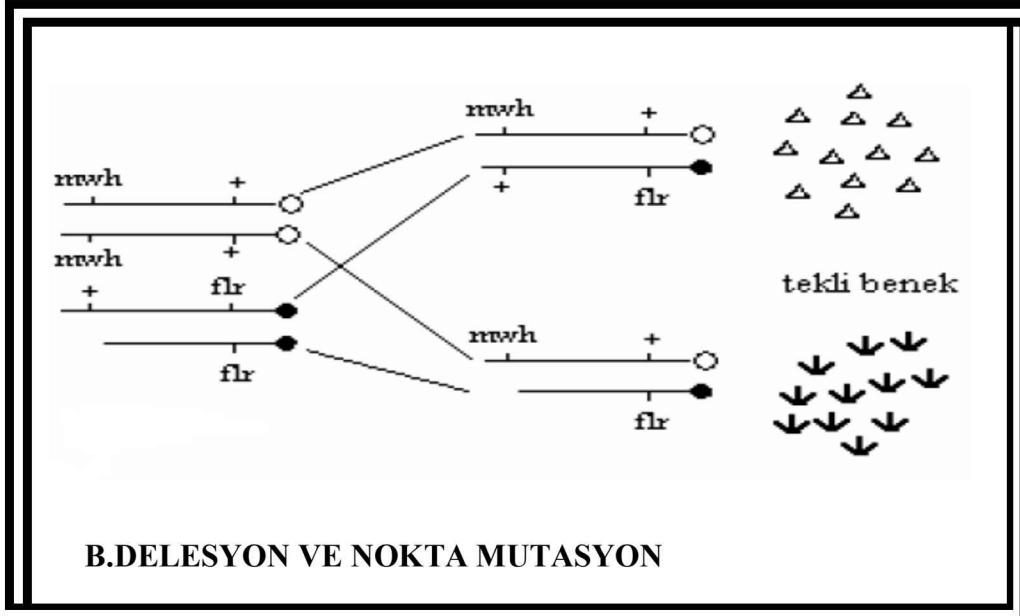
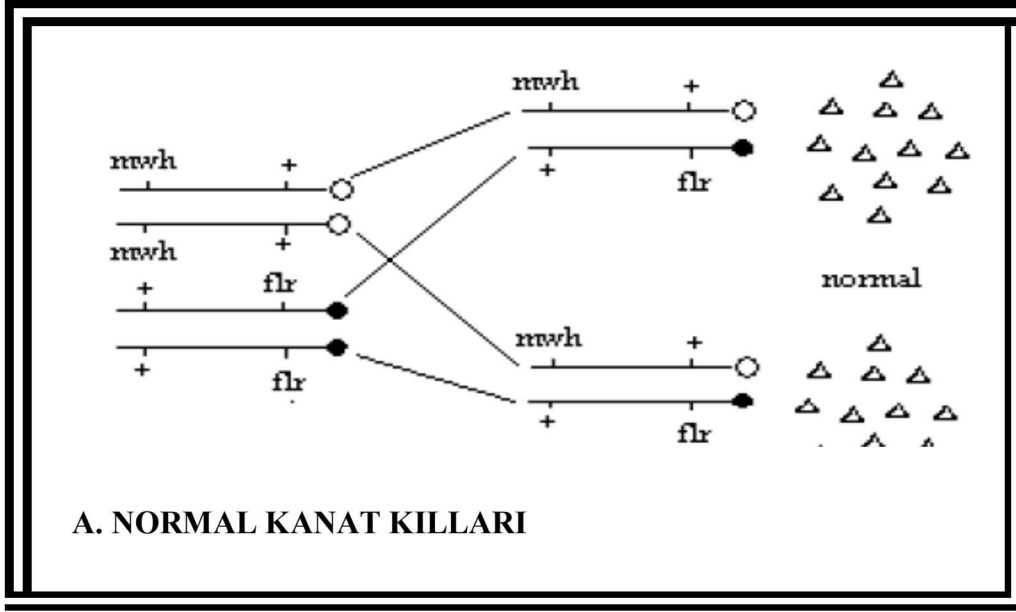
Kanatlar incelenirken şekil 2.2’de görüldüğü gibi A, B, C, C1, D, D1, E olarak bölümlere ayrıldı. Kanat yüzeyindeki her bir sektör ayrı ayrı taranarak mwh ve/veya flr³ mutant fenotipler sayılarak kayıtları tutuldu (62). Mutasyonlar oluşum şekillerine göre, mutasyon taşıyan hücre kümesinden 1- 2 hücre olduğunda küçük tek tip klonlar (S 1- 2, small single spot), 3-4 hücre olduğunda büyük tek tip klonlar (S> 2, large spot) ve twin (mwh ve flr³ fenotipinin her ikisinin de birlikte bulunduğu kümeler) şeklinde sınıflandırılmıştır (138). Beneklerin farklı olmasının nedeni, farklı genetik mekanizmaların meydana gelmesidir (Şekil 2.3). Tekli benekler nokta mutasyon, delesyon, ayrılmama ve iki belirleyici gen (mwh ve flr³) arasındaki mitotik rekombinasyonla oluşurken ikili benekler üçüncü kromozomun sentromeri ile flr³ geni arasındaki mitotik rekombinasyon sonucu oluşmaktadır (62).



Şekil 2.2. Kanat sektörlerinin şematik görünümü

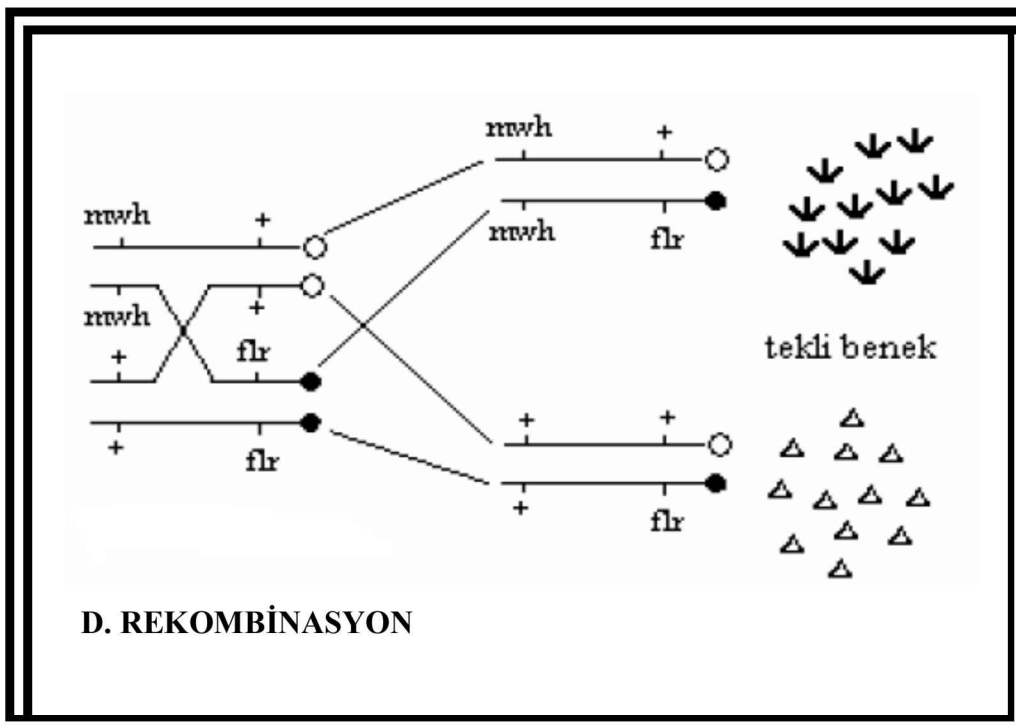
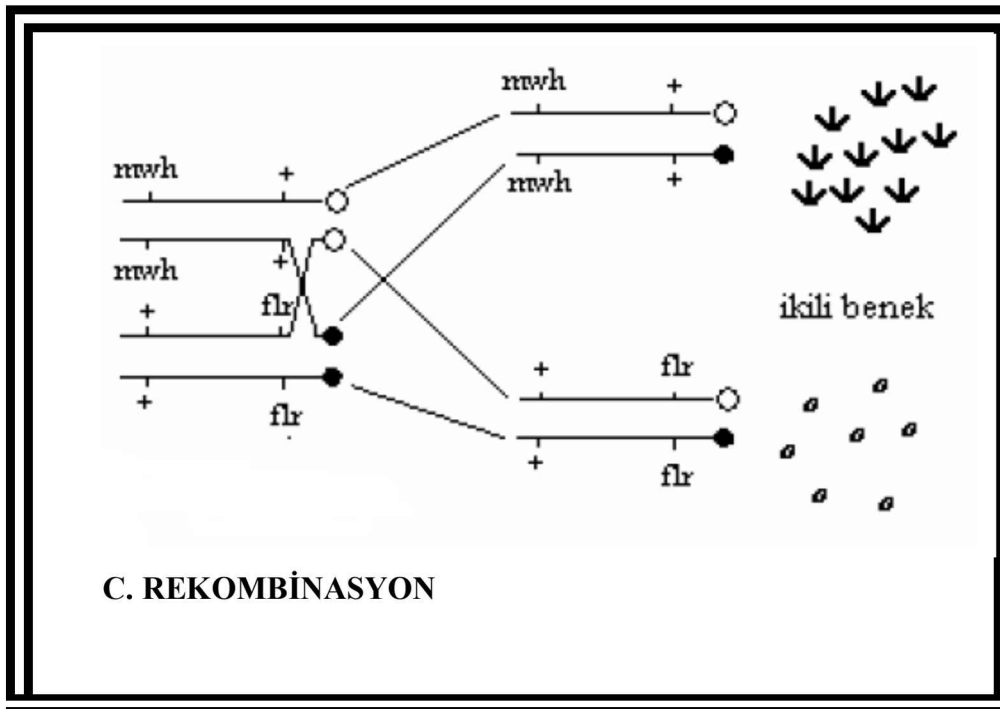
Küçük tek tip klonlar yalnızca mwh hücrelerden oluşmaktadır. Çünkü varyasyonla oluşan ve flare gibi görünen hücreleri mutantlardan ayırmak için 4’den daha az sayıdaki flare hücreler bu sayıma dahil edilmedi Esas olarak bu test, transheterozigot larvalarda delesyon, nokta mutasyon, ayrılmama ve rekombinasyon ile kanat

imaginal disk hücrelerinde oluşan genetik değişimlerin fenotipte gözlenmesine dayanır (62). Bu nedenle mikroskop gözlemleri sonucunda mwh tipi mutasyon bir hücreden üç veya daha fazla kıl çıkması şeklinde gözlenirken, flr tipi mutasyonda ise kısa, ince kıllar şeklinde gözlenmiştir (128).



Şekil 2.3. Tekli ve ikili beneklerin oluşumuna neden olan farklı genetik mekanizmalar (60).

Şekil 2.3 devam ediyor.



2.2.6. Laboratuvar Koşulları

Deneyde kullanılan bütün stok kültürler ve kurulan deney sistemleri $25\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve %40- 60 bağıl nem ve sürekli karanlık koşullarda soğutmalı etüvde tutuldu. Çalışmalar sırasında sinekler sadece, preparat hazırlama, eşleştirme, virjin toplama, larva toplama ve işlemleri için aydınlık ortama alındılar. Sinekler standart *Drosophila* besiyeri (Instant *Drosophila* Medium, Carolina Biological Supply Company, Burlington, N.C.) ile beslenmişlerdir.

2.2.7. İstatistiksel Analizler

Sayımlar sonucunda elde edilen veriler değerlendirilirken orijinal (null) hipotez (H_0)’de uygulamalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark olmadığı varsayıldı. Alternatif hipotez (H_A) de ise uygulama grubundaki indüklenen mutasyon oranının kontrol grubundan m defa daha fazla olduğu varsayıldı. Hesaplama sonucunda eğer uygulama grubundaki (nt) mutant sektör sayısı tablo değerine eşit veya büyükse H_0 red edilir. Aynı şekilde, kontrol grubundaki (nc) mutant sektör sayısı eğer tablo değerine eşit veya büyükse H_A red edilir. Orijinal ve alternatif hipotezlerin kabul veya red edilmesinde karar verilirken Kastenbaum ve Bowman (1970) tablosundan yararlanılır (139). Orijinal ve alternatif hipotezlerin Binomial Şartlı Test kullanılarak % 5 güven aralığında hesaplanmasıyla sonuçlar Frei ve Würger (1988)’ e göre; pozitif (+), zayıf pozitif (z), önemsiz fark (i) ve negatif (-) olarak gösterildi (140).

Çizelge 2.1. Orijinal ve alternatif hipotezlerin değerlendirilmesi

HİPOTEZLER		H_A	
		KABUL ($1-\beta$)	RED (β)
H_0	KABUL ($1-\alpha$)	ÖNEMSİZ FARK $P=(1-\alpha)(1-\beta)=1-\alpha-\beta+\alpha\beta$	NEGATİF $P=(1-\alpha)\beta=\beta-\alpha\beta$
	RED α	POZİTİF $P=\alpha(1-\beta)=\alpha-\alpha\beta$	ZAYIF POZİTİF $P=\alpha\beta$

Hipotezlerin kurulması sırasında yapılan hesaplamalarda kullanılan parametreler aşağıda verilmiştir

NC= Kontrol grubunda incelenen kanat sayısı

Nt= Uygulama grubunda incelenen kanat sayısı

nc= Kontrol grubunda gözlenen mutant klon sayısı

nt= uygulama grubunda gözlenen mutant klon sayısı

n= nt+nc= toplam mutant klonların sayısı

Po= Kontrol grubunda beklenen mutant klon frekansı, orijinal hipotez (Ho) için

$$Po = Nc / (NC + Nt)$$

qo= uygulama grubunda beklenen mutant klon frekansı, Orijinal hipotez (Ho) için

$$qo = Nt / (NC + Nt)$$

PA= Kontrol grubunda beklenen mutant klon frekansı, Alternatif hipotez (Ha) için

$$PA = NC / (NC + mNt)$$

qA= uygulama grubunda beklenen mutant klon frekansı, Alternatif hipotez (Ha) için

$$qA = mNC + mNt$$

Pon= Kontrol grubunda beklenen mutant klon sayısı, Orijinal hipotez (Ho) için

qon= Uygulama grubunda beklenen mutant klon sayısı, Orijinal hipotez (Ho) için

PAn= Kontrol grubunda beklenen mutant klon sayısı, Alternatif hipotez (Ha) için

qAn= Uygulama grubunda beklenen mutant klon sayısı, Alternatif hipotez (Ha) için

M= Çarpım sabiti

Drosophila kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için hazırlanmış olan bilgisayar programı MİCROSTA ile öncelikle yukarıda verilen parametreler hesaplandı. Hesaplama sonucunda eğer uygulama grubundaki (nt) mutant klon sayısı çizelge değerine eşit veya büyükse Ho red edildi. Aynı şekilde kontrol grubundaki (nc) mutant klon sayısı eğer çizelge değerine eşit veya büyükse (Ha) red edildi. Ho ve Ha'nın kabul veya red edilmesine göre Çizelge 2.1. kullanılarak sonuçlar pozitif (+), zayıf pozitif (+), önemsiz fark (i) veya negatif (-) olarak değerlendirildi.

Ayrıca kontrol grubu ve test grubu arasındaki hayatta kalma oranı, mutasyon gözlenen kanat yüzdesi ve toplam mutasyon yüzdesi arasındaki farkın anlamlılığını saptamak amacı ile X^2 testi kullanılmıştır.

2.3. Antimikrobiyal Aktivite Çalışması

Bu çalışmada Disk Difüzyon Tekniği kullanılmıştır. Bu teknik, bir Antimikrobiyal ilacın mikroorganizmaların üremesini inhibe ettiğini, açıklamak için kullanılır. Bakterilerin üremesini inhibe ederek ilacın etkisinin ne kadar olduğunu ölçülmesine ve standartlarla karşılaştırma yapılmasına yarar.

2.3.1. Deneyde Kullanılan Mikroorganizmalar

Analizde kullanılan mikroorganizmalar Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Tip Kültür Koleksiyonu ve Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan bakteriler *Escherichia coli* ATCC 3509, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans* RSKK 676, *Pseudomonas aeruginosa* RSKK 96108, *Klebsiella pneumoniae* ACTT 27736, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ACTT 29213, ve mantar suşu olan *Trichophyton rubrum* RSKK 468 kullanılmıştır.

2.3.2. Besi Yerlerinin Hazırlanması

Bakteri suşlarından *Streptococcus mutans* ve *Staphylococcus aureus* Triptase Soy Broth 'a aşılanmıştır. Antibakteriyel etkinin incelenmesi için % 5 Koyun Kanlı Agar (ORBAK)'a ekimleri yapılmıştır. Çalışmada kullanılan; *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*'un Nutrient Agar (NA) (Merck) besiyerine ekimleri yapılmıştır. *Trichophyton rubrum*'un ise Patato Dextrose Agar- PDA (Merck)'a ekimi yapılmıştır.

2.3.3.Besi Yerlerinin Petri Kaplarına Dökülmesi

Hazırlanan ve sterilize edilen besi yerleri, 9mm’lik petri kaplarına ortalama 4.0 mm (± 0.5 mm) derinlikte olacak şekilde dökülmüştür (141).

2.3.4. Mikroorganizmaların Standardize Edilmesi

Hazırlanan inokulumların standart olması çok önemlidir. 24 saatlik inkübasyon sonucunda gelişen kolonilerin ne çok seyrek, ne de çok yoğun olması gerekmektedir. Yoğun koloniler, inhibisyon zonlarının daralmasına neden olurken, seyrek koloniler tam tersi bir etki yapmaktadır. Gözlem için uygun koloni miktarını hazırlamak ve besi yeri üzerine yaymak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri, besi yerleri üzerine yayılacak inokulumları hazırlarken 0,5 McFarland Standardı ile karşılaştırmaktır.

Disk difüzyon yöntemi kullanmadan önce, bakteri örnekleri 0.5 McFarland standardı ile karşılaştırılarak standardize edilmiştir. Bakteri kültürleri öncelikle izole koloniler elde etmek amacıyla agar ortamına ekilmiş, 37 °C’de 24 saat inkübasyondan sonra 4–5 tane iyi izole olmuş koloni, öze yardımıyla %0,9’luk serum fizyolojik içine alınmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonu, daha önce hazırlanmış olan 0,5 McFarland standardı ile karşılaştırılarak süspansiyonun bulanıklığı ayarlanmıştır. 0.5 McFarland standardının bulanıklığına göre ayarlama yapıldığında, tüp içindeki canlı hücre sayısı $1 \times 10^7 - 1 \times 10^8$ cfu/mL arasında olmaktadır (142).

2.3.5. Besi Yerlerinin İnokülasyonu

Hazırlanan mikroorganizma süspansiyonları standardize edildikten sonra besi yerlerine mikroorganizma süspansiyonundan 100 µL alınarak, eküvyon yardımıyla bu süspansiyon besi yerinin üzerine yayılmıştır. Bu şekilde besi yerine ekimi yapılacak süspansiyonun da miktarının standart olması sağlanmıştır (143).

Mikroorganizma süspansiyonu yayılan petriler, diskler uygulanmadan önce bir süre kurumaya bırakılmıştır.

2.3.6. Bitki Ekstraktların Disklere Emdirilmesi ve Disklerin Ortama Yerleştirilmesi

Yapılan denemeler sonucu çalışmada kullanılan her üç bitki için mikroorganizma üremesini engellediği konsantrasyon %5 olarak bulunmuştur. *Myrtus communis*, *Conyza bonariensis*, *Pistacia terebinthus* ekstraktları %5'lik konsantrasyonda hazırlanmış ve 6 mm'lik boş, steril antibiyotik disklerine Moniharapon ve Hashinaga (2004)'nın belirttiği şekilde 20 µL ekstrakt emdirilmiştir (144). Emdirilen örnek miktarının kontrolü için değişik miktarlarda ekstraktlar disklere emdirilmeye çalışılmıştır. Disklerin 30 µL üzerindeki örneği emmediği, örneklerin bir kısmının disklerin dışına taşıdığı ve burada kuruduğu gözlenmiştir. Diskler, 30 µL üzerinde ekstraktı uygun bir şekilde emmediği için bu miktarın kullanılması uygun olmamıştır. Ayrıca yapılan karşılaştırmada 30 µL emdirilmeye çalışılan diskler ile 20 µL emdirilmiş diskler arasında etki bakımından çok fazla bir fark olmadığı gözlemlendiği için disklere 20 µL ekstrakt emdirilmesine karar verilmiştir.

Kontrol olarak standart antibiyotik diskleri kullanılmış olup bunlar; Seftazidim (Ceftazidime 30µg- Bioanalyse), Sefriakson (Ceftriaxone 30µg- Bioanalyse), Nistatin (Nystatin 100 U- Bioanalyse)'dir. Bitki ekstraktlarının antibiyotiklerle etkileşimini in-vitro belirlemek amacıyla, yukarıda ifade edilen standart antibiyotik disklerine her bitki türü için ayrı olacak şekilde 20 µl bitki ekstraktı emdirilmiştir. Etken maddeleri içeren diskler petri kabına yerleştirilirken tamamı agar üzerine her yerde eşit dokunmuş olmasına dikkat edilmiştir. Ayrıca inhibisyon zonlarının okunamayacak derecede üst üste binmesini engellemek amacıyla agar üzerine seyrek aralıklarla dizilmiştir.

2.3.7. İnkübasyon Aşaması

Diskler uygulandıktan sonra uzun bir süre oda sıcaklığında bekleyen petrilere görülecek İnhibisyon zonları, diskler uygulandıktan hemen sonra inkübe edilen petrilere göre daha az olabilir. Bu nedenle diskler uygulanmış petri kapları, 15 dakika içinde inkübe edilmeye başlanmıştır

İnkübasyon için hazır hale getirilmiş petri kutularından bakteri ve maya aşılaman plaklar $37 \pm 0,1$ °C'de 24 saat, mantar aşılaman plaklar ise 25 °C de en az 1 hafta inkübasyona bırakılmıştır. Ayrıca her uygulama için 3 kontrol grubu paralel olarak hazırlanmıştır.

2.3.8. İnhibisyon Zonlarının Ölçümü

Oluşan inhibisyon zonları ölçülerek çapı mm (milimetre) cinsinden ifade edilmiştir.

2.3.9. İstatistiksel Analizler

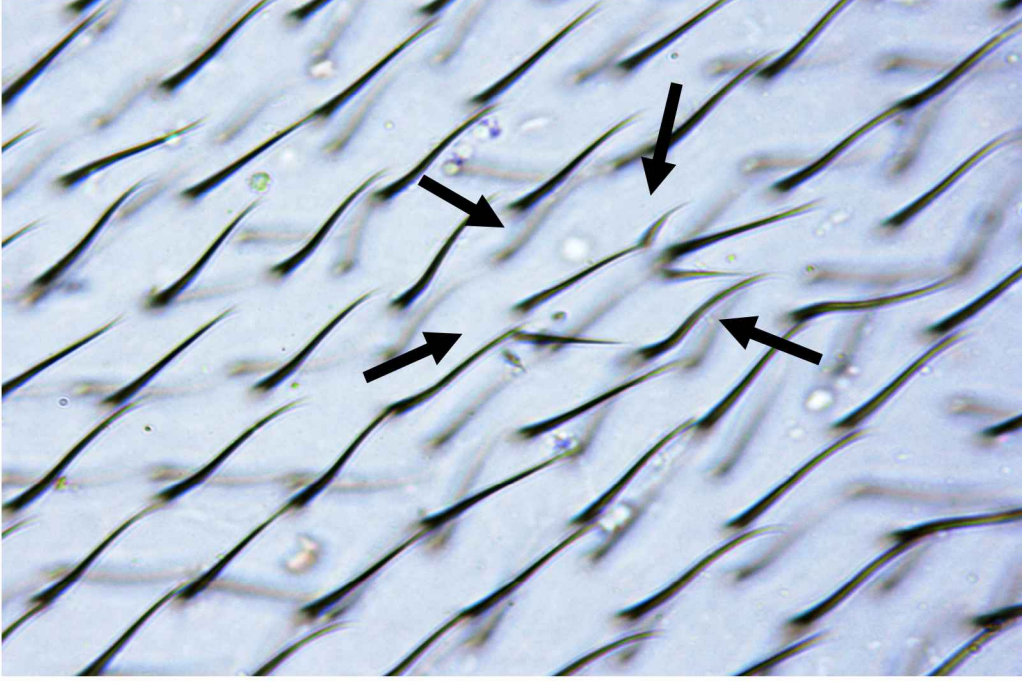
Mann-Whitney U testi parametrik olmayan çift taraflı bir testtir. Bağımsız iki örneklem t testinin parametrik olmayan alternatifidir. Z ve t'nin, test istatistiği olarak kullanılması uygun olmadığı durumlarda iki örneklem arasındaki farkla ilgili sıfır hipotezini test etmek imkansız değildir. Bu gibi durumlarda genellikle uygun bir non-parametrik yöntem seçilir. Konu iki bağımsız örneğin arasındaki farkın anlamlı olup olmadığını test etmek ise, non-parametrik testlerden en sık kullanılanı Mann-Whitney U testi seçilir. Bu çalışmada elde edilen değerlerin istatistiksel değerlendirilmesinde Maun Whitney-U testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

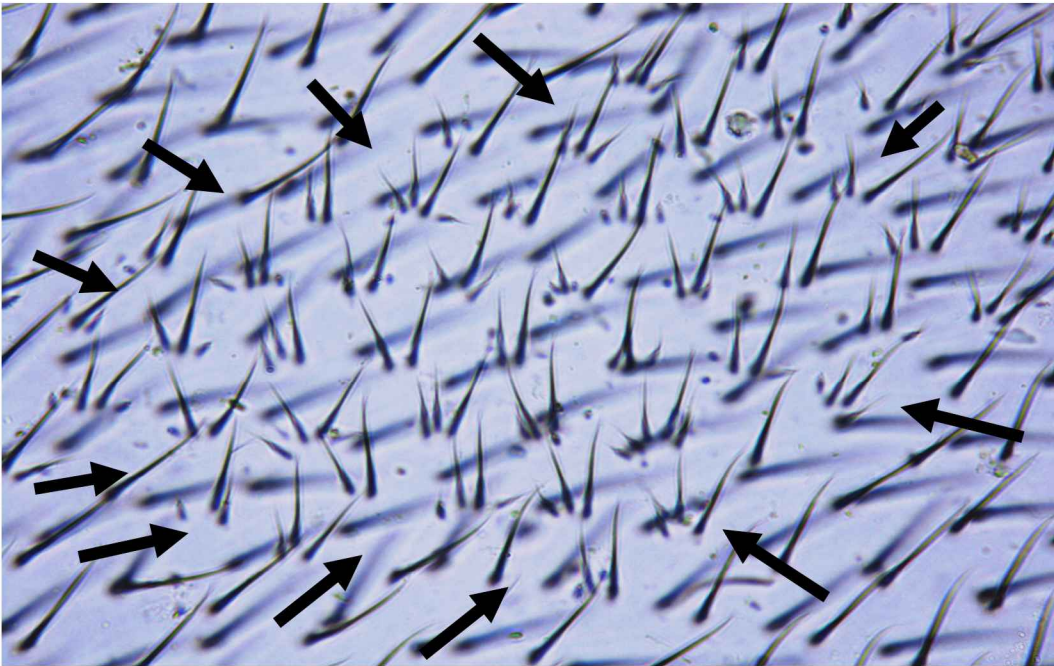
3.1.Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)

Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART), mutant işaret genleri nedeniyle transheterozigot fenotipe sahip larvaları çeşitli kimyasalların etkisine bırakılarak oluşan ergin sineklerin kanat hücrelerindeki mutajenik hücrelerin fenotipe yansımaya dayanır. Bu çalışmada *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus* ve *Conyza bonariensis* bitkilerine ait kaba ekstraktların antigenotoksik aktivite varlığını araştırmak amacıyla mutajen etkisini fenotipte gösteren Aflatoxin B1'e kombine uygulanması sonucu mutasyon sıklıkları belirlendi. Uygulama gruplarındaki kanat başına düşen mutasyon frekansı su kontrol grubundaki ile karşılaştırıldı. Bulguların değerlendirilmesi Frei ve Würger'e göre yapıldı (140). İstatistiksel hesaplamalar bağıl binomial test kullanılarak %5 güven aralığında Kastenbaum ve Bowman'a göre yapıldı ve sonuçlar çizelge 3.1–3' de gösterildi (139).

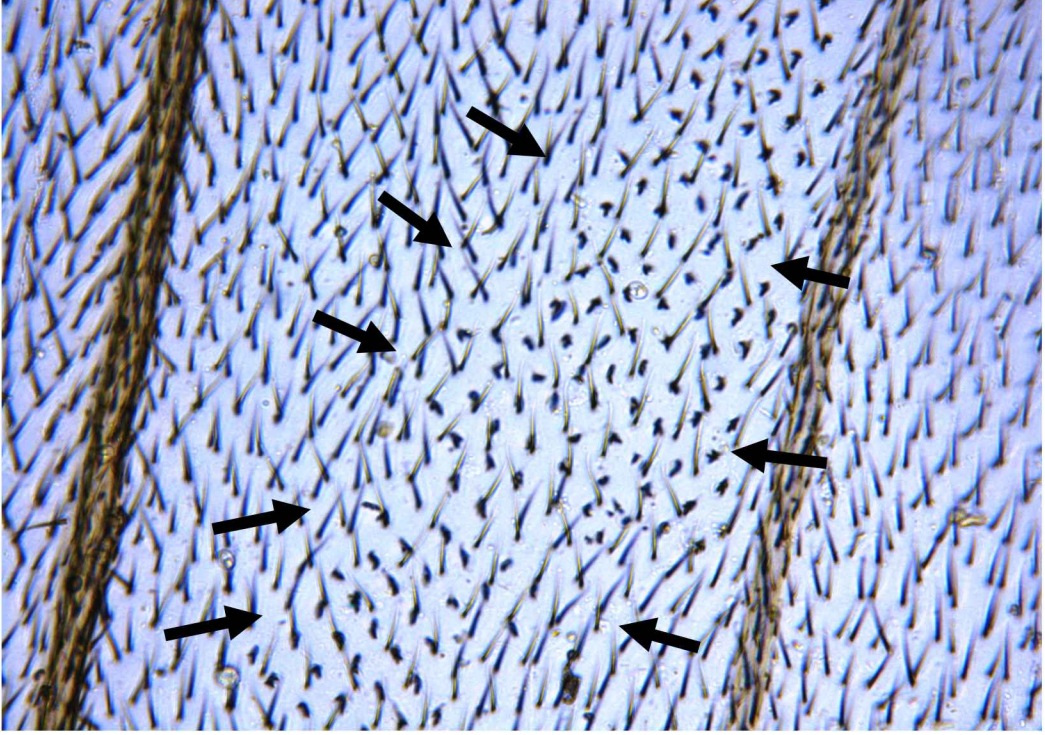
Aflatoxin B1 ve bitki ekstraktlarının farklı dozlarının kombine uygulandığı larvalardan çıkan yetişkin normal kanatlı bireyler ayrıldı ve kanat kılları 400 büyütme ile incelenerek mutasyon tipleri belirlendi. Mikroskopik incelemeler sırasında mutasyonlar oluşum şekillerine göre, mutasyon taşıyan hücre kümesinden 1–2 hücre olduğunda küçük tek tip benekler (S 1–2, small single spot), 3-4 hücre olduğunda büyük tek tip benekler (S> 2, large spot) ve ikiz benekler (mwh ve flr3 fenotipinin her ikisinin de birlikte bulunduğu kümeler) şeklinde sınıflandırıldı. Küçük küme halinde görülen ve tek hücreden 1-2 kıl gözlenmesiyle ayırt edilen mwh tipi mutasyon Şekil 3.1'de gösterildi. Büyük küme halinde görülen mwh tipi mutasyon ise bir hücreden üç veya daha fazla kıl çıkması şeklinde olup Şekil 3,2' de gösterildi. flr tipi mutasyonda fenotip, kısa ince kıllar şeklinde olduğu gibi bazıları da nokta şeklinde ve balona benzer. Küçük tek tip klonlar yalnızca mwh hücrelerden oluşmaktadır. Çünkü varyasyonla oluşan ve flare gibi görünen hücreleri mutantlardan ayırmak için 4'den daha flare hücreler bu sayıma dahil edildi. Büyük tek tip flr tip mutasyon Şekil 3.3'de gösterilmiştir. Mikroskopik analizde her iki fenotipin de gözlenmesi şeklinde ortaya çıkan twin tipi mutasyon Şekil 3.4'de gösterildi.



Şekil 3.1. Küçük tekli benek, *mwh* tip mutasyon



Şekil 3.2. Büyük tekli benek, *mwh* tip mutasyon



Şekil 3.3. Büyük tekli benek, *flr* tip mutasyon



Şekil 3.4.  kiz benek (*mwh + flr*)

Genetik değişimler imaginal disklerin somatik hücrelerinde mutant hücre klonlarının oluşmasına neden olur. Nokta mutasyon, kromozom kırığı, mitotik rekombinsayon, kromozom kaybı ve ayrılmama gibi genetik bozukluklar küçük tekli benek denilen 1-2 hücre kümesinde mutasyon görülmesiyle kendini gösterir. Mitotik rekombinsayon ise ikiz benek denilen mwh ve flr tip mutasyonun birlikte görülmesiyle ortaya çıkar.

Mutasyon frekansı deney gruplarında kontrole göre düşük olduğunda, bu genotoksik etkinin negatif olduğunu gösterirken, mutasyon frekansı deney ve kontrol gruplarının her ikisinde de eşitse etkinin anlamsız olduğunu ya da çok yakınsa bu da genotoksik etkinin zayıf pozitif olduğunu göstermektedir. Eğer deney gruplarındaki mutasyon frekansı kontrol grubundan yüksek bulunduyorsa o zaman genotoksik etki pozitif olarak değerlendirilir. Bu değerlendirme istatistik hesaplamalar sonucunda bu şekilde bulunmaktadır.

Mikroskop analizleri sırasında en fazla rastlanan mwh tipi mutasyon iken, en az rastlanan mutasyon tipi ise ikiz benek olmuştur.

3.1.1. *Myrtus communis*' in Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi Bulguları

Kontrol grubu olarak kullanılan *Myrtus communis* bitkisine ait kaba ekstraktın kullanılan 3 dozu da (0,5 mL, 2,5 mL, 5mL) denemelerde Frei ve Würger'in istatistiksel değerlendirmesine göre negatif bulundu (Çizelge 3.1). Bu durumda bitki deney grubundaki mutanat kolon sayısı su kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır. İstatistiksel hesaplamalara göre; *Myrtus communis* bitkisine ait kaba ekstraktın genotoksik olmadığı görülmüştür. Ayrıca toplam mutasyon frekansı su kontrol grubunda 0,07 iken *Myrtus communis* bitkisinin 0.5 mL'lik dozunda 0.025, 2.5 mL ve 5 mL uygulanan dozunda ise 0.017 bulundu (Çizelge 3.1). Bu sonuçlara göre uygulanan bitki ekstraktının mL cinsinden miktarı arttıkça oluşan toplam mutasyon frekansında kısmen azalma gözlemlendi.

Myrtus communis bitkisinin uygulanan 3 dozu da hayatta kalış yüzdesi, mutasyon gözlenen kanat yüzdesi ve toplam mutasyon yüzdesi bakımından su kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Bu farkın istatistiksel olarak anlamlılığını saptamak için SPSS istatistik paket programında X^2 (Ki Kare) Testi kullanıldı. Bu sonuçlara göre:

Myrtus communis bitkisinin 0.5mL, 2.5 mL ve 5 mL dozunun da hayatta kalış yüzdesi, mutasyon gözlenen kanat yüzdesi ve toplam mutasyon yüzdesi bakımından su kontrol grubuna göre toplam mutasyon frekansında azalma gözlemlendi fakat bu fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Çizelge 3.2).

Çalışmada kullanılan *Myrtus communis*, *Conyza bonariensis* ve *Pistacia terebinthus* bitkilerinin antigenotoksik etkisinin var olup olmadığını saptamak amacı ile kontrol grubu olarak Aflatoxin B1 kullanıldı. Deney grubu olarak *Myrtus communis*, *Conyza bonariensis* ve *Pistacia terebinthus* bitkilerinin ekstraktları farklı dozlarda Aflatoxin B1 ile kombine bir şekilde *Drosophila melanogaster* (mwh X flr) larvalarına uygulandı. 2,5 mL 500 nmol Aflatoxin B1 uygulanan larvalardan gelişen ergin bireylerde mutasyon frekansı su kontrol grubu ile karşılaştırıldığında genotoksik değerlendirme istatistiksel olarak pozitif bulundu (Çizelge 3.4). Ayrıca aflatoxin B1'in larvalara uygulanması sonucu hayatta kalış yüzdesi (larvalardan çıkan ergin birey sayısı) mutasyon gözlenen kanat yüzdesi ve toplam mutasyon yüzdesi bakımından su kontrol grubu arasındaki farkın uygunluğu X^2 testi ile karşılaştırıldı.

Aflatoxin B1 uygulanan larvalardan ergin olarak gelişen birey sayısı (hayatta kalış yüzdesi) % 71 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($X^2_{\text{Hesap}}=4.41 > X^2_{\text{Tablo}}= 3,84$ olduğundan). Bu durumda aflatoxin B1'in larvalara uygulanması sonucu hayatta kalış yüzdesinde azalma olduğu tespit edildi (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.1. *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus* ve *Conyza bonariensis* ekstrakt etkisinin SMAR Testi’nden elde edilen sonuçları

Test Maddesi	Konsantrasyon	Hayatta Kalış (%)	Kanat Sayısı	Küçük tekli benek (1-2hücre) (m=2)			Büyük tekli benek (>2 hücre) (m=5)			İkiz benek (m=5)			Toplam mwh benek (m=2)			Toplam benek (m=2)		
				No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.
Distile su	-	%98	122	7	0,06		1	0,008		1	0,008		9	0,07		9	0,07	
<i>Myrtus communis</i>	0,5 mL	%94	121	2	0,016	-	1	0,008	+	0	0,00	z	3	0,025	-	3	0,025	-
	2,5 mL	%91	119	2	0,017	-	0	0,00	z	0	0,00	z	2	0,017	-	2	0,017	-
	5 mL	%87	119	1	0,008	-	1	0,008	z	0	0,00	z	2	0,017	-	2	0,017	-
<i>Pistacia terebinthus</i>	0,5 mL	92%	120	3	0,025	-	4	0,03	z	1	0,008	z	7	0,58	-	8	0,067	-
	2,5 mL	91%	120	3	0,016	-	5	0,04	z	0	0	z	7	0,058	z	8	0,066	z
	5 mL	86%	115	4	0,035	z	5	0,04	z	0	0	z	9	0,08	z	9	0,08	z
<i>Conyza bonariensis</i>	0,5 mL	93%	120	2	0,016	-	2	0,016	z	0	0	z	4	0,03	-	4	0,03	-
	2,5 mL	90%	120	2	0,016	-	1	0,008	z	0	0	z	3	0,025	-	3	0,025	-
	5 mL	89%	117	1	0,008	-	3	0,02	z	0	0	z	3	0,03	-	3	0,03	-

Fr., frekans D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark z: zayıf pozitif ; m=çarpım faktörü;

Olasılık düzeyi= 0,05 D: Frei ve Würger (137)’e göre istatistiksel değerlendirme

Çizelge 3.2. *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus* ve *Conyza bonariensis*’ in genotoksisitesi ile ilgili sonuçlar

Doz mL	Yaşama Yüzdesi (%)			Mutasyon Gözlenen Kanat (%)			Toplam Mutasyon (%)		
	<i>Myrtus communis</i>	<i>Pistacia terebinthus</i>	<i>Conyza bonariensis</i>	<i>Myrtus communis</i>	<i>Pistacia terebinthus</i>	<i>Conyza bonariensis</i>	<i>Myrtus communis</i>	<i>Pistacia terebinthus</i>	<i>Conyza bonariensis</i>
0,5 mL	%94 Önemsiz	81% Önemsiz	82% Önemsiz	%2,48 Önemsiz	%6,67 Önemsiz	%3,33 Önemsiz	%2,48 Önemsiz	%6,67 Önemsiz	%3,33 Önemsiz
2,5 mL	%91 Önemsiz	80% Önemsiz	82% Önemsiz	%2,52 Önemsiz	%5,83 Önemsiz	%2,5 Önemsiz	%2,52 Önemsiz	%5,83 Önemsiz	%2,5 Önemsiz
5 mL	%88 Önemsiz	79% Önemsiz	80% Önemsiz	%2,52 Önemsiz	%6,95 Önemsiz	%3,33 Önemsiz	%2,52 Önemsiz	%7,82 Önemsiz	%3,33 Önemsiz
SU	%98			%7,37			%7,37		

* Kontrole göre $P < 0,05$ düzeyinde önemli (X^2 test)

**Kontrole göre $P < 0,01$ düzeyinde önemli (X^2 test)

*** Kontrole göre $P < 0,001$ düzeyinde önemli (X^2 test)

Çizelge 3.3. Aflatoxin B1'in mutajen etkisine karşı *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus* ve *Conyza bonariensis*' in antigenotoksik etkisi ile ilgili sonuçları

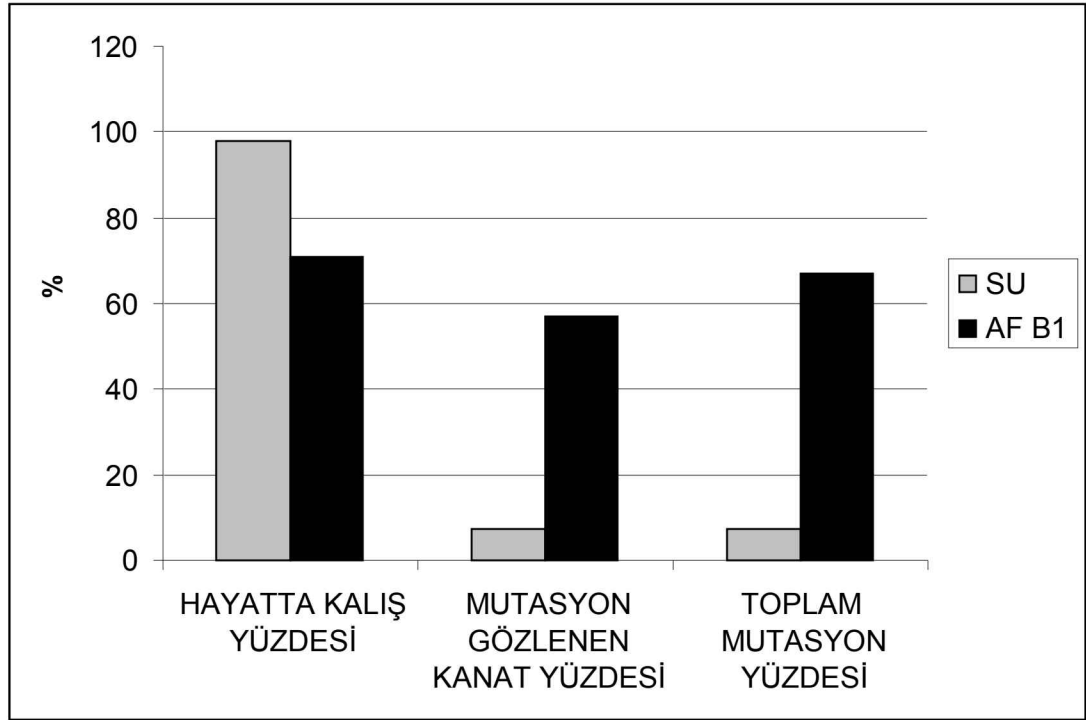
Doz mL	Yaşama Yüzdesi (%)			Mutasyon Gözlenen Kanat (%)			Toplam Mutasyon (%)		
	<i>Myrtus Communis</i> + Aflatoxin B1	<i>Pistacia Terebinthus</i> + Aflatoxin B1	<i>Conyza Bonariensis</i> + Aflatoxin B1	<i>Myrtus Communis</i> + Aflatoxin B1	<i>Pistacia terebinthus</i> + Aflatoxin B1	<i>Conyza Bonariensis</i> + Aflatoxin B1	<i>Myrtus communis</i> + Aflatoxin B1	<i>Pistacia terebinthus</i> + Aflatoxin B1	<i>Conyza bonariensis</i> + Aflatoxin B1
0,5 mL	84% Önemsiz	%81 Önemsiz	%82 Önemsiz	%19,8 ***	%43,6 Önemsiz	%25 ***	%24.7 ***	%50 Önemsiz	%33 ***
2,5 mL	82% Önemsiz	%80 Önemsiz	%82 Önemsiz	%18 ***	%43,11 Önemsiz	%22 ***	%23 ***	%50.45 Önemsiz	%27 ***
5 mL	80% Önemsiz	%79 Önemsiz	%80 Önemsiz	%17 ***	%45,04 Önemsiz	%20 ***	%20 ***	%51.35 Önemsiz	%27 ***
Aflatoxin B1	%71 *			%57			%67.28		
Su	%98			%7,37			%7,37		

* Kontrole göre $P < 0,05$ düzeyinde önemli (X^2 test)

**Kontrole göre $P < 0,01$ düzeyinde önemli (X^2 test)

*** Kontrole göre $P < 0,001$ düzeyinde önemli (X^2 test)

Aflatoxin B1'in mutasyon gözlenen kanat yüzdesi bakımından ($X^2_{H=94,37} > X^2_{T=3,84}$) ve toplam mutasyon gözlenen kanat yüzdesi ($X^2_{H=136,36} > X^2_{T=3,84}$) bakımından su kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Aflatoxin B1 deney gruplarındaki mutasyon frekansı, su kontrol grubundan yüksek olduğundan dolayı genotoksik, mutajenik ve rekombinojenik etkiye sahip olduğu tespit edildi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Aflatoxin B1'in su kontrol grubu ile hayatta kalış, mutasyon gözlenen kanat ve toplam mutasyon yüzdesi arasındaki fark

Myrtus communis bitkisinin antigenotoksik aktivitesinin araştırılması amacıyla; bitkinin 0,5 mL, 2.5 mL, 5mL dozları 2.5 mL aflatoxin B1 ile kombine uygulandı (*Myrtus communis* + AF B1). Kontrol grubu olarak aflatoxin B1 kullanıldı.

Bu sonuçlara bakıldığında;

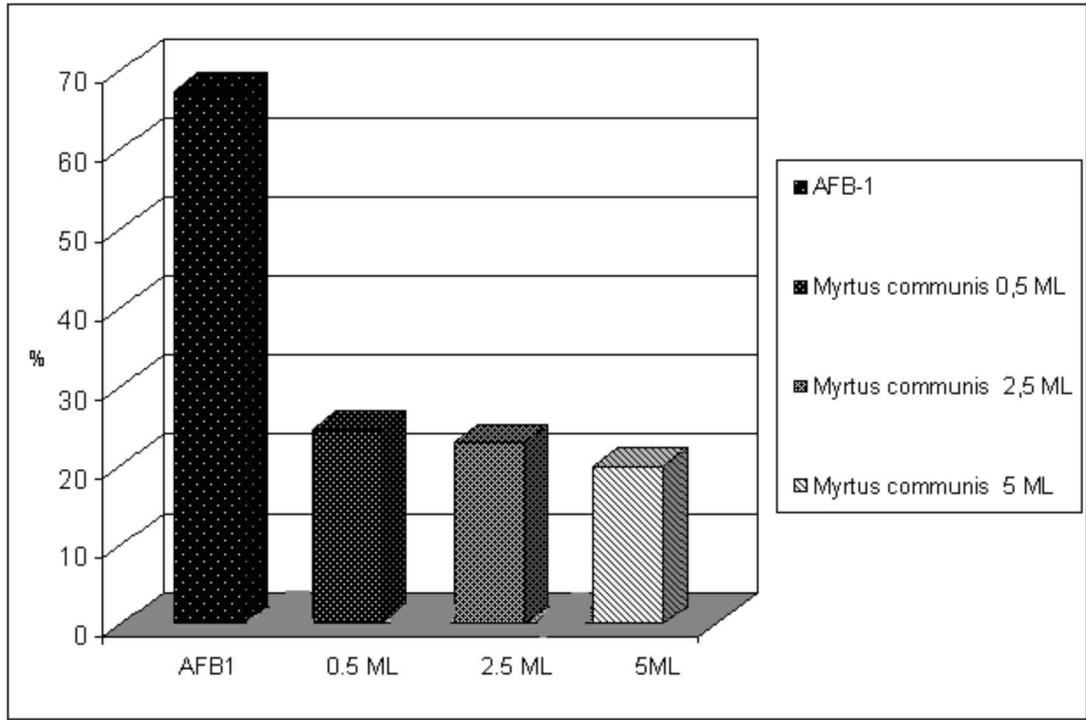
- a) *Myrtus communis*'in aflatoxin B1 ile kombine (*Myrtus communis* + AF B1) uygulaması sonucu kullanılan 3 dozunun da (0,5 mL, 2.5 mL, 5mL) Frei ve Würgler'in genotoksik değerlendirmesine göre sonuçları istatistiksel olarak pozitif bulundu. Bu sonuca göre kombine kullanım da anlamlı bir genotoksik etki gözlemlendi (Çizelge 3.4).
- b) *Myrtus communis*'in kullanılan 3 dozunun da (0,5 mL, 2.5 mL, 5mL) Aflatoxin B1 ile kombine olarak larvalara uygulanması sonucu ergin bireylerdeki gözlenen hayatta kalış yüzdesi, mutasyon gözlenen kanat yüzdesi ve toplam mutasyon yüzdesi bakımından AF B1 kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Uygulanan her 3 dozda da Aflatoxin- B1'e göre hayatta kalış yüzdesi artmıştır. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptandı ($X^2_{\text{Tablo}}=3,84 > X^2_{\text{Hesap}}=1,09$) (Çizelge 3.3).
- c) Toplam mutasyon yüzdesine baktığımızda; *Myrtus communis* ekstraktının 5mL'lik dozu Aflatoxin B1'e karşı en iyi koruyucu etkiyi gösterirken ($X^2_{\text{Hesap}}=36,2 > X^2_{\text{Tablo}}=3,84$), bunu 2.5 mL ($X^2_{\text{H}}=28,59 > X^2_{\text{Tablo}}=3,84$) ve 0,5 mL'lik dozları takip etmiştir ($X^2_{\text{H}}=25,08 > X^2_{\text{Tablo}}=3,84$). Bulunan bu değerler istatistiksel olarak anlamlı olduğundan *Myrtus communis* bitkisinin antigenotoksik etkiye sahip olduğu belirlendi. Ayrıca çizelge 3.4'te görüldüğü gibi uygulanan ekstraktın mL cinsinden miktarı arttıkça toplam mutant klon sayısında azalma olduğu gözlemlendi (Şekil 3.6).

Çizelge 3.4. Aflatoxin B1'in mutajen etkisine karşı *Myrtus communis* ekstrakt etkisinin SMAR Testi' nden elde edilen sonuçları

Test Maddesi	Konsantrasyon	Hayatta Kalış (%)	Kanat Sayısı	Küçük tekli benek (1-2hücre) (m=2)			Büyük tekli benek (>2 hücre) (m=5)			İkiz benek (m=5)			Toplam mwh spots (m=2)			Toplam spots (m=2)		
				No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.
	-	%98	122	7	0,06		1	0,008		1	0,008		9	0,07		9	0,07	
%1 Tween 80 + %3 Etanol	2,5 mL	%83	100	10	0,1	z	1	0,01	z	1	0,01	z	12	0,12	z	12	0,12	z
Aflatoxin B1 (500nmol)	2.5 mL	%71	107	39	0,36	+	28	0,26	+	5	0,046	z	67	0,62	+	72	0,67,	+
<i>Myrtus communis</i> + AF B1	0,5 mL	84%	101	15	0,15	+	9	0,09	+	1	0,009	z	24	0,23	+	25	0,247	+
	2,5 mL	82%	100	8	0,08	+	15	0,15	+	0	0	z	18	0,18	+	23	0,23	+
	5 mL	80%	100	10	0,1	z	9	0,09	+	1	0,01	z	19	0,19	+	20	0,2	+

Fr., frekans D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark z: zayıf pozitif ; m=çarpım faktörü;

Olasılık düzeyi= 0,05, D: Frei ve Würger (137)'e göre istatistiksel değerlendirme



Şekil 3.6. *Myrtus communis* ekstraktının uygulanan farklı dozlarının toplam mutasyon yüzdesi bakımından AFB1 ile karşılaştırılması

3.1.2. *Pistacia terebinthus*'un Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi Bulguları

Pistacia terebinthus bitkisi ile beslenen larvalardan çıkan ergin bireylere ait sonuçlar su kontrol grubu ile karşılaştırıldı. İstatistiksel hesaplamalara göre; *Pistacia terebinthus*'un 0,5 mL'lik dozu genotoksik olarak negatif bulunurken, 2,5 ve 5 mL'lik dozları ise zayıf pozitif olarak bulundu (Çizelge 3.1). *Pistacia terebinthus* ekstraktının uygulanan 2,5 ve 5 mL'lik dozlarının zayıf pozitif olması, su kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam mutasyon frekansı bakımından birbirlerine çok yakın olmalarının sonucudur.

Ayrıca X^2 analizine göre uygulanan 3 konsantrasyonda da yaşama yüzdesi, toplam mutasyon yüzdesi ve mutasyon gözlenen kanat bakımından su kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Uygulanan dozun miktarı arttıkça yaşama yüzdesi azalırken, toplam

mutasyon sayısı ve mutasyon gözlenen kanat sayısında artış olmuştur fakat bu farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Çizelge 3.2).

Pistacia terebinthus bitkisinin antigenotoksik aktivitesinin araştırılması amacıyla, hazırlanan 0,5 mL, 2.5 mL, 5mL dozları 2.5 mL aflatoxin B1 ile kombine uygulandı (*Pistacia terebinthus* + AF B1). Kontrol grubu olarak aflatoxin B1 kullanıldı.

Bu sonuçlara baktığımızda;

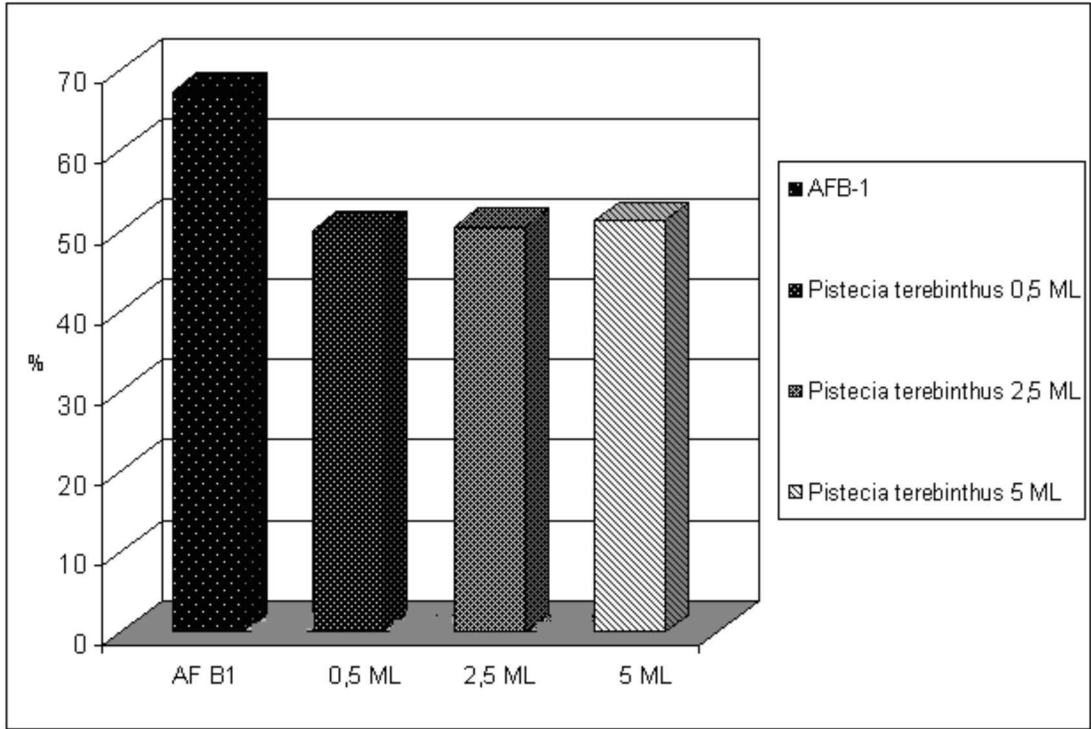
- a) Frei ve Würbler'in istatistiksel değerlendirmesine göre kombine uygulamada genotoksik etkinin pozitif olduğu tespit edildi. Sadece 0.5 ve 2.5 mL'lik konsantrasyonda ikiz benek sayısı bakımından zayıf pozitif olduğu bulundu. Bu sonuç *Pistacia terebinthus* bitkisinin 0.5 ve 2.5 mL'lik dozlarının rekombinasyonu baskıladığı göstermektedir (Çizelge 3.5).
- b) *Pistacia terebinthus*'un ekstraktı uygulanan her 3 dozda da hayatta kalış yüzdesini AF B1'e göre arttırmış, fakat bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ayrıca kullanılan bitkinin dozu arttıkça hayatta kalış yüzdesinde bir azalma gözlenmiştir.
- c) Bunun yanında mutasyon gözlenen kanat yüzdesinde azalmayı en etkili olarak bitkinin 0,5 mL'lik dozu azaltmışsa da ($X^2_{\text{Tablo}} = 3,84 > X^2_{\text{Hesap}} = 1,89$) bu farklılık 3 doz içinde önemsiz bulundu (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.5. Aflatoxin B1'in mutajen etkisine karşı *Pistacia terebinthus* ekstrakt etkisinin SMAR Testi'nden elde edilen sonuçları

Test Maddesi	Konsantrasyon	Hayatta Kalış (%)	Kanat Sayısı	Küçük tekli benek (1-2hücre) (m=2)			Büyük tekli benek (>2 hücre) (m=5)			İkiz benek (m=5)			Toplam mwh spots (m=2)			Toplam spots (m=2)		
				No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.
Distile su	-	%98	122	7	0,06		1	0,008		1	0,008		9	0,07		9	0,07	
%1 Tween 80 + %3 Etanol	2,5 mL	%83	100	10	0,1	z	1	0,01	z	1	0,01	z	12	0,12	z	12	0,12	z
Aflatoxin B1 (500nmol)	2.5 mL	%71	107	39	0,36	+	28	0,26	+	5	0,046	z	67	0,62	+	72	0,67	+
<i>Pistacia terebinthus</i> + Af B1	0,5 mL	81%	110	23	0,17	+	30	0,27	+	2	0,018	z	50	0,45	+	55	0,5	+
	2,5 mL	80%	109	15	0,14	+	37	0,34	+	3	0,027	z	48	0,44	+	55	0,504	+
	5 mL	79%	111	20	0,18	+	32	0,28	+	5	0,045	+	50	0,45	+	57	0,51	+

Fr., frekans D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark z: zayıf pozitif ; m=çarpım faktörü; Olasılık düzeyi= 0,05 D: Frei ve Würger (137)'e göre istatistiksel değerlendirme

d) *Pistacia terebinthus*'un ekstraktı uygulanan her 3 dozu da Çizelge 3.5'de gösterildiği gibi toplam mutasyon frekansını azaltmıştır. Bu frekans aflatoxin B1'de 0,067 iken *Pistacia terebinthus*'un 0.5 mL'lik dozunda 0,5, 2.5 mL'lik dozunda 0,504 ve 5 mL'lik dozunda 0,51 olarak bulundu. Bu bulgulara göre toplam mutasyon frekansında azalma olmuştur. Bu bulguların aksine *Pistacia terebinthus* 'un uygulanan 0.5 mL dozunda ($X^2_{\text{Tablo}} = 3,84 > X^2_{\text{Hesap}} = 1,81$), 2,5mL dozunda ($X^2_{\text{Tablo}} = 3,84 > X^2_{\text{Hesap}} = 2,59$) ve 0,5 mL dozunda ($X^2_{\text{Tablo}} = 3,84 > X^2_{\text{Hesap}} = 2,17$) istatistiksel olarak toplam mutant klon bakımından fark olmadığı gözlemlendi (Çizelge 3.3). Bu sonuç *Pistacia terebinthus* bitkisinin uygulanan her 3 dozunun da istatistiksel olarak antigenotoksik etkiye sahip olmadığı göstermektedir.



Şekil 3.7. *Pistacia terebinthus* ekstraktının uygulanan farklı dozlarının toplam mutasyon yüzdesi bakımından AFB1 ile karşılaştırılması

3.1.3. *Conyza bonariensis*'in Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi Bulguları

Conyza bonariensis bitkisinin kullanılan 3 dozunda da toplam mutant kolon sayısı bakımından su kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Her üç dozda da genotoksik etkinin negatif olduğu bulundu (Çizelge 3.1). Ayrıca hayatta kalış yüzdesi, mutasyon gözlenen kanat yüzdesi ve toplam mutasyon yüzdesi bakımından su kontrol grubuna göre farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Çizelge 3,2). Bu sonuçlara göre *Conyza bonariensis* bitkisinin kullanılan 3 dozunun da genotoksik aktiviteye sahip olmadığı saptandı.

Conyza bonariensis bitkisinin antigenotoksik aktivitesinin araştırılması amacıyla; bitkinin 0,5 mL, 2.5 mL, 5mL dozları 2.5 mL aflatoxin B1 ile kombine uygulandı (*Conyza bonariensis* + AF B1). Bulunan sonuçlara göre;

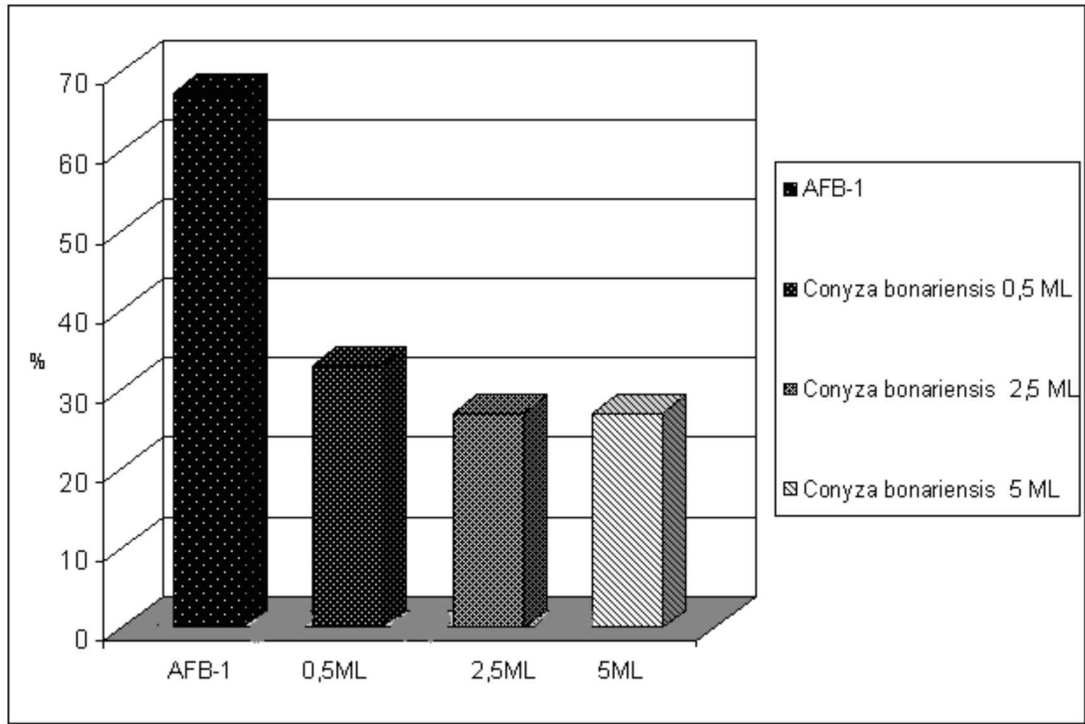
- a) *Conyza bonariensis*'in uygulanan 3 dozunun da aflatoxin B1 ile kombine uygulaması sonucu genotoksik değerlendirmesi bakımından sonuç pozitif olarak bulundu (Çizelge 3.6). Bitkinin yalnız kullanımı sonucunda gözlenen negatif etki aflatoxin B1 ile kullanımı sonucu pozitif olarak bulundu ayrıca toplam mutasyon frekansında da artış gözlemlendi.
- b) *Coyza bonariensis* 'in uygulanan 3 dozunun da aflatoxin B1 'in azalttığı hayatta kalış yüzdesini kısmen arttırdığı fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamsız olduğu tespit edildi (Çizelge 3.3).
- c) Mutasyon gözlenen kanat yüzdesi bakımından en iyi antigenotoksik aktiviteyi *Coyza bonariensis* 'in 5 mL'lik dozu gösterdi ($X^2_{\text{Hesap}}=23.11 > X^2_{\text{Tablo}}= 3,84$). Bunu sırasıyla 2.5 mL ($X^2_{\text{Hesap}}=19.29 > X^2_{\text{Tablo}}= 3,84$) ve 0,5 mL'lik dozlar takip etmiştir ($X^2_{\text{Hesap}}=14.73 > X^2_{\text{Tablo}}= 3,84$). Bu sonuçlara göre kullanılan bitkinin ekstraktının mL cinsinden miktarı arttıkça mutasyon gözlenen kanat yüzdesinde azalma gözlemlendi (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.6. Aflatoxin B1’in mutajen etkisine karşı *Conyza bonariensis* ekstrakt etkisinin SMAR Testi’nden elde edilen sonuçları

Test Maddesi	Konsantrasyon	Hayatta Kalış (%)	Kanat Sayısı	Küçük tekli benek (1-2hücre) (m=2)			Büyük tekli benek (>2 hücre) (m=5)			İkiz benek benek (m=5)			Toplam mwh spots (m=2)			Toplam spots (m=2)		
				No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.
Distile su	-	%98	122	7	0,06		1	0,008		1	0,008		9	0,07		9	0,07	
%1 Tween 80 + %3 Etanol	2,5 mL	%83	100	10	0,1	z	1	0,01	z	1	0,01	z	12	0,12	z	12	0,12	z
Aflatoxin B1 (500nmol)	2.5 mL	%71	107	39	0,36	+	28	0,26	+	5	0,046	z	67	0,62	+	72	0,67	+
<i>Conyza bonariensis</i> + Af B1	0,5 mL	82%	100	11	0,11	z	20	0,2	+	2	0,02	z	30	0,3	+	33	0,33	+
	2,5 mL	82%	100	16	0,16	+	9	0,09	+	0	0	z	26	0,26	+	27	0,27	+
	5 mL	80%	100	11	0,11	z	10	0,1	+	2	0,02	z	27	0,24	+	27	0,24	+

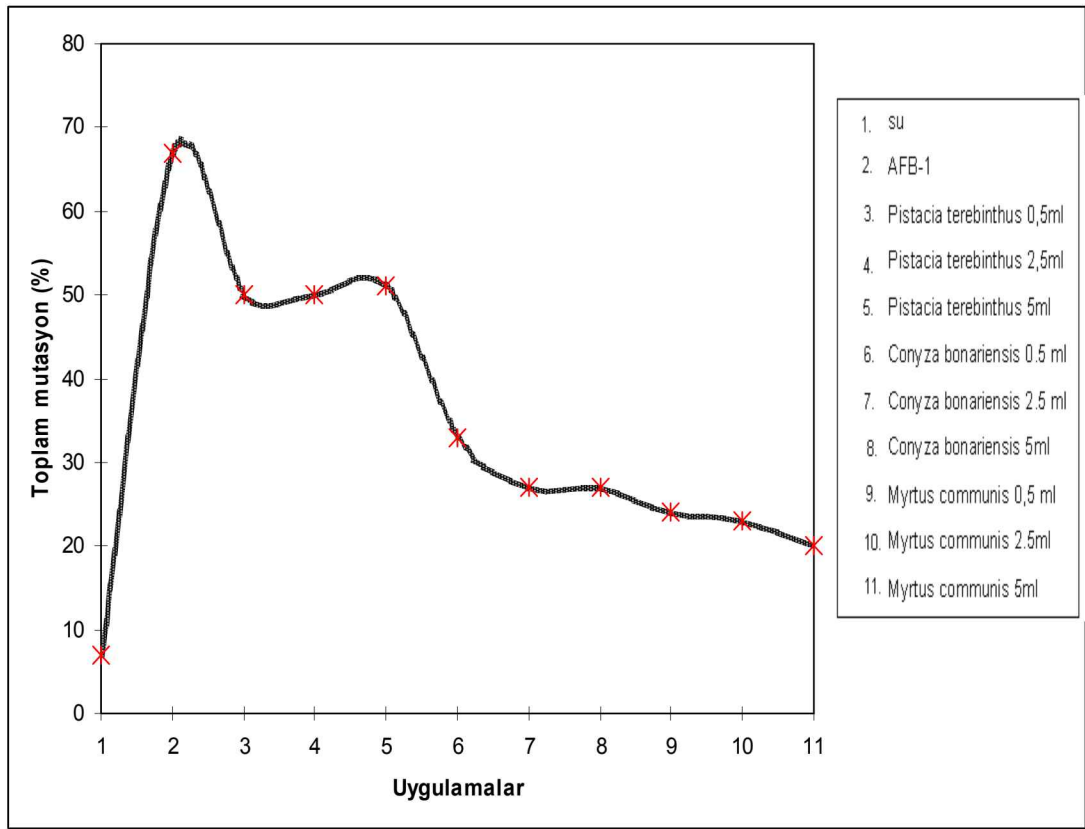
Fr., frekans D., istatistik sonuçlarının gösterimi: +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark z: zayıf pozitif ; m=çarpım faktörü;
Olasılık düzeyi= 0,05 D: Frei ve Würgler (137)’e göre istatistiksel değerlendirme

d) Gözlenen toplam mutasyon sayısı bakımından *Conyza bonariensis* uygulanan 3 dozu da aflatoxin B1 ile karşılaştırılmış ve uygulanan her 3 dozunda istatistiksel olarak antigenotoksik etkiye sahip olduğu tespit edildi. Ayrıca *Conyza bonariensis*'in kullanılan dozu arttıkça toplam mutasyon yüzdesinde bir azalma olduğu gözlemlendi. Çizelge 3.3'de görüldüğü gibi, antigenotoksik etki en fazla 5mL ve 2.5 mL'lik *Conyza bonariensis* ekstraktında ($X^2_{\text{Hesap}}=21,04 > X^2_{\text{Tablo}}=3,84$) gözlenirken, kullanılan 0,5 mL ekstraktta ise bu etki daha az bulundu. ($X^2_{\text{Hesap}}=13,25 > X^2_{\text{Tablo}}=3,84$). Bu veriler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olup, *Conyza bonariensis* bitkisinin yapraklarından hazırlanan ekstraktın antigenotoksik etkiye sahip olduğu tespit edildi (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. *Conyza bonariensis* ekstraktının uygulanan farklı dozlarının toplam mutasyon yüzdesi bakımından AFB1 ile karşılaştırılması

Çalışmada kullanılan bitkilerin antigenotoksik etkilerine göre sıralamak mümkündür. Çizelge 3.3’de gözlenen bulgulara göre antigenotoksik aktivitesi en fazla olan bitki *Myrtus communis* olarak bulunmuş bunu sırasıyla *Conyza bonariensis* ve *Pistacia terebinthus* izlemiştir. *Myrtus communis* ve *Conyza bonariensis*’in antigenotoksik aktivitesi istatistiksek olarak anlamlı bulunurken, *Pistacia terebinthus*’un toplam mutasyon yüzdesini azalttığı fakat bu sonuçların istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı gözlemlendi (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Çalışmada kullanılan 3 bitkinin toplam mutasyon yüzdesi bakımından AF B1 ile karşılaştırılması

3.2. Antimikrobiyal Aktivite Çalışması Bulguları

Bitkiler yıllardan beri halk arasında tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Son zamanlarda sentetik ilaçların bir takım yan etkilere sahip olması ve kullanılan mikroorganizmaların bu ilaçlara direnç kazanması insanları hızla doğal kaynaklar olan bitki kullanımına yöneltmiştir. Bitkiler ve baharatlar tek başına kullanıldıklarında birçok hastalığı tedavi edici etkisi olmasına rağmen, ilaçlarla birlikte kullanıldıklarında bir takım etkilere sebep olabilmektedirler. Antimikrobiyal etkisi bilinen bir bitkinin antimikrobiyal ajan olan antibiyotiklerle alınması sonucu in-vitro olarak başlıca üç etki izlenir:

- Kombine kullanılan iki antimikrobiyal ajanın etkisi, bu ilaçların tek tek kullanıldığında gözlemlenen etkilerin toplamına eşittir. Additif (Additive) etki olarak adlandırılan bu durumda beklenen ile gözlenen değer arasında isatistiksel olarak farklılık yoktur.
- Sinerjistik (Sinerjik) etkide ise İncelenen antimikrobiyallerin kombine etkisi, bu ilaçlar tek tek uygulandığında elde edilen etkilerin toplamından fazladır. Bu durumda iki antimikrobiyal ajanın kullanımı hastalığın tedavisini olumlu olarak etkileyecektir.
- Eğer kullanılan kombinasyonun etkisi, antimikrobiyallerin tek tek uygulandığında saptanan etkilerin toplamından düşükse, bu iki ajan birbirine Antagonistik etki yaratmış demektir. Bu durumda bitkilerle ilaçların arasında meydana gelen etkileşime bağlı olarak ilaçların etkisinde azalmaya yol açacaktır (99).

Myrtus communis, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis* bitkilerinin antimikrobiyal aktivitesinin ve ilaç etkileşimlerinin bulunması amacıyla disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır.

3.2.1. *Myrtus communis* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

% 5'lik *Myrtus communis* ekstraktı antibiyotik disklerine uygulandı ve antimikrobiyal aktivitesi araştırıldı. Bu sonuçlara göre;

Çizelge 3.7'de görüldüğü gibi *Myrtus communis* ekstraktının; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes*'in üremesine karşı hiçbir zon oluşturmadığı gözlenmiştir. Bu bakteriler *Myrtus communis* bitkisinin ekstraktına karşı dirençli olduğu bulundu. Ayrıca *Myrtus communis* ekstraktı Cefprozil (Seftazidim), Ceftriaxone (Seftriakson) ve Nistatin antibiyotiklerine uygulandığında *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* bakterilerinde beklenen zon çapı ile gözlenen zon çapı (Şekil 3.10-12) arasında farklılık istatistiksel olarak anlamsız bulundu.(Additive etki) ($p > 0,05$).

Myrtus communis ekstraktı *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* bakterilerine karşı 13- 24 mm arasında değişen inhibisyon zonları göstermektedir (Şekil 3.13-16). Ayrıca bu mikroorganizmalar için *Myrtus communis* ekstraktı Seftazidim antibiyotiğine uygulandığında Antagonistik etki gözlenmiştir ($p < 0,05$). Seftriakson antibiyotiklerine uygulandığında da *Klebsiella pneumonia* bakterisinde Additive etki görülürken, diğer mikroorganizmalarda antagonistik etki varlığı saptandı ($p < 0,005$).

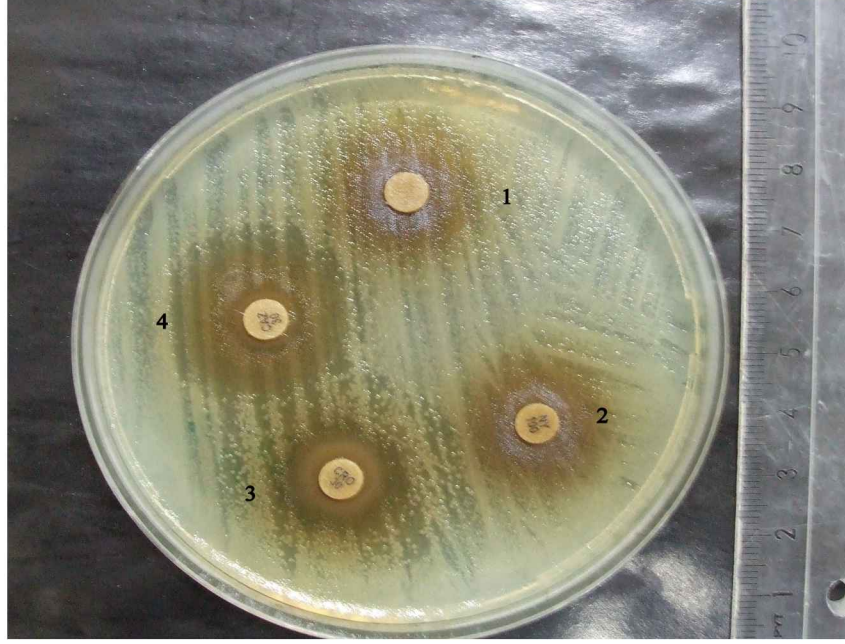
Myrtus communis ekstraktı *Trychophyton rubrum*'a karşı antifungal aktivite gösterdi (Şekil 3.17). *Myrtus communis* ekstraktının oluşturduğu inhibisyon zon çapı, kontrol grubu olarak kullanılan fungus antibiyotiği (Nistatin) ile aynı zon çapını (23 mm) gösterdi *Trychophyton rubrum* bu bitkinin ekstraktına duyarlı olmasına rağmen, Nistatin antibiyotiği ile kombine kullanılması beklenen zon çapını azaltmış ve antagonistik etki gözlemlendi ($p < 0,05$).

Çizelge 3.7. *Myrtus communis* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	İNHİBİSYON ZONLARI (MM)										ETKİ		
	BE	SAD			BEKLENEN BE+SAD			GÖZLENEN BE+SAD					
	%5	CAZ	CRO	NYS	CAZ + BUY	CRO + BUY	NYS + BUY	CAZ + BUY	CRO + BUY	NYS + BUY	CAZ	CRO	NYS
Escherichia coli	-	30	21	-	30	21	-	28	20	-	E	E	E
Micrococcus luteus	24	31	30	-	55	54	24	30	32	24	A	A	E
Staphylococcus aureus	-	9	11	-	9	11	-	10	11	-	E	E	E
Listeria monocytogenes	-	33	32	-	33	32	-	32	32	-	E	E	E
Streptococcus mutans	13	19	20	-	32	33	13	17	22	13	A	A	E
Pseudomonas aeruginosa	17	35	33	-	52	50	17	33	36	17	A	A	E
Klebsiella pneumonia	12	32	-	-	44	12	12	34	13	12	A	E	E
Trychophyton rubrum	23	-	-	23	23	23	46	23	23	23	E	E	A

BE: Bitki ekstraktının oluşturduğu inhibisyon zonu, **SAD:** Standart antibiyotik diskinin oluşturduğu inhibisyon zonu, **UAOG:** Bitki ekstraktı ve standart antibiyotik diskinin birlikte kullanıldığında oluşması gereken inhibisyon zonu, **UAO:** Bitki ekstraktı ve standart antibiyotik diskinin birlikte kullanıldığında oluşan inhibisyon zonu, **CAZ:**Ceftazidime (Seftazidim), **CRO:** Ceftriaxone (Seftriakson) **NYS:** Nistatin,

Maun Whitney-U testi sonuçlarına göre: S: Sinerjik etki, E: Additive etki, A: Antagonistik etki



Şekil 3.10. *E. coli* bakterisine karşı;1. *Myrtus communis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2.*Myrtus communis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Myrtus communis* + CRO antibiyotiği, 4. *Myrtus communis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.11. *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı;1. *Myrtus communis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Myrtus communis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Myrtus communis* + CRO antibiyotiği, 4. *Myrtus communis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.12. *Listeria monocytogenes* bakterisine karşı;1. *Myrtus communis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Myrtus communis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Myrtus communis* + CRO antibiyotiği, 4. *Myrtus communis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.13. *Micrococcus luteus* bakterisine karşı;1. *Myrtus communis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Myrtus communis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Myrtus communis* + CRO antibiyotiği, 4. *Myrtus communis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.14. *Streptococcus mutans* bakterisine karşı; 1. *Myrtus communis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Myrtus communis* + NYS antibiyotiğın, 3. *Myrtus communis* + CRO antibiyotiği, 4. *Myrtus communis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.15. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı; 1. *Myrtus communis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Myrtus communis* + NYS antibiyotiğın, 3. *Myrtus communis* + CRO antibiyotiği, 4. *Myrtus communis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.16. *Klebsiella pneumonia* bakterisine karşı; 1. *Myrtus communis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Myrtus communis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Myrtus communis* + CRO antibiyotiği, 4. *Myrtus communis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.17. *Trychophyton rubrum* mantarına karşı; 1. *Myrtus communis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Myrtus communis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Myrtus communis* + CRO antibiyotiği, 4. *Myrtus communis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon

3.2.2. *Pistacia terebinthus* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

Çizelge 3.8’de görüldüğü gibi %5 *Pistacia terebinthus* ekstraktının; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumonia*, *Listeria monocytogenes* bakterileri ve *Trychophyton rubrum* fungusunun üremesine karşı hiçbir zon oluşturmadığı gözlemlendi (Şekil 3.18-23) Bu bakteriler *Pistacia terebinthus* ekstraktının ekstraktına karşı dirençli olduğu tespit edildi. Bu bakteriler ve fungus için *menengiç* ekstraktı, Seftriakson ve Nistatin antibiyotikleri ile kombine uygulandığında beklenen zon çapı ile gözlenen zon çapı arasında farklılık istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p > 0,05$). Seftazidim antibiyotiği ile kombine kullanımı sonucu *Klebsiella pneumonia* haricinde bakteri ve mantarlarda gözlenen etki additive iken, *Klebsiella pneumonia*’da antagonistik etki gözlemlendi ($p < 0,05$).

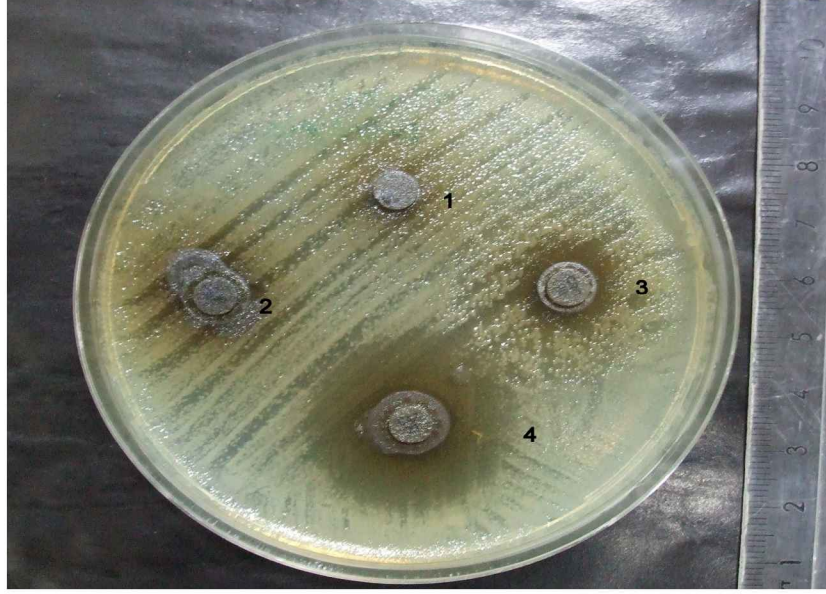
Pistacia terebinthus ekstraktının kullanılan dozu *Micrococcus luteus* (13mm) ve *Pseudomonas aeruginosa* (10mm) üzerinde *Myrtus communis* ekstraktından daha az inhibisyon zonu oluşturdu. (Şekil 3.24-25). Ayrıca *Pistacia terebinthus*’un Seftazidim, Seftriakson antibiyotiği ile kullanılması *Micrococcus luteus* üzerinde oluşan inhibisyon zonun beklenen değerden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltarak antagonistik etki yarattı ($p < 0,05$).

Pistacia terebinthus ekstraktının kullanılan dozunun Nistatin antibiyotiği ile kullanımı ise zon çapını arttırdı. Fakat bulunan bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamsız olduğundan Additive etki gözlemlendi ($p > 0,05$).

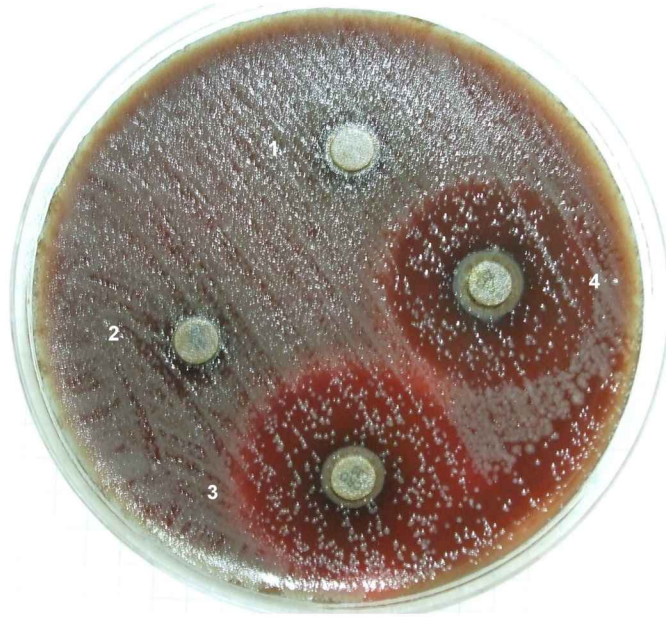
Çizelge 3.8. *Pistacia terebinthus* bitkisinin antimikrobiyal aktiviteleri

Mikroorganizmalar	İNHİBİSYON ZONLARI (MM)										ETKİ		
	BE	SAD			BEKLENEN BE+SAD			GÖZLENEN BE+SAD					
	%5	CAZ	CRO	NYS	CAZ + BUY	CRO + BUY	NYS + BUY	CAZ + BUY	CRO + BUY	NYS + BUY	CAZ	CRO	NYS
Escherichia coli	-	30	21	-	30	21	20	30	20	20	E	E	E
Micrococcus luteus	13	31	30	-	44	54	13	27	31	13	A	A	E
Staphylococcus aureus	-	9	11	-	9	11	-	11	10	-	E	E	E
Listeria monocytogenes	-	33	32	-	33	32	-	33	32	-	E	E	E
Streptococcus mutans	-	19	20	-	19	20	-	17	20	-	E	E	E
Pseudomonas aeruginosa	10	35	33	-	45	43	10	29	30	10	A	A	E
Klebsiella pneumonia	-	32	-	-	32	-	-	32	-	-	A	E	E
Trychophyton rubrum	-	-	-	23	-	-	23	-	-	20	E	E	E

BE: Bitki ekstraktının oluşturduğu inhibisyon zonu, **SAD:** Standart antibiyotik diskinin oluşturduğu inhibisyon zonu, **UAOG:** Bitki ekstraktı ve standart antibiyotik diskinin birlikte kullanıldığında oluşması gereken inhibisyon zonu, **UAO:** Bitki ekstraktı ve standart antibiyotik diskinin birlikte kullanıldığında oluşan inhibisyon zonu, **CAZ:**Ceftazidime (Seftazidim), **CRO:** Ceftriaxone (Seftriakson) **NYS:** Nistatin, **Maun Whitney-U testi sonuçlarına göre:** **S:** Sinerjik etki, **E:** Additive etki, **A:** Antagonistik etki



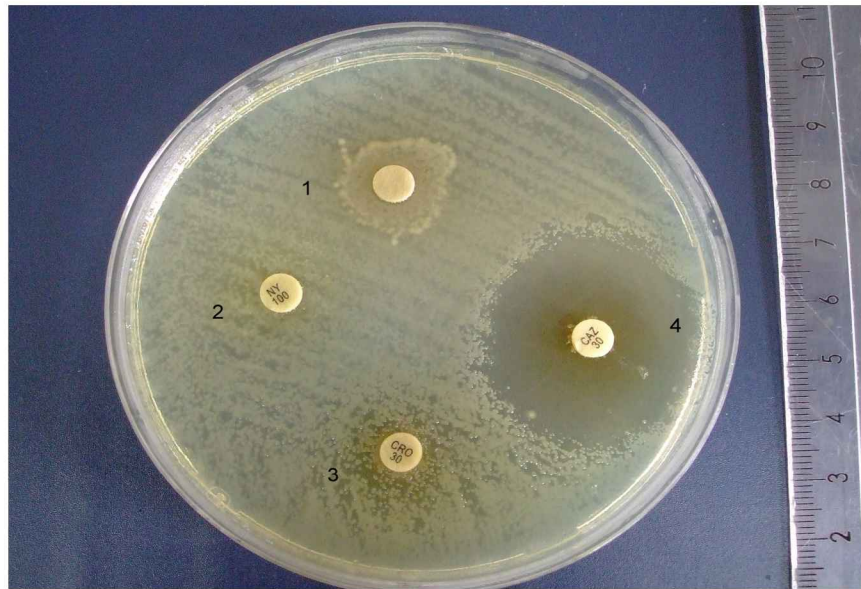
Şekil 3.18. *E. coli* bakterisine karşı; 1. *Pistacia terebinthus* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Pistacia terebinthus*+NYS antibiyotiğın, 3. *Pistacia terebinthus* +CRO antibiyotiği, 4. *Pistacia terebinthus*+CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.19. *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı; 1. *Pistacia terebinthus* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Pistacia terebinthus* + NYS antibiyotiğın, 3. *Pistacia terebinthus* + CRO antibiyotiği, 4. *Pistacia terebinthus* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



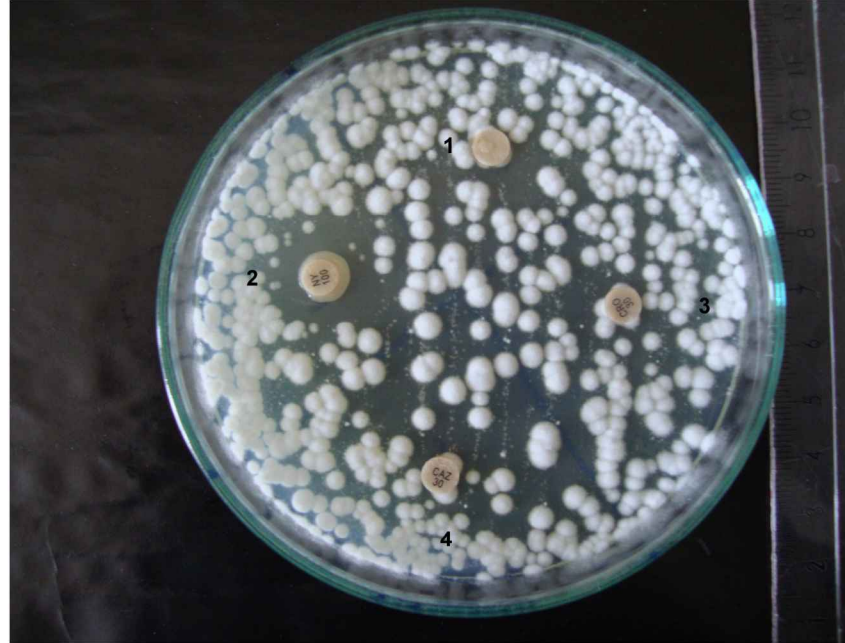
Şekil 3.20. *Streptococcus mutans* bakterisine karşı; 1. *Pistacia terebinthus* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Pistacia terebinthus* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Pistacia terebinthus* + CRO antibiyotiği, 4. *Pistacia terebinthus* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



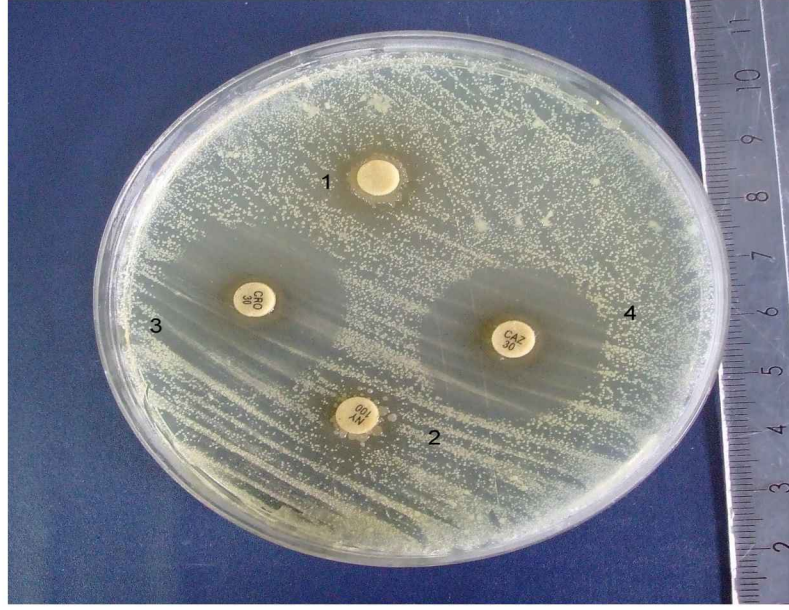
Şekil 3.21. *Klebsiella pneumonia* bakterisine karşı; 1. *Pistacia terebinthus* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Pistacia terebinthus* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Pistacia terebinthus* + CRO antibiyotiği, 4. *Pistacia terebinthus* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



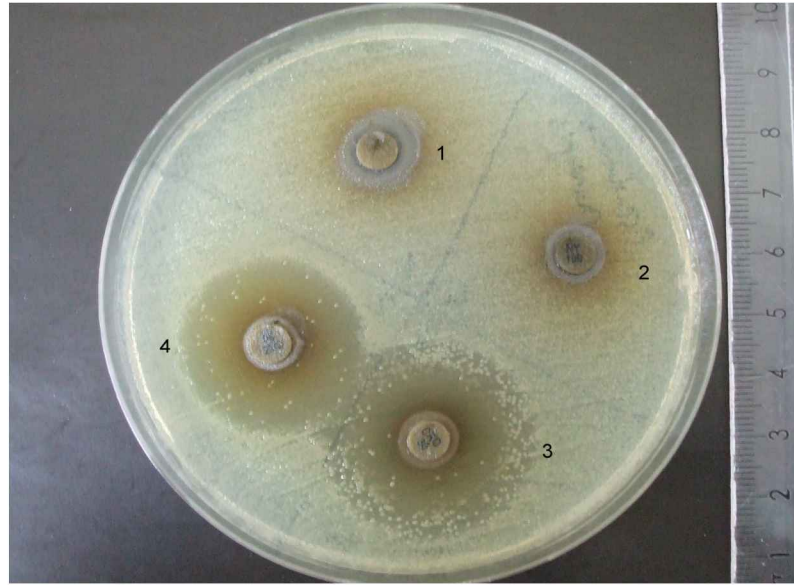
Şekil 3.22. *Listeria monocytogenes* bakterisine karşı; 1. *Pistacia terebinthus* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Pistacia terebinthus* + NYS antibiyotiğın, 3. *Pistacia terebinthus* + CRO antibiyotiği, 4. *Pistacia terebinthus* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.23. *Trychophyton rubrum* mantarına karşı; 1. *Pistacia terebinthus* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Pistacia terebinthus* + NYS antibiyotiğın, 3. *Pistacia terebinthus* + CRO antibiyotiği, 4. *Pistacia terebinthus* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.24. *Micrococcus luteus* bakterisine karşı; 1. *Pistacia terebinthus* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Pistacia terebinthus* + NYS antibiyotiğın, 3. *Pistacia terebinthus* + CRO antibiyotiği, 4. *Pistacia terebinthus* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.25. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı; 1. *Pistacia terebinthus* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Pistacia terebinthus* + NYS antibiyotiğın, 3. *Pistacia terebinthus* + CRO antibiyotiği, *Pistacia terebinthus* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon

3.2.3. *Conyza bonariensis* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

Çizelge 3.9'da görüldüğü gibi %5'lik *Conyza bonariensis* ekstraktının; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumonia* bakterilerinin üremesine karşı inhibe edici bir zon oluşturmadığı gözlemlendi (Şekil 3. 26-31). Bu sonuca göre *Conyza bonariensis* bitkisinin ekstraktına karşı bakterilerin dirençli olduğu yorumu yapılabilir. Ayrıca bu bakterilerde *Conyza bonariensis* ekstraktı Seftazidim, Seftriakson ve Nistatin antibiyotiklerine uygulandığında beklenen zon çapı ile gözlenen zon çapı arasında farklılık istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Additive etki) ($p > 0,05$).

Çalışmada kullanılan 3 bitki arasından *Listeria monocytogenes*'e karşı zon oluşumu (Şekil 3.32) sadece *Conyza bonariensis* bitkisinin ekstraktında gözlemlendi (17 mm). Buna rağmen *Listeria monocytogenes*'de *Conyza bonariensis* ekstraktının Seftazidim ve Seftriakson antibiyotikleriyle uygulandığında beklenen zon çapı ile gözlenen zon çapı arasındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (Antagonistik etki) ($p < 0,05$). Nistatin antibiyotiği ile kullanılması sonucu anlamsız etki gözlemlendi (Additive etki) ($p > 0,05$). Bir fungus olan *Trychophyton rubrum*'da ise *Conyza bonariensis* ekstraktının kullanılan Nistatin antibiyotiğine yakın bir zon oluşturduğu gözlemlendi (17 mm) (Şekil 3.32). Ayrıca Nistatin antibiyotiği ile kombine kullanımı sonucu beklenen değerden daha düşük bir sonuç gözlemlendiğinden antagonistik etki tespit edildi ($p < 0,05$).

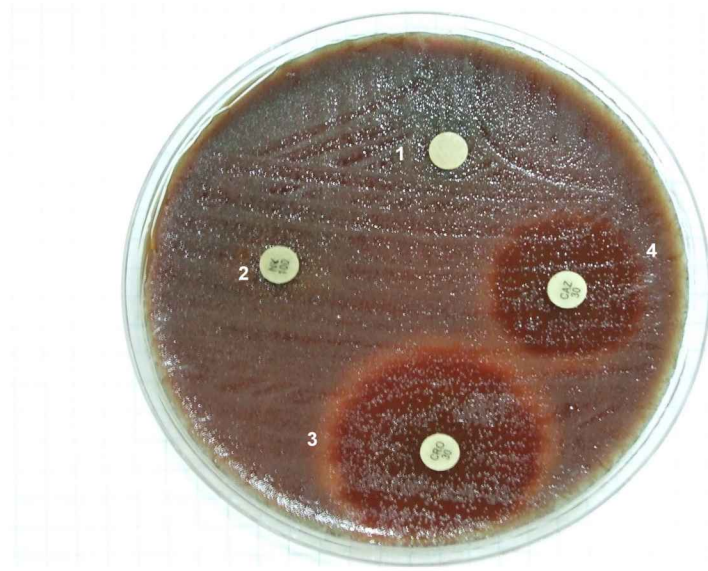
Çizelge 3.9. *Conyza bonariensis* bitkisinin antimikrobiyal aktiviteleri

Mikroorganizmalar	İNHİBİSYON ZONLARI (MM)										ETKİ		
	BE	SAD			BEKLENEN BE+SAD			GÖZLENEN BE+SAD					
	%5	CAZ	CRO	NYS	CAZ + BUY	CRO + BUY	NYS + BUY	CAZ + BUY	CRO + BUY	NYS + BUY	CAZ	CRO	NYS
Escherichia coli	-	30	21	-	30	21	-	30	18	-	E	E	E
Micrococcus luteus	-	31	30	-	31	30	-	27	32	-	E	E	E
Staphylococcus aureus	-	9	11	-	9	11	-	10	11	-	E	E	E
Listeria monocytogenes	17	33	32	-	50	49	17	35	35	15	A	A	E
Streptococcus mutans	-	19	20	-	19	20	-	21	18	-	E	E	E
Pseudomonas aeruginosa	-	35	33	-	35	33	-	33	34	-	E	E	E
Klebsiella pneumonia	-	32	-	-	32	-	-	30	-	-	E	E	E
Trychophyton rubrum	17	-	-	23	17	17	40	16	15	30	E	E	A

BE: Bitki ekstraktının oluşturduğu inhibisyon zonu, **SAD:** Standart antibiyotik diskinin oluşturduğu inhibisyon zonu, **UAOG:** Bitki ekstraktı ve standart antibiyotik diskinin birlikte kullanıldığında oluşması gereken inhibisyon zonu, **UAO:** Bitki ekstraktı ve standart antibiyotik diskinin birlikte kullanıldığında oluşan inhibisyon zonu, **CAZ:**Ceftazidime (Seftazidim), **CRO:** Ceftriaxone (Seftriakson) **NYS:** Nistatin, **Maun Whitney-U testi sonuçlarına göre:** **S:** Sinerjik etki, **E:** Additive etki, **A:** Antagonistik etki



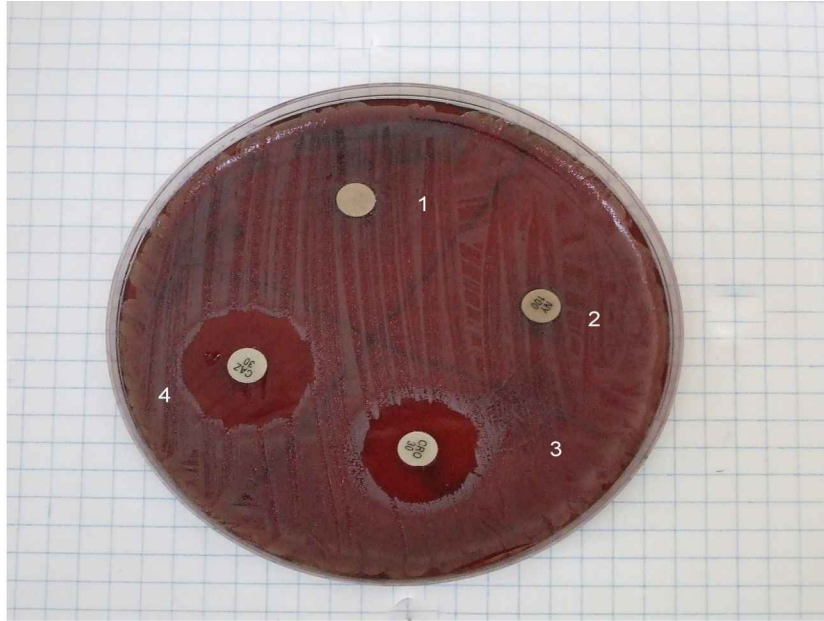
Şekil 3.26. *E. coli* bakterisine karşı; 1. *Conyza bonariensis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Conyza bonariensis* + NYS antibiyotiğın, 3. *Conyza bonariensis* + CRO antibiyotiği, 4. *Conyza bonariensis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.27. *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı; 1. *Conyza bonariensis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Conyza bonariensis* + NYS antibiyotiğın, 3. *Conyza bonariensis* + CRO antibiyotiği, 4. *Conyza bonariensis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.28. *Micrococcus luteus* bakterisine karşı; 1. *Conyza bonariensis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Conyza bonariensis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Conyza bonariensis* + CRO antibiyotiği, 4. *Conyza bonariensis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



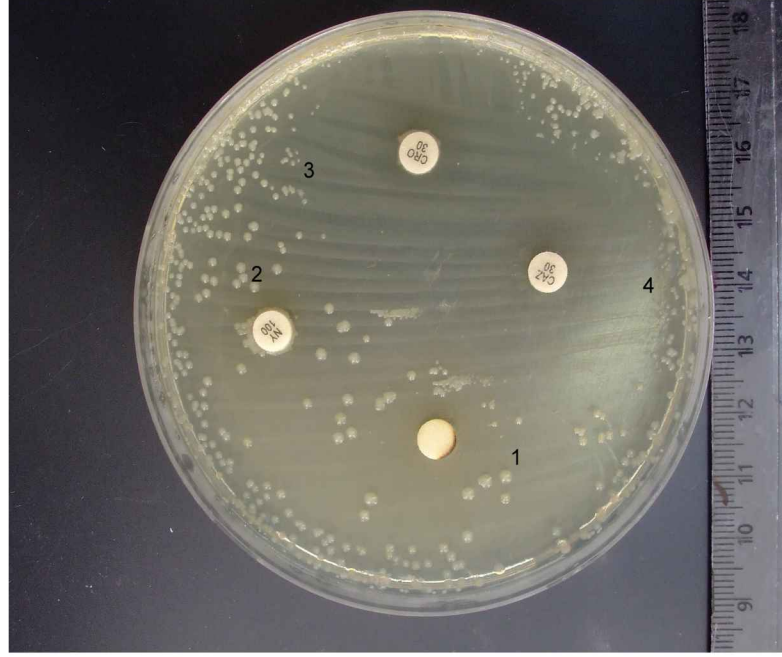
Şekil 3.29. *Streptococcus mutans* bakterisine karşı; 1. *Conyza bonariensis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Conyza bonariensis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Conyza bonariensis* + CRO antibiyotiği, 4. *Conyza bonariensis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.30. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı; 1. *Conyza bonariensis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Conyza bonariensis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Conyza bonariensis* + CRO antibiyotiği, 4. *Conyza bonariensis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.31. *Klebsiella pneumonia* bakterisine karşı; 1. *Conyza bonariensis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Conyza bonariensis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Conyza bonariensis* + CRO antibiyotiği, 4. *Conyza bonariensis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.32. *Listeria monocytogenes* bakterisine karşı;1. *Conyza bonariensis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Conyza bonariensis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Conyza bonariensis* + CRO antibiyotiği, 4. *Conyza bonariensis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon



Şekil 3.33. *Trychophyton rubrum* mantarına karşı;1. *Conyza bonariensis* bitkisine ait ekstraktın etkisi, 2. *Conyza bonariensis* + NYS antibiyotiğinin, 3. *Conyza bonariensis* + CRO antibiyotiği, 4. *Conyza bonariensis* + CAZ antibiyotiğinin kombine kullanımı sonucu oluşan zon

4.TARTIŞMA VE SONUÇLAR

4.1. TARTIŞMA

Günümüzde modern yaşantının getirdiği avantajlar insanların kırsal yaşamdan kentsel yaşama yönelmesine neden olmaktadır. Bu yönelmenin avantajları olduğu kadar dezavantajları da vardır. Şehir yaşamında insanların maruz kaldığı stresli iş ortamı, kimyasal maddeler, endüstri ve sanayileşmenin sebep olduğu çevre ve hava kirliliği gibi faktörler insan yaşantısını olumsuz yönde etkilemektedir. İnsan sağlığını tehdit eden bu faktörlerin hayatımıza girmesi birçok hastalığın artışına sebep olmaktadır. Günümüzde hastalıkların tedavisinde kullanılan sentetik yapılı ilaçların yan etkilerinden dolayı insanlar doğal şifa kaynaklarına yönelmişlerdir. Bu nedenle yıllardan beri kırsal kesimlerde yaşayan halk tarafından çeşitli amaçlarla kullanılan bitkilerin faydası ve tedavi edici özelliğinin bilimsel açıdan sınanmasına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır.

Araştırmacılar doğal kaynaklardan elde edilen bileşenlerin biyolojik etkisini test etmek amacıyla birçok yöntem geliştirmiştir. Bu testlerden sıklıkla kullanılan bir tanesi de *Drosophila melanogaster* ile yapılan Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)'dir. SMART yöntemi kimyasal maddelerin mutajenik ve rekombinojenik etkilerine bakmakla kalmayıp, antigenotoksite tayininde de kullanılmaktadır. Bu araştırmada özellikle Türkiye'nin güney bölgelerinde yaygın olarak kullanılan *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis* bitkilerinin genotoksik ve antigenotoksik etkisi *Drosophila melanogaster* (mwh X flr)'da Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile sınanmıştır. Ayrıca araştırmada kullanılan bitkilerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde Disk Difüzyon Tekniği kullanılmıştır. Bu tekniğin amacı bitkinin mikroorganizmaların üremesi üzerindeki etkisini saptamaktır. Bu çalışmada *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis* bitkilerinin bakteri ve funguslar üzerinde etkisine bu yöntemle bakıldı. Ayrıca bitki ve ilaç etkileşimleri de tespit edildi.

Bu çalışmayı konu alan bitkilerin bazıları araştırmacılar tarafından da kullanılmıştır: Örneğin, Hayder vd. (2008), *Myrtus communis* bitkisinin yapraklarından hazırlanan hekzan, kloroform, metanol ve etil asetatlı ekstraktların antimutajenik etkisini Salmonela/Mikrozom test yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışmada farklı çözücülerle hazırlanan bitki ekstraktlarının hepsi AFB-1 ve Sodium azide ile indüklenen mutajeniteye karşı koyucu bir etkiye sahipken en iyi antimutajenik aktiviteyi metanol ve etil asetat ekstraktının gösterdiği bulunmuştur (116). Yine başka bir çalışmada Mersin bitkisinin yapraklarından hazırlanan hekzan, kloroform, metanol, etil asetat ve su ile hazırlanan ekstraktın yanında uçucu yağının da antigenotoksik aktivitesini *Escherichia coli* PQ37’de SOS kromotesti kullanarak saptamaya çalışmışlardır. Önceki çalışmalarında görüldüğü gibi Aflatoxin B1’in mutajen etkisine karşı en iyi korumayı metanol ve etil asetat ekstraktının gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca metanol ve sulu ekstraktının ise Nifuroxazide karşı oldukça önemli bir antigenotoksik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Metanol, etil asetat ve sulu ekstraktının ise serbest radikalleri süpürücü etkisi bulunduğunu belirtmişlerdir (23). Bu çalışmada ise Mersin bitkisinin (*Myrtus communis*) sulu ekstraktının antigenotoksik varlığını saptamak amacıyla *Drosophila melanogaster*’da Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) kullanıldı. Çalışma bulguları SOS kromotesti ve Salmonela/Mikrozom test yönteminde belirlenen önceki sonuçlar ile uyumlu bulundu. *Myrtus communis*’in sulu ekstraktının kullanılan 3 dozunun da (0,5 mL, 2.5 mL, 5mL) Aflatoxin B1 ile kombine olarak larvalara uygulanması sonucu ergin bireylerdeki gözlenen hayatta kalış yüzdesi, Aflatoxin B1’e göre hayatta kalış yüzdesini arttırdığı saptandı fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Toplam mutasyon gözlenen kanat yüzdesi bakımından *Myrtus communis* ekstraktının 5mL’lik dozu Aflatoxin B1’in oluşturduğu toplam mutajen klon sayısını azaltmada en iyi etkiyi gösterdi ve bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Daha önce yapılan çalışma sonuçlarına paralel olarak Mersin bitkisinin sulu ekstraktının antigenotoksik etkiye sahip olduğu belirlendi. Ayrıca uygulanan sulu ekstraktın ml cinsinden miktarı arttıkça toplam mutajen klon sayısının azaldığı tespit edildi.

Çalışma sonunda mikroskop analizleri sırasında en fazla rastlanan mwh tipi mutasyon iken, en az rastlanan mutasyon tipi ise ikiz benek olmuştur. Mutasyon tiplerinin bulunma sıklığı ile ilgili bu sonuçlar daha öne yapılan çalışma sonuçları ile uyum içerisinde bulundu (147).

Bakırel vd. (2003), *Pistacia terebinthus* bitkisinin kurutulmuş meyvesinin deneysel hiperkolesterolemi oluşturulan tavşanlarda olası farmakolojik ve toksikolojik etkilerini incelemişler, biyokimyasal veriler yönünden bitkiden kaynaklanan herhangi bir toksik etkiye rastlanmadıklarını belirtmişlerdir. Bu sonucu *Pistacia terebinthus* meyvelerinin doymamış yağ asitlerinin yanı sıra fenolik bileşiklerden kateşik tanen ve flavonoidlerin varlığına bağlamışlardır. In vivo ve in vitro oksidasyon modeli kullanılarak yapılan çalışmalarda kateşinlerin bitki fenollerinde en güçlü antioksidanlar olduğunu belirtmişlerdir (31). Bu çalışmada da ise, *Pistacia terebinthus* bitkisinin antigenotoksik aktivitesi *Drosophila melanogaster* (mwh X flr)'da Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile araştırıldı. *Pistacia terebinthus* bitkisi ile beslenen larvalardan çıkan ergin bireylere ait sonuçlar su kontrol grubu ile karşılaştırıldı. İstatistiksel hesaplamalara göre; *Pistacia terebinthus*'un 0,5 mL'lik dozu genotoksik olarak negatif bulunurken, 2,5 ve 5 mL'lik dozları ise zayıf pozitif olarak bulundu. Sonucun zayıf pozitif olması toplam mutasyon frekansının su kontrol grubu ile birbirlerine çok yakın olmalarının sonucudur. Daha önce yapılan çalışmaya uygun olarak bu çalışmada da *Pistacia terebinthus* bitkisinin su ile hazırlanan ekstraktının genotoksik olmadığı bulundu.

Pistacia terebinthus bitkisinin sulu ekstraktının kullanılan 3 dozunda da (0,5 mL, 2.5 mL, 5mL) Aflatoxin B1'e göre hayatta kalış yüzdesini istatistiksel olarak anlamlı olamamkla birlikte kısmen arttırdı. Ayrıca *Pistacia terebinthus* ekstraktının uygulanan her 3 dozunda da toplam mutasyon frekansında azalma oldu fakat bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Bu sonuçlara göre *Pistacia terebinthus* bitkisinin uygulanan her 3 dozu da genotoksik etkiye sahip olmadığı gibi AF B1'in mutajen etkisine karşı koruyucu bir antigenotoksik aktiviteside göstermedi.

Conyza bonariensis bitkisinin toprak üstü organları antiseptik, antioksidan, hemostatik ve kas gevşetici özelliklerinden dolayı modern tıpta kullanıldığı bilindiği halde (39,40), literatürde genotoksik ve antigenotoksik aktivitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada *Conyza bonariensis* bitkisinin sulu ekstraktının antigenotoksik etkisi sınamak amacıyla *Drosophila melanogaster*'da Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) kullanıldı. *Conyza bonariensis* bitkisinin kullanılan 3 dozunda da (0.5 mL, 2.5mL ve 5 mL) toplam mutant kolon sayısı bakımından su kontrol grubuna kıyasla genotoksik etkinin negatif olduğu tespit edildi. Ayrıca hayatta kalış yüzdesi, mutasyon gözlenen kanat yüzdesi ve toplam mutasyon yüzdesi bakımından su kontrol grubuna göre farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulundu. Bu sonuçlara göre *Conyza bonariensis* bitkisinin kullanılan 3 dozunun da genotoksik aktivitesi saptanamadı. Antigenotoksik aktivitesine bakılan *Conyza bonariensis* bitkisin 0,5 mL, 2.5 mL, 5mL dozlarını 2.5 mL aflatoxin B1 ile kombine uygulandı. Antigenotoksik etkiyi belirlemek amacıyla aflatoxin B1 ile kıyaslandığında bulunan sonuçlara göre:

Conyza bonariensis' in uygulanan 3 dozunun da aflatoxin B1'in azalttığı hayatta kalış yüzdesini arttırdığı, fakat bu artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulundu. Ayrıca *Coyza bonariensis*'in 5 mL'lik dozu mutasyon gözlenen kanat yüzdesi ve toplam mutant klon sayısını azaltmada en iyi aktiviteye sahip olduğu bulundu, bunu sırasıyla 2.5 ve 0,5 mL'lik dozların takip ettiği belirlendi. Bu sonuçlara *Conyza bonariensis*'in kullanılan dozu arttıkça toplam mutasyon yüzdesinde bir azalma olduğu gözlemlendi. Bu veriler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olup, *Conyza bonariensis* bitkisinin yapraklarından hazırlanan sulu ekstraktın antigenotoksik olduğu tespit edildi.

Bitkiler antigenotoksik aktiviteleri yanında antimikrobiyal aktiviteye de sahiptirler. Yıllardan beri birçok bitki antibakteriyel, antifungal, antiseptik özelliklerinden dolayı tıbbi amaçlı ve gıdalara koruyucu olarak kullanılmaktadır. Özellikle son zamanlarda sentetik ilaçlara mikroorganizmaların hızla direnç kazanması insanları bitkilere yöneltmiştir.

Bitkiler mikroorganizmalara karşı farklı olarak gelişen direnç mekanizmalarını kullanırlar;

- Bitkiler mikroorganizmaları öldürmek için ilaçlarla sinerjik aktivite gösterebilirler bu durumda bitkilerle ilaçların kullanımı tedaviyi hızlandırır.
- Bitkiler antibiyotikleri uzaklaştıran dirençli bakteriyel suşların efflux pompalarının hareketini inhibe edebilirler
- Bitkiler antibiyotikleri etkisiz hale getiren bakteriyel enzimleri inhibe edebilir. Bitkilerin ve bitki bileşenlerinin çoğunluğunda bu mekanizmaların her biri için kanıt bulunmuştur (145). Bitkilerin bu olumlu etkilerinin yanında yan etkileri ve ilaçlarla birlikte kullanıldığında meydana gelebilecek ilaç etkileşimlerine (antagonistk etki) dikkat edilmesi insan sağlığı bakımından faydalı olacaktır.

Al-Anbori vd. (2008), *Myrtus Communis*'in yapraklarından hazırlanan etanolik ekstraktın tükürükte bulunan *Streptococcus mutans bakterisi* üzerinde antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada ise yine aynı bakteri üzerinde daha önce yapılan çalışmaya paralel olarak *Myrtus communis*'in su ile hazırlanan ekstraktı 13 mm çapında bir inhibisyon zonu oluşturmuştur (115).

Özcan ve Erkmen (2001) yaptıkları çalışmada *Myrtus communis* bitkisinin uçucu yağının %1, % 5 ve %15 hazırlanan konsantrasyonlarda *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı zon oluşturmadığını gözlemlemişlerdir. (122). Buna rağmen Akın vd. (2001) ise *Myrtus communis* uçucu yağının *E. Coli*'ye karşı 12 mm çapında zon oluşturduğunu, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Pseudomonas aeruginosa* 'ya karşı zon oluşturmadığı gözlemlemişlerdir (124).

Dülger ve Gönüz (2004) *Myrtus communis* bitkisinin etanolik ekstraktının *Staphylococcus aureus* ACCTT6538P ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27852 suşları üzerinde 20 mm, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 suşu üzerinde 34 mm ve *Micrococcus luteus* CCM 169 üzerinde 22 mm çapında inhibisyon zonu oluştururken, *Klebsiella pneumonia* üzerinde zon oluşturmadığı gözlenmiştir (119). Monsouri vd. (2001) ise *Myrtus communis* bitkisinin metanol ekstraktının *Staphylococcus aureus* PTCC 1112 suşu üzerinde 18 mm, *Micrococcus luteus* PTCC 1109 suşu üzerinde

17mm, *Listeria monocytogenes* PTCC 1295 suşu üzerinde 12 mm ve *E. coli* üzerinde 12 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğunu bulmuşlardır (125).

Bu çalışmada ise *Myrtus communis*'in sulu ekstraktının; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes*'in üremesine karşı hiçbir zon oluşturmadığı gözlemlendi. Buna rağmen *Micrococcus luteus*'a karşı 24 mm, *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 17mm, *Klebsiella pneumonia*'ya karşı 12 mm inhibisyon zonları oluşturmuştur. % 5'lik *Myrtus communis* ekstraktının *Trychophyton rubrum*'a karşı yüksek seviyede antifungal aktivite (23 mm) saptandı. Bu etki kullanılan fungus antibiyotiğinin (Nistatin) zon çapına eşittir. Ayrıca bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak bitkilerin ilaç etkileşimlerine bakıldı. *Myrtus communis* bitkisinin sulu ekstraktının Seftazidim, Seftriakson antibiyotiği ile kullanılması *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* bakterilerinde beklenen zon çapı ile gözlenen zon çapı arasında farklılık olmadığı tespit edildi (Additive etki).

Micrococcus luteus, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* bakterilerine karşı *Myrtus communis* ekstraktı Seftazidim antibiyotiğine uygulandığında antagonistik etki tespit edildi. Seftriakson antibiyotiklerine uygulandığında da *Klebsiella pneumonia* bakterisinde additive etki görülürken, diğer mikroorganizmalarda antagonistik etki varlığı saptanmış. *Trychophyton rubrum*'da Nistatin antibiyotiği ile kombine kullanılması beklenen zon çapını azaltmış ve antagonistik etki ortaya çıkmıştır.

Ereçevit (2007) *Pistacia terebinthus* bitkininin kloroform ekstraktının *Staphylococcus aureus*'a karşı 17mm inhibisyon zonu oluşturduğunu tespit etmiştir. Ayrıca *Escherichia coli*'ye karşı 16 mm ve *Trychophyton rubrum*'a karşı 21 mm inhibisyon çapı oluştuğunu gözlemlerken (117), Keleş vd. (2001) ise *Pistacia terebinthus* bitkininin etanol ekstraktının *Staphylococcus aureus* COWAN1 suşu üzerinde 10mm zon çapı oluşturduğunu, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumonia* bakterisinin üremesini engelleyici etki göstermediğini bulmuşlardır (123).

Kıvçak vd.(2002) *Escherichia coli* ATCC 29998 suşu üzerinde 8 mm ve *Escherichia coli* ATCC 11230 suşunda 7 mm inhibisyon zonu oluşturduğu, *Escherichia coli* ATCC 25922 suşunda ise herhangi bir inhibisyon zonuna rastlanmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşlarının her ikisinde de 8 mm ATCC 12228, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşunda ise 7 mm zon çapı gözlemlemişlerdir (146). Bu çalışmada ise, hazırlanan sulu ekstrakt *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*’ un üremesini inhibe edemezken, *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde 10 mm çapında inhibisyon zonu oluşturdu. Ayrıca çalışmada kullanılan diğer bakteri ve mantarlardan *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumonia*, *Listeria monocytogenes* ve *Trychophyton rubrum*’ un üremesine karşı hiçbir zon oluşturmadığı, *Micrococcus luteus* üzerinde 13mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edildi.

Bulgularımız bazı ekstraktların bakteriler ve funguslar üzerinde antimikrobiyal etkisinin bulunduğunu ortaya koymaktadır. Ancak bu ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri çeşitlilik göstermekte olup, test edilen mikroorganizmaların türüne göre farklılık göstermiştir. Bu farklılaşmanın bitkinin sahip olduğu kimyasal kompozisyonundan, kullanılan mikroorganizma türünden ve yöntemdeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (147).

Diğer çalışmalardan farklı olarak *Pistacia terebinthus* bitkisinin %5 ekstraktının ilaçlarla kombine kullanımı sonucu oluşan etkisine bakıldığında *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumonia*, *Listeria monocytogenes* bakterileri ve *Trychophyton rubrum* fungusu için menengiç ekstraktı, Seftriakson ve Nistatin antibiyotikleri ile uygulandığında additive etki gösterdi. Seftazidim antibiyotiği ile kombine kullanımı sonucu *Klebsiella pneumonia* haricinde bakteri ve mantarlarda gözlenen etki additive iken, *Klebsiella pneumonia*’ da antagonistik etki gözlemlendi.

Pistacia terebinthus’ un Seftazidim, Seftriakson antibiyotiği ile kullanılması *Micrococcus luteus* üzerinde oluşan inhibisyon zonun beklenen değerden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltarak antagonistik etki yarattı. Nistatin antibiyotiği ile kullanımı sonucunda ise Additive etki gözlemlendi.

Conyza bonariensis bitkisinin ekstraktının *Cladosporium cucumerinum*, üzerinde antifungal etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca *Sercinea lutea* bakterisi üzerinde de antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir (148).

Bu çalışmada ise; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumonia* bakterilerinin üremesine karşı inhibe edici bir zon oluşturmadığı gözlemlendi. Çalışmada kullanılan 3 bitki arasından *Listeria monocytogenes*'e karşı zon oluşumu sadece *Conyza bonariensis* bitkisinin ekstraktında tespit edildi (17 mm). Ayrıca *Conyza bonariensis* ekstraktının *Trychophyton rubrum* fungusuna karşı oluşturduğu etki Nistatin antibiyotigine yakın bulundu (17 mm).

Conyza bonariensis ekstraktının Seftazidim ve Seftriakson antibiyotikleriyle uygulandığında *Listeria monocytogenes*'de antagonistik etki gözlenirken, *Trychophyton rubrum*'da da Nistatin antibiyotigi ile kullanılması sonucu antagonistik etki yaratmıştır. Çalışmada kullanılan diğer bakterilerde ise bitki ekstraktının antibiyotiklerle kullanımı sonucu olumsuz etki gözlenmedi.

Yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi (1), bitki ve bitki ürünlerinin herhangi bir mikroorganizmayı inhibe edici etkisi mevcutken, ilaçlarla beraber kullanıldığında potansiyel ilaç etkileşiminin ve yan etkilerin meydana gelebileceğine dikkat edilmesi gerektiği belirtilmiştir. İfade edilen sonuca benzer olarak yapılan bu çalışmada kullanılan bitkiler ile ilaçlar arasında herhangi bir sinerjik etkiye rastlanmazken, additive ve antagonistik etkiler gözlemlendi.

4.2. SONUÇLAR

Bu çalışmanın sonucunu kısaca özetleyecek olursak;

1. Mersin bitkisinin sulu ekstraktının 3 dozunda hayatta kalış yüzdesini arttırdığı ve toplam mutant klon sayısı azalttığı tespit edildi. Kullanılan ekstraktın mL cinsinden değeri arttıkça toplam mutasyon frekansında azalma saptanırken en iyi etkiyi 5 mL *Myrtus communis* ekstraktı gösterdi. Bu sonuca göre; *Myrtus communis* bitkisinin su ile hazırlanan ekstraktının antigenotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlendi.
2. *Pistacia terebinthus* bitkisinin sulu ekstraktının kullanılan 3 dozu da hayatta kalış yüzdesini arttırmıştır. Ayrıca *Pistacia terebinthus* ekstraktının uygulanan her 3 dozunda da toplam mutasyon frekansında azalma gözlemlendi fakat bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Bu sonuçlara göre *Pistacia terebinthus* bitkisinin uygulanan genotoksik etkiye sahip olmadığı gibi AF B1'in mutajen etkisine karşı koruyucu bir antigenotoksik aktivitesinin de olmadığı saptandı.
3. *Coyza bonariensis*'in uygulanan 3 dozunun da aflatoxin B1'in azalttığı hayatta kalış yüzdesini kısmen arttırdığı halde bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Sonuçlara göre, *Conyza bonariensis*'in kullanılan dozu arttıkça toplam mutasyon yüzdesinde bir azalma olduğu gözlemlendi. Bu veriler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olup, bu bitkinin sulu ekstraktın antigenotoksik etkiye sahip olduğu tespit edildi.
4. *Myrtus communis*'in sulu ekstraktının; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes*'in üremesine karşı hiçbir zon oluşturmadığı gözlemlenirken, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*' ya karşı inhibisyon zonu oluşturdu tespit edildi. Ayrıca *Trychophyton rubrum*'a karşı da yüksek seviyede antifungal aktivite gösterdiği bulundu. *Myrtus communis* bitkisinin sulu ekstarktının Seftazidim, Seftriakson antibiyotiği ile kullanılması *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve

Listeria monocytogenes bakterilerinde beklenen zon çapı ile gözlenen zon çapı arasında farklılık olmamıştır (Additive etki). *Trychophyton rubrum*'da da Nistatin antibiyotiği ile kullanılması beklenen zon çapını azaltmış ve antagonistik etki ortaya çıkmıştır. *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* bakterilerine karşı *Myrtus communis* ekstraktı Seftazidim antibiyotiğine uygulandığında antagonistik etki tespit edildi. Seftriakson antibiyotiklerine uygulandığında da *Klebsiella pneumonia* bakterisinde additive etki görülürken, diğer mikroorganizmalarda antagonistik etki varlığı saptandı.

5. *Pistacia terebinthus* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrakt *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumonia*, *Listeria monocytogenes* ve *Trychophyton rubrum*'un üremesini inhibe edemezken, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* üzerinde inhibisyon zonu oluşturdu. *Pistacia terebinthus* ekstraktının ilaçlarla kombine kullanımı sonucu oluşan etkisine bakıldığında *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumonia*, *Listeria monocytogenes* bakterileri ve *Trychophyton rubrum* fungusu için, Seftriakson ve Nistatin antibiyotikleri ile uygulandığında additive etki gösterdiği saptandı. Seftazidim antibiyotiği ile kombine kullanımı sonucu *Klebsiella pneumonia* haricinde bakteri ve mantarda gözlenen etki additive iken, *Klebsiella pneumonia*'da antagonistik etki gözlemlendi. *Pistacia terebinthus*' un Seftazidim, Seftriakson antibiyotiği ile kullanılması *Micrococcus luteus* üzerinde oluşan inhibisyon zonu beklenenden daha az bulunduğundan, antagonistik etki yarattığı tespit edildi. Nistatin antibiyotiği ile kullanımı sonucunda ise Additive etki gözlemlendi.
6. *Conyza bonariensis* ekstraktının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumonia* bakterilerinin üremesine karşı inhibe edici bir zon oluşturmadığı gözlemlendi. Antimikrobiyal aktivitesi sınanan 3 bitki arasından *Listeria monocytogenes*'e karşı zon oluşumu sadece *Conyza bonariensis* bitkisinin ekstraktında tespit edildi Ayrıca *Trychophyton rubrum*'a karşı da zon oluşumu saptandı. *Conyza bonariensis* ekstraktının *Trychophyton rubrum*

fungusuna karşı olşturduğu etki *Nistatin* antibiyotiğine yakın bulunmuştur. Bitkinin ekstraktı Seftazidim ve Seftriakson antibiyotikleriyle uygulandığında *Listeria monocytogenes*'de antagonistik etki gözlenirken, Nistatin antibiyotiği ile kullanılması sonucu additive etki tespit edildi. Çalışmada kullanılan diğer bakterilerde ise bitki ekstraktının antibiyotiklerle kullanımı sonucu olumsuz etki gözlenmedi. *Trychophyton rubrum*'un *Nistatin* antibiyotiği ile kullanımında ise zon çapının azalmasından dolayı antagonistik etki saptandı.

Bu çalışmada antibakteriyel ve antifungal etkine bakılan *Myrtus communis*, *Conyza bonariensis*, *Pistacia terebinthus* bitki ekstraktlarının adı geçen test mikroorganizmaları üzerine farklı değerde antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri olduğu tespit edilmiştir. Fakat  alışma sonucunda da g r ld ğu gibi bu bitkilerin antibiyotiklerle kombine kullanımı ilacın etkisinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. *Myrtus communis* ve *Conyza bonariensis* bitkilerinin anlamlı antigenotoksik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Halk arasında farklı amaçlarla yaygın olarak kullanılan bu bitkilerin etkileri bilimsel metodlarla daha kapsamlı bir şekilde sınanmalı ve faydaları açıklığa kavuşturulmalıdır.

KAYNAKLAR

- (1) Cupp, M.J., Herbal Remedies: Adverse Effects and Drug Interactions. American Family Physician Clinical Pharmacology. 8,1239–1245, 1999.
- (2) Anonim 2009, How To Avoid Antibiotic İnteraction. Consumer Reports On Health, <http://www.abc.net.au>(Erişim Tarihi 11.11.2009).
- (3) Sadler, C., Bad Company: Be Careful When Mixing Medications With Foods. Herbs and Other Drugs. Chatelaine, 71, 145, 1998.
- (4) Millard, L., Contact Sensitivity To Toothpaste. Br. Med. J. 1 (5854):676, 1973.
- (5) Dooms-Goossens, A., Degreef, H., Holvoet, C., Maertens, M., Turpentine-İnduced Hypersensitivity To Peppermint Oil. Contact Derm. 3, 304-308, 1977.
- (6) Lewis, F.M., Shah, M., Gawkrödger, D.J., Contact Sensitivity To Food Additives Can Cause Oral and Perioral Symptoms. Contact Derm. 33, 429-430, 1995.
- (7) Koç, H., Lokman Hekimden Günümüze Bitkilerle Sağlıklı Yaşama. 38-69. Başbakanlık Basımevi, Ankara, 2002.
- (8) Baytop, T., Türkiye’de Bitkilerle Tedavi Geçmişte ve Bugün. 480, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., İstanbul, 1999.
- (9) Tan, A., Türkiye’de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları. Anadolu J.Of Aarı. 2, 50-64, 1992.
- (10) İlçim, A., Dığrak, M., Bağcı, E., Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. Tr. J. Of Biology. 22, 119-125, 1998.

- (11) Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi. 18-56, 362-365, 520. İstanbul Üniv. Ecz. Fak. Yayınları, İstanbul, 1984.
- (12) Karamanoğlu, K., Farmasötik Botanik. 284. Ankara Üniversitesi Ecz. Fak. Yayınları, 1972.
- (13) Davis, P.H., Flora Of Turkey and The East Aegean Islands. 287. Edinburgh University Press, Edinburgh, 1972 .
- (14) Aydın, C., Özcan, M., Determination Of Nutritional And Physical Properties Of Myrtle (*Myrtus Communis* L.) Fruits Growing Wild İn Turkey. Journal Of Food Engineering, 79, 453–458, 2007.
- (15) Anonim 2010, *Myrtus communis*, <http://commons.wikimedia.org> (Erişim tarihi 16. 06. 2010).
- (16) Anonim 2010, Tübitak - Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, <http://biow.tubitak.gov.tr/Present/Taxonform1.Jsp?Taxon=19041> (Erişim Tarihi: 03.04.2010).
- (17) Romani, A., Pinelli, P., Mulinacci, N., Vincieri, F.F., Tattini, M., Identification And Quantification Of Polyphenols İn Leaves Of *Myrtus Communis*. Chromatographia. 49(1/2): 17–20, 1999.
- (18) Martin, T., Rubio, B., Villaescusa, L., Fernandez, L., Diaz, A. M., Polyphenolic Compounds from Pericarps of *Myrtus Communis*. Pharmaceutical Biology. 37(1): 28–31.
- (19) Çakır, A., Essential Oil And Fatty Acid Composition of The Fruits of *Hippophae Rhamnoides* L. (Sea Buckthorn) And *Myrtus Communis* L. From Turkey. Biochemical Systematics And Ecology. 32: 809–816, 2004.

- (20) Özcan M., Akbulut M., Mersin (*Myrtus Communis L.*) Meyvesinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri. Gıda . 23 (2): 121-123, 1998.
- (21) Özek, T., Demirci,F., Başer, K. H. C., Chemical Composition Of Turkish *Myrtle* Oil. Journal Of Essential Oil Research. 12: 541–544, 2000.
- (22) Twaij, H.A.A., Elisha, E.E., Khalid, R.M., Analgesic Studies On Some Iraqi Medicinal Plants. Journal of Crude Drug Research. 27, 109– 112, 1989.
- (23) Hayder, N., Abdelwahed, A., Kilani, S., Ben Ammar, R., Mahmoudb, A., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L., Anti-Genotoxic and Free-Radical Scavenging Activities of Extracts from (Tunisian) *Myrtus Communis*.Mutation Research. 564, 89–95, 2004.
- (24) Akgül, A., Bayrak, A., Mersin Bitkisi (*Myrtus Communis L.*) Yapraklarının Uçucu Yağ Verimi ve Yağların Bileşimi. Doğa. 13(2): 143-147, 1989.
- (25) Erlaçın, S., Erciyas, E., *Myrtus Communis L.* (Mersin Bitkisi) Yapraklarının Tanen Yönünden İncelenmesi. Doğa. 2, 75–79, 1978.
- (26) Baytop,T., Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Türk Dil Kurumu Yay., 578, Ankara, 1994.
- (27) Anonim 2010, *Pistacia terebinthus*, <http://www.naturamediterraneo.com> (Erişim tarihi 16. 06. 2010).
- (28) Anonim 2010, Tübitak - Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, <http://Biow.Tubitak.gov.tr> (Erişim Tarihi: 03.04.2010).
- (29) Tuzlacı, E., Aymaz, P., Turkish Folk Medicinal Plants, Part Iv: Gonen (Balıkesir). Fitoterapia. 72(4): 323-343, 2001.

- (30) Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y., Takaishi, Y., Traditional Medicine in Turkey V. Folk Medicine in The Inner Taurus Mountains. J Ethnopharmacol. 46, 133-152, 1995.
- (31) Bakırel, T., Şener, S., Bakırel, U., Keleş, O., Şennazlı, G., Gürel, A., Tavşanlarda Deneysel Hiperkolesterolemi ve Arterioskleroz Üzerine *Pistacia terebinthus* L. (Menengiç)' İn Etkisi, Turk Journal Vet. Anim. Sci., 27, 1283-1292, 2003.
- (32) Atlı, H.S., Arpacı, S., Karadağ, S., Kaska, N., Özgüven, A.I., Eskalen, A., Küsek, M., Daniştı, L., *Pistacia Khinjuk Stocks'un Pistacia* Cinsinin Değişik Türleri Arasında Kontrollü Melezleme Yolu İle Sulu Koşullardaki Antepfistıkları İçin Anaç Islahı, Tübitak Proje No: Tarp-2190, Fıstık Araştırma Enstitüsü, Gaziantep, 1999.
- (33) Fidan M. S., Alma M. H., Çınar İ., Köse E., Tokat Yöresinde Kullanılan Geleneksel Bitkilerin Etnobotanik Özellikleri, Geleneksel Gıdalar Sempozyumu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2004, Van,318, 2004.
- (34) Baytop, T., Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İsmail Akgün Matbaası, İstanbul, 1963.
- (35) Prieur-Richard A.H., Lavorel S., Grigulis K., Dos Santos A., Plant Community Diversity And İnvasibility By Exotics: İnvasion Of Mediterranean Old Fields by *Conyza Bonariensis* And *Conyza Canadensis*., Ecol. Lett, 3, 412-422, 2000.
- (36) O.B. Akkaya, Narlı Kahramanmaraş- Aşağımülk (Gaziantep) Arasında Kalan Bölgenin Floristik Yönden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, 2007.