T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI GIDA KATKI MADDELERİNİN DROSOPHİLA MELANOGASTER'DE YAPTIĞI GENOTOKSİSİTENİN SMART TESTİ İLE SAPTANMASI VE BU DNA HASARLARINA KARŞI BAZI BİTKİ ÖZÜTLERİNİN ETKİLERİ

AYLİN YILMAZ ÇETİNKAYA

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF.DR. SELÇUK YURTSEVER

EDİRNE-2016

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Murat YURTCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Selçuk YURTSEVER
Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir Doktora tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Prof. Dr. Selçuk YURTSEVER	
Prof. Dr. Yasemin BAKIRCIOĞLU KURTULUŞ	
Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA	
Doç. Dr. Evren CABİ	
Yrd. Doç Dr. Özge ÖZCAN	

Tarih: 23/12/2016

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

23/12/2016

Aylin YILMAZ ÇETİNKAYA

Doktora Tezi

Bazı Gıda Katkı Maddelerinin *Drosophila melanogaster*'de Yaptığı Genotoksisitenin SMART Testi İle Saptanması Ve Bu DNA Hasarlarına Karşı Bazı Bitki Özütlerinin Etkileri

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada üç farklı gıda boyasının genotoksik etkileri ve bu boyaların belirtilen zararlarına karşı antigenotoksik olabileceği öne sürülen üç farklı bitki özütü in vivo olarak *Drosophila melanogaster* Meigen üzerinde laboratuvar deneyleriyle araştırıldı. Ponceau 4R (kırmızı-E 124), tartrazine (sarı-E 102) ve pea green (yeşil-E102+E133) gıda boyaları ‰25, ‰50 ve ‰75'lik dozlarda larva evresindeki sineklerin besiyerlerine eklenerek ergin bireylerin kanatlarında oluşan mutant kıl hücrelerinin varlığı Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile saptandı. Günlük gıdalarımızda kullanılan üç gıda boyasının da konsantrasyona bağlı olarak kanatlardaki mutant benek sayılarını arttırdığı saptandı (X^2= s.d.= 3, $p<0.001$) ve bu sayıların distile su ile hazırlanan negatif kontrol grubundaki sineklerin mutant kanat beneklerinden daha fazla olduğu ve bu boyaların genotoksik olduğu fakat benek sayısının pozitif kontrol grubundakilerden daha az olması ile her üç boyanın da pozitif kontrol grubunda kullanılan EMS (etil metan sülfonat) kadar genotoksik olmadığı ortaya çıktı.

Diğer taraftan üç boyanın üç farklı konsantrasyonuyla beraber besiyerlerine %10'luk *Hypericum perforatum* L. (kantaron), *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (devedikeni) ve *Lavandula stoechas* L. (karabaş) özütleri eklenerek yetiştirilen sineklerin kanatlarındaki mutant benek sayıları kontrol gruplarıyla karşılaştırıldı. Her üç boyanın da mutant benek sayılarını azaltmada herhangi bir antigenotoksik etki göstermediği ve deney grupları arasındaki sayısal farkın anlamlı olmadığı görüldü (Kruskal Wallis Testi; s.d.= 2, $p>0.05$).

Yıl : 2016

Sayfa Sayısı : 95

Anahtar Kelimeler : Genotoksisite, antigenotoksisite, ponceau 4R (kırmızı-E 124), tartrazine (sarı-E 102), pea green (yeşil-E 102+E133), *Hypericum perforatum* L., *Silybum marianum* (L.) Gaertn., *Lavandula stoechas* L., *Drosophila melanogaster* Meigen, SMART.

Doctoral Thesis

Investigation of the Genotoxicity of Some Food Additives in *Drosophila melanogaster* Using The SMART Test And Effects Of Some Plants Extracts Against The DNA Damages

Trakya University Institute of Natural Sciences

Department of Biyology

ABSTRACT

In this study, genotoxic effects of the three food colourings and expected antigenotoxic effects of the three plant extracts against these colourings were investigated *in vivo* using *Drosophila melanogaster* Meigen in the laboratory experiments. ponceau 4R (red-E 124), tartrazine (yellow-E 102) and pea green (green-E102+E133) food colourings at 25‰, 50‰ and 75‰ concentrations were added to food medium of *Drosophila* during the larval stage and the mutant wing spot numbers were evaluated using Somatic Mutation and Rekombination Test (SMART).

The three food colourings which is daily used in our many foods induced mutant spot numbers depend on the concentration in the medium (X^2= s.d.= 3, $p<0.001$) and this numbers were significantly higher than the flies those were fed on the medium prepared with the distile water used as negative control showing these colourings have mutagenic effect. However the spot numbers were less than the flies those were fed on the medium prepared with the EMS (ethyl methane sulfonate) showing that mutagenic effects of colourings were not as much as the EMS.

On the other hand, the concentrations of the three colourings were used together in the medium the three different plant extracts whether they have antigenotoxic effects aginst the colourings. The following plant extracts were added (10%) to mediums with the colourings were: *Hypericum perforatum* L. (St John's wort), *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (milk thistle) ve *Lavandula stoechas* L. (topped lavender). The mutant wing spots were compared to control groups showed that the three plant extracts have no effect to reduce spot numbers and thus have no antigenotoxic effect against the three food colourings used experimental treatments (Kruskal Wallis Test; s.d.= 2, $p>0.05$).

Year : 2016

Number of Pages : 95

Keywords : Genotoxicity, antigenotoxicity, ponceau 4R (red-E 124), tartazine (yellow-E 102), pea green (green-E 102+E133), *Hypericum perforatum* L., *Silybum marianum* (L.) Gaertn., *Lavandula stoechas* L., *Drosophila melanogaster* Meigen, SMART.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve birikimlerinden faydalandığım, tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyerek önerileriyle beni yönlendiren çok kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Selçuk YURTSEVER başta olmak üzere değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Yasemin BAKIRCIOĞLU KURTULUŞ'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA'a ve tezde kullanılan *Drosophila* mwh ve flr^3 hatlarının teminindeki desteklerinden dolayı Akdeniz Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Bülent KAYA'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimimin ders ve özellikle tez aşamalarında büyük desteğini gördüğüm Biyoloji bölümü yüksek lisans mezunu değerli arkadaşım Süleyman DAYANIKLI'a teşekkür ederim.

Doktora eğitimimin boyunca maddi ve manevi destek vererek varlıklarını hissettiren sevgili eşim Öğr. Gör. Özcan ÇETİNKAYA'a, canım kızım Almila Bilge ÇETİNKAYA'a ve değerli aile fertlerim annem Ülker YILMAZ'a, babam Galip YILMAZ'a, abim Atılım YILMAZ'a ve ikiz kız kardeşim Göklin TAŞTEKİN'e teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i

ABSTRACT ii

TEŞEKKÜR iii

SİMGELER DİZİNİ vii

ŞEKİLLER LİSTESİ ix

GRAFİKLER LİSTESİ x

TABLOLAR LİSTESİ xi

1. GİRİŞ 1

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 7

2.1. Gıda Boyalarının Genotoksik Etkileri İle İlgili Yapılan Çalışmalar 7

2.2. Bitkilerin Antigenotoksik Etkileri ile İlgili Yapılan Çalışmalar 11

3. MATERYAL VE YÖNTEM 15

3.1. Materyal 15

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Organizma ile İlgili Genel Bilgiler 15

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Gıda Boyalarının Özellikleri 19

3.1.2.1. Tartrazine (sarı-E 102) 19

3.1.2.1.1. Tartrazine (sarı-E 102)'nin Özellikleri 19

3.1.2.1.2. Tartrazine (sarı-E 102)'in Kullanım Alanları ve Maksimum Miktarları 20

3.1.2.2. Ponceau 4R (kırmızı-E 124) 21

3.1.2.2.1. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin Özellikleri 21

3.1.2.2.2. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin Kullanım Alanları ve Maksimum Miktarları 22

3.1.2.3. Pea green (yeşil-E 102+E 133) 23

3.1.2.3.1. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'in Özellikleri 23

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Bitki Özütlerinin Özellikleri 23

3.1.3.1. Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) 23
3.1.3.1.1. Kantaronun (*Hypericum perforatum* L.) Sistematiği 23
3.1.3.1.2. Kantaronun Kullanılan Kısımları 24
3.1.3.1.3. Kantaronun Özellikleri 24
3.1.3.1.4. Kantaronun Kullanım Alanları 24
3.1.3.2. Devedikeni (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) 26
3.1.3.2.1. Devedikeninin (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) Sistematiği 26
3.1.3.2.2. Devedikeninin Kullanılan Kısımları 26
3.1.3.2.3. Devedikeninin Özellikleri 27
3.1.3.2.4. Devedikeninin Kullanım Alanları 27
3.1.3.3. Karabaş (*Lavandula stoechas* L.) 28
3.1.3.3.1. Karabaşın (*Lavandula stoechas* L.) Sistematiği 28
3.1.3.3.2. Karabaşın Kullanılan Kısımları 28
3.1.3.3.3. Karabaşın Özellikleri 29
3.1.3.3.4. Karabaşın Kullanım Alanları 29
3.2. Yöntem 30
3.2.1. Toksikoloji 30
3.2.1.1. Genotoksisite ve Antigenotoksisite 30
3.2.1.2. Genotoksisite Testleri 31
3.2.2. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) 31
3.2.3. *Drosophila* Mutant Irklarının Genetik Yapısı 33
3.2.4. *Drosophila* Hatlarının Kültürü 35
3.2.5. Deney Grupların Oluşturulması 36
3.2.6. Deneysel Gruplara ait Uygulamalar 37
3.3. İstatistiksel Analizler 41
4. BULGULAR 43

5. TARTIŞMA VE SONUÇ 72

KAYNAKLAR 83

ÖZGEÇMİŞ 95

SİMGELER DİZİNİ

%	: Yüzde değer
‰	: Binde değer
Bd^S	: Beaded serrat (serrat kenarlı)
°C	: Santigrat derece
flr^3	: Flare (Düzensiz kanat kılı)
g	: Gram
kg	: Kilogram
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
µg	: Mikrogram
mwh	: Multiple wing hair (Çoklu kanat kılı)
pH	: Hidrojenin potansiyeli

Kısaltmalar

ADI : Acceptable daily intake (Günlük tolere edilebilir miktar)

AIDS : Acquired immune deficiency syndrome (Edinilmiş bağışıklık yetmezlik sendromu)

CAS : Chemical abstracts service (Kimyasal bildiri servisi)

COMET : Tek hücre jel elektroforezi

DNA : Deoksiribonükleik asit

E : European (Avrupa)

EMS : Etil metan sülfonat

FAO : Food and Agriculture Organisation (Gıda ve Tarım Kuruluşu)

HIV : Human immmunodeficiency virus (İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü)

JECFA : Joint FAO and WHO Expert Committee on Food Additives (Gıda ve Tarım Kuruluşu ile Dünya Sağlık Örgütü Birleşik Gıda Katkı Uzman Komitesi)

NOAEL : No Observed Advers Effect Level (Gözlenebilen hiçbir yan etki Göstermeyen Doz)

SMART : Somatic mutation and recombination test (Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi)

WHO : World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3. 1. *Drosophila melanogaster* Meigen'in yaşam döngüsü [59]. 17
Şekil 3. 2. *Drosophila* larvalarında imajinal disk yerleşimi ve erginde oluşturduğu yapılar [62]. 18
Şekil 3. 3. Tartrazine (sarı-E 102)'in yapısal formülü [65]. 20
Şekil 3. 4. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin yapısal formülü [67]. 21
Şekil 3. 5 Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) [68]. 24
Şekil 3. 6 Devedikeni (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) [70]. 26
Şekil 3. 7 Karabaş (*Lavandula stoechas* L.) [74]. 28
Şekil 3. 8. *Drosophila*'da somatik mutasyon ve rekombinasyon testinin şematik gösterimi 32
Şekil 3. 9. SMART yönteminde kullanılan belirleyici genlerin 3. kromozom üzerindeki yerleşimleri [88]. 33
Şekil 3. 10. *Drosophila*'daki kanat kıllarının görünümü (a, b, c, d) [16]. 34
Şekil 3. 11. Mwh/mwh ve flr^3/TM3,Bd^S bireyleri arasındaki çaprazlamalar [88]. 35
Şekil 3. 12. *Drosophila*'da normal (A) ve serrat (B) kanat fenotipleri 35
Şekil 3. 13. Kanat sektörlerinin şematik görünümü 38
Şekil 3. 14. Çeşitli klon tipleri (A, B, C, D, E, F). [86]. 39
Şekil 3. 15. Mwh/flr^3 genotipindeki bireylerde görülebilecek genetik anormaliler [16]. 40

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 4.1. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'e ait deney grubu uygulamaları 45
Grafik 4.2. Ponceau 4R (kırmızı-E 124) – kantaron tedavi grubu uygulamaları 47
Grafik 4.3. Ponceau 4R (kırmızı-E 124) – devedikeni tedavi grubu uygulamaları 49
Grafik 4.4. Ponceau 4R (kırmızı-E 124) – karabaş tedavi grubu uygulamaları 50
Grafik 4.5. Tartazin'e ait deney grubu uygulamaları 53
Grafik 4.6. Tartrazine (sarı-E 102) – kantaron tedavi grubu uygulamaları 56
Grafik 4.7. Tartrazine (sarı-E 102) – devedikeni tedavi grubu uygulamaları 58
Grafik 4.8. Tartrazine (sarı-E 102) – karabaş tedavi grubu uygulamaları 60
Grafik 4.9. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait deney grubu uygulamaları 63
Grafik 4.10. Pea green (yeşil-E 102+E 133) – kantaron tedavi grubu uygulamaları 65
Grafik 4. 11. Pea green (yeşil-E 102+E 133) – devedikeni tedavi grubu uygulamaları . 67
Grafik 4.12. Pea green (yeşil-E 102+E 133) – karabaş tedavi grubu uygulamaları 69

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. Pozitif ve negatif kontrol gruplarının mutant benek toplam sayıları. 43
Tablo 4.2. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile ponceau 4R (kırmızı-E 124)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları. 44
Tablo 4.3. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)' e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları. 46
Tablo 4.4. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile ponceau 4R (kırmızı-E 124)-kantaron tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları. 46
Tablo 4.5. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile ponceau 4R (kırmızı-E 124)-devedikeni tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları. 48
Tablo 4.6. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile ponceau 4R (kırmızı-E 124)-karabaş tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları. 50
Tablo 4.7. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'e ait deney grubu ve tedavi gruplarının mutant benek toplam sayıları. 52
Tablo 4. 8. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile tartrazine (sarı-E 102)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları. 53
Tablo 4. 9. Tartrazine (sarı-E 102)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları. 54
Tablo 4. 10. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile tartrazine (sarı-E 102)-kantaron tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları. 55
Tablo 4. 11. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile tartrazine (sarı-E 102)-devedikeni tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları. 57
Tablo 4. 12. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile tartrazine (sarı-E 102)-karabaş tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları. 59
Tablo 4. 13. Tartrazine (sarı-E 102)'e ait deney grubu ve tedavi gruplarının mutant benek toplam sayıları. 61
Tablo 4. 14. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları. 62
Tablo 4. 15. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları. 64
Tablo 4. 16. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile pea green (yeşil-E 102+E 133)-kantaron tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları. 64

Tablo 4. 17. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile pea green (yeşil-E 102+E 133)-devedikeni tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları. 66
Tablo 4. 18. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile pea green (yeşil-E 102+E 133)-karabaş tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları. 68
Tablo 4. 19. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait deney grubu ve tedavi gruplarının mutant benek toplam sayıları. 70

BÖLÜM 1

1. GİRİŞ

Beslenme, canlıların yaşamının devamlılığı için gerekli olan en önemli unsurlardan biridir. Günümüzde, ekonomik gelişmeyle birlikte yaşam biçimindeki değişiklikler sonucunda insanların beslenme alışkanlıklarının büyük ölçüde farklılık gösterdiği görülmektedir. Tüketici talebi doğrultusunda doğal besinlerden hızla uzaklaşılarak hazır yiyeceklere olan yönelim ile beraber geleneksel uygulamalar yerini yeni yöntemlere bırakmış durumdadır [1].

Son yıllarda gelişen endüstrileşme süreci doğrultusunda kaliteli, bozulmaya dayanıklı ve sürekli değişerek artan tüketici beğenisine karşılık verecek biçimde gıda üretimi için katkı maddelerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır [2].

Besin endüstrisinde gıda katkı maddeleri büyük bir yer tutmakla birlikte insan sağlığına etkileri tartışılan güncel bir konudur. Kentleşme ile birlikte hazır gıda tüketiminin artması sonucu vücudun daha fazla katkı maddesine maruziyeti ile birlikte potansiyel sağlık risklerinin oluşması söz konusudur [1].

Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğinde ‘‘gıda katkı maddeleri; tek başına gıda olarak tüketilmeyen, bir gıda ürününün ana bileşeni, hammaddesi veya yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, fakat o ürünün işlenmesi, ambalajlanması ve/veya depolanması ile ilgili olarak ve ürünün tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak amaçlarıyla gıda ürünlerine katılımlarına izin verilen, kalıntı veya türevleri mamul maddede kalan kimyasal madde veya maddeler karışımı olarak tanımlanır.’’ [3].

Gıda katkı maddeleri kullanım amaçlarına göre 5 farklı grupta incelenmektedir:

1. Koruyucular

1.1. Asitlik düzenleyiciler

1.2. Antimikrobiyal maddeler

(Asetik asit, propiyonik asit, benzoik asit, sorbik asit, nitrat ve nitrit, kükürt dioksit ve sülfitler, parabenler, gaz sterilantlar (etilen ve propilen oksitler, dietilpirekarbonat, difenil ve o-fenilfenol)

1.3.Antioksidanlar

1.3.1.Serbest radikaller ile kompleks oluşturanlar

(Bütillenmiş hidroksianisol ve bütillenmiş hidroksitoluen, tersiyer bütilhidrokarbon, gallatlar, tokoferoller, nordihidroguayaret asit, aminoasitler, peptidler, proteinler)

1.3.2. İndirgenler

(Askorbik asit ve türevleri, sülfitler)

1.3.3. Sekonder antioksidanlar

1.3.4. Şelatlar

2. Duyusal Özellikleri Modifiye Edenler

2.1. Dokusal yapıyı düzenleyiciler

2.1.1. Stabilizatörler

2.1.2. Emülgatörler

(Lesitin, yağ alkolleri, mono ve digliseritler, süksinikli monogliserit, yağ asitleri ve tuzları, planta emülgatör, saponin, polioller)

2.2. Görsel modifikasyon yapanlar

2.2.1. Renklendiriciler

2.2.1.1. Doğal renklendiriciler

2.2.1.1.1. Organik doğal renklendiriciler

(Annato, antosiyaninler, bitkisel karbon, kantaksantin, sade karamel, kostik sülfit karamel, amonyum karamel, karotenler, klorofiller)

2.2.1.1.2. İnorganik doğal renklendiriciler

(Alüminyum tozu, altın, demir oksitler, gümüş, titanyum dioksit, kalsiyum karbonat)

2.2.1.2. Yapay Renklendiriciler

(Allura red AC, amarant, azorubin, brilliant black BN, brilliant blue FCF, brown HT, eritrosin, green S, indigotin, kinolin sarısı,

litolrubin BK, patent blue V, karamel, pea green, ponceau 4R, red 2G, sunset yellow FCF, tartrazine)

3. Tat ve Koku Maddeleri, Lezzet Arttırıcılar

3.1. Aroma arttırıcılar

(Monosodyumglutamat, nükleotitler, maltol)

3.2. Aroma vericiler

3.3. Tatlandırıcılar

3.3.1. Doğal tatlandırıcılar,

3.3.2. Yapay tatlandırıcılar

(Sakkarin, siklamatlar, aspartam, dulsin, asesülfam-K)

4. Beslenmeyi Düzenleyenler

4.1. İşlevsel ve diyet katkıları

(Vitaminler ve aminoasitler)

5. İşlem Yardımcı Maddeleri

5.1. Enzimler

(Amilaz, pektinaz, glukoz oksidaz-katalaz, invertaz, proteazlar, lipazlar, katalaz, glukozizomeraz, aroma enzimleri) [4].

Avrupa Birliği ülkelerinde kullanımlarına izin verilen, özellikleri belirlenmiş ve güvenilirlikleri test edilmiş olan 329 gıda katkı maddesinin herbiri bir E kodu ile ifade edilmektedir. E, Avrupa Birliği'ni (EU) simgelemektedir. E'nin yanında yer alan rakam ise katkı maddesinin fonksiyonunu belirtir. E kodu ile gıda katkıları; renk vericiler E 100-199, koruyucular E 200-297, antioksidanlar E 300-321, emülgatör ve stabilizatörler E 322-500, asit-baz sağlayanlar E 500-578, tatlandırıcı ve koku vericiler E 620-637; geniş amaçlı kullanılanlar E 900-927 olarak sınıflandırılır.

Gıda katkı maddelerinin güvenli biçimde kullanılması için çalışan uluslararası kuruluşlar bulunmaktadır. Kodeks Beslenme Komisyonu (Codex Alimentarius Commission), Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization-WHO) ile Gıda ve Tarım Kuruluşu (Food and Agriculture Organization-FAO) tarafından 1963 yılında kurulmuştur. Kuruluşun görevi dünyada güvenli gıda üretiminin aynı nitelikte olması için Beslenme Kodeksinin (Codex Alimentarius) hazırlanmasıdır. JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives-Gıda ve Tarım Kuruluşu ile Dünya Sağlık Örgütü Birleşik Gıda Katkı Uzman Komitesi) 1956 yılından beri varlığını

sürdürmektedir. Komitenin görevleri; gıda katkı maddelerine ait bilimsel bulguları inceleyerek risk değerlendirmelerinde kullanılacak metodolojileri saptayarak ADI (mg/kg/gün): (Acceptable Daily Intake-Günlük tolere edilebilir miktar) değeri ve NOAEL (mg/kg/gün) : (No Observed Advers Effect Level-Gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz) düzeyinin belirlenmesidir.

1954 yılından beri insanlarda güvenli katkı maddesi dozuna (ADI) ulaşılabilmesi için, deney hayvanlarının ortalama yaşam süresinin % 70-80'inde almış olduğu gıda katkısına karşı hiçbir yan etki göstermemesini ifade eden NOAEL düzeyi, genellikle 100 olarak kullanılan güvenlik faktörüne bölünür [1].

Gıda katkı maddelerinin olumsuz etkilerini saptayabilecek araştırmaları, binlerce çeşit olmaları ve eser miktarlarda dahi olsa yaşam boyu kullanılmaları sebebiyle detaylı olarak yapabilmek oldukça güçtür [5]. Belirlenen miktarlarda kullanımlarına izin verilen gıda katkı maddelerinden bazılarının zararlı etkileri bulunmamasına rağmen kontrollerin yetersiz olduğu birçok ülkede ve üreticinin ve/veya tüketicinin yeterli bilinçte olmadığı toplumlarda, yönetmelik dışı tüketilmeleri sağlık açısından büyük riskler oluşturmaktadır [5]. Gıda katkı maddeleri alerji, egzama, kurdeşen, ürtiker, astım, anjioödem, baş ağrısı, sinir bozukluğu, davranış bozukluğu, migren, gastrointestinal rahatsızlıklar, çeşitli zehirlenmeler, depresyon, tümör oluşumları ve hiperaktivite gibi istenmeyen durumlar yaratmaktadır [6].

Gıda katkı maddeleri içerisinde yaygın olarak kullanılan bir sınıf olan gıda boyaları, gıdanın rengini düzenleyen veya gıdaya renk veren maddelerdir. Isı, ışık, nem gibi fiziksel etkiler sonucu gıdalarda meydana gelen renk değişikliklerini telafi etmek, yaratılmak istenen ürün özelliklerine göre tek renk tonu veya farklı renk tonları oluşturmak ve gıdaya albenili görüntü kazandırmak gibi amaçlarla kullanılırlar [7]. Gıda boyaları; şekerleme, yemek arası yenen gıda, alkolsüz içecek, pasta, kek, tatlı, krema, sos, dondurma ve bisküvi gibi pek çok üründe bulunmaktadır. Renklendiriciler doğal ve sentetik olarak iki gruba ayrılır [8]. Sentetik gıda boyaları doğada bulunmayan ancak kömür ham maddesinden kimyasal sentez yoluyla üretilebilen renk maddeleridir. Sentetik gıda boyaları; suda çözünürlüklerinin yüksek oluşu, renk tonu aralıklarının geniş ve renk verme güçlerinin fazla olması, farklı pH'lara karşı gösterdikleri kararlılıkları, kullanım kolaylıkları ve fiyat uygunlukları bakımından doğal gıda boyalarına göre üstünlük sağlamaktadır [9].

Sentetik gıda boyaları yasalara uygun sınırlamalar içinde kullanılmadığında alerjik reaksiyonlar, deri döküntüleri, astım ve hiperaktivite ve konsantrasyon bozukluğu gibi sağlık sorunlarının yanı sıra genotoksik etkilerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir [10]. Ayrıca, gıda boyalarının aşırı duyarlılık, migren, erken doğum, aspirin duyarlılığı ve kansere yol açtığı da belirtilmektedir [11, 12]. Meyve sineği, fare, sıçan ve bakteri üzerinde yapılan genotoksisite testleri ve epidemiyolojik araştırmalar ile sentetik gıda boyalarının, düşük kaliteyi yüksek göstermek adına yönetmeliğe uygun olmayan kullanımlarda karsinojenik olabileceği bildirilmiştir [10,13]. Ülkemizde konuyla alakalı olarak yapılan çalışmalarda kullanılan gıda boyaları düzeyinin tüzük sınırlarının oldukça üzerinde seyrettiği ve halk sağlığı açısından zararlı etkilerinin olabileceği saptanmıştır [10, 14, 15].

İnsan hastalıkları üzerine yapılan birçok çalışma, memelilerin yerine uygun alt organizasyonlu ökaryotik bir organizma olan *Drosophila melanogaster* Meigen'in kullanılabileceğini desteklemektedir. Bunun nedeni, *Drosophila* larvalarında bulunan ve ergin evrede vücut kısımlarını oluşturmak üzere çoğalma ve farklılaşmaya uğrayan imaginal disk hücrelerinin biyolojik özelliklerinin kansere hassas birçok memeli hücresi ile benzerlik göstermesidir. Ayrıca, *Drosophila* genom dizi analizi ile insan hastalıklarında belirlenen genlerin %60'dan fazlasının ortak bir atadan geldiği tanımlanmıştır [16].

Genetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan *Drosophila*, SMART (somatic mutation and recombination test-somatik mutasyon ve rekombinasyon testi)'nde de model organizma olarak sıklıkla yer almaktadır. Bu test kimyasal maddelerin somatik hücrelerde oluşturduğu genotoksik ve antigenotoksik etkilerin sonucu olan mutajenik ve rekombinojenik aktivitelerinin saptanması için uygun olup, diğer testlerle karşılaştırıldığında daha hızlı, hassas ve ekonomik olması nedeniyle oldukça avantajlıdır [16]. Ayrıca, *Drosophila* ile çalışılan bu in vivo test yöntemi, memeliler üzerinde yapılan in vivo genotoksisite testleri ile ilişkilendirilebilir [17, 18].

Kanat SMART testinde, kimyasal madde uygulanan *Drosophila* larvalarının birkaç hücre bölünmesi geçirmesiyle somatik hücrelerde meydana gelen mutasyonlar, hücrenin bölünme süreciyle birlikte yavru hücrelere aktarılır. Somatik hücrelerdeki mutasyon veya rekombinasyonun neden olduğu genotipik değişimler ise kanatlarda fenotipik olarak gözlenebilir benekler olarak ortaya çıkar [17, 19].

Literatürde, sentetik gıda boyalarının çeşitli deneysel organizmalar üzerine genotoksik, histopatolojik, karsinojenik ve teratojenik etkisinin olduğu çok çeşitli bilimsel çalışmalarda bildirilmiş olmakla birlikte yapılacak ilave deneyler ile desteklenmesine de ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmada kullanılmak üzere seçilen gıda boyaları ve bitki özütleri literatürde bu araştırmanın konusuna benzer çok az sayıda bilimsel yayın yer alması nedeniyle tercih edilmiştir. Daha ayrıntılı ifade edilecek olursa; Ponceau 4R (kırmızı-E 124) ve pea green (yeşil-E 102+E 133)'in *Drosophila*'da SMART testi ile değerlendirildiği bir araştırmaya rastlanmamış olup tartrazine (sarı-E 102)'e ait geçmiş tarihli tek bir çalışmanın mevcut olduğu görülmektedir. *Drosophila* üzerinde ise bu gıda boyalarının genotoksisitesine ait sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ayrıca, literatürde çalışmada kullanılmak üzere seçilen halk arasında yaygın kullanıma sahip olan ve mutajenik etkileri giderebileceği düşünülen bitkisel özütlerinin *Drosophila*'da SMART ile değerlendirildiği bir araştırmaya rastlanmamıştır. Kantoronun *Drosophila*'da antigenotoksisitesi ile ilgili çok sınırlı sayıda çalışma mevcut iken devedikeni ve karabaşın ise yer aldığı bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu araştırmada sentetik gıda boyalarından olan ponceau 4R (kırmızı-E 124), tartrazine (sarı-E 102) ve pea green (yeşil-E 102+E 133)'in, 25 g/L, 50 g/L, 75 g/L'lık konsantrasyonlarının *D. melanogaster* Meigen'in mwh (multiple wing hair-çoklu kanat kılı) ve flr^3 (flare-düzensiz kanat kılı) hatları üzerinde zararlı bir etkiye neden olup olmayacağının ve birçok kaynakta antikanserojen etkilere sahip oflduğu belirtilen bitki özütlerinden kantaron (*Hypericum perforatum* L.), devedikeni (*Silybum marianum* (L.) Gaertn. ve karabaşa (*Lavandula stoechas* L.) ait 100 g/L konsantrasyonunun bu renklendiricilerin oluşturabileceği genotoksik etkileri azaltmada başarılı olup olmadığının kanat SMART ile saptanmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır.

Çalışmanın bu gıda boyalarının insan sağlığı üzerine potansiyel zararlı etkileri ve bitkisel özütlerin olası iyileştirici tesirleri konusunda yapılacak sonraki çalışmalara bilimsel kanıtlar ile katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

BÖLÜM 2

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Gıda Boyalarının Genotoksik Etkileri İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Sarıkaya ve arkadaşları (2012) [20] farklı konsantrasyonlardaki çeşitli sentetik gıda boyalarının *Drosophila* üzerine etkisini SMART ile değerlendirdikleri çalışmalarında karminik asit ve indigotinin genotoksik etkiye sahip olmadığını, eritrozine ait konsantrasyonlarla kesin olmayan sonuçlara ulaşıldığını, patent blue için 25 mg/ml ile amarantın 12.5, 25 ve 50 mg/ml konsantrasyonlarının genotoksik etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Niraj ve arkadaşları (1989) [19] sentetik gıda boyalarından tartrazine genotoksisitesini kanat ve göz SMART ile araştırdıkları çalışmalarında ‰0.6 ve ‰1.2'lik konsantrasyonlarda tartrazine uygulaması ile 48. ve 72. saatteki *Drosophila* heterozigot larvalarının %50'sinin ergine dönüşerek hayatta kaldığını saptamıştır.

Uysal ve Semerdöken (2011) [21] sentetik gıda boyalarından ponceau 4R, pea green, black pn, brilliant blue ve quinolin yellowun *Drosophila* Oregon R yabanıl soyunun 72±4 saatlik larvaları üzerine toksik etkilerini inceledikleri çalışmalarında tüm boyaların konsantrasyon artışına bağlı olarak larval toksisiteyi arttırırken ergine dönüşebilen birey sayısını ve ergin ömür uzunluklarını azalttığını tespit etmişlerdir.

Semerdöken (2012) [22] bazı sentetik gıda boyalarının (tartrazine, ponceau 4R, amarant, sunset yellow) *Drosophila* Oregon R yabanıl ve Vestigial mutant soylarına ait 72±4 saatlik larvalar üzerine toksik etkilerini incelemiş ve her iki soyda da konsantrasyon artışına bağlı olarak larval mortalite oranının arttığını, erkek ve dişi bireylerin ömür uzunluğunun önemli ölçüde azaldığını ve larval mortalite ile ömür uzunluğunun dişi ve erkek sinekler arasında farklılık gösterdiğini gözlemlemiştir.

Sarıkaya ve arkadaşlarının (2010) [13] çalışmaları sentetik gıda boyalarından patent blue, karminik asit, indigokarmin, eritrosin ve amaranta ait konsantrasyonlar arttıkça artan toksik etkilerin *D. melanogaster* Meigen'in mwh ve flr^3 soyuna ait bireylerinin yaşam yüzdesini azalttığını göstermektedir.

Poul ve arkadaşları (2009) [23] tartrazine, amarant ve sunset yellowun farelere 2000 mg/kg'a kadar farklı dozlarda gavaj yoluyla uygulandığında genotoksik etkisini (mikronukleuslu hücre) ve toksisitesini (apoptotik ve mitotik hücre) mikronükleus testi ile değerlendirdikleri çalışmalarında boyaların genotoksik etkili olmadığını ancak sitotoksisiteleri ile tüm dozlarda mitotik hücrelerde artış görüldüğünü saptamışlardır.

Uysal ve arkadaşları (2013) [24] doğal gıda boyalarından karmin, turmerik ve annattonun 50, 75, 100 ve 125 mg/ml'lik konsantrasyonda *Drosophila* Oregon-R yabanıl soyuna ait 72±4 saatlik larvaları üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında konsantrasyon artışına bağlı olarak larval mortaliteyi arttıran, ergin birey sayısı ve ömür uzunluğunu azaltan bu boyaların toksik etkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Macioszek ve Kononowicz (2004) [25] quinoline yellow ve brilliant black adlı gıda renklendiricilerinin insan lenfositlerinde genotoksik etkilerinin bulunduğunu tek hücre jel elektroforezi tekniği ve mikronükleus testiyle göstermişlerdir.

McCann ve arkadaşları (2007) [26] İngiltere'nin Southampton kentinde çeşitli cips, şekerleme ve gazozlarda sıklıkla kullanılan renk verici maddelerden tartrazine, ponceau 4R, carmoisine ve sunset yellow ile gıdalarda koruyucu olarak kullanılan sodyum benzoatın 3 ile 8-9 yaşlarındaki çocukların davranışları üzerindeki etkilerini saptamak için yaptıkları araştırmalarında bu gıda katkı maddelerini içeren içecekleri tüketen çocuklarda hiperaktivitenin görülme sıklığında önemli ölçüde artış gözlendiğini bildirmiştir.

Koutsogeorgopoulou ve arkadaşları (1997) [27] insan periferal kan lenfositleri üzerine tartrazine ve amarantın immunotoksik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında bu gıda boyalarının immünosupresif (bağışıklık sitemini baskılayıcı) etki gösterdiğini ancak sitotoksik etkilerinin tam olarak kanıtlanamadığını tespit etmişlerdir.

Pohl ve arkadaşları (1987) [28] antidepresan ilaç kullanan 170 hasta üzerinde tartrazine maruziyetinin etkisini araştırdıkları çalışmada beş olguda belirgin alerji görüldüğünü saptayarak, 1000 kişiden 6'sında tartrazine duyarlılığı belirlenen önceki çalışmalardan çok daha yüksek oranda sonuçlara ulaştıklarını bildirmişlerdir.

Bhatia (1996) [29] adlı araştırıcı 480 hasta üzerinde yaptığı çalışmada psikolojik rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan bir ilaç ile tartrazinin birlikte uygulandığı hastalarda alerji görülürken, tedaviden tartrazin çıkarıldığında alerji vakasına rastlanmadığını tespit etmiştir.

Devlin ve David (1992) [30] adlı araştırıcılar 1-6 yaş arasındaki önemli bir cilt iltihabı olan atopik egzama hastası 12 çocuğa 50 mg/kg'lık konsantrasyonda tartrazine uyguladıkları çalışmalarında yalnızca 1 hastada egzamada kötüleşmenin en yüksek skorlarda görüldüğü diğerlerinde ise tartrazine karşı duyarlılık gelişmediği sonucuna ulaşmışlardır.

Paterson ve Butler (1982) [31] adlı araştırıcılar memeli fibroblast hücreleri arasındaki Muntiacus muntjac hücrelerine 5-20 μg/ml'lık konsantrasyonlarda tartrazine uygulaması sonucu kromozom anormalliklerini değerlendirdikleri çalışmalarında tartrazinin kromozomal bozukluklara neden olduğunu bildirmişlerdir.

Kalender (1997) [32] farelere enjeksiyon ve ağız yoluyla verilen tartrazine (10 mg/kg) ve gıda koruyucusu olan katkı maddesi sodyum benzoatın (100 mg/kg) yalnız ve birlikte uygulamalarının dermal ve ince bağırsak bağ dokusu mast hücreleri üzerindeki degranülasyon etkisini Transmisyon Elektron Mikroskobu ile incelediği çalışmasında en fazla etkinin birlikte olduğunu, bunu sırasıyla sodyum benzoat ve tartrazine tek başına tüketildiğinde alınan sonuçların izlediğini bildirmiştir.

Sharma ve arkadaşları (2008) [33] tarafından tomato red gıda boyasının erkek albino farelere 42 gün boyunca gavaj yoluyla 2 ve 6 g/kg konsantrasyonunda uygulanması sonucunda farelerin vücut ve karaciğer ağırlıklarında artış, testisler ve böbrek ağırlıklarında ise azalma saptanmasının yanı sıra böbrek, karaciğer ve testislerde şiddetli dejeneratif değişiklikler görüldüğü bildirilmiştir.

Tripathy ve arkadaşları (1995) [34] kırmızı renkli sentetik gıda boyalarından olan rodamin B ve amaranta ait farklı konsantrasyonların *Drosophila*'nın somatik ve germ hücreleri üzerine etkilerini kanat SMART ve cinsiyete bağlı resesif öldürücü test ile inceledikleri çalışmalarında rodamin B hem somatik hem de germ hücrelerinde genotoksik etkili olup, amarantın genotoksik etki göstermediği sonucuna ulaşmışlardır.

Ingemi (2010) [35], farklı konsantrasyonlardaki tartrazine ile 14 gün boyunca beslenen *D. melanogaster* Meigen'in 5 neslinde konsantrasyon arttıkça bireylerde yumurtlama ve gelişimde sorunlar ortaya çıktığını ifade etmiştir.

Sasaki ve arkadaşları (2002) [36] çalışmalarında gıdalarda kullanılan birçok boyanın (tartrazine, amarant, allura red, new coccine, eritrosin, floksin ve rose bengal) farelerin mide, kolon ve mesanesinde doza bağlı olarak DNA (deoksiribonükleikasit) hasarına neden olduklarını göstermişlerdir.

Mpountoukas ve arkadaşları (2010) [37] çalışmalarında sentetik gıda boyaları olan tartrazine, amarant ve eritrosinin potansiyel toksik etkilerini 0.002-8 mM aralığındaki farklı konsantrasyonlarda insan periferik kan hücreleri üzerinde test etmişlerdir. Çalışma sonucunda, 8 mM konsantrasyona sahip amarantın yüksek düzeyde genotoksik, sitotoksik ve sitostatik (hücre gelişimini büyüme safhasında durduran) etki gösterdiği, 2, 4 ve 8 mM konsantrasyona sahip eritrosinin yüksek sitotoksisite ve sitostatisiteye sahip olduğu, tartrazinin 1 ve 2 mM'lık konsantrasyonlarda sitotoksik etkili olduğu sonuçlarına ulaşılmıştır. Böylelikle, test edilen boya maddelerinin insan lenfosit hücreleri için potansiyel toksik etki gösterdiği ve DNA'a direkt olarak bağlanabildiği ortaya çıkarılmıştır.

Amin ve arkadaşları (2010) [6] gıdalarda kullanılan azo boyalarından olan tartrazine ve karmoisini erkek deney farelerine 30 gün boyunca düşük ve yüksek dozda ağız yoluyla uyguladıkları çalışmalarında gıda boyası muamelesi sonucunda farelerin karaciğer enzimleri ve böbrek fonksiyon testlerinin anlamlı ölçüde arttığını, yüksek doz uygulamasında bu artışın daha belirgin olduğunu ifade etmişlerdir. Yüksek doz tartrazine ile yüksek ve düşük doz karmoisin verilen farelerin oksidatif stres parametrelerinde de anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır.

Yentür ve arkadaşları (1996) [9] yapmış oldukları araştırmalarında gıda boyalarından tartrazine, ponceau 4R ve sunset yellowun tüzük sınırlarının üzerinde şeker (elmalı, yalama, pamuk) ve pasta süslemelerinde bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Topsoy (1990) [13] Ankara'da satılan akide şekeri ve yapay içecek tozlarında bulunan tartrazine ve Ssunset yellow boyalarının kullanım miktarlarının yönetmelikte belirtilen değerlerin çok üzerinde olduğunu yanı sıra dondurmaya katılması yasaklı bu boyaların ilave edildiğini bildirmiştir.

Yaman (1996) [14] Ankara piyasasından sağlanan 263 örnek üzerinde ponceau 4R, tartrazine, sunset yellow ve azorubinin kullanım miktarlarını araştırdığı çalışmada; reçel ve pudinglerde bu boyalara rastlanmadığı, sunset yellow ve ponceau 4Rnin şeker

ve içecek tozlarında, tartrazinin şekerlerde yüksek oranda bulunduğu ancak azorubinin ise numunelerde yasal sınırlarda yer aldığı sonuçlarına ulaşmıştır.

2.2. Bitkilerin Antigenotoksik Etkileri ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Romero-Jimenez ve arkadaşları (2005) [38] çalışmalarında yaygın olarak kullanılan altı bitkisel içecek olan alman papatyası (*Matricaria chamomilla* L.), kış ıhlamuru (*Tilia cordata* Mill.), nane (*Mentha x piperita* L.), yarpuz (*Mentha pulegium* L.), kedi pençesi (*Uncaria tomentosa* (Wild.) DC. ve kediotunun (*Valeriana officinalis* L.) genotoksik ve hidrojen peroksit genotoksisitesine karşı antigenotoksik etkilerini SMART ile araştırmıştır. Ihlamurun uygulandığı en yüksek dozda toplam mutant klon sayısında artış gözlenirken, diğer içeceklerin hiçbir dozunun genotoksik etki göstermediği ve tüm içeceklerin antigenotoksik etkilerinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Idaomar ve arkadaşları (2002) [39] tarafından balkaymak (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don), labrador çayı (*Ledum groenlandicum* Oeder) ve ravensara (*Ravensara aromatica* Sonn) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların ayrı ayrı ve birlikte genotoksik etkisi ve kanser tedavisinde kullanılan üretana karşı antigenotoksik etkileri SMART kullanılarak araştırılmıştır. Uçucu yağların ayrı ya da birlikte uygulamasının genotoksik etkisi bulunmadığı, üretan ile uçucu yağların beraber muamelesinin mutasyon oranında düşüşe sebep olduğu ve uçucu yağların eşit oranda karışım olarak verilmesinin çok daha etkili antigenotoksisiteye yol açtığı saptanmıştır.

Laohavechvanich ve arkadaşları (2006) [40] tarafından 4 farklı yöresel biberin üretana karşı antimutajenik etkisinin araştırıldığı çalışmada biberlerin her biri su, yağ ve sirkede olmak üzere farklı şekillerde hazırlanmıştır. Çalışma sonucunda biberlerin antimutajenik etkili olduğu belirtilmiştir.

El Hamss ve arkadaşları (2003) [41] tarafından yapılan çalışmada biber (*Capsicum annuum* L.) ve Karabiber'in (*Piper nigrum* L.) mutajenik ajanlar olan Metil metan sülfonat ve etil karbamata karşı antigenotoksik etkileri araştırılmıştır. Biberlerin eşit miktarlarda suda bekletilip süzülmesinden ardından mutajenik ajanlarla ön ve birlikte uygulamalar sonucunda biberin her iki ajanın oluşturmuş olduğu mutasyonları indirgediği, karabiberin ise sadece etil karbamata karşı inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir.

Ramirez-Victoria ve arkadaşları (2001) [42] bir yeşil dolmalık biber çeşitinin metil üre ve sodyum nitrite karşı antigenotoksik etkisini araştırdıkları çalışmalarında biber suyunun farklı dozlarını mutajen ajanlarla ayrı ayrı ve birlikte olacak şekilde iki günlük larvalara uygulamışlardır. Biber suyunun tüm uygulama gruplarında metil üre ve sodyum nitritin oluşturduğu mutasyonları %40-80 oranlarında azalttığı belirlenmiştir.

Abraham ve Graf (1996) [43] yapmış oldukları çalışmada kahvenin çeşitli mutajenik ve/veya karsinojenik kimyasal maddeler olan siklofosfamid, dietilnitrozamin, mitomisin C, prokarbazin ve üretan genotoksisitesi üzerindeki etkisini *D. melanogaster* Meigen'de SMART kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, kahvenin birlikte uygulandığı mutajenik ve/veya karsinojenik ajanların oluşturduğu mutasyonlarda önemli bir azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Graf ve arkadaşları (1998) [44] yaptıkları çalışmalarında üretanın genotoksik etkisine karşı kahvenin etkisini yanı sıra metil üre ve sodyum nitrit karışımının genotoksik etkisine karşı askorbik asit (c vitamini) ve bir tür flavonoid olan kateşinin etkilerini *Drosophila*'da SMART ile araştırmışlardır. Çalışma bulgularına göre, kahve antirekombinojenik etkili olmasına rağmen antimutajenik etki göstermemiştir. Metil üre ve sodyum nitrit karışımının genotoksisitesinin ise askorbik asit ve kateşin ile önemli düzeyde azaldığını saptanmıştır.

Li ve arkadaşları (2008) [45] çalışmalarında *Drosophila* Oregon-R-C soyunun erkek bireylerine, domuz yağından hazırlanan yağ asitlerinin meydana getirdiği ölümleri engellemek ve sineklerin yaşam sürelerini uzatmak amacıyla brokoli ekstraktı ve yeşil çay kateşini uygulamıştır. 50 mg brokoli ekstraktının ve 10 mg yeşil çay kateşininin ayrı ayrı olacak şekilde %5 ve %10'luk yağ asitleriyle birlikte muamelesi sonucunda sineklerin ömür uzunluklarının ve %50'sinin yaşadığı zamanın arttığı rapor edilmiştir Ayrıca, katalaz ve süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin tedavi grubunda sadece yağ asitleriyle beslenen deney grubuyla karşılaştırıldığında önemli düzeyde arttığı belirtilmektedir.

Li ve arkadaşları (2008) [46] bir başka çalışmalarında paraquat ve hidrojen peroksit genotoksisitesine maruz bırakılan *D. melanogaster* Meigen ergin bireylerini brokoli, lahana, çin lahanası ve havuç özütü ile beslemişlerdir. Çalışma sonuçları brokoli özütünün, sineklerin vücut lipid hidroksiperoksit düzeyini düşürerek bakır çinko süperoksit dismutaz, mangan süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitelerini ise

arttırarak ortalama yaşam ömrünü, kontrol ve diğer üç sebze özütü ile beslenen gruplara göre arttırdığını göstermektedir.

Patenkovic ve arkadaşları (2009) [47] yapmış oldukları çalışmada *D. melanogaster* Meigen'de adaçayının (*Salvia officinalis* L.) kuvvetli bir genotoksik madde olan metil metansülfonatın indüksiyonu ile oluşan genotoksisiteyi ortadan kaldırdığını SMART ile göstermişlerdir.

Kaur ve arkadaşları (2006) [48] yaptıkları çalışmalarında üzüm çekirdeğinin in vivo ve in vitro gelişen kolorektal kanser hücrelerini inhibe ettiğini ve hücrede kanser oluşumunu önlediğini belirlemiştir.

Demir ve arkadaşları (2009) [49] çalışmalarında *Drosophila* üzerine genotoksik etkili potasyum dikromat, kobalt klorür, etilmetansülfonat ve N-etil-N-nitroso mutajenlerine karşı turunç (*Citrus aurantium* L.) meyve kabuğu özütünü yağ ile uygulamışlardır. Kanat SMART ile elde edilen bulgulara göre, turunç meyve kabuğu özütünün antigenotoksik etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Gürbüzel (2011) [50] yaptığı çalışmada, farklı fungus türlerinin sporları tarafından üretilen üç mikotoksinin (T-2 toksini, diasetoksisirpenol ve paksilin) oluşturduğu olası genotoksik etkilere karşı acıyavşan (*Teucrium polium* L.) özütünün antigenotoksik etkisini *Drosophila*'da kanat (SMART) ile araştırmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, T-2 toksini zayıf rekombinojenik etki gösterirken, diasetoksisirpenolün herhangi bir genotoksik etkinlik göstermediği, Paksilinin ise doz artışına bağlı olarak mutajenik ve rekombinojenik etkilere sahip olduğu gözlenmiştir. Mikotoksinler ve acıyavşanın birlikte uygulandığı gruplarda normal ve serrat kanatlı bireylerde küçük tek tip, büyük tek tip ve toplam mwh klon sayılarında azalma ve klon indüksiyon frekansı değerlerinde düşüş görüldüğü bildirilmiştir.

Negishi ve arkadaşları [51] çalışmalarında, ıspanak ve klorella yosunundan elde edilen doğal gıda boyası olan klorofillerin *D. melanogaster* Meigen'de antimutajenik ve antikarsinojenik etkisini test ettikleri çalışmalarında bu klorofillerin, 4-nitroquinolin 1-oksit tarafından oluşturulan mutasyonu baskıladığını saptamışlardır.

Olvera ve arkadaşları (2000) [52] yaptıkları çalışmalarında etilnitrozamin, metilnitrozoüre, metilmetansülfonat ve dietilnitrozamin genotoksisitesine karşı klorofil pigmentinin sodyum-bakır tuzu olan klorofilinin (chlorophyllin) antigenotoksik etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında *Drosophila*'nın 48 saatlik larvalarına, klorofilinin farklı

dozlarının bir günlük ön uygulama ile verilmesinin ardından çeşitli mutajenlerin farklı dozlarını uygulamışlardır. Sonuç olarak, mutajenik ajanlara karşı klorofilinin kullanılan en yüksek dozunun tüm klon tiplerini azaltarak güçlü bir antigenotoksik etki gösterdiği rapor edilmiştir.

BÖLÜM 3

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

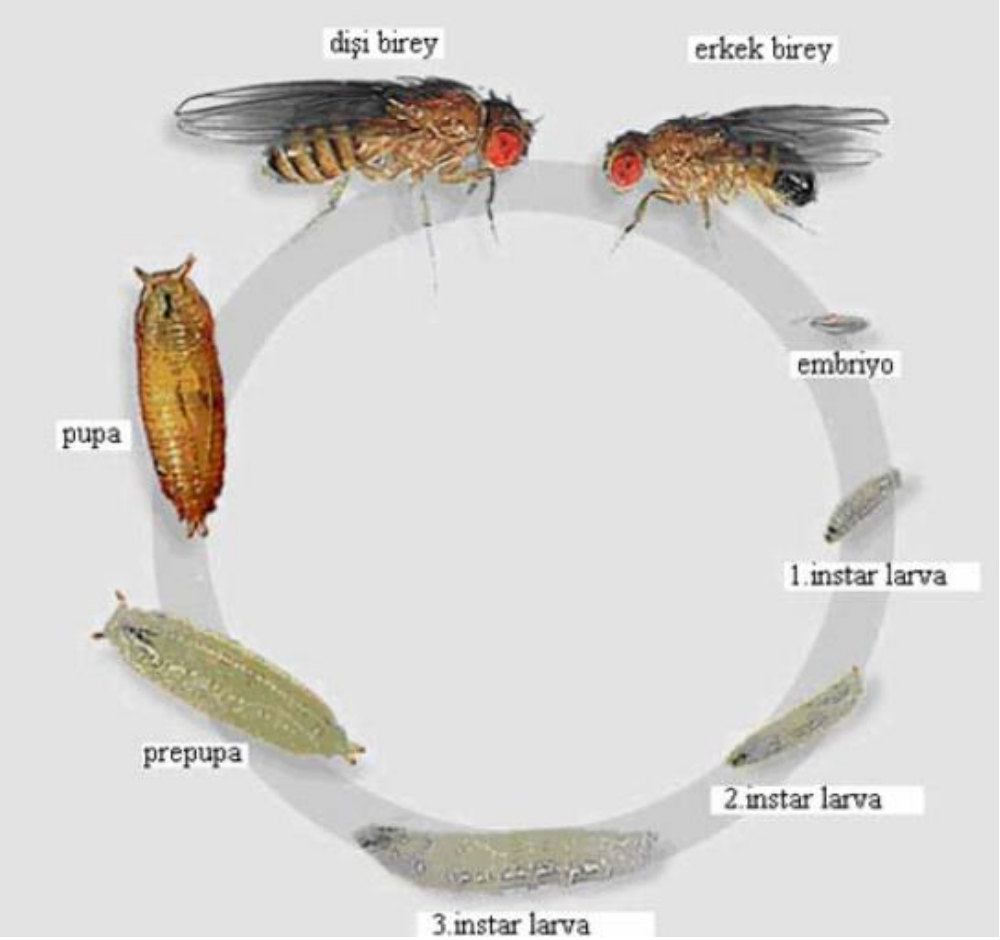
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Organizma ile İlgili Genel Bilgiler

Drosophila melanogaster Meigen, hayvanlar aleminin İnsecta sınıfına dahil olan Diptera takımının Drosophilidae familyası içinde yer alır. Larvaları bozulmuş meyveler üzerinde geliştiği için meyve sinekleri olarak da adlandırılır [53].

Phylum : Arthropoda (eklembacaklılar)
Subphylum : Mandibulata-Antennata
Clasis : İnsecta-Hexapoda (böcekler-altıbacaklılar)
Subclasis : Pterygota (kanatlılar)
Superordo : Mecopteroidea (uzun kanatlılar)
Ordo : Diptera (çift kanatlılar)
Subordo : Brachycera (kısa antenliler)
Familia : Drosophilidae (sirke sinekleri)
Genus : *Drosophila*
Species : *Drosophila melanogaster* Meigen

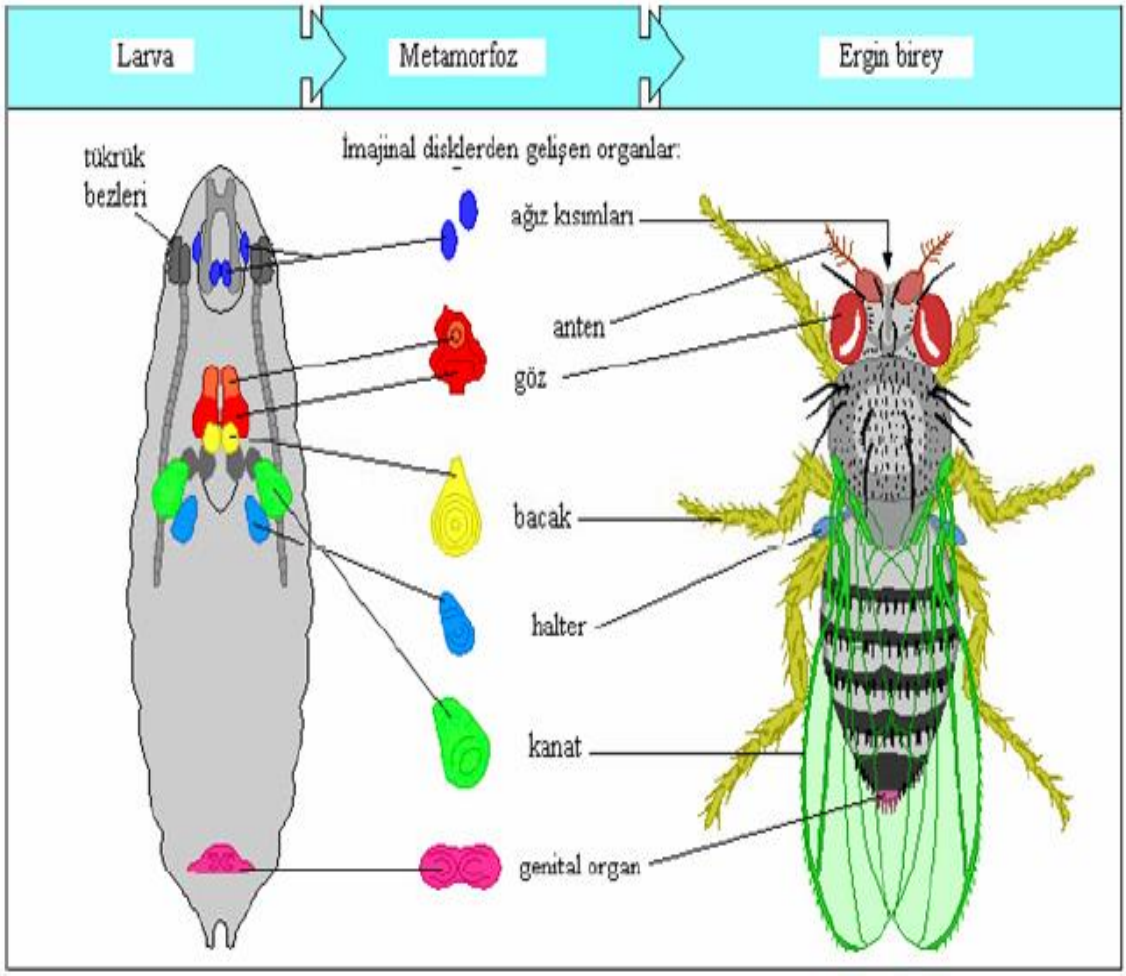
1911 yılında Thomas Morgan tarafından laboratuvar çalışmalarında kullanılmaya başlanan *D. melanogaster* Meigen tek seferde fazla sayıda yavru oluşturması, yaşam döngüsünün ve ömür uzunluğunun kısa ve takip edilebilir olması, arı döl olarak saklanabilmesi ve memeliler ile genetik mekanizmalar bakımından büyük benzerlik göstermesi nedenleriyle halen üzerinde çalışılan ökaryotik bir organizmadır [54].

Drosophila yaşam döngüsünde dört farklı evreye sahip tam metamorfoz geçiren bir böcektir. Bu evreler sırası ile: yumurta (embriyonik), larva, pupa ve ergin şeklindedir [55]. *Drosophila*'nın hayat siklusu ve ömür uzunluğu; sıcaklık, beslenme, populasyon yoğunluğu, radyasyon ve nem gibi dış faktörlerin yanı sıra çiftleşme, anasal yaş, yumurta üretimi, eşey ve genetik yapı gibi iç etkenlerden de farklı şekillerde etkilenmektedir [56]. *Drosophila*'nın ideal yaşam şartları 25 ± 1°C sıcaklık ve % 40-60 bağıl nem ortamı olup yumurtadan ergine gelişme süresi ortalama 9-11 gündür [16]. *Drosophila*'da gelişme embriyonik dönem ve postembriyonik dönem olmak üzere iki aşamada gerçekleşir. Embriyonik dönem yumurtanın döllenmesiyle başlar ve larvaların yumurtadan çıkmasına kadar devam eder. Postembriyonik dönem ise larvanın yumurtadan çıktığı andan larvanın ergin hale gelinceye kadar geçirdiği tüm değişiklikleri içermektedir [54]. *Drosophila* hayat siklusunda embriyonun gelişimi bir gün, larval evrelerden birinci ve ikincisi birer gün, üçüncüsü iki gün, prepupa evresi 4 saat ve pupa evresi 4-4.5 gün sürer (şekil 3.1.) [57]. Ergin sineğin hayatta kalma süresi ise 40-50 gün kadardır [58].



Şekil 3. 1. *Drosophila melanogaster* Meigen'in yaşam döngüsü [59].

Yumurtalar, ortalama 0.5 mm uzunluğunda olup oval şekilli ve şeffaf görünümlüdür. Yumurtanın dış tarafı korion adı verilen bir zarla kaplıdır. Anterior ucunda dorsalden uzanan bir çift filament, yumurtanın bırakıldığı yumuşak besin ortamına batmamasını sağlar [60]. Yumurta açılmasını takiben açığa çıkan beyaz renkli ve segmentli kurtçuk benzeri larvalar sürekli beslenerek besiyerinin içinde ilerler ve larval evre sonunda 0.05 mg'dan 0.20 mg ağırlığına ve 4-4.5 mm uzunluğuna ulaşır [58]. Larval gelişim sırasında gömlek değiştirme olarak adlandırılan, kütikül tabakasının iki kez yenilenmesi larval yaşamı üç evreye ayırır. İki gömlek değiştirme arasındaki periyot instar olarak adlandırılır. Embriyo gelişimi sırasında imaginal diskler olarak adlandırılan yapılar gözlenmektedir. İmaginal disk hücreleri larval dönem süresince mitoz bölünme ile pupa evresine kadar çoğalarak erginin farklı organlarını oluşturur (Şekil 3.2.) [61].



Şekil 3. 2. *Drosophila* larvalarında imajinal disk yerleşimi ve erginde oluşturduğu yapılar [62].

Üçüncü instar dönemin sonuna doğru larvalar besiyerini terk ederek içinde bulundukları kabın duvarına tırmanır ve kütikülün sertleşmesiyle bulundukları yeri sabitleyerek sarı-kahve renkli pupalara gelişir. Gelişimin tamamlanması ile ergin sinekler pupa kılıfının anteriorunu delerek dışarı çıkar [58, 61]. Yeni çıkan ergin bireyler ilk önce açık renkli ve uzun vücutludur ancak birkaç saat içinde renkleri koyulaşır, başlangıçta kırışık olan kanatları açılır ve normal ergin görünümüne ulaşır [61].

Ergin bireylerin boyu 2-3 mm kadardır ve dişiler erkeklerden biraz daha uzundur. Vücut segmentleri ise baş, göğüs (toraks) ve karın (abdomen) olarak sıralanır. Baş ve toraks duyu organı olarak görev yapan kıllarla kaplıdır. Altı segmentten oluşan başın iki yanında petek gözler, tepesinde üç tane basit göz ile iki anten bulunur. Toraks

üç segmentten oluşur ve her segmentte bir çift bacak bulunur. İkinci segmentte bir çift kanat yer alırken üçüncü segmenteki kanatlar körelmiş ve halter organına dönüşmüştür [63]. Dişilerin 7 segmentli abdomeni melanin ile dengeli olarak renklenmiş iken, erkeklerde son segmentler birleşmiş olup 5 abdominal segment halindedir ve abdomenin ucu koyu renklidir. Ayrıca, dişi bireylerde abdomenin ucu sivri, erkeklerde küt şekilde sonlanır. Erginleşmekte olan erkeklerde abdomenin renklenmesi tamamlanmadığından ön ayaklarındaki seks tarağı olarak adlandırılan koyu renk sıra sıra kıllar belirleyicidir. Bahsedilen tüm özellikler cinsiyet tespitinde kullanılmaktadır. [58, 63]. Virjin dişiler, pupadan çıktıktan 3.5-4 saat sonra eşeysel olgunluğa erişebilir ve 12 saat sonra yumurtlayabilir. Erkekler ise pupadan çıktıktan birkaç saat sonra çiftleşebilir. *Drosophila* diploid kromozom sayısına sahip olup dört çift (2n=8) kromozom taşır [64]. Dişiler iki X kromozomundan, erkekler ise bir X ve bir de Y kromozomundan oluşur [58].

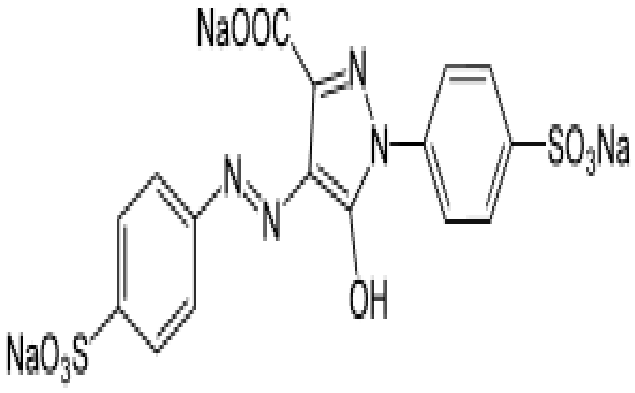
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Gıda Boyalarının Özellikleri

3.1.2.1. Tartrazine (sarı-E 102)

3.1.2.1.1. Tartrazine (sarı-E 102)'nin Özellikleri

Tartrazine (sarı-E 102) gıdalarda renklendirici olarak kullanılmakta olan önemli bir sentetik azo boyasıdır. Avrupa Birliği ülkelerinde kullanımına izin verilen, gerekli güvenlik testlerinden geçmiş ve tüm özellikleri belirlenmiş olan tartrazin (sarı-E 102) E 102 kod numarası ifade eder.

Kimyasal Formülü : $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$



Şekil 3. 3. Tartrazine (sarı-E 102)'in yapısal formülü [65].

Kimyasal adı	: Trisodyum 1-(4-sülfonatofenil)-4-(4-sulfonatophenylazo)-5-pirazolon-3-karboksilat)
Diğer adları	: FD&C sarı 5, asit sarısı 23, gıda sarısı 4
Formül ağırlığı	: 534.36 $g \cdot mol^{-1}$
CAS numarası	: 1934-21-0 (chemical abstract service-kimyasal bildiri servisi)
Çözünürlük	: Suda çok, etanolde az çözünebilir, bitkisel yağlarda ise çözünmez.
Görünüm	: Açık turuncu renkte toz veya granüller halinde bulunur, sarı renk verir [65].

Tartrazine (sarı-E 102)'in insanlardaki ADI değeri vücut ağırlığı üzerinden 0-7.5 mg/kg/gün'dür [66].

3.1.2.1.2. Tartrazine (sarı-E 102)'in Kullanım Alanları ve Maksimum Miktarları

- Aromalandırılmış işlenmiş peynirde 100 mg/kg,
- Teneke ambalajlı konserve içindeki işlenmiş taze bezelyede 100 mg/kg,
- Ön pişirme yapılmış kabuklu ürünlerde 250 mg/kg,
- Tütsülenmiş balıkta 100 mg/kg,
- Americano ve bitter vino içeceklerinde 100 mg/L,

• Balık ve kabuklu ürün ezmelerinde 100 mg/kg,

• Bitter sodada 100 mg/L bulunur [3].

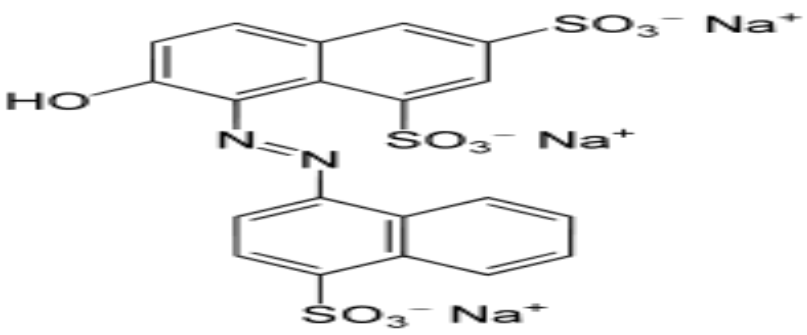
Tartrazine (sarı-E 102)'in insanlar üzerinde astım, ciltte döküntü şeklinde alerjik reaksiyonlar, migren, diyare, aspirin duyarlılığı ve özellikle çocuklarda hiperaktivite ve konsantrasyon bozukluğu gibi sağlık sorunlarına yol açtığı belirtilmektedir [4, 65].

3.1.2.2. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)

3.1.2.2.1. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin Özellikleri

Ponceau 4R (kırmızı-E 124) gıdalarda renklendirici olarak kullanılan önemli sentetik azo boyalarından biridir. Avrupa Birliği ülkelerinde güvenliğin ifadesi olarak kullanılan pratik kodlama yöntemine göre ponceau 4R (kırmızı-E 124), E 124 kodu ile belirtilir.

Kimyasal Formülü : $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$



Şekil 3. 4. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin yapısal formülü [67].

Kimyasal adı : Trisodyum (8 Z)-7-okso-8-[(4-sulfonatonaphthalen-1-il) hydrazinylidene] naftalin-1,3-disülfonat

Diğer adları : Cochineal red A, Cl asit kırmızı 18, parlak scarlet 3R, parlak scarlet 4R, yeni coccine a.

Formül ağırlığı : 604.46 $g \cdot mol^{-1}$

CAS numarası : 2611-82-7

Çözünürlük : Suda çok, etanolde az çözünebilir, bitkisel yağlarda ise çözünmez.

Görünüm : Kırmızımsı ve toz halinde bulunur ve çilek kırmızısı renk verir.

Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin insanlardaki ADI değerleri vücut ağırlığı üzerinden Avrupa için 0-0.7 mg/kg iken, WHO/FAO için 0-4 mg/kg/gün'dür [67].

3.1.2.2.2. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin Kullanım Alanları ve Maksimum Miktarları

- Aromalandırılmış işlenmiş peynirde 100 mg/kg,
- Korunmuş kırmızı meyvelerde 200 mg/kg,
- Fransız tatlısı dışındaki sürülebilir meyve ve sebze ürünlerinde 100 mg/kg,
- Meyve ve sebze şekerlemelerinde 10 mg/kg,
- Kutlama ve düğünlerde tüketilen şekerlemelerde 50 mg/kg,
- Kutlama ve düğünlerde tüketilen şekerlemelerin dışındaki şekerlemelerde 20 mg/kg,
- Süslemeler, kaplamalar ve soslarda 55 mg/kg,
- Pastırmanın yenilebilir dış kaplamaları dışındaki süslemeler ve kaplamalarda 55 mg/kg,
- Dolgularda 55 mg/kg,
- İspanyol sosislerinde 200-250 mg/kg,
- Balık ve kabuklu ürün ezmelerinde 100 mg/kg,
- Ön pişirme yapılmış kabuklu ürünlerde 250 mg/kg,
- Tütsülenmiş balıkta 100 mg/kg,
- Çikolatalı süt ve malt ürünleri dışındaki aromalandırılmış içeceklerde 10 mg/L,
- Americano, bitter vino içeceklerinde 100 mg/L,
- Distile alkollü içkiler ile bazıları hariç olmak üzere maserasyon ve distilasyonla elde edilen distilat içkilerde 170 mg/L bulunur [3].

Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin insanlar üzerinde astım, ciltte döküntü şeklinde alerjik reaksiyonlar, aspirin duyarlılığı, özellikle çocuklarda hiperaktivite ve konsantrasyon bozukluğu gibi sağlık sorunlarına yol açmasının yanı sıra böbrekler üzerinde glomerulonefrozise ve karaciğerde köpüksü retikülosit hücreler oluşumuna neden olduğu da bilinmektedir [4, 67].

3.1.2.3. Pea green (yeşil-E 102+E 133)

3.1.2.3.1. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'in Özellikleri

Pea green (yeşil-E 102+E 133) sentetik gıda boyalarından E 102 kodlu tartrazine (sarı-E 102) ile E 133 kodlu brillant blue karışımı bir boya olup, gıdalarda renklendirici olarak kullanılmaktadır. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'e özgü ayrı bir E kodu bulunmamakla birlikte E 102+E133 olarak ifade edilir. Pea green (yeşil-E 102+E 133) bahsedilen boyalarının karışımından meydana geldiği için kimyasal formülü bulunmamaktadır. Pea green (yeşil-E 102+E 133) içecek, tatlı, şekerleme ve dondurma gibi çeşitli gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Suda çok fazla çözünebilme özelliğindedir. Görünümü bezelye yeşili renginde ve toz halindedir. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'in alerjik reaksiyonlara neden olduğu yapılan toksisite çalışmaları ile belirlenmiştir [20].

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Bitki Özütlerinin Özellikleri

3.1.3.1. Kantaron (*Hypericum perforatum* L.)

3.1.3.1.1. Kantaronun (*Hypericum perforatum* L.) Sistematiği

Hypericum perforatum L. bitkiler aleminin Magnoliopsida sınıfına dahil olan Malpighiales takımının Hypericaceae familyası içinde yer alır. Kantaron, aziz John'un bitkisi (Saint John's wort) adıyla da tanınır [68, 69].

Regnum : Plantae (Bitkiler)
Phylum : Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Clasis : Magnoliopsida (İki çenekliler)
Ordo : Malpighiales
Familia : Hypericaceae (Sarı kantarongiller)
Genus : *Hypericum*
Species : *Hypericum perforatum* L.



Şekil 3. 5 Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) [68].

3.1.3.1.2. Kantaronun Kullanılan Kısımları

Kantaronun çiçek ve tomurcukları yanı sıra toprak üstü organlarının tamamı tedavi amacıyla kullanılabilir. Çay şeklinde, hazır tablet veya kapsül halinde tüketilebilmektedir [69].

3.1.3.1.3. Kantaronun Özellikleri

Kantaron bileşenleri; hiperisin, psödohiperisin, hiperforin, adhiperforin yanı sıra hiperozid, rutin kuersitrin, izokuersitrin, kuersetin gibi flavonoidlerdir [69].

3.1.3.1.4. Kantaronun Kullanım Alanları

- İnsanlar üzerinde yapılan bilimsel çalışmalar ile kantaronun hafif ve orta dereceli depresyon tedavisinde kullanılabilirliği kanıtlanmıştır.
- Sinir yatıştırıcı özelliği nedeniyle kantaron halk arasında korku, gerginlik, kaygı, mutsuzluk, endişe, umutsuzluk gibi rahatsızlıkların giderilmesinde kullanılır.
- Kantaron hormon düzeyindeki değişimlerin belirtilerini azaltan özelliği ile menopoz döneminde görülen ateş basması halleri ve depresyon tedavisinde oldukça etkilidir.
- Ruhsal problemlerden kaynaklanan uykuda idrar kaçırma sorununda kantarona sıklıkla başvurulmaktadır.

• Karaciğeri güçlendiren önemli bir temizleyici olan kantaronun nikotin, kafein, alkol ve uyuşturucu bağımlılığı sonucunda oluşan zararların ortadan kaldırılmasında kullanılabilirliğine dair deneysel kanıtlar bulunmaktadır.

• İlerlemiş düzeydeki hepatit hastalığında kantaron etkin biçimde fayda sağlar.

• Vitiligo ve gut hastalıklarının tedavisinde kantarondan yararlanılmaktadır.

• Safra salgılarını arttırarak sinirsel kökenli mide rahatsızlıklarını yatıştıran kantarondan mide ülserinin tedavisinde faydalanılır.

• Dudak uçuğu, su çiçeği, zona, çıban, sivilce ve akne tedavisinde kantaron yaygın olarak kullanılmaktadır.

• Kantaron kas ve eklem ağrıları, romatizma, bel ve sırt ağrıları, burkulmalar ve nevralji (sinir ağrısı) durumlarının ortadan kaldırılmasında etkilidir.

• Kantarona hücre yenileyici özelliği ile açık yaralarda ve ağız yaralarında, damar büzücü etkisi ile kanamaların durdurulmasında ve hematomlarda yanı sıra kan dolaşımını arttırması nedeniyle hemoroid, varis ve lenf bezi şişkinliklerinin tedavisinde başvurulur.

• Güneş yanığı ve haşlanmalara bağlı yanıklarda kantaron geleneksel olarak sıklıkla kullanılır.

• Halk arasında bebeklerin karın ağrılarının giderilmesinde, pişiklerde ve ishal durdurucu olarak kantarona sıklıkla başvurulur.

• Kantaronun kanserde alternatif tedavi olarak kullanımı ile tümörün ortadan kaldırılması ve yok olması sağlanmaktadır.

• Güçlü antiviral etkileri bulunan kantaronun HIV'in (human immmunodeficiency virus-insan bağışıklık yetmezlik virüsü) neden olduğu AIDS'de (acquired immune deficiency syndrome-edinilmiş bağışıklık yetmezlik sendromu) yanı sıra diğer virotik hastalıkların tedavisinde kullanılabilirliği araştırılmaktadır.

• Kantaronun antienflamuvar etkileri bulunmaktadır.

• Kantaron antiseptik özelliği ile yaraların mikrop kapmasını engellemektedir.

• Kantaronun gece beynin pineal bezinden melatonin salınımını arttırarak uykusuzluğa iyi geldiği bilinmektedir.

• Kantaronun kuramsal etki göstererek düşünsel yoğunlaşmayı arttırdığını ve kavrama yeteneğini geliştirdiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır [69].

3.1.3.2. Devedikeni (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.)

3.1.3.2.1. Devedikeninin (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) Sistematiği

Silybum marianum L., bitkiler aleminin Magnoliopsida sınıfına dahil olan Asterales takımının Asteraceae familyası içinde yer alır. Devedikeni, *Carduus marianus* L., süt devedikeni (milk thistle), Meryem ana dikeni (Marian, Mary, Saint Mary's thistle) adlarıyla da tanınmaktadır [70].

Regnum : Plantae (Bitkiler)
Phylum : Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Clasis : Magnoliopsida (İki çenekliler)
Ordo : Asterales
Familia : Asteraceae (Papatyagiller)
Tribus : Cynareae
Genus : *Silybum*
Species : *Silybum marianum* (L.) Gaertn.



Şekil 3. 6 Devedikeni (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) [70].

3.1.3.2.2. Devedikeninin Kullanılan Kısımları

Eskiden beri devedikeninin yaprak, sap ve çiçekleri tedavi amaçlı kullanılmakla birlikte, günümüzde daha çok tohumları tercih edilir. Devedikeninin yaprakları; çiğ ve haşlanmış, kökü; çiğ, haşlanmış ve kavrulmuş, çiçeği ve genç sürgünleri ise çay şeklinde demlenmiş olarak yanı sıra hazır kapsül şeklinde tüketilebilmektedir [70].

3.1.3.2.3. Devedikeninin Özellikleri

Devedikeni bileşenleri silimarin, silibin, izosilibin, dehidrosilibinin, silikristin gibi flavono-lignanlardır.

3.1.3.2.4. Devedikeninin Kullanım Alanları

• Devedikeni karaciğer üzerine karaciğer hücrelerini yenileme yönünde faaliyet göstererek karaciğer hasarından korunmada veya mevcut hasarın iyileştirilmesinde etkin biçimde kullanılmaktadır.

• Devedikeninin karaciğer yağlanması, hepatit, karaciğer hasarı ve siroz üzerine tedavi edici etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır.

• Devedikeninin iyi bir kan temizleyicisi olma özelliği nedeniyle aşırı sigara içen kişiler için kullanımı önerilmektedir.

• Devedikeninin sedef hastalığı tedavisine fayda sağlayabileceği düşünülmektir.

• Devedikeni etken bileşenlerinden biri olan silimarin antioksidan özelliği sayesinde toksik maddelerin karaciğer hücrelerine alınmasını engellerken hücre içindekileri ise etkisizleştirir.

• Devedikeni safra salgısını arttırarak safra kanalı iltihabını azaltan etkiler gösterir.

• Devedikeni böbreklerin çalışmasını düzenleyerek idrar yolları sorunlarının tedavisine katkıda bulunur.

• Devedikeni etken bileşeni silimarin iltihabı inhibe eder.

• İngiltere Kanser Araştırma Kurumu devedikeninin meme, yumurtalık, prostat ve skuamöz hücreli deri karsinomu gibi kanser türlerinin etkilerini azalttığını ifade etmektedir.

• Devedikeninin diyabet üzerine kan şekerini ve insülin seviyesini azaltan yararları bulunmaktadır [70, 71, 72, 73].

3.1.3.3. Karabaş (*Lavandula stoechas* L.)

3.1.3.3.1. Karabaşın (*Lavandula stoechas* L.) Sistematiği

Lavandula stoechas L., bitkiler aleminin Magnoliopsida sınıfına dahil olan Lamiales takımının Lamiaceae familyası içinde yer alır. Karabaş, yalancı lavanta çiçeği adıyla da tanınmaktadır [74].

Regnum : Plantae (Bitkiler)
Phylum : Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Clasis : Magnoliopsida (İki çenekliler)
Ordo : Lamiales
Familia : Lamiaceae (Ballıbabagiller)
Genus : *Lavandula*
Species : *Lavandula stoechas* L.



Şekil 3. 7 Karabaş (*Lavandula stoechas* L.) [74].

3.1.3.3.2. Karabaşın Kullanılan Kısımları

Karabaşın yaprak, gövde ve özellikle çiçekleri gibi toprak üstü kısımlarından yanı sıra çiçekli dallarından tedavi amaçlı kullanılmak üzere karabaş uçucu yağının elde edilmesinde yararlanılır. Ayrıca, çiçekleri ve çiçekli dalları çay şeklinde tüketilmekle birlikte hazır kapsül formu da bulunmaktadır [75].

3.1.3.3.3. Karabaşın Özellikleri

Karabaşın en önemli bileşenleri fenkon, kafur, pinokarvil asetat, ökaliptol, mirtenol ve uçucu yağdır [76].

3.1.3.3.4. Karabaşın Kullanım Alanları

- Osmanlı İmparatorluğu döneminde karabaştan kolera tedavisinde faydalanılmıştır.
- Karabaş yüzyıllardır Anadolu'da halk tarafından antibakteriyel ve antifungal özellikleri nedeniyle egzama yaralarında iyileştirici ve antiseptik olarak kullanılmaktadır.
- Eczacılıkta karabaşın ağrı kesici olarak kullanımının yanı sıra idrar yolları iltihaplarını ve kum sancısını giderici etkilerinden de yararlanılmaktadır.
- Karabaşın dolaşım sistemi elemanlarından damar sistemi ve kalp üzerine göğüs ağrılarına ve kalp rahatsızlıklarına katkı sağlaması yönünde antitrombotik (pıhtılaşma önleyici) etkileri bulunmaktadır.
- Karabaş yağının romatizma ve kas kramplarında etkin olarak kullanıldığı bilinmektedir.
- Literatürde göğüs, karaciğer, dalak, prostat ve kolon kanserlerinin tedavisinde karabaştan faydalanıldığı bilgisi yer almaktadır.
- Karabaş soğuk algınlığı ve bronşitte bitkisel tedavi olarak kullanılmaktadır.
- Karabaş yüksek kolesterolü düşürücü etkisiyle beslenmeye destek vermesinin yanı sıra mide ağrıları ve ülsere de faydalar sağlar.
- Karabaştan kan şekerini düşürücü etkisi sebebiyle diyabet hastalığında yararlanılır.
- Karabaştan alerjide, deri hastalıklarından seboreik dermatitte ve kepeklenme sorununun giderilmesinde faydalanılır.
- Karabaş sakinleştirici etkisi nedeniyle epilepsi ve astım hastalıklarında faydalıdır.
- Karabaş diş hastalıklarının tedavisinde kullanılır [75].

3.2. Yöntem

3.2.1. Toksikoloji

Toksikoloji gıda katkı maddesi, pestisit, ilaç, hormon, aminoasit, vitamin, yemek tuzu, temizlik ve kozmetik malzemeleri ile endüstriyel ürün gibi çeşitli kimyasalların yanı sıra fiziksel koşulların ve biyolojik etmenlerin kaynaklarını, canlı organizmalar üzerinde neden oldukları zararlı etkileri, hasar oluşturma mekanizmalarını ve verdikleri tahribatın önlenebilirliği konusundaki yaklaşımları inceleyen bilim dalıdır. [77].

3.2.1.1. Genotoksisite ve Antigenotoksisite

Genotoksisite organizmanın kendisinin veya genotoksin olarak tanımlanan genotoksisite etkeninin hücrenin genetik materyaline zararlı etkide bulunması sonucunda meydana gelen değişiklikleri inceler [79]. Genotoksisite hücre DNA'sında, kromozomlarda veya çekirdeğin yapısında meydana gelen hasarlar, DNA onarım enzimlerinin indüksiyonu, DNA eklentileri, DNA zincir kırıkları, gen mutasyonu, kromozom anomalileri olaylarını kapsar [78, 79].

Genetik materyalin yapısında meydana gelen spontan veya indüklenebilir değişiklikler olan mutasyonlara sebep olan genotoksinlerin DNA'da hasar oluşturması genotoksik etki olarak tanımlanır [80, 81].

Antigenotoksisite ise genotoksik etkilerin, tamir mekanizmalarının indüklenmesi, genotoksinlere bağlanıp onların DNA'a bağlanmalarını engelleme veya enzim aktivitelerini inhibe ederek metabolizasyonlarını bloke etme gibi çeşitli şekillerde engellenmesi olarak tanımlanır [82].

Genotoksisite testleri mutasyon etkisi gösteren kimyasal ve fiziksel faktörler olan mutajenlerin tanımlanması ve insanlarda risk değerlendirmesi amaçlarıyla yapılmaktadır [79].

Genotoksisite testleri genotoksik ajanlar ve onların etki mekanizmalarını belirlemenin yanı sıra antigenotoksik ajanlar ile bu ajanların antigenotoksisite mekanizmalarını da saptayabilmektedir [82].

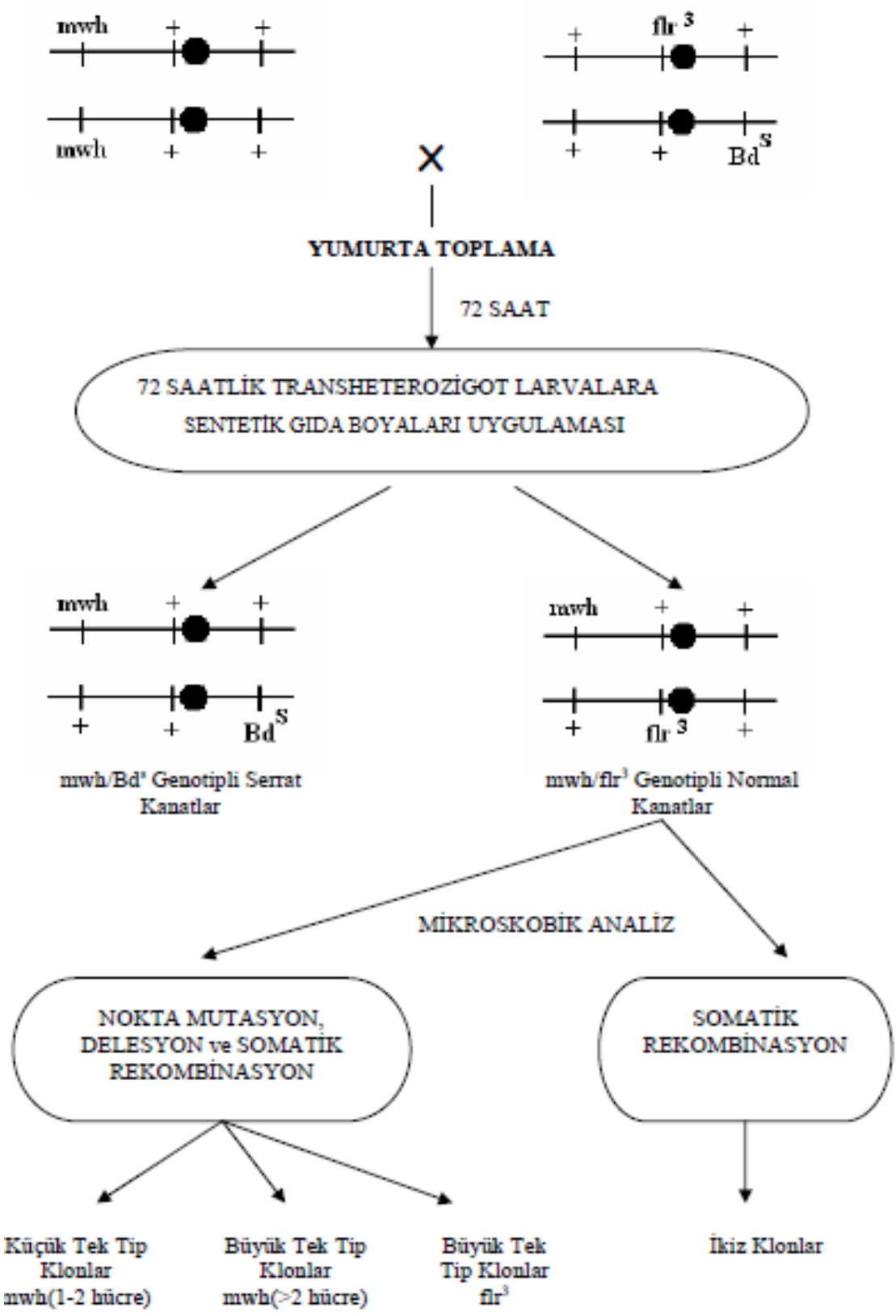
3.2.1.2. Genotoksisite Testleri

Genotoksisite testleri parazit gibi biyolojik bir etkenin, ultraviyole ve radyasyon gibi fiziksel etkenlerin, gıda katkı maddesi, pestisit, ilaç, temizlik maddesi, kozmetik ürünü ve endüstriyel kimyasal gibi kimyasal ajanların toksik potansiyellerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır [79, 83, 84]. 1970'li yıllardan beri mutajenik ve genotoksik maddelerin karsinojenik olup olmadığını saptamada genotoksisite testlerinden yararlanılır [79]. Sıklıkla kullanılan genotoksisite testleri arasında; Ames testi (*Salmonella*/mikrozom mutajenite testi), kromozom anomalilikleri testi, mikronukleus testi, kardeş kromatid değişimi testi, COMET testi (tek hücre jel elektroforezi), dominant letalite, resesif letalite, halkasal X kromozomu kaybı, bitişik X kromozumu kaybı ve SMART yer almaktadır. Ames testinin dışındaki tüm testlerde model organizma olarak *Drosophila* kullanılabilmektedir. [39, 85]. *Drosophila*'nın yer aldığı testler arasında son yıllarda oldukça popüler olan SMART ile çeşitli kimyasal maddelerin genotoksik, besinlerin içeriğindeki çok sayıda bileşenin ya da sentetik molekülün ise antigenotoksik etkileri tespit edilebilir [44].

3.2.2. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)

Çeşitli kimyasal maddelerin mutajenik ve rekombinojenik aktivitelerini belirleyebilen bu testte *D. melanogaster* Meigen'in mwh ve flr^3 mutant ırklarının çaprazlanmasıyla oluşan heterozigot larvaları kullanılmaktadır [16]. Kanat benek ve göz benek testi olmak üzere iki farklı SMART test sistemi bulunmaktadır. Heterozigot larvaların imajinal disk hücrelerinden birinde delesyon, nokta mutasyon, ayrılmama ve rekombinasyon gibi genetik bir değişiklik olursa, sonraki oğul hücrelere aktarılarak mutant hücre grupları olan benekler ergin sineğin kanatlarında veya gözlerinde ortaya çıkar. Kimyasallara maruz bırakılan sineklerde indüklenmiş beneklerin toplam sayısı uygulanan kimyasalın toplam genotoksik aktivitesi ile ilgili sayısal sonuçlar verirken, beneklerin tipi benek oluşumunda rol oynayan mutasyon mekanizmalarını ortaya çıkarmaktadır [86].

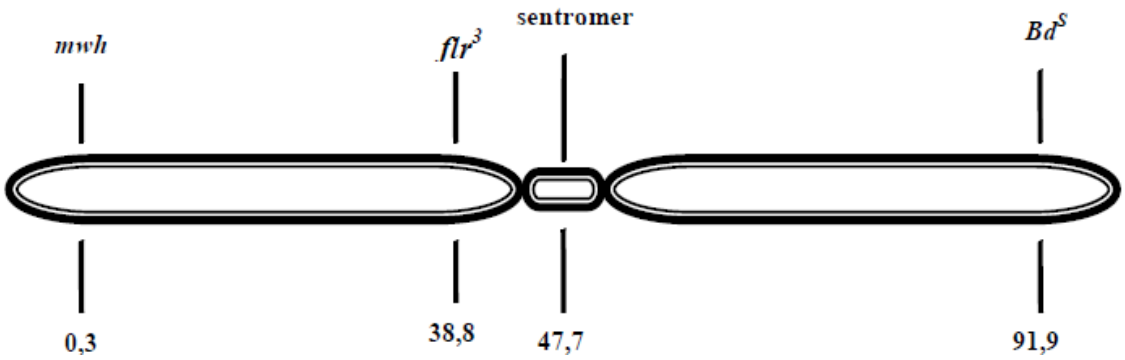
Drosophila SMART testinin diğer testlere göre hızlı, ekonomik ve güvenilirliğinin kanıtlanmış olması, bir jenerasyonda sonuç elde edilebilmesi, tek bir sineğin kanatlarındaki çok sayıda hücrenin analizine olanak vermesi ve genotoksik etkinin fenotipte kolaylıkla gözlenebilmesi gibi avantajları bulunmaktadır [87].



Şekil 3. 8. ***Drosophila*****'da somatik mutasyon ve rekombinasyon testinin şematik gösterimi**

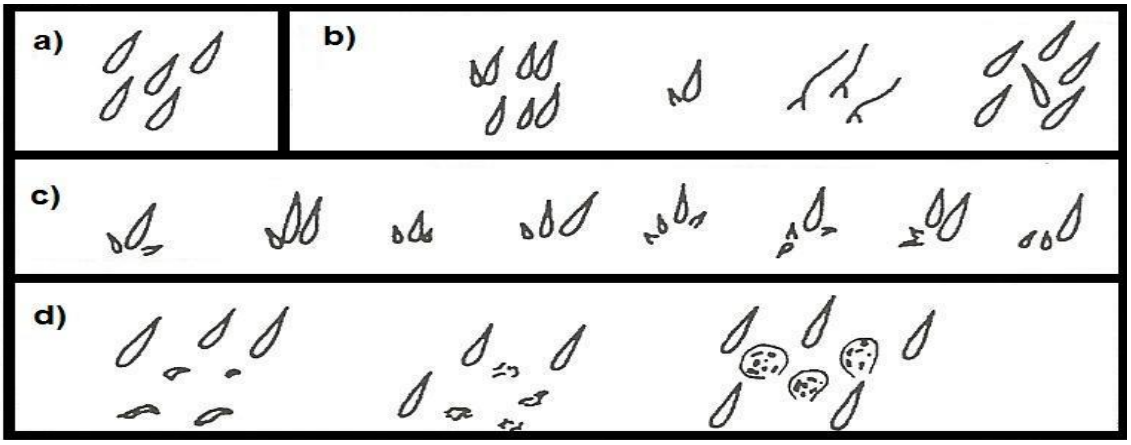
3.2.3. *Drosophila* Mutant Irklarının Genetik Yapısı

Drosophila kanat SMART yönteminde mwh, flr^3 ve Bd^S (beaded serrat=serrat kenarlı) belirleyici genleri kullanılmaktadır. *Drosophila*'nın en büyük olan üçüncü kromozomu üzerinde bulunan belirleyici genlerden mwh sol kolun uca yakın bölgesinde (3-0.3), flr^3 sol kolun sentromere yakın kısmında (3-38.8) ve Bd^S (3-91.9) sağ kolun uca yakın bölümünde yer alır (Şekil 3.9.).



Şekil 3. 9. SMART yönteminde kullanılan belirleyici genlerin 3. kromozom üzerindeki yerleşimleri [88].

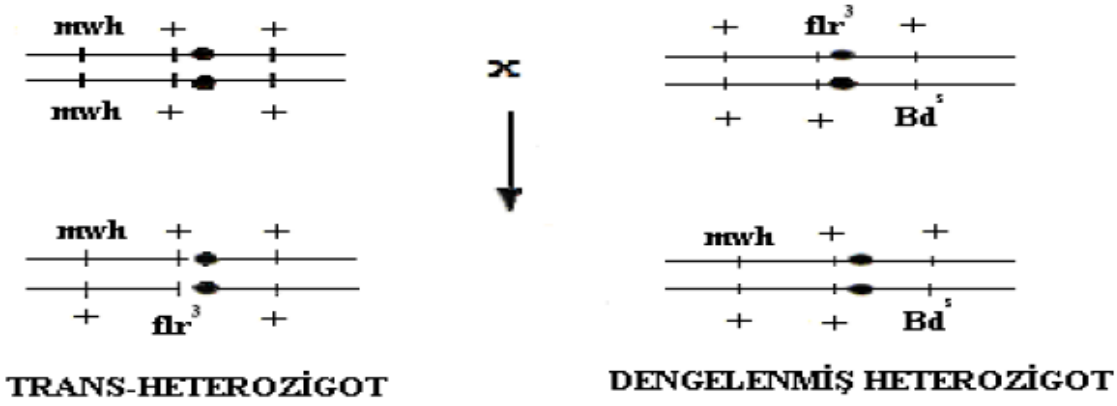
Şekil 3.10 'da *Drosophila*'daki kanat kıllarının görünümü resmedilmiştir. a sütunu normal kılları, b sütunu ise farklılaşmış fakat flr^3 ve mwh olarak sınıflandırılmayan kılları ifade etmektedir. Mwh çoklu kanat kılı olup aynı hücreden bir yerine üç veya daha fazla sayıda kanat kılının çıkması şeklinde fenotipte gözlenir (şekil 3.10.c). Bu resesif gen stoklarda homozigot olarak yaşatılabilir. Düzensiz kanat kılı olan flr^3 ise normal, düz ve uzun kıllar yerine kısalmış nokta şeklinde, koyu renkli balon biçiminde veya kalın ve düzgün olmayan formda olmak üzere çeşitlilikler gösterir (şekil 3.10.d) [88].



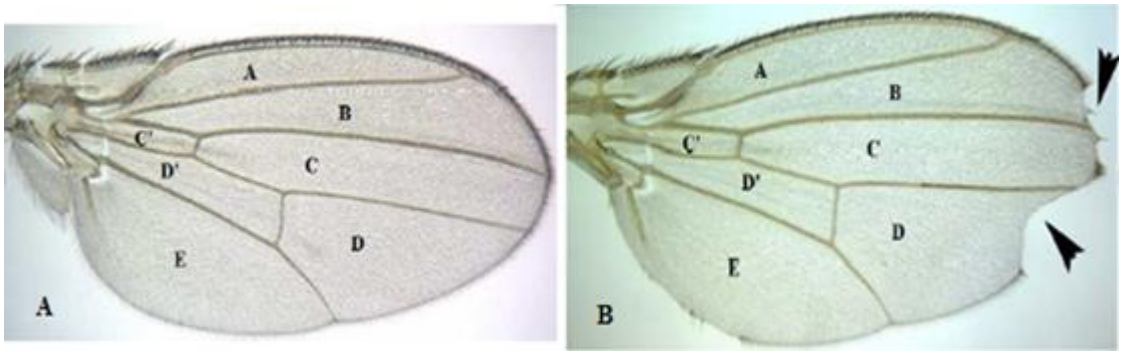
Şekil 3. 10. *Drosophila*'daki kanat kıllarının görünümü (a, b, c, d) [16].

Flr^3 resesif geni homozigot halde iken embriyonik evrede letal olarak etkilidir. Ancak, heterozigot bir bireyin kanat imajinal disklerindeki homozigot hücreler yaşayarak mutant kanat hücrelerine gelişir. Dengeleyici kromozom olan TM3, letal etkiden korunmak istenen bu genin homolog kromozomlarından birinde bulunur ve homozigot halde letal etki gösteren dominant Bd^S genini üzerinde taşır. Flr^3 geni, flr^3/TM3,Bd^S olarak stoklarda tutulur. Bu stoklardaki bireylerde kanat kenarları Bd^S geninin etkisiyle normal kanatlardaki gibi düzgün yapıda olmayıp testere dişi şeklindedir.

Kanat SMART için iki ayrı çaprazlama kullanılmaktadır. Bunlardan biri normal metabolik aktiviteye sahip olan standart çaprazı, diğeri ise yüksek biyoaktivasyon çaprazıdır. Flr^3/TM3,Bd^S soyunun yumurta verimi mwh/mwh soyuna göre daha fazla olduğundan genellikle standart çaprazda flr^3/TM3,Bd^S soyuna ait virjin dişiler ile mwh/mwh erkekleri (Şekil 3.11.) ve yüksek biyoaktivasyon çaprazında ORR/ORR; flr^3/TM3,Bd^S soyunun virjin dişileri ile mwh/mwh erkekleri çaprazlanmaktadır. Her iki çapraz sonucunda elde edilen heterozigot larvalardan gelişen ergin bireylerin kanatları iki farklı görünüme sahiptir. Transheterozigot bireyler (mwh/flr) kenarları düzgün yapıda olan yabanıl tip normal kanatlara sahip iken, dengelenmiş heterozigot bireylerin (mwh/Bd^S) kanat kenarları testere dişi şeklindedir (Şekil 3.12.).



Şekil 3. 11. Mwh/mwh ve flr^3/TM3,Bd^S bireyleri arasındaki çaprazlamalar [88].



Şekil 3. 12. *Drosophila*'da normal (A) ve serrat (B) kanat fenotipleri

3.2.4. *Drosophila* Hatlarının Kültürü

Çalışmada kullanılan *D. melanogaster* Meigen hatları Trakya Üniversitesi ve Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir. *Drosophila* bireyleri optimum yaşam şartlarının (25±1°C ve %40-60 bağıl nem) sağlandığı ve 12 saat aydınlık ile 12 saat karanlık zaman periyoduna ayarlı inkübatörde standart besin ortamında kültüre alındı. Bu *Drosophila* besi yeri 104 g mısır unu, 94 g şeker, 19 g maya, 5 g agar, 6 ml zayıf asit ve 1020 ml distile su içermektedir. Belirlenen ölçülerde mısır unu, şeker ve sudan oluşan karışımın kısık ateşte karıştırılarak kaynatılmasının ardından karışıma agar ilave edilerek kısa bir süre daha kaynamaya bırakıldı. Ateşten alınan karışıma antifungal etkisi nedeniyle zayıf asit ilavesi ile hazır hale gelen *Drosophila* besini 250 ml'lik steril şişelere 2 cm kalınlığında döküldü. Ardından şişelerin ağzı gazlı bez ve pamukla hazırlanan kapaklarla kapanarak kurumaya bırakıldı.

Ayrıca, kontrol, deney ve tedavi gruplarına ait tüm deneysel çalışmalar sırasında standart besinin yanı sıra *Drosophila* hazır besini (*Drosophila* instant medium) de kullanılmıştır.

3.2.5. Deney Grupların Oluşturulması

Bu çalışmada *D. melanogaster* Meigen hatlarında sentetik gıda boyalarından ponceau 4R (kırmızı-E 124), tartrazine (sarı-E 102) ve pea green (yeşil-E102+E133)'in, mutajenik ve/veya rekombinojenik etkilerini ve bitki özütlerinden kantaron (*Hypericum perforatum* L.), devedikeni (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) ve karabaşın (*Lavandula stoechas* L.) antigenotoksik etkinliklerini saptamak üzere Graf ve arkadaşları [16] tarafından geliştirilen SMART kullanılmıştır.

Çalışmadaki deney, tedavi ve kontrol gruplarından oluşan uygulama gruplarına ait deneyler eş zamanlı olarak yürütülmüştür. Deney grubunda gıda boyaları uygulamaları yapılırken, tedavi grubunda gıda boyaları ve bitkisel özütler birlikte muamele edilmiştir. Negatif kontrol grubunda su, pozitif kontrol grubunda ise mutajenik etkisi olduğu literatürde belirtilen 1 mM'lık konsantrasyondaki EMS kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan gıda boyaları ve bitkisel özütlerin tamamı distile su içinde çözülerek çalışma gruplarında uygulanmıştır. Yapılan ön deneysel çalışmalar sonunda kararlaştırıldığı gibi *Drosophila* larvalarına, deney grubunda ponceau 4R (kırmızı-E 124), tartrazine (sarı-E 102) ve pea green (yeşil-E 102+E 133)'in ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonları, tedavi grubunda ise belirtilen konsantrasyonlardaki gıda boyaları ile %10'luk derişimde kantaron (*Hypericum perforatum* L.), devedikeni (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) ve karabaş (*Lavandula stoechas* L.) özütleri uygulanmıştır.

D. melanogaster Meigen hatları, stoklarda tutulurken ve deneysel çalışmalar sırasında heterozigot larva elde edebilmek için döllenme ve embriyogenezi gerçekleştirmek üzere çaprazlama şişesinde bulunduklarında standart *Drosophila* besiyeri ile beslenmiştir. 72±4 saatlik *Drosophila* larvalarına deney, tedavi ve kontrol gruplarında yapılan uygulamalarda ise *Drosophila* hazır besini (*Drosophila* instant medium) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan *Drosophila* hazır besini ve tüm gıda boyaları ile bitkisel özütler ticari olarak satın alınmıştır. *Drosophila* hazır besini Carolina Biological Supply şirketinden temin edidi. Ponceau 4R (kırmızı-E 124) ve pea

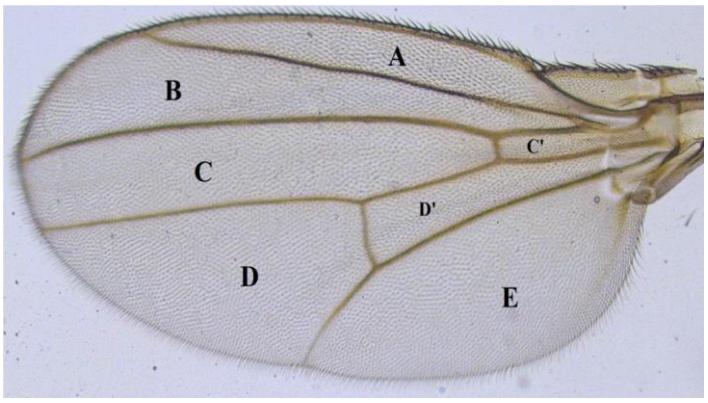
green (yeşil-E 102+E 133) ROHA-Hindistan firmasından, tartrazine (sarı-E 102) ise Parshwanath Colour Chem firmasından edinildi. Kantaron (*Hypericum perforatum* L., St. John's wort) Solgar firmasından temin edildi. Her bir bitkisel kapsülde ham St. John's wort bitki tozu: 300 mg ve standardize St. John's wort ekstresi [hiperisin; 0.5 mg (%0.3)]: 175 mg bulunur. Devedikeni (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.), milk thistle) Solgar firmasından edinildi. Her bir bitkisel kapsülde ham devedikeni bitki tozu: 350 mg ve standardize milk thistle ve tohum ekstresi [silimarin, 80 mg (%80)]: 100 mg bulunur. Karabaş (*Lavandula stoechas* L.) Herbal Farma Tıbbi Doğal Ürünler firmasından temin edildi. Her bir bitkisel kapsülde karabaş ekstresi: 500 mg bulunur.

3.2.6. Deneysel Gruplara ait Uygulamalar

Çalışmada genetik yapıları $flr^3/TM3,Bd^S$ olan dişiler ile mwh/mwh erkek bireyler arasında çaprazlamalar yapıldı [89, 90, 91].

Çaprazlamaya hazırlık evresinde kültür ortamında erginleşen virjin dişiler 4'er saat aralıklarla toplandı ve üreme verimliliği için ideal yaş olan 3-7 günlük iken kullanıldı. Yeterince heterozigot larva elde edebilmek için aynı yaştaki 40 adet dişi ile 40 adet erkek birey döllenme ve embriyogenezi gerçekleştirmek üzere her bir çaprazlama şişesinde iki gün boyunca tutuldu. Ardından, yeni besin ortamında 8 saat boyunca yumurta bırakmaları sağlandı [16, 92, 93]. Yumurtalardan çıkan larvalar 72. saatin sonunda üçüncül larval evreye ulaştıklarında ince gözenekli elek yardımıyla musluk suyu altında yıkanarak besin ortamından ayrıldı. Eş zamanlı olarak yürütülen deney, tedavi ve kontrol gruplarına ait deneysel çalışmalarda 72±4 saatlik larvalar kullanılmıştır [94]. Deney grubunda larvalar 100'erli gruplar halinde ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarda ponceau 4R (kırmızı-E 124), tartrazine (sarı-E 102) ve pea green (yeşil-E 102+E 133) içeren çözeltilerin 5 ml'si ile ıslatılmış olan 1.5 g *Drosophila* hazır besininin bulunduğu falkon tüplere bırakıldı ve tüplerin ağzı sünger tıkaçlarla kapatıldı. Tedavi grubunda ise belirtilen konsantrasyonlardaki gıda boyaları ile %10'luk derişimde hazırlanan kantaron, devedikeni ve karabaşa ait çözeltilerden oluşan karışımın 5 ml'si ile uygulama ortamı nemlendirildi. Kanat preparatlarını hazırlamak için bu larvalardan gelişen ergin bireyler eterle bayıltılarak yeterli birey elde edilene kadar toplandı ardından sayılarak dişi ve erkek olmak üzere cinsiyet ayırımı yapıldı. Ardından, deneysel gruplara ait her bir konsantrasyondaki ergin bireylerin kanat

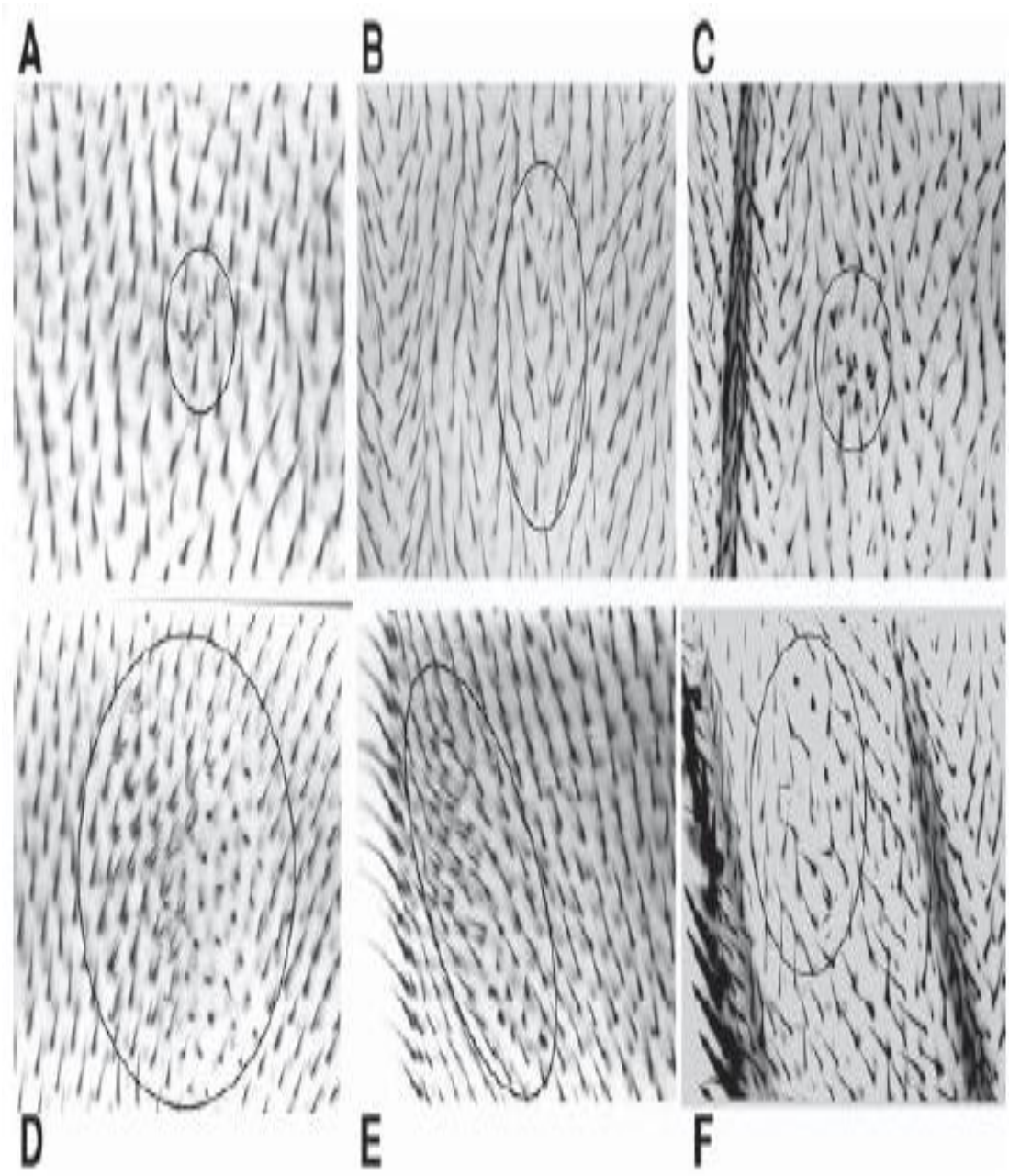
fenotipleri mikroskop altında belirlendi. Normal ve serrat fenotipli kanatlar *Drosophila*'nın kanat bütünlüğüne ve kanat üzerindeki kıllarına zarar vermeden mikroskop altında ayrılarak bir veya iki damla Faure [88] solüsyonu (30 g arap zamkı, 20 ml gliserol, 50 g kloralhidrat, 50 ml distile su) ile aynı bireye ait kanatlar çiftler halinde yanyana olacak biçimde lam üzerine yapıştırıldı. Bu lamın lamel (24x60 mm) ile kapatılmasıyla hazır hale gelen bu preparatlar, üzerlerine konan demir ağırlıklarla birlikte iki gün boyunca kurumaya bırakıldı. Kanat preparatlarının ışık mikroskobu altında incelenmesinde 40×10'luk büyütme kullanıldı. Kanat üzerindeki sektörler inceleme kolaylığı sağlaması için A, B, C, Cı, D, Dı ve E bölümlerine ayrıldı (Şekil 3.13). Mutant klonların varlığını tespit etmek için sektörler dorsal ve ventral yüzeylerden incelenerek klon tipleri ve sayıları kayıt edildi [88].



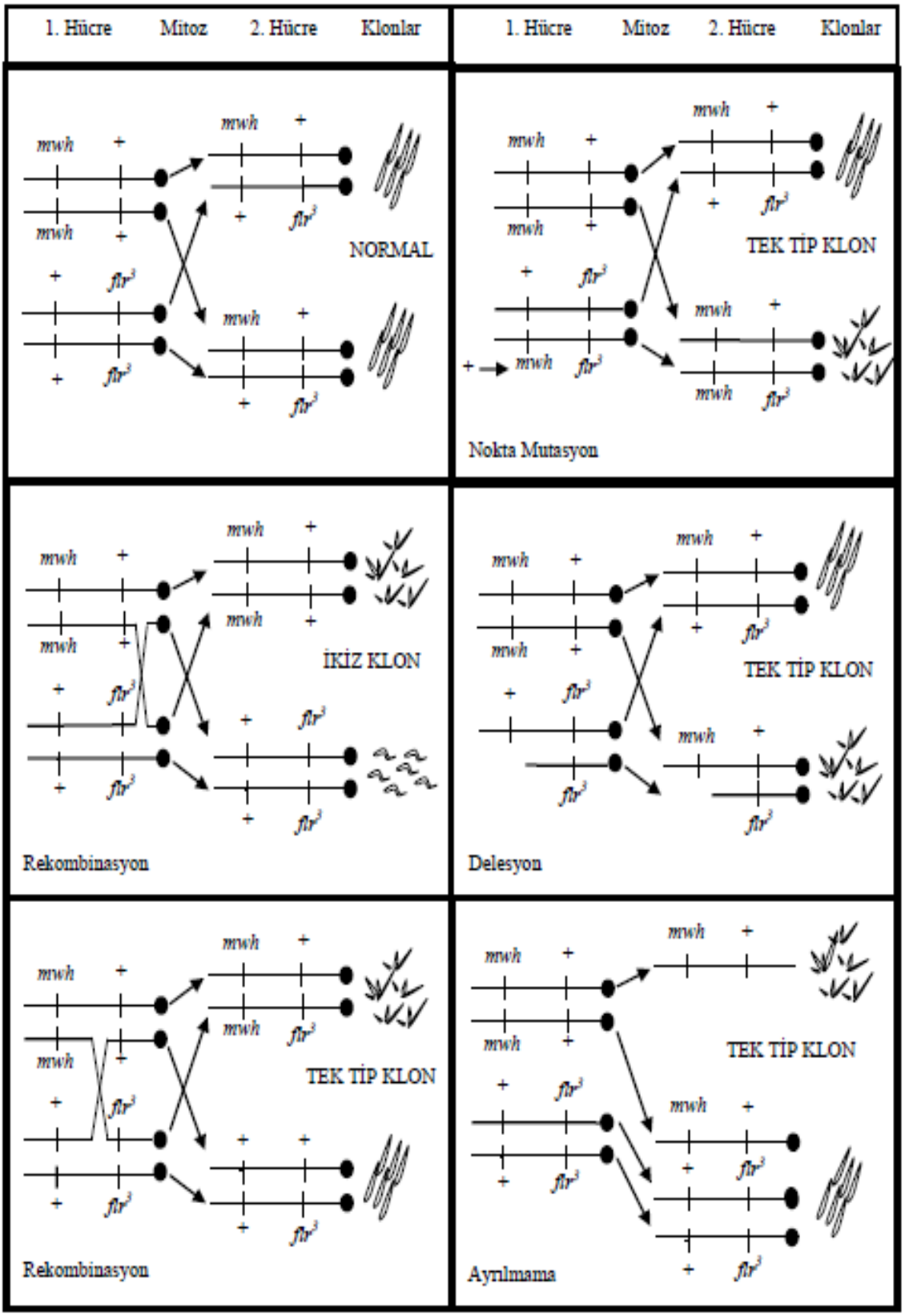
Şekil 3. 13. Kanat sektörlerinin şematik görünümü

Tesadüfi seçilen bireylere ait normal kanatlar hem mutasyon hem de rekombinasyon sonucu oluşan mutant klonları içerirken, serrat kanatlar dengeleyici kromozom olan TM3 tarafından üçüncü kromozom üzerindeki rekombinasyonun baskılanmasından dolayı sadece mutasyon sonucu oluşan klonları içermektedir [95, 96]. Çalışmada farklı fenotiplerdeki kanatların preparatları incelenmek üzere ayrı ayrı hazırlanmıştır. Kanatlara ait kıllardaki mutasyonlar; 1-2 mwh olduğunda küçük tek tip klon (Şekil 3.14, A), ≥3 mwh veya ≥4 flr^3 olduğunda büyük tek tip klon (Şekil 3.14, B, C) ve mwh ile flr^3 fenotipinin birlikte gözlendiği ikiz klonlar (Şekil 3.14, D, E, F) şeklinde sınıflandırılmıştır [16]. Birbirine komşu iki mutant klonun sınıflandırılmasında, iki klon arasında üç ya da daha fazla sayıda yabani tip kıla sahip hücre sırası varsa

bunlar iki farklı klon olarak değerlendirmiştir [16]. Üçüncü kromozom üzerinde yer alan mwh, flr^3 ve Bd^S belirleyici genleri arasındaki mesafenin uzak olması rekombinasyon ve mutasyonların büyük aralıkta incelenmesi açısından avantaj sağlamaktadır [88]. Mwh klonların oluşması nokta mutasyon, delesyon, ayrılmama ve rekombinasyon sonucu meydana gelirken, flr^3 klonlar ile ikiz klonlar flr^3 geni ile sentromer arasında gerçekleşen rekombinasyon sonucu ortaya çıkmaktadır (Şekil 3.15) [16].



Şekil 3. 14. Çeşitli klon tipleri (A, B, C, D, E, F). [86].



Şekil 3. 15. Mwh/flr^3 genotipindeki bireylerde görülebilecek genetik anormaliler [16].

3.3. İstatistiksel Analizler

Deneysel çalışmaların tamamlanmasının ardından farklı konsantrasyonlardaki gıda boyaları ile hazırlanan besiyerlerinde ve bu gıda boyalarının ilgili konsantrasyonlarına kantaron, devedikeni ve karabaş özütlerinin ayrı ayrı olacak şekilde tek derişimde uygulandığı besin ortamlarında yetiştirilen sineklerin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayıları istatistiksel analizlere tabi tutularak ilgili gruplardaki sayısal farklılıkların istatistiki olarak anlamlı olup olmadığı değerlendirilmiştir. Çalışma bulgularının istatistiksel değerlendirilmesi Minitab paket programı kullanılarak yapılmıştır.

Çalışma verilerinin analizinde distile su ile hazırlanan negatif kontrol grubuna ait ve standart besiyerine 1mM'lık konsantrasyonda EMS uygulaması ile elde edilen pozitif kontrol grubundaki sineklerin kanatlarındaki mutant benek sayıları toplamının istatistiki olarak farklı olup olmadığı Ki-Kare Heterojenite testi (S.D.=1) ile araştırıldı.

Üç farklı dozda olmak üzere üç farklı gıda boyası ilave edilen besiyerlerinde ve bu besiyerlerine eklenmiş olan üç değişik bitki özütünü içeren besin ortamlarındaki sineklerin kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarının pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait sineklerinkilerinkiler ile ayrı ayrı karşılaştırıldığı analizlerde Ki-Kare Heterojenite testi (S.D.=3) ugulandı.

Üç farklı gıda boyasına ait üç ayrı konsantrasyon ile hazırlanmış olan besiyerlerinde yetiştirilen sinekler ile bu gıda boyalarının farklı konsantrasyonları ve üç ayrı bitki özütünün birlikte bulunduğu besin ortamlarındakilerin kanatlarındaki mutant benek toplam sayıları kendi içlerinde karşılaştırılarak aralarında istatistiksel bir fark olup olmadığı Ki-Kare Heterojenite testi (S.D.=2) ile saptandı.

Üç ayrı konsantrasyonda bulunan üç farklı gıda boyası ilaveli besin ortamlarında ve ayrıca bu farklı konsantrasyonlardaki boyalar ile beraber üç bitki özütünü de içeren besiyerlerinde erginleşen sineklerin kanat mutant benek toplam sayıları ortalamaları arasındaki olası farklılıklar Non-Parametrik Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldı (S.D.=2).

Son olarak tüm deneysel gruplara ait sineklerin normal ve serrat kanatlarında saptanan toplam mutant benek sayılarının ortalamaları Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Farklı testlerle yapılan tüm değerlendirmelerde çalışmadan elde edilen ve parantez içinde Fr (frekans) değerleri olarak sunulan kanat mutant benek toplam sayıları kullanıldı ve $P<0.05$'in altındaki farklılıklar istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

BÖLÜM 4

4. BULGULAR

Tez çalışmasının deneysel uygulamalarının tamamlanmasının ardından bulguların değerlendirilmesi aşamasına geçilmiştir. Öncelikle, EMS ile hazırlanan pozitif kontrol grubuna ait sonuçlar, bu bileşiğinin etkisini belirlemek amacıyla Ki-Kare Heterojenite testi kullanılarak distile su ile hazırlanan negatif kontrol grubuna ait verilerle karşılaştırılmış ve *Drosophila* bireylerine ait kanatlardaki mutant benek toplam sayılarının istatistiki olarak farklı olup olmadığı araştırılmıştır (S.D.=1). Çalışma bulguları değerlendirildiğinde, EMS ile hazırlanan besiyerinde yetiştirilen sineklerin hem normal (X^2= 213.22, S.D.=1, P<0.001) hem de serrat (X^2=69.06, S.D.=1, P<0.001) kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarının, distile su eklenenen besiyerinde yetiştirilenlerinkilerden çok daha fazla olduğu saptandı. Tablo 4.1'de pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait çalışma verileri karşılaştırmalı olarak yer almaktadır.

Tablo 4.1. Pozitif ve negatif kontrol gruplarının mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal Kanat		Serrat Kanat	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)

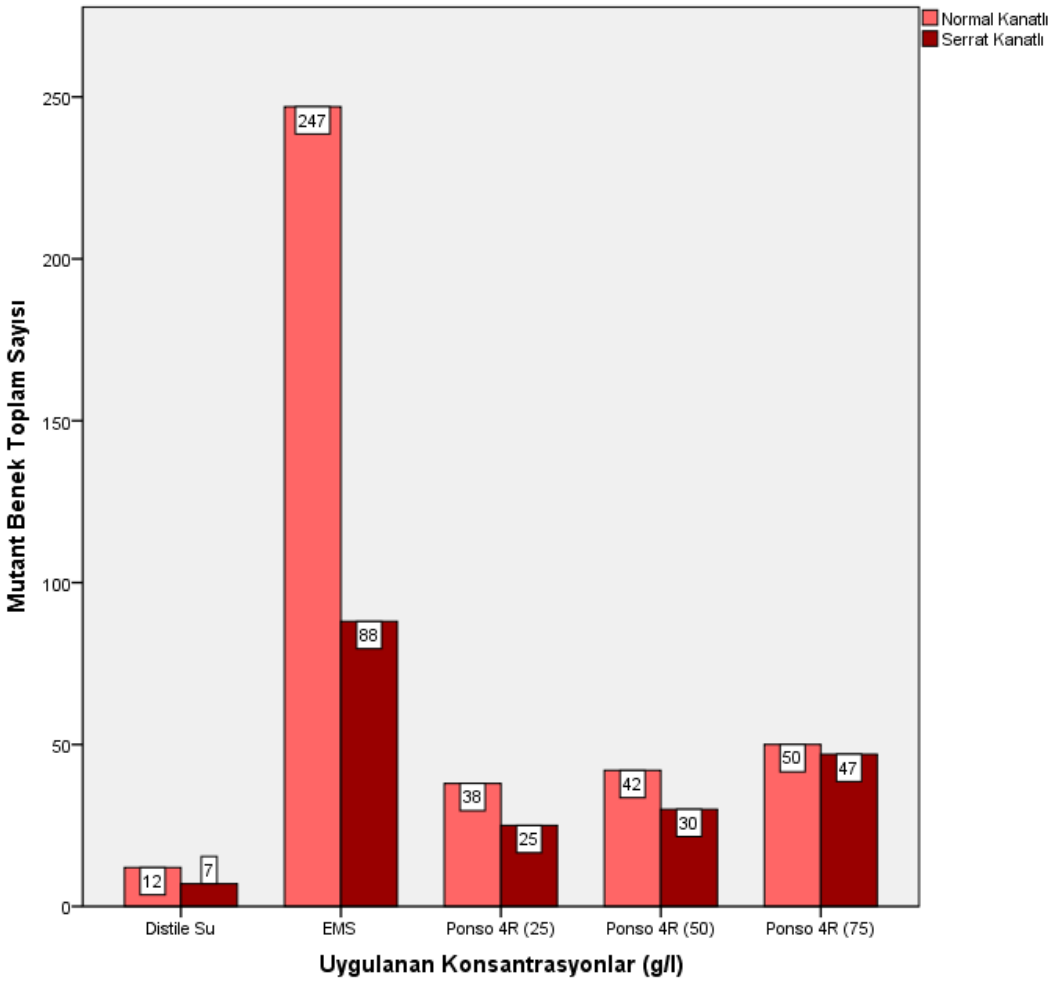
Tablo 4.2'de ponceau 4R (kırmızı-E 124)'e ait deney grubu çalışmalarından elde edilen veriler ile pozitif ve negatif kontrol gruplarının sonuçları karşılaştırılmıştır. İstatistiki analiz sonuçlarına göre, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin ‰25, ‰50 ve

‰75'lik konsantrasyonlarını içeren besiyerlerinde yetiştirilen *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarının distile su ile hazırlanan besiyerinde yetiştirilenlerinkinden fazla (normal kanat: X^2=22.84, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=29.82, S.D.=3, P<0.001) EMS ilaveli besiyerinde yetiştirilenlerinkilerden ise daha az olduğu saptandı (normal kanat: X^2=330.87, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=51.64, S.D.=3, P<0.001).

Tablo 4.2. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile ponceau 4R (kırmızı-E 124)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/LKırmızı	38	(0.95)	25	(0.63)
50 g/L Kırmızı	42	(1.05)	30	(0.75)
75 g/LKırmızı	50	(1.25)	50	(1.25)

Grafik 4.1'de ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarıyla oluşturulan deney gruplarında ve pozitif ile negatif kontrol gruplarındaki *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayılarına yer verilmiştir.



Grafik 4.1. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'e ait deney grubu uygulamaları

Üç farklı konsantrasyonda ponceau 4R (kırmızı-E 124) uygulanan besiyerlerinde yetiştirilen sineklerin kanat mutant benek toplam sayıları düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru paralel olarak artış göstermesine rağmen, normal kanatlarda istatistiki olarak farklılık olmadığı görüldü (X^2=1.72, S.D.=2, P>0.05). Diğer taraftan, serrat kanatlarda ise ponceau 4R (kırmızı-E 124) konsantrasyonuna paralel olarak artan mutant benek sayısının istatistiki olarak anlamlı (X^2=7.82, S.D.=2, P<0.05) olduğu tespit edildi. Tablo 4.3'de ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin deney grubuna ait farklı konsantrasyonlardaki mutant benek toplam sayıları yer almaktadır.

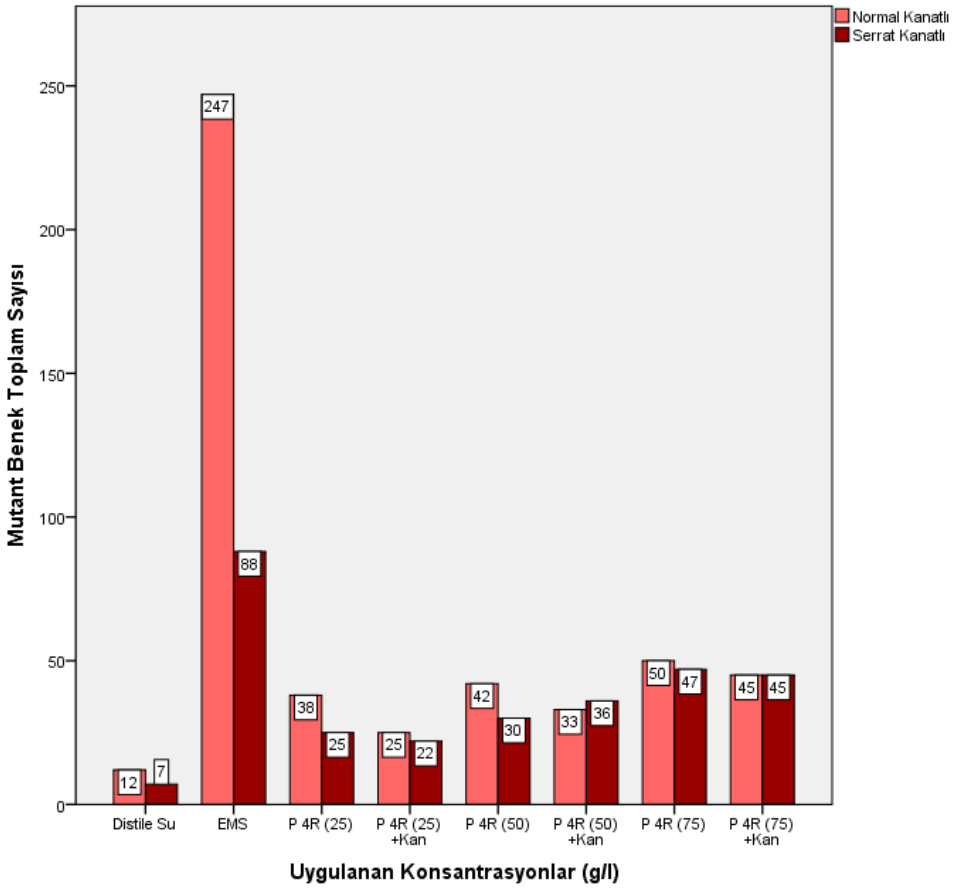
Tablo 4.3. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)' e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
25 g/L Kırmızı	38	(0.95)	25	(0.63)
50 g/L Kırmızı	42	(1.05)	30	(0.75)
75 g/L Kırmızı	50	(1.25)	50	(1.25)

Tablo 4.4'de ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin üç farklı konsantrasyonu ile kantaron özütünün birlikte uygulandığı tedavi grubuna ait çalışma verileri, pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait sonuçlar ile birlikte karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Çalışma verileri değerlendirildiğinde, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin farklı konsantrasyonları ile beraber %10'luk konsantrasyonda kantaron özütü içeren besiyerlerinde yetiştirilmiş olan *Drosophila* bireylerine ait normal ve serrat kanat gruplarındaki mutant benek toplam sayılarının distile su ile hazırlanan besiyerinde yetiştirilen sineklerinkilerden daha fazla (normal kanat: X^2=20.64, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=30.14, S.D.=3, P<0.001) olduğu fakat EMS ilaveli besiyerinde yetiştirilen bireylerinkinden ise daha düşük sayıda (normal kanat: X^2=389.87, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=50.86, S.D.=3, P<0.001) bulunduğu saptandı.

Tablo 4.4. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile ponceau 4R (kırmızı-E 124)-kantaron tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/L Kırmızı+Kantaron	25	(0.63)	22	(0.55)
50 g/L Kırmızı +Kantaron	33	(0.83)	36	(0.90)
75 g/L Kırmızı +Kantaron	45	(1.13)	45	(1.13)



Grafik 4.2. Ponceau 4R (kırmızı-E 124) – kantaron tedavi grubu uygulamaları

Grafik 4.2'de ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarıyla oluşturulan deney grubunda, bu konsantrasyonlara kantaron uygulamasıyla hazırlanan tedavi grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarında yer alan sineklerinin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayıları yer almaktadır.

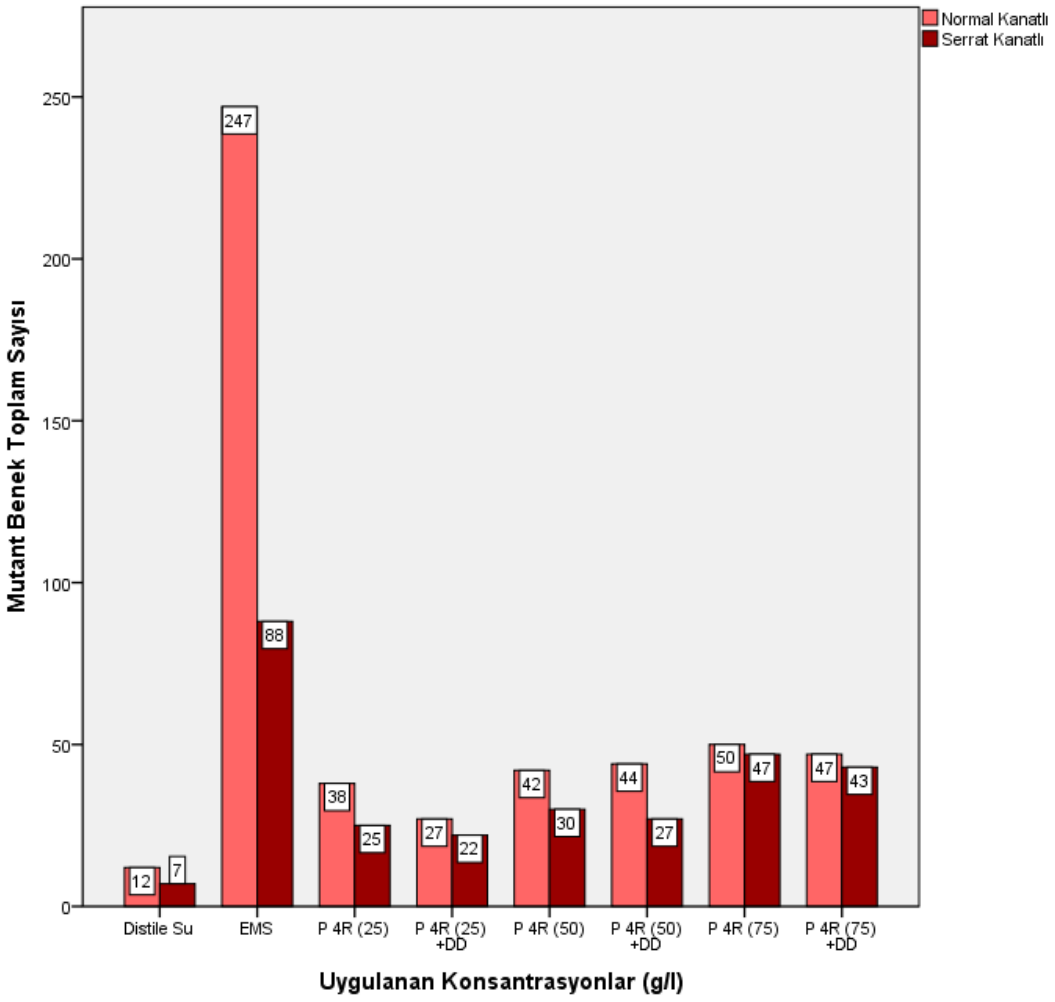
Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin üç farklı konsantrasyonu ve devedikeni özütünün %10'luk derişimi ile hazırlanan tedavi grubuna ait besiyerlerinde yetiştirilen sineklerin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayıları yine distile su içeren besiyerinde yetiştirilen *Drosophila* bireylerininkinden daha fazla (normal kanat: X^2=24.40, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=26.69, S.D.=3, P<0.001) iken, EMS ilaveli besiyerindeki sineklerinkinden daha düşük (normal kanat: X^2=357.05, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=60.13, S.D.=3, P<0.001) olarak tespit edildi. Tablo 4.5'de ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin farklı konsantrasyonları ve devedikeni özütü ile

hazırlanan tedavi grubuna ait çalışma verileri ile pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait bulgular sunulmuştur.

Tablo 4.5. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile ponceau 4R (kırmızı-E 124)-devedikeni tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/LKırmızı+Devedikeni	27	(0.68)	22	(0.55)
50 g/L Kırmızı+Devedikeni	44	(1.10)	27	(0.68)
75 g/L Kırmızı+ Devedikeni	44	(1.10)	43	(1.08)

Grafik 4.3'de ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarıyla oluşturulan deney grubunda, bu konsantrasyonlara devedikeni ilavesiyle hazırlanan tedavi grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarında yer alan meyve sineklerinin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayıları verilmiştir.



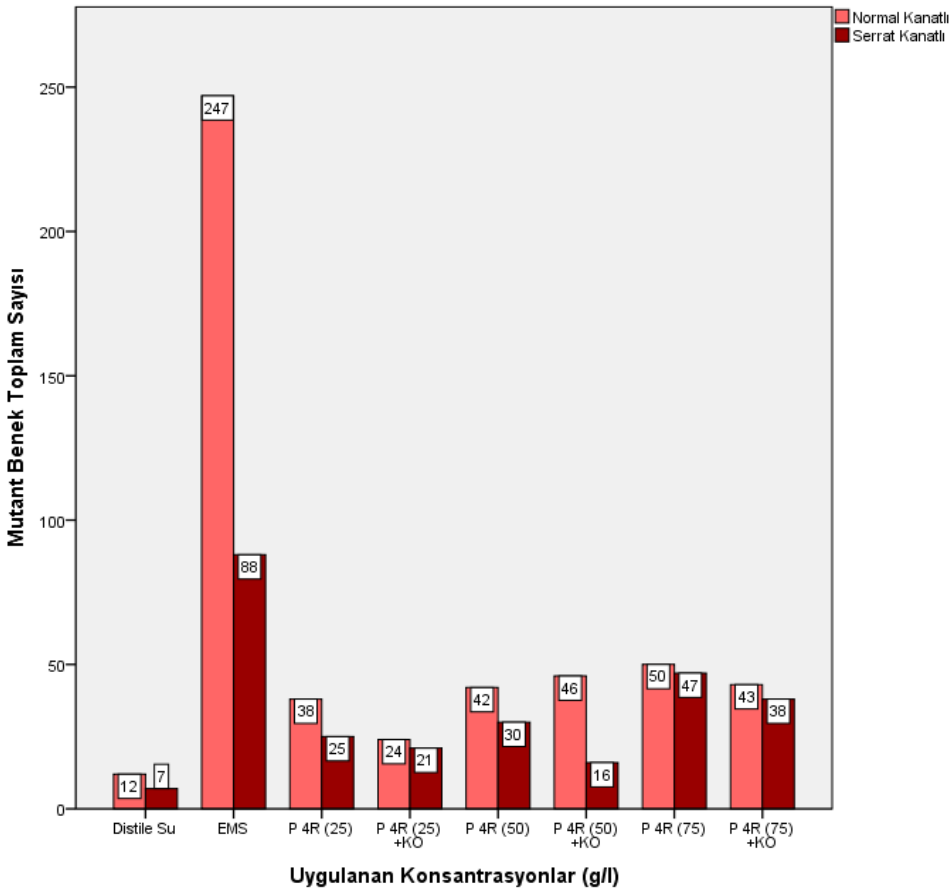
Grafik 4.3. Ponceau 4R (kırmızı-E 124) – devedikeni tedavi grubu uygulamaları

Tablo 4.6'da ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin üç konsantrasyonu ve karabaş özütü ile hazırlanan tedavi grubuna ait çalışma sonuçlarına pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait çalışma verileriyle birlikte yer verilmiştir. İstatistiksel analizden elde edilen deney sonuçları benzer durumların ponceau 4R (kırmızı-E 124) ve karabaş özütü ile hazırlanan tedavi grubu için de geçerli olduğunu göstermiştir. Kısaca belirtmek gerekirse, ‰25, ‰50 ve ‰75 olmak üzere üç farklı konsantrasyondaki ponceau 4R (kırmızı-E 124) ile birlikte karabaş özütünün %10'luk derişimi uygulanan besiyerlerinde yetiştirilen sineklerin normal ve serrat kanatlarına ait mutant benek toplam sayılarının yine distile su ilaveli besiyerinde yetiştirilmiş *Drosophila* bireylerininkinden daha fazla olduğu (normal kanat: X^2=24.92, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=24.83, S.D.=3, P<0.001) fakat EMS içeren besiyerinde

yetiştirilenlerinkilerden daha düşük (normal kanat: X^2=368.33, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=79.57, S.D.=3, P<0.001) bulunduğu saptandı.

Tablo 4.6. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile ponceau 4R (kırmızı-E 124)-karabaş tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/L Kırmızı+ karabaş	24	(0.60)	21	(0.53)
50 g/L Kırmızı+ karabaş	46	(1.15)	16	(0.40)
75 g/L Kırmızı+ karabaş	43	(1.08)	38	(0.95)



Grafik 4.4. Ponceau 4R (kırmızı-E 124) – karabaş tedavi grubu uygulamaları

Grafik 4.4'de ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarıyla oluşturulan deney grubunda, bu konsantrasyonlara karabaş eklenmiş olan tedavi grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarında yer alan sineklerinin normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayıları yer almaktadır.

İstatistiki analizler göstermektedir ki, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin üç konsantrasyonunun çalışıldığı deney grupları ile ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin bu farklı konsantrasyonlarına kantaron, devedikeni ve karabaş özütlerinin ayrı ayrı eklendiği tedavi gruplarına ait çalışmalardan elde edilen sonuçların tamamında ponceau 4R (kırmızı-E 124) konsantrasyonuna bağlı olarak kanatlara ait mutant benek toplam sayıları dereceli olarak artmıştır. Ancak, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin üç konsantrasyonu arasındaki sayısal farklar değerlendirildiğinde ise; Normal kanatlarda, yalnızca ponceau 4R (kırmızı-E 124) tarafından oluşturulan konsantrasyonlar (X^2=1.72), kantaron ilaveli ponceau 4R (kırmızı-E 124) konsantrasyonları (X^2=5.90) ve devedikeni eklenmiş olan ponceau 4R (kırmızı-E 124) konsantrasyonları (X^2=5.91) istatistiki olarak anlamlı olmamasına (S.D.= 2, P>0.05) rağmen, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin farklı konsantrasyonlarına karabaş uygulaması sonucu elde edilen verilerin (X^2=7.55, P<0.05) istatistiksel anlamı bulunmaktadır. Bir başka ifade ile ponceau 4R (kırmızı-E 124) konsantrasyonları ile üç farklı bitkisel özütün birlikte muamele edildiği tedavi gruplarının kendi içlerindeki kanat mutant benek toplam sayıları anlamlı bir farklılık göstermemektedir. Fakat, serrrat kanatlarda, her üç tedavi grubunda da konsantrasyona bağlı olarak ortaya çıkan toplam mutant benek sayısal farkları istatistiki olarak (P<0.05) anlamlıdır (sırasıyla: X^2=7.82, 7.83, 7.85 ve 10.64). Tablo 4.7'de ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin farklı konsantrasyonlarıyla oluşturulan deney grubu ve ponceau 4R (kırmızı-E 124) konsantrasyonları ile kantaron, devedikeni ve karabaş uygulamalarını içeren tedavi gruplarına ait çalışma bulguları verilmiştir.

Tablo 4.7. Ponceau 4R (kırmızı-E 124)'e ait deney grubu ve tedavi gruplarının mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
25 g/L Kırmızı	38	(0.95)	25	(0.63)
50 g/L Kırmızı	42	(1.05)	30	(0.75)
75g/L Kırmızı	50	(1.25)	50	(1.25)
25 g/L Kırmızı+Kantaron	25	(0.63)	22	(0.55)
50 g/L Kırmızı+Kantaron	33	(0.83)	36	(0.90)
75g/L Kırmızı+Kantaron	45	(1.13)	45	(1.13)
25 g/L Kırmızı+Devedikeni	27	(0.68)	22	(0.55)
50 g/L Kırmızı+Devedikeni	44	(1.10)	27	(0.68)
75g/L Kırmızı+Devedikeni	47	(1.18)	43	(1.08)
25 g/L Kırmızı+Karabaş	24	(0.60)	21	(0.53)
50 g/L Kırmızı+Karabaş	46	(1.15)	16	(0.40)
75g/L Kırmızı+Karabaş	43	(1.08)	38	(0.95)

Kırmızı boyanın farklı konsantrasyonlarını içeren besiyerlerinde ve ponceau 4R (kırmızı-E 124) konsantrasyonları ile kantaron, devedikeni ve karabaş özütlerinin ayrı ayrı uygulandığı besiyerlerinde yetiştirilmiş sineklerin normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek ortalama sayıları karşılaştırıldığında dört deney düzeneği için bulunan değerlerin farklı olmadığı görüldü ($H=0.63$; S.D.= 3, $P>0.05$).

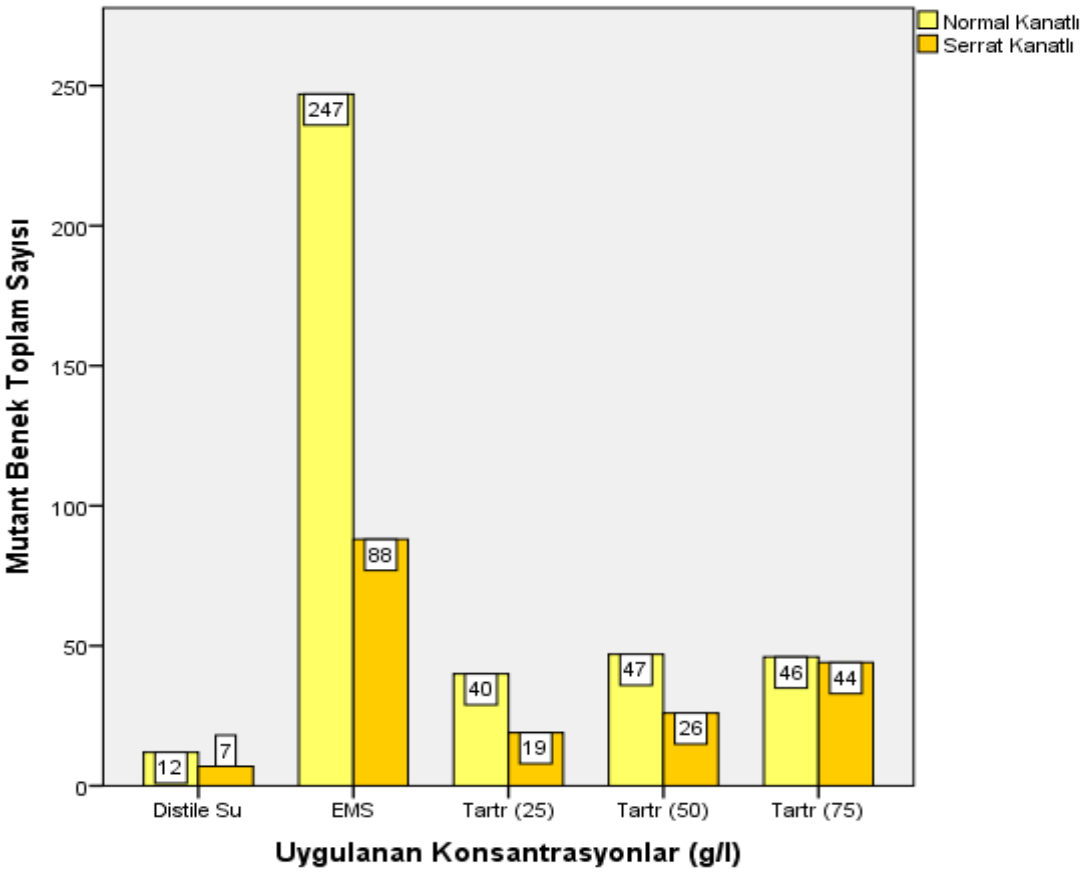
Son olarak, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin deney ve tedavi gruplarına ait normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayıları karşılaştırıldığında bu farklı kanat gruplarına ait ortalama mutant benek sayılarının istatistiki olarak farklı olmadığı ($P>0.05$) ortaya çıktı.

Tablo 4.8'de tartrazine (sarı-E 102)'in farklı konsantrasyonlarının çalışıldığı deney grubu ile pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait çalışma bulguları karşılaştırılmalı olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, tartrazine (sarı-E 102)'in ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarını içeren besiyerlerinde yetiştirilen *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarının distile su ile hazırlanan besiyerinde yetiştirilen sineklerinkinden fazla olduğu (normal kanat: $X^2=22.42$, S.D.=3, $P<0.001$; serrat kanat: $X^2=29.91$, S.D=3, $P<0.001$;) fakat EMS ilaveli besiyerindekilerden daha az olduğu saptandı (normal kanat: $X^2=324.56$, S.D.=3, $P<0.001$; serrat kanat: $X^2=65.19$, S.D.=3, $P<0.001$).

Tablo 4. 8. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile tartrazine (sarı-E 102)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/L Sarı	40	(01.00)	19	(0.48)
50 g/L Sarı	47	(1.18)	26	(0.65)
75 g/L Sarı	46	(1.15)	44	(1.10)

Grafik 4.5'de tartrazine (sarı-E 102)'in ‰25, ‰50 ve ‰75'lik derişimlerini içeren deney grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarındaki sineklerinin normal ve serrat kanatlarında belirlenen mutant benek toplam sayıları gözlenmektedir.



Grafik 4.5. Tartazin'e ait deney grubu uygulamaları

Üç farklı konsantrasyonda tartrazine (sarı-E 102) uygulanan besiyerlerinde yetiştirilen sineklerin normal kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarında düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru paralel olarak artış görülmemiştir ve bu sayılar genelde birbirine yakın olup istatistiki olarak da anlamlı bir fark saptanamamıştır (X^2=0.64, S.D.=2, P>0.05). Öte yandan, *Drosophila* bireylerine ait serrat kanatlarda tartrazine (sarı-E 102) konsantrasyonuna paralel olarak belirgin şekilde artan mutant benek sayısının istatistiki olarak da anlamlı (X^2=11.21, S.D.=2, P<0.05) olduğu ortaya çıkmıştır. Tablo 4.9'da tartrazine (sarı-E 102)'in deney grubununa ait farklı konsantrasyonlardaki mutant benek toplam sayıları sunulmuştur.

Tablo 4. 9. Tartrazine (sarı-E 102)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları.

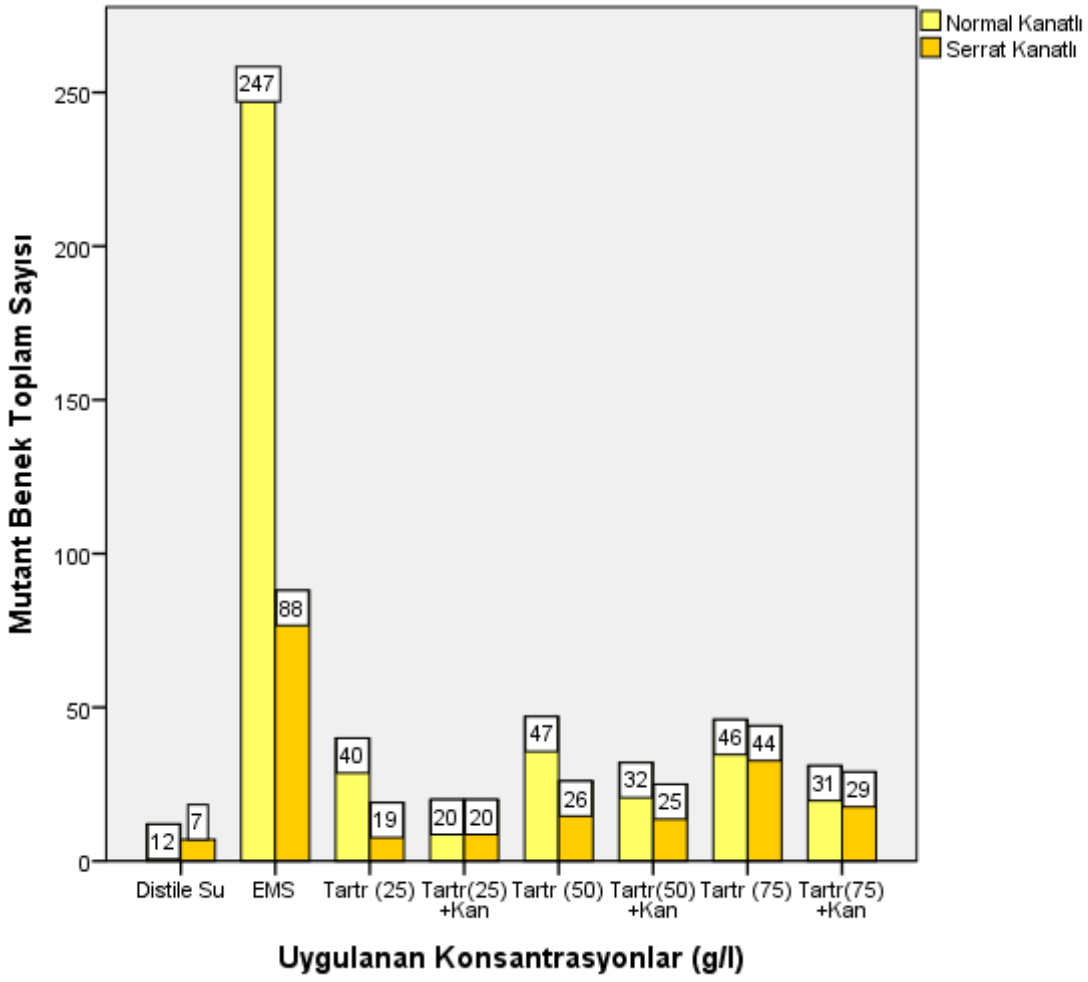
Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
25 g/L Sarı	40	(1.00)	19	(0.48)
50 g/L Sarı	47	(1.18)	26	(0.65)
75 g/L Sarı	46	(1.15)	44	(1.10)

Tablo 4.10'da tartrazine (sarı-E 102)'e ait farklı konsantrasyonlar ve kantaron özütü ile hazırlanan tedavi grubuna ait çalışma verileri, pozitif ve negatif kontrol gruplarıyla birlikte karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Üç farklı konsantrasyondaki tartrazine (sarı-E 102) ile birlikte kantaron özütü içeren besiyerlerinde yetiştirilen *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarının distile su ile hazırlanan besiyerinde yetiştirilen sineklerinkinden daha fazla (normal kanat: X^2=11.48, S.D.=3, P<0.01; serrat kanat: X^2=13.56, S.D.=3, P<0.01) olduğu fakat, EMS ilaveli besiyerinde yetiştirilenlerinkiden ise daha düşük (normal kanat: X^2=413.24, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=80.12, S.D.=3, P<0.001) bulunduğu saptandı.

Tablo 4. 10. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile tartrazine (sarı-E 102)-kantaron tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/L Sarı+Kantaron	20	(0.50)	20	(0.50)
50 g/L Sarı+Kantaron	32	(0.80)	25	(0.63)
75 g/L Sarı+Kantaron	31	(0.78)	29	(0.73)

Grafik 4.6'da ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarda tartrazine (sarı-E 102) içeren deney grubunda, bu konsantrasyonlara kantaron uygulamasıyla hazırlanan tedavi grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarında yer alan sineklerinin normal ve serrat kanat gruplarındaki mutant benek toplam sayıları gösterilmiştir.



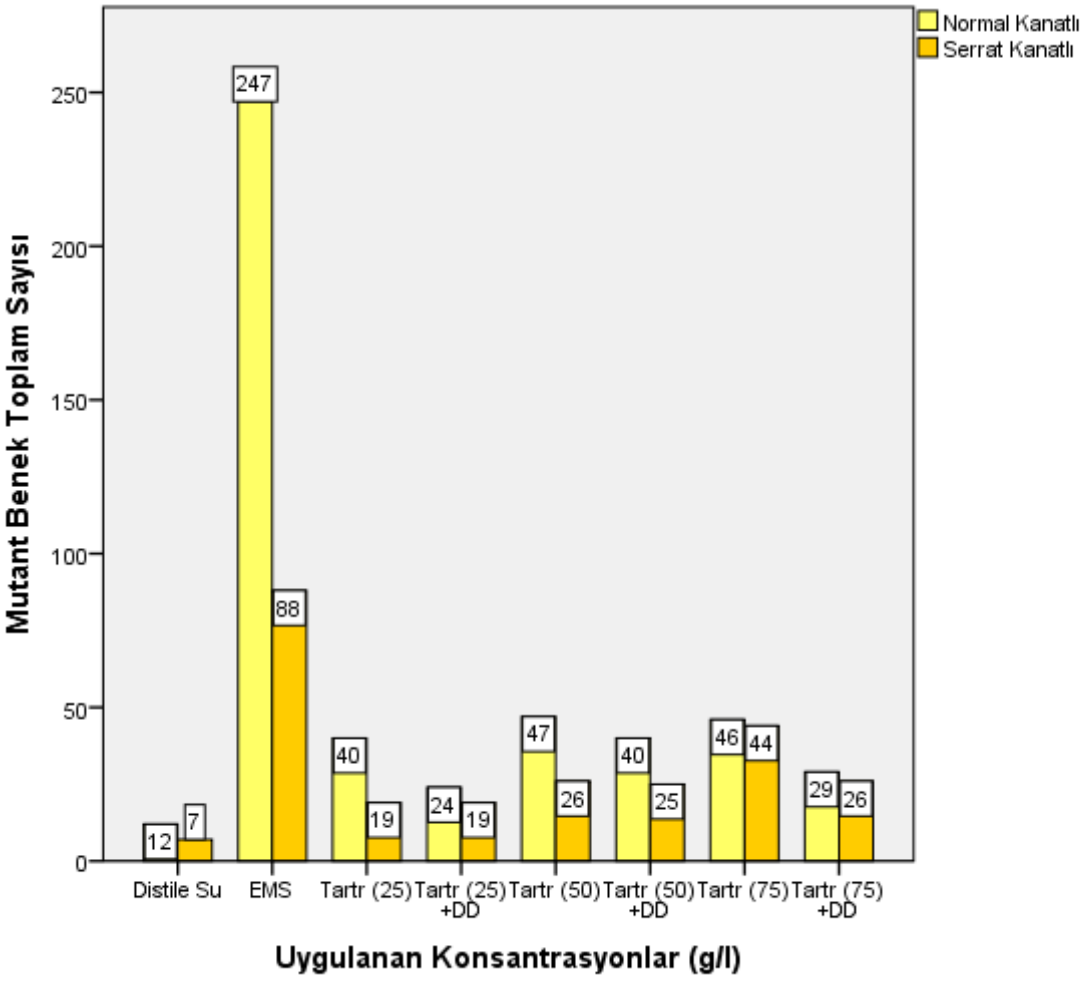
Grafik 4.6. Tartrazine (sarı-E 102) – kantaron tedavi grubu uygulamaları

Tablo 4.11'de tartrazine (sarı-E 102)'e ait farklı konsantrasyonlar ve devedikeni özütü ile hazırlanan tedavi grubuna ait çalışma bulguları, pozitif ve negatif kontrol gruplarıyla birlikte karşılaştırmalı olarak yer almaktadır. Diğer tedavi gruplarıyla benzer şekilde, farklı konsantrasyonlardaki tartrazine (sarı-E 102) ile birlikte devedikeni özütü içeren besiyerlerinde yetiştirilen *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarının yine distile su ile hazırlanan besiyerinde yetiştirilen sineklerinkinden daha fazla (normal kanat: X^2=15.41, S.D.=3, P<0.01; serrat kanat: X^2=11.88, S.D.=3, P<0.01) bulunduğu fakat, EMS ilaveli besiyerinde yetiştirilenlerinkiden ise daha düşük (normal kanat: X^2=413.24, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=80.12, S.D.=3, P<0.001) olduğu tespit edildi.

Tablo 4. 11. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile tartrazine (sarı-E 102)-devedikeni tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/L Sarı+Devedikeni	24	(0.60)	19	(0.48)
50 g/L Sarı+Devedikeni	40	(1.00)	25	(0.63)
75 g/L Sarı+ Devedikeni	29	(0.73)	26	(0.65)

Grafik 4.7'de tartrazine (sarı-E 102)'e ait ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlar ile oluşturulan deney grubunda, bu konsantrasyonlara devedikeni uygulaması ile hazırlanan tedavi grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarında yer alan *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayıları yer almaktadır.



Grafik 4.7. Tartrazine (sarı-E 102) – devedikeni tedavi grubu uygulamaları

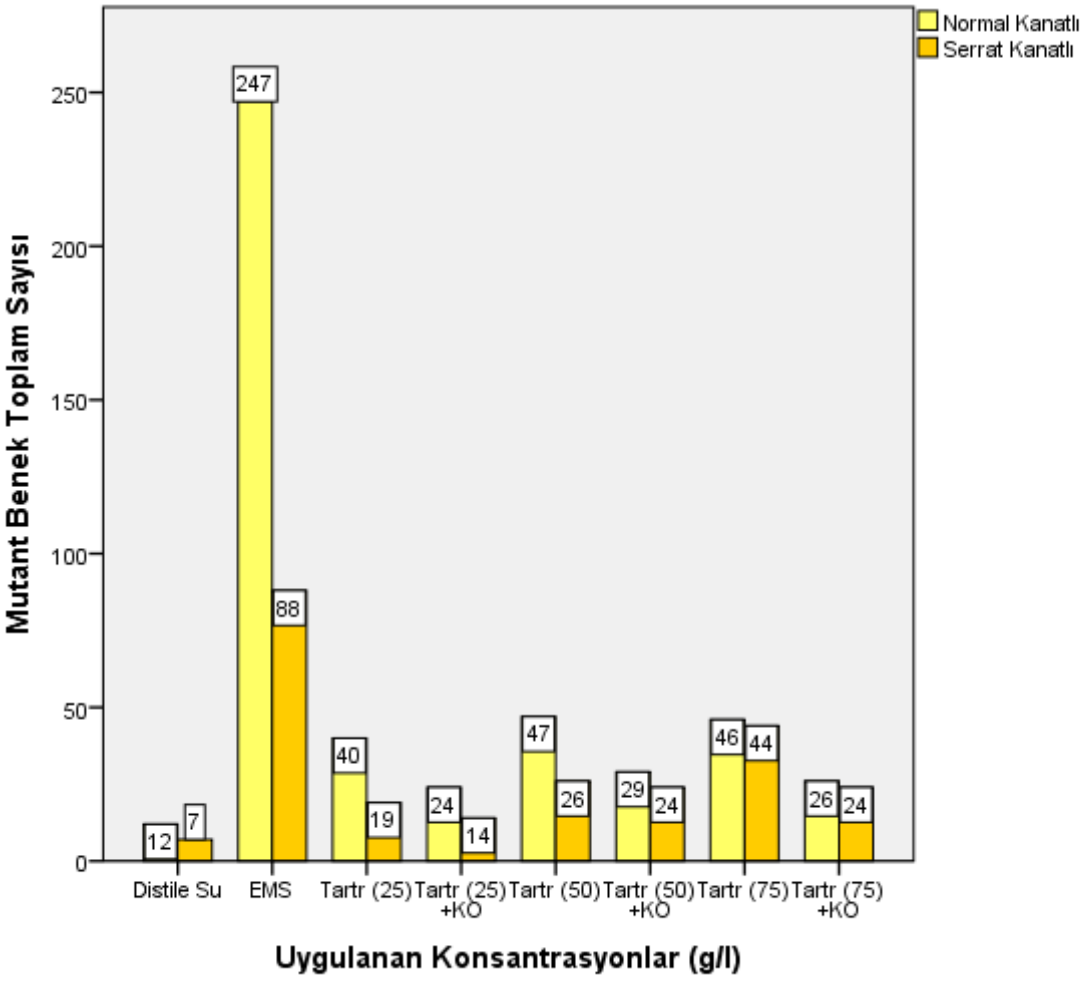
Çalışmadan elde edilen deney sonuçları, tartrazine (sarı-E 102) ile ilgili olarak benzer durumların karabaş özütü için de geçerli olduğunu göstermiştir. Kısaca belirtmek gerekirse, üç farklı konsantrasyonda tartrazine (sarı-E 102) ile beraber karabaş özütü uygulanan besiyerlerinde yetiştirilen sineklere ait serrat kanatlardaki mutant benek toplam sayıları yine distile su içeren besiyerinde yetiştirilen *Drosophila* bireylerininkinden daha fazla (serrat kanat: X^2=11.98, S.D.=3, P<0.001) olmasına rağmen, normal kanatlardaki mutant benek toplam sayıları istatistiki olarak distile sudaki sonuçlardan farklı çıkmamıştır (normal kanat: X^2=7.32, S.D.=3, P=0.06) Çünkü farklı konsantrasyonlardaki tartrazine (sarı-E 102) ile karabaş özütü içeren besiyerlerinde yetiştirilen sineklerin kanatlarındaki mutant benek toplam sayıları, distile su içeren besiyerinde yetiştirilenlerinkiler ile birbirine yakın olmakla birlikte, EMS

ilaveli besiyerinde üretilen sineklerinkinden daha düşük (normal kanat: X^2=448.25, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=92.45, S.D.=3, P<0.001) bulundu. Tablo 4.12'de tartrazine (sarı-E 102)'in farklı konsantrasyonları ve karabaş özütü ile hazırlanan tedavi grubuna ait çalışma sonuçları, pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait bulgularla birlikte sunulmuştur.

Tablo 4. 12. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile tartrazine (sarı-E 102)-karabaş tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/L Sarı+Karabaş	24	(0.60)	14	(0.35)
50 g/L Sarı+Karabaş	29	(0.73)	24	(0.60)
75 g/L Sarı+Karabaş	26	(0.65)	26	(0.60)

Grafik 4.8'de tartrazine (sarı-E 102)'in ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarını içeren deney grubunda, bu konsantrasyonlara karabaş ilavesiyle hazırlanan tedavi grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarında yer alan sineklerinin normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayılarına yer verilmiştir.



Grafik 4.8. Tartrazine (sarı-E 102) – karabaş tedavi grubu uygulamaları

Ponceau 4R (kırmızı-E 124) çalışma bulgularına benzer şekilde, tartrazine (sarı-E 102)'in de neredeyse aynı sonuçları verdiği görülmektedir. Tartrazine (sarı-E 102)'in farklı konsantrasyonlarından elde edilen bulgular ile tartrazine (sarı-E 102)'in üç farklı konsantrasyonuna kantaron, devedikeni ve karabaş özütleri ilavesi sonucunda sağlanan veriler, kanatlardaki mutant benek toplam sayılarının bu boyanın konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak genelde dereceli olarak arttığını göstermektedir. Ancak, bu artışta tartrazine (sarı-E 102)'in üç konsantrasyonu ile oluşturulan deney grubu (X^2=0.64) ile tartrazine (sarı-E 102) konsantrasyonları ve kantaron (X^2=3.20), tartrazine (sarı-E 102) konsantrasyonları ve devedikeni (X^2=4.32), tartrazine (sarı-E 102) konsantrasyonları ve karabaş (X^2=0.48) tedavi gruplarının kendi içerilerindeki sayısal farklar nedeniyle, *Drosophila* bireylerinin normal kanatlarında istatistiki olarak anlamlı sonuçlar elde

edilememiştir (S.D.=2, P>0.05). Tartrazine (sarı-E 102)'in üç farklı konsantrasyonu ile oluşturulan deney grubuna ait sineklerin serrat kanatlarında da benzer durum söz konusudur. Deney ve tedavi gruplarından oluşan uygulama gruplarında da konsantrasyonda görülen yükselmeye bağlı olarak ortaya çıkan mutant benek toplam sayılarında artış gözlenmiştir. Konsantrasyonlara bağlı olarak ortaya çıkan sayısal değerler arasındaki farklar tartrazine (sarı-E 102) ve kantaron özütü uygulaması dışındaki gruplarda (X^2=11. 21, P <001) istatistiki olarak anlamlı değildir (diğerleri sırasıyla; 1.64, 1.23 ve 3.22). Tablo 4.13'de tartrazine (sarı-E 102)'in üç farklı konsantrasyonu ile oluşturulan deney grubu ile bu farklı konsantrasyonlara kantaron, devedikeni ve karabaş özütlerinin ayrı ayrı eklendiği tedavi gruplarına ait çalışma bulguları verilmiştir.

Tablo 4. 13. Tartrazine (sarı-E 102)'e ait deney grubu ve tedavi gruplarının mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
25 g/L Sarı	40	(1.00)	19	(0.48)
50 g/L Sarı	47	(1.18)	26	(0.65)
75g/L Sarı	46	(1.15)	44	(1.10)
25 g/L Sarı+Kantaron	20	(0.50)	20	(0.50)
50 g/L Sarı+Kantaron	32	(0.80)	25	(0.63)
75g/L Sarı+Kantaron	31	(0.78)	29	(0.73)
25 g/L Sarı+Devedikeni	24	(0.60)	19	(0.48)
50 g/L Sarı+Devedikeni	40	(1.00)	25	(0.63)
75 g/L Sarı+Devedikeni	29	(0.73)	26	(0.65)
25 g/L Sarı+Karabaş	24	(0.60)	14	(0.35)
50 g/L Sarı+Karabaş	29	(0.73)	24	(0.60)
75g/L Sarı+Karabaş	26	(0.60)	24	(0.60)

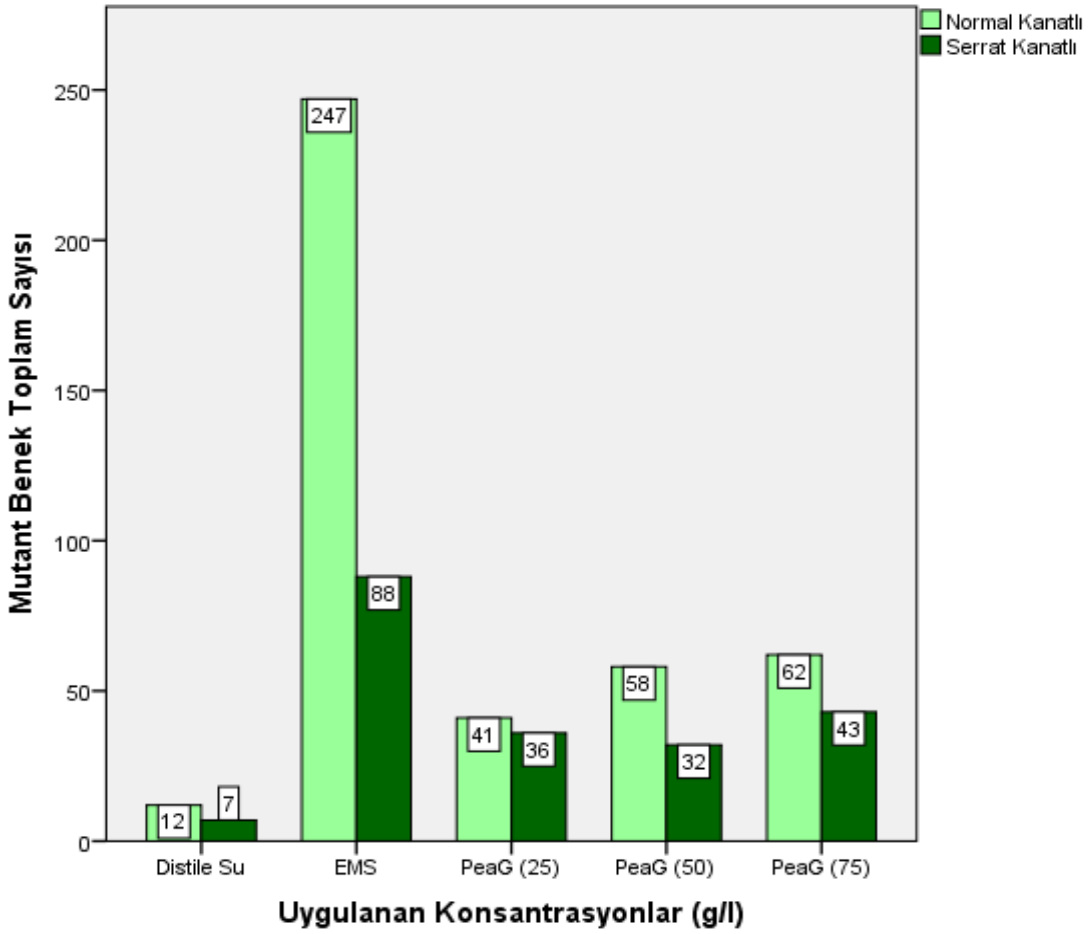
Tartrazine (sarı-E 102)'in üç farklı konsantrasyonu ile tartrazine (sarı-E 102)'in farklı konsantrasyonları ve kantaron, devedikeni ve karabaş ilaveli besiyerlerinde yetiştirilen sineklerin kanatlarında saptanan mutant benek ortalama sayıları karşılaştırıldığında dört deney düzeneği için de ortalamaların farklı olmadığı ortaya çıkmıştır (Kruskal Wallis Testi, H=2.20; S.D.=3, P>0.05).

Tartrazine (sarı-E 102)'in tüm deneysel gruplarındaki *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayıları Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında, iki farklı kanat grubuna ait ortalama mutant benek sayıları istatistiki olarak 0.02 ile 0.05 arasında çıkmıştır.

Pea green (yeşil-E 102+E 133)'in ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarını içeren besiyerlerinde yetiştirilen *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarının distile su ile hazırlanan besiyerinde yetiştirilenlerinkinden fazla olduğu (normal kanat: X^2=35.85, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=24.98, S.D.=3, P<0.001;) fakat EMS içeren besiyerinde üretilmiş sineklerinkinden daha az bulunduğu saptandı (normal kanat: X^2=277.27, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=40.45, S.D.=3, P<0.001). Tablo 4.14'de pea green (yeşil-E 102+E 133)'in farklı konsantrasyonlarından oluşan deney grubu ile pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait çalışma bulguları karşılaştırılmalı olarak görülmektedir.

Tablo 4. 14. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/LYeşil	41	(1.03)	36	(0.90)
50 g/L Yeşil	58	(1.45)	32	(0.80)
75 g/L Yeşil	62	(1.55)	43	1.08)



Grafik 4.9. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait deney grubu uygulamaları

Grafik 4.9'da pea green (yeşil-E 102+E 133)'in ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarıyla oluşturulan deney grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarındaki sineklerin normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayıları gözlenmektedir.

Üç farklı konsantrasyonda pea green (yeşil-E 102+E 133)'in uygulandığı besiyerlerinde yetiştirilen sineklerin kanatlarındaki mutant benek toplam sayıları düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru paralel olarak artış göstermektedir. Bu sayılar normal kanatlarda genelde birbirine yakın olup istatistiki olarak da anlamlı değildir. (X^2=4.63, S.D.=2, P>0.05). Serrat kanatlarda da aynı durum söz konusudur (X^2=1.67, S.D.=2, P>0.05). Tablo 4.15'de pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait deney grubunun üç farklı konsantrasyonundaki mutant benek toplam sayılarına yer verilmiştir.

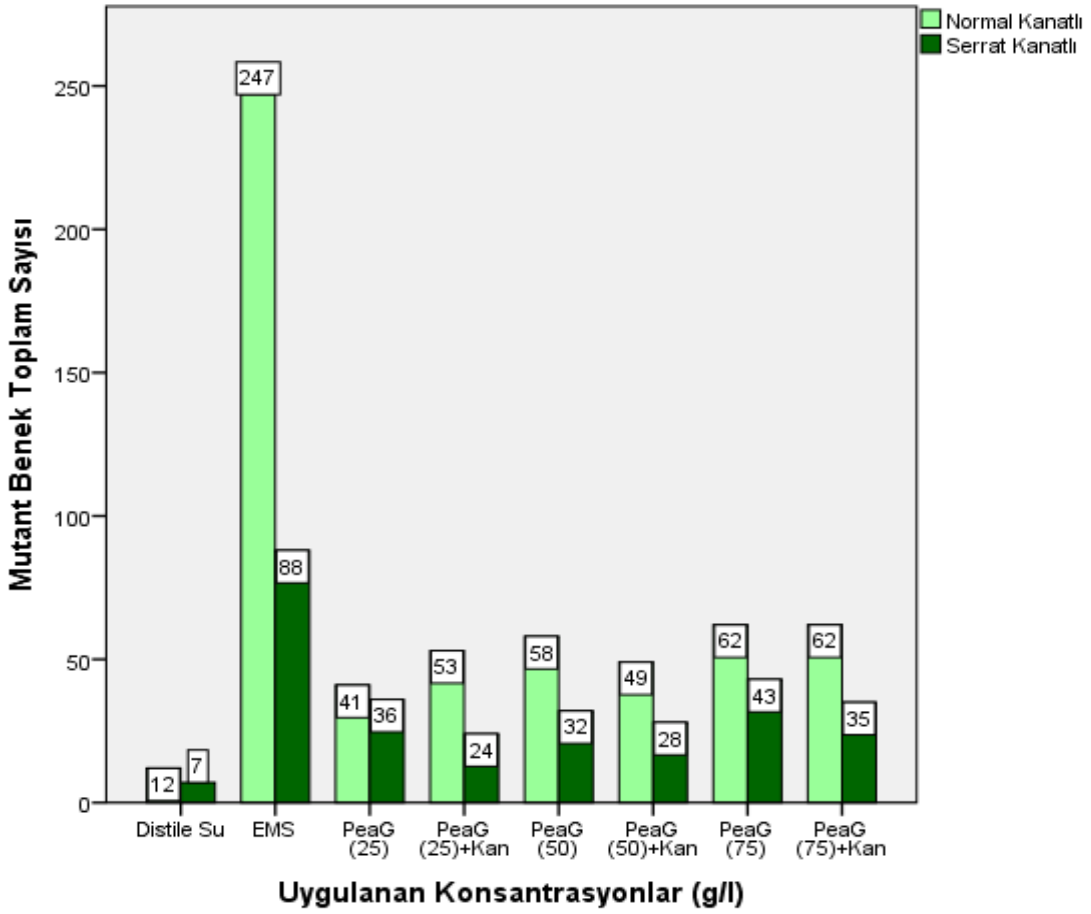
Tablo 4. 15. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait deney grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
25 g/L Yeşil	41	(1.03)	36	(0.90)
50 g/L Yeşil	58	(1.45)	32	(0.80)
75 g/L Yeşil	62	(1.55)	43	1.08)

Tablo 4.16'da pea green (yeşil-E 102+E 133)'in üç farklı konsantrasyonu ve kantaron özütünün birlikte uygulandığı tedavi grupları ile pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait çalışma bulguları karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Farklı konsantrasyonlardaki pea green (yeşil-E 102+E 133) ile kantaron özütünün birlikte uygulandığı besiyerlerinde yetiştirilen sineklerin normal ve serrat kanat gruplarındaki mutant benek toplam sayılarının yine distile su ile hazırlanan besiyerinde yetiştirilmiş *Drosophila* bireylerininkinden daha fazla (normal kanat: X^2=33.04, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=18.08, S.D.=3, P<0.001) bulunduğu fakat EMS içeren besiyerindekilerden daha düşük (normal kanat: X^2=270.87, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2= 61.09, S.D.= 3, P<0.001) olduğu saptandı.

Tablo 4. 16. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile pea green (yeşil-E 102+E 133)-kantaron tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/L Yeşil+Kantaron	53	(1.33)	24	(0.60)
50 g/LYeşil+Kantaron	49	(1.23)	28	(0.70)
75 g/L Yeşil+Kantaron	62	(1.55)	35	(0.88)



Grafik 4.10. Pea green (yeşil-E 102+E 133) – kantaron tedavi grubu uygulamaları

Grafik 4.10'da pea green (yeşil-E 102+E 133)'in ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarını içeren deney grubunda, bu konsantrasyonlara kantaron ilavesiyle hazırlanan tedavi grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarında yer alan *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarına yer verilmiştir.

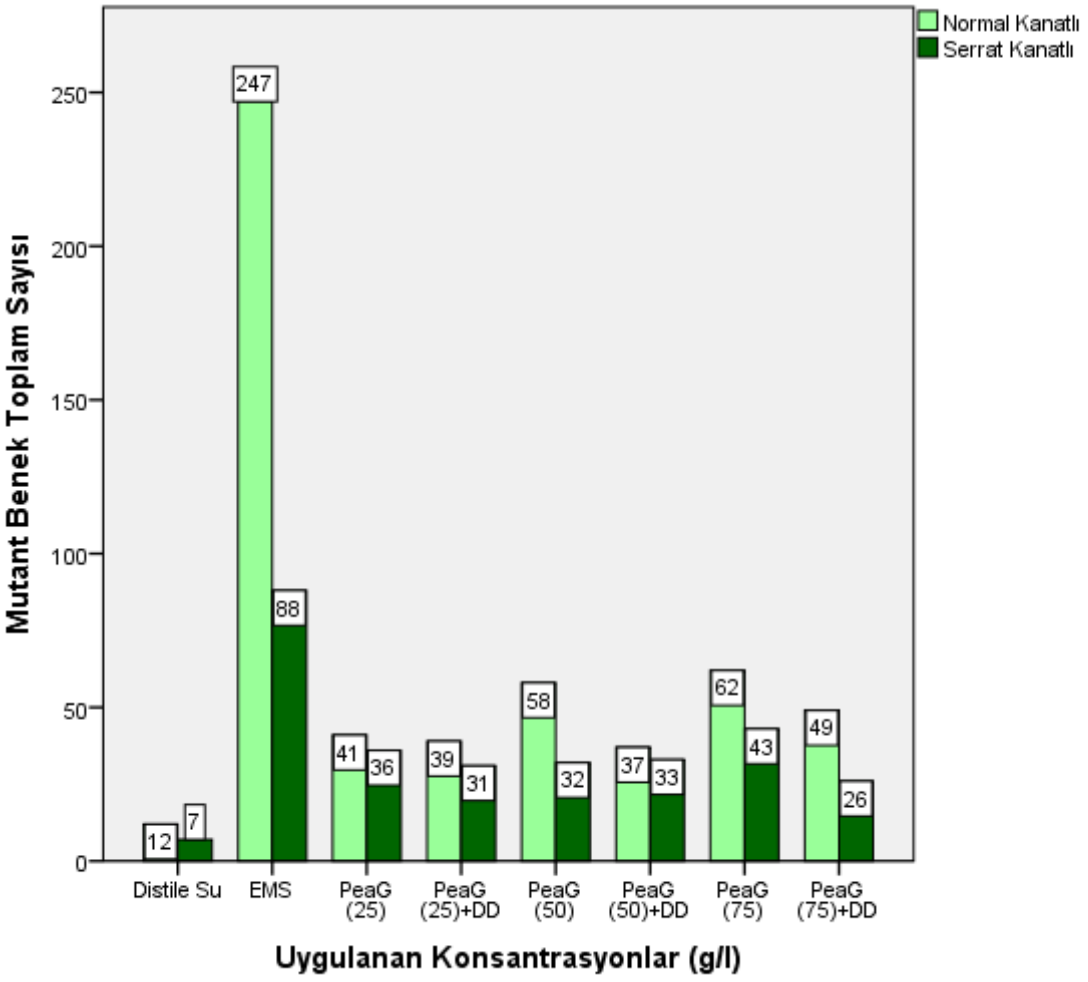
Tablo 4.17'de pea green (yeşil-E 102+E 133)'in üç farklı konsantrasyonu ve devedikeni özütü ile oluşturulan tedavi grubuna ait çalışma verileri, pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait bulgularla birlikte sunulmuştur. Pea green (yeşil-E 102+E 133) ile kantaron uygulamalarıyla benzer şekilde, farklı konsantrasyonlardaki pea green (yeşil-E 102+E 133) ile beraber devedikeni özütünü içeren besiyerlerinde yetiştirilmiş olan sineklere ait normal ve serrat kanatlardaki mutant benek toplam sayılarının yine distile su ile hazırlanan besiyerinde yetiştirilen *Drosophila* bireylerininkilerden daha fazla

(normal kanat: X^2=21.68, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=17.53, S.D.=3, P<0.001) olduğu ortaya çıkmaktadır. Yine mutant benek toplam sayılarının EMS ilaveli besiyerlerinde yetiştirilen sineklerinkinden daha düşük (normal kanat: X^2=340.90, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=57.28, S.D.=3, P<0.001) bulunduğu saptandı.

Tablo 4. 17. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile pea green (yeşil-E 102+E 133)-devedikeni tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/L Yeşil+Devedikeni	24	(0.98)	31	(0.78)
50 g/L Yeşil+Devedikeni	40	(0.93)	33	(0.83)
75 g/L Yeşil+Devedikeni	29	(1.23)	26	(0.65)

Grafik 4.11'de pea green (yeşil-E 102+E 133)'in ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonları ile oluşturulan deney grubunda, bu konsantrasyonlara devedikeni uygulaması ile hazırlanan tedavi grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarında yer alan sineklerinin normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayıları sunulmuştur.



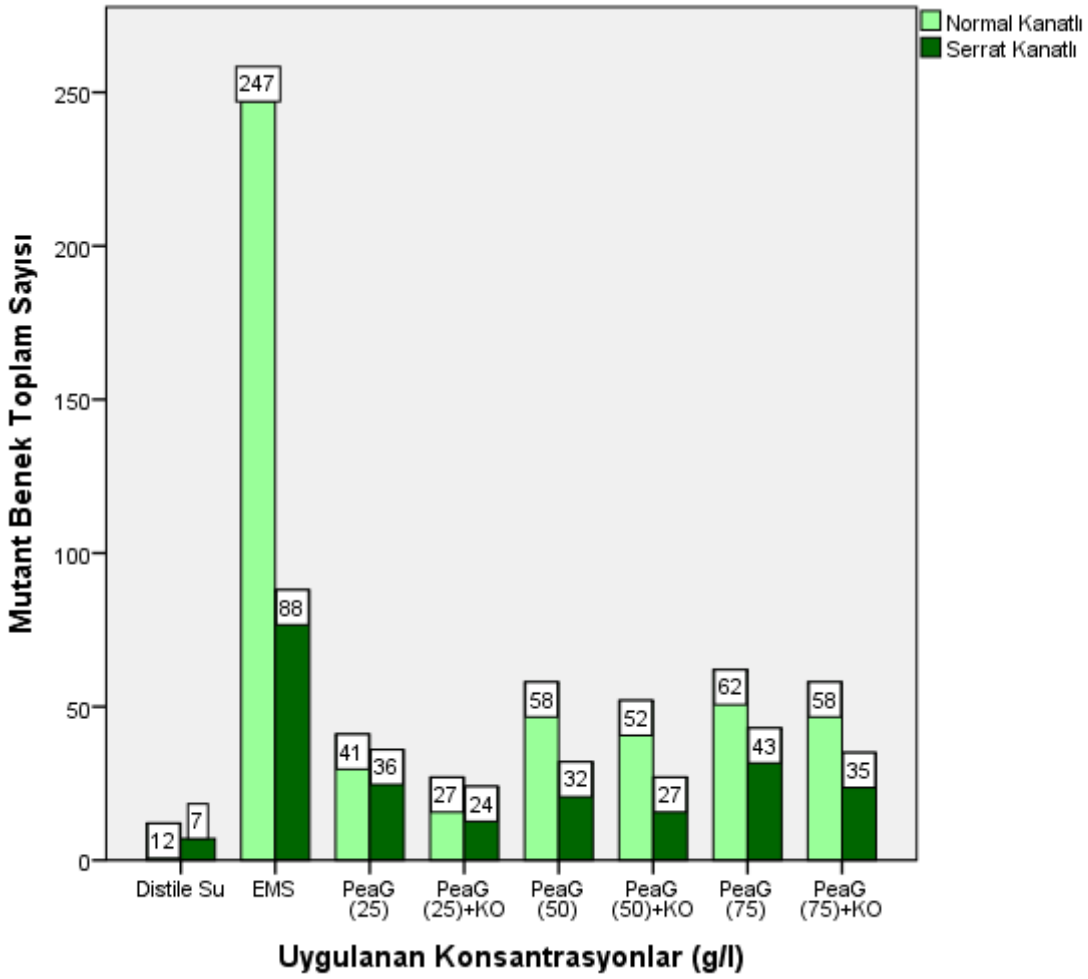
Grafik 4. 11. Pea green (yeşil-E 102+E 133) – devedikeni tedavi grubu uygulamaları

Üç farklı konsantrasyondaki pea green (yeşil-E 102+E 133) ile beraber karabaş özütü içeren besiyerlerinde sinekler yetiştirildiğinde, kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarının hem normal (X^2=37.33, S.D.=3, P<0.001) hem de serrat (X^2=17.92, S.D.=3, P<0.001) kanatlarda, distile su içeren besiyerinde yetiştirilen sineklerinkilerden daha fazla olduğu ortaya çıkmaktadır. Yine mutant benek sayılarının EMS içeren besiyerinde yetiştirilen sineklerinkinden daha düşük (normal kanat: X^2=322.31, S.D.=3, P<0.001; serrat kanat: X^2=62.18, S.D.=3, P<0.001) olduğu saptanmıştır. Tablo 4.18'de pea green (yeşil-E 102+E 133)'in farklı konsantrasyonları ve karabaş özütü uygulamaları ile hazırlanan tedavi grubuna ait veriler pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait çalışma bulgularıyla birlikte yer almaktadır.

Tablo 4. 18. Pozitif ve negatif kontrol grupları ile pea green (yeşil-E 102+E 133)-karabaş tedavi grubunun mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
Distile Su	12	(0.30)	7	(0.18)
1 mM EMS	247	(6.18)	88	(2.2)
25 g/L Yeşil+Karabaş	27	(0.68)	24	(0.60)
50 g/L Yeşil+Karabaş	52	(1.30)	27	(0.68)
75 g/L Yeşil+Karabaş	58	(1.45)	35	(0.88)

Grafik 4.12'de pea green (yeşil-E 102+E 133)'in ‰25, ‰50 ve ‰75'lik konsantrasyonlarını içeren deney grubunda, bu konsantrasyonlara karabaş uygulamasıyla hazırlanan tedavi grubunda ve pozitif ile negatif kontrol gruplarında yer alan *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayıları verilmiştir.



Grafik 4.12. Pea green (yeşil-E 102+E 133) – karabaş tedavi grubu uygulamaları

Tablo 4.19'da pea green (yeşil-E 102+E 133)'in farklı konsantrasyonları ile oluşturulan deney grubu ile bu konsantrasyonlara kantaron, devedikeni ve karabaş özütlerinin ayrı ayrı eklendiği tedavi gruplarına ait çalışma sonuçları kendi içlerinde karşılaştırılarak verilmiştir. Pea green (yeşil-E 102+E 133) ile yapılan deney setlerindeki bulgular ponceau 4R (kırmızı-E 124) ve tartrazine (sarı-E 102)'in uygulama verilerine benzemektedir. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'in çalışılan farklı konsantrasyonlarından elde edilen sonuçlarda ve pea green (yeşil-E 102+E 133) konsantrasyonlarına ayrı ayrı kantaron, devedikeni ve karabaş özütünün eklendiği gruplarda, pea green (yeşil-E 102+E 133) konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak sineklerin kanatlarındaki mutant benek toplam sayıları genelde dereceli olarak artmıştır.

Öte yandan, pea green (yeşil-E 102+E 133) ile ilgili deney ve üç tedavi grubu olmak üzere toplam dört deneysel grubunun kendi içerisindeki sayısal farklar karşılaştırıldığında, normal kanatlarda, pea green (yeşil-E 102+E 133)'in üç konsantrasyonu (X^2= 4.63) ile pea green (yeşil-E 102+E 133) konsantrasyonları ve kantaron (X^2= 1.62), pea green (yeşil-E 102+E 133) konsantrasyonları ve devedikeni uygulamalarından elde edilen (X^2= 1.98) kanat gruplarındaki mutant benek toplam sayıları dereceli olarak artmış olsa dahi nispeten birbirine yakın bulunduğundan istatistiki olarak bir farklılıkları görülmemiştir (P>0.05). Pea green (yeşil-E 102+E 133) konsantrasyonları ile birlikte karabaş uygulamalarından elde edilen üç gruba ait sayısal değerler ise istatistiki olarak anlamlıdır. (X^2=37.33, P<0.05), çünkü %50 ve %75'lik konsantrasyonlarda ortaya çıkan sayılar %25'lik konsantrasyondaki sayıdan oldukça yüksektir. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait tüm deneysel uygulama gruplarındaki serrat kanatlardan elde edilen değerlerin kendi aralarındaki farklar ise istatistiki anlam taşımamaktadır (S.D.=2, P>0.05; deneysel gruplar için X^2 değerleri sırasıyla; (1.67, 2.13, 0.86 ve 2.25).

Tablo 4. 19. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'e ait deney grubu ve tedavi gruplarının mutant benek toplam sayıları.

Gruplar				
	Normal K.		Serrat K.	
	No	Fr	No	Fr
25 g/L Yeşil	41	(1.03)	36	(0.90)
50 g/L Yeşil	58	(1.45)	32	(0.80)
75g/L Yeşil	62	(1.55)	43	(1.08)
25 g/L Yeşil+Kantaron	53	(1.33)	24	(0.60)
50 g/LYeşil+Kantaron	49	(1.23)	28	(0.70)
75g/L Yeşil+Kantaron	62	(1.55)	35	(0.88)
25 g/LYeşil+Devedikeni	39	(0.98)	31	(0.78)
50 g/L Yeşil+Devedikeni	37	(0.93)	33	(0.83)
75g/L Yeşil+Devedikeni	49	(1.23)	26	(0.65)
25 g/L Yeşil+Karabaş	27	(0.68)	24	(0.60)
50 g/L Yeşil+Karabaş	52	(1.30)	27	(0.68)
75g/L Yeşil+Karabaş	58	(1.45)	35	(0.88)

Pea green (yeşil-E 102+E 133)'in farklı konsantrasyonlarını içeren besiyerlerinde ve pea green (yeşil-E 102+E 133)'in üç farklı konsantrasyonu ile kantaron, devedikeni ve karabaş ilaveli besiyerlerinde yetiştirilmiş sineklerin kanatlarında saptanan mutant benek ortalama sayıları karşılaştırıldığında dört deney düzeneği için ortalamaların farklı olmadığı ortaya çıkmıştır ($H=3.85$; S.D.=3, $P>0.05$).

Pea green (yeşil-E 102+E 133)'in kullanıldığı deneylerdeki *Drosophila* bireylerinin iki farklı kanat grubuna ait toplam mutant benek sayılarının ortalamaları farkının istatistiki olarak anlamlı olduğu ortaya çıkmıştır ($P<0.05$). Bu durum tartrazine (sarı-E 102) uygulamalarına ait değerlendirme sonuçlarına benzer olarak, normal kanatlardaki ortalama mutant benek sayısının serrat kanatlardan bir ölçüde fazla olmasından kaynaklanmıştır.

BÖLÜM 5

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde tüketilen yiyeceklerin besin değerlerinin yanı sıra güvenilirlikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri oldukça dikkat çekici bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Besinler sahip oldukları içerikler ile bir yandan beslenmeye ilişkin hastalıklardan biri olan kansere yol açarken öte yandan kanserden koruyucu etkiler gösterebildiğinden bu konudaki araştırmalar giderek artmaktadır. Besin maddeleri içerisinde doğal olarak bulunabilen mutajenlerin yanı sıra öncül maddelerin işlem görmesi sonucu oluşabilen kimyasal maddeler de yer alabilir. Mutajenik potansiyele sahip maddeler ile karsinojenik potansiyelleri arasında çok güçlü bir korelasyon bulunduğundan gıdalardaki mutajenlerin belirlenmesi oldukça önemlidir [79]. Gıda endüstrisinde kullanılan yeni teknolojiler ve ürün çeşitliliğinin giderek artması ile tüketici talebi doğrultusunda hazır yiyeceklere olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır [1]. Tükettiğimiz hazır yiyeceklerde sıklıkla bulunan gıda katkı maddeleri, vücutta somatik hücreler ile doğrudan etkileşime girdiğinden potansiyel olarak oldukça önemli olan genotoksik bileşikler arasındadır. [77, 79]. Mutajen ve genotoksinlerin genotoksik aktivitelerinin tayininde yararlanılan genotoksisite testlerinden biri de SMART'dir. Çeşitli kimyasal maddelerin genotoksisitesinin yanı sıra besinlerin içeriğindeki çok sayıda bileşenin ya da sentetik molekülün antigenotoksisitesinin araştırılmasında da kullanılan bir test sistemi olan SMART [44] bu çalışmada genotoksik hasara neden olan sentetik gıda boyalarına karşı bitkisel özütlerin koruyucu etkisinin olup olmadığının model organizma olan *D. melanogaster* Meigen üzerinde incelemesi bakımından önemlidir.

Çalışma verileri değerlendirildiğinde; SMART test sonuçlarına göre, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin çalışılan konsantrasyonlarda *Drosophila* bireylerinin normal ve

serrat kanatlarında mutajenik etki gösterdiği net bir şekilde ortaya çıkmıştır. Bu durum, kırmızı renkli bu boyanın *Drosophila* heterozigot larvalarının embriyonik gelişimi sırasında kanat kılı hücrelerine gelişecek olan imajinal disk hücrelerine genotoksik etki gösterdiğini ve somatik hücrelerdeki mutasyon veya rekombinasyonun neden olduğu genotipik değişimlerin de kanatlarda mutant benek oluşumunda rol oynadığını açıkça göstermektedir. Meyve sineklerinin serrat kanatları sadece mutasyon sonucu oluşan klonları içerirken, normal kanatlarında hem mutasyon hem de rekombinasyon sonucu oluşan mutant klonlar görülebilir [95, 96]. Ayrıca, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin artan konsantrasyonlarına bağlı olarak gösterdiği mutajenik etkinin daha da kuvvetli olduğu saptanmıştır. Çünkü ponceau 4R (kırmızı-E 124) ile muamele edilen *Drosophila* bireylerinde indüklenmiş klonların toplam sayısı, uygulanan bu genotoksik maddenin konsantrasyon artışına bağlı olarak gösterdiği genotoksik aktivitesinin bir sonucudur. Bu bulgular, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin yer aldığı aşağıdaki çalışmalarla genotoksisite bakımından benzerlik göstermektedir. Uysal ve Semerdöken'in (2011) [20] ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin konsantrasyon artışına bağlı olarak *Drosophila* Oregon R yabanıl soyunun 72±4 saatlik larvalarının toksisitesinde artış tespit ettikleri çalışması ile Semerdöken'in (2012) [21] ponceau 4R (kırmızı-E 124) uygulama konsantrasyonu arttıkça *Drosophila* Oregon R yabanıl ve Vestigial mutant soylarına ait 72±4 saatlik larvalarda mortalite oranının arttığını bildiren çalışması elde edilen tez çalışması bulguları uyumlu olup çalışma verilerini desteklemektedir.

Kantaron, devedikeni ve karabaş özütleri bu kırmızı gıda boyasının oluşturduğu mutasyonları azaltan ya da önleyici etkiler göstermemektedir. Çünkü ponceau 4R (kırmızı-E 124)'nin deney ve tedavi gruplarına ait sineklerin kanatlarındaki mutant benek toplam sayıları karşılaştırıldığında dört deney düzeneği için ortalamaların farklılık göstermediği açığa çıkmıştır.

Çalışmanın deneysel gruplarına tartrazine (sarı-E 102) uygulaması sonucunda *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarının değerlendirildiği SMART test sonuçlarına göre, ponceau 4R (kırmızı-E 124)'de olduğu gibi bu boyanın da mutajenik etki gösterdiği net bir biçimde görülmektedir. Tartrazine (sarı-E 102)'in *Drosophila* larvalarının embriyonik gelişimi sırasında kanat kılı hücrelerinin gelişiminde bir mutajen olarak etkili olduğu ve kanatlardaki mutant klon sayısının artmasında rol oynadığı net bir biçimde anlaşılmaktadır. Tartrazine (sarı-E 102)'in ponceau 4R

(kırmızı-E 124) çalışma bulguları ile neredeyse aynı sonuçları verdiği görülmektedir. Tartrazine (sarı-E 102)'in farklı konsantrasyonları uygulandığında elde edilen veriler ile bu boyanın üç farklı konsantrasyonuna kantaron, devedikeni ve karabaş özütleri ilavesi ile sağlanan bulgular sarı renkli bu boyanın artan konsantrasyonuna bağlı olarak mutajenik etkisinin daha da kuvvetli olduğunu ve sineklerin kanatlarındaki mutant benek toplam sayılarının genelde dereceli olarak arttığını göstermektedir. Tartrazine (sarı-E 102) genotoksisitesinin saptandığı açıkça görülen bu çalışma bulgularını, literatürde yer alan bu boyanın genotoksik, histopatolojik ve karsinojenik etkileri ile ilgili aşağıdaki araştırmalar desteklemektedir. Niraj ve arkadaşları (1989) [18] tartrazine (sarı-E 102)'in ‰0.6 ve ‰1.2'lik konsantrasyonlarda *Drosophila melanogaster* Meigen'de genotoksisiteye sahip olduğu, Poul ve arkadaşları (2009) [22] tartrazine (sarı-E 102)'in farelerde mikronükleus testi ile sitotoksik etkili olup genotoksik etki göstermediği, Sasaki ve arkadaşları (2002) [36] tartrazine (sarı-E 102)' in farelerin mide, kolon ve mesanesinde doza bağlı olarak DNA hasarı oluşturduğu, Mpountoukas ve arkadaşları (2010) [37] tartrazine (sarı-E 102)'in 1 ve 2 mM'lık konsantrasyonda insan lenfosit hücreleri için sitotoksik etkili olduğu, Semerdöken (2012) [21] tartrazine (sarı-E 102)'in *Drosophila* Oregon R yabanıl ve Vestigial mutant soylarına ait 72±4 saatlik larvalarının mortalite oranını arttırdığı ve Paterson ile Butler (1982) [31] memeli fibroblast hücreleri arasındaki Muntiacus muntjac hücrelerine 5-20 μg/ml'lık konsantrasyonlarda uygulanan tartrazine (sarı-E 102)'in kromozomal bozukluklara neden olduğu sonuçlarına ulaşmışlardır. Tartrazine (sarı-E 102)'in zararlı etkilerini konu alan bu araştırmalar, elde edilen çalışma sonuçlarını doğrular niteliktedir.

Tartrazine (sarı-E 102)'in üç farklı konsantrasyonu ve sarı renkli bu boyanın farklı konsantrasyonları ile kantaron, devedikeni ve karabaş ilaveli *Drosophila* besiyerlerinde yetiştirilen sineklerin kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayıları karşılaştırıldığında dört deney düzeneği için de ortalamaların farklı olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu sonuç, ponceau 4R (kırmızı-E 124) de olduğu gibi tartrazine (sarı-E 102) uygulamalarında da kantaron, devedikeni ve karabaş özütlerinin sarı renkteki gıda boyasının oluşturduğu genotoksisiteyi önlemede yetersiz kaldığını açıkça göstermektedir.

Pea green (yeşil-E 102+E 133) ile çalışılan deneysel gruplardan elde edilen sonuçlar ponceau 4R (kırmızı-E 124) ve tartrazine (sarı-E 102) uygulama verilerine

oldukça benzemektedir. Pea green (yeşil-E 102+E 133) uygulamaları *Drosophila* bireylerinin normal ve serrat kanatlarında SMART testi ile değerlendirildiğinde bu boyanın mutajen etki gösterdiği net bir şekilde ortaya çıkmıştır. Pea green (yeşil-E 102+E 133)'in *Drosophila* heterozigot larvalarının embriyonik gelişimi sırasında kanat kılı hücrelerine gelişecek olan imajinal disk hücrelerine genotoksik etki gösterdiği ve bu somatik hücrelerdeki mutasyon veya rekombinasyonun neden olduğu genotipik değişimlerin de kanatlardaki mutant benek sayısının artmasında rol oynadığı net olarak anlaşılmaktadır. Çalışma bulgusu, pea green (yeşil-E 102+E 133)'in toksik etkilerinin incelendiği aşağıdaki araştırma ile uyum göstermektedir. Uysal ve Semerdöken'in (2011) [20] *Drosophila* Oregon R yabanıl soyunun 72±4 saatlik larvaları üzerine pea green (yeşil-E 102+E 133)'in konsantrasyon artışına bağlı olarak artan toksisite gösterdiğini bildiren araştırması bu tez çalışma sonucunu destekler durumdadır.

Ponceau 4R (kırmızı-E 124) ve tatrazine (sarı-E102) de olduğu gibi, kantaron, devedikeni ve karabaş bitki özütlerinin yeşil renkli bu boyanın oluşturduğu mutasyonlara karşı yararlı herhangi bir etki gösterdiğini söyleyebilmek istatistiki değerler etrafında mümkün değildir. Çünkü pea green (yeşil-E 102+E 133)'in üç farklı konsantrasyonunu içeren deney grubu ile pea green (yeşil-E 102+E 133) konsantrasyonlarına ayrı ayrı kantaron, devedikeni ve karabaş özütlerinin eklendiği tedavi gruplarına ait besiyerlerinde yetiştirilmiş sineklerin kanatlarında saptanan mutant benek toplam sayıları karşılaştırıldığında dört deney düzeneği için ortalamaların farklı olmadığı görülmektedir.

Literatür incelendiğinde kantaron, devedikeni ve karabaş özütlerinin antigenotoksik özelliklerinin *D. melanogaster* Meigen'de ortaya konmasıyla ilgili çok sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Bu bitkisel özütlerin yer aldığı çeşitli model organizmalarda, farklı test sistemleri ile değerlendirilen benzer çalışmalara aşağıda yer verilmiştir;

Neo ve arkadaşları (2011) [97] kantaronun %2.5, %5, %12.5 ve %50'lik konsantrasyonlarda denatüre proteinlerin ifadesini baskılayarak *Drosophila* hücrelerindeki hücre ölümünü yavaşlattığını (%5'in haricindeki diğer konsantrasyonlarda) bildirmişlerdir. Ferguson ve arkadaşları (2012) [98] çalışmalarında kantaron bileşenlerinden biri olan hiperisinin ‰0.01'lik konsantrasyonunu ile kantaronun ‰4 ve ‰8'lik konsantrasyonlarının artan konsantrasyona bağlı olarak fare

meme kanseri hücrelerinin büyümesini önemli ölçüde inhibe ettikleri sonucuna ulaşmışlardır. Uysal ve arkadaşları (2007) [99] *D. melanogaster* Meigen bireylerine *Hypericum perforatum* L. (karabaş), *Pimpinella anisum* L. (anason), *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye), *Achillea millefolium* L. (civanperçemi), *Acorus calamus* L. bitki özütlerinin farklı konsantrasyonları uygulandığında, F_1 döllerinin ergine dönüşüm zamanında uzamaya neden olmadığını ancak biberiye ve karabaş özütlerinin konsantrasyon artışına bağlı olarak yavru sayısını arttırdığını ve en yüksek yavru sayısının eğirotu ve karabaşın 10 ml/100 ml ortam konsantrasyonunda elde edildiğini bildirmişlerdir. Branda ve arkadaşları (2006) [100] deneysel kanser modeli oluşturulmuş farelerde kemoterapötik ilaçların (Doksorubisin, Dosetaksel ve Siklofosfamid) toksisitesi üzerine diyet yoluyla alınan kantaron ve E vitamininin etkisini araştırdıkları çalışmalarında, E vitamininin bazı kemoterapötik ilaçların neden olduğu lökopeniyi (lökosit sayısının azalması) doza bağımlı olarak değiştirebildiği, kantaronun ise kemoterapiye bağlı toksisite üzerinde olumlu veya olumsuz herhangi bir etki göstermediği sonucuna ulaşmışlardır. Öz (2011) [101] burkitt lenfoma hastalığına ait hücre dizileri olan Daudi ve Namalwa üzerine kantaronun sitotoksik, antiproliferatif ve apoptotik etkilerini araştırdığı çalışmada kantaronun Namalwa ve Daudi hücrelerinin proliferasyonunu (hücrelerin kontrolsüz çoğalarak sayılarını arttırmaları) konsantrasyon ve zamana bağlı olarak azaltmanın yanı sıra 24. ve 48. saatlerdeki erken ve geç apoptozisi (programlanmış hücre ölümü) uyararak sitotoksik etki gösterdiği sonucuna ulaşmıştır. Güzey (2007) [102] akciğer kanseri, rahim ağzı adenokarsinomu ve fibroblast hücre kültürlerininde *Hypericum perforatum* L., *Hypericum montbrettii* Spach. ve *Hypericum origanifolium* Wild.'ın sitotoksik ve hücre çoğalmasını önleyici etkiler gösterdiğini bildirmiştir. Yücel (2006) [103] insan kanı lenfosit hücreleri üzerinde kantaron bileşenlerinden hiperisinin kardeş kromatid değişimi üzerine etkisini değerlendirdiği çalışmada düşük konsantrasyonlarda genotoksisite göstermeyen hiperisinin yüksek dozlarda genotoksik etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Yağan (2012) [104] L929 fare fibroblast hücre kültürlerinde Kazdağı'nda yetişen bazı *Hypericum* L. türlerinin (*Hypericum perforatum* L., *Hypericum kazdaghensis* Gemici&Leblebici, *Hypericum calycinum* L., *Hypericum perfoliatum* L., *Hypericum tetrapterum* Fries., *Hypericum olympicum* L., *Hypericum montbretii* Spach.) sitotoksik ve antioksidan özelliklerini araştırdığı çalışmasında tüm türlerin farklı

konsantrasyonlarda yüksek sitotoksik etki gösterdiği ve bitki özütünün elde edildiği organa ve konsantrasyonuna bağlı olarak *H. Perforatum* L.'un diğer türlerden daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonuçlarına ulaşmıştır. Ali ve arkadaşları (2001) [105] çalışmalarında kantaronun etken maddesi olan hiperisinin yanı sıra hipokrellin A ve hipokrellin B'nin insan nazofarinks, kolon ve mesane kanserleri hücre hatları üzerine hücre büyümesini azaltma yönünde etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Özen ve arkadaşları (2007) [106] kantaron bitki özütünün etken maddesi hiperisinin HL-60 lösemi hücre hatlarında uygulama konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiğini saptamışlardır. Peebles ve arkadaşları (2001) [107] kantaronun etken bileşeni olan hiperisinin HL-60 insan lösemi hücre hatlarında DNA topoizomeraz IIα enziminin çalışmasını baskılayarak lösemi hücrelerine karşı sitotoksik etkili olduğunu açığa çıkarmışlardır. Hostanska ve arkadaşları (2003) [108] insan habis hücre dizileri üzerine kantaronun aktif bileşenlerinden olan hiperforin ve hiperisinin birlikte gösterdikleri sitotoksik etkinin, bu hücrelerin büyümesini inhibe edip, proteaz yapısında olan kaspaz enzimlerinin aktivasyonunu tetikleyerek apoptozisi uyarması sonucunda gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir. Kapsokalyvas ve arkadaşları (2005) [109] metanol içinde hazırlanan kantaron özütünün uygulama konsantrasyonunda HL-60 lösemi hücrelerinin ölümüne neden olurken, kordon kanı hücrelerinde ise sitotoksik etki gösterdiği bulgularına ulaşmışlardır. Schempp ve arkadaşları (2002) [110] kantaron bileşenlerinden hiperforinin memeli melanom, glioblastom, lenfoma skuamöz hücreli karsinom, meme adenokarsinomu ve yumurtalık kanseri hücre hatları üzerine hücre çoğalmasını azaltıcı yönde etki ettiğini ayrıca meme adenokarsinomu hücrelerinde diğer kanser hücrelerine kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Martarelli ve arkadaşları (2004) [111] metanol içinde hazırlanan kantaron bitki özütünün insan prostat adenokarsinomu hücre hatlarındaki hücresel büyüme ve gelişimi %80, deneysel olarak kanser oluşturulmuş farelerde ise %70 oranında azalttığını saptamışlardır. Stavropoulos ve arkadaşları (2006) [112] metanol içinde hazırlanan kantaron özütünün insan mesane kanseri hücre dizilerindeki hücrelerin gelişimini %80-%86 oranında azaltan etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Zou ve arkadaşları (2010) [113] sıçanlarda feokromositoma PC12 hattı hücrelerine flavonoid bakımından zengin kantaron özütü uygulaması sonucunda hücre canlılığının arttığı ve apoptotik hücre oluşumunun azaldığı ayrıca bu hücrelerde hidrojen peroksit muamelesi

ile apoptozis oluşumu uyarıldıktan sonra hücresel canlılığın kaybolduğu sonuçlarına ulaşmışlardır.

Bayram (2011) [114] devedikeninin etken bileşenlerinden biri olan silibinin karaciğer kanseri hücre dizilerine etkisini immünohistokimyasal yöntemlerle incelediği çalışmasında silibinin hücre proliferasyonunu inhibe edici ve apoptozisi tetikleyici etkiler gösterdiğini bildirmiştir. Can (2014) [115] yaptığı çalışmada yüksek etkili karsinojen bir madde olan karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda içme suyu yoluyla alınan %10'luk konsantrasyondaki devedikeninin DNA hasarı düzeyinde azalışa ve apoptotik indeks oranında düşmeye neden olarak karaciğer hasarı oranını azalttığı sonuçlarına ulaşmıştır. Zi ve arkadaşları (1998) [116] devedikeni bileşenlerinden silimarinin meme kanserine karşı güçlü antikarsinojenik etki göstererek hücre büyümesi ve proliferasyonunu önlediğini ve meme kanserinde ilerlemeyi durdurduğunu bildirmişlerdir. Leea ve arkadaşları (2007) [117] devedikeni etken bileşeni silibinin insan meme karsinogenezisini baskıladığını tespit etmişlerdir. Zhou ve arkadaşları (2006) [118] devedikenine ait etken maddelerin sıçanlar üzerinde DNA hasarını azaltmada ve hücre döngüsünün düzenlemesinde etkili oldukları sonucuna ulaşmışlardır. Singh ve Agarwal (2005) [119] devedikeni etken maddesi silibinin deri kanserini önleyebilecek etkinlikte olduğunu tespit etmişlerdir. Tyagi ve arkadaşları (2004) [120] tarafından devedikeninin önemli bir bileşeni olan silibinin insan mesane kanseri hücreleri üzerine hücre siklusunu durdurucu ve apoptozisi tetikleyici etki gösterdiği bildirilmiştir. Yanaida ve arkadaşları (2002) [121] erkek sıçanlarda 4-nitrokuinolin 1-oksid ile oluşturulan dil karsinogenezisini devedikeninin baskıladığını ortaya koymuşlardır. Kohno ve arkadaşları (2002) [122] erkek sıçanlarda azotmetan ile indüklenmiş olan kolon kanserinin ilerlemesinin devedikeni tarafından inhibe edildiğini tespit etmişlerdir. Kohno ve arkadaşları bir başka çalışmalarında (2007) [123] devedikeni bitkisel özütünün insan prostat kanseri hücrelerinde apoptotik hücre ölümüne neden olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Garcı'a-Maceira ve Mateo (2009) [124] insanlardaki servikal ve karaciğer kanserlerinin devedikeni tarafından inhibe edildiğini bildirmiştir. Lah ve arkadaşları (2007) [125] karaciğer kanseri hücre dizilerinde silibinin konsantrasyona bağlı olarak hücre proliferasyonunu inhibe ederek apoptozisi teşvik ettiği sonucuna ulaşmışlardır.

Magro ve arkadaşları (2006) [126] *Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger* van Tieghem, *Penicillium* Link ve *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm) Sacc. mantarlarının depo ürünlerine karşı karabaş (*Lavandula stoechas* L.), papatya (*Anthemis nobilis* L.), tarçın (*Cinnamomum verum*), sarmısak (*Allium sativum* L.*)*, ebegümeci (*Malva sylvestris* L.*)* ve nane (*Mentha piperita* L.*)* özütlerinin antigenotoksik etkilerden biri olan fungistatik (mantar büyümesini geciktiren veya engelleyen) aktivitesini test ettikleri çalışmalarında, mantarların büyümesini en etkili inhibe edenlerin papatya ve ebegümeci olmakla birlikte en fazla etkinin ebegümecinde görüldüğü ve diğer bitkisel özütlerin ise etkisiz kaldığı sonuçlarına ulaşmışlardır. Kulcanay'ın (1998) [127] çalışma verileri *Lavandula stoechas* L. bitkisinin yaprak ve çiçek özütleri ile yağının *Salmonella typhimurium* üzerinde *Salmonella*/mikrozom test sistemleri ile değerlendirildiğinde mutajenik etkisinin olmadığını ayrıca *Bacillus subtilis* Cohn, *Serretia marcescens* Bizio, *Bacillus cereus* Frankland&Frankland, *Klebsiella pneumania* Trevisan patojen bakterilerine karşı antibakteriyel etkisi bulunurken, *Escherichia coli* Castellani ve Chalmers, *Salmonella typhimurium*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus* Rosenbach, *Enterobacter aerogenes*'e karşı etkinliği bulunmadığını göstermektedir. Ayral (1997) [128] *Lavandula stoechas subsp. stoechas* bitkisinin toprak üstü kısımlarını uçucu yağ bileşikleri, toprak altı organlarını ise uçucu olmayan bileşenler bakımından incelediği çalışmasında karabaşın uçucu yağ bileşenlerinden bazılarının antibakteriyal etkileri bulunduğunu ve farklı kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkilerinin oldukça güçlü olduğunu bildirmiştir. Yenici (1999) [129] yaptığı çalışmada karabaşın etil alkol ve su ile hazırlanan özütlerinin fibrinolitik sisteme etkilerini incelemiştir. Kanserde artmış olan koagülasyona (pıhtılaşma) destek veren mekanizma hasar görmüş yani normal fonksiyonundan daha düşük fibrinolitik (damar içinde oluşan pıhtıların çözünmesi) aktivite göstermektedir. *Lavandula stoechas subsp. stoechas* bitki özütlerinin fibrinolitik sistemin çalışmasını aktive ettiği sonucuna ulaşmıştır. Santos ve arkadaşları (2015) [130] *D. melanogaster* Meigen üzerinde Lavandula cinsine ait *Lavandula angustifolia* Mill. ile *Calendula officinalis* L.'in genotoksisitesini ve antigenotoksisitesini SMART ile değerlendirdikleri çalışmalarında her iki bitkisel özütün sekiz hafta boyunca sürgün sayısı ve uzunluğu incelendiğinde genotoksik etkili olduğunu ancak *Calendula officinalis*'in antigenotoksik etkiye sahip iken *Lavandula angustifolia*'in antigenotoksik özelliğinin bulunmadığını ifade etmişlerdir. Evandri ve

arkadaşları (2005) [131] çalışmalarında *Lavandula angustifolia* (Lavanta) yağının *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* Castellani ve Chalmers üzerinde mutajenik etkisinin bulunmadığını, ancak güçlü antimutajenik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Rahimifard ve arkadaşları (2010) [132] *Lavandula angustifolia* Mill. (lavanta) ve *Elettaria cordamomum* (L.) Maton (kakule) yağlarının *Salmonella typhimurium*'a ait suşlarda mutajenik etkileri bulunmamakla birlikte antimutagenik aktivitelerinin olduğunu ifade etmişlerdir. Martino ve arkadaşları (2009) [133] tarafından *Lavandula angustifolia* Mill. (lavanta), *Melissa officinalis* L. (oğulotu), *Ocimum basilicum* L. (Fesleğen), *Hyssopus officinalis* L. (zufaotu), *Origanum vulgare* L. (karakınık), *Salvia officinalis* L. (adaçayı) ve *Thymus vulgaris* L. (kekik) yağlarının *Salmonella typhimurium*'un iki suşu üzerinde Ames testi ile yapılan değerlendirmede mutajenik aktivite göstermediği, altı patojenik ve beş patojen olmayan bakteri suşuna karşı kekik yağının en güçlü antibakteriyel aktiviteyi gösterdiği ve altı mantar suşuna karşı antifungal etkinliğin yağlarda farklı derecelerde görüldüğü ortaya konmuştur.

Yukarıda bahsedilen araştırmaların sonuçları ile tez çalışması bulguları birbirleriyle paralellik göstermemektedir. Buna göre, çalışmadan elde edilen veriler *Drosophila* bireylerini sentetik gıda boyalarının genotoksisitesine karşı korumada bitkisel özütlerin tek doz olarak çalışılan %10'luk konsantrasyonda etkisiz kaldığını göstermektedir. Bu özütlerin farklı konsantrasyonlarda ve daha uzun sürelerde uygulamaları ile etkinliklerinin belirlenebileceği daha fazla temel ve klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu ayrıca bu bitkisel özütlerinin birlikte kullanımlarının yanı sıra çeşitli ilaçlara ilave olarak uygulanabilirliklerinin araştırılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmanın literatürde sentetik gıda boyalarının çeşitli deneysel organizmalar üzerine toksikolojik, histopatolojik, karsinojenik ve teratojenik etkisi konulu çeşitli bilimsel araştırmalara katkı sağlayabileceği ve daha sonra yapılacak benzer deneylere kaynak oluşturabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada kullanılan gıda boyalarının genotoksisitesi ile bitkisel özütlerin antigenotoksisitesine ait moleküler mekanizmaların ve dağılımlarının açıklanabilmesi için ise farklı model organizmalar ile in vivo ve in vitro test sistemleri kullanılarak ileri düzeyde ve daha fazla bilimsel çalışmanın yapılmasına gerek duyulmaktadır.

Gıda katkı maddelerinin binleri bulan çeşiti ve yaşam boyu yaygın kullanımları sebebiyle zararlarını saptayabilecek araştırmaların yapılabilmesi oldukça güçtür [4]. Yasalara uygun sınırlamalar olarak tanımlanan; izin verilen besinlerde, uygun gıda katkı maddeleri ve bu maddelerin gerekli miktarlarının kullanımı, ihlal edildiğinde toplum sağlığını etkileyebilecek sağlık riskleri ortaya çıkabilmektedir [9]. Gıda katkı maddeleri alerji, egzema, kurdeşen, ürtiker, astım, anjioödem, baş ağrısı, sinir bozukluğu, davranış bozukluğu, migren, gastrointestinal rahatsızlıklar, çeşitli zehirlenmeler, depresyon, tümör oluşumları ve hiperaktivite gibi istenmeyen durumlar yaratmaktadır [5].

Deneysel toksisite çalışmaları ve epidemiyolojik kanıtlar gıda boyalarından özellikle sentetik olanların, düşük kaliteyi yüksek göstermek adına gelişi güzel ve tüzük dışı kullanılması halinde karsinojenik olabileceğini göstermektedir [9,10]. Ülkemizde bu konuyla ilgili olarak yapılan birçok çalışmada gıda boyaları düzeyinin izin verilen sınırların çok üzerinde olduğu bildirilmiştir [9, 11, 12]. Gıda boyalarının aşırı duyarlılık, astım, deri döküntüleri, migren, erken doğum, aspirin duyarlılığı ve kanserleşmeye yol açtığı da belirtilmektedir [13, 14].

Somatik mutasyon ve rekombinasyon testinin in vivo şartlarda uygulanabilmesi [16, 17] ve farklı kimyasal maddelerin genotoksik ve antigenotoksik etkilerinin araştırılmasında model organizma olarak memelilerin yerine aşağı organizasyonlu ökaryotik *D. melanogaster* Meigen'in kullanılabilmesi nedeniyle bu çalışmadan elde edilen sonuçlar dikkate değerdir. Ayrıca, *Drosophila* larvalarında bulunan ve ergin evrede vücut kısımlarını oluşturmak üzere çoğalma ve farklılaşmaya uğrayan imaginal disk hücrelerinin biyolojik özelliklerinin kansere hassas birçok memeli hücresi ile benzerlik göstermesi ve *Drosophila* genomu ile insan genetik hastalıklarında belirlenen genlerin %60'ından fazlasının ortak olması [15] da çalışma bulguların değerini daha da arttırmaktadır.

Gıda katkı maddeleriyle yapılan benzer çalışmalarda da gösterildiği gibi tez çalışmasında yer alan gıda boyalarının yönetmeliğe uygun olmayan şekilde kullanımı insanlar üzerinde toksik etkiler oluşturabilir. Bu nedenle, gıda katkılarının halk sağlığı açısından daha kontrollü olarak tüketilmeleri gerekmektedir. Sentetik gıda boyalarının yarattığı hasarlara karşı genomik stabilitenin devamlılığını sağlayabilecek olan bitki özütlerinin etkinliğinin ve güvenilirliğinin belirlenmesi hem günümüz hem de gelecek nesillerin sağlığıyla yakından ilgilidir. Çalışmada kullanılan sentetik gıda boyalarının ve

bitkisel özütlerin oluşturduğu etkiler dikkate alınarak beslenme alışkanlarının değiştirilmesi ile toplum sağlığı korunmaya çalışılmalıdır. Bu gıda boyaları ve bitkisel özütler ile ilgili olarak yapılacak olan gelecek çalışmalar insanların ilerleyen yıllarda da sağlıklı yaşamlarının devamlılığı açısından büyük önem taşıyacaktır.

KAYNAKLAR

[1]. M. Akbulut, ***Gıda Katkı Maddeleri: Fonksiyonları ve Kaynakları***, 1.Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, Ankara,19-20 Kasım, 2011.

[2]. Ü. C. Atman, ***Gıda Katkı Maddeleri ve Gıda Kontrolü***, Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi, 13(3), 86-88, (2004).

[3]. http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/06/20130630-4.htm Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği (erişim:18.04.2016)

[4]. S. Bilgiç, ***Gıda Katkı Maddeleri ve Sağlığa Etkileri***, Sağlık ve Afiyet, 11, 2-52, 2012.

[5]. Z. E. Çalışır, D. Çalışkan, ***Gıda Katkı Maddeleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri***, J. Fac. Pharm, 32, 3, 193-206, (2003).

[6]. H. Doğruyol, ***Gıdalardaki Katkı Maddeleri ve Zararları Çocukluk Hiperaktivitesi***, Güncel Pediatri, 2, 42-48, (2006).

[7]. K. A. Amin, H. A. Hameid, A. H. Abd Elsttar, ***Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats***, Food Chem Toxicol, 48, 2994-2999, (2010).

[8]. H. B. Sowbhagya, S. Smitha, S.R. Sampathu, N. Krishnamurthy, S. Bhattachary, ***Stability of water-soluble turmeric colourant in an extruded food product during storage***, J Food Eng, 67, 367-371, (2005).

[9]. G. Arslan, ***Gıda Katkı Maddeleri ve Yeni Yapılan Dioksimlerin Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması***, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Ensitüsü, Konya, (2001).

[10]. G. Yentür, A. Ekşi, A. Bayhan, ***Ankara piyasasından sağlanan pasta süsleri ve bazı şekerlerde sentetik boya miktarlarının araştırılması***, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 43, 479-484, (1996).

[11]. S. Mamur, ***Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Sodyum Sorbat ve Potasyum Sorbat'ın İnsan Periferal Lenfositlerinde Genotoksik Etkileri***, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (2009).

[12]. E. Maier, K. Kurz, M. Jenny, H. Schennach, ***Food preservatives Sodium Benzoate and Propionic Acid and colorant Curcumin suppress Th1-type immune response in vitro***, Food Chem Toxicol, 48, 1950-1956, (2010).

[13]. R. Sarıkaya, M. Selvi, N. Akkaya, M. Acar, F. Erkoç, ***Farklı Konsantrasyonlardaki Gıda Boyalarının Drosophila melanogaster (mwh x flr)'de Yaşama Yüzdesi Üzerine Etkisi***, SDÜ Fen Dergisi, 5, 38-46, (2010).

[14]. H. Topsoy, ***Bazı Şekerli Gıdalara Katılan Sentetik Boyaların Miktar Tayini***, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (1990).

[15]. M. Yaman, ***Bazı Gıda Maddelerine Katılan Sentetik Boya Miktarının Araştırılması***, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sosyal Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (1996).

[16]. A. Bernards, I. K. Hariharan, ***Of flies and men- studying human disease in Drosophila***, Curr Opin Genet Dev, 11, 274-278, (2001).

[17]. U. Graf, F. E. Wurgler, A. J. Katz, H. Frei, H. Juan, C. B. Hall, P. G. Kale, ***Somatic mutation and recombination test in Drosophila melanogaster***, Environ. Mutagen, 6, 153-188, (1984).

[18]. U. Graf, F. E. Wurgler, ***The somatic white-ivory eye spot test does not detect the same spectrum of genotoxic events as the wing somatic mutation and recombination test in Drosophila melanogaster***, Environ. Mol. Mutagen, 27, 219-226, (1996).

[19]. K. T. Niraj, K. P. Kalyani, M. J. Nabi, ***Genotoxcicity of Tartrazine Studied in Two Somatic Assays of Drosophila melanogaster***, Mutation Research, 224, 479-483, (1989).

[20]. R. Sarıkaya, M. Selvi M, F. Erkoç, ***Evaluation of potential genotoxicity of five food dyes using the somatic mutation and recombination test***, Chemosphere, 88(8), 974-979, (2012).

[21]. H. Uysal, S. Semerdöken, ***Sentetik Gıda Boyalarının Drosophila melanogaster'in Oregon R Soyunda Larval Toksisite ve Ergin Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi***, Kafkas Üniv Fen Bil Enst Derg 4(1), 71-87, (2011).

[22]. S. Semerdöken, ***Gıda Maddelerine Katılan Bazı Sentetik Azo Gıda Boyalarının Drosophila melanogaster'in Oregon R Yabanıl ve Vestigial Mutant Soylarında Larval Mortalite ve Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri***, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, (2012).

[23]. M. Poul, G. Jarry, M. O. Elhkim, J. M. Poul, ***Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice***, Food and Chemical Toxicology, 47, 443-448, (2009).

[24]. H. Uysal, S. Semerdöken, D. A. Çolak, A. Ayar, ***The hazardous effects of three natural food dyes on developmental stages and longevity of Drosophila melanogaster***, Toxicol Ind Health, 31(7), 624-629, (2015).

[25]. V. K. Macioszek, A. K. Kononowicz, ***The evaluation of the genotoxicity of two commonly used food colors: Quinoline Yellow (E 104) and Brilliant Black BN (E 151)***, Cell Mol Biol Lett, 9(1), 107-122, (2004).

[26]. D. McCann, A. Barrett, A. Cooper, D. Crumpler, L. Dalen, K. Grimshaw, ***Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial***, Lancet, 370, 9598, 1560-1567, (2007).

[27]. I. Koutsogeorgopoulou, C. Maravelias, G. Methenitou, A. Koutselinis, ***Immonplogical aspects of the common food colorants, amaranth and tartrazin***, Veterinary and Human Toxicology, 40, 1-4, (1997).

[28]. R. Pohl, R. Balon, R. Berchou, V.K. Yeragani, ***Allergy to Tartrazin in antidepressants***, The American Journal of Psychiatry, 144, 237-238, (1987).

[29]. M.S. Bhatia, ***Alergy to Tartrazin in alprazolam***, Indian Journal of Medical Sciences, 5, 285-286, (1996).

[30]. J. Devlin, T. J. David, ***Tartrazin in atopic eczama***, Archives Diseases in Chidhood, 67, 709-711, (1992).

[31]. R. M. Paterson, J.S. Butler, ***Tartrazine-induced chromosomal aberations in mammalian cells***, Food and Chemical Toxicoogy, 20, 461-5, (1982).

[32]. S. Kalender, ***Sodyum Benzoat ve Tartrazinin Fare Dermal ve İnce Bağırsak Bağ Dokusu Mast Hücrelerinde Degranülasyon Etkileri***, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (1997).

[33]. S. Sharma, R. P. Goyal, G. Chakravarty, A. Sharma, ***Toxicity of tomato red, a popular food dye blend on male albino mice***, Experimental Toxicology and Pathology, 60, 51-57, (2008).

[34]. N. K. Tripathy, M. J. Nabi, G. P. Sahu, A. A. Kumar, ***Genotoxicity testing of two red dyes in the somatic and germ line cells of Drosophila***, Food Chem Toxicol, 33(11), 923-7, (1995).

[35]. J. Ingemi, Dr. Sumner, ***Examining Mutagenic Effects of Tartrazine on Drosophila melanogaster***, Stream A, (2010).

[36]. Y. F. Sasaki, S. Kawaguchi, A. Kamaya, M. Ohshita, K. Kabasawa, K. Iwama, K. Taniguchi, S. Tsuda, ***The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives***, Mutat. Res.-Genet. Toxicol. Environmental Mutagenesis, 519 (1-2), 103-119, (2002).

[37]. P. Mpountoukas, A. Pantazaki, E. Kostareli, P. Christodoulou, S. Poliliou, C. Mourelatos, V. Lambropoulou, T. Lialiaris, ***Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine***, Food Chem Toxicol, 48, 2934-2944, (2010).

[38]. M. Romero-Jiménez, J. Campos-Sánchez, M. Analla, A. Muñoz-Serrano, Á. Alonso-Moraga, ***Genotoxicity and anti-genotoxicity of some traditional medicinal herbs***. Mutat. Res., 585, 147-155, (2005).

[39]. M. Idaomar, R. El Hamss, F. Bakkali, N. Mezzouga, A. Zhiri, D. Baudoux, A. Muñoz-Serrano, V. Liemans, A. Alonso-Moraga, ***Genotoxicity and antigenotoxicity of some essential oils evaluated by wing spot test of Drosophila melanogaster***, Mutat. Res., 513, 61-68, (2002).

[40]. P. Laohavechvanich, K. Kangsadalampai, N. Tirawanchai, A. J. Ketterman, ***Effect ofdiffirent Thai traditional processing of various hot chili peppers on urethane-induced somatic mutation and recombination in Drosophila melanogaster: Assesment of the role of glutathione transferase activity***, Food and Chemical Toxicology, 44, 8, 1348-1354, (2006).

[41]. R. El Hamms, M. Idaomar, A. Alonso-Moraga, A. M. Serrano, ***Antimutagenic properties of bell and black peppers***, Food and Chemical Toxicology, 41, 41-47, (2003).

[42]. P. Ramirez-Victoria, J. Guzman-Rincon, J. J. Espinosa-Aguirre, S. Murillo-Romero, ***Antimutagenic effect of one variety of green pepper (Capsicum spp.)and its possible interference with the nitrosation process***, Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 496, 1-2, 39-45, (2001).

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

[44]. U. Graf, S. K. Abraham, J. Guzmán-Rincón, F. E. Würgler, ***Antigenotoxicity studies in Drosophila melanogaster***, Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 402, 1-2, 203-209, (1998).

[45]. Y. M. Li, H. Y. E. Chan, X. Q. Yao, Y. Huang, Z. Y. Chen, ***Green tea catechins and broccoli reduce fat-induced mortality in Drosophila melanogaster***, Journal of Nutritional Biochemistry, 19, 6, 376-383, (2008).

[46]. Y. M. Li, H. Y. E. Chan, Y. Huang, Z. Y. Chen, ***Broccoli (Brassica oleraceavar. botrytis L.) improves the survival and up-regulates endogenous antioxidant enzymes in Drosophila melanogaster challenged with reactive oxygen species***, Journal of the Science of Food and Agriculture, 88, 3, 499-506, (2008).

[47]. A. Patenkovic, M. Stamenkovic-Radak, T. Banjanac, M. Andjelkovic, ***Antimutagenic effect of sage tea in the wing spot test of Drosophila melanogaster***, Food and Chemical Toxicology, 47, 180-183, (2009).

[48]. M. Kaur, R. P. Singh, M. Gu, R. Agarwal, C. Agarwal, ***Grape seed extract inhibits in vitro and in vivo growth of human colorectal carcinoma cells***, Clin.Cancer Res., 12, 6194-6202, (2006).

[49]. E. Demir, S. Kocaoğlu, H. Çetin, B. Kaya, ***Antigenotoxic effects of Citrus aurentium L. fruit peel oil on mutagenicity of two alkylating agents and two metals in the Drosophila wing spot test***, Environ. Mol. Mut., 50, 483-488, (2009).

[50]. M. Gürbüzel, ***Bazı Mikotoksinlerin Drosophila melanogaster'de Oluşturdukları Genotoksik Etkiler Üzerine Teucrium polium Bitkisinin Antigenotoksik Etkilerinin Araştırılması***, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, (2011).

[51]. T. Negishi, S. Arimoto, C. Nishizaki, H. Hayatsu, ***Inhibitory effect of chlorophyll on the genotoxicity of 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trp-P-2)***, Carcinogenesis, 10, 145-149, (1989).

[52]. O. Olvera, C. Arceo, S. Zimmering, ***Chlorophyllin [CHLN] and the mutagenicity of monofunctional alkylating agents in Drosophila: The action of CHLN need not include an influence on metabolic activation***, Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 467(2), 113-117, (2000).

[53]. M. R. Wheeler, ***The Drosophilidae: A Taxonomic overview. In: The Genetics and Biology of Drosophila***, M. Ashburner, H. L. Carsen, J. Thompson, J. N. Academic Press, Vol. 3a, p 1-84, London, (1981).

[54]. L. Özata, ***Bazı Tekstil Boyalarının Drosophila melanogaster Üzerinde Toksik ve Genotoksik Etkilerinin Araştırılması***, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, (2006).

[55]. Y. Gui, A. Grant, ***Join effects of density depence and toxicant exposure on Drosophila melanogaster populations***, Ecotoxicology and Environmental Safety, 70, 236-243, (2008).

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

[57]. F. E. Würgler, E. W. Vogel, ***In vivo mutagenicity testing using somatic cells of Drosophila melanogaster. In chemical mutagens***, ***Principle and medhods for their detection***, F. E. Würgler, E. W. Vogel, Plenum Press, Vol. 10, p 1-73, New York, (1986).

[58]. I. G. Mitchell, R. D. Combes, ***Mutation tests with the fruit fly Drosophila melanogaster***, ***Mutagenicity testing a practical approach***, S. Venitt, I. M. Parry, IPRL, p 149-185, Oxford, (1984).

[59]. http://becatara.jimdo.com/2012/07/26/drosophila-melanogaster-life-cycle-25/ (erişim:18.05.2016)

[60]. I. McMillan, M. Fitz-Earl, D. S. Rabson, ***Quantitative Genetics of Fertility II. Life Time Egg Production of Drosophila melanogaster***, Therotical. Genetics, 65, 349-353, (1970) .

[61]. M. Ashburner, J. R. Thompson, ***The Laboratory Culture of Drosophila, In The Genetics and Biology of Drosophila***, M. Ashburner, T. R. F. Wright, Academic Press, Vol. 2a, p 2-81, London, (1978).

[62]. U. Graf, D. Singer, ***Genotoxicity testing of promutagens in the wing somatic mutation and recombination test in Drosophila melanogaster***, Revista Internacional de Contaminacion Ambiental, 8, 15-27, (1992).

[63]. G. Olgun, S. Yurtsever, ***Genetik Laboratuar Klavuzu***, Trakya Ünv. Rektörlüğü Yayınları, No:56, (2003).

[64]. V. S. Houk, ***The genotoxicity of indüstrial wastes and effluents***, Mutataion Research, 277, 91-139, (1992).

[65]. https://en.wikipedia.org/wiki/Tartrazine (erişim:18.05.2016)

[66]. http://wwwchem.uwimona.edu.jm/lectures/foodcol.html (erişim:18.05.2016)

[67]. https://en.wikipedia.org/wiki/Ponceau_4R (erişim:18.05.2016)

[68]. https://en.wikipedia.org/wiki/Hypericum_perforatum (erişim:18.05.2016)

[69]. https://tr.wikipedia.org/wiki/Sar%C4%B1_kantaron (erişim:18.05.2016)

[70]. https://en.wikipedia.org/wiki/Silybum_marianum (erişim:18.05.2016)

[71]. J. Feher, I. Lan, G. Deak, A. Cornides, ***Free radicals in tissue damge in liver diseases and therapeutic approach***, Tokai J Exp Vlin Med, 11, 121-134, (1986).

[72]. H. Hikino, Y. Kiso, ***Antihepatotoxic actions of flavonolignans from silybum marianum fruits***, Planta Medica, 50, 248-250, (1984).

[73]. H. Faulstich, W. Jahn, T. Wieland, ***Silibinin inhibition of amatoxin uptaki in the perfused rat liver***, Arzneim-Forsch Drug Res, 30, 452-454, (1980).

[74]. https://en.wikipedia.org/wiki/Lavandula_stoechas (erişim:18.05.2016)

[75]. S. Orhan, ***Karabaş (Lavandula stoechas L.) Bitkisinin Farklı İn vitro Besin Ortamlarında Kültüre Alınması***, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, (2007).

[76]. B. Öztürk, S. Konyalıoğlu, G. Kantarcı, D. Çetinkol, ***İzmir Yöresindeki Yabani Lavandula stoechas L. subsp. stoechas Taksonundan Elde Edilen Uçucu Yağın Bileşimi, Antibakteriyel, Antifungal ve Antioksidan Kapasitesi***, ANADOLU, J. of AARI, MARA. 15(1), 61-72, (2005).

[77]. N. Vural, ***Genel Toksikoloji***, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:48, (2005).

[78]. Z. A. Şekeroğlu, V. Şekeroğlu, ***Genetik Toksisite Testleri***, TÜBAV Bilim 4(3), 221-229, (2011).

[79]. F. Ü. Alkan, C. Anlaş, ***Genotoxicity Tests and Genotoxic Poisons***, J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics 1(1), 69-74, (2015).

[80]. K. Mortelmans, S. D. Rupa, ***Current issues in genetic toxicology testing for microbiologists***, Adv Appl Microbiol, 56, 379-401, (2004).

[81]. E. Zeiger, ***History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal***, Environ Mol Mutagen, 44, 363-371, (2004).

[82]. E. E. Doğan, ***Bazı Flavonoidlerin Drosophila melanogaster' de Antigenotoksik Aktivitesi ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması***, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, (2008).

[83]. R. Mateuca, N. Lombaert, P. V. Aka, I. Decordier, M. Kirsch-Volder, ***Chromosomal changes: induction, detection, methods, and applicability in human biomonitoring***, Biochimie, 88, 1515-1531, (2006).

[84]. G. B. Jena, C. L. Kaul, P. Ramarao, ***Genotoxicity testing, a regulatory requirement for drug discovery and development: impact of ICH guidelınes***, Indian Journal of Pharmacology, 34, 86-99, (2002).

[85]. E. J. Fragiorge, A. A. Rezende, U. Graf, M. A. Spano, ***Comparative genotoxicity evaluation of imidazolinone herbicides in somatic cells of Drosophila melanogaster***, Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 46(1), 393-401, (2008).

[86]. D. S. Henderson, ***Drosophila Cytogenetic Protocols***, Humana Press, p 389, Totowa, New Jersey, (2004).

[87]. E. Yeşilada, ***Genotoxicity Testing of Some Metals in the Drosophila Wing Somatic Mutation and Recombination Test***, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 66, 464-469, (2001).

[88]. B. Kaya, ***Bazı Pestisitlerin Drosophila melanogaster Hatlarında Mutajenik ve Rekombinojenik Etkilerinin Araştırılması***, Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, (2000).

[89]. D. L. Lindsley, E. H. Grell, ***Genetic variations of Drosophila melanogaster***, Carnegie Institututions of Washington Publ., 627, p 472, Washington DC, (1968).

[90]. D. L. Lindsley, G. G. Zimm, ***The Genome of Drosophila melanogaster***, Academic Press, p 1133, San Diego, CA, (1992).

[91]. A. Garcia-Bellido, J. Dapena, ***Induction, detection and characterization of cell differentiation mutations in Drosophila***, Mol. Gen. Genet., 128, 117-130, (1974).

[92]. U. Graf, H. Frei, A. Kagi, A. J. Katz, F. E. Würgler, ***Thirty compounds tested in Drosophila wing spot test***, Mutat. Res., 222, 359-373, (1989).

[93]. V. N. Schaik, U. Graf, ***Genotoxicity evaluation of five tricyclic antidepressant in the wing somatic mutation and recombination test in Drosophila melanogaster***, Mutat. Res., 260, 99-104, (1991).

[94]. U. Graf, ***Analysis of the relationship between age of larvae at mutagen treatment and frequency and size of spots for the wing somatic mutation and recombination test in Drosophila melanogaster***, Experimentia, 51, 168-173, (1995).

[95]. B. Kaya, A. Yanıkoğlu, R. Marcos, ***Genotoxicity studies on the phenoxyacetates 2,4-D and 4-CPA in the Drosophila wing spot test***, Teratogen. Carcinogen. and Mutagen., 19, 305-312, (1999).

[96]. M. Zordan, M. Osti, M. Pesce, R. Costa, ***Chloral hydrate is recombinogenic in the wing spot test in Drosophila melanogaster***, Mutat. Res., 322, 111-116, (1994).

[97]. http://documentslide.com/documents/investigating-the-effects-of-st-johns-wort-on-colorectal-cancer-and-drosophila.html (erişim:01.11.2016)

[98]. A. Ferguson, C. Morris, J. Curley, ***Hypericum perforatum Extracts and Hypericin Treatment of a Mouse Mammary Cancer Cell Line Induces Growth Inhibition in a Dose Dependent Manner***, The Journal of Experimental Secondary Science January Vol. 1, Issue 3, p 14-18, (2012).

[99]. H. Uysal, A. A. Kara, O. F. Algur, R. Dumlupinar, M. N. Aydogan, ***Recovering effects of aqueous extracts of some selected medical plants on the teratogenic effects during the development of D. melanogaster***, Pak J Biol Sci., 15, 10(10), 1708-1712, (2007).

[100]. R. F. Branda, C. Powden, E. M. Brooks, Z. Yildirim, S. J. Naud, J. J. McCormack, **Vitamin E but not St. John's wort mitigates leukopenia caused by cancer chemotherapy in rats,** Transl Res., 148(6), 315-324, (2006).

[101]. Ö. Öz, ***Kantaron'un Burkitt Lenfoma Hücre Dizileri Olan Daudi ve Namalwa'da Sitotoksik, Antiproliferatif ve Apoptotik Etkileri***, Tıpta Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aydın, (2011).

[102]. G. Güzey, ***A549, HeLa ve NIH3T3 Hücre Kültürlerinde Hypericum perforatum, Hypericum montbrettii ve Hypericum origanifolium Türlerinin Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkileri***, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, (2007).

[103]. N. K. Yücel, ***Kantaron Otundan (Hypericum perforatum) Elde Edilen Hyperisin Maddesinin İnsan Lenfosit Kültürlerinden Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Üzerine Etkisi***, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, (2006).

[104]. B. D. Yağan, ***Kazdağı'nda Yetişen Bazı Hypericum L. Türlerinin Antioksidan Madde İçerikleri ve Sitotoksik Özelliklerinin İrdelenmesi***, Doktora Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, (2012).

[105]. S. M. Ali, S. K. Chee, G. Y. Yuen, M. Olivo, ***Hypericin and hypocrellin induced apoptosis in human mucosal carcinoma Cells***, J Photochem Photobiol B, 65, 59-73, (2001).

[106]. K. P. Ozen, F. Sahin, C. B. Avcı, Y. Hisil, C. Gündüz, G. Saydam, ***Hypericium perforatum extract (St. John's Wort) and hypericin induce apoptosis in leukemic HL-60 cells by effecting h TERT activity***, Turk J Hematol, 24, 127-133, (2007).

[107]. K. A. Peebles, R. K. Baker, E. U. Kurz, B. J. Schneider, D. J. Kroll, ***Catalytic inhibition of human DNA topoisomerase IIα by hypericin, a naphthodianthrone from St. John's wort (Hypericum perforatum)***, Biochem pharmacol, 62, 1059-1070 (2001).

[108]. K. Hostanska, J. Reichling, S. Bommer, M. Weber, R. Saller, ***Hyperforin a constituent of St John's wort (Hypericum perforatum L.) extract induces apoptosis by triggering activation of caspases and with hypericin synergistically exerts cytotoxicity towards human malignant cell lines***, Eur J Pharm Biopharm, 56(1), 121-132, (2003).

[109]. D. Kapsokalyvas, H. Dimitriou, D. Skalkos, G. Konstantoudakis, G. Filippidis, E. Stiakaki, T. Papazoglou, M. Kalmanti, ***Does Hypericum perforatum L. extract show any specificity as photosensitizer for HL-60 leukemic cells and cord blood hemopoietic progenitors during photodynamic therapy?***, J Photochem Photobiol B, 80, 208–216, (2005).

[110]. C. M. Schempp, V. Kirkin, B. Simon-Haarhaus, A. Kersten, J. Kiss, C. C. Termeer, B. Gilb, T. Kaufmann, C. Borner, J. P. Sleeman, J. C. Simon, ***Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's wort that acts by induction of apoptosis***, Oncogene 21(8), 1242-1250, (2002).

[111]. D. Martarelli, B. Martarelli, D. Pediconi, M. I. Nabissi, M. Perfumi, P. Pompei, ***Hypericum perforatum methanolic extract inhibits growth of human prostatic carcinoma cell line orthotopically implanted in nude mice***, Cancer Lett., 210, 27-33, (2004).

[112]. N.E. Stavropoulos, A. Kim, U. U. Nseyo, I. Tsimaris, T.D. Chung, T. A. Miller, ***Hypericum perforatum L. extract-Novel photosensitizer against human bladder cancer cells***, J Photochem Photobiol B, 84, 64-69, (2006).

[113]. Y. P. Zou, Y. H. Lu, D. Z. Wei, ***Protective effects of a flavonoid-rich extract of Hypericum perforatum L. against hydrogen peroxide-induced apoptosis in PC12 cells***, Phytother Res., 24, 1, 6-10, (2010).

[114]. D. Bayram, ***Silybum marianum Bitkisinin in Vitro Ortamda Karaciğer Kanseri Hücre Hatları Üzerine Etkisi***, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, (2011).

[115]. M. İ. Can, ***Karbon tetraklorür (CCl_4) ile Karaciğer Hasarı Oluşturulmuş Ratlarda Deve dikeni (Silybum marianum L.)'nin Kaspaz-3, Kaspaz-9, Bax, BCL-2 Proteinlerinin Ekspresyonu ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi***, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, (2014).

[116]. X. Zi, D.K. Feyes, R. Agarwal, ***Anticarcinogenic Effect of A Flavonoid Antioxidant, Silymarin, In Human Breast Cancer Cells MDA-MB 468***, Clinical Cancer Research, 4, 1055-1064, (1998).

[117]. S.-O. Leea, Y.-J. Jeonga, H. G. Ima, C.-H. Kimb, Y.-C. Changc, I.-S. Leea, ***Silibinin suppresses PMA-induced MMP-9 expression by blocking the AP-1 activation via MAPK signaling pathways in MCF-7 human breast carcinoma cells***, Biochemical and Biophysical Research Communications, 354, 165-171, (2007).

[118]. B. Zhou, L. J.Wu, S. Tashiro, S. Onodera, F. Uchiumi, T. Ikejima, ***Silibinin Protects Rat Cardiac Myocyte from Isoporoterenol-Induced DNA Damage Independent on Regulation of Cell Cycle***, Biological and Pharmaceutical Bulletin, 29 (9), 1900-1905, (2006).

[119]. R.P. Singh, R. Agarwal, ***Mechanisms and Preclinical Efficacy of Silibinin in Preventing Skin Cancer***, European Journal of Cancer, 41, 1969-1979, (2005).

[120]. A. Tyagi, C. Agarwal, G. Harrison, L. M. Glode, R. Agarwal, ***Silibinin causes cell cycle arrest and apoptosis inhuman bladder transitional cell carcinoma cells by regulating CDKI-CDK-cyclin cascade, and caspase 3 and PARP cleavages***, Carcinogenesis 25, 1711-20, (2004).

[121]. Y. Yanaida, H. Kohno, K. Yoshida, Y. Hirose, Y. Yamada, H. Mori, T. Tanaka, ***Dietary Silymarin Suppresses–Nitroquinoline 1-Oxide-Induced Tongue Carcinogenesis in Male F344 Rats***, Carcinogenesis, 23(5), 787-794, (2002).

[122]. H. Kohno, T. Tanaka, K. Kawabata, Y. Hirose, S. Sugie, H. Tsuda, H. Mori, ***Silymarin, A Naturally Occurring Polyphenolic Antioxidant Flavonoid, Inhibits Azoxymethane-Induced Colon Carcinogenesis in Male F344 Rats***, Int. J. Cancer, 101, 461-468, (2002).

[123]. C. Agarwal, A. Tyagi, M. Kaur, R. Agarwal, ***Silibinin inhibits constitutive activation of Stat3, and causes caspase activation and apoptotic death of human prostate carcinoma DU145 cells***, Carcinogenesis, 28(7), 1463-1470, (2007).

[124]. P. García-Maceira, J. Mateo, ***Silibinin inhibits hypoxia-inducible factor-1a and mTOR/p70S6K/4E-BP1 signalling pathway in human cervical and hepatoma cancer cells: implications for anticancer therapy***, Oncogene, 28, 313-324, (2009).

[125]. J. J. Lah, W. Cui, K.-Q. Hu, ***Effects and mechanisms of silibinin on human hepatoma cell lines***, World Journal of Gastroenterology, 13(40), 5299-5305, (2007).

[126]. A. Margo, M. Carolino, M. Bastos, A. Mexia, ***Efficacy of plant extracts against stored-products fungi,*** Rev Iberoam Micol., 23(3), 176-178, (2006).

[127]. İ. Kulcanay, ***Lavandula stoechas L. Bitki Ekstre ve Yağının Ames/Salmonella/Mikrozom Test Sistemi ile Mutajenitesinin Araştırılması***, Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, (1998).

[128]. M. N. Ayral, ***Lavandula stoechas ssp. stoechas Bitkisinin Uçucu Yağının ve Uçucu Olmayan Organik Bileşenlerinin İncelenmesi ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi***, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, (1997).

[129]. N. Yenici, ***Lavandula stoechas Bitkisinin Özellikleri ve Fibrinolitik Sisteme Etkisinin Araştırılması***, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, (1999).

[130]. A. Santos, I. Gaivão, F. Leal, ***Micropropagation of Calendula officinalis and Lavandula angustifolia for Genotoxicity and Antigenotoxicity Studies***, Acta Hort. (ISHS) 1083, 67-73, (2015).

[131]. M. G. Evandri, L. Battinelli, C. Daniele, S. Mastrangelo, P. Bolle, G. Mazzanti, ***The antimutagenic activity of Lavandula angustifolia (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay***, Food and Chemical Toxicology, 43(9), 1381-1387, (2005).

[132]. N. Rahimifard, H. Hajimehdipoor, B. Pirouz, F. Bagheri, O. Bagheri, K. S. Mirdamadi, ***The Mutagenic and Antimutagenic Activity of Lavandula angustifolia and Elettaria cardamomum Essential Oils in the Bacterial Reverse Mutation Assay***, Journal of Medicinal Plants, Vol. 9, No: 35, 139-142, (2010).

[133]. L. D. Martino, V. D. Feo, F. Nazzaro, ***Chemical composition and in Vitro antimicrobial mutagenic activities of seven Lamiaceae essential oils***, Molecules, 14(10), 4213-4230, (2009).

ÖZGEÇMİŞ

08.05.1982 tarihinde Kırklareli ili Lüleburgaz ilçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Lüleburgaz' da tamamladım. 2001 yılında girdiğim Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2005 yılında mezun oldum. 2006 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda başladığım yüksek lisans eğitimimi 2009 yılında tamamladım. Doktora eğitimim Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji Anabilim Dalı'nda 2011 yılından bu yana Populasyon Genetiği üzerine devam etmektedir.