



**T.C.  
AMASYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARDELEN (*Galanthus elwesii* Hook.) BİTKİ EKSTRAKTLARININ  
*Drosophila melanogaster*'de ÖMÜR UZUNLUĞU VE ANTİOKSİDAN  
ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**OSMAN ERTAN**

**ŞUBAT**

OSMAN ERTAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞUBAT 2024

**KARDELEN (*Galanthus elwesii* Hook.) BİTKİ EKSTRAKTLARININ  
*Drosophila melanogaster*'de ÖMÜR UZUNLUĞU VE ANTiOKSiDAN  
ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

**Osman ERTAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman**

**Prof. Dr. Arif AYAR**

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞUBAT 2024**

## Yüksek Lisans Tezi Kabul ve Onay Sayfası

Osman ERTAN tarafından hazırlanan "Kardelen (*Galanthus elwesii* Hook.) Bitki Ekstraktlarının *Drosophila melanogaster*'de Ömür Uzunluğu ve Antioksidan Etkinliğinin Belirlenmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Arif AYAR

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum .....

**Başkan:** Doç. Dr. Deniz ALTUN ÇOLAK

Biyoloji Anabilim Dalı, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum .....

**Üye:** Dr. Öğr. Üyesi Ebru BATI AY

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum .....

Tez Savunma Tarihi: 01/02/2024

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ümit YILDIRIM

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bilimin en güzel örneği Kızlarım Neva Aksa ve Hifanur'a...

## ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumuz,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimiz beyan ederim.

(İmza)

Osman ERTAN

01/02/2024

KARDELEN (*Galanthus elwesii* Hook.) BİTKİ EKSTRAKTLARININ *Drosophila melanogaster*'de ÖMÜR UZUNLUĞU VE ANTİOKSİDAN ETKİNLİĞİNİN  
BELİRLENMESİ  
(Yüksek Lisans Tezi)

Osman ERTAN

AMASYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Şubat 2024

ÖZET

Alternatif tedavi ya da geleneksel tıpta bitkilerle yapılan iyileştirme yöntemleri oldukça önemli bir yer kapsamaktadır. Bununla birlikte kimyasal ilaçlarla yapılan tedavilerin yan etkileri de gün geçtikçe daha da fazla ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle bitkilerin içerik analizleri ve *in vivo* şartlarda etkinliklerinin tespiti oldukça önemli bir hale gelmiştir. Bu bitkilerden birisi olan Kardelen (*Galanthus elwesii* Hook.); ticari etkilerinin yanı sıra toprak üstü ve toprak altı kısımlarının içerdikleri önemli alkaloidler sayesinde birçok terapötik kullanıma sahip güçlü bir bitki türüdür. Bu çalışmada öncelikle; *G. elwesii* bitkisinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından farklı çözücüler (su, metanol ve etanol) kullanılarak toplam altı farklı bitki ekstresi hazırlanmıştır. Elde ettiğimiz bu ekstraktların olası toksik, antitoksik ve biyokimyasal etkileri *in vivo* şartlarda *Drosophila melanogaster* (meyve sineği) model organizması Oregon R yabanıl soyunun 72±4 saatlik larvalarında araştırılmıştır. Ayrı ayrı farklı konsantrasyonlardaki (1 µg/mL; 0,5 µg/mL; 0,25 µg/mL ve 0,125 µg/mL) su, etanol, metanol uygulama grupları ve kontrol grupları oluşturulmuş olup larvalar bu besinlerle akut olarak beslenmiştir. Larvalardan erginleşebilen erkek bireyler ömür uzunluğu için taze besiyerine aktarılmış ve son birey kalana kadar veriler kaydedilmiştir. Ayrıca kardelen bitkisinin *D. melanogaster* bireylerinde biyokimyasal etkinliklerini belirlemek için Total Antioksidan (TAS), Total Oksidan (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) parametrelerine bakılmıştır. Elde edilen verilerden kontrol grubuna göre; konsantrasyon artışına bağlı olarak ergine dönüşen larva sayısında ve erginleşen bireylerin ömür uzunluğu oranlarında istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). Kardelen bitkisinin ömür uzunluğu çalışmaları sonucunda ortalama ömrün en uzun 60±0,59 gün ile toprak altı su ekstraktının 0,25 µg/mL'lik konsantrasyonunda olduğu görülmüştür. Oksidatif stres çalışmalarında değerlendirilen parametreler incelendiğinde; ömür uzunluğu çalışmalarında olduğu gibi özellikle toprak altı su ekstraktı sonuçlarının negatif kontrol grubuna göre anlamlı olduğu ( $p<0,05$ ), OSİ değerinin 0,061±0,03 ile pozitif kontrol grubu askorbik asite en yakın çıktığı belirlenmiştir. Kardelen bitkisinin farklı çözücü ve kısımlarının etkinliğinin *D. melanogaster* model organizması üzerinde araştırıldığı ilk ve tek çalışma olan bu tezden elde edilen sonuçlar, bu bitkinin özellikle soğan kısımlarının tıbbi açıdan ne kadar önemli olduğunu tekrar ortaya koymuştur.

Sayfa Adedi : 98  
Anahtar Kelimeler : *G. elwesii*, *D. melanogaster*, Antioksidan Etki, Ömür uzunluğu  
Danışman : Prof. Dr. Arif AYAR

# DETERMINATION OF LIFE SPAN AND ANTIOXIDANT EFFECT OF SNOWDROP

(*Galanthus elwesii* Hook.) PLANT EXTRACTS IN *Drosophila melanogaster*

(M.Sc. Thesis)

Osman ERTAN

AMASYA UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

February 2024

## ABSTRACT

Alternative treatment or healing methods with plants have a very important place in traditional medicine. However, the side effects of treatments with chemical drugs are becoming more common day by day. For this reason, content analysis of plants and determination of their effectiveness under in vivo conditions have become very important. Snowdrop (*Galanthus elwesii* Hook.), one of these plants; In addition to its commercial effects, it is a powerful plant species that has many therapeutic uses thanks to the important alkaloids contained in its above-ground and underground parts. In this study, first of all; A total of six different plant extracts were prepared from the underground and aboveground parts of the *G. elwesii* plant using different solvents (water, methanol and ethanol). The possible toxic, antitoxic and biochemical effects of these extracts we obtained were investigated in in vivo conditions on 72±4 hour old larvae of the *Drosophila melanogaster* (Fruit Fly) model organism Oregon R wild strain. Water, ethanol, methanol application groups at different concentrations (1 µg/mL; 0,5 µg/mL; 0,25 µg/mL and 0,125 µg/mL) and control groups were created and the larvae were acutely fed with these nutrients. Male individuals that were able to mature from larvae were transferred to fresh medium for lifespan and data were recorded until the last individual remained. Additionally, Total Antioxidant Status (TAS), Total Oxidant Status (TOS) and Oxidative Stress Index (OSI) parameters were examined to determine the biochemical activities of the snowdrop plant in *D. melanogaster* individuals. According to the data obtained from the control group; It was observed that there were statistically significant changes in the number of larvae turning into adults and the lifespan of the adult individuals due to the increase in concentration ( $p<0,05$ ). As a result of the lifespan studies of the snowdrop plant, it was observed that the longest average lifespan was 60±0,59 days at a concentration of 0,25 µg/mL in the subsoil water extract. When the parameters evaluated in oxidative stress studies are examined; As in lifespan studies, it was determined that especially the results of subsoil water extract were significant compared to the negative control group ( $p<0,05$ ), and the OSI value was closest to the ascorbic acid in the positive control group, with 0,061±0,03. The results obtained from this thesis, which is the first and only study in which the effectiveness of different solvents and parts of the snowdrop plant were investigated on the *D. melanogaster* model organism, revealed once again how important this plant, especially the onion parts, is from a medical point of view.

Number of Pages : 98

Keywords : *G. elwesii*, *D. melanogaster*, Antioxidant Effects, Longevity

Advisor : Prof. Dr. Arif AYAR

## ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma, Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Aktivite Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Öncelikle, bu çalışmanın planlanmasında büyük emeği geçen, tecrübe ve birikimleri ile akademi yolunda ilerlememde sürekli cesaretlendiren, desteklerini hiç esirgmeden paylaştan kıymetli Danışman Hocam Prof. Dr. Arif AYAR'a, bitki ekstraksiyonu çalışmalarında bilgi ve birikimlerini paylaştan ve uygulamalı öğreten değerli Hocam Dr. Öğr. Üyesi Ebru BATI AY'a, laboratuvar çalışmalarında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Dr. Mehmet FİDAN'a, tez yazımında teknik destek sağlayan Dr. Arif Emre YILDIZ'a, laboratuvar ve tez çalışmalarında beraber çalıştığım arkadaşım Uzm. Diyetisyen Rüveyda COŞKUN'a, kayıtsız şartsız, almış olduğum her türlü kararda beni destekleyen eşim Büşra'ya ve tez yazım süreci boyunca neşemi yüksek tutan kızlarım Neva Aksa ve Hifanur'a; şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

|                                                                        |      |
|------------------------------------------------------------------------|------|
| ÖZET .....                                                             | iv   |
| ABSTRACT.....                                                          | v    |
| ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....                                                | vi   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                      | vii  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                | ix   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                  | x    |
| RESİMLER DİZİNİ.....                                                   | xi   |
| SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                                      | xiii |
| 1. GİRİŞ.....                                                          | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                | 4    |
| 2.1. Antioksidan ve Oksidan Sistemler .....                            | 4    |
| 2.1.1. Endojen antioksidanlar .....                                    | 6    |
| 2.1.2. Eksojen antioksidanlar .....                                    | 13   |
| 2.1.3. Total antioksidan-oksidan seviyesi (TAS-TOS) .....              | 15   |
| 2.2. Ömür Uzunluğu .....                                               | 18   |
| 2.2.1. Ömür uzunluğuna etki eden faktörler ve yaşlanma teorileri ..... | 18   |
| 2.3. Meyve Sineği ( <i>Drosophila melanogaster</i> ) .....             | 28   |
| 2.4. Kardelen ( <i>Galanthus elwesii</i> ).....                        | 36   |
| 3. MATERYAL VE METOD .....                                             | 40   |
| 3.1. Materyal.....                                                     | 40   |
| 3.1.1. <i>Galanthus elwesii</i> Hook. f. ....                          | 40   |
| 3.1.2. <i>Drosophila melanogaster</i> .....                            | 43   |

|                                                                                  | <b>Sayfa</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 3.2. Metod .....                                                                 | 47           |
| 3.2.1. Bitkinin elde edilmesi ve ekstraksiyonu .....                             | 47           |
| 3.2.2. Larval mortalite ve ömür uzunluğu çalışmaları.....                        | 52           |
| 3.2.3. Biyokimyasal analizler (TAS - TOS - OSİ) .....                            | 57           |
| 3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi .....                                       | 60           |
| 4. BULGULAR.....                                                                 | 61           |
| 4.1. Larval Mortalite ve Ömür Uzunluğu Çalışmalarında Elde Edilen Sonuçlar ..... | 61           |
| 4.2. Biyokimyasal Analizlerden Elde Edilen Sonuçlar.....                         | 69           |
| 5. TARTIŞMA .....                                                                | 72           |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....                                                        | 81           |
| KAYNAKLAR .....                                                                  | 83           |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                   | 98           |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

| Çizelge                                                                                                                                                                        | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 2.1. Endojen antioksidanların sınıflandırılması .....                                                                                                                  | 6     |
| Çizelge 2.2. Eksojen antioksidanlar ve çeşitleri .....                                                                                                                         | 13    |
| Çizelge 2.3. En çok kullanılan model organizma türleri ve kullanım alanları .....                                                                                              | 29    |
| Çizelge 3.1. <i>Galanthus elwesii</i> Hook. ve sistematığı.....                                                                                                                | 43    |
| Çizelge 3.2. <i>Drosophila melanogaster</i> ve sistematığı .....                                                                                                               | 45    |
| Çizelge 3.3. Standart lewis besiyeri içeriği ve kullanılan miktarları .....                                                                                                    | 46    |
| Çizelge 3.4. Total antioksidan ve oksidan seviyelerinin ölçümü ve kullanılan malzeme özellikleri .....                                                                         | 59    |
| Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda toprak üstü kardelen ekstraktları (TÜE) ile kronik olarak beslenen larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları .....                 | 62    |
| Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda toprak altı kardelen ekstraktları (TAE) ile kronik olarak beslenen larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları .....                 | 63    |
| Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyon ve çözücülerde hazırlanmış toprak üstü kardelen ekstraktları (TÜE) ile beslenen bireylerin maksimum ve ortalama ömür uzunluğu verileri ..... | 64    |
| Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyon ve çözücülerde hazırlanmış toprak altı kardelen ekstraktları (TAE) ile beslenen bireylerin maksimum ve ortalama ömür uzunluğu verileri ..... | 67    |
| Çizelge 4.5. Kardelen ekstraktları (KE) ile beslenen ergin bireylerden elde edilen biyokimyasal verilerin karşılaştırılması .....                                              | 70    |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| Şekil                                                                                                                                               | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. Oksidatif stresin olumsuz etki ettiği organlar .....                                                                                     | 4     |
| Şekil 2.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)'nin oluşumu ve etki ettiği olumsuz durumlar .....                                                          | 5     |
| Şekil 2.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve hesaplama formülü .....                                                                                 | 16    |
| Şekil 2.4. <i>Drosophila</i> ve insanın eşdeğer işlevsel organ sistemleri .....                                                                     | 35    |
| Şekil 2.5. <i>Galanthus</i> türlerinin biyolojik aktiviteleri ve ana biyoaktif bileşenleri.....                                                     | 38    |
| Şekil 3.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in hayat döngüsü .....                                                                                   | 45    |
| Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda toprak üstü kardelen ekstraktları (TÜE) ile kronik olarak beslenen larvaların mortalite oranları grafiği ..... | 62    |
| Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda toprak altı kardelen ekstraktları (TAE) ile kronik olarak beslenen larvaların mortalite oranları grafiği.....  | 63    |
| Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlarda toprak üstü kardelen ekstraktları (TÜE) ile beslenen bireylerin ortalama ömür uzunluğu verileri grafiği .....  | 65    |
| Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak üstü etanol ekstraktı (TÜE-E) ile beslenen bireylerin ortalama ömür uzunluğu eğrileri .....    | 65    |
| Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak üstü metanol ekstraktı (TÜE-M) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri .....            | 66    |
| Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak üstü su ekstraktı (TÜE-S) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri .....                 | 66    |
| Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlarda toprak altı kardelen ekstraktları (TAE) ile beslenen bireylerin ortalama ömür uzunluğu verileri grafiği .....  | 67    |
| Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak altı etanol ekstraktı (TAE-E) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri .....             | 68    |
| Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak altı metanol ekstraktı (TAE-M) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri .....            | 68    |
| Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak altı su ekstraktı (TAE-S) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri .....                | 69    |
| Şekil 4.11. Kardelen ekstraktları ile beslenen ergin bireylerden elde edilen biyokimyasal verilerin karşılaştırılması grafiği .....                 | 70    |

## RESİMLER DİZİNİ

| Resim                                                                                                                               | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Resim 2.1. <i>Drosophila melanogaster</i> erkek (sol) ve dişi (sağ) bireyleri .....                                                 | 30    |
| Resim 2.2. <i>Drosophila</i> ve insanın eşdeğer işlevsel organ sistemleri .....                                                     | 35    |
| Resim 2.3. <i>Galanthus elwesii</i> Hook. bitkisine ait genel görünüm.....                                                          | 36    |
| Resim 2.4. <i>Galanthus</i> türlerinin biyolojik aktiviteleri ve ana biyoaktif bileşenleri.....                                     | 38    |
| Resim 3.1. Bitki analiz uygulama laboratuvarımızın genel görüntüsü .....                                                            | 40    |
| Resim 3.2. <i>Galanthus elwesii</i> Hook. (Dev Kardelen veya Toros Kardeleni) soğanları .....                                       | 41    |
| Resim 3.3. <i>Galanthus elwesii</i> bitki sahası ve hasat çalışmaları .....                                                         | 41    |
| Resim 3.4. Yaygın olarak bulunan bazı <i>Galanthus</i> türleri (Bishop ve diğerleri, 2001) .....                                    | 42    |
| Resim 3.5. <i>Drosophila</i> biyolojik analiz laboratuvarı genel görüntüsü .....                                                    | 44    |
| Resim 3.6. Çalışmalarımızda kullandığımız larvaların görüntüleri .....                                                              | 46    |
| Resim 3.7. Kardelen soğanı ekimine ait görüntüler.....                                                                              | 47    |
| Resim 3.8. Özel saksılarda yetiştirilen <i>Galanthus elwesii</i> bitkileri ve çiçeklenme dönemi .....                               | 48    |
| Resim 3.9. Kardelenin toprakaltı ve topraküstü kısımlarının kurutulması .....                                                       | 48    |
| Resim 3.10. <i>Galanthus elwesii</i> 'nin kurutma sonrası ayrıştırma işlemi .....                                                   | 49    |
| Resim 3.11. <i>Galanthus elwesii</i> kurutulmuş alt ve üst kısımlarının ayrılarak kimyasal etkenlere maruz bırakılma işlemleri..... | 49    |
| Resim 3.12. Karışımların shaker ile ultrasonik titrasyon işlemi.....                                                                | 50    |
| Resim 3.13. Sıvı ve posaların ayrıştırma - filtrasyon işlemi.....                                                                   | 50    |
| Resim 3.14. Evaporatör ve su havuzu ile ekstraksiyon işlemi .....                                                                   | 51    |
| Resim 3.15. Ekstraksiyon işlemi sonrası elde edilen sıvı alkaloidler .....                                                          | 51    |
| Resim 3.16. Filtrasyon işlemi ve magnetik ısı-karıştırıcısı ile ekstraktların hazır hale getirilmesi.....                           | 52    |
| Resim 3.17. Hazırladığımız standart <i>Drosophila</i> besiyeri ve malzemeleri .....                                                 | 53    |
| Resim 3.18. Bayıltma yöntemi ve bayıltılan ergin bireylerin sayımı .....                                                            | 54    |

| <b>Resim</b>                                                                                       | <b>Sayfa</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Resim 3.19. Çaprazlama kullanılan 3. evre larvaları ve elde edilen ergin bireyler .....            | 55           |
| Resim 3.20. Larval mortalite besiyeri ve ekstrakt ile akut besleme görüntüleri.....                | 56           |
| Resim 3.21. Hazır besiyeri ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ekstaraktların uygulanması ..... | 57           |
| Resim 3.22. Homojenizasyon için ayarlanan çalışma grupları.....                                    | 58           |
| Resim 3.23. Antioksidan analiz testlerinde kullanılan cihaz ve görüntüleri.....                    | 60           |

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Bu tez çalışmasında kullanılan bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamalar aşağıda sunulmuştur.

| <b>Simgeler</b> | <b>Açıklama</b>  |
|-----------------|------------------|
| <b>N</b>        | Sayı             |
| <b>%</b>        | Yüzde            |
| <b>°C</b>       | Santigrat derece |
| <b>Kda</b>      | Kilodalton       |
| <b>Kg</b>       | Kilogram         |
| <b>Gr</b>       | Gram             |
| <b>L</b>        | Litre            |
| <b>Mg</b>       | Miligram         |
| <b>μl</b>       | Mikromolar       |
| <b>mL</b>       | Mililitre        |
| <b>nm</b>       | Nanometre        |
| <b>mM</b>       | Milimolar        |
| <b>α</b>        | Alfa             |
| <b>β</b>        | Beta             |

| <b>Kısaltmalar</b>            | <b>Açıklama</b>                |
|-------------------------------|--------------------------------|
| <b>AÜ</b>                     | Amasya Üniversitesi            |
| <b>CAT</b>                    | Katalaz                        |
| <b><i>C. elegans</i></b>      | <i>Caenorhabditis elegans</i>  |
| <b>Cu</b>                     | Bakır                          |
| <b>Dk</b>                     | Dakika                         |
| <b><i>D. melanogaster</i></b> | <i>Drosophila melanogaster</i> |
| <b>DNA</b>                    | Deoksiribonükleik asit         |
| <b>GR</b>                     | Glutasyon redüktaz             |
| <b>Gpx</b>                    | Glutasyon Peroksidaz           |

|                                   |                            |
|-----------------------------------|----------------------------|
| <b>GSSG</b>                       | Glutatyon Disülfid         |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | Hidrojen Peroksit          |
| <b>HCL</b>                        | Hidrojen Klorür            |
| <b>O<sub>2</sub></b>              | Oksijen                    |
| <b>Mn<sup>+3</sup></b>            | Manganez                   |
| <b>OSİ</b>                        | Oksidatif Stres İndeksi    |
| <b>ROT</b>                        | Reaktif Oksijen Türleri    |
| <b>Se</b>                         | Selenyum                   |
| <b>SOD</b>                        | Süperoksit Dismutaz        |
| <b>TAE</b>                        | Toprak Altı Ekstrakt       |
| <b>TAS</b>                        | Total Antioksidan Seviyesi |
| <b>TOS</b>                        | Total Oksidan Seviyesi     |
| <b>TÜE</b>                        | Toprak Üstü Ekstrakt       |
| <b>UV</b>                         | Ultraviyole                |
| <b>Zn</b>                         | Çinko                      |

## 1. GİRİŞ

Geçmişten günümüze, tarih boyunca insanlar sağlıklı ve uzun bir yaşam için hastalıklarla mücadele edip alternatif tedavi yollarını aramışlardır. Hastalıklar karşısında bitkisel tedavi alanlarında çalışmalar yapmış ve uygulamışlardır. Hastalıklar insan sağlığı ve esenliği üzerinde yıkıcı etkilere sebep olmuştur. Bu hastalıklara karşı mücadelede bitkilerin kullanımı dünya çapında hem geleneksel hem de tıbbi anlamda önem kazanmıştır. Bitkilerin doğal bollukları ve kimyasal çeşitliliklerinin olması da ayrıca ilaç keşfindeki çekiciliğini artırmıştır. Bilimsel anlamda bitkilerle yapılan birçok çalışmada etkinliğin ölçülebilmesi ve hastalıklarla mücadele kapsamında model organizmalar kullanılmıştır.

Türkiye'nin coğrafi özelliklerine bağlı olarak bulunduğu konum, farklı iklim özelliklerini göstermesi, yükselti ve deniz seviyelerinin özelliklerine bağlı olarak çok çeşitli ve zengin bitki örtüsüne sahip olması; endemik bitki florasının çeşitliliğini oluşturmaktadır (Batı Ay, 2019). Bitki biyoçeşitliliği durumuna bakıldığında ise sadece belli bölgeye has özellikteki endemik oranı ortalama %34,5'tir (Uyanık ve diğerleri, 2013). Tüm mevsim boyunca kök ve soğan kısımları ile beraber toprak altında olan geofit bitkiler (doğal çiçek soğanları), bitki çeşitliliği açısından önemli bir yer tutmaktadır (Batı Ay, 2019). Türkiye'de 1056 adet geofit özellikli (soğan, rizom ve yumru) bitki türü yer almaktadır ve endemik özellik bakımından oranı %40 olarak bulunmuştur (Özhatay, 2013). Bu bitkiler hem içerdikleri önemli kimyasal maddeler bakımından hem de gösterişli, hoş görünimleri bakımından süs bitkisi olarak piyasada çok önemli yere sahiptir. Amaryllidaceae familyasına ait, geofit yapıdaki *Galanthus elwesii* (Kardelen) cinsi bu bitkilerde çok önemli özellikleri barındıran en önemli türlerdendir (Baktır, 1996). Çok yıllık bitki kategorisinde olan *Galanthus elwesii* (Dev kardelen veya Toros Kardeleni), doğada daha çok tohumla ve soğan kısmıyla beraber 3-4 yılda çiçeklenme sürecini tamamlamaktadır. Serin ve humuslu topraklarda yaşayan ve nemli bir ortamda verim alınabilen kardelen, baharın başlangıç zamanlarında çiçeklenmeye başlar (Arslan, Sarıhan ve Gümüşçü, 2002).

*Galanthus* cinsi üyeleri, içerdiği çok önemli alkaloidleri sayesinde tıbbi çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır (Tıprıdamaz, Ellialtıoğlu ve Çakırlar, 1999). İçerdikleri bu önemli etken maddeler; stres koşulları sonucu oluşan durumları, hastalık etkenlerini ve vücutta oluşan hasarları en az seviyelere indirebilmek için kararsız molekülleri bloke ederler. Sağlıklı hücrelerin oluşmasına katkı sağlarlar. Ayrıca sağlıklı ve uzun yaşam sürecinde etkili olan

doğal özellikteki antioksidan özelliğiyle de çok önemli faktörleri oluşturmaktadırlar (Batı Ay, 2019).

Tıbbi tedavi ve bilimsel çalışmalarda kullanılan kardelen, toprak üstü ve toprak altı bölümlerine ayrılmıştır. Çiçeklenme ve meyve olgunlaşma dönemleri de dikkate alınarak sekonder metabolit içerikleri ve antioksidan aktiviteleri farklı bitki organlarına (yaprak, çiçek, gövde, soğan) göre de farklı değişimler gösterebilmektedir (Zencirkıran, 2002; Güvenilir, 2016; Ayık, 2023). Bu durumlara bağlı olarak bitki hasadı zamanında önemli varyasyonların oluştuğu bilinmektedir.

Yapılan literatür taraması sonucu görülüyor ki klinik alanda büyük ilgi gören çok önemli alkaloidleri sayesinde Amaryllidaceae bitki familyası önemli bir yere sahiptir. Alternatif tedavi ya da geleneksel tıpta bitkilerle yapılan iyileştirme yöntemleri oldukça önemli bir yeri kapsamaktadır. Bununla birlikte kimyasal ilaçlarla yapılan tedavilerin yan etkileri de gün geçtikçe daha da fazla ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle bitkilerin içerik analizleri ve *in vivo* şartlarda etkinliklerinin tespiti de oldukça önemli bir hale gelmiştir.

Bu araştırmamızda biyolojik aktiviteleri yüksek olan yapı bakımından antioksidan (Jin, 2005), antimikrobiyal (Koyuncu ve diğerleri, 1993), antiviral özellikleri sayesinde vücudun savunma sistemini güçlendirici etkilerine sahip (Üçüncü ve diğerleri, 2019) çok önemli alkaloidleri yapısında barındıran Amaryllidaceae familyasına ait Kardelen (*Galanthus elwesii* Hook. f.) bitkisinden elde ettiğimiz ekstraktlar kullanılmıştır. Bu ekstraktlar, gelişim biyolojisi bakımından çok önemli yere sahip olan, kısa sürede çok sayıda larva veren, hızlı ve kolayca çalışılabilen ve laboratuvar koşullarında en çok kullanılan organizmaların başında yer alan *Drosophila melanogaster*'in R yabanıl soyu olan ergin bireylerinden elde ettiğimiz larvalara *in vivo* olarak uygulanmıştır (Atlı, 2010).

Genetik gelişmelerin artmasıyla, gelişim biyolojisi üzerine bilimsel çalışmalara katkılar sunan ve model organizma olarak kullanılan *Drosophila melanogaster*'de de çalışmalar daha çok artmış ve çok önemli keşifler elde edilmiştir. %85'e yakın, insanda bulunan hastalıklara eş değer homolog proteinlere sahip olması da bilimsel çalışmalara öncülük etmiştir.

Bu çalışmamızda; içerdikleri önemli alkaloidler sayesinde tıbbi açıdan çok önemli yere sahip olan Kardelen (*Galanthus elwesii* Hook. f.) (Amaryllidaceae) bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımlarından farklı çözücüler (su, metanol ve etanol) kullanılarak elde edilen toplam altı farklı bitki ekstresinin olası toksik-antitoksik, oksidan-antioksidan ve ömür uzunluğu etkinlikleri *Drosophila melanogaster* model organizmasında araştırılmıştır.

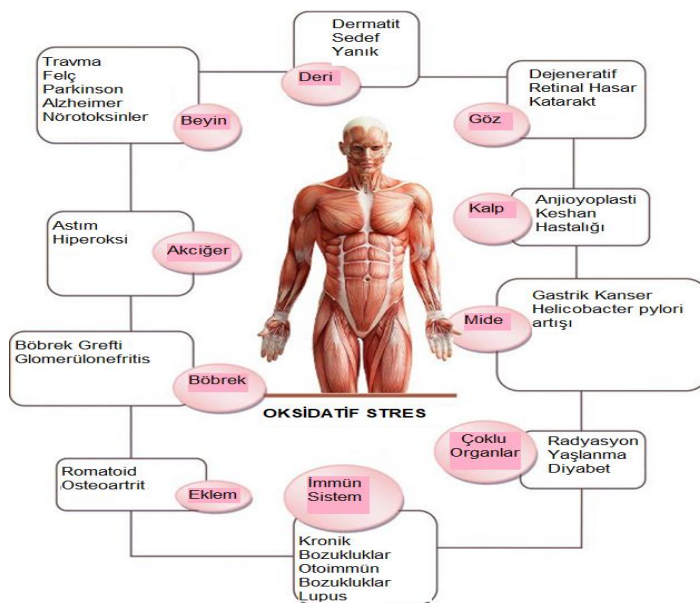
Çalışmamız, Kardelen bitkisi ile *D. melanogaster* model organizması üzerinde yapılan ilk ve tek çalışmadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Antioksidan ve Oksidan Sistemler

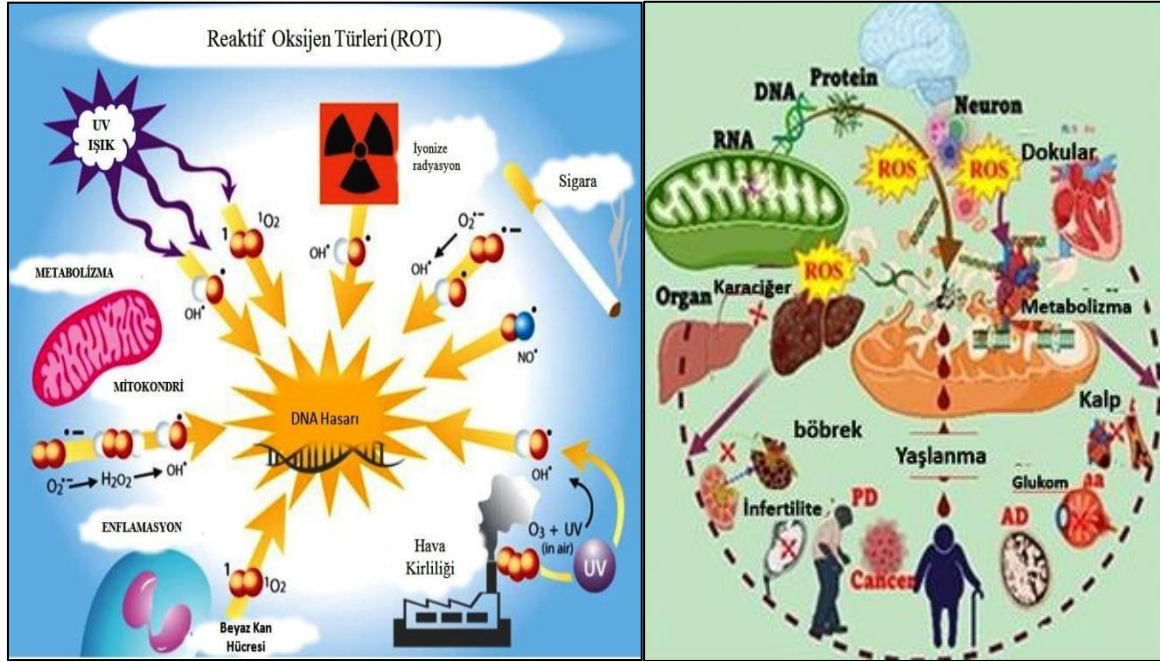
Antioksidan sistem, serbest radikal olarak bulunan reaktif oksijen türleri (ROT)'nin oluşmasını engelleyen ve organizmaya verdiği zararlara karşı mücadele eden vücudumuzda bulunan koruyucu savunma mekanizmasına denir (Şener, 2009). Denge halindeyken bağışıklık sistemini güçlendirici etkiye sahip olan bu sistem aynı zamanda yaşamın sürdürülebilirliğini sağlamaktadır.

Oksijenli solunum yolu ile ve metabolik faaliyetler esnasında besinden enerji elde edilmesiyle açığa çıkan reaktif ara ürünler, serbest radikalleri oluşturmaktadır. Bu ürünler "Reaktif Oksijen Türleri" (ROT) olarak isimlendirilmektedir. ROT ürünleri DNA, protein, nükleik asit ve lipitlerin hücre bileşenlerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Organizmalarda doğal veya dış etkenlere bağlı olarak oluşan radikal oksidan maddeler, vücutta bulunan antioksidan sistemleri tarafından denetlenir ve parçalanarak temizlenir. Antioksidanlar bu oksidan maddelerin oluşumunu ve zararlı etkilerini azaltan vücudu koruyan maddelerdir. Fakat bazı durumlarda bu sistemin olumsuz etkileri tamamen engelleyemediği durumlarda oksidatif stres meydana gelir ve bundan birçok organ etkilenir (Laboratuvar, 2012) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Oksidatif stresin olumsuz etki ettiği organlar (Islam ve Shekhar, 2015)

Son 20 yıldır yapılan birçok araştırma sonucunda ROT'un, oksidatif strese neden olduğu ve kanser başta olmak üzere ürüne sorunları, sinir hasarları gibi birçok hastalığa sebebiyet verdiği belirlenmiştir (Saeidnia, 2013) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)'nin oluşumu ve etki ettiği olumsuz durumlar (Zamora Perez, 2017; Anik ve diğerleri, 2022)

UV ışınları, iyonize radyasyon, hava kirliliği, alkol, sigara kullanımı gibi eksojen kaynaklı etkenler ile immünolojik reaksiyonlar, enflamasyon oluşumu, mitokondriyal faktörler ve beyaz kan hücrelerinin parçalanması gibi endojen kaynaklı durumlar ile reaktif oksijen türleri (ROT) meydana gelmektedir. Bunun sonucunda da sistemik hastalıklar (diyabet, kanser, kardiyovasküler, gastrointestinal, solunum, boşaltım, üriner sistem) ile yaşlanma gibi fonksiyon bozuklukları ortaya çıkmaktadır (Gülmen, 2018).

Sağlıklı ve uzun bir yaşam için, oluşan bu sistemik hastalıklara karşı mücadelede modern ve alternatif tıp ile hayat kalitesini artırıcı birçok çalışma yapılmaktadır. ROT'un oluşumunun engellenmesi veya azaltılması bu sistemik hastalıkların oluşmamasında önemli derecede etki edecektir. Bu sebeple antioksidan değeri yüksek ve zengin bir beslenme veya ilaç takviyesi bu duruma çok önemli fayda sağlayacaktır (Laboratuvar, 2012).

Antioksidan savunma sistemimizin yetersizliği ile hücre ve dokularda oksidatif hasarın birikmesi, ömür uzunluğu açıklamalarında yaygın olarak kullanılan mekanizmalardan

biridir. Oksidasyon yolu belki de en çok çalışılan ve manipüle edilen yaşlanma yoludur ve bu yolu hedef alan bir takım genetik ve farmakolojik manipölasyonlar yaşlanmayı geciktirmeye çalışmıştır (Jafari, Zarban, Pham ve Wang, 2008).

*Drosophila* ve insan, sitosolik Cu/Zn ve mitokondriyal süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon redüktaz gibi bir dizi önemli antioksidan enzimi paylaşır (Bourg, 2001). Antioksidanlardan bazıları, yaşlanma karşıtı araştırmalarda kullanılan *Drosophila melanogaster* ve *Caenorhabditis elegans* gibi model sistemlerin ömrünü uzatmıştır (Melov, 2000).

Antioksidan molekülleri, serbest radikallerle tepkimeye girerek zincir reaksiyonlar sonucu oluşan oto-oksidasyon veya per-oksidasyon reaksiyonlarını engellemektedir (Dündar, 1999). Ortak amaçları vücut dengesini korumak ve vücutta olumsuz etkiler oluşturan serbest radikal süpürücüleri olarak bilinen antioksidanlar; endojen kaynaklı (beslenme yolu, vitamin ve takviye ilaçlar) ve eksojen kaynaklı (vücut tarafından organize edilen işlevsel sistem) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Aydemir, 2009).

### 2.1.1. Endojen antioksidanlar

Vücut içerisindeki dengeyi sağlamaya çalışan bu antioksidanlar; enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki farklı gruba ayrılmaktadır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Endojen antioksidanların sınıflandırılması (Karabulut ve diğerleri, 2016)

| ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR          |                                     |                       |
|---------------------------------|-------------------------------------|-----------------------|
| <i>Enzimatik Antioksidanlar</i> | <i>Non-enzimatik Antioksidanlar</i> |                       |
| Süperoksit dismutaz (SOD)       | Glutatyon                           | Koenzim Q10           |
| Katalaz (CAT)                   | Melatonin                           | Selenyum              |
| Glutatyon peroksidaz (GPx)      | Ürik asit                           | $\alpha$ -lipoik asit |
| Glutatyon redüktaz (GR)         | Bilirubin                           | Transferrin           |
|                                 | Albümin                             | Seruloplazmin         |

## Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Glutasyon redüktaz (GR); vücuttaki enzimatik savunmacılar ekibini bir araya getirip oluşturan ve yapısında enzim bulunan antioksidanlardır (Karabulut, 2016).

### *Süperoksit dismutaz (SOD)*

Tüm dokularda yaygın olarak bulunan, yüksek dereceli aktivasyona sahip, ilk önemli savunma hattını oluşturan bu antioksidanlar (Blanco, 2017), reaktif oksijen türlerine karşı mücadele ederler (Sen ve diğerleri, 2011).



SOD; Süperoksit radikalini ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ), tepkime sonucu hidrojen peroksit ve moleküler oksijene katalizleyerek dönüştüren, ilk savunma hattında olan enzimatik bir antioksidandır. Hidrojen peroksit ise daha sonra katalaz ya da glutasyon peroksidaz tarafından ortamdan uzaklaştırılmaktadır (Young, 2001).

SOD, bulunduğu yere ve içerdiği moleküllere göre üç çeşit izoenzim formda bulunmaktadır;

1. Dimerik Cu/Zn SOD: Bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren, sitoplazmada (sitozol) yer alan iki eşit alt ünite formundan oluşur (Nordberg, 2001). Hücre içinde en bol miktarda bulunan izoenzim formudur (Murk ve diğerleri, 2002). Molekül ağırlığı 32 kDa'dır.

2. Mn SOD: Manganez (Mn) içeren; mitokondride yer alan form çeşididir. Mitokondriyal bir enzim yapısına sahip dört eşit alt üniteye sahip formudur (Fridovich, 1973). Bu izoenzimin aktif bölgesinde  $\text{Mn}^{+3}$  (Manganez) molekülü bulunmaktadır. Molekül ağırlığı 80 kDa'dır. Birbirinden farklı olmalarına rağmen Cu/zn SOD ile aynı tepkime reaksiyonunu katalizleyerek dönüştürürler (Orbea ve diğerleri, 2000).

3. EC SOD: Hücre dışı- ekstrasellüler sıvı (matriks) ve hücre yüzeylerinde yer alan ve plazmada bulunandan daha yüksek yoğunlukta olan formudur. Molekül ağırlığı 135000

kDa'dır. Vücutta homotetramer şeklinde bulunurlar. Fakat dimer, tetramer veya multimer şeklindeki formlarda da bulunabilmektedir. Her bir alt ünitesinde enzimatik aktivite için bakır ve çinko atomu bulunmaktadır. EC SOD'un salgı ve sentez yeri fibroblast, glia ve endotel hücreleridir. EC SOD akciğer dokusunda bulunan hücrelerde ve solunum yollarında bulunan kan damarları hücrelerinde (kas hücresi) yüksek seviyede bulunmaktadır. Süperoksit radikalini etkisiz hale getiren önemli ve tek antioksidandır. Bu yüzden akciğer, solunum ve sindirim kanalı hastalıklarında(fibrozis) oluşan hasar ve yangı gibi durumlarda önemli derecede etki göstererek antioksidan özelliğini göstermektedir (Gao, 2008).

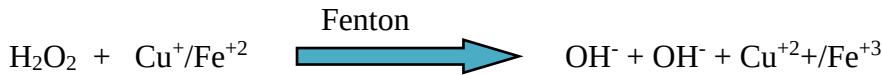
### *Katalaz (CAT)*

Protein yapılı dört alt birimden oluşmaktadır. Her alt birimi; bir hem grubu ve bir NADPH molekülünden oluşmaktadır (Kirkman, 1987). Katalazlarda önemli bir enzimatik kofaktör olan NADPH molekülü yüzey kısımlarında sıkı şekilde bağlıdır (Zámocký, 1999).

Katalaz, birçok metabolit aktivitede yer alan peroksizomlar gibi hücre içi-sitozolde bulunan organellerde ve az miktarda ise mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunmaktadır. SOD enzim aktivitesinde katalaz tepkimesi sonucu hidrojen peroksiti katalizleyerek su ( $H_2O$ ) ve oksijen molekülü ( $O_2$ )'ne dönüştürür (Limón-Pacheco, 2009).



Biyolojik önemi yüksek reaksiyonlara girmeyen ve aynı zamanda radikal olmayan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), Fenton reaksiyonu sayesinde bakır (Cu) ve demir (Fe)'in tepkime mekanizması ile katalizörleyerek hidroksil grubu (OH) oluşumunda rol almaktadır (Olajire, 2011).



### *Glutasyon peroksidaz (GPx)*

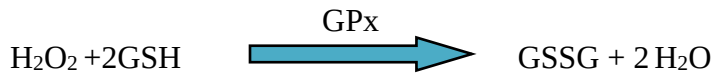
Glutasyon peroksidaz, hücre içi sitozol(sitoplazma)'da bulunmaktadır. Hidrojen peroksitten kaynaklanan harabiyetler (oksidatif hasar)'e karşı hücreleri savunan enzim yapılı

antioksidanlardandır (Köksal, 2019). Bu etkisi sayesinde hidroksil grubu (OH<sup>-</sup>)'nin oluşmasını engellemektedir. GPx, her alt birimi selenyum (Se) 'dan oluşan 4 adet protein alt biriminden oluşmaktadır (Sen ve diğerleri, 2011). GPx, glutasyonu (GSH) elektron kaynağı (e<sup>-</sup>) olarak kullanmaktadır. Bu şekilde Hidrojen peroksiti ve organik hidroperoksitleri (lipit, DNA) enzim etkisiyle değişikliğe uğratarak metabolize etmektedir.

Glutasyon peroksidaz (GPx) enzim sistemi yapı bakımında iki ana tipe ayrılmıştır (Karabulut ve diğerleri, 2016).

1. Aktif bölgesinde selenyum (Se) içeren ve bağımlı olan Se-GPx'dir. Bu tip hidrojen peroksiti ve organik hidroperoksitlere karşı son derece etkili olmaktadır (Cunubben, 2001).
2. Aktif bölgesinde selenyum (Se)'a bağımlı olmayan GST (Glutasyon Peroksidaz)'dir. Bu tip, fonksiyonlara bağlı olarak daha çok lipit hidroperoksitleri ve DNA hidroperoksitlerin enzim etkisiyle değişikliğe sebebiyet vererek faaliyet göstermektedir (Halliwell, 1999). Bu metabolize reaksiyon hareketi sırasında elektron kaynağı (e<sup>-</sup>) olarak kullanılan glutasyonu (GSH), hidrojen verici olarak hareket ettirmektedir. Bu sebeple GSH (glutasyon) yükseltgenirken(oksidi); lipit hidroperoksitleri, DNA hidroperoksitleri ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indirgenir (Reiter ve diğerleri, 1995).

Enerji elde ederek yükseltgenen GSH, artık glutasyon disülfid (GSSG) yapısındadır. Glutasyon redüktaz (GR) enziminin varlığında ise NADPH' yi kullanarak tekrar redüktan halde indirgenir (Reiter ve diğerleri, 1995).



#### *Glutasyon redüktaz (GR)*

Glutasyon redüktaz, FAD (flavin adenin dinükleotid) içeren enzim içerikli flavoprotein endojen bir antioksidandır. GR, serbest radikal hasarını engellemek için NADPH'yi kullanarak (bir e<sup>-</sup> okside) disülfid bağlarına aktarır ve tekrar GSH glutasyonuna çevirir. NADPH'nin de en önemli kaynağı pentoz fosfat yoludur (Özkan ve diğerleri, 2004).



### Non-enzimatik antioksidanlar

Enzim yapısında olmayan antioksidanlardır.

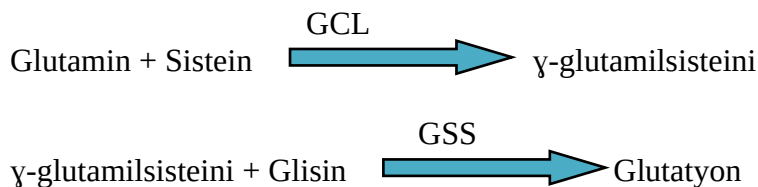
### *Glutasyon (GSH)*

GSH, çok sıklıkla ökaryotik hücrelerde sentezlenmekte olduğundan yüksek yoğunluklarda bulunmaktadır. Antioksidan özellikli bu önemli yapı; redoks koruma, detoksifikasyon sistem çalışması, hücre zarlarında bulunan fosfolipid yapılı yağ asitleri (eikosonoidler)'nin sentezi, hücre-sinyal sistemi düzenleyici, gen dönüşüm mekanizması (gen ekspresyonu) ve programlanmış hücre parçalanması (apoptozis) gibi çok önemli faaliyetlerde bulunmaktadır (Townsend ve diğerleri, 2003).

Glutasyonun yaklaşık %90'ı sitozolde, sitoplazma'da bulunmaktadır. Geri kalan yaklaşık %10'u da sentez sonrası çekirdek, mitokondri, endoplazmik retikulum ve peroksizom organellerinde bulunabilmektedir (Green ve diğerleri, 2006).

GSH sentezlenmesi iki aşamada olmaktadır:

Katalitik (GCLC) ve düzenleyici (GCLM) alt birim yapılardan oluşan glutamin-sistein ligaz (GCL); birinci aşamada glutamin ile sisteini bağlayıp  $\gamma$ -glutamilsisteini oluşturur. GCL, katalitik alt birimi sayesinde katalitik aktivasyonu sağlayarak sistein ve glutamini birbirine bağlar. GCLM ise düzenleyici alt birimi sayesinde ise katalitik alt birimin etkisini arttırmış olur (Lagman, 2015). İkinci aşamada ise glutasyon sentetaz (GSS), oluşturulan  $\gamma$ -glutamilsisteinine glisinini bağlayarak Glutasyonu oluşturur.



GSH, önemli özellikleri sayesinde aminoasitlerin plazma membranından geçişini sağlayarak önemli antioksidanların yeniden oluşmasını sağlar (Sen ve diğerleri, 2011).

### *Melatonin*

Genellikle epifiz bezinden oluşan ve birçok yerden salgılandığı gibi dolaşıma aktarılacak da salgılan, enzim içermeyen antioksidanlardır. Karanlık durumlarında ise triptofandan sentezlenmektedir. Salgılanma seviyesinin yükselmesi için karanlığa ihtiyaç vardır. Serbest radikallere karşı mücadele edip, toksik etkilerini inaktive ederler. Ne kadar karanlık bir ortam olursa o kadar çok verimli olmaktadır (Hevia ve diğerleri, 2014).

Melatonin, serbest radikallere karşı mücadele ederken, oksidatif hasarların oluşmasını da engeller ve korur. Hücre içi önemli merkez ve organelleri de korur. Melatonin en güzel ve doğrudan etkisi süpürücü görevi görmesidir. Dolaylı bir antioksidan olarak her yerde faaliyet gösterebilme yeteneğine sahiptir. Bu sebeple de koruma alanı çok geniş alanlara da kadar olmaktadır (Reiter ve diğerleri, 2001).

### *Ürik Asit*

Yüksek yoğunluk halinde bulunduklarında kristalize olmaktadırlar. Yağ peroksidasyonu mekanizmasına set oluşturarak engeller ve koruyucu olarak görev almaktadır. Atık ürün olarak görülen ürik asit, çok fazla miktarda olduğunda böbrek rahatsızlıklarına ve hastalıklara neden olur. Çok güçlü bir serbest radikal engelleyicisi olmasına rağmen total antioksidan aktivitesinin bir kısmından sorumlu olarak görev alır (Kumar ve diğerleri, 2015).

### *Bilirubin*

Canlılıklarını yitiren parçalanmış eritrositlerdeki proteinlerin yıkıma uğramasıyla oluşmaktadır. Kan dolaşımıyla karaciğer tarafından enzim etkisiyle yeni bileşiklere dönüştürülmesiyle safra ya da idrar yoluyla dışarı atılmaktadır. Etkili bir antioksidan olan bilirubin, radikallerin zincirlerini kırarak, serbest radikal süpürücüsü olarak etkilerini gösterir (Roche ve diğerleri, 2008).

### *Albumin*

Vücutta çok önemli yere sahip olan albumin, fizyolojik ve ilaç bilimi açısından vücudun kritik antioksidanlarından biridir. Yüksek dereceli olarak vücutta çözünebilme özelliğine

sahiptir. Vücuttaki farklı bölümlerde ozmotik basıncın düzenlenmesini sağlayan önemli bir proteindir. Vücuttaki plazmada bulunan en etkili ve önemli antioksidan olarak görev yapmaktadır (Roche ve diğerleri, 2008).

#### *Koenzim Q10*

Vücutta doğal olarak sentezlenen, hayvanlarda ve insanlarda üretilen, vitamin olmayan-vitaminlere benzer, ubikinonlar bileşikler ailesindendir. İnsan hücrelerinde tirozinden-koenzim Q10, hücre solunumlarında, metabolizma işlemlerinde vücut için enerji üretimi sağlamaktadır. Çok yüksek miktarda hücre zarlarında, mitokondri iç zarlarında ve lipoproteinlerde bulunmaktadır (Gürkan ve diğerleri, 2005).

#### *a-Lipoik asit*

Güçlü antioksidanlar arasında yer alan a-lipoik asit; radikallerine (hidroksil, peroksinitrit, hipokloröz asit, hidrojen peroksit, nitrik oksit ve singlet oksijenleri) karşı mücadele ederek radikal süpürücü özelliğini gösterir (Packer ve diğerleri, 2001).

#### *Selenyum*

Bağışıklık sistemi düzenleyici özelliğine sahip selenyum, antioksidan özelliklerine sahiptir. Gpx'in aktivitesini arttıran selenyum, ROS oluşumunu bastırarak önemli görevlerde bulunur. Vücut için önemli yapı taşlarından olan aminoasit sentezinde kullanılır. İnsan vücudunda bulunan selenoproteinler; antioksidan enzim, antioksidan proteinler, metabolik enzimlerin fonksiyonlarında görev alırlar (Kim ve diğerleri, 2014).

#### *Seruloplazmin ve Transferrin*

Çok önemli antioksidanlardandır. Beyin ve birçok dokuda sentezlenmekte olan proteinlerdir. Kandaki bakırın %95'ini taşıyan şeker ve aminoasit içerikli glikoprotein olan seruloplazmin, Cu'ya geri dönüşümlü olarak bağlanır. Bakır metabolizmasında da önemli görevler üstlenir. Önemli büyüme faktörü olan, esasen serumda ve düşük miktarda diğer vücut sıvılarında da bulunan transferrin ise taşıyıcı protein özelliğiyle bu hücrelere demir iyonu ( $Fe^{+3}$ )

taşımaktadır. Transferrin, serbest ferröz iyonuna karşı hareket ederek konsantrasyonu azaltır ve antioksidan özelliğini gösterir (Chauhan ve diğerleri, 2004).

### 2.1.2. Eksojen antioksidanlar

Vitamin olarak kullanılan eksojen antioksidanları ve ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanları olmak üzere iki kısımda incelenmektedir (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Eksojen antioksidanlar ve çeşitleri (Karabulut ve diğerleri, 2016)

| <b>EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR</b>                |                                                             |                                           |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <i><b>Vitamin Eksojen Antioksidanlar</b></i> | <i><b>İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar</b></i> |                                           |
| Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)             | Ksantin oksidaz inhibitörleri                               | NADPH oksidaz inhibitörleri               |
| Vitamin C (askorbik asit)                    | Rekombinant süperoksit dismutaz                             | Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar |
| Vitamin A ( $\beta$ -karoten)                | Trolox-C (vitamin E analoğu)                                | Nötrofil adezyon inhibitörleri            |
| Folik asit (vitamin B9)                      | Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)         | Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar |
|                                              | Sitokinler (TNF ve IL-1)                                    | Barbitüratlar                             |
|                                              | Demir Şelatörleri                                           |                                           |

#### Vitamin eksojen antioksidanlar

Vitamin kaynaklı antioksidanlar; Vitamin E- $\alpha$ -tokoferol, Vitamin A- $\beta$ -karoten, Vitamin C-askorbik asit ve Folik Asit-vitamin B9 olarak sınıflandırılmaktadır (Shinde ve diğerleri, 2012).

#### *Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)*

Yağda çözünen vitaminler arasındandır. Çeşitli asimetrik formlara sahip olan Vitamin E'nin en biyoaktif formu alfa tokoferol, serbest radikallere karşı mücadele ederek hücre mebranını korur ve antioksidan özelliğini sergiler. Temel prensip olarak lipit peroksidasyonuna karşı önemli özelliği sayesinde koruma sağlamaktır. Vitamin E; kalp hastalıkları, iskemi, katarakt, eklem iltihabı, nörolojik bozukluklar, prostat ve göğüs kanserleri gibi uzun süreli yaşama

etki eden bu hastalıklara karşı koruma özelliklerine sahip antioksidanlardandır (Pham-Huy ve diğerleri, 2008).

Vitamin E, peroksidasyon zincirini kırmak için serbest radikalleri sabit hale getirir ve oksijeni hidroksil-OH ya da O<sub>2</sub>'ye indirger. Vitamin E'nin antioksidan kapasitesi çok geniş ve çok yüksektir. Zincir kırılımları, yapı onarımları, iç sistemdeki savunma sistemlerinin korunma ve güçlendirilmesinde görev alır. Güçlü antioksidan aktivitesini hücre zarında gösterdiği etkiyle GPx'i hücre içerisine alır (Dündar ve diğerleri, 1999).

#### *Vitamin C (Askorbik asit)*

Suda çözünen vitaminler arasındadır. Askorbik asit olarak da adlandırılmaktadır. Nörotransmitter sentez çalışmalarında, karnitin ve kollojenler için gerekli olan bir antioksidandır (Li ve diğerleri, 2007). Vitamin C, reaktif oksijen türleri (hipokloröz asit, nitrojen dioksit, peroksinitrit, singlet oksijen, ozon, süperoksit ve hidroperoksil) ve reaktif nitrojen türlerine karşı mücadele ederek süpürücü özellik gösterir. Bu sayede de oksidatif hasarlara karşı önlem alır ve etkin bir şekilde koruma sağlamış olur (Carr ve diğerleri, 1999).

#### *Vitamin A ( $\beta$ -karoten)*

Yağda çözünen vitaminler arasında olan  $\beta$ -karoten, karotenoidlerin bir üyesidir.  $\beta$ -karoten, aktif şekilde A vitaminine dönüşebilmektedir. Bu yüzden bu vitaminler provitamin olarak tanınmaktadırlar. Etkili ve güçlü bir antioksidan olan  $\beta$ -karoten, iyi bir ROT temizleyicisidir. Ayrıca göz içerisindeki retinada, retinole dönüşerek, gözlerin karanlıkta daha iyi görmesini sağlar (Pham-Hu ve diğerleri, 2009).

#### *Folik asit (Vitamin B9)*

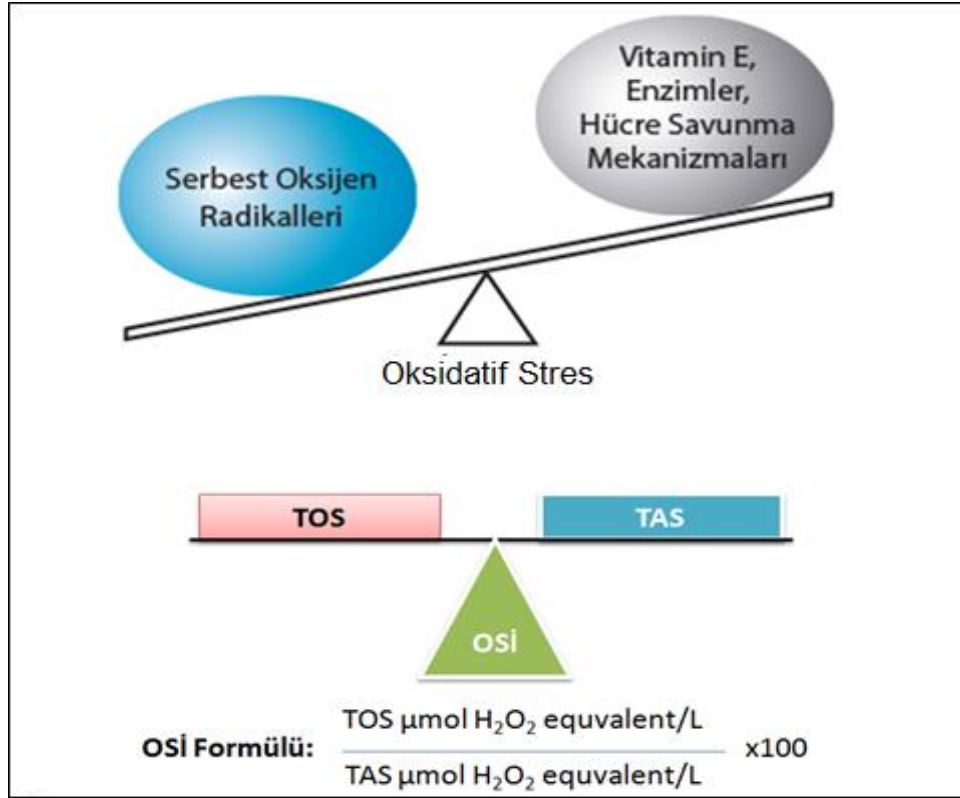
Suda çözünen vitaminler arasındadır. Vitamin B üyelerindendir. Vitamin B9, pteroilglutamik asit ya da vitamin B olarak adlandırılmaktadır. Özellikle dolaşım sisteminin çok önemli hücreleri olan kırmızı kan hücrelerinin üretimi için gereklidir. DNA sentezinde önemli derecede etki gösterir. Kadınlarda fertilite ve gebelik dönemlerinde bebek gelişimi ve hücre bölünmelerinde önemli derecede etki eder. Erkeklerde normal fertilite ve sperm

üretiminin çoğalması (spermatogenezis) için gerekli ve önemlidir (Hussein ve diğerleri, 2012).

Folik asit tek başına hareket ettiği gibi yardımcı olarak B vitaminleriyle beraber plazma homosisteine etki ederler ve seviyesini düşürürler. Vitamin C (askorbik asit) ve Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) gibi vitaminlerde antioksidan özellikleri sayesinde homosistein sistemine etki ederek oksidatif hasarlara karşı mücadele eder ve engellemeye çalışır (Title ve diğerleri, 2000).

### 2.1.3. Total antioksidan-oksidan seviyesi (TAS-TOS)

Oksidatif stresin oluşmasında baş rol oynayan serbest radikallerdir. Serbest radikallerin işlevlerini inaktif hale getirmeye çalışan antioksidan sistemler, organizmanın aktivitelerini ve fonksiyonlarını devam ettirebilmesini sağlamak üzere devreye giren önemli bir sistemdir. Aslında sağlıklı canlılar oksidan ve antioksidan sistemin dengede tutulabildiğinin göstergesi olarak gösterilmektedir. Çünkü sağlıklı bireylerde ROT ve antioksidan enzim sistemi her zaman denge halindedir. İşte tam bu durumda oluşan dengesizlikler; antioksidan savunma sistemi yetersizliği sebebiyle, oksidanlar lehine bir çalışma sistemi gerçekleşir ve oksidatif stres nedeni vücutta çeşitli hastalık ve hasarların oluşmasına imkân verecek ortam hazırlanmış olur. Oluşan bu ortamların farklı metotlar uygulanarak analitik ölçümleri yapılabilmektedir (Güneş, 2016). Organizmaların antioksidan durumu, enzim aktivitesi, konsantrasyonları gibi ölçüm değerleri daha ayrıntılı olarak ayrı ayrı yapılsalar bile bu durum oldukça zor ve zaman alıcıdır. Daha pratik ve önemli değerlerde istenilen sonuçları veren hızlı ve güvenilir Total Antioksidan Seviyesi ve Total Oksidan Seviyesi denilen kısaca TAS-TOS ölçümleri mevcut organizma üzerinde yapılabilmektedir (Scandalios, 2002). TAS-TOS ölçümlerinin pratik, ucuz ve kolay bir şekilde yapılmasının keşfi sonucu oksidatif endeks hesaplamaları bu şekilde yapılmaya başlanmıştır (Çobanoğlu, 2011). Oksidatif stres sonucu oluşan indeks hesaplaması; TOS' un TAS'a yüzde oranına bölünmesiyle  $TOS/(TAS \times 100)$  elde edilmektedir (Kosecik ve diğerleri, 2005). Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve hesaplama formülü (Altınışik ve diğerleri, 2000)

Oksidatif stres sonucu oluşan molekül artışına karşı, tepkiyle antioksidan moleküllerinin artışının gerçekleşmesi; oksidatif hasarın değerlendirilmesinde sadece TOS ölçüm değerleriyle kıyaslanması sağlıklı sonuç vermeyebilir. Bu yüzden total oksidan/antioksidan oranındaki değişikliklerin karşılaştırılarak, yanıltıcı etkenler devreden çıkartılarak daha sağlıklı bir karşılaştırma sonucuna varmak mümkün olmaktadır.

Total antioksidan seviyesi (TAS); vücutta bulunan tüm sıvılarda ve plazmada antioksidanların tüm etkilerini gösterebilmektedir. Plazma da içerisindeki antioksidanlar etkisi en fazla olan antioksidanlardır. Plazma içerisinde; E ve C vitaminleri, transferin, serüloplazmin, ürik asit, bilirübin ve zincir kırıcı etkili antioksidanlar yer almaktadır. Plazmadaki C vitamini, ürik asit ve albümin total oksijen seviyesinin yaklaşık olarak %85' inden sorumlu olarak bulunmaktadır (Romy ve diğerleri, 1996).

Fizyolojik açıdan organizmanın oksidasyon durumu değerlendirildiğinde stresin indirgenmesi sağlayan en önemli etken vücuttaki kandır. Kan dolaşım esnasında antioksidan moleküllerini tüm vücuda dağıtır (Altunkaya, 2014).

Total oksidan seviyesi (TOS); vücutta oluşan toplam oksidan etkileri göstermektedir. Bu sistemin endojen kaynaklı oluşumlarında; monoaminoksidaz, glikolat ve oksidazlar görevlidir (Atlan, Sepici Dinçel ve Koca, 2006). Eksojen kaynaklı oluşumlarında ise; Uv ışınları radyasyon, hava kirliliği, stres, sigara, alkol vb. durumlar yer almaktadır (Kosecik ve diğerleri, 2005).

Canlılardaki olumsuz şartlara karşı mücadele eden savunma sistemleri birbirlerinden farklılık göstermektedir. Özellikle kurakçıl bitkilerin yapısında bulunan saporin bu bitkilerin oksidan oluşumlarında bitkiyi stresten koruyarak savunma mekanizmasını aktif hale getirmektedir. Buna karşın soğuk kanlı hayvanların yapısında bulunan saporin ise bu hayvanlarda toksik bir etki oluşturmaktadır (Fidan, 2007).

Organizmaların yapılarına baktığımızda çeşitli farklı durumlara bağlı vücutta oluşturdıkları oksidatif streslere karşı savunma sistemleri devreye girmektedir. Böceklerdeki sindirim yollarında veya tüm doku yapılarında oluşan bu oksidatif streslere karşı çok miktarda enzimatik ve nonenzimatik savunma sistemleri olan yapıları mevcuttur (Barbehenn ve diğerleri, 2004).

Çalışmakta olduğumuz model organizma olan *D. melanogaster*' de bulunan antioksidanlar; CAT, SOD, GSH, GR, GST, MSR (metionin sülfoksit redüktaz), TRPX (triyoredoksin peroksidaz), şeklinde sıralanabilmektedir (Missirlis ve diğerleri, 2003).

## 2.2. Ömür Uzunluğu

Her canlının bir yaşam süresi vardır. Biyolojik açıdan kompleks ve karmaşık olan yaşlılık ve yaşam süreci insan hayatında çok önemli bir yere sahiptir. Gerontologlar tarafından birçok şekilde yaşlılık teorileri, tanımlamaları yapılsa da genel itibariyle yaşlanma; çevreye uyum, adaptif olma yeteneği ile bunlara bağlı organizmadaki doku ve organların işlevsel yetersizliğiyle oluşan bir süreç olarak tanımlanmaktadır (Can ve diğerleri, 2014). Yaşam fonksiyonlarının azaldığı bu süre zarfında; kardiyovasküler bozukluklar, kanser, diyabet, katarakt, nörodejeneratif bozukluklar ve osteoporoz gibi insan hastalıklarının gelişimine katkıda bulunan önemli risk faktörleri ortaya çıkmaktadır. Yaşlanma, çok sayıda genetik ve çevresel faktör ile biyokimyasal yolların etkileşiminin sonucudur. Yaşlandıkça moleküler,

hücresel ve organ sistemi düzeyinde hasarlar biriktiririz ve buna vücutlarımızın bu tür hasarları onarma konusundaki verimsizliğinin artması da eşlik eder.

Çeşitli çalışmaları ve araştırmaları yapılan bu karmaşık yapının tanımı ve yapılan yüzlerce teorileri mevcuttur. Önemli derecedeki bu teoriler; somatik mutasyon, telomer kısalması, serbest radikal, nöroendokrin, immünolojik teoriler ve uzun yaşam genleri, yaşlılık sendrom çalışmaları, yaşam oranları gibi teorilerden oluşmaktadır (Medvedev, 1990).

*Drosophila* ve insan arasında genetik ve fonksiyonel karşılaştırma değerlendirmeleri yapıldığında; insandaki 289 hastalık geninin %60'ının *Drosophila melanogaster*'in homologlarının sahip olduğunu ve bu genlerden yaklaşık 100'ünün de çeşitli insan endokrin ve metabolik hastalıklarında rol oynadığını ortaya çıkmıştır (Sanjay ve diğerleri, 2002).

### 2.2.1. Ömür uzunluğuna etki eden faktörler ve yaşlanma teorileri

Gelişme ve yaşlanma sürecinin şekillenmesi sadece genlerle olmamaktadır. Genlerin etkisinin yanında, çevresel ve epigenetik faktörlerde rol oynamaktadır (Helfand ve diğerleri, 2002). Çevresel faktörlerin ömür uzunluklarına etki ettiğini gösteren bilimsel çalışmalar yapılmıştır (Parsons, 1991). Canlılarda oluşan stres durumlarına karşı gösterdiği direnç, canlıların yaşlanma sürecini arttırdığını göstermiştir (Bourg ve diğerleri, 2001). Yaşlanma süreci oldukça kompleks ve karmaşık bir yapıda olması nedeniyle temel özelliklerini açıklarken sadece tek bir mekanizmadan olduğunu göstermek yetersiz olacaktır (Nalbant, 2006).

Kolay uygulanabilirliği ve çeşitli özellikleri bakımından bilimsel çalışmalarda kullanılan *Drosophila melanogaster*, biyolojik mekanizmaları bakımından insana en yakın homolog özellikler gösterdiğinden; yaşlanma genetiği ve ömür uzunluğu çalışmalarında da en çok kullanılan model organizmalarından biri haline gelmiştir (Plantamp ve diğerleri, 2017).

Ömür uzunluğu çalışmaları göz önünde bulundurulduğunda etki eden birçok çeşit faktörün olduğu görülmektedir. *D. melanogaster*'in ömür uzunluğuna etki eden faktörleri genel ana hatlarıyla iç ve dış faktörler (çevresel) olarak iki gruba ayırmak mümkündür (Ayar, 2008). İç faktörler; yumurta verimi ve üretimi, genetik yapıları ve eşey durumu, anasal yaş durumu,

dış faktörler ise; beslenme, populasyon yoğunluğu, radyasyon, nem, sıcaklık ve ı ışık) olarak incelenmiştir (Altun ve diğerleri, 2011).

### Ömür uzunluğuna etki eden faktörler

#### A- İç Faktörler

#### Yumurta verimi ve Üretimi (Fekundite)

*D. melanogaster*'de ömür uzunluğu olarak kısa yaşamlı olan *vestigial*, *wmf* ve *vermillion* gibi çok sayıda mutant türler bilinmektedir (Bozcuk, 183). Bu mutasyonlar incelendiğinde bazılarının ömür uzunluğuna olumlu etkileri olduğu görülmektedir. Ovaryumların indirgenme yapılarına bağlı olarak üreme sistemlerinin eksikliği söz konusu bu dişi mutantların ömür uzunluğunu arttırdığı bulunmuştur (Smart, 1957). Bu durumdan farklı olarak ise; verimli yumurtama oranına sahip dişi organizmalarda ise ömür uzunluğunun azaldığı da tespit edilmiştir (Pearl ve diğerleri, 1927). Verimli üreme ile ömür uzunluğunun bu arasındaki ilişkiye bakıldığında antagonistik pleotropi teorisine uyduğu görülmektedir (Finch, 1994). Diğer deneylerde yapılan inceleme ve çalışmalarda; yüksek yumurta üretimine sahip çiftleşen dişilerin, çiftleşmemiş olan dişilerin (virgin) bireylerine oranla ömür uzunluklarının daha kısa olduğu tespit edilmiştir (Gowen ve diğerleri, 1946).

#### Genetik Yapılar

Çevresel etmenler ile genetik etmenlerin etkileşimiyle organizmaların ömür uzunluğu belirlenmektedir (Ayar, 2008). Çevre durumu ve şartları kontrol halindeyken, uzun ömrün, yaşam süresince optimum düzeyde sürdürülmesini sağlar. Bu duruma göre bakıldığında, yaşam süresince değişken durumlardaki belirginleşen farklar genetik yapıdaki etkenlere bağlanabilir (Bozcuk, 198).

Yapılan bir çalışmada; beş adet mutasyona uğratılmış organizmaların genleri, aynı ortamda bulunan organizmalar ile ayrı ayrı ortamlarda bulunan organizmalar ile karşılaştırılmıştır. Aynı ortamda bulunan mutant organizmaların daha kısa ömür uzunluğuna sahip olduğu gözlemlenmiştir. İşte bu çalışmada, ömür uzunluğuna etki eden gen kombinasyonu ve spesifik olan mutant genler ilk defa üzerinde çalışma yapmış olduğumuz model organizma

*D. melanogaster*'de bulunmuştur (Gonzales, 1923). Bir başka yönden, sahip oldukları genotip yapısı melez olan organizmalar incelendiğinde ise melez genotip çeşidine sahip olanlar, saf (arı) döl organizmalarına kıyasla yaşam süreleri daha uzun oldukları belirlenmiştir (Pearl ve diğerleri, 1923).

#### Eşey durumu

*D. melanogaster* organizmasının erkek ve dişi bireylerinin farklı ömür uzunluğuna sahip oldukları bilinmektedir. Dişi bireylerin erkek bireylere oranla yaşam sürelerinin daha uzun olduğu gözlemlenmiştir. Metabolizmaları ise birbirlerinden çok farklı olabilmektedir (Ayar, 2008). *Drosophila*'ların farklı bireylerinde DNA, RNA ve protein seviyeleri incelendiğinde, dişilerin, erkek bireylere oranla bu moleküllere daha yüksek seviyede sahip oldukları ileri sürülmüştür (Samis ve diğerleri, 1971).

#### Anasal yaş durumu

Bireylerdeki çekirdek harici madde ve moleküller, dışiden yavruya daha fazla geçtiğinden aktarılan gen özelliklerinde (yavru döl) erkeğe oranla anasal etkinin daha fazla olduğu belirlenmiştir (Şahin ve diğerleri, 2014). Bilim dünyasında yer edinen "Lansing Etkisi" - "Anasal Etki" hipotezine göre yapılan bir çalışmada; ergin yaşlı dişi bireylerin bıraktığı yumurtalardan çıkan yavru bireyler birkaç nesil boyunca çaprazlanıp yinelenmiştir. Bu yaşlı bireylerden gelişen yavru dölleri erginleştiklerinde yaşam sürelerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Hipotez sonucuna göre dişi yaşlı erginlerin anasal yaş durumları ömür uzunluğuna olan etkisi genetik olmasa da nesilden nesile aktarılırken yumurta içerisinde bulunan ana materyaller veya DNA'daki değişimler olan epigenetik gen ifadesindeki değişiklikler olarak aktarılmaktadır. Yavru dölün ömür uzunluğunda çok önemli etkenlerden olduğu ilk defa rotifera şubesi olan *P. citrina* türü ile bulunmuştur (Lansing, 1952).

#### B- Çevresel (Dış) Faktörler

##### Beslenme

Besinler ömür uzunluğu üzerine son derece etkilidir. Yapılan bir deneyde, *D. melanogaster* 'lerin şeker ile beslenmesinde sakkaroz (glikoz-fruktoz) kullanmak yerine galaktoz (süt

şekeri) ile beslenilmesi, istatistiksel düzeyde ömür uzunluklarını kısalttığı görülmüştür (Jordens ve diğerleri, 1999). Başka bir çalışmada ise; B5 vitamini olan pantotenik asit ile yapılan deney grubunda *D. melanogaster*'lerin yaşam sürelerini arttırdığı gözlenmiştir (Strehler 1962). Bir başka farklı çalışmada; *Drosophila subobscura*'ların sadece sakkaroz ve agar beslenmesi ile standart beslenen diğer bireylere oranla yaklaşık %50'den daha kısa yaşam süresine sahip oldukları tespit edilmiştir (Bozcuk, 1970). *Dolichousnea longissima* liken türüne sahip organizma ile *D. melanogaster*' in ömür uzunluğu üzerine karşılaştırmalı bir araştırma yapılmıştır. Likenin düşük konsantrasyondaki su ekstresi ile beslenenlerde yaşam süresini arttırdığı, ekstre konsantrasyonun yüksek durumlarında ise yaşam süresinin azaldığı gözlemlenmiştir (Altun, 2007). Liken türleriyle yapılan bir başka deneyde ise *Labora pulmonaria*'dan elde edilen metanol, kloform ve su ile elde edilen ekstreler ile *Drosophila*'lar akut olarak beslenmiş ve sonucunda tüm ekstrelerin konsantrasyonu artırıldığı durumlar gözlemlendiğinde ömür uzunluğunu arttırdığı, metanol ile hazırlanan ekstrede ise yaşam süresi üzerinde daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Uysal ve diğerleri, 2008).

### Radyasyon

Eklembacıklılar sınıfında olan böcekler (insecta), radyasyon yüklü enerjilere karşı son derece dayanıklı canlılardır. Ergin birey olan üçüncü larva evre sonrası ergin birey olan *Drosophila*'larda iyonize olan radyasyona karşı duyarlılığı oldukça düşüktür (Bozcuk, 1972). Lakin radyasyon üzerine yapılan farklı çalışmalar incelendiğinde; yüksek doz oranındaki radyasyonda vücutlarında mutasyon birikimi sonucu ömür uzunluğunu azalttığı görülmüştür. Düşük doz oranında verilen radyasyonun ise yaşam süresini arttırdığı gözlenmiş ve bu artışın çevresel dirence bağlı olarak vücutlarındaki bazı enfeksiyon ve hastalıklara karşı radyasyonun etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (Rizki ve diğerleri, 1978). Mikrodalga ile yapılan bir çalışmada ise mikrodalga yayan elektromanyetik radyasyonun *Drosophila*'ların bazı mutasyona uğramış olanlarında inceleme yapılarak etkisi araştırılmış ve mutasyona uğrayan dişilerde azalma görülürken, erkek olan *Drosophila*'larda ömür uzunluğunu arttırdığı gözlemlenmiştir (Dalgıç ve diğerleri, 2002).

### Populasyon yoğunluğu

Populasyon yoğunluğunun etkisi incelendiğinde, ergin organizmalardan çok larva dönemindeki organizmalar için daha anlamlı olduğu görülmektedir. Larvaların büyümelerindeki olgunlaşmaları yavaşlatıldığında populasyon etkisine bağlı olarak ergin durumundaki organizmaların yaşam sürelerini arttırdığı tespit edilmiştir (Miller ve diğerleri, 1958). Yapılan bir araştırmada, standart tüplerde *Drosophila*'ların üremelerini sağlayan 7 yumurta eklenerek incelenmiş ve yumurta sayısı bu tüplerde 480'e çıkartılıp tekrar incelendiğinde ise ortalama erginlerin yaşam süreleri yaklaşık %60 oranında arttığı tespit edilmiştir. Bu evredeki yoğunluğun olması, ergin bireylerin larvalardan küçük ve normal zamanından daha geç çıkması daha uzun yaşam sürelerinin olduğu gözlemlenmiştir (Lints, 1963).

### Işık

Zaman kontrolüne bağlı periyodik foton uygulamasında, evalasyona bağlı olarak *Drosophila*'nın yumurta ve pupa evrelerindeki geçişlerinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Qui ve diğerleri, 1996). Yapılan bir çalışmada, *Drosophila* larvalarına kısa ve uzun süreli karanlık ve ışık uygulamasında farklı fotoperiyotlar altında yapılan deney sonucu, aynı besin ile beslenen organizmaların metabolizma hızlarının farklı olduğu; kısa zaman gündüz ışığı etkisinde kalanların, uzun zaman gündüz ışığı etkisinde kalanlara oranla daha uzun yaşam sürdürdükleri tespit edilmiştir. Bu nedenle kısa gün ışığına maruz bırakılanların metabolizmalarına bağlı olarak gelişmelerinin daha hızlı olduğu belirtilmiştir (Lanciani ve diğerleri, 1991). Diğer bir çalışmada ise farklı ışık rejimlerinin, *Drosophila*'ların yaşam süreleri ve üreme uygunluğu üzerine etkileri incelenmiş ve sonucunda önemli derecede etki ettiği gözlemlenmiştir. (Sheeba ve diğerleri, 2000). Yapılan diğer *D. melanogaster* çalışmalarında ise sürekli olarak ışığa maruz bırakılan ortamdaki organizmaların ömür uzunluğunu azalttığı gözlemlenmiştir (Klarsfeld ve diğerleri, 1998). Lakin yapılan diğer çalışmada, karanlık ortama maruz bırakılan *Drosophila*'ların erkek erginlerinde %20 dişi erginlerinde ise %43 oranında ömür uzunluğu artışı da tespit edilmiştir (Bağcı ve diğerleri, 1991).

### Sıcaklık

Soğukkanlı olan böcekler (insecta) çevre sıcaklıklarına bağlı olarak; metabolizma hızı, solunum hızı ve serbest radikal oluşumunu artırır. Sonuçta hücredeki DNA ve çekirdeğe etki ederek hasar meydana gelir ve yaşam sürelerinde azalma meydana gelir. Bu bağlamda yaşam için uygun sıcaklık değerlerinin artması ile ısı üretimi artacak, vücuttaki oksijen tüketimi artacak ve ömür uzunluğu azalacaktır (Sestini ve diğerleri, 1991). *Drosophila*'nın ilk kez sıcaklık değerlerinin ömür uzunluğu üzerine etkileri incelendiğinde, uzun ömürlü yaşamın sıcaklıkla ters orantılı olduğu bulunmuştur (Loeb ve diğerleri, 1916). Yapılan bir çalışmada, *Drosophila*'nın gelişim evreleri ve ergin evredeki sıcaklık periyodunun etkisi incelenmiştir. Sıcaklık artışının, gelişme ile ters orantılı olduğu, büyüme ve gelişme durumlarındaki hormonların hızlarında değişiklikler oluşturduğu tespit edilmiştir. Sıcaklığın ergin bireyler üzerindeki etki sonucu ise düşük sıcaklığa maruz bırakılan organizmaların büyük olması beslenme zamanındaki periyodik uzunluk sebebi ile gözlemlenmiştir (Burcombe ve diğerleri, 1970).

### Yaşlanma teorileri

#### *Somatik mutasyon teorisi*

Radyasyon, kimyasallar, biyolojik ürünler Uv ışınları, reaktif oksijen ve serbest radikallerin germ hücreler haricindeki somatik (vücut) hücrelerinde ömür boyu biriken mutasyonlar sonucu vücutta birçok hastalıklara neden olup, somatik hücrelerde kalıcı hasar bırakmasıdır (Vijg, 2000). İlerleyen yaşlarda kansere neden olan (onkojenik) mutasyonların somatik hücrelerinde yaşam süresince vücutta birikmelerinden dolayı kanser riskinin oluşması daha da artmaktadır (Curtis, 1966).

#### *Serbest radikal teorisi*

Teoriler arasında en çok incelenen ve üzerinde durulan serbest radikal teorisidir (Harman, 1956). Serbest radikaller, dış taraflarındaki e<sup>-</sup>(elektron) kaybına bağlı olarak bu açığı giderebilmek için diğer atomların elektronlarını paylaşmak üzere hareket eden kimyasal atomlardır. Bu durum metabolizmanın bir sonucudur. Tüm oksijenli solunum yapan canlılar tarafından doğal olarak üretilir. Vücut hücrelerinde bulunan hücre zarlarını, proteinleri,

lipitleri ve genetik materyal yapımız olan DNA ile önemli molekülleri tahrip ederler (Ayar, 2008).

Canlı organizmalar sistemlerinde; oksijen, süperoksik,  $H_2O_2$ , geçiş metal iyonu,  $OH^-$  iyonları en önemli serbest radikaller grubunu oluştururlar. Normal konsantrasyon durumlarında fizyolojik halde hücresel faaliyet gösteren ROT (Reaktif Oksijen Türleri), yüksek konsantrasyon durumunda ise hücrelerde oksidatif strese sebebiyet verip hastalık yapıcı etmenleri gösterebilmektedir. Sonuçta ise çok önemli hastalıklara sebebiyet vermektedir. Bu hastalıklar; genetik, metabolik hastalıklar, sinir harabiyeti sonucu oluşan bozukluklar, kardiyak, otoimmün sistemi bozukluklar, enfeksiyon, immün sistemi bozuklukları ve kansere kadar ilerleyen boyutta patolojik etki göstererek yaşam süresini kısaltmaktadır (Dröge, 2002).

Radyasyon, bazı virüsler, ultraviyole ışınları ve hava kirliliği oluşturan kömür petrol ve doğal gaz yanması sonucu oluşan ürünler, sigara, enfeksiyon, strese bağlı oluşan durumlar ve hücre metabolizması sonucu atık ürünler, yıkıcı kimyasallar ile insektisit ilaçlar serbest radikallerin kaynaklarını oluşturmaktadır.

Antioksidan ve oksidan sistemler vücutta denge halindeyken yaşam ve sağlık açısından herhangi bir sıkıntı oluşmamaktadır. Fakat bu teoriye göre yaşam süresince serbest radikal kaynaklarına maruz kalınca hücrenin büyüme, gelişme ve sistem farklılaşmalarında aksaklık ve hasar sonucu kanserden ölüme kadar bir süreç içerisine girebilmektedir (Ames ve diğerleri, 1993).

Yaşam süresince vücutta biriken serbest radikaller, yaşlanma ve ömür uzunluğu üzerine büyük öneme sahip olduğundan birçok çalışmada yer edinmiştir (Setsini ve diğerleri, 1991; Orr ve diğerleri, 1992; Fışkın ve diğerleri, 1994; Jordens ve diğerleri, 1999; Zou ve diğerleri, 2000).

### *Genetik yaşlanma teorisi*

İnsanların yaşam/ömür uzunluğu araştırmalarında soyları, cinsleri, hangi ırktan geldikleri söz konusu DNA program çalışmalarıyla değerlendirilen bir teoridir. Dünya ve ülke çapında kadın ve erkeklerin yaşam sürelerinin hesaplanması örnek olarak verilebilir. Örneğin, dünya

geneline baktığımızda kadınların yaşam süresi erkeklere oranla daha yüksektir. Yaşlanma üzerine yapılan birçok çalışma mevcuttur. Moleküler saat yaşlanma teorisinde yaşlanmamanın genetik olduğu ve damar sertleşmesi gibi hastalıkların genetiğin ön karakterlerinden kaynaklandığını belirtmektedir. Bu teoriyi savunanlar, yaşlanma sürecinin genetik şifrelerimizde kayıtlı olduğu ve yaşlılık sürecinin ne zaman oluşacağını öne sürmektedirler. Bu gibi çalışmaları yapanlar, erken dönem büyüme ve erken dönem gelişmeyle karakterize bir program gibi olgunluk, yaşlılık ve ölümü izleyen programlanmış bir durum söz konusudur (Jensen ve diğerleri, 1996).

#### *Hücre yaşlanma teorisi*

Hücrelerin çoğalması esnasında kontrolü sağlanırken, kontrol edici genlerin klonal yaşlanma nedeniyle mutasyona uğraması şeklinde öne sürülen bir teoridir. Kromozomda bulunan telomerdeki oluşan kayıplar nedeniyle hücre yaşlanmasının olduğu öne sürülmektedir. Telomer, son zamanlarda klonlama, kopyalama teknikleri gibi genetikte büyük önem kazanmıştır. Hücre bölünmelerinde kromozomdaki telomerlerin kısalması ile ileri yaşam süreci üzerinde kayda değer çok önemli bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte telomerin kısalması, hücrelerin büyümelerine bağlı olarak otomatik saat gibi çalıştığı ortaya konmuştur. Yaş süresince artan telomer boyu, lenfositlerde kısaltmaya giderken, kök hücrelerde herhangi bir değişiklik göstermemiştir (Hemann ve diğerleri, 2001).

#### *İmmünolojik teori*

İmmünolojik teoriye göre yaşlanma sürecinin gerçekleşme sebebi, yaşın artması ile beraber bazı hormon düzeylerinde azalmalar veya bağışıklık sistemindeki düzensizlik sonucu oluşan potojenik durumdur. Esasında bu teori immün sistemdeki T- lenfositlerin yeterince faaliyet gösterememesi ve zayıflaması sonucunda oluşmaktadır. Bu azalma ise antikor üretim merkezi olan timüs bezinin bozulmasıyla karakterizedir. Hücrelerdeki bağışıklık sistemlerinde önemli görevleri olan timüs bezinin fonksiyonlarında zayıflık göstermesinin ilerleyen yaşam sürecinde önemli derecede etkili olduğu düşünülmektedir. Yaşlanmayla beraber hücreler, genç haldeki gibi yeterince faaliyetlerini gösterememektedir. Vücutta ise bağışıklık sisteminin zayıflamasıyla virüs, bakteri veya diğer hastalık oluşturacak etkenlerin giriş yolu daha kolay olacak ve hastalıklara karşı yeterince mücadele edilemeyecektir. Vücut

yaşlanmayla beraber, kendi vücut elemanlarının yanında takviye edilen yapıcı veya yıkıcı elemanları da tanımamakta ve ayırma yeteneğini zamanla kaybetmektedir. Kısaca, immün sistemdeki bozuklukların ve yaşlanmanın oluşmasıyla, doku ile yabancı maddeler arasındaki fark yeterince tespit edilememeye başlamaktadır. Bu sebeple, vücudun yabancıyı ayırma yeteneğini kaybetmesiyle vücutta oluşan hastalık ve ajanlarla mücadele ederken, bir taraftan da yaşlanmayla beraber kendi vücuduna karşı mücadele ederek saldırır ve yeni hastalıklar da oluşturur (Walford, 1974).

### *Endokrin teori*

Bu teori, vücuttaki endokrik bezlerinin hormon salgılayarak fonksiyonlarındaki değişiklik ve yetersizliklerinden kaynaklı yaşlanmayla karakterize bir durumdur. Vücudun gece gündüz farklılıklarında uyum göstermesini sağlayan pineal bezin, vücuttaki önemli işlevleri olan melatonin hormonunun işlev düzensizlikleri nedeniyle yaşlanmanın olduğu ileri sürülmektedir (Reiter, 1994). Aynı zamanda böbrek üstü bezinden salgılanan dehidroepiandrosteron (DHEA) hormonunun düzensizliği sonucu azalmasıyla yaşlılığın oluştuğunu ileri sürmüşlerdir (Barrou ve diğerleri, 1997). Bu sebeptendir ki DHEA ilaç preparatları ve melatonin hapları üretilerek tıp alanında kullanılmaya başlanılmış ve yaşlanmayı geciktirici olarak satışı yapılmaya başlanmıştır. Düzensizlik sonucu over folikülleri ve yumurta depolarının kısıtlı hale gelmesiyle oluşan menapoz olayı da bu teoriye girmektedir.

### *Nörendokrin teori*

Bu teori, vücudun kimyasal ürünlere karşı mücadele ederek engelleme ve dışarı atılımını sağlayan mekanizmasının işlev durumunun zayıflaması sonucunu destekler. Bu mekanizma sistemi hayat süresince hormon dengesini sağlayan hipotalamus tarafından sağlanmaktadır. Hipotalamus-hipofiz aks (HPA aksı) kompleks geri bildirim yolağının dengesinin yaşlanmayla karakterize, büyüme ve düzenlenmesini temel alan bu teori en önemli durumunu oluşturmaktadır. Bilhassa bu durum kadınlarda üreme durumlarının sona ermesiyle bu aks yolağının fonksiyonlarında da hızlıca bir düşüş söz konusu olmaktadır. Bu teori hipofiz bezi çıkartılan (hipofizektomi) fareler deneyinde tespit edilmiş ve kanıtlanmıştır (Mobbs, 1996).

### *Mutasyon birikim teorisi*

Gençlik zamanlarından itibaren zayıf olarak dış çevresel etkenlerin oluşturduğu yapıların doğal olarak fenotiplerindeki değişiklikler göstermesiyle vücutta tekrar tekrar biriken zararlı mutasyonlar sebebiyle yaşam süresini ve üreme durumunu olumsuz yönde etkilediğini öne süren bir teoridir (Medawar 1952; Charlesworth 1994).

Yaşlılığın teorileri arasında kilit kısım, doğal seçilim kuvvetinin ilerleyen yaşla birlikte azalması durumudur. Dinç olan organizmada oluşan olumsuz koşulda oluşan bir mutasyon tüm üreme basamaklarını etkileyecek ve bu mutasyonlara karşı da genom seleksiyonlar kuvvetli durumda kendini gösterecektir. İleri yaşlarda bahsedilen negatif-olumsuz bir mutasyon ilk başlardaki üreme durumlarını etkilemez ve geç zamanda ortaya çıkan bir mutasyon ile birikim olsada seleksiyon etkisi daha cılız görülecektir (Zwaan, 1999; Kirkwood, 2002).

Yaş ilerledikçe populasyonlar arasında çıkabilen tür ve genlerdeki farklılıkların (genetik varyans) en etkileyici sebebi, zamanla oluşan mutasyonların birikmesi olabilir (Tatar, Promislow, Khazaeli, Curtsinger, 1996). Birikim sonucu ilerleyen yaş sebebiyle doğal seleksiyon baskısı düşerken, negatif mutasyonların atılımı veya frekanslarını azaltma olasılığı düşer veya ortadan kaldırır (Rose, 1999). Oluşan bu mutasyon birikimi gen allellerindeki farklılıkları belirten genetik varyasyonu (ham madde) artırır. Yaşlanma sonucuyla beraber, genetik varyansın artması da biriken mutasyonların oluşmasını düşündürmektedir (Tatar ve diğerleri, 1996). *Drosophila*'da yapılan deneyler sonucu da gösteriyor ki ölüm oranı (mortalite) genetik varyansın devamlılığıyla ilgili olduğu ve ileri yaşam, yaşlanma durumları mutasyon birikim teorisyle ilişkilendirildiği belirlenmiştir (Hughes ve Charlesworth 1994; Tatar ve diğerleri, 1996; Pletcher ve diğerleri, 1998).

### *Antagonistik pleiotropi teorisi*

Bu teori yaşlanmanın evrimsel olarak açıklanması olarak da tanımlanabilir. Organizmanın doğal seçilim yoluyla tek olan bir genin daha fazla özelliği etkileyebilme durumu söz konusudur. Viabilite (canlılık) ve fekundite (yumurta üretimi) düzenleyen gen allellerinin ilerleyen yaş durumunda negatif etkiyle etki gösterdiği yorumlanmıştır (Rose, 1985; Williams, 2001). Ömür uzunluğu sürecinde bu alleller, yaşamın erken dönemlerinde uygun

ve yararlı iken bazı karakter ve özelliklerin pleotropik etkinin oluşmasıyla birlikte ileriki yaşlarda zararlı durumlarının ve harabiyetin kendini göstermesiyle sonuçlanmasıdır. Antagonistik pleiotropinin etkisi mutasyon birikimiyle kıyaslandığında, bu teorinin daha etkili olduğu ve mutasyon birikiminden daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (Partridge, 2001).

### 2.3. Meyve Sineği (*Drosophila melanogaster*)

Canlılık süreçlerinin takibi, anlaşılabilmesi ve biyolojik araştırma ile analiz çalışmalarının yapılabilmesi için model organizmalar kullanılmaktadır. Bu model organizmalar ile laboratuvar ortamında kolayca çalışılabilir, üremeleri, üretimleri, hızlıca ve sürekli sağlanabilir ayrıca oldukça maliyeti düşük olan bu organizmaların birçok kendine has özellikleri sayesinde laboratuvar ortamında yapılan çalışmalara, analizlere oldukça avantaj sağlamaktadır (Doğan, 2015). Model organizmaların bu şekilde basit ve uygulanabilirliği kolay olması hasabıyla daha karmaşık yapıları ve işlevlerini inceleme fırsatı verdiği gibi biyolojik merakı arttırmaktadır (Ankeny ve Leonelli, 2020). Model organizmalar sayesinde çoğu hastalıklarla mücadele etmek, sağlıklı ve uzun yaşam için genler üzerindeki hastalık kökeni araştırılabilmekte ve gelişmiş organizmalara olan etkileri değerlendirilebilmektedir. Farmakolojik çalışmalar, gelişim biyolojisi, hücresel ve molekül düzeyindeki çalışmalar model organizmalar sayesinde kolayca ve hızlı bir şekilde elde edilmektedir (Müller ve Grossniklaus, 2010). İnceleme ve araştırma çalışmalarında kullanılacak model organizma seçiminde en önemli husus, hakkında değerlendirme yapılıcağı organizmaya veya canlıya olan fizyolojik, genetik veya anatomik yönden allellerinin/benzerliğinin olmasıdır (Altun ve Keskin, 2020). Model organizmalar üzerinde inceleme ve araştırma yapılması güç olan insan dahil diğer kompleks organizma türleri hakkında bilgi edinebilmek için kullanılmaktadır (Doğan, 2015).

Genel olarak model organizmalar aşağıdaki örnekleriyle 3 farklı şekilde kategorize edilebilir (Çizelge 2.3). Bunlar;

- Genetik incelemede kullanılan model organizmalar: *Saccharomyces crevisiae* (mantar-ekmek mayası), *Caenorhabditis elegans* (yuvarlak solucan), *Drosophila melanogaster* (meyve/sirke sineği)

- Deneysel incelemede kullanılan model organizmalar: *Gallus gallus* (tavuk), *Xenopus laevis* (kurbağa türü),
- Genomik incelemede kullanılan model organizmalar: *Fugu rubripes* (kirpi balığı)

Çizelge 2.3. En çok kullanılan model organizma türleri ve kullanım alanları (Akın ve Kobaneri, 2020)

| Takson    | Organizma                       | Kullanım Alanı                                            |
|-----------|---------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Virüs     | Lambda fajı                     | Virüsler                                                  |
| Bakteri   | <i>Escherichia coli</i>         | Prokaryot hücreler                                        |
| Mantar    | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Ökaryot hücreler                                          |
| Protist   | <i>Chlydomonas reinhardtii</i>  | Fotosentez<br>Metabolizma düzenlenmesi<br>Hücre tutunması |
| Bitki     | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | Dikotil<br>Çiçekli bitkiler                               |
| Bitki     | <i>Brachypodium distachyon</i>  | Monokot bitkiler                                          |
| Bitki     | <i>Triticum aestivum</i>        | Tahıllar                                                  |
| Omurgasız | <i>Caenorhabditis elegans</i>   | Gelişimsel biyoloji                                       |
| Omurgasız | <i>Drosophila melanogaster</i>  | Popülasyon genetiği                                       |
| Omurgalı  | <i>Danio rerio</i>              | Gelişim<br>Sinyal yolları                                 |
| Omurgalı  | <i>Mus musculus</i>             | Omurgalı hayvanlar                                        |

Yukarıdaki model organizma türleriyle yapılan araştırma ve inceleme çalışmaları, genellikle aynı sınıflarda (class) yer edinen tüm türleri kapsayıcı geçerli sonuçlar vermektedir (Akın ve Kobaneri, 2020).

Genetik çalışmaları; moleküler biyoloji, biyoloji ve genom dizilimi(sekans) çalışmaları, biyolojik işlevleri yürüten birçok moleküler sürecin ve genin evrimsel süreçte korunduğunu ortaya çıkarmıştır. Çok elzem olan birçok gen hücresi en küçük organizmalardan, en büyük organizmalara kadar korunmuş ve aktarılmıştır. Genetikçiler, tüm biyolojik işlevleri, genlerin nasıl aktarıldığını, gen aktarımının neyle kontrol edildiğini tüm bu süreçleri izleyebilmek için çeşitli model organizmalar kullanarak deneylerini gerçekleştirirler.

Günümüzde birçok alanda kullanılan model organizmalar biyolojik mekanizmaları bakımından insana en yakın özellik gösteren canlı grupları içinden seçilmektedir.

*Drosophila melanogaster* (Resim 2.1), Antarktika hariç tüm dünya kıtalarında yaşama uyum sağlayan insanlara en yakın allel genleri barındıran çok önemli ve özel model organizmalardan biridir. Yaklaşık 15 bin yıl önce Güney Afrika'daki atasoylarından Avrupa'ya oradan da dünyanın tüm geri kalanına uyum sağlayarak koloni ve kommensal hayat şeklinde yaşamaya başlamışlardır (Lachaise ve diğerleri, 1988).



Resim 2.1. *Drosophila melanogaster* erkek (sol) ve dişi (sağ) bireyleri

*Drosophila melanogaster* 'in yaşam döngüsünün kısa olması, nükleotit dizisi bilinen küçük bir genoma sahip olması, insan hastalıklarına neden olan genlerin birçoğunun homologunu bulundurması, temel hücresel olayların-sinyal yollarının korunmuş olması ve etik problem oluşturmaması gibi önemli avantajları olan omurgasız bir canlıdır. Bu avantajlar sayesinde yaptığı çalışmalarla Nobel ödülü alan Thomas Hunt Morgan, laboratuvarında beyaz gözlü mutantları keşfetmesiyle kalıtımın kromozomlar açısından önemi anlaşılmıştır. *Drosophila melanogaster* ile dikkatleri üzerine çekmesiyle; model canlıların önemini arttırmış, genetik araştırmalar alanında yeni bir kapı açmış, insan hastalıklarının modellenmesi mümkün olmuş ve patofizyolojilerin araştırılması, yeni genlerin ve genetik düzenleyicilerin tanımlanması, klinik çeşitlilik nedenlerinin açıklanabilmesi ve yeni tanı/tedavi geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır.

*Drosophila melanogaster* ve genetik biliminin tarihçesine baktığımızda;

- 1865 yılında genetik biliminin temelleri atıldığında Gregor Johann Mendel, açılma kurallarını içeren "Bitki Melezleri Üzerinde Deneyler" adında eseri yayınlamış ve kalıtım üzerinde çalışmalar yapmıştır. Fakat o yıllarda Biyoloji Bilimi kalıtım kurallarını kavrayacak düzeyde henüz değildi.
- 1875-1880 yıllarında Butschli, Strasburger, Oscar-Hertwig ve Flaming döllenme olayında; hücre ve çekirdeğin rol oynadığını keşfetmişlerdir.
- 1883 yılında Roux ve Weismann kromozomların kalıttaki önemi üzerine araştırmalar yapmışlardır.
- 1900 yılında birbirlerinden habersiz olarak çalışan, Correns, De Vries ve Tschermak, Mendel' in ortaya koyduğu kuralları yeniden keşfetmişlerdir.
- 20.yy başlarında ise bu tarz çalışmaların yapılmasıyla İngiliz Bateson bilimin bu dalına "genetik" adını vermiştir.
- 1900 yılında *D. melanogaster* 'i bir araştırma organizması (model organizma) olarak benimseyen ilk bilim insanı William Castle olmuştur.
- 1910 yılında Thomas Hunt Morgan (*Drosophila* genetiğinin kurucusu olarak tanındı), Müller ve arkadaşları *D. melanogaster* (meyve sineği) üzerinde çalışmışlardır. Columbia Üniversitesi'nde çalışan Morgan "Kalıtımın Kromozom Teorisi"ni, aksi iddia edilemeyecek şekilde geliştirmiştir. Bu teoriye göre; genler, kromozomlar üzerinde tespih taneleri gibi sıralanmıştır (1925 yılında Morgan'ın grubu, kırmızı ve beyaz gözlü varyantların kalıtımını, özellikle cinsiyet kromozomunun ayrılmamasından kaynaklanan nadir yavrularda X kromozomunun ayrılmasıyla ilişkilendirerek kromozom kalıtım teorisi için önemli kanıtlar sağlamıştır. Bir kromozom üzerindeki genlerin bağlantısını doğrusal bir sırayla çıkaran ve eksikliklerden başlayarak kromozomal yeniden düzenlemeleri inceleyen ilk kişi onlar olmuştur). Kırmızı gözlerini etkileyen, white adlı gendeki bu mutasyon, sineklerin gözlerinin beyaz renkli olmasına sebep oluyor. X kromozomundaki bu geni izleyerek kromozomların işleyişini keşfetti. Nesil nesil yetiştirdiği sineklerin göz renklerini izleyerek kromozomların nasıl işlediğini ortaya

çıkardı. Morgan, dişi *Drosophila*'nın iki X kromozomu içerdiğini, erkek *Drosophila*'nın ise yalnızca bir X kromozomu içerdiğini keşfetti. Yapmış olduğu uzun soluklu deneylerinde dişi sineklerdeki X kromozomlarının kalıtsal özellikler taşıdığını keşfetti; bu özellik, erkek sineklerin bu özelliği taşıyıp taşımadığına bakılmaksızın erkek yavrulara aktarılabilir sonucuna ulaştı. Ayrıca X kromozomunun *Drosophila*'da cinsiyeti belirlediğini de inceledi. Bir sineğin "diploid hücresinde bir X kromozomu varsa, sinek erkektir, iki X kromozomu varsa, sinek dişi" olacağını tespit etmiştir. Thomas Morgan'ın kromozomal kalıtım teorisi, kromozomlar üzerindeki gen bağlantısının da kanıtını sağladı. Kapsamlı bir gözlemden sonra Morgan, genlerin kromozomlar üzerinde bir ip parçası üzerindeki boncuklar gibi bağlantılı olduğunu kanıtladı. Bu nedenle "kromozomlar, nesilden nesile aktarılan kalıtsal özellikler taşıy" sonucuna ulaştı. *Drosophila melanogaster* 1910 yılında Thomas Hunt Morgan (1866-1945) tarafından yukarıda bahsedilen çalışmalarla bilim dünyasında çok önemli derecede etki etmiş ve yön vermiştir. Morgan, *Drosophila*'da embriyotik çalışmaları, genetik incelemeler ve organizmaların gelişimleri üzerine çok önemli başarılı çalışmalar yapmıştır. *Drosophila* ile soy aktarımı (kalıtım) çalışmalarında kromozomları tespit etmiştir. 1933 yılında ise yaptığı bu çalışma üzerine Fizyoloji veya Tıp alanında Nobel ödülüne layık görülmüştür (Rubin ve diğerleri, 2000).

- 1929 yılında Müller ve Painter, Dipteralar (çift kanatlı-sinekler)'da dev kromozomlar saptamış ve böylece kromozom haritalarının sitolojik yöntemle çizilmesi olanağı doğmuştur. Bütün bu çalışmaların sonuçları, Morgan'ın kromozom teorisini daha da pekiştirmiştir.
- 1930' yılında ise Müller ve Stadler *Drosophila*' da röntgen ışınlarının suni mutasyonlara neden olduğunu kanıtlamıştır. Röntgen ışınları da tıpkı doğada kendiliğinden meydana gelenler gibi canlılarda mutasyonlara neden olmaktadır. Bu tarihten sonra, bu alandaki araştırmaların ilerlemesi ile radyasyon genetiği alanında da çalışmalar olmuştur. Kromozomlarda ve genlerde meydana gelen toksik ve antitoksik etkileri incelenmeye başlamıştır.
- 1930 ve sonraki 50 yıl boyunca sineklerle kalıtımın araştırılmasına yarayan birçok yöntem geliştirildi: Artık sinekler mutasyonlara uğratılabilir, bir genin veya mutasyonun kromozomdaki yeri saptanabilir, ölümcül mutasyon taşıyan sinekler bile

laboratuvarlarda rahatlıkla uzun süre yetiştirilip kullanılabilir, hattâ yarı olağan, yarı mutant hayvanlar üretilip incelenebiliyordu.

- 1953 yılında *Drosophila* 'da dahil bakteri, virüs, mantar ve mayalar üzerinde genetik çalışmalar ilerlemiş ve kalıtım maddesinin (DNA, RNA) kimyasal özellikleri üzerinde durulmuştur. Watson-Crick kromozomların kimyasal yapısını oluşturan DNA' nın molekül formülünü geliştirmiştir. Bu formül hala kullanılmaktadır. DNA'nın kimyasal yapısının belirlenmesinden sonra moleküler genetik alanında hızlı gelişmeler başlamıştır. DNA' nın kimyasal dili aynı olduğundan, artık her türlü canlıdan gen aktarılabilirdiği anlaşılmıştır.
- 1990 yılında kalıtım alanında derince inceleme yapmak üzere kompleks yapıdaki insan organizmasının DNA gen dizilimi, sekansları, gen haritalarını keşfetmek ve çıkarabilmel üzere İnsan Genom Projesi başlatılmıştır (Topçu ve Duran, 2021). Yaşamın şifrelerini oluşturan bu projede DNA'nın ayrıntılı olarak incelenmesi hayati derecede önem kazandırmıştır (Gök, Aslan ve Erman, 2017).
- 1993 yılına kadar projenin yürütülmesi aşamasında birçok genetik hastalık genleri saptanmış ve gen haritaları sayesinde X sendromu, myotonik distrofi, Huntington hastalığı gibi X kromozom nedenli bu hastalıklı genler keşfedilmiştir (Akman ve Tuncer, 2009).
- 1994 yılında ise mezkûr projede hedeflenen ana hedeflerden ilki olan "genetik bağlantı haritası" ortaya çıkarılarak insana ait genomun incelemeleri yapılmıştır. Bu çalışmalarda genom yapıları ve DNA dizilimlerini incelemek üzere model organizmalardan (*Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Mus musculus*) da faydalanılmıştır (Semenderoğlu, 2012).
- 1999-2000 yılları arasında, İnsan Genom Projesi kapsamında çok önemli insan kromozom haritalamaları tespit edilmiş ve başarı sağlanmıştır. Model organizmalar sayesinde yaklaşık %90 civarında insan genomuna ait haritalama çalışmaları yapılmıştır (Semenderoğlu, 2012).
- 2001 yılında, DNA haritalama çalışmaları üzerinde yapılan incelemeler sonucunda *Drosophila melanogaster* (meyve/sirke sineği)'e ait 165 milyon baz çifti ve yaklaşık 14

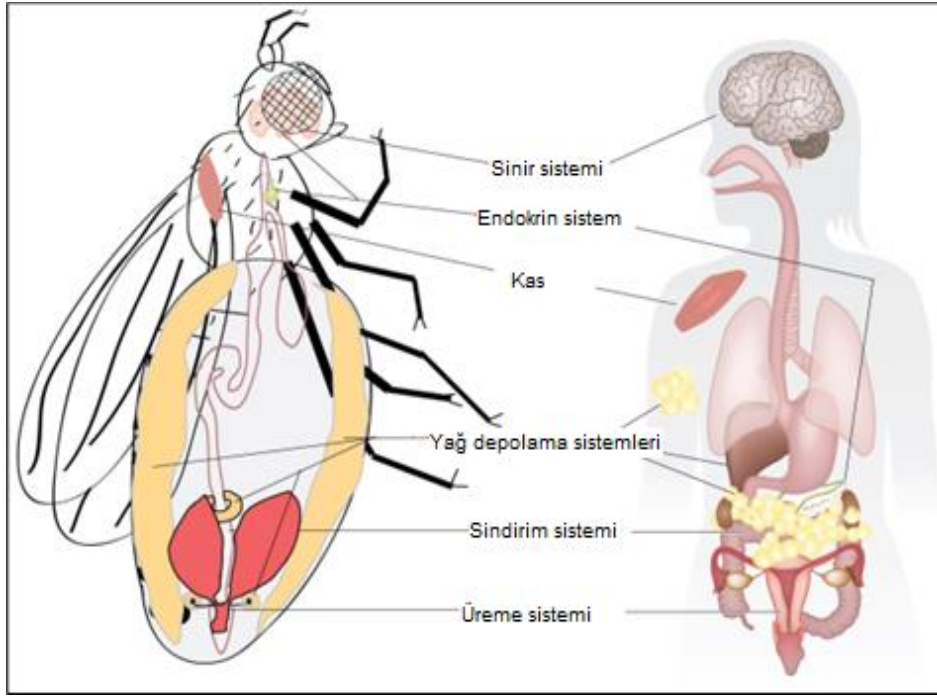
000 geninin olduğu tespit edilmiş olup DNA üzerinde yapılan incelemeleri tamamlanmıştır. İnsandaki gen sayısı, *Drosophila* model organizmasındaki gen sayısından daha fazla olmasına rağmen homolog genler sayesinde ortak işlevlere sahip genler tespit edilmiş ve bilim dünyasına çok önemli derecede yön vermiştir. İnsanda bulunan genetik hastalıklı bu genler, model organizmalar sayesinde kolayca tespit edilebilecek düzeyde kendini gösterdiğinden, alternatif ve tıbbi tedavi uygulamalarına olanak sağlayacaktır (Doğan, 2015).

- 2007 yılında, Ulusal İnsan Genomu Enstitüsü bilim insanları tarafından model organizmaların gen yapılarını incelemek ve keşfedilenleri kaydetmek üzere Model Organizma Ansiklopedisi olan modENCODE tasarlanmıştır. *Drosophila melanogaster* ve *Caenorhabditis elegans* 'ın tüm gen haritalamaları keşfinin yapılması amaçlanmıştır (Washington, Stinson, Perry, Ruzanov, Contrino, Smith, Zha, Lyne, Carr, Lloyd, Kephart, McKay, Micklem, Stein ve Lewis, 2011). Bu iki tür model organizma ile yapılan çalışma, inceleme ve keşiflerin neticesinde insan genom yapısına ait çok önemli data verilerine olanak sağlamıştır (Gündüz ve Türkan, 2013).

Her organizma model organizma olamayacağı gibi her model organizma da her çalışmada kullanılamaz. Yapılacak çalışmalara göre seçilen model organizma söz konusudur. Bilimsel çalışmalarda çok önemli yer edinen *Drosophila melanogaster* model organizmasının özellikleri ve kullanılmasının nedenleri şunlardır;

- Hayat formları ve hayat döngüleri çok karmaşık olmamalı
- Kolay elde edilebilir, kolay üretilebilir, kolay büyüyebilir ve üzerinde çalışılması rahat olmalı
- Beslenme koşulları kolay ve maliyeti düşük olmalı
- Etkin bir şekilde mutasyonu oluşturup sonuçları izlenilebilir canlılar olmalı
- Mutlaka hızlı ve kontrollü çaprazlama yapabileceğimiz canlı özelliği olmalı
- Hızlı şekilde üreyebilmeli, üreme döngüsü, dünyaya gelme durumu çok uzun olmamalı
- Kısa zamanda çok sayıda döl verebilmeli
- Çok çeşitli olmalı

- Kromozom sayısı ve genetik materyal sabit kalmalı
- Çalışılacak biyolojik süreci işletebilir olmalı
- Etik kaygılar göz önünde bulundurmamalı etik kurul izinlerine ihtiyaç duyulmamalı
- İnsanlarla eşdeğer doku ve organ kompozisyonuna sahip olması (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. *Drosophila* ve insanın eşdeğer işlevsel organ sistemleri (Xu, 2017)

#### 2.4. Kardelen (*Galanthus elwesii*)

Toros kardeleni olarak da bilinen *Galanthus elwesii*, nergisgiller olarak da bilinen Amaryllidaceae familyasına ait, tedavi ve araştırma amaçlı birçok yerde kullanılan, önemli alkaloidleri yapısında bulunduran ve tıbbi açıdan çok önemli bir değere sahip olan bir cinstir. Familyasının en önemli türlerinden birisidir (Baktır, 1996). 10 ila 25 cm büyüeyebilen bir bitkidir. Çiçekler 3 cm uzunluğunda, beyaz renkli ve çiçek sapının üzerinde tek olarak bulunmaktadır (Resim 2.3). Genellikle ilkbaharın başlangıcına doğru (şubat, mart ve nisan aylarında) çiçek açarlar ve bu yüzden de bahar müjdecisi olarak da bilinirler (Arslan ve diğerleri, 2002). Deniz seviyesinden 2000 metreye kadar yüksekliklerde rahatlıkla adaptasyon sağlayan *Galanthus elwesii* bitkisi doğal olarak Avrupa, Türkiye, Kafkasya ve Ortadoğu’da yayılış göstermektedir. Ülkemizde ise; İçanadolu, Kuzeydoğu, Kuzeybatı, Güney ve Güneybatı olarak yayılış göstermektedir (Aksu, Erken ve Kaya, 2002).

*Galanthus* (kardelen), 19 türe sahiptir (Davis, 1999; Zubov ve Davis, 2012). Alttür ve varyate toplamıyla takson sayısı 23 olarak bilinmektedir (Atay, 1996; Davis, 2000). Ülkemizde 13 türü ve 16 taksonu bulunmaktadır. Anadolu topraklarında 7 tür ise endemiktir (Özhatay ve diğerleri, 2005). Yılın büyük bir kısmını toprak altında geçirirler. Kök kısmında soğan, yumru ve rizom gibi organları bulunan bu soğanlı yumrulu geofit bitkiler, bitki çeşitliliğinin çok önemli bir unsurunu oluştururlar. Türkiye’de 1.056 adet soğanlı, rizomlu, yumrulu bitki türünün yer aldığı bu grupta, 424’ü endemik olarak bulunmaktadır ve endemizm oranı %40’tır (Özhatay, 2013). Bu bitkiler tıbbi olarak kullanıldığı gibi gösterişli ve güzel kokulu çiçekleri sayesinde de süs bitkisi olarak da kullanılmaktadır.



Resim 2.3. *Galanthus elwesii* Hook. bitkisine ait genel görünüm

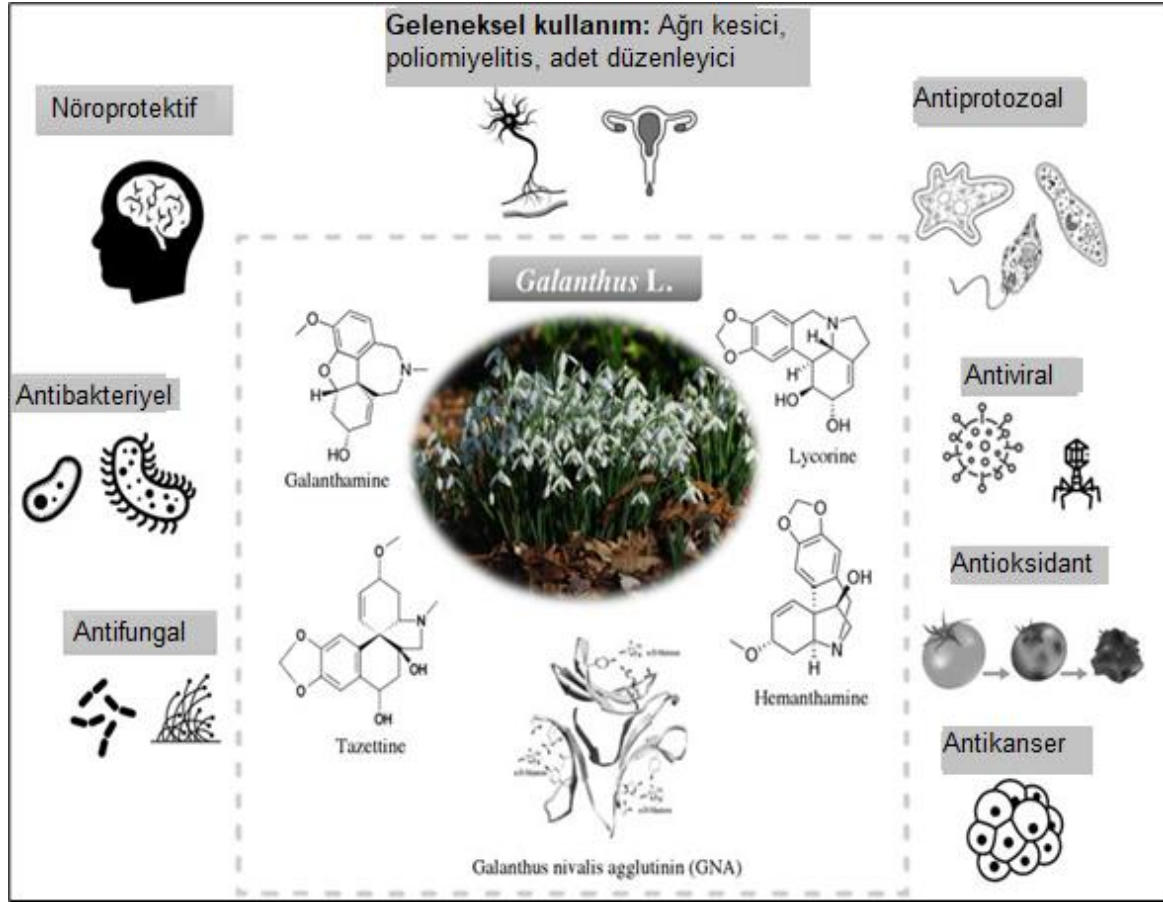
Kardelen; serin, nemli ve humusça zengin topraklarda yetiştirilen, çok yıllık ve soğanlı bir bitkidir (Batı Ay, 2019). Doğa koşullarında yüksek oranda tohumla, az miktarda ise yavru soğanla çoğalmakta ve 4-5 yıl içerisinde çiçeklendiği gibi soğanları ile birlikte 2-3 yılda çiçeklenmektedir (Atay, 1996; Tıpırdamaz, 2003). İçerdikleri alkaloidlerin biyolojik aktiviteleri yüksekliği nedeniyle; antiviral, antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuvar olduğu gibi savunma sistemi mekanizmasını güçlendirici etkilere sahip oldukları bilinmektedir (Koyuncu, Şener, Temizer ve Bingöl, 1993).

İçerdikleri önemli alkaloidler dışında gösterişli haldeki çiçekleri sayesinde süs bitkisi olarak dış ticarete ihracatı karşılamak üzere çok yoğun bir şekilde soğan ve yumruları düzensiz toprak sökümleri oluşmuştur. Bu durum doğadaki stok miktarında azalmaya neden olduğu ve birçok kardelen familyasının tükenme tehlikesiyle karşı kalındığı ileri sürülmüştür (Altan, Altunkasa, Yücel ve Sirel, 1990). Ülkemizde kardelen cinsinin de bulunduğunu bazı türlerin

Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı'nda nesli tehlike altında olanlar ve zarara uğrayabilir gruplarında yer aldığı belirlenmiştir. Şayet önlem alınmazsa da tehdit altına girebilir kategorisi (NT) içerisine dahil olabileceği ileri sürülmüştür (Yüzbaşıoğlu, 2008). Bu nedenlerle birçok türdeki türler için ihracat durdurulmuş, yasaklanmış ve yasalar ile kontrol alınmıştır. Geofit yapılı bu türleri korumak amacıyla 1989 yılında Ülkemizde Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından proje çalışmaları, çeşitli yönetmelikler ve koruma önlemleri alınmıştır (Karagüzel, Kaya, Biner ve Aydınsakir, 2012).

Doğal çiçek soğanları olarak da tanımlanan geofitler, Ülkemizde her yıl ihracatta yılda yaklaşık 2,5-3 milyon \$ gelir kazancı sağlamaktadır (Asil ve Sarıhan, 2010). Ülkemizde geofitlerin her türlü sökülmesi, toplanması, ihracatı veya üretimi söz konusu "Doğal Çiçek Soğanlarının Sökümü, Üretimi ve Ticaretine İlişkin Yönetmelik" kapsamında değerlendirilmektedir. Çevre büyüklüğü 4 cm ve üzeri olan kardelen soğanının yetiştirme ve üretim yoluyla ihracatına izin verilmekte olup, Ülkemizde yıl bazında yaklaşık 6 milyon adet kotalaştırılarak dış ticarete kazanç sağlamaktadır (Çakırlar, Tıpırdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994). Ülkemizde *Galanthus elwesii* (Dev Kardelen veya Toros Kardeleni) ve *Galanthus woronowii* (Karadeniz Kardeleni) ihracatta çokça sunulmakta ve en çok talep edileni ise *Galanthus elwesii* (Toros Kardeleni) olmaktadır.

Kardelen bitki türlerinin kök ve gövdesinde barındırdıkları antioksidan özelliklere sahip kimyasalların sayesinde, ileri yaşam sürecinde yaşlılığa bağlı oluşan reaksiyonlara karşı mücadele ederler. Ayrıca canlı vücudunda oluşan serbest radikallere karşı mücadele ederek, vücutta oluşturdukları hasarlara karşı bloke edebilirler. Bu önemli özellikleri sayesinde birçok hastalığı önleyici etkiye sahiptir. Fenolik bileşikler, nitrojen bileşikler, polifenoller, karetenoidler, askorbik asit ve selenyum, bitkilerde bulunan doğal antioksidanlardır (Hall ve Cuppertt, 1997). Antioksidan mekanizma, özellikle insan organizması için yaşam süresini etkileyici; mutajenik, karsinojenik ve yaşlanma gibi durumlara karşı mücadele ederler. Bu doğal antioksidanların çoğu (özellikle içerisinde fenolik bileşikler içerisinde yer alan flavonoidler; bakterilere, virüslere, enflamatuara, alerjenlere ve trombotik durumlara karşı çok etkili mekanizma oluşturarak top yekün biyolojik etki sağlarlar (Şekil 2.4) (Cook ve Samman, 1996).



Şekil 2.4. *Galanthus* türlerinin biyolojik aktiviteleri ve ana biyoaktif bileşenleri (Kong ve diğerleri, 2021)

Amaryllidaceae alkaloidleri diye de adlandırılan nergisgiller familyasındaki türlerde; likorin, galantamin, tazettin ve nivalin gibi çok önemli alkaloidleri de içerisinde barındıran yaklaşık 150 farklı alkaloid tespit edilmiştir (Bastida Armengol ve diğerleri, 2011). Yüksek derecede biyolojik aktivite içeren bu alkaloidler, yapı ve durumlarına göre viral, mikrobiyal ve hatta kanser etkilerine karşı vücutta savunma sistemini güçlendirerek son derece etkili olurlar (Koyuncu ve diğerleri, 1993).

Kardelenin, toprak altı kısımları (kök ve soğan) ile toprak üstü kısımları (yaprak ve çiçek) içerlerinde bulunan sekonder metabolit içeriği bileşenlerine bakıldığında, total antioksidan aktiviteleri bakımından bitki kısım organlarına göre değişiklik göstermektedir. Ayrıca farklı gelişim dönemleri (çiçeklenme ve meyve olgunlaşma) ve farklı hasat zamanlarına göre de bu bitkilerde oluşan sekonder metabolit içeriğinin bileşenleri, miktarı ve antioksidan aktivite kapasiteleri farklılık göstermektedir. Bu bağlamda; bitkinin toprak alt ve üst kısımları ile farklı hasat zamanlarında incelenecek kardelen bitkilerinde önemli derecede varyasyonların

ortaya çıkabileceği ileri sürülmüştür (Üçüncü ve diğerleri, 2011). Ayrıca sekonder metabolitlerin, bitkilerin belirgin gelişme zamanlarında, özelleşen hücrelerinde ve özellikle strese bağlı durumlarında daha fazla sentezlendiği belirtilmiştir (Batı Ay, 2019).

Bir kimyasalın, bir besin elementinin veya bir alkaloidin içerdiği antioksidan özellikleri (bitki kısım organları, bitki hasadı, miktarı) insan veya canlı organizmalara olan yararlılığı, toksisite durumunda olumlu ya da olumsuz etkileri gibi durumlar değerlendirilmektedir. Bu durum hem bitkinin gelişmesi açısından stres etkisiyle mücadele edeceği gibi canlı organizmalarda biriken serbest radikallere karşı da etki gösterirler. Bu kapsamda, aralarındaki bu karşılıklı etkileşimler nedeniyle, dikkate alınması gereken önemli alkaloidleri içerisinde barındıran kardelen bitkisinin, canlı organizmalardaki oksidan ve antioksidan durumu son derece önem kazanmaktadır. Literatür taramalarına baktığımızda kardelen bitkisinden elde edilen total ekstrelerin, sağlıklı uzun yaşam sürecini etkileyebilecek önemli özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Fakat henüz bu etkiler, insan vücuduna eş değer olan *Drosophila melanogaster* canlı organizmasında değerlendirilmemiştir. Bu nedenle çalışmamız bir ilk niteliğindedir.

Tüm bu gerekçeler dikkate alındığında; bu tez çalışması Toros Kardeleni'nin (*Galanthus elwesii*) model organizmalardaki uzun ömür etkilerini ve antioksidan aktivite üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yürütülmüştür.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. *Galanthus elwesii* Hook. f.

Kardelen, Ülkemizde Toros Kardeleni olarak da bilinen tıbbi anlamda çok değerli total alkaloidleri yapısında barındıran, Amaryllidaceae familyasına ait *Galanthus* cinsidir (Bati Ay, 2019). Kardelen türlerinin içerdikleri kimyasal etkenli ekstrakt maddeleri serbest radikallere karşı mücadele eder ve bloke ederek vücuda vermiş olduğu harabiyetleri en aza indirir ve bu durumda da oluşabilecek birçok hastalığın yanı sıra erken yaşlanma zincir reaksiyonlarına neden olan bu duruma karşı önleyici antioksidan etkiye sahiptirler.

*Galanthus elwesii* bitkisinin toprak üstü kısımları ve soğanlarındaki alkaloidlerinin in vivo olarak *Drosophila melanogaster* model organizmasında gelişim parametreleri, ömür uzunluğu ve antioksidan üzerine etkilerinin araştırılması amacıyla soğan çapı yaklaşık olarak 4 cm ve üzeri olan büyük *Galanthus elwesii* Hook. türleri doğal çiçek soğanları ticareti yapan bir firmadan temin edilmiştir. 2021-2022 yıllarında Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksek Okulu'nda bulunan Bitkisel ve Hayvansal Üretim özel uygulama alanında özel saksılarda yetiştirilerek kullanılmıştır (Resim 3.1, Resim 3.2 ve Resim 3.3).



Resim 3.1. Bitki analiz uygulama laboratuvarımızın genel görüntüsü



Resim 3.2. *Galanthus elwesii* Hook. (Dev Kardelen veya Toros Kardeleni) soğanları

Çok yıllık, otsu bitki olan ve az sayıda alt tür ve çeşide sahip olan *Galanthus*; "Gala"- süt ve "anthos" çiçek anlamını içeren "süt beyazı çiçekler" adını taşımaktadır (Lee, 1999).

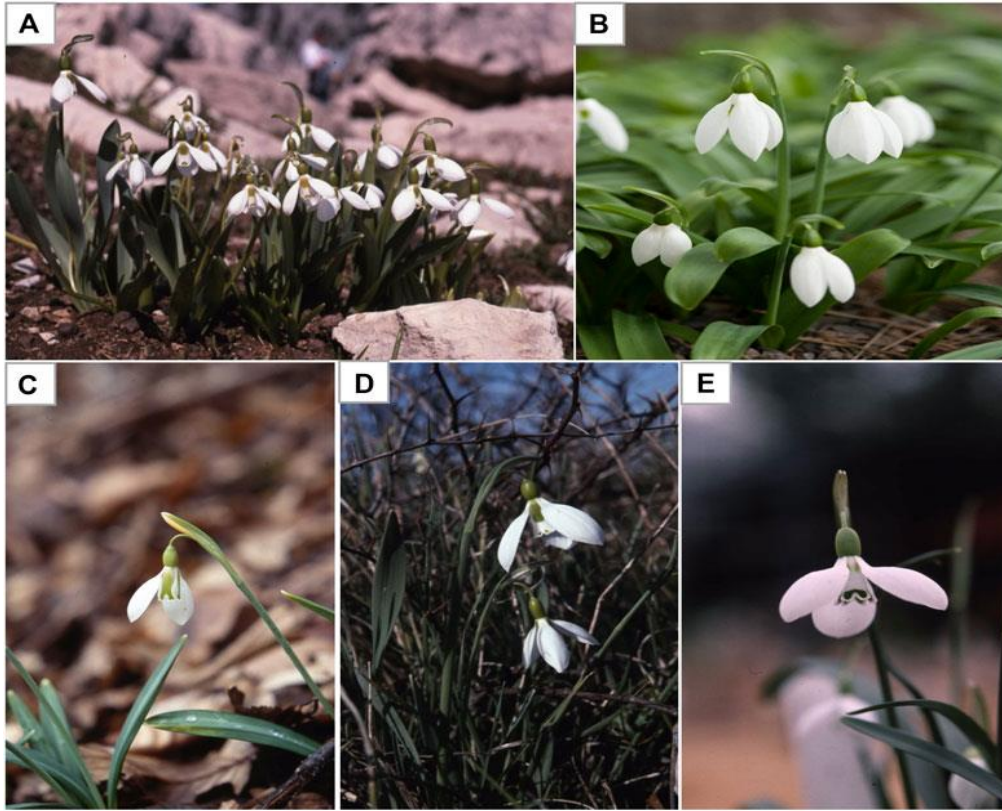


Resim 3.3. *Galanthus elwesii* bitki sahası ve hasat çalışmaları

Kardelen soğanları, kuru ve kahverengi olan dış yapraklarıdır. Soğanlar iki doğrusal yaprak ve narin, küçük şekilde beyaz renkte, sarkık ve çan görünümüne sahip bir çiçek üretir. Kardelende tam bir yaprak bulunmamakla beraber bunu yerini tepal (çiçek dış kısımlarını saran çiçek örtüsü) almıştır. Dıştaki üç kısım daha uzun şekilde ve bembeyazdır, iç kısımda bulundan daha küçüğü ise daha kısa ve yeşil renklidir (Aschan ve Pfanz, 2006). Bu tepallerin büyüklüğü ve yeşil kısımlarına göre birçok farklı kardelen türünü oluşturmaktadır. Adından

da anlaşılaçağı üzere kıştan ilk bahara doğru çiçeklerini açan "karı-delen" adını simgelemektedir. En çok yaygın olan ve ticareti yapılan, aynı zamanda da nesli tükenmekte olan (NT) statüdeki *Galanthus* türleri; *Galanthus nivalis*, *Galanthus elwesii* ve *Galanthus woronowii* 'dir (Resim 3.4) (Bishop, Davis ve Grimshaw, 2001).

Ülkemizde yayılış gösteren Toros kardeleni, *Galanthus elwesii* Hook. taksonu; *Galanthus elwesii* Hook f. var *elwesii* ve *Galanthus elwesii* var. *monostictus* P.D. Sell olarak iki türü temsil etmektedir. Monostictus, Ülkemizde nadir olarak Güney deniz kesimlerinde bulunur (Yüzbaşıoğlu, 2008). Avrupada çok sık rastlanan bu türlerin dağılımı Güney Batı Asya ve Ülkemizin doğu kısımları ile Kafkasya ve İran topraklarına kadar yayılım göstermiştir (Semerdjieva, Sidjimova, Yankova Tsvetkova, Kostova ve Zheljazkov, 2019).



A: *Galanthus nivalis* (Adi Kardelen); B: *Galanthus elwesii* (Dev Kardelen veya Toros Kardeleni); C: *Galanthus gracilis* (Eskişehir civarı Kardeleni); D: *Galanthus trojanus* (Çanakkale Civarı Kardeleni); E: *Galanthus ikariae* (Trabzon civarı Kardeleni)

Resim 3.4. Yaygın olarak bulunan bazı *Galanthus* türleri (Bishop ve diğerleri, 2001)

Çizelge 3.1. *Galanthus elwesii* Hook. ve sistematigi

|            |                                                                |
|------------|----------------------------------------------------------------|
| Regnum     | : Plantae - (Bitki)                                            |
| Subregnum  | : Streptophyta - (Yeşil Bitkiler)                              |
| Superphlum | : Embryophyta - (Kara Bitkileri)                               |
| Phylum     | : Tracheaophyta - (Damarlı Bitkiler)                           |
| Subphylum  | : Spermatophytes - (Tohumlu Bitkiler)                          |
| Clasis     | : Magnoliopsida - (Kapalı Tohumlu Bitkiler)                    |
| Ordo       | : Asparagales - (Tek Çenekli Bitkiler Kısmı)                   |
| Familya    | : Amaryllidaceae - Nergisgiller                                |
| Genus      | : <i>Galanthus</i> - (Kardelen)                                |
| Species    | : <i>Galanthus elwesii</i> (Dev Kardelen veya Toros Kardeleni) |

Amaryllidaceae, yaklaşık 85 cinsten oluşan bir familya ve 1.100 adet çok yıllık soğanlı türlü barındırmaktadır (Bulduk ve Karafakioğlu, 2019). *Galanthus* cinsi (kardelen), Amaryllidaceae ailesine aittir. Yaklaşık 20 tür soğandan oluşan çok yıllık otsu bitkileri ve az sayıda da alttür, çeşit ve doğal melez durumundaki küçük bir cinsten oluşmaktadır (Rønsted, Zubov, Bruun Lund ve Davis, 2013). *Galanthus* (kardelen), 19 türe sahiptir. Alttür ve varyate toplamıyla takson sayısı 23 olarak bilinmektedir.

Ülkemizde 13 türü ve 16 taksonu bulunmaktadır. Anadolu topraklarında 7 tür ise endemiktir. Türkiye’de 1.056 adet soğanlı, rizomlu, yumrulu bitki türünün yer aldığı bu grupta, 424’ü endemik olarak bulunmaktadır ve endemizm oranı %40’tır (Özhatay, 2013).

### 3.1.2. *Drosophila melanogaster*

"Meyve veya sirke sineği" olarak da bilinen *Drosophila melanogaster*, 1910 yılında Thomas Hunt Morgan tarafından, laboratuvarında beyaz gözlü mutantları keşfetmesiyle başlamış, genetik ve biyolojik ve teknik çalışmalarıyla, çoğu hastalıklarla mücadele etmek üzere sağlıklı ve uzun yaşam için genler üzerindeki hastalık kökenleri araştırılabilmeyi ve gelişmiş organizmalara olan etkilerini değerlendirebilmeyi sağlamıştır (Topçu ve Duran, 2021). Ayrıca farmakolojik çalışmalar, gelişim biyolojisi, hücresel ve molekül düzeyindeki

alışmalar ile model organizmalar sayesinde kolayca ve hızlı bir şekilde sonuçlar elde edilmiştir (Müller ve Grossniklaus, 2010).

Günümüzde deneysel araştırmalarda kullanılan model organizmalar biyolojik mekanizmaları bakımından insana en yakın özellik gösteren canlı grupları içinden seçilmektedir. *Drosophila melanogaster* genetik çalışmalarda sık kullanılmak üzere birçok bilimsel çalışmalarda sıklıkla kullanılan model organizmalardandır.

Çalışmamızda *Drosophila melanogaster* Meigen'in (Diptera; Drosophileidae) Oregon R yabanıl mutant suşları kullanılmıştır. Bu stoklar uzun yıllardır Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Araştırma Laboratuvarı'nda (Resim 3.5) muhafaza edilerek nesilden nesile üremeleri sağlanmıştır. Bu nedenle çok az genetik çeşitlilikle melezlediğinden larval mortalite ve ömür uzunluğu çalışmalarımızda kolaylık sağlamıştır.



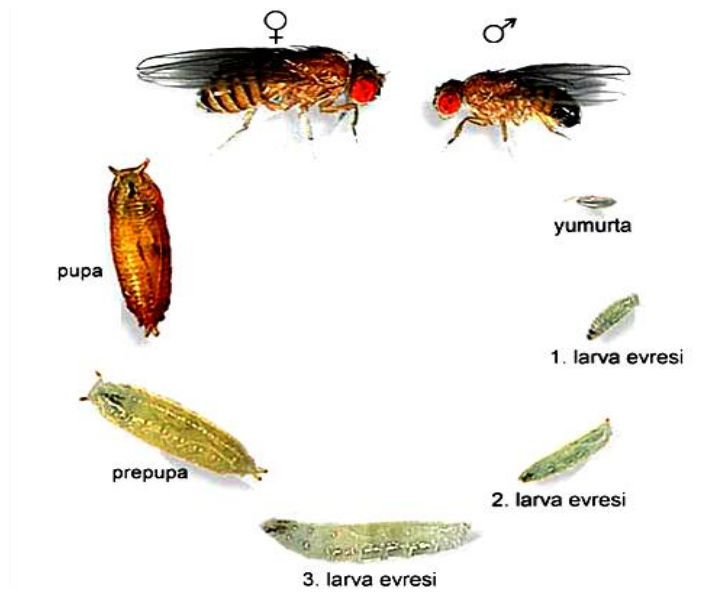
Resim 3.5. *Drosophila* biyolojik analiz laboratuvarı genel görüntüsü

Meyve ya da sirke sineği olarak da bilinen *D. melanogaster*; Arthropoda (Eklembacaklılar) şubesindedir. Insecta (Böcekler) sınıfı ve Diptera (İki kanatlılar) takımındadır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. *Drosophila melanogaster* ve sistematığı (Wheeler, 1981).

|            |                                                       |
|------------|-------------------------------------------------------|
| Kingdom    | : Animalia (Hayvanlar Alemi)                          |
| Phylum     | : Artrophoda (Eklem Bacaklılar)                       |
| Subphylum  | : Hexapoda (Altı Bacaklılar)                          |
| Clasis     | : Insecta (Böcekler)                                  |
| Ordo       | : Diptera (Çift Kanatlılar)                           |
| Subordo    | : Brachcera (Karasinekler)                            |
| Familya    | : Drosophilidae                                       |
| Subfamilya | : Drosophilinae                                       |
| Genus      | : <i>Drosophila</i>                                   |
| Species    | : <i>Drosophila melonagaster</i> (Meyve/Sirke Sineği) |

Yaşam döngüsüne baktığımızda; yumurta, larva (üç instar evresi), pupa ve ergin olmak üzere dört farklı evrede gelişimini tamamlamaktadır. *Drosophila melanogaster*, larvadan ergine dönüşümünü histolojik olarak tamamlayan holometabol bir böcek grubundadır. Çaprazlanan dişi ve erkek bireylerin döllenmeden sonra yavruları yaklaşık 22-24 saat sonra yumurtadan prepupa ile birinci evre larvaları çıkmış olur. Akabinde iki deri değişimi sonrası ikinci ve üçüncü larva evreleri meydana gelir ve larva evreleri tamamlanınca pupa meydana gelmektedir. Yumurtadan itibaren yetişkin bireyler haline gelme süresi yaklaşık olarak 9-10 gün sürmektedir (Şekil 3.1) (Fidan, 2017).



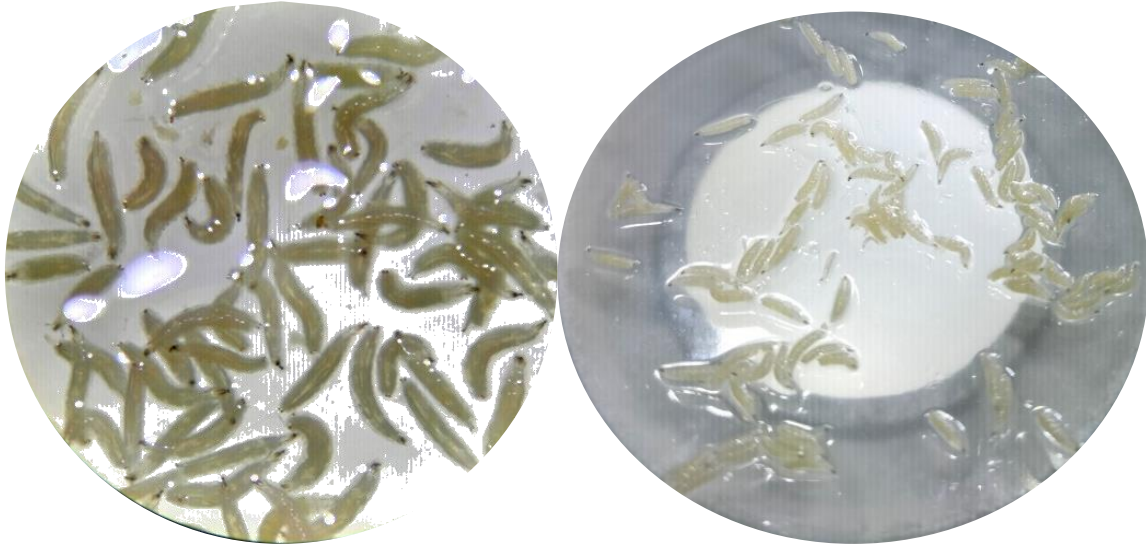
Şekil 3.1. *Drosophila melanogaster*'lerin hayat döngüsü (Rocha, 2013).

Yetişkin *Drosophila*'ların ergin ve dişi bireyleri 1. çaprazlama ve 2. çaprazlamaları sonrası elde ettiğimiz saf döl yavru larvalarını, Standart Lewis Besiyeri (Çizelge 3.3) yöntemiyle hazırladığımız besiyerinde beslendirildi ve ömür uzunluğu çalışmalarında ise bu besiyerinden faydalanıldı.

Çizelge 3.3. Standart lewis besiyeri içeriği ve kullanılan miktarları

| Besiyeri malzemeleri | Madde Miktarı |
|----------------------|---------------|
| Agar agar            | 9 gr          |
| Toz şeker            | 60 gr         |
| Kuru maya            | 19 gr         |
| Mısır unu            | 50 gr         |
| Propionik asit       | 4,5ml         |
| Saf su (Distile)     | 565ml         |

*Drosophila* için uygun olan yaşama koşulları ( $25\pm 1^\circ\text{C}$  ve %60 bağıl nem) dikkate alınarak inkübatörlerde kültüre edilmiştir. Deney grubu çalışmalarında larvalara (Resim 3.6) ekstrakt maddelerin uygulanması, *Drosophila* hazır besiyeri (Carolina Formula 4-24 Instant Medium) ortamında sağlanmıştır.



Resim 3.6. Çalışmalarımızda kullandığımız larvaların görüntüleri

### 3.2. Metod

Amasya ili Suluova İlçesi Karadeniz İklimi ile Karasal İklim arası özellikleri göstermektedir. Deneme alanı yazları sıcak, kışları ılıman özellikli ve yükseklerle doğru gidildikçe soğukluk artmaktadır. 2021-2022 ve 2022-2023 yılları arasında üretim sezonlarında arazi çalışmaları yürütülmüştür.

#### 3.2.1. Bitkinin elde edilmesi ve ekstraksiyonu

*G. elwesii* Hook. (Amaryllidaceae) bitkileri 22,5-25 cm ebatlarındaki özel saksılarda (2/3 torf ve 1/3 perlit karışımı) ekimi sağlanan kardelen soğanları, bütün saksılarda yetiştirildikten sonra kış aylarının son zamanlarında (Mart Ayının 2. haftası) gelişme dönemlerine bağlı olarak; toprak altı ve toprak üstü bitki organları esas alınarak yaş yaprak şeklinde hasat edilmiştir.

Plastik özel saksılara ayrı ayrı 2/3 oranında torf ve 1/3 oranında perlit karışımı sağlanarak, her saksıya 3'er adet kardelen soğanı dikimi gerçekleştirilmiştir (Resim 3.7)



Resim 3.7. Kardelen soğanı ekimine ait görüntüler

Ekimi yapılan *Galanthus elwesii* Hook. soğanları ayrı ayrı incelenerek tüm saksılarda köklendiği ve çiçeklendiği gözlemlendi (Resim 3.8). Mart ayının 2. haftası çiçeklenen kardelenler yaş yaprak bitki hasadı için hazırlıkları yapıldı. Saksılar teker teker karışımdan (torf-perlit) kökleri de temzilenerek ayrıldı. Kök ve gövdenin bir arada olduğu yetiştirilmiş *Galanthus elwesii* bitkilerimiz laboratuvar ortamına alındı.

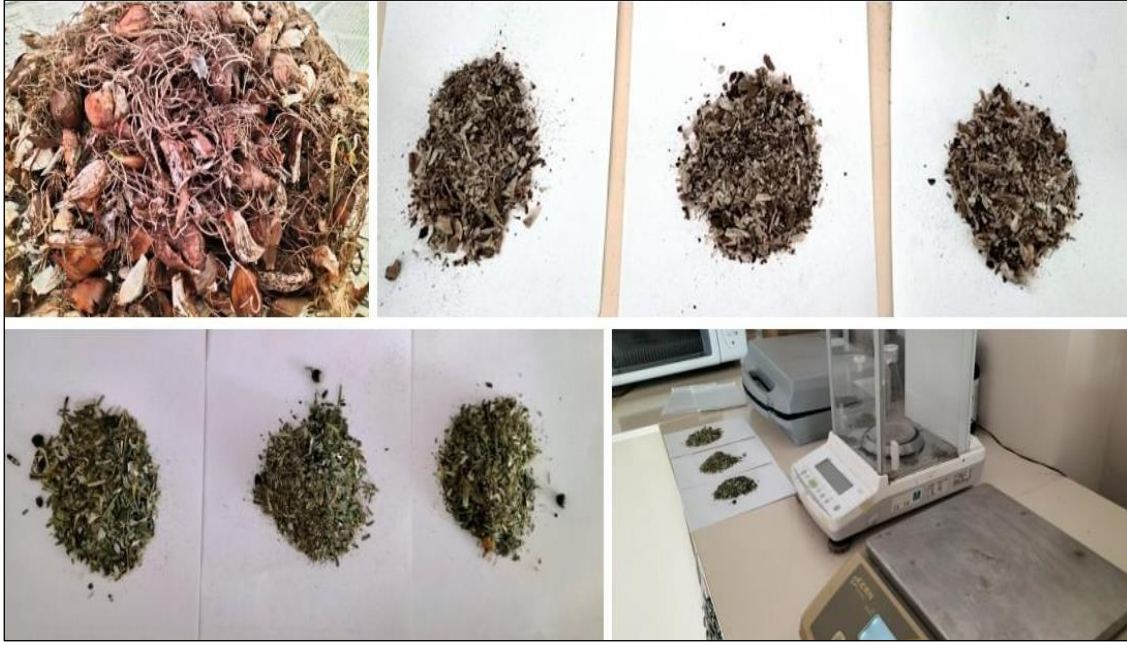


Resim 3.8. Özel saksılarda yetiştirilen *Galanthus elwesii* bitkileri ve çiçeklenme dönemi

Hasat sonrası musluk suyu ile yıkanarak olası kirlilikten arındırıldı. Araştırma Laboratuvarı ortamında, oda sıcaklığında 2 hafta süreyle kurutma kağıdı üzerinde kök ve gövde kısımlarının bir arada olduğu şekilde kurutuldu ve kurutma işlemleri gerçekleştirildi (Resim 3.9). Kurutma işlemi sonrası toprak altı (kök ve soğan) ve toprak üstü (yaprak ve çiçek) kısımları ayrılarak, parçalama işlemleri sonrası laboratuvar kavanozlarına yerleştirildi (Resim 3.10).



Resim 3.9. Kardelenin toprakaltı ve topraküstü kısımlarının kurutulması



Resim 3.10. *Galanthus elwesii*'nin kurutma sonrası ayrıştırma işlemi

Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra *Galanthus elwesii* toprak üstü kısımları-yeşil renki olan (çiçek ve tablası, yaprak) ve toprak altı kısımları-kahverengi olan (rizom, kök, yumru kısımlar) değirmende toz haline getirilerek, ayrı ayrı 5'er gram ölçülerek hassas terazide ölçümleri tamamlandı (3 x 5 gr) (Resim 3.11).



Resim 3.11. *Galanthus elwesii* kurutulmuş alt ve üst kısımlarının ayrılarak kimyasal etkenlere maruz bırakılma işlemleri

Toz haline getirilen bitki örnekleri, toprak üstü ve toprak altı kısımları ağzı kapalı laboratuvar kavanoz/tüplerine alınarak; etanol, metanol ve saf su çözücülerıyla (150 ml), 3 gün (72 saat) süreyle bekletilerek karışımı sağlandı (Resim 3.11).

Daha sonra etanol ve metanol çözücülerıyla hazırlanan bu karışımlar, 40°C ve 2 saat süre ile shaker ile ultrasonik banyo ekstraksiyonu sağlandı (Resim 3.12).



Resim 3.12. Karışımların shaker ile ultrasonik titrasyon işlemi

Karışım sonrası bitki konsantrasyonları filtrasyon işlemi ile sıvıları alınıp posalarından ayrıştırıldı (Resim 3.13).



Resim 3.13. Sıvı ve posaların ayrıştırma - filtrasyon işlemi

Elde edilen sıvı ekstraktlar etanol ve metanol karışımı toprak altı ve toprak üstü kısımlar, Rotary Evaporator de 40 °C de uçurularak alkaloidlerin elde edilmesi sağlandı. Aynı şekilde su karışımı toprak altı ve toprak üstü kısımlar da 40 °C de su banyosunda uçurularak alkaloidlerin elde edilmesi sağlandı (Resim 3.14).



Resim 3.14. Evaporatör ve su havuzu ile ekstraksiyon işlemi

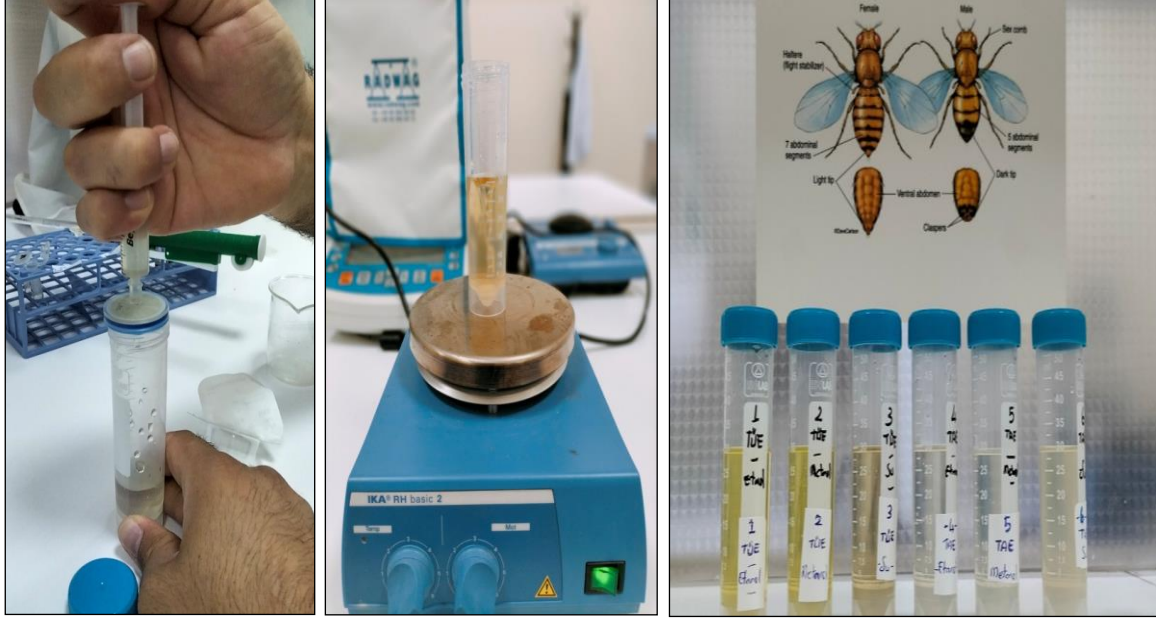
Numunelerimizin istenilen kıvamda elde edilmesi için ayrıca 40 °C de etüvde bekletildi. Önceden darası alınan numune tüplerinde muhafazası sağlandı (Resim 3.15).



Resim 3.15. Ekstraksiyon işlemi sonrası elde edilen sıvı alkaloidler

Ekstraksiyon çalışmalarının daha verimli olabilmesi ve ana stok hazırlık öncesi Minisat filtreden geçirildi. Hazırlanan metanol, etanol ve su konsantrasyonlu ekstraktlar, ısıtıcı

özellikli magnetik bar karıştırıcısı ile titrasyonu sağlandı ve ana stok çalışmaları için ekstraktlar hazır hale getirildi (Resim 3.16).



Resim 3.16. Filtrasyon işlemi ve magnetik ısı-karıştırıcısı ile ekstraktların hazır hale getirilmesi

### 3.2.2. Larval mortalite ve ömür uzunluğu çalışmaları

#### Larva besiyeri hazırlama ve akut besleme yöntemi

*Drosophila melanogaster* bireyleri larval mortalite ve ömür uzunluğu çalışmalarında kendi hazırladığımız stok kültür ile akut beslenmiştir (Resim 3.17). Elde ettiğimiz *Galanthus elwesii* bitki ekstraktlarını ise hazır olarak aldığımız *Drosophila* Standart Besiyeri'ne ilave ederek beslemeler gerçekleştirilmiştir. Besiyeri aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır;

Öncelikle ölçekli beherde 440 ml distile su hazırlanır. Daha sonra ocakta kaynamaya bırakılır. Bu sırada hassas terazide ölçümleri yapılan diğer malzemeler hazır edilir. Kaynayan suya önce 60 gr toz şeker katılır ve karıştırılır. Çözünüp kaynaması devam eden karışıma 9 gr agar yavaş yavaş eklenerek bir yandan baget yardımı ile karıştırılır. Kullanılan agar besiyerine jelimsi bir kıvam sağlar. Aynı bir beher içerisinde ise 125 ml distile su içine konulan 50 gr mısır unu ve 19 gr maya homojen bir hal alana kadar karıştırılır. Ocakta kaynayan karışım üzerine hazırlanan bu karışım eklenir ve karıştırmaya devam edilir. Uygun kıvamı aldığı anda ocaktan alınır. Hazırlanan besiyerine son bir madde daha eklenir. Bu

madde 4,5 ml propiyonik asittir. Propiyonik asidin işlevi ise besiyerinin küflenmesini önlemektir. Hazır edilen besiyeri soğumadan ve katılaşmadan sterile edilmiş 200 ml'lik şişelere 2 parmak kalınlığında aktarılır. Aktarım tamamlandığında şişelerin üzerine filtre kâğıdı kapatılarak hem soğuyup katılaşması hem de dış etkenlerden korunması sağlanır. Kullanılmayıp buzdolabına kaldırılacak ise steril sünger veya pamuk kapatılır.



Resim 3.17. Hazırladığımız standart *Drosophila* besiyeri ve malzemeleri

*Drosophila melanogaster*'in stok çalışmalarında besiyeri ortamının değişikliği için *Drosophila*'lar şişeden şişeye aktarımı uc uca getirilerek aktarımı sağlanmıştır. *Drosophila* yerçekimine, ışığa ve kimyasal maddelere karşı hareket ettiğinden; besiyeri ortam değişikliği

sırasında yerçekimi yönelim hareketi pratik yöntemi kullanılmıştır. Deney grubu çalışmalarında ise ergin bireylerin çok hızlı hareketi, uçuş kabiliyeti yüksek olması nedeniyle *Drosophila*'ların sayılabilmesini sağlamak üzere düşük maliyetli ve pratik olan eterle bayıltma yöntemi kullanılmıştır (Resim 3.18). Diğer yöntemler ise; dondurma bayıltma yöntemi, karbondioksit silahıyla bayıltma yöntemidir



Resim 3.18. Bayıltma yöntemi ve bayıltılan ergin bireylerin sayımı

Bayıltma işleminde ergin bireylerin ölmelerine neden olmamalarını önlemek amacıyla çok fazla etere maruz bırakılmamasına dikkat edilir. Bayıltma sonrası ergin bireyler saat camı üzerine alınarak ezilmelerine, hasara yol açmadan çok ince dokunuşlarla ince uçlu fırça ile sayımı yapılır. Mikroskopta (ışıklı) incelemesi yapılır.

#### Trans-heterozigot larvaların tayini

Çalışmamızda kullanılacak larvaları elde etmek için Oregon (R) (vahşi tip) soyuna ait aynı yaşta virgin dişi ve erkek bireylerin çaprazlanması ile elde edilen larvalar besiyeri ortamında bırakılarak ergin bireyleri uzaklaştırıldı. Erkek ve dişi bireylerin gelişimi tamamlaması sonrası ikinci kez çaprazlanarak, ergin bireyler uzaklaştırıldı ve bu ikinci çaprazlama sonrası 3. Günde  $72 \pm 4$  saatlik larvalar elde edildi. Elde ettiğimiz bu 3. instar larvaları deney çalışmalarımızda kullanılmıştır (Resim 3.19).



Resim 3.19. Çaprazlama kullanılan 3. evre larvaları ve elde edilen ergin bireyler

Larval mortalite çalışmalarında kontrol grupları için steril edilmiş 100 ml'lik cam şişelere 1,5 gr hazır besiyeri (Carolina Formula 4-24 Instant Medium) ve 5 ml saf su (distile) eklendi. Madde uygulanmış gruplar için farklı konsantrasyonlardaki (1; 0,5; 0,25 ve 0,125  $\mu\text{g/mL}$ ) toprak altı (kök ve soğan) ve toprak üstü (yaprak ve çiçek) kardelen ekstraktları ile saf su (distile) çözünümü sağlanmış ve hazır besiyeri üzerine eklenmiştir (Resim 3.20).



Resim 3.20. Larval mortalite besiyeri ve ekstrakt ile akut besleme görüntüleri

Larval mortalite çalışmalarımızda aşağıdaki gruplar oluşturulmuştur (Resim 3.21):

- Kontrol gruplarımız (2 grup): 5 ml saf su (distile su) ve %0,5'lik DMSO çözücüsü ile akut beslenen larvalar.
- 1. Deney gruplarımız (12 grup): Topraküstü 3 farklı (metanol, etanol ve su) çözücü ile hazırlanan ve farklı konsantrasyonları (1; 0,5; 0,25 ve 0,125  $\mu\text{g/mL}$ ) ile beslenen larvalar.
- 2. Deney gruplarımız (12 grup): Toprakaltı 3 farklı (metanol, etanol ve su) çözücü ile hazırlanan ve farklı konsantrasyonları (1; 0,5; 0,25 ve 0,125  $\mu\text{g/mL}$ ) ile beslenen larvalar.

Ana stok hesaplama çalışmalarımızda; Saf DMSO çözücümüz %0,5'lik olduğundan, 0,15 ml (150  $\mu\text{l}$ ) saf DMSO, 30 ml saf su (distile) ile seyreltikten sonra ekstre üzerine eklendi. 20 ml saf su(distile) ile tamamlanarak 1 mg/mL 'lik 20 mL olacak şekilde ana stok konsantrasyonu hazırlandı. Özetle; %0,05'lik Saf DMSO çözücümüz ile akut olarak beslenecek diğer konsantrasyonlarda (0,5; 0,25 ve 0,125  $\mu\text{g/mL}$ ) belirlenmiş oldu.



Resim 3.21. Hazır besiyeri ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ekstaraktların uygulanması

Aynı yaştaki sinekleri elde etmek için yetişkin bireyler sadece standart besiyeri kültür şişelerinde çiftleştirildi ve elde edilen larvalarla ön stokları hazırlandı. Oregon R yabancıl erkek ve dişi sineklerden ortalama 100'er adet larva, Standart Lewis Besiyerli steril edilmiş 100 ml'lik 2 adet cam şişeye 200 larva (100x2) 1. kontrol grubu; 12 adet cam şişeye 1200 larva (100x12) + yerleştirildi (Şekil 3.21). Deneyler sırasında yetişkin sinekler her 3 günde bir hazırlanmış olduğumuz Lewis Besiyeri ile steril edilmiş 200 ml'lik laboratuvar şişelerine aktarılacak, erginleşen *Drosophila* birey sayıları kontrol edilmiştir. Haftada iki kez her kontrol öncesi ve sonrası mortalite sonucu bireyler kayıt altına alınarak ortamdan uzaklaştırıldı ve canlı olan bireyler bayıltma işlemi sonrası sayımları yapıldı ve yeni besiyerine aktarıldı. Kontrol grupları 1. ve 2. grup deney gruplarımız etüvde sabit  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  sıcaklıkta, %40-60 bağıl nemde ve karanlık ortamda muhafaza altına alındı. Uygulamamız her deney şişesinde son bireyler kalana kadar sürdürüldü ve larval mortalite-ergin birey tablosuna aktarıldı.

### 3.2.3. Biyokimyasal analizler (TAS - TOS)

*Galanthus elwesii* Hook. (Kardelen) bitkisinin metabolik ve fizyolojik süreçler içerisinde reaktif oksijen türleri (ROS) sonucu oksidatif stres parametrelerinin etkisini incelemek

amacıyla antioksidan enzim aktivite analizleri değerlendirilmiştir. Belirli koşullarda oksidasyon durumunun artmasıyla, antioksidanların azalması engellenememekte ve oksidatif ve harabiyet sonucu bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Antioksidan moleküller ise bu zararlı reaksiyonları önlemekte veya inhibe etmektedir.

Larval mortalite ve ömür uzunluğu çalışmalarında yukarıda bahsedilen bilgiler ışığında ayrı ayrı distile su, etanol, metanol ve kontrol/deney grupları oluşturulmuş olup; farklı konsantrasyonlardaki (1 µg/mL; 0,5 µg/mL; 0,25 µg/mL ve 0,125 µg/mL) besinlerle akut olarak beslenmiş ve ergin bireyler olarak yetişmesi beklenmiştir. Akut besleme sonrası her ekstrakt konsantrasyona maruz bırakılmış 10'ar adet ergin bireyler belirlenerek toplanmıştır (Resim 3.22).



Resim 3.22. Homojenizasyon için ayarlanan çalışma grupları

Ekstrakt konsantrasyonlarına maruz bırakılmış toplanan ergin bireyler, soğuk homojenizasyon tamponu uygulanan ultrasonik homojenizatörde; Birey dokuları 1/9 oranında (0,1 gr doku: 0,9ml 140 mmol.'lık KCl) Potasyum Klorür tamponu ile homojenize edildikten sonra 7000 rpm + 4' de 5 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar biyokimyasal analiz çalışmaları süresince buz dolabının -18°C 'sinde muhafa edilerek koruması sağlanmıştır.

Çalışmamızda yapılacak farklı antioksidan moleküllerinin ölçümü, numunelerin ayrı ayrı toplam antioksidan kapasitesi (TAC) ölçüldü. Toplam antioksidan aktivite (TAA)'ye aynı zamanda toplam antioksidan güç denilmektedir. Toplam antioksidan durumu (TAS), toplam antioksidan ile aynı anlama gelmektedir. Çalışmamızda ise kullanılan bu TAS düzeyleri

ticari olarak temin edilebilen kitler (Relassay, Türkiye) kullanılarak ölçüldü (Çizelge 3.4) (Resim 3.23).

Çizelge 3.4. Total antioksidan ve oksidan seviyelerinin ölçümü ve kullanılan malzeme özellikleri

| Kit Adı                                           | Numune Türü | Marka     | Cat. No | Yöntem       | Kullanılan Cihaz |
|---------------------------------------------------|-------------|-----------|---------|--------------|------------------|
| <b>TAS</b><br>(Total Antioxidant Status- mmol/L)  | Sinek       | Rel Assay | RL0017  | Kolorimetrik | MINDRAY-BS400    |
| <b>TOS</b><br>(Total Oxidant Status- $\mu$ mol/L) | Sinek       | Rel Assay | RL0024  | Kolorimetrik | MINDRAY-BS400    |

Analiz testinde bulunan numunelerdeki antioksidanlar koyu olan mavi-yeşil renkli ABTS (2,2'-Azino bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikalini renksiz ABTS formuna indirger; Yeni otomatik yöntem, daha stabil bir ABTS radikal katyonunun karakteristik renginin antioksidanlar tarafından ağartılmasına dayanmaktadır. Test %3'ün altında mükemmel hassasiyet değerlerine sahiptir. Sonuçlar mmol Trolox eşdeğeri/L olarak ifade edildi (Erel, 2004).

Total Oksidasyon Seviye (TOS)'leri de ticari olarak temin edilebilen kitler (Relassay, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Yeni olan bu yöntemde, numunede bulunan oksidanlar, ferröz iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyonla oksitledi. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile güçlendirildi. Ferrik iyon, asidik bir ortamda ksilenol turuncusu ile renkli bir kompleks üretti. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarıyla ilişkilendirildi. Test, hidrojen peroksit ile kalibre edildi ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri ( $\mu$ mol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eşdeğeri/L) cinsinden ifade edildi (Erel, 2005). Bütün numunelerin TAS-TOS analizleri yapılmıştır. Ayrıca TOS oranını /TAS oranına olan oranı, oksidatif stres indeksi (OSİ) olarak kabul edilmiş ve hesaplanarak tabloya işlenmiştir (Erel, 2005).



Resim 3.23. Antioksidan analiz testlerinde kullanılan cihaz ve görüntüleri

### 3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi

Elde edilen veriler kontrol ve deney gruplarının ortalama yaşam süresi, ömür uzunluğu ve biyokimyasal çalışmalara bağlı olarak değerlendirildi. SPSS version 27.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanarak "Tek Yönlü Varyans (One-way ANOVA) Yöntemi" kullanılarak veri analizleri yapılmıştır. Elde edilen bilgi ve veriler Duncan testi 0,005 olasılık durum seviyesi  $p < 0,05$  olarak değerlendirilmiştir. Biyokimyasal veriler, çalışmalar ve analiz grafikleri Excel ve Word programları kullanılarak çizilmiştir.

## 4. BULGULAR

*Galanthus elwesii* bitki ekstraksiyon konsantrasyonları literatürdeki benzer çalışmalar değerlendirilerek ön çalışma olarak belirlenmiştir. Kontrol gruplarımız; saf su (distile su) ve DMSO, deney gruplarımız ise; Topraküstü (yaprak ve çiçek) ve Toprakaltı (kök ve soğan) ayrı ayrı 6 farklı metanol, etanol ve su çözücülerıyla hazırlanan kardelen ekstrakt konsantrasyonları (1; 0,5; 0,25 ve 0,125 µg/mL) dozlarımız kullanılmıştır. Toplam 24 farklı steril şişelerde Analiz-kontrol, deney çalışmaları yapılmıştır.

İlk olarak larval mortalite ve sağ kalanların oranları tespit edilmiştir. Daha sonra ise çaprazlama sonucu elde ettiğimiz yeterli sayıda larvalar (erkek ve dişi sineklerden ortalama) kontrol grubu için, 200 larva; 1. deney grubu (toprak üstü) için 1200 larva ve 2. deney grubu (toprak altı) için 1200 larva, toplamda 2600 adet larva kullanılmıştır. Elde edilen bu larvalarımıza belirlediğimiz konsantrasyon oranlarıyla akut besleme yapılmış ve kontrol gruplarıyla (saf su ve DMSO) karşılaştırılmıştır. Ergin bireylerin ortalama ömür uzunlukları belirlenmiştir. Ayrıca en verimli sonuçlar aldığımız doz grubu bireyler tespit edilerek biyokimyasal analiz çalışmaları yapılmış ve sonuçlar tablo ve grafik çalışmalarıyla değerlendirilmiştir.

### 4.1. Larval Mortalite ve Ömür Uzunluğu Çalışmalarında Elde Edilen Sonuçlar

Çalışmamızda öncelikle *Galanthus elwesii*'nin *D. melanogaster* üzerindeki olası toksik etkilerini tespit etmek amacıyla 3 günlük trans-heterozigot larvalar farklı konsantrasyonlarda (1; 0,5; 0,25; 0,125 µg/mL) ekstraktlar ile akut olarak beslenmiştir.

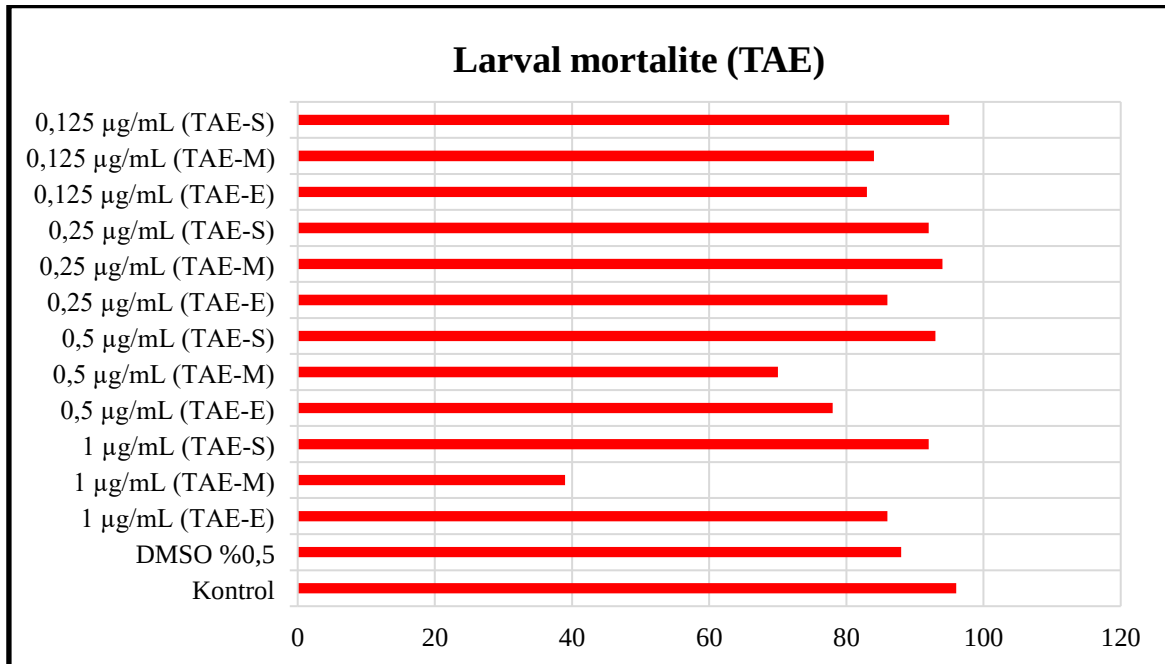
Yapılan ön çalışma sonucuna baktığımızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

Kardelen ekstraktlarının, toprak üstü ekstraktlarında hayatta kalış oranı en iyi sonuç veren; "Etonol" çözücüsüyle hazırladığımız ekstrakttır. Topraküstü diğer "metanol" ve "su" çözücülerıyla hazırladığımız ekstraktlar ise aksine "Ömür Kısaltıcı" etkinlik göstermiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda toprak üstü kardelen ekstraktları (TÜE) ile kronik olarak beslenen larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları

| Uygulama Grupları    | N   | Mortalite Oranı (%) | Hayatta Kalış Oranı (%) |
|----------------------|-----|---------------------|-------------------------|
| Kontrol (Distile Su) | 100 | 4                   | 96                      |
| DMSO                 | 100 | 12                  | 88                      |
| TÜE-E 1 µg/mL        | 100 | 9                   | 91                      |
| TÜE-E 0,5 µg/mL      | 100 | 22                  | 78                      |
| TÜE-E 0,25 µg/mL     | 100 | 29                  | 71                      |
| TÜE-E 0,125 µg/mL    | 100 | 10                  | 90                      |
| TÜE-M 1 µg/mL        | 100 | 55                  | 45                      |
| TÜE-M 0,5 µg/mL      | 100 | 48                  | 52                      |
| TÜE-M 0,25 µg/mL     | 100 | 49                  | 51                      |
| TÜE-M 0,125µg/mL     | 100 | 44                  | 56                      |
| TÜE-S 1 µg/mL        | 100 | 30                  | 70                      |
| TÜE-S 0,5µg/mL       | 100 | 39                  | 61                      |
| TÜE-S 0,25 µg/mL     | 100 | 47                  | 53                      |
| TÜE-S 0,125µg/mL     | 100 | 42                  | 58                      |

N: Birey sayısı; DMSO: Dimetil Sülfoksit; KE: Kardelen Ekstraktı; TÜE-E: Toprak Üstü Ekstraktı-Etanol; TÜE-M: Toprak Üstü Ekstraktı-Metanol; TÜE-S: Toprak Üstü Ekstraktı-Su; TAE-E: Toprak Altı Ekstraktı-Etanol; TAE-M: Toprak Altı Ekstraktı-Metanol; TAE-S: Toprak Altı Ekstraktı-Su



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda toprak üstü kardelen ekstraktları (TÜE) ile kronik olarak beslenen larvaların mortalite oranları grafiği

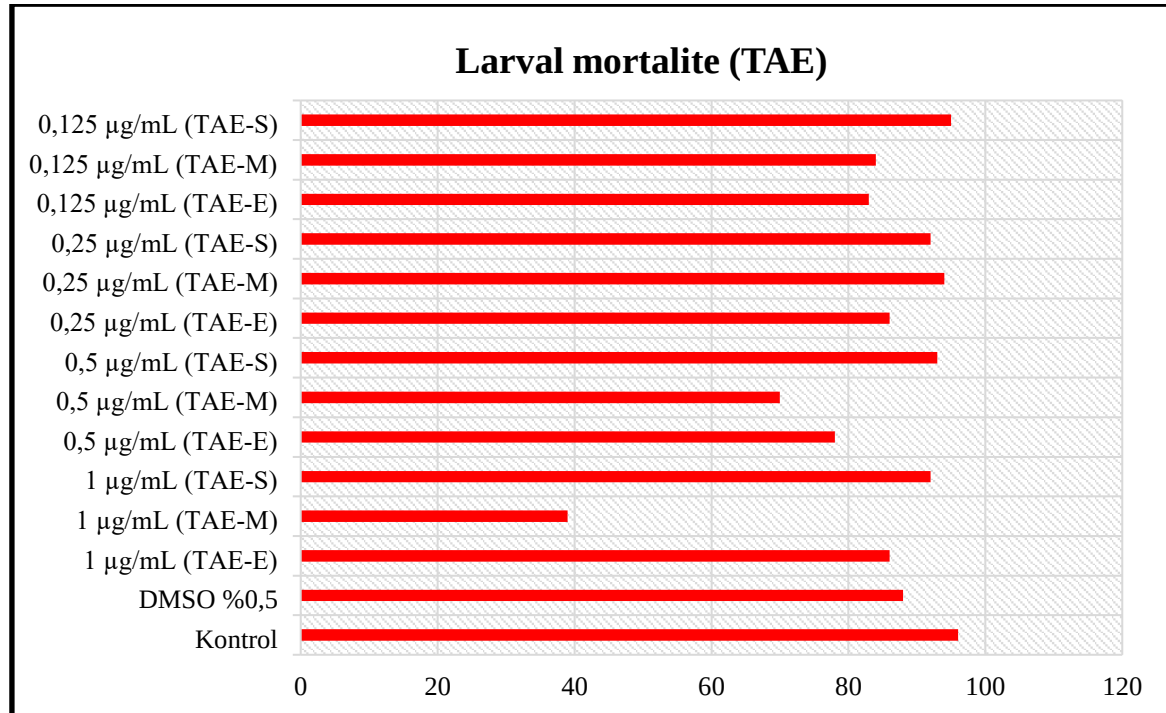
Kardelen ekstraktlarının, toprak altı ekstraktlarında ise hemen hemen her ekstraktta iyi sonuçlar elde edilmiş ama en etkili sonuç veren "Su" ve "Metanol" ile hazırladığımız

ekstraktların olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2). Alkoloidler, kardelenlerin soğan kısımlarında daha çok olduğundan bu durumu destekler niteliktedir.

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda toprak altı ekstraktları (TAE) ile kronik olarak beslenen larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları

| Uygulama Grupları    | N   | Mortalite Oranı (%) | Hayatta Kalış Oranı (%) |
|----------------------|-----|---------------------|-------------------------|
| Kontrol (Distile Su) | 100 | 4                   | 96                      |
| DMSO                 | 100 | 12                  | 88                      |
| TAE-E 1 µg/mL        | 100 | 14                  | 86                      |
| TAE-E 0,5 µg/mL      | 100 | 22                  | 78                      |
| TAE-E 0,25 µg/mL     | 100 | 14                  | 86                      |
| TAE-E 0,125 µg/mL    | 100 | 17                  | 83                      |
| TAE-M 1 µg/mL        | 100 | 61                  | 39                      |
| TAE-M 0,5 µg/mL      | 100 | 30                  | 70                      |
| TAE-M 0,25 µg/mL     | 100 | 6                   | 94                      |
| TAE-M 0,125 µg/mL    | 100 | 16                  | 84                      |
| TAE-S 1 µg/mL        | 100 | 8                   | 92                      |
| TAE-S 0,5 µg/mL      | 100 | 7                   | 93                      |
| TAE-S 0,25 µg/mL     | 100 | 8                   | 92                      |
| TAE-S 0,125 µg/mL    | 100 | 5                   | 95                      |

N: Birey sayısı; TAS: Total Antioksidan Seviye; TOS: Total Oksidan Seviye; OSI: Oksidatif Stres İndeksi DMSO: Dimetil Sülfoksit; KE: Kardelen Ekstraktı; TUE-E: Toprak Üstü Ekstraktı-Etanol; TUE-M: Toprak Üstü Ekstraktı-Metanol; TUE-S: Toprak Üstü Ekstraktı-Su; TAE-E: Toprak Altı Ekstraktı-Etanol; TAE-M: Toprak Altı Ekstraktı-Metanol; TAE-S: Toprak Altı Ekstraktı-Su



Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda toprak altı kardelen ekstraktları (TAE) ile kronik olarak beslenen larvaların mortalite oranları grafiği

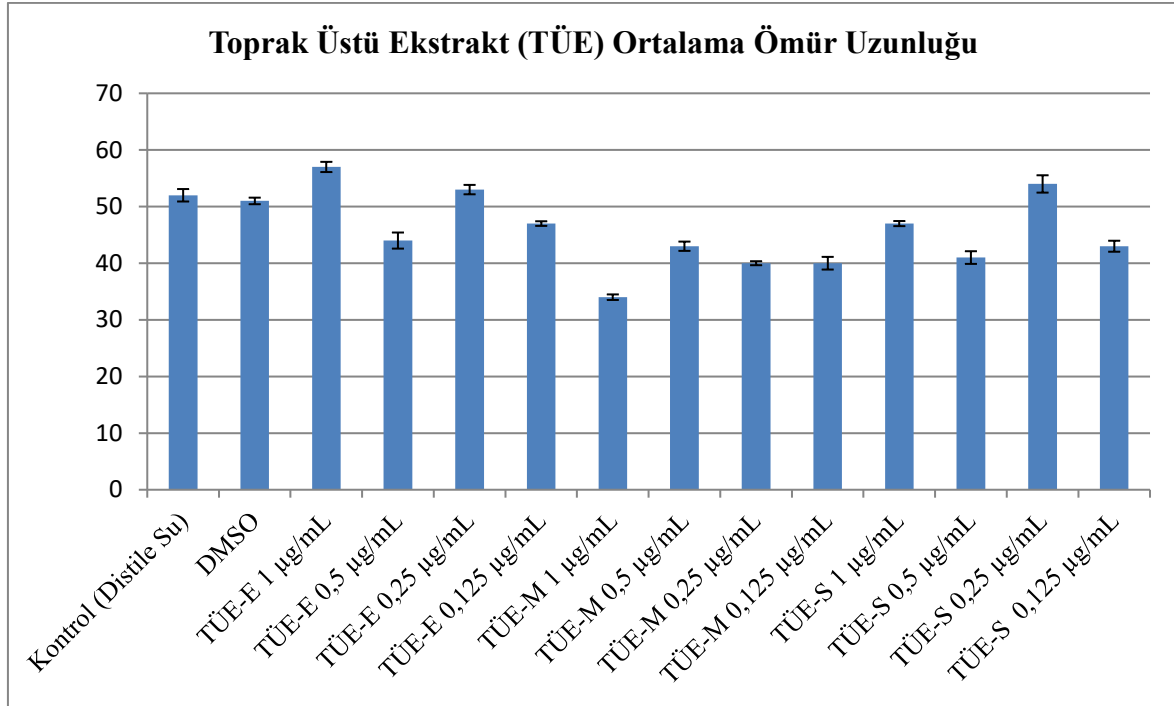
Ömür uzunluğu çalışmalarında ise öncelikle belirli düzeyde larvalar toplandı ve ergin birey oluşumları sağlanana kadar belirlemiş olduğumuz konstanrasyon dozlarında maddeler uygulanmıştır. Larvalardan elde edilen 100'er adet ergin bireyler hazırlamış olduğumuz standart besiyerinde beslenmeleri sağlanmış olup; yaşam süreleri boyunca takip edilerek moratalite-ölüm oranları tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmalarımız 3 kez tekrar edilerek ortalama ömür uzunlukları hesaplanmıştır. Kontrol gruplarımız ile 1.deney ve 2. deney grupları kendi aralarında karşılaştırılması yapıldı. Sonucunda ise elde edilen ortalamalar arası farklarının kontrolleri de tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Kardelen bitkisinin ömür uzunluğu çalışmaları sonucunda ortalama ömrü en uzun sonuç toprak altı kardeleninin; Metanol ekstraktının  $78 \pm 1,37$  gün ile Su ekstraktının  $79 \pm 1,19$  gün  $0,125 \mu\text{g/mL}$  uygulama doz gruplarında olduğu görülmüştür (Çizelge 4.4).

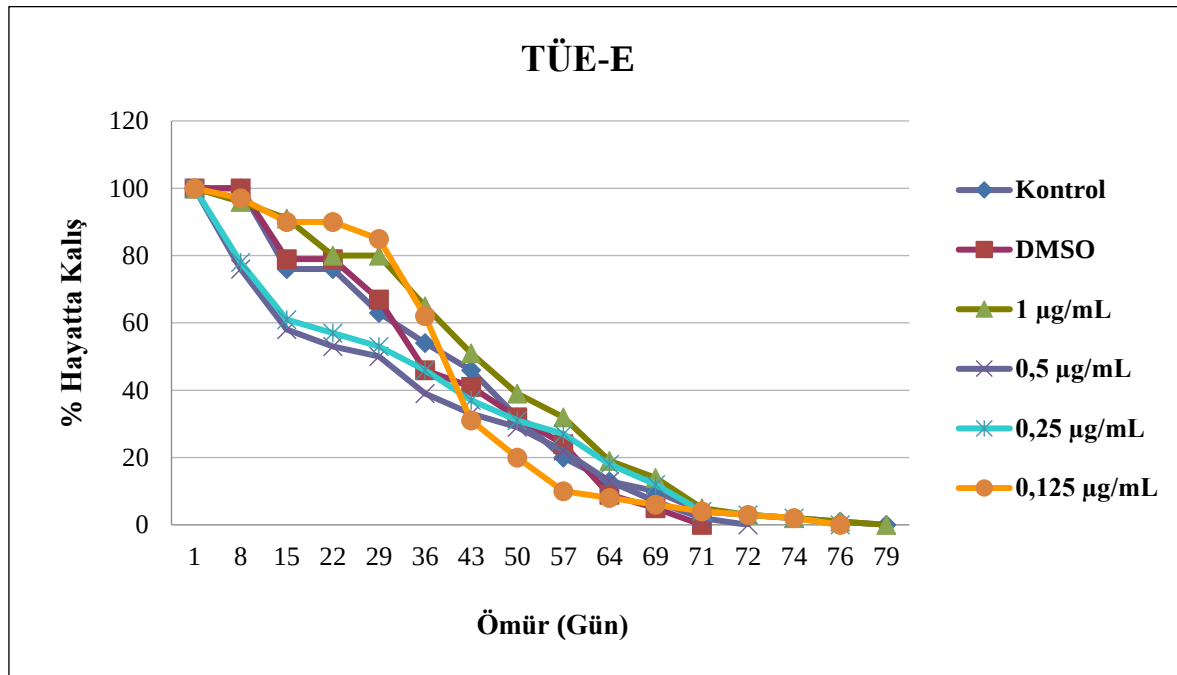
Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyon ve çözücülerde hazırlanmış toprak üstü kardelen ekstraktları (TÜE) ile beslenen bireylerin maksimum ve ortalama ömür uzunluğu verileri

| Uygulama Grupları            | N   | Maks. Ömür (gün) $\pm$ SH | Ortalama Ömür (gün) $\pm$ SH |
|------------------------------|-----|---------------------------|------------------------------|
| Kontrol (Distile Su)         | 100 | $77 \pm 1,36^b$           | $52 \pm 1,10^a$              |
| DMSO                         | 100 | $71 \pm 0,95^a$           | $51 \pm 0,58^a$              |
| TÜE-E $1 \mu\text{g/mL}$     | 100 | $79 \pm 1,32^b$           | $57 \pm 0,90^a$              |
| TÜE-E $0,5 \mu\text{g/mL}$   | 100 | $72 \pm 0,88^a$           | $44 \pm 1,42^b$              |
| TÜE-E $0,25 \mu\text{g/mL}$  | 100 | $76 \pm 1,32^b$           | $53 \pm 0,83^a$              |
| TÜE-E $0,125 \mu\text{g/mL}$ | 100 | $76 \pm 0,98^b$           | $47 \pm 0,41^b$              |
| TÜE-M $1 \mu\text{g/mL}$     | 100 | $62 \pm 1,22^c$           | $34 \pm 0,49^c$              |
| TÜE-M $0,5 \mu\text{g/mL}$   | 100 | $62 \pm 1,33^c$           | $43 \pm 0,82^b$              |
| TÜE-M $0,25 \mu\text{g/mL}$  | 100 | $66 \pm 1,16^c$           | $40 \pm 0,35^b$              |
| TÜE-M $0,125 \mu\text{g/mL}$ | 100 | $54 \pm 0,78^d$           | $40 \pm 1,12^b$              |
| TÜE-S $1 \mu\text{g/mL}$     | 100 | $69 \pm 0,63^a$           | $47 \pm 0,45^b$              |
| TÜE-S $0,5 \mu\text{g/mL}$   | 100 | $76 \pm 1,68^b$           | $41 \pm 1,12^b$              |
| TÜE-S $0,25 \mu\text{g/mL}$  | 100 | $74 \pm 0,98^b$           | $54 \pm 1,53^a$              |
| TÜE-S $0,125 \mu\text{g/mL}$ | 100 | $74 \pm 1,10^b$           | $43 \pm 0,97^b$              |

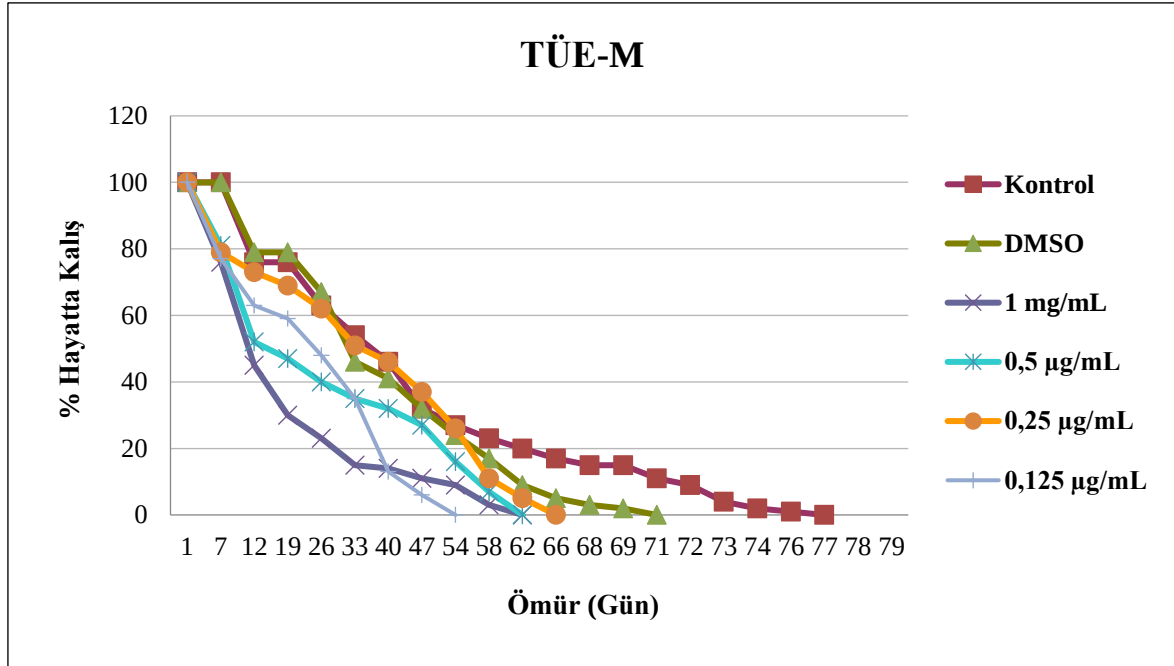
N: Birey sayısı; SH: Standart Hata; DMSO: Dimetil Sülfoksit; KE: Kardelen Ekstraktı; TÜE-E: Toprak Üstü Ekstraktı-Etanol; TÜE-M: Toprak Üstü Ekstraktı-Metanol; TÜE-S: Toprak Üstü Ekstraktı-Su; TAE-E: Toprak Altı Ekstraktı-Etanol; TAE-M: Toprak Altı Ekstraktı-Metanol; TAE-S: Toprak Altı Ekstraktı-Su; <sup>a-c</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen deney gruplarına ait değerler  $p < 0,05$  düzeyinde önemlidir.



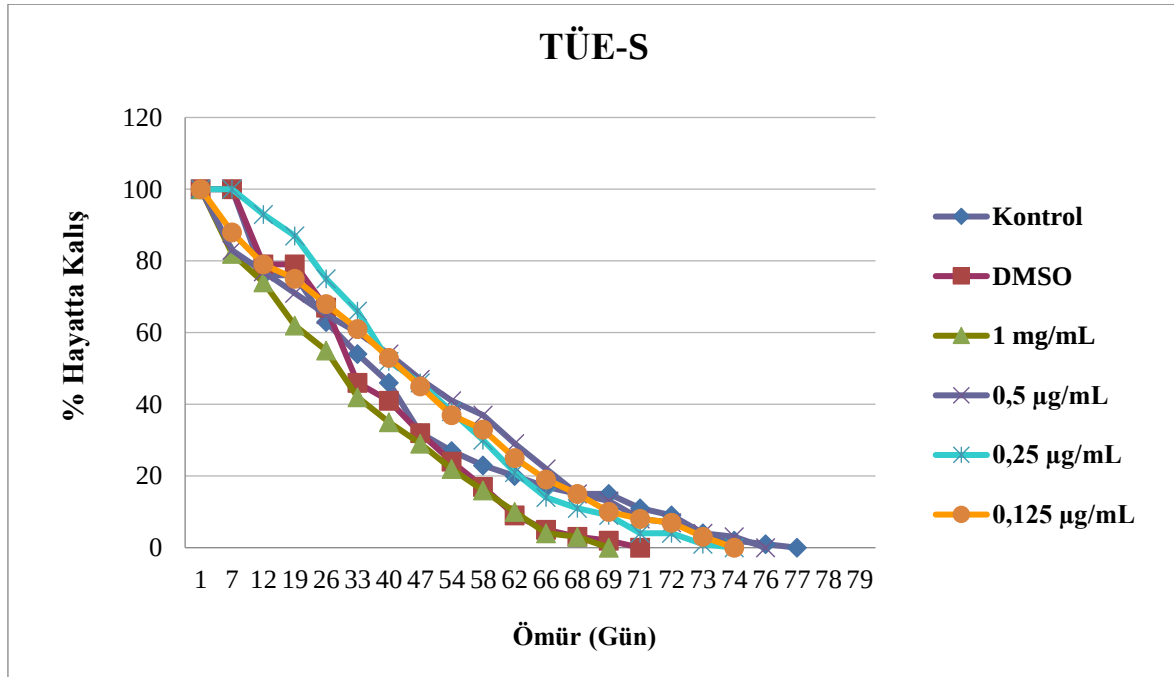
Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlarda toprak üstü kardelen ekstraktları (TÜE) ile beslenen bireylerin ortalama ömür uzunluğu verileri grafiği



Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak üstü etanol ekstraktı (TÜE-E) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak üstü metanol ekstraktı (TÜE-M) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri

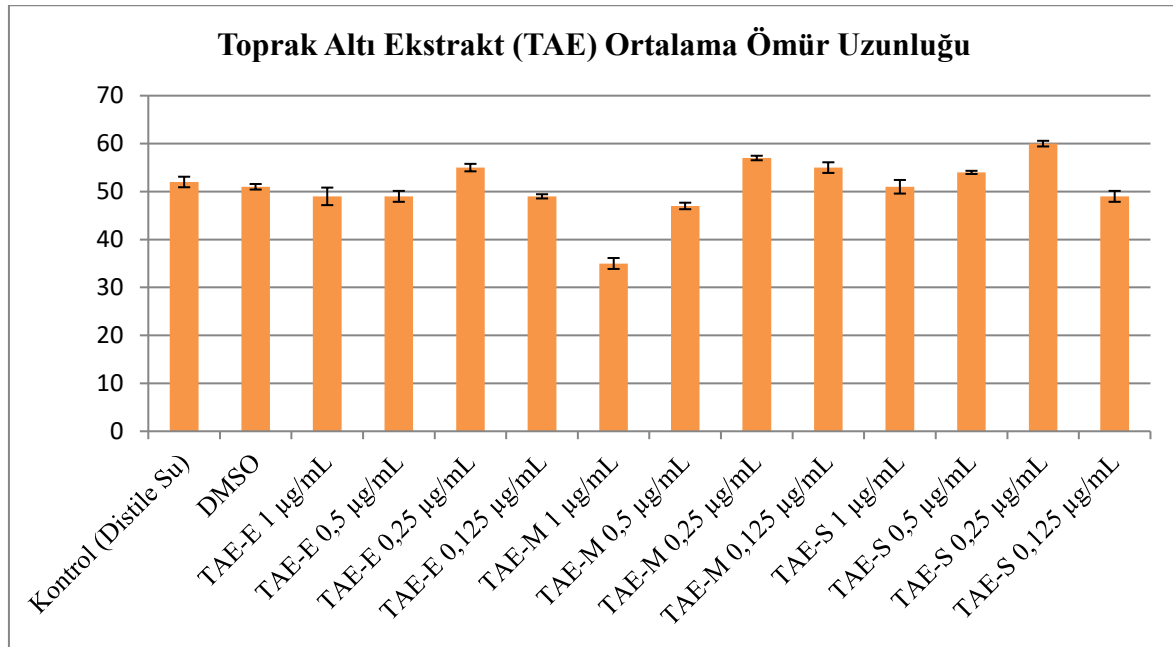


Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak üstü su ekstraktı (TÜE-S) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri

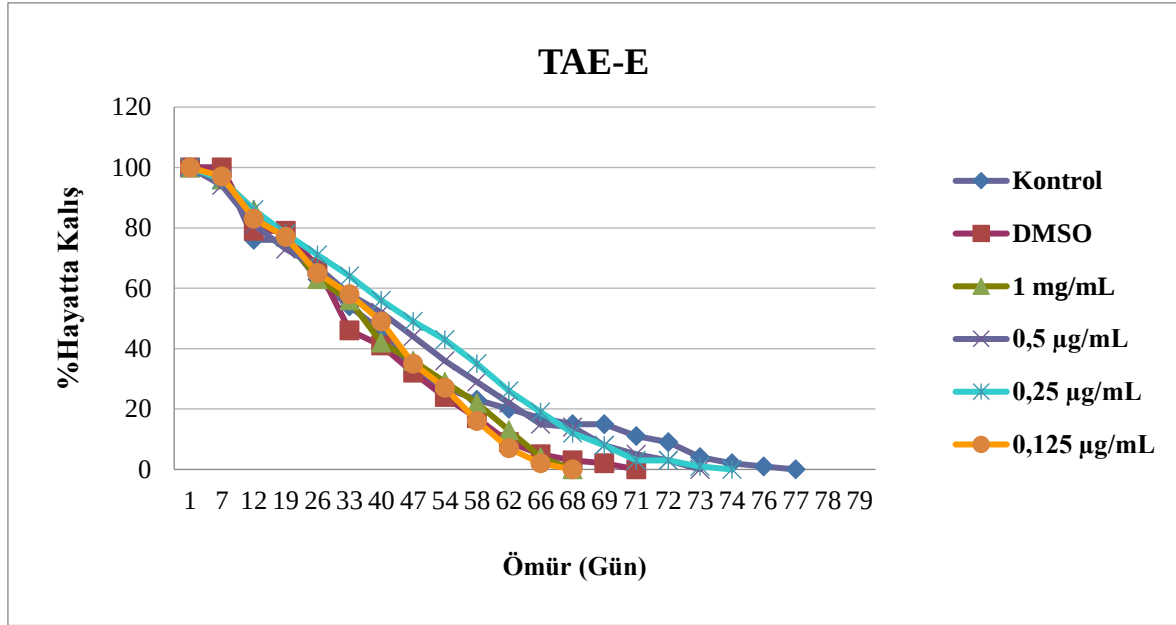
Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyon ve çözücülerde hazırlanmış toprak altı kardelen ekstraktları (TAE) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu ve ortalama ömürleri verileri

| Uygulama Grupları      | N   | Maks. Ömür (gün) $\pm$ SH   | Ortalama Ömür (gün) $\pm$ SH |
|------------------------|-----|-----------------------------|------------------------------|
| Kontrol (Distile Su)   | 100 | 77 $\pm$ 1,36 <sup>a</sup>  | 52 $\pm$ 1,10 <sup>a</sup>   |
| DMSO                   | 100 | 71 $\pm$ 0,95 <sup>b</sup>  | 51 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>   |
| TAE-E 1 $\mu$ g/mL     | 100 | 68 $\pm$ 0,93 <sup>b</sup>  | 49 $\pm$ 1,83 <sup>a</sup>   |
| TAE-E 0,5 $\mu$ g/mL   | 100 | 73 $\pm$ 1,36 <sup>ab</sup> | 49 $\pm$ 1,14 <sup>a</sup>   |
| TAE-E 0,25 $\mu$ g/mL  | 100 | 74 $\pm$ 0,77 <sup>a</sup>  | 55 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>   |
| TAE-E 0,125 $\mu$ g/mL | 100 | 68 $\pm$ 1,56 <sup>b</sup>  | 49 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup>   |
| TAE-M 1 $\mu$ g/mL     | 100 | 68 $\pm$ 1,33 <sup>b</sup>  | 35 $\pm$ 1,14 <sup>c</sup>   |
| TAE-M 0,5 $\mu$ g/mL   | 100 | 73 $\pm$ 1,66 <sup>ab</sup> | 47 $\pm$ 0,68 <sup>ab</sup>  |
| TAE-M 0,25 $\mu$ g/mL  | 100 | 78 $\pm$ 1,37 <sup>a</sup>  | 57 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>   |
| TAE-M 0,125 $\mu$ g/mL | 100 | 78 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>  | 55 $\pm$ 1,11 <sup>a</sup>   |
| TAE-S 1 $\mu$ g/mL     | 100 | 68 $\pm$ 1,16 <sup>b</sup>  | 51 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>   |
| TAE-S 0,5 $\mu$ g/mL   | 100 | 77 $\pm$ 1,28 <sup>a</sup>  | 54 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>   |
| TAE-S 0,25 $\mu$ g/mL  | 100 | 79 $\pm$ 1,19 <sup>a</sup>  | 60 $\pm$ 0,59 <sup>d</sup>   |
| TAE-S 0,125 $\mu$ g/mL | 100 | 68 $\pm$ 0,63 <sup>b</sup>  | 49 $\pm$ 1,14 <sup>a</sup>   |

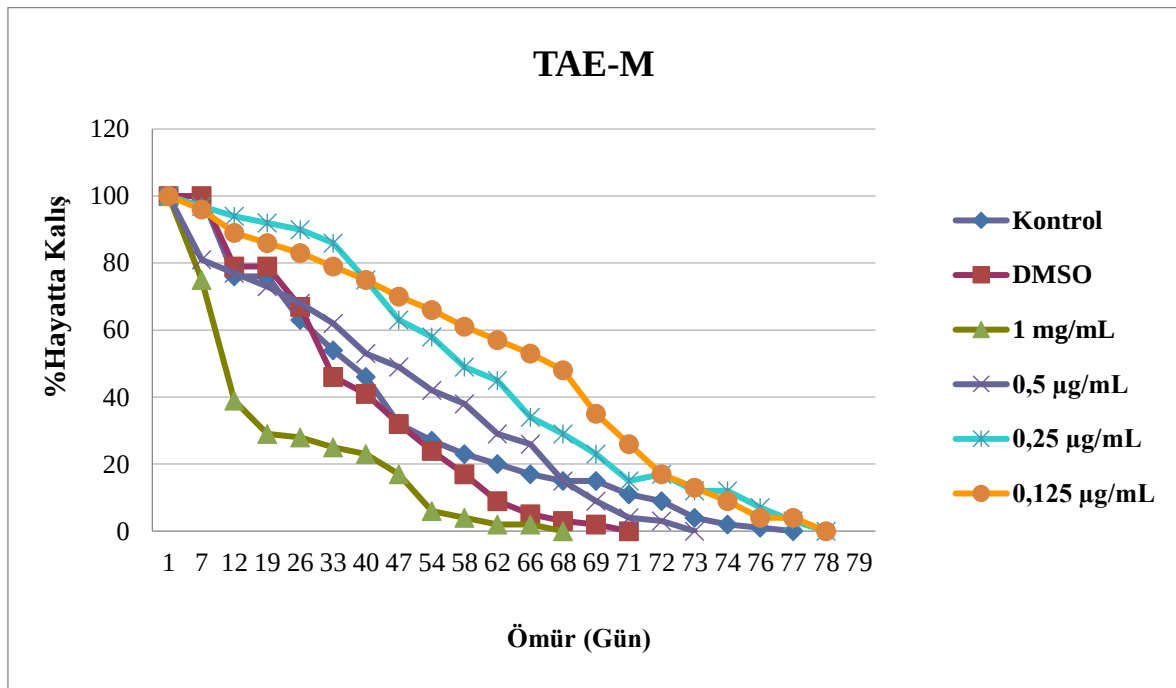
N: Birey sayısı, SH: Standart Hata; DMSO: Dimetil Sülfoksit; KE: Kardelen Ekstraktı; TUE-E: Toprak Üstü Ekstraktı-Etanol; TUE-M: Toprak Üstü Ekstraktı-Metanol; TUE-S: Toprak Üstü Ekstraktı-Su; TAE-E: Toprak Altı Ekstraktı-Etanol; TAE-M: Toprak Altı Ekstraktı-Metanol; TAE-S: Toprak Altı Ekstraktı-Su; <sup>a-c</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen deney gruplarına ait değerler p<0,05 düzeyinde önemlidir.



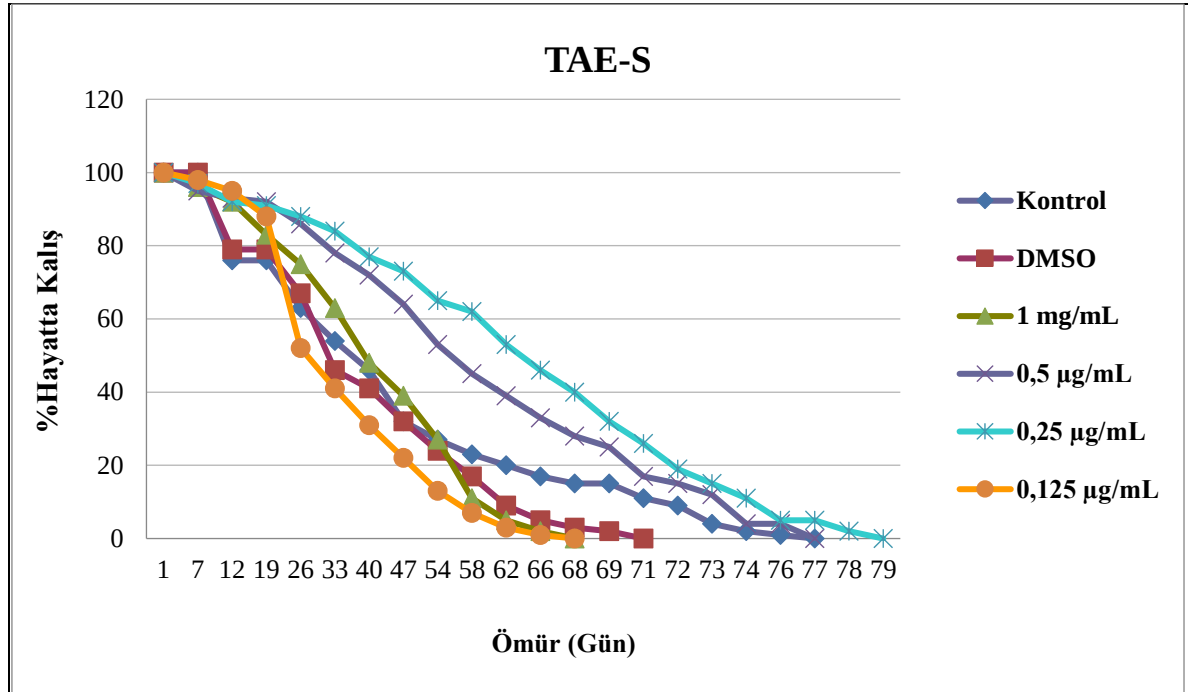
Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlarda toprak altı kardelen ekstraktları (TAE) ile beslenen bireylerin ortalama ömür uzunluğu verileri grafiği



Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak altı etanol ekstraktı (TAE-E) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri



Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak altı metanol ekstraktı (TAE-M) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri



Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlarda kardelen toprak altı su ekstraktı (TAE-S) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu eğrileri

#### 4.2. Biyokimyasal Analizlerden Elde Edilen Sonuçlar

*Galanthus elwesii* Hook. bitkilerinden elde ettiğimiz ekstraktlardan en verimli sonuçlar aldığımız doz grubu bireyler tespit edilerek biyokimyasal analiz çalışmaları yapılmış ve sonuçlar tablo ve grafik çalışmalarıyla değerlendirilmiştir. Larval mortalite ve ömür uzunluğu çalışmalarından elde ettiğimiz verilere bakarak tüm uygulama gruplarında en etkin ekstrakt konsantrasyonunun 0,25 µg/ml olduğu belirlenmiş ve biyokimyasal analizlerde bu konsantrasyon kullanılmış ve beslenen larvalardan erginleşen bireylerden biyokimyasal ölçümler yapılmıştır.

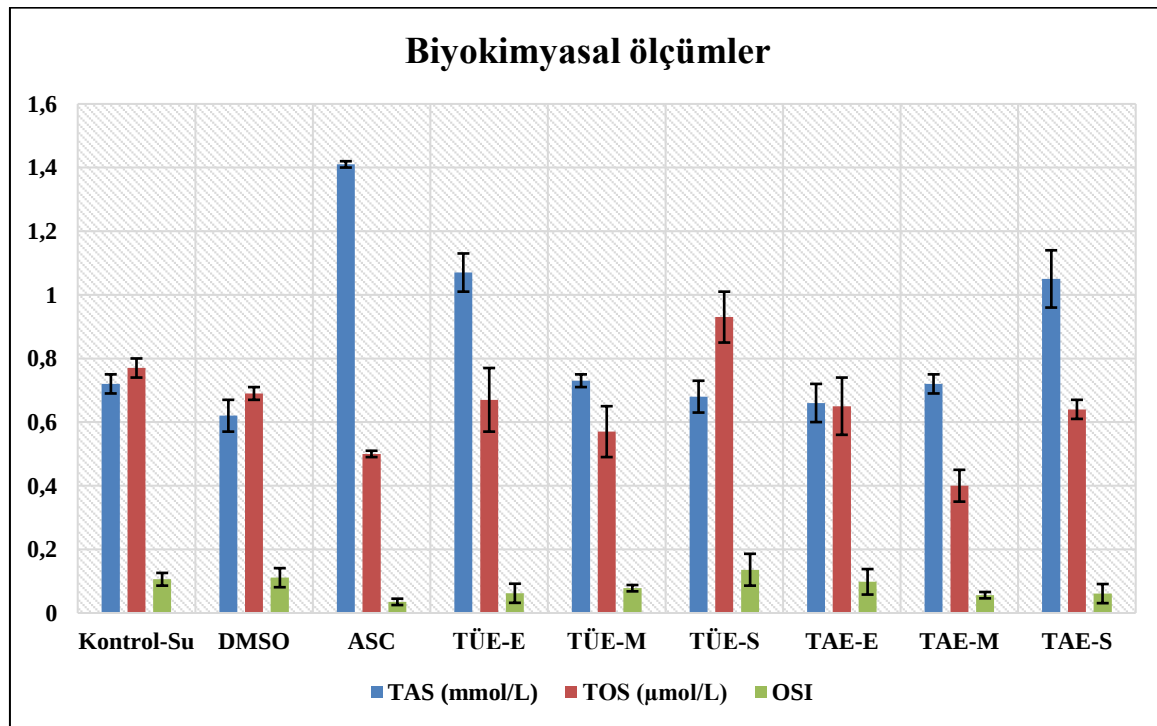
Biyokimyasal analiz sonuçları incelendiğinde en yüksek antioksidan seviyenin (TAS) askorbik asit grubunda olduğu ( $1,41 \pm 0,01$ ), en düşüğün ise DMSO grubunda olduğu ( $0,62 \pm 0,05$ ) gözlenmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.11). Bununla birlikte kardelen uygulama gruplarında negatif kontrol grubuna göre TAS değerlerinde artış gözlenirse de bu artış Askorbik asite oranla oldukça düşük kalmış ve istatistiksel anlamda önemli çıkmamıştır ( $p > 0,05$ ). Sadece toprak üstü etanol ve toprak altı su uygulama gruplarında fark anlamlı çıkmıştır. Total oksidan seviyeler (TOS) incelendiğinde ise en yüksek seviye toprak üstü su

grubunda ( $0,93 \pm 0,08$ ), en düşük seviye ise toprak altı metanol grubunda ( $0,40 \pm 0,05$ ) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.11).

Çizelge 4.5. Kardelen ekstraktları (KE) ile beslenen ergin bireylerden elde edilen biyokimyasal verilerin karşılaştırılması

| Deney Grupları       | TAS (mmol/L) $\pm$ SH | TOS ( $\mu$ mol/L) $\pm$ SH | OSI $\pm$ SH          |
|----------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|
| Kontrol (Distile Su) | $0,72 \pm 0,03^a$     | $0,77 \pm 0,03^a$           | $0,106 \pm 0,02^{cd}$ |
| DMSO                 | $0,62 \pm 0,05^{ab}$  | $0,69 \pm 0,02^a$           | $0,111 \pm 0,03^d$    |
| ASC                  | $1,41 \pm 0,01^d$     | $0,50 \pm 0,01^c$           | $0,035 \pm 0,01^a$    |
| TÜE-E                | $1,07 \pm 0,06^{cd}$  | $0,67 \pm 0,10^a$           | $0,062 \pm 0,03^b$    |
| TÜE-M                | $0,73 \pm 0,02^a$     | $0,57 \pm 0,08^{bc}$        | $0,078 \pm 0,01^{bc}$ |
| TÜE-S                | $0,68 \pm 0,05^a$     | $0,93 \pm 0,08^d$           | $0,136 \pm 0,05^e$    |
| TAE-E                | $0,66 \pm 0,06^a$     | $0,65 \pm 0,09^a$           | $0,098 \pm 0,04^c$    |
| TAE-M                | $0,72 \pm 0,03^a$     | $0,40 \pm 0,05^e$           | $0,056 \pm 0,01^b$    |
| TAE-S                | $1,05 \pm 0,09^{cd}$  | $0,64 \pm 0,03^a$           | $0,061 \pm 0,03^b$    |

TAS: Total Antioksidan Seviye; TOS: Total Oksidan Seviye; OSI: Oksidatif Stres İndeksi ASC: Askorbik Asit; DMSO: Dimetil Sülfoksit; KE: Kardelen Ekstraktı; TÜE-E: Toprak Üstü Ekstraktı-Etanol; TÜE-M: Toprak Üstü Ekstraktı-Metanol; TÜE-S: Toprak Üstü Ekstraktı-Su; TAE-E: Toprak Altı Ekstraktı-Etanol; TAE-M: Toprak Altı Ekstraktı-Metanol; TAE-S: Toprak Altı Ekstraktı-Su; SH: Standart Hata; <sup>a-e</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen deney gruplarına ait değerler  $p < 0,05$  düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.11. Kardelen ekstraktları ile beslenen ergin bireylerden elde edilen biyokimyasal verilerin karşılaştırılması grafiği

OSI değerleri incelendiğinde ise en yüksek stres oranının TE-S uygulama grubunda ( $0,136\pm0,05$ ), en düşük stres seviyesinin ise ASC ( $0,035\pm0,01$ ) kontrol grubu ve bunun hemen arkasında TAE-M uygulama grubunda olduğu gözlemlenmiştir (izelge 4.5 ve şekil 4.11).

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızın amacı, ülkemizde ticari etkilerinin yanı sıra toprak üstü ve toprak altı kısımlarının ile içerdikleri önemli alkaloidler sayesinde birçok terapötik kullanıma sahip, yapılarında güçlü antioksidanlar içerdiğini düşündüğümüz *Galanthus elwesii* (kardelen) etanol, metanol ve su ekstraktlarının etkilerini in vivo olarak araştırmaktır. Uzun ömür, sağlıklı bir yaşam ve sağlıklı hücreler oluşmasına katkı sağlayan doğal özellikteki kardelen bitkisinden elde edilen ekstraktların bu çalışma ile toksik, antitoksik özelliklerinin tespiti ve antioksidan etkinliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ülkemizde yükseltisi yüksek olan yerlerde bile oldukça kolay yetiştirilebilen, üretimi ve bakımını rahatlıkla yapabildiğimiz kardelen bitkisinin, sağlıklı ve uzun yaşam sürecinde tıbbi ve tedavilerde insan hastalıklarıyla mücadelede kullanılması ve yaygınlaştırılması hedeflenmektedir.

Kardelen bitkisinin total antioksidan aktivite çalışmaları, ömür uzunluğu ile toksik, antitoksik çalışmaları üzerine etkileri olduğu, toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının tıbbi anlamda önem kazandığı, hastalıklarla mücadelede yaşam kalitesini arttırdığı literatür sonuçlarında önemli bir değer kazandığı görülmektedir. Kardelenler üzerinde yapılan birçok çalışma olmasına rağmen literatür taramalarına baktığımızda kardelen bitkisinden elde edilen total ekstraktların, sağlıklı uzun yaşam sürecini etkileyebilecek önemli özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Fakat henüz bu etkiler, İnsanlarla eşdeğer doku ve organ kompozisyonuna sahip olan canlı organizmalarında değerlendirilmemiştir. Bu nedenle *Drosophila melanogaster* ile yaptığımız çalışmamız bir ilk niteliğindedir.

Biyolojik aktiviteleri son derece yüksek olduğundan, yapı bakımından antioksidan, antimikrobiyal, antiviral ve antienflamatuar özellikleri sayesinde vücudun savunma sistemini güçlendirici etkilerine sahip olduğundan ve çok önemli alkaloidleri yapısında barındırdığından kardelen türleri arasından *Galanthus elwesii* tercih edilmiştir (Koyuncu ve diğerleri, 1993). Model organizmalar içerisinde yaşlanma genetiği ve ömür uzunluğu çalışmalarında en çok kullanılan *Drosophila melanogaster*'i kullanma amacımız ise biyolojik mekanizmaları bakımından insandaki genlerin %60'ına olan benzerlikleri ve insanda bulunan hastalıklara eş değer %85 oranında homologlara sahip olmasının yanında ayrıca laboratuvar koşullarında kullanımı oldukça kolay olması ve etik kurul izinlerine de gerek duyulmaması nedeniyle tercih edilmiştir.

İçerdikleri önemli alkaloidler sayesinde modern biyoteknolojide potansiyel ham madde haline gelen, ilaç endüstrisinde kullanılan ve gösterişli haldeki çiçekleri sayesinde de süs bitkisi olarak kullanmak üzere diğer ülkelerce en çok talep edilen ve ihracatı yapılan doğal çiçek soğanı, *Galanthus elwesii* 'dir (Baktır, 1996; Tıprıdamaz ve diğerleri, 1999; Demir, 2009). Ülkemizde birçok farklı antioksidan özellikli bitki olmasına rağmen kardelene olan talebin fazla olması nedeniyle doğadaki stok miktarında azalmaya ve neslinin tükenmesiyle karşı karşı olduğundan korunmaya alınmıştır. Bu sebepten düzenli kardelen kaynaklarına ve üretimine önemli derecede ihtiyaç duyulmaktadır. Bu hususlar neticesinde bu bitki türü Ülkemizde ve dünyada oldukça önem kazanmaktadır (Altan ve diğerleri 1990; Yüzbaşıoğlu, 2008; Karagüzel ve diğerleri, 2012).

1980'li yıllarda 20 milyon olan kardelen üretiminin 40 milyon üzerine çıkartılarak avrupa ve dünyaya ihracatı sağlandığı, 1990'lı yılların sonlarına doğru ise üretim ve ihracatın azaldığı, doğanın dengesini, doğal popülasyonu korumak amacıyla yoğun talep olan ihracatın aşağı düzeye çekildiği gözlenmektedir. 2000 yılında yapılan CITES- "Nesli Tehlike Altındaki Türlerin Ticaretine İlişkin Sözleşme" ile genel kuruluna verilen raporla Türkiye, doğal çiçek soğanlarının korunması konusunda dünyaya örnek ülke olarak ilan edilmiştir (Özhatay ve diğerleri, 2005). Özellikle kardelen soğanlarının Ülkemizdeki iç piyasada yeterince tüketimi olmadığı için Türkiye ihracatçı ülke konumuna gelmiştir.

Ülkemizde ve dünyada doğal soğanlı bitkilerle, özellikle de kardelenler başta olmak üzere bilimsel çalışmaların yapıldığı literatür çalışmaları aşağıda verilmiştir.

Bilimsel belgelerin çoğunluğu in vitro ve bitki çalışmaları üzerinedir ancak *Galanthus elwesii*'nin tıbbi etkileri hakkında az sayıda çalışma verisi vardır. Son yıllarda literatürde bu bitkiden elde edilen ekstraktların antioksidan, antispazmotik, kardiyovasküler önleyici, antibakteriyel ve cildi koruyucu etkileri rapor edilmektedir. Ayrıca Ülkemiz açısından kardelen üretiminde son derece diğer ülkelere duyulan ihtiyaç da bu çalışmaları destekleyici niteliktedir.

*Galanthus* çeşitlerinin içerdiği alkaloid miktarlarının tayinleri ve antioksidan özellikli ekstraktların tespiti konusunda çeşitli araştırmalar yapılmıştır.

Kardelen bitkisi ile 1940 yılında ilk olarak bu çalışmalar aynı aileden olan *Galanthus woronowii* bitkisinden elde edilmiştir. Bu bitkiden total alkaloid miktarları tayin edilmiş ve analizler sonucu bitkinin soğan kısımlarında %1,03; yapraklarında ise %0,60 oranında total alkaloidler olduğu ortaya çıkarılmıştır (Areshkina, 1940).

1994 yılında ise Türkiye topraklarından toplanılan *Galanthus elwesii* Hooker fil., kardelen bitkileriyle yapılan bir çalışmada; toplam 18 adet alkaloid tespit edilmiş ve altı adet likoirin tipi yeni alkaloid ((+)-5-methoxy-9-O-dimetilhomolikorin, (+)-galwesin, (+)-9-O-demetilgalwesin, (+)-16-hidroksigalwesin, (+)-16-hidroksi-9-O-demetilgalwesin ve galasin) keşfedilerek izolasyonu sağlanmıştır. Bu çalışmada, bu bitkiden daha önceden tespit edildiği bilenen 12 alkaloid ((-)-galantamin, (-)-sanguinin, (-)-lökotamin, (-)-O-metilleukotamin, (+)-narwedine, (-)-N-demetilgalantamin, (+)-11-hidroksivittatin, (+)-9-O-demetilhomolikorin, (-)-likorin, (-)-galantin, hordenin ve (E)-N-feruloiltiramin)) tespit edilmiştir (Latvala, 1994).

Kardelen familyasından olan *Galanthus plicatus* bitkisinden ilk kez elde edilen ekstraktlar (ismine, tazettine ve 3-epimacronine) saf halde izole edilerek, yapılarının araştırılıp belirlenmesinde modern spektroskopik yöntemler ve X-Ray kristalografisinin çalışmalarıyla değerlendirilmiştir (Akıneri, 1997). *Galanthus plicatus* bitkisinde yapılan diğer bir çalışmada ise hem çiçekli ve hem de meyvalı vejetasyon dönemlerindeki bitkilerden ayrı ayrı hazırlanan drog örnekleri için tespit edilmiş ve bizim de ekstrakt elde etmek için kullandığımız total alkaloid miktarları tespiti için titrimetrik yöntem kullanılarak tayin edilmiştir (Akbulut, 2004).

Amaryllidaceae familyasındaki bitkilerin biyolojik aktivitelerini ölçmek üzere yapılan bir çalışmada, HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) yöntemiyle kardelen ekstraktlarından likorin tayini için; *Sternbergia sicula* ve *Sternbergia lutea* türü bitkilerinin toprak üstü kısımlarına ve toprak altı kısımlarına (soğan) uygulanarak *Sprengel* ve *Pancratium maritimum*(kum zambağı) (Amaryllidaceae) bitkilerinin iki farklı vejetasyon döneminde toplanan topraküstü ve toprakaltı kısımlarına uygulayarak; *Sternbergia sicula* örneklerinde likorin miktarı %0.10-0.53 arasında değişiklik gösterirken , *Sternbergia lutea* ve *Pancratium maritimum* gruplarında ise bu oranın sırasıyla %0.19-0.40 ve %0.05-0.14 olduğunu gözlemlediklerini belirtmektedirler (Kaya, Çiçek, Sarıkaya, Onur ve Somer, 2010).

Antalya ilinin üç farklı köy bölgesinden (Çimi Köyü, İbradi Köyü, Kayrak Köyü) *Galanthus elwesii* türü toplanarak, topraküstü kısımları (yaprak ve çiçek) ve toprak altı kısımları (kök ve soğan) içeren alkaloid ekstraktların tespiti olarak galantamin ve likorin içerik tayini çalışmalarını yürütmüşlerdir. Deney sonucunda; Çimi köyündeki kardelenin topraküstü ve soğanlarının galantamin içeriğinin sırasıyla %0,346 ve 0,042 olduğu; İbradi köyündeki topraküstü kısımlarının galantamin oranı, %0.287, soğanlarının ise %0,095 olarak tespit edilmiştir. Kayrak köyündeki kardelen örneklerinde galantamin tespit edilememiştir. Analiz çalışmaları yapılan Kayrak ve İbradi köylerinden toplanan *Galanthus elwesii* toprak altı kısımlarında (soğan) ise likorin oranının sırasıyla %0,005 ve 0.015 olduğunu bildirmişlerdir (Kaya ve diğerleri, 2014).

1996 yılında yine Türkiye de yapılan nergisgiller familyasından; *Galanthus elwesii*, *Galanthus ikariae* (karga soğanı), *Narcissus tazetta* (Çin Nergisi) ve *Leucojum aestivum* (Göl Soğanı) ile yapılan HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) total tayin tespit analizi çalışmalarında; Çin nergislerinin kök soğan kısımlarında diğer çalışılan türlere göre % 0,089 oranında daha fazla likorin alkaloidi tespit edildiği bildirilmiştir. *Narcissus tazetta* 'nın soğan kısımlarında tespit edilen alkaloidin Türkiye de likorin kaynağı olarak değerlendirilebileceği vurgulanmıştır (Muhtar ve Şener, 1996).

Yapılan bir araştırmada; *Galanthus elwesii* bitkisinden toprak altı kısımları ile toprak üstü kısımlarının ayırt edilerek titremik yöntem ile çiçekli ve meyveli kısımlarını barındıran toprak altı ve toprak üstü dört kodlu total alkaloid içerik tayini sonucunda, ortalama olarak; İ1 (çiçekli haldeki kardelen) kodlu örneğin min-maks. %0,1725-0.1999, İ2 (meyveli haldeki kardelen) kodlu örneğin min-maks. %0,2656-0.2982, İ3 (çiçekli haldeki drog) kodlu örneğin min-maks. %0.927-0.1122, İ4 (meyveli haldeki drog) kodlu örneğin min-maks. %0,1199-0,1290 oranlarında minimum ve maksimum değerlerinde hesaplanmış total alkaloid izolasyonu sağlanmıştır (Duman, 1997).

Yapılan bir diğer çalışmada bizim yaptığımız ekstrakt eldesine benzer, *Galanthus* ile aynı sınıfta yer alan ve tıbbi bitki olarak kullanılan *Mentha piperita* (nane) ve *Foeniculum vulgare* (rezene) tıbbi bitki türlerinden elde edilen ekstraktların 3 çeşit çözücüsünde (su, etanol ve etanol/su) antioksidan verimi ve aktivite tayinleri ile toplam fenolik madde değerleri incelenmiş ve sonuçta en yüksek performans etanol/su(1/1:v/v) olduğu ve çözücü miktarı arttınca genel olarak fenolik miktarı ve ekstraksiyon verimi de artmakta, antioksidan

aktivitesi ise değişmediği tespit edilmiş, sıcaklığın artışına bağlı olarak ise antioksidan etkisinin azaldığı sonucuna varılmıştır (Güvenilir, 2016).

Yukarıdaki bilgiler dahilinde *G.elwesii*, kardelen ekstreleri en yaygın kullanılan kaynaklardan biridir. Ancak benzer kimyasal bileşime sahip bir dizi başka *Galanthus* türleri (örn., *Galanthus nivalis*, *Galanthus ikeria*, *G. woronowii* ve *Galantus latifolius*) de tanımlanmış ve tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır. Genellikle, *Galanthus* türleri 100'den fazla bileşene sahiptir. Ancak soğanlarında ve diğer yapılarında bulundurdıkları en önemli ana bileşenler galantamin, likorin, nivalin ve tazettin gibi major kardelen alkaloidleri olduğu ileri sürülmüştür (Zeybek 1983, Zeybek ve Sauer, 1996:5). Kardelenin bu alkaloidlerinin yönü sebebiyle büyük bir potansiyele sahip olduğu tüm Avrupa ve diğer ülkeler tarafından kabul edilmiştir. Kardelenin çeşitli toprak altı ve toprak üstünde bulunan majör veya minör alkaloidler sayesinde her birinin ilaç olabilme özelliği göstermesi ve bu kimyasal maddelerin sentetik olarak elde edilememesi, kardelenin Türkiye' de potansiyel değerinin son derece yüksek olduğunu ve talebinde git gide arttığını göstermektedir.

*Galanthus elwesii* bitki ekstraktlarından elde edilen alkaloidler; ilaç endüstrisinde, tıp alanında ve çeşitli hastalıklarla mücadelede, canlı organizmalar için özellikle insan sağlığı açısından son derece önemli bir etken olarak görülmektedir.

*Galanthus elwesii* (kardelen) alkaloidleri arasında insan sağlığın açısında çok önemli bir yeri olan Galantamin, asetil kolin esterase enzimini inhibe ederek sinaptik aralıktaki asetil kolin miktarını artırdığı ve kolinerjik iletimi sağladığı nedeniyle Alzhemir hastalığı tedavisinde kullanıma uygun olduğu tespit edilmiş ve HBr-"galantamin hidrojen bromür" tuzu olarak piyasada "Reminyl" adıyla ilaç olarak tüm dünyada ve Türkiye'de (2006) kullanılmaya başlanmıştır (Coyle ve Kershaw 2001; Çelik ve Uzbay, 2003; Heinrich ve Teoh, 2004).

1983 yılında, yapılan diğer bir çalışmada ise kardelenin, galantamin alkaloidi ile ilaç elde edilmiş ve insan organizmasında poliomiyelit (çocuk felci) hastalığında myastina gravis (kas zayıflığı) hastalığı tedavisinde kas kuvvetini arttırıcı olarak kullanılabilirliği ve tespiti sağlanmış ve başka alanlarda da yaygınca kullanımı sağlanmıştır. Aynı zamanda kardelenin likorin alkaloidi ile yapılan çalışmada ise özellikle tarım ilacı olarak, domates de oluşan mantar hastalığında etkili olduğu tespit edilmiştir (Zeybek, 1983).

Alternatif tıp ve geleneksel tedavide insanların otsu kısımları (toprak üstü) çeşitli mide hastalıklarında kullanıldığı ve kalbi kuvvetlendirici etkisi olduğu; toprak altı kısımlarının ise çıbanları olgunlaştırmada kullanıldığı ileri sürülmüştür (Çakırlar ve diğerleri, 1994).

Yukarıda verilen çalışmalarda görülüyor ki kardelen alkaloidlerinin önümüzdeki yıllarda daha farklı tedavilerde kullanılmaya ve farklı ilaçların temel etken maddesi haline gelme potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Örneğin ileriki yıllarda galantaminin "otizm tedavisinde" ve diğer önemli tedavilerde oldukça önemli bir değer kazanacağı yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur.

Bizim Çalışmamızda ise araştırdığımız kardelenin (*Galanthus elwesii* Hook. f.) toksik ve antitoksik etkinliğine bakılmıştır. Sonuçta incelediğimiz konsantrasyon (1 mg/mL; 0,5 mg/mL; 0,25 mg/mL ve 0,125 mg/mL) dozlarından, Toprak üstü Ekstraktları (TÜE) ve Toprak Altı Ekstraktları (TAE); sağ kalım oranları, yaşam süresini arttırıcı ve ömür kısaltıcı etkinlikleri göstermiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1). Literatürde kardelen ve diğer formları ile onların aktif bileşenlerinin bizim bulgularımızdaki konsantrasyonlara bağlı toksik etki gösterip göstermediği veya ömür uzatıcı özellik gösterdiği herhangi bir çalışma bulunamamıştır.

Çalışmamızda *G. elwesii*'nin yaşlanma sürecini geciktirici (anti-aging) mekanizma değerlendirilmemiş olmasına rağmen antioksidan özellikleri sonuçlarımızı açıklayabilir düzeydedir. Yaşlanmanın birçok mekanizması arasında, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu yaşlanma teorisi geniş çapta incelenmekte ve kabul edilmektedir. Pek çok çalışma, *Drosophila*'da antioksidanların yaşam süresinin uzatılması üzerindeki etkisini değerlendirmiştir.

Yapılan bir çalışmada iki popüler antioksidan olan resveratrol ve lipoik asit, yaşam süresini artırdığı ve oksidatif hasarı düşürdüğü tespit edilmiştir (Bauer, Goupil, Garber ve Helfand, 2004). Bir başka diğer çalışmada ise 200 M'deki Resveratrol, dişi ve erkek *Drosophila*'larda sırasıyla ortalama %16 ve %10 yaşam süresinin artışıyla sonuçlanmıştır. Lipoik asit ise yalnızca dişi *Drosophila*'nın ömrünü uzattığı tespit edilmiştir (Driver, Georgiou ve Georgiou, 2004).

Yaşam süresinin arttığını gösteren beş *Drosophila melanogaster* popülasyonunu, beş kontrol popülasyonu ile karşılaştırılan bir deneyde; sineklerin yetişkin yaşam süreleri boyunca vücut kütlesi, lipid ve karbonhidrat içeriği, metabolizma hızı ve doğurganlığına bağlı diyet içerikli bu çalışma sonuçlarında, diyet bakımından pupadan yetişkin aşamaya gelen bireylerde enerji içeriği ve metabolizma hızı, kısa ve uzun ömürlü sinekler için aynı olduğu; kalori bakımından uzun ömürlü sinekler, kısa ömürlü sineklere kıyasla larva üremesinin azaldığı ve lipid ile karbonhidrat depolamasının ise arttığı ileri sürülerek kalori kısıtlamasında yaşam sürelerinin arttırdığı sonucuna varılmıştır (Djawdan, Sugiyama, Schlaeger, Bradley ve Rose, 1996).

Çin bitkisi olarak bilinen ve yaygın olarak kullanılan Üç İmparatorluk Mantarı (Lu Duo Wei, Bu Zhong Yi Qi Tang, San Zhi Pian) ve Hong Jing Tian (Rhodiola) olarak isimlendirilen dört adet bitki yaşlanma karşıtı özellikleri açısından değerlendirilmiş, bu bitkisel karışımların tümü antioksidan özelliklere sahip olmasına rağmen, yalnızca Rhodiola ile beslenen *Drosophilalar*, uzun ömürlülük açısından istatistiksel olarak anlamlı; yavaşlamış yaşlanma ve ölüm oranında bir azalma sergilediği görülmüştür. Rhodiola bitkisi hayatta kalmayı erkek sineklerde 3,5 gün, dişi sineklerde ise 3,2 gün artırmış ve ölüm oranını erkek sineklerde %27, dişi sineklerde ise %30 azalttığı ileri sürülmüştür (Jafari ve diğerleri, 2007).

*Drosophila melanogaster*'de oksidatif stres, yaşlanma ve uzun ömürlülük üzerine yapılan diğer bir çalışmada, beslenme süresince larva ve yetişkin birey süresince *Drosophila*'ların besiyeri ortamına çeşitli antioksidan kimyasallar eklenerek, enzim etkisi ile yaşam süresine olan etkisi incelenmiş ve sonuçta %'lik değişimleri olan en iyi antioksidan sonuç etkileri: E vitamini(13,7); Dinitrofenol(12,3); Tiyosentrofenoksin(14,7); Propil Galat(34,2); Yok-Asetilsistein(26,6); tyoprolin(30,4) ve A vitamini palmitat(17) olarak ölçülmüş ve farklı dozlarıyla oksidatif stres ile yaşlanma oranı arasında doğrudan nedensel bir bağlantı olmadığını fakat, reaktif oksijen türlerine karşı SOD (Süperoksit dismutaz)'un aşırı ekspresyonu yaşam süresini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir (Le Bourg, 2001).

Yapılan bir çalışmada, alkilleyici ajanlar (Etil metansülfonat (EMS) ve Siklofosfamid (SF)) kullanarak olası genotoksik etkilerinin belirlenerek, bu etkilerin giderilmesinde ise *İris taochia* bitki türünden elde edilen topraküstü metanol ekstraktları kullanılmış ve bu ekstraktların beş farklı konsantrasyonları (10; 5; 2,5; 1,25 ve 0,625 mg/mL) *D.melanogaster* larvalarında, larval mortalite ve ömür uzunlukları üzerine etkileri incelenmiş ve sonucunda;

topraküstü metanol ekstraktının toksik etki oluşturmadağı ve hayatta kalış oranlarını ise düşürmediğı tespit edilmiştir. Ekstraktların yüksek orandaki antioksidan özellikleri sayesinde ise antigenotoksik etki gösterdikleri ileri sürülmüştür (Özçelik, 2019).

Yapılan diğerk bir çalışmada, koruyucu katkı maddesi olan parabenlerin, farklı konsantrasyonları (100mM, 150mM, 200mM, 250mM) ile *Drosophila melanogaster*'de in vivo olarak genotoksik, toksik ve mutajenik etkileri incelenmiştir. Tüm paraben gruplarının yüksek konsantrasyonlarında genotoksik etki göstermediğı, fakat konsantrasyon artışına bağılı toksik etki gösterdiğik ve larvalardaki yaşama yüzdesinin azaldığı, ergin bireylerde ise çeşitli malformasyonlara neden olduklarını ifade etmiştir (Ayar, 2013).

Yapılan bir çalışmada, çimlendirme ortamına göre kullanılan brokoli filizleri; standart besin (kontrol), metal elek çimlendirme (BM), plastik elekte çimlendirme (BP); yapılan standart besiyerine %30 eklenmesi sonucu; deney gruplarından BP'ile beslenmeye devam edilen *Drosophila* ergin bireylerinde, BM ile beslenen bireylerin yaşama oranını azaltmış, gelişme süresini önemli miktarda uzatmıştır. Fenolik bileşenlerin çimlenme süresinde arttığı ve buna bağılı sineklerde olumlu etkiler oluşturduğuk, çimlenme ortamındaki metal geçişik nedeniyle sineklerin olumsuz etkilenebilecekleri tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile sadece model organizma açısından değil insan sağlığığ açısından da beslenme ile kullanımında dikkatli olunması gerektiğı düşünöldüğünü ifade etmektedir (Güneş ve Erçetin, 2022).

Yukarıda belirtilen bir çok çalışmada ve literatürde görölüyor ki alternatif tıpta da ve geleneksel tedavide kullanılan çeşitli bitki ekstraktlarının (kanola, mısır, zeytin yağı, soya, kızartma yağları) sitotoksik, genotoksik veya serbest oksijen radikalleri olan süpürücü özellikteki molekülleri ile bu ekstraktların güçlü antioksidan kaynağı olarak kullanılması; kromozom hasarı oluşturup oluşturmadığı, koruma özellikleri; antimutajenik, anti histaminik, antikanserojenik, antimikrobiyal, antiviral, antienflamatuar ve fenotipik etkileri de *Drosophila*'da test edilmektedir (Güneş, 2016a).

*Camellia sinensis* L. (Beyaz çay) türünün farklı konsantrasyonlarında (0,625; 1,25; 2,50 ve 5 mg/mL) elde edilen beyaz çay ekstraktları, hazırlanan *D.melanogaster* besiyerine eklenerek, larvaları kronik olarak beslenmiş ve Streptozotosin ve Siklofosfamid kanser ilaçların mutajenik etkileri incelenmiş ve sonucunda; Beyaz çay ekstraktlarının hiçbir konsantrasyonunda genotoksik etki göstermediğı; Streptozotosin ve Siklofosfamid

ilaçlarının sağlıklı hücrelerde genotoksik etkiler oluşturabileceği ve bu etkilerin ise beyaz çay tüketimi ilavesiyle azaltılabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Fidan, 2017).

Portakal ve limon suları olan narenciye suları ve bunların en önemli ayırt edici iki aktif bileşeni olan hesperidin ve limonenler ile *D.melanogaster*'de yapılan çalışmada; genotoksik, antigenotoksik, sitotoksik ve ömür uzatıcı etkinliklerinin sonucunda; limon suyu ve limonenin yüksek konsantrasyonlarında genotoksik ve sitotoksik olmasına karşın düşük konsantrasyonlarda ise sineklerde ömür uzatıcı etkinlikleri olduğu tespit edilmiştir (Fernández Bedmar ve diğerleri, 2011).

Tüm bu çalışmalarda; *G. elwesii*'nin, *Drosophila*'nın yaşam süresini yapay olarak uzatmasını; toksik veya antitoksik bir duruma bağlı herhangi bir ikincil fizyolojik mekanizmayı önemli ölçüde etkilemeden ölüm oranını azalttığını göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamız Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Aktivite Laboratuvarı ve Suluova Meslek Yüksekokulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda *Galanthus elwesii* Hook. f. (kardelen) bitkisinden, mevcut literatür bilgileri değerlendirilerek elde ettiğimiz farklı konsantrasyonlardaki (1 µg/mL; 0,5 µg/mL; 0,25 µg/mL ve 0,125 µg/mL) metanol, etanol ve su çözücülerıyla hazırlanan 6 farklı; bitkinin çiçek ve tablası, yaprak kısımlarını içeren- toprak üstü ekstraktlar (TÜE) ile rizom, kök, yumru kısımları içeren- toprak altı ekstraktlar (TAE), *Drosophila melanogaster* model organizması üzerinde çeşitli parametreler açısından değerlendirilmiştir.

Deneylelerimizden elde ettiğimiz sonuçlar aşağıda özetlenmiştir;

- Toprak üstü ekstraktlarında (TÜE) sağ kalım oranı (larval mortalite) en iyi sonuç veren; "Etonol" çözücüsüyle hazırladığımız ekstrakt olduğu gözlemlenmiştir.
- Toprak altı ekstrakt (TAE) uygulama gruplarında ise hemen hemen her ekstraktta hayatta kalış oranlarında iyi sonuçlar elde edilmiş ama en etkili sonuç veren su ve metanol çözücüsüyle hazırladığımız ekstraktların olduğu gözlemlenmiştir.
- Maksimum ömür uzunluğu için en iyi sonuçlar  $79 \pm 1,32$  gün ile toprak üstü kardeleninin 1 µg/mL'lik etanol ekstraktı ve  $79 \pm 1,19$  gün ile toprak altı kardeleninin 0,25 µg/mL'lik su ekstraktında olduğu belirlenmiştir. En düşük ömür uzunluğu sonucuna ise  $54 \pm 0,78$  gün ile toprak üstü kardeleninin 0,125 µg/mL'lik metanol ekstraktında rastlandığı gözlemlenmiştir.
- Ortalama ömrün en uzun olduğu sonuç ise 0,25 µg/mL'lik toprak altı kardeleninin su ekstraktında ( $60 \pm 0,59$  gün) olduğu tespit edilmiştir.
- Larval mortalite ve ömür uzunluğu çalışmalarından elde ettiğimiz verilere bakarak tüm uygulama gruplarında en etkin ekstrakt konsantrasyonu 0,25 µg/ml olduğu belirlenmiş ve biyokimyasal analizlerde bu konsantrasyon kullanılmıştır.

- En yüksek antioksidan seviyenin (TAS) askorbik asit grubunda ( $1,41 \pm 0,01$ ), en düşüğün ise DMSO grubunda olduğu ( $0,62 \pm 0,05$ ) gözlenmiştir. Bununla birlikte kardelen uygulama gruplarında negatif kontrol grubuna göre TAS değerlerinde artış gözlenirse de bu artış Askorbik asite oranla oldukça düşük kalmış ve istatistiksel anlamda önemli çıkmamıştır. Sadece toprak üstü etanol ve toprak altı su uygulama gruplarında fark anlamlı çıkmıştır.
- Total oksidan seviyeler (TOS) incelendiğinde ise en yüksek seviyenin toprak üstü su grubunda ( $0,93 \pm 0,08$ ), en düşük seviyenin ise toprak altı metanol grubunda ( $0,40 \pm 0,05$ ) olduğu belirlenmiştir.
- OSI değerleri incelendiğinde ise en yüksek stres oranının TÜE-S uygulama grubunda ( $0,136 \pm 0,05$ ), en düşük stres seviyesinin ise ASC ( $0,035 \pm 0,01$ ) kontrol grubu ve bunun hemen arkasında TAE-M uygulama grubunda olduğu gözlemlenmiştir.

Günümüzde hastalıklarla mücadelede alternatif tıp ve geleneksel tedavi yöntemleri halen kullanılmaktadır. Bitki ekstraktları ve antioksidan içerikleri, yalnızca ilaç olarak değil aynı zamanda her türlü kimyasal ajanın sebep olabileceği DNA hasarları, gen bozuklukları gibi yan etkileri de azaltıcı olarak hastalıklara karşı mücadelede önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle kardelen bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımlarının da belirli konsantrasyonlarda hem gıda hem de ilaç olarak geleneksel tedavide kullanımının yaygınlaştırılması önem arz etmektedir. Özellikle soğan kısımlarında tespit edilen çok önemli alkoloider barındırması hasebiyle "Türkiye alkoloid kaynağı" olarak değerlendirilebilir nitelikte olduğu düşünülmektedir.

Bu bitkinin aynı zamanda ülkemiz için gerek tıbbi alanda, biyolojik çalışmalarda ve gerekse süs bitkisi olarak ekonomik açıdan düşünüldüğünde, diğer ülkeler tarafından yoğun bir şekilde talep edildiğinden son derece getirilerinin yüksek olacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmayla *Galanthus elwesii* (Kardelen) bitkisinin *Drosophila melanogaster* model organizmasının yaşam süresini fizyolojik mekanizmaları etkilemeden uzatabildiğine ve uzun ömürlülük avantajına yol açabileceğine dair kanıtlar sunulmuştur.

## KAYNAKLAR

- Akbulut, İ. (2004). *Bolu, Abant gölü çevresinde yetişen Galanthus plicatus Bieb. subsp. byzantinus* (Baker) D.A. Webb üzerinde bazı farmakognozik çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Akıneri, G. (1997). *Bazı Amaryllidaceae Alkaloitlerinin Spektral Analiz Yöntemleri ile Tayini*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Akman, B. ve Tuncer, T. (2007). Yaşamın şifresi: *İnsan genom projesi*. ODTÜ Geliştirme Vakfı. ODTÜ Yayıncılık.
- Aksu, E., Erken, K. ve Kaya, E. (2002). İhracatı yapılan Doğal Çiçek Soğanları, Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü 84-39.
- Altınışik, M., ve AD, A. T. F. B. (2000). Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar. ADÜ Tıp Fakùltesi, Biyokimya AD., Aydın.
- Altan, T., Altan, S., Altunkasa, F., Yücel, M. ve Sirel, B. (1990). Toros dağlarında doğal olarak yetişen bazı geofitlerin potansiyeli, sükümden etkilenmeleri ve üretim olanakları üzerinde bir araştırma. *TÜBİTAK Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu 552 numaralı Proje Raporu*, Adana.
- Altun, A., ve Keskin, İ. (2020). Hayvan çalışmalarında uygun model seçim kuralları ve etik durum. *Sakarya Tıp Dergisi*, 10(2), 359-364.
- Altun, D. (2007). *Usnea longissima Ach. Likenin Drosophila melanogaster'in çeşitli gelişim parametreleri ve ömür uzunluğu üzerine etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Altun, D., Uysal, H., Aşkın, H. and Ayar, A. (2011). Determination of the effects of genistein on the longevity of *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera; Drosophilidae). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 86, 120-123.
- Altunkaya, V. (2014). *Normotermik ve hipotermik bypass' da total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) değişimlerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915-7922.
- Anik, M. I., Mahmud, N., Masud, A. A., Khan, M. I., Islam, M. N. et al. (2022). Role of reactive oxygen species in aging and age-related diseases: a review. *ACS Applied Bio Materials*, 5(9), 4028-4054.
- Ankeny, R. A., and Leonelli, S. (2020). Model organisms. *Elements in the philosophy of biology* (1). England: Cambridge University Press, 24.

- Areshkina, L. Y. (1940). Alkaloids from snowdrop. *Sovet Subtropiki*, 11-12.
- Arslan, N., Sarıhan, E. O. ve Gümüşçü, A. (2002). Farklı Yörelere Toplanan Kardelenlerin (*Galanthus elwesii* Hook.) Kültüre Elverişlilikleri Üzerine Araştırmalar. *II. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi*, 22-24 Ekim, Antalya.
- Aschan, G. and Pfanz, H. (2006). Why snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) tepals have green marks?. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 201(8), 623-632.
- Asil, H. ve Sarıhan, E. O. (2010). Türkiye'de Doğal Çiçek Soğanları Üretimi, Değerlendirilmesi ve Ticareti. *IV. Süs Bitkileri Kongresi. s.*, 33-40.
- Atlan, N., Sepici Dinçel, A. ve Koca, C. (2006). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, 31(2), 51-6.
- Atay, S. (1996). *Soğanlı bitkiler: Türkiye'den ihracatı yapılan türlerin tanıtım ve üretim rehberi*. Doğal Hayatı Koruma Derneği.
- Atlı, E. (2010). *Bazı Çevresel Östrojenlerin Drosophila Melanogaster' de Gelişim Biyolojisi ve Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Akın, Y., ve Kobaneri, A. (2020). İnternet: Model organizma nedir? Yapılan bilimsel araştırmalarda hangi model organizmalar kullanılmaktadır?. <https://evrimagaci.org/model-organizma-nedir-yapilan-bilimsel-arastirmalarda-hangi-model-organizmalar-kullanilmaktadir-8070>. Son Erişim Tarihi : 19.12.2023
- Ayar, A. (2008). *Drosophila melanogaster'in Oregon R Yabanıl Ve Vestigial Mutant Soylarında Ekstrem Sıcaklık Şartlarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ayar, A. (2013). *Bazı parabenlerin genotoksik etkilerinin in vivo ve in vitro şartlarda kısa süreli test teknikleri ile belirlenmesi*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.
- Aydemir, B. ve Sarı, E. K. (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2(2), 56-60.
- Ayık, B., Emsen, B. ve Sürmen, B. (2023) *Galanthus elwesii* Hook. f.'nin Farklı Ekstraktlarının Serbest Radikal Yakalama ve Metal Şelatlama Aktivitelerinin Tespit Edilmesi. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi. *Mühendislik ve Doğa Bilimleri Dergisi*. 5(2), 118-130.
- Bağcı, G., ve Bozcuk, A. N. (1991). Ergin *Drosophila*'nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın etkisi, *Doğa-Tr. J. of Biology*, 15, 1-8.

- Baktır, İ. (1996). Kardelenin (*Galanthus elwesii*) Yetiştirme Ortamında Soğandan Çoğaltılması Üzerine Bir Araştırma. *Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi* 9, 342- 346.
- Barbehenn, R. V. and Stannard, J. (2004). Antioxidant defense of the midgut epithelium by the peritrophic envelope in caterpillars. *Journal of Insect Physiology*, 50(9), 783-790.
- Barrou, Z., Charru, P. and Lidy, C. (1997). Dehydroepiandrosterone (DHEA) and aging. *Archives of gerontology and geriatrics*, 24(3), 233-241.
- Batı Ay, E. (2019). *Farklı Fosfor ve Çinko Dozları Uygulanan Kardelende (Galanthus elwesii Hook.) Fenolik Bileşikler, Alkaloit İçeriği ve Antioksidan Aktivitenin Bitki Organlarına ve Gelişme Dönemlerine Göre Değişimi*, Doktora Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Bauer, J. H., Goupil, S., Garber, G. B. and Helfand, S. L. (2004). An accelerated assay for the identification of lifespan-extending interventions in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(35), 12980-12985.
- Bastida Armengol, J., Berkov, S., Torras Claveria, L., Pigni, N. B., Andrade, J. P. D. et al. (2011). Chemical and biological aspects of Amaryllidaceae alkaloids. *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences, 2011, Chapter 3, p. 65-100. Editor: Diego Muñoz-Torrero*.
- Bishop, M., Davis, A. ve Grimshaw, J. (2001). *Snowdrops: a monograph of cultivated Galanthus*. Netles: Griffin Press.
- Bourg Le, É. (2001). Oxidative stress, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *FEBS letters*, 498(2-3), 183-186.
- Bourg Le, E., Valenti, P., Lucchetta, P. and Payre, F. (2001). Effects of mild heat shocks at young age on aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology*, 2, 155-164.
- Bozcuk, A. N. (1970). *Molecular Turnover and Ageing in Drosophila subobscura* (Doctoral dissertation, University of Sussex).
- Bozcuk, A. N. (1972). DNA synthesis in the absence of somatic cell division associated with ageing in *Drosophila subobscura*. *Experimental gerontology*, 7(3), 147-150.
- Bozcuk AN (1978). The effects of some genotypes on the longevity of adult *Drosophila*. *Experimental Gerontology* 13, 279-286.
- Bozcuk, A. N. (1983). Ageing and the life span of various *Drosophila* mutants. *Hacettepe Bull. of Nat. Sci. and Eng*, 12, 1-13.
- Bulduk, I., and Karafakıoğlu, Y. S. (2019). Evaluation of galantamine, phenolics, flavonoids and antioxidant content of *Galanthus* species in Turkey. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 1-12.

- Burcombe, J. V. and Hollingsworth, M. J. (1970). The relationship between developmental temperature and longevity in *Drosophila*. *Gerontologia*, 16(3), 172-181.
- Can, M. İ. ve Aslan, A. (2014). Yaşlanmanın moleküler temelleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 30(2), 107-112.
- Carr, A. C. and Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 69(6), 1086-1107.
- Chapman, T. and Partridge, L. (1996). Female fitness in *Drosophila melanogaster*: an interaction between the effect of nutrition and of encounter rate with males. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 263(1371), 755-759.
- Charlesworth, B. (1994). *Evolution in age-structured populations*. England: Cambridge. Cambridge University Press.
- Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W. T. and Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin-the antioxidant proteins. *Life sciences*, 75(21), 2539-2549.
- Cnubben, N. H., Rietjens, I. M., Wortelboer, H., Van Zanden, J., and Van Bladeren, P. J. (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental toxicology and pharmacology*, 10(4), 141-152.
- Cook, N. C. and Samman, S. (1996). Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of nutritional biochemistry*, 7(2), 66-76.
- Coyle, J. and Kershaw, P. (2001). Galantamine, a cholinesterase inhibitor that allosterically modulates nicotinic receptors: effects on the course of Alzheimer's disease. *Biological psychiatry*, 49(3), 289-299.
- Çakırlar, H., Tıprıdamaz, R. ve Ellialtıoğlu, Ş. (1994). Türkiye' de ticari değeri olan *Galanthus* (*G. elwesii* Hooker Fil. Ve *G. ikariae* Baker.) türlerinin doku kültürü yoluyla üretimi. *TÜBİTAK projesi TBGAG-19/A*.
- Çelik, T. ve Uzbay, T. (2003). Alzheimer hastalığının farmakolojik tedavisinde yeni gelişmeler. *Demans Dergisi*, 3(2), 48-58.
- Çobanoğlu, S. (2011). Deneysel ateroskleroz oluşturulmuş sıçanlarda L-Argininin, TAS, TOS ve oksidatif stres indeksine etkisi (Master's thesis, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Dalgıç, B.S., Koçak, B., Özsoy-Emecen, G., Bozcuk, A.N., Ünlü, H. et al. (2002). Elektromanyetik radyasyonun ergin *Drosophila melanogaster* mutantlarında ömür uzunluğuna etkisi. XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, Özetler, Malatya.
- Davis, A. P. (1999). The genus *Galanthus*. Timber Press (OR).

- Davis, P. A. (2000). A Botanical Magazine Monograph; The Genus *Galanthus*.
- De Luca, V., & St Pierre, B. (2000). The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. *Trends in plant science*, 5(4), 168-173.
- Demir, A. (2009). *Kardelende ekonomik değer analizi, sosyoekonomik gelişme ve biyoteknoloji*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Djawdan, M., Sugiyama, T. T., Schlaeger, L. K., Bradley, T. J. and Rose, M. R. (1996). Metabolic aspects of the trade-off between fecundity and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Physiological Zoology*, 69(5), 1176-1195.
- Doğan, Y. (2015). Model Organizmalar. [https://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/sunu/s\\_model.pdf](https://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/sunu/s_model.pdf). İnternet. Son Erişim Tarihi : 19.12.2023
- Duman, G. İ. (1997). *Galanthus elwesii Hook. üzerinde kalite kontrol çalışmaları*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Dündar, Y. ve Aslan, R. (1999). Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller, antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bil Dergisi*, 2(2), 134-142.
- Driver, C., Georgiou, A., and Georgiou, G. (2004). The contribution by mitochondrially induced oxidative damage to aging in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology*, 5, 185-192.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*. *Physiol. Rev*, 82, 47–95.
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, 37(4), 277-285.
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
- Fendoğlu, B. Y., Koçer-Gümüşel, B., ve Erkekoğlu, P. (2019). Endokrin bozucu kimyasal maddelere ve etki mekanizmalarına genel bir bakış. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 39(1), 30-43.
- Fernández Bedmar, Z., Anter, J., De La Cruz Ares, S., Muñoz Serrano, A., Alonso Moraga, Á. et al. (2011). Role of citrus juices and distinctive components in the modulation of degenerative processes: Genotoxicity, antigenotoxicity, cytotoxicity, and longevity in *Drosophila*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 74(15-16), 1052-1066.
- Fidan, F. (2007). *Deneyssel diyabet oluşturulmuş ratlarda diyet katılan farklı yapılarıdaki saponin içerikli bitkilerin DNA hasarı, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu ile bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin araştırılması*, Doktora Tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.

- Fidan, M. (2017). Beyaz ay (*Camellia sinensis* L.)'ın *Drosophila melanogaster*'de Baziantineoplastiklerin Neden Olduğu Mutajenik Etki zerine Koruyucu Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Amasya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Amasya.
- Finch, C. E. (1994). Longevity, senescence, and the genome. University of Chicago Press.
- Fiskin, K., Kandemir, S., Hamamci, D., Yesilada, E. ve Bozcuk, A. N. (1994). Age-related changes in catalase, glutathione reductase activities, the amount of glutathione in total body of Oregon and vestigial *Drosophila melanogaster*. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 19, 85-90.
- Fridovich, I. (1973). Superoxide radical and superoxide dismutase. *Biochemical Society Transactions*, 1(1), 48-50.
- Gao, F., Kinnula, V. L., Myllärniemi, M. and Oury, T. D. (2008). Extracellular superoxide dismutase in pulmonary fibrosis. *Antioxidants & redox signaling*, 10(2), 343-354.
- Gonzalez, B. M. (1923). Experimental studies on the duration of life. VIII. The influence upon duration of life of certain mutant genes of *Drosophila melanogaster*. *The American Naturalist*, 57(651), 289-325.
- Gowen, J. W. and Johnson, L. E. (1946). On the mechanism of heterosis. I. Metabolic capacity of different races of *Drosophila melanogaster* for egg production. *The American Naturalist*, 80(788), 149-179.
- Gk, ., Aslan, A. ve Erman, O. (2017). İnsan ENCODE, HapMap ve 1000 Genom Projeler. Erciyes Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 33(2), 35-42.
- Gülmen, M. (2018). *Tip 1 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda Lavandula stoechas* Linne subsp. *stoechas* (karabaş otu) esansiyel yağının oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkisi. Doktora Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa.
- Güneş, E. (2016). *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae)'de Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)'nın Total Oksidatif Stres zerinde Etkisi. *KS Doğa Bilimleri Dergisi*, 19(3), 261-267.
- Güneş, E. (2016a). Besinler ve beslenme çalışmalarında *Drosophila*. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Doğa Bilimleri Dergisi*, 19(3), 236-243.
- Güneş, E. ve Erçetin, H. K. (2022). imlendirilme ortamına göre brokoli filizinin in vivo etkisinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12(2), 414-421.
- Gündüz, E. ve Türkan, İ. (2013). Campbell biology. Ankara: Palme Yayıncılık.
- Gürkan, A. S., ve Dündar, O. B. (2005). Coenzyme Q10: *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*. 34(2): 129-154.

- Güvenilir, B. (2016). *Çeşitli Tıbbi Bitkilerin Yapraklarından Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Hall, C.A. and Cuppert, S.L. (1997). Structure-Activities of natural antioxidants. In *Antioxidant Methodology In Vivo and In Vitro Concepts* Aruoma, Eds.; AOCS Press: Champaign, IL, pp 2-29.
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free radical research*, 31(4), 261-272.
- Heinrich, M. and Teoh, H. L. (2004). Galanthamine from snowdrop the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. *Journal of ethnopharmacology*, 92(2-3), 147-162.
- Helfand, S. L. and Inouye, S. K. (2002). Rejuvenating views of the ageing process. *Nature Reviews Genetics*, 3(2), 149-153.
- Hemann, M. T., Strong, M. A., Hao, L. Y. and Greider, C. W. (2001). The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. *Cell*, 107(1), 67-77.
- Hevia, D., Mayo, J. C., Tan, D. X., Rodriguez-Garcia, A. and Sainz, R. M. (2014). Melatonin enhances photo-oxidation of 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein by an antioxidant reaction that renders N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK). *PLoS One*, 9(10), e109257.
- Hughes, K. A. and Charlesworth, B. (1994). A genetic analysis of senescence in *Drosophila*. *Nature*, 367(6458), 64-66.
- Hussein, H. K., Elnaggar, M. H. and Al-Zahrani, N. K. (2012). Antioxidant role of folic acid against reproductive toxicity of cyhalothrin in male mice. *Global Adv Res J Environ Sci Toxicol*, 1(4), 066-071.
- Islam M. M. T. And Shekhar H. U. (2015). Impact of Oxidative Stress on Human Health. In: Rani V., Yadav U. (eds) *Free Radicals in Human Health and Disease*. Springer, New Delhi.
- İnternet:[https://www.meteoblue.com/tr/hava/historyclimate/weatherarchive/suluova\\_t%C3%BCrkiye\\_739251?fcstlength=1y&year=2021&month=6](https://www.meteoblue.com/tr/hava/historyclimate/weatherarchive/suluova_t%C3%BCrkiye_739251?fcstlength=1y&year=2021&month=6). Son Erişim Tarihi : 27.12.2023
- Jafari, M., Felgner, J. S., Bussel, I. I., Hutchili, T., Khodayari, B. et al. (2007). Rhodiola: a promising anti-aging Chinese herb. *Rejuvenation research*, 10(4), 587-602.
- Jafari, M., Zarban, A., Pham, S. and Wang, T. (2008). Rosa damascena decreased mortality in adult *Drosophila*. *Journal of medicinal food*, 11(1), 9-13.

- Jensen, D., Overgaard, J. and Sørensen, J. G. (2007). The influence of developmental stage on cold shock resistance and ability to cold-harden in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 53(2), 179-186.
- Jin, Z. (2005). Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural product reports*, 22(1), 111-126.
- Jordens, R. G., Berry, M. D., Gillott, C. and Boulton, A. A. (1999). Prolongation of life in an experimental model of aging in *Drosophila melanogaster*. *Neurochemical research*, 24, 227-233.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Karagüzel, O., Kaya, A., Biner, B. and Aydinsakir, K. (2012). In vitro propagation of native Ornithogalum species in West Meditterreanean region of Turkey. *Afr J Agric Res*, 7(17), 2669-2673.
- Kaya, G. I., Cicek, D., Sarıkaya, B., Onur, M. A. and Somer, N. U. (2010). HPLC-DAD analysis of lycorine in Amaryllidaceae species. *Natural Product Communications*, 5(6), 873-876.
- Kaya, G. I., Polat, D. C., Emir, A., Sarıkaya, B. B., Onur, M. et al. (2014). Quantitative determination of galanthamine and lycorine in *Galanthus elwesii* by HPLC-DAD. *Turk J Pharm Sci*, 11(1), 107-112.
- Kim, Y., Kim, D. C., Cho, E. S., Ko, S. O., Kwon, W. Y. et al. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Inflammation*, 11(1), 1-8.
- Kirkman, H. N., Galiano, S. and Gaetani, G. F. (1987). The function of catalase-bound NADPH. *Journal of Biological Chemistry*, 262(2), 660-666.
- Kirkwood, T. B. (2002). Evolution of ageing. *Mechanisms of ageing and development*, 123(7), 737-745.
- Klarsfeld, A. and Rouyer, F. (1998). Effects of circadian mutations and LD periodicity on the life span of *Drosophila melanogaster*. *Journal of biological rhythms*, 13(6), 471-478.
- Kong, C. K., Low, L. E., Siew, W. S., Yap, W. H., Khaw, K. Y. et al. (2021). Biological activities of snowdrop (*Galanthus* spp., Family Amaryllidaceae). *Frontiers in Pharmacology*, 11, 552453.
- Kosecik, M., Erel, O., Sevinc, E. ve Selek, S. (2005). Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *International journal of cardiology*, 100(1), 61-64.
- Koyuncu, M., Şener, B., Temizer, H. ve Bingöl, F. (1989). *Leucojum aestivum* L. bitkisinin alkaloitleri üzerinde araştırmalar. VIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiriler, 2.

- Köksal, C. N. (2019). *Streptozotosin Ile Tip 2 Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Teucrium Polium l.(Kısa Mahmut Otu) Ekstraktının Oksidan Ve Antioksidan Sistemler Üzerine Etkisi*. Uludağ Üniversitesi, Doktora Tezi, Bursa.
- Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R. and Srivastata, A. K. (2015). Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant. *Arşiv kaynak tarama dergisi*, 24(1), 19-40.
- Laboratuvarı, O. A. G. (2012). Oksidatif stres ve antioksidanlar. Oksidatif stress analiz parametreleri ve oksantest.
- Lachaise, D., Cariou, M. L., David, J. R., Lemeunier, F., Tsacas, L. et al. (1988). Historical biogeography of the *Drosophila melanogaster* species subgroup. *Evolutionary biology*, 159-225.
- Lanciani, C. A., Anderson, J. F. and Giesel, J. T. (1991). Effect of photoperiod on metabolic rate in a subtropical population of *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and physiology. A, Comparative Physiology*, 100(2), 347-348.
- Lansing, A.I. (1952). *Crowdry's problems of ageing*. Williams and Wilking, Baltimore, Maryland.
- Latvala, A. (1994). Strukturaufklärung der Amaryllidaceen-Alkaloide aus *Galanthus elwesii* Hooker fil. *Doktorarbeit, Philosophischen Fakultät II der Universität Zurich*.
- Lee, M. R. (1999). The snowdrop (*Galanthus nivalis*): from Odysseus to Alzheimer. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 29(4), 349-352.
- Li, Y. and Schellhorn, H. E. (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *The Journal of nutrition*, 137(10), 2171-2184.
- Limón-Pacheco, J. and Gonsebatt, M. E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2), 137-147.
- Lints, F. A. (1963). Size in relation to development-time and egg-density in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 197(4872), 1128-1130.
- Loeb, J. and Northrop, J. H. (1916). Is there a temperature coefficient for the duration of life?. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2(8), 456-457.
- Medawar, P. B. (1952). *An unsolved problem of biology*. H. K. Lewis, London, pp. 1-55.
- Medvedev, Z. A. (1990). An attempt at a rational classification of theories of ageing. *Biological Reviews*, 65(3), 375-398.
- Miller, R. S. and Thomas, J. L. (1958). The effects of larval crowding and body size on the longevity of adult *Drosophila melanogaster*. *Ecology*, 39(1), 118-125.

- Melov, S., Ravenscroft, J., Malik, S., Gill, M. S., Walker, D. W. et al. (2000). Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science*, 289(5484), 1567-1569.
- Missirlis, F., Rahlfs, S., Dimopoulos, N., Bauer, H., Becker, K., Hilliker, A. et al. (2003). A putative glutathione peroxidase of *Drosophila* encodes a thioredoxin peroxidase that provides resistance against oxidative stress but fails to complement a lack of catalase activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 384(3), 463-472.
- Mobbs, C.V., (1996). Neuroendocrinology of ageing. In: Schneider EL, Rowe JW, editors. Handbook of the biology of aging. San Diego (CA): *Academic Press*, 234-82.
- Mruk, D. D., Silvestrini, B., Mo, M. Y. and Cheng, C. Y. (2002). Antioxidant superoxide dismutase-a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception*, 65(4), 305-311.
- Muhtar, F. ve Şener, B. (1997). Türkiyeden ihraç edilen bazı Amaryllidaceae Familyası bitkilerinin likörün yönünden değerlendirilmesi. *II. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı* 22(24). Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 384-348.
- Müller, B. and Grossniklaus, U. (2010). Model organisms a historical perspective. *Journal of proteomics*, 73(11), 2054-2063.
- Nalbant, S. (2006). Yaşlanmanın biyolojisi. *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi*, 52, a12-a17.
- Nordberg, J. and Arnér, E. S. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology and medicine*, 31(11), 1287-1312.
- Olajire, A. A. and Azeez, L. (2011). The antioxidants of higher plants phytochemistry. *African Journal of Food Science and Technology*, 2(2), 22-29.
- Orbea, A., Dariush Fahimi, H. and Cajaraville, M. P. (2000). Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans and fish liver. *Histochemistry and Cell Biology*, 114, 393-404.
- Orr, W. C. and Sohal, R. S. (1994). Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 263(5150), 1128-1130.
- Özçelik, Ö. (2019). Bazı alkilleyici ajanların oluşturduğu genotoksik etkilere karşı endemik iris taochia bitki ekstraktlarının antijenotoksik etkinliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Amasya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Amasya.
- Özer, Y. (2016). Morfin ve noskapin içeriği yüksek haşhaş (*Papaver somniferum* L.) genotiplerinde RNA kütüphanelerinden transkripsiyon faktörlerinin tespiti ve ifade analizi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.

- Özhatay, N., Akalın, E., Güler, N., Ersoy, H., Yeşil, Y. et al. (2013). Floristic richness and conservation priority sites in the northwest of European Turkey: Mt Yıldız-Kırklareli. *Phytologia Balcanica* 19 (1), 77-88.
- Özhatay, N., Byfield, A. ve Atay, S. (2005). Türkiye'nin 122 Önemli Bitki Alanı. WWF Türkiye, İstanbul.
- Özkan, A. ve Fışkın, K. (2004). Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, 14, 52-60.
- Packer, L., Kraemer, K. and Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 17(10), 888-895.
- Parsons, P. A. (1991). Evolutionary rates: stress and species boundaries. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 22(1), 1-18.
- Partridge, L. (2001). Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms. *Experimental gerontology*, 36(4-6), 641-650.
- Pearl, R., Miner, J. R. and Parker, S. L. (1927). Experimental studies on the duration of life. XI. Density of population and life duration in *Drosophila*. *The American Naturalist*, 61(675), 289-318.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
- Plantamp, C., Estragnat, V., Fellous, S., Desouhant, E. and Gibert, P. (2017). Where and what to feed? Differential effects on fecundity and longevity in the invasive *Drosophila suzukii*. *Basic and Applied Ecology*, 19, 56-66.
- Pletcher, S. D., Houle, D. and Curtsinger, J. W. (1998). Age-specific properties of spontaneous mutations affecting mortality in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 148(1), 287-303.
- Qiu, J. and Hardin, P. E. (1996). Developmental state and the circadian clock interact to influence the timing of eclosion in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological Rhythms*, 11(1), 75-86.
- Reiter, R. J. (1994). Pineal function during aging: attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 54, 31-39.
- Reiter, R. J., Melchiorri, D., Sewerynek, E., Poeggeler, B., Barlow Walden, L. et al. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of pineal research*, 18(1), 1-11.
- Reiter, R. J., Acuña Castroviejo, D. A. R. I. O., Tan, D. X. and Burkhardt, S. (2001). Free radical mediated molecular damage: mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 939(1), 200-215.

- Rizki, T. M., Ashburner, M. and Wright, T. R. F. (1978). The genetics and biology of *Drosophila*. *The Genetics and Biology of Drosophila*, 561-599.
- Rocha, J.B.T. (2013). *Drosophila melanogaster* as a promising model organism in toxicological studies. *Archives of basic and applied medicine*, 1(1), 33-38.
- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E. and Bourdon, E. (2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS letters*, 582(13), 1783-1787.
- Romay, C., Pascual, C. and Lissi, E. A. (1996). The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples. *Brazilian journal of medical and biological research= Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, 29(2), 175-183.
- Rose, M. R. (1985). Life history evolution with antagonistic pleiotropy and overlapping generations. *Theoretical Population Biology*, 28(3), 342-358.
- Rose, M. R. (1999). Genetics of aging in *Drosophila*. *Experimental gerontology*, 34(5), 577-585.
- Rønsted, N., Zubov, D., Bruun-Lund, S. and Davis, A. P. (2013). Snowdrops falling slowly into place: An improved phylogeny for *Galanthus* (Amaryllidaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(1), 205-217.
- Rubin, G. M. and Lewis, E. B. (2000). A brief history of *Drosophila*'s contributions to genome research. *Science*, 287(5461), 2216-2218.
- Saeidnia, S. and Abdollahi, M. (2013). Toxicological and pharmacological concerns on oxidative stress and related diseases. *Toxicology and applied pharmacology*, 273(3), 442-455.
- Samis Jr, H. V., Erk, F. C. and Baird, M. B. (1971). Senescence in *Drosophila*, I. Sex differences in nucleic acid, protein and glycogen levels as a function of age. *Experimental gerontology*, 6(1), 9-18.
- Scandalios, J. G. (2002). The rise of ROS. *Trends in biochemical sciences*, 27(9), 483-486.
- Semerdjieva, I., Sidjimova, B., Yankova-Tsvetkova, E., Kostova, M. and Zheljazkov, V. D. (2019). *Study on Galanthus species in the Bulgarian flora. Heliyon*, 5(12).
- Sheeba, V., Sharma, V. K., Shubha, K., Chandrashekar, M. K. and Joshi, A. (2000). The effect of different light regimes on adult lifespan in *Drosophila melanogaster* is partly mediated through reproductive output. *Journal of biological rhythms*, 15(5), 380-392.
- Shinde, A., Ganu, J. and Naik, P. (2012). Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63.
- Semenderoğlu, F. (2012). *Tasarlanan yapılandırmacı bir eğitim programının lise öğrencilerinin "insanın genetik yapısı ve genom projesi" hakkındaki algıları, kavram*

yanılgıları ve biyoloji dersine yönelik tutumlarına etkisi. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Sen, S. and Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy (pp. 1-37). *American Chemical Society*.

Sestini, E. A., Carlson, J. C. and Allsopp, R. (1991). The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*. *Experimental gerontology*, 26(4), 385-395.

Smith, J. M. (1957). Temperature tolerance and acclimatization in *Drosophila subobscura*. *Journal of Experimental Biology*, 34(1), 85-96.

Strehler, B.L., (1962). Time, Cells and Ageing. Academic Press. New York and London.

Şahin, N. ve Türkoğlu, Ş. (2014). Bazı Tekstil Boyalarının *Drosophila melanogaster*' de Ömür Uzunluğu, Yaşama Yüzdesi ve Yavru Birey Sayısına Etkileri. Cumhuriyet Üniversitesi, *Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 35(4), 73-93.

Şener, G. ve Bç, Y. (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim*, 22(3), 5-13.

Tatar, M., Promislow, D. E., Khazaeli, A. A. and Curtsinger, J. W. (1996). Age-specific patterns of genetic variance in *Drosophila melanogaster*. II. Fecundity and its genetic covariance with age-specific mortality. *Genetics*, 143(2), 849-858.

Tıprıdamaz, R. (2003). Rooting and Acclimatization of in Vitro Micropropagated Snowdrop (*Galanthus ikariae* BAKER.) Bulbetes. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16 (2), 121-126.

Tıprıdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ş. ve Çakırlar, H. (1999). Kardelenin (*Galanthus ikariae* baker) doku kültürü yoluyla çoğaltımı eksplant tipi ortam pH'sı ve karbonhidrat kaynağının soğancık oluşumuna etkisi. *Türkiye Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 23(4), 823-830.

Tickoo, S. and Russell, S. (2002). *Drosophila melanogaster* as a model system for drug discovery and pathway screening. *Current Opinion in Pharmacology*, 2(5), 555-560.

Title, L. M., Cummings, P. M., Giddens, K., Genest, J. J. and Nassar, B. A. (2000). Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 36(3), 758-765.

Topçu, İ. ve Duran T. (2021). Gen Düzenleme Teknolojileri Tarihi. *Genetik müdahale ve etik tartışmalar* (ss. 5-13). Ankara: Türkiye Klinikleri.

Uyanık, M., Kara, Ş. M., Gürbüz, B. ve Özgen, Y. (2013). Türkiye’de Bitki Çeşitliliği ve Endemizm. Ekoloji Kongresi, 2(04). Mayıs, Tekirdağ.

Uysal, H., Altun, D. ve Aslan, A. (2009). *Drosophila melanogaster*’de *Lobaria Pulmonaria* (l.) Hoffm. Likeninin Ömür Uzunluğu Üzerine Etkisi. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 2(3), 271-276.

- Üçüncü, O., Baltacı, C., Karataş, Ş. M., Muslu, A., Büyükçekici, D. et al. (2019). *Galanthus ikariae* baker bitkisinin toprak üstü kısımlarının uçucu yağının kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri. Gümüşhane Üniversitesi. *Fen Bilimleri Dergisi*, 9(4), 674-680.
- Vijg, J. (2000). Somatic mutations and aging: a re-evaluation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 447(1), 117-135.
- Walford, R. L. (1974). Immunologic theory of aging: current status. In *Fed Proc* (Vol. 33, pp. 2020-2027).
- Washington, N. L., Stinson, E. O., Perry, M. D., Ruzanov, P., Contrino, S. et al. (2011). The modENCODE Data Coordination Center: Lessons in Harvesting Comprehensive Experimental Details. *Database (Oxford)*, 1-17.
- Wheeler, M.R., (1981). The Drosophilidae: a taxonomic overview. *The genetics and biology of Drosophila*, 3, 1-97.
- Williams, G. C. (2001). Pleiotropy, Natural Selection, and the Evolution of Senescence: *Evolution* 11, 398-411.
- Xu, Y. (2017). *Regulation of Drosophila melanogaster body fat storage by store-operated calcium entry* (Doctoral dissertation, Georg-August-Universität Göttingen).
- Young, I. S. and Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.
- Yüzbaşıoğlu, S. (2008). The development of non-detriment findings for *Galanthus elwesii* Hook. f. In Turkey. *NDF Workshop Case Studies, Mexico*, 1-13.
- Zamora Perez, A. L., Zúñiga González, G. M., Gómez Meda, B. C., Lazalde Ramos, B. P., Ortiz-García, Y. M. et al. (2017). Periodontal Disease and Nuclear and Oxidative DNA Damage. In *Insights into Various Aspects of Oral Health. IntechOpen*.
- Zámocký, M. and Koller, F. (1999). Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Progress in biophysics and molecular biology*, 72(1), 19-66.
- Zincirkıran, M. (2002). Geofitler, Uludağ Rotary Derneği Yayınları, No: 1, Bursa, 105s. *Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi*, 1, 519-549.
- Zeybek, U. (1983). *Über die Alkaloide Verschiedenen Galanthus-Arten*. Master is thesis. Universitätsinstitut für Pharmakognosie. Wien.
- Zeybek, N. and Sauer, E. (1996). Beitrag zur Kenntnis der Türkischen Schneeglöckchen (Türkiye Kardelenleri (*Galanthus L.*) I. *Ege Üniversitesi Yayınları*, 11(1),5.
- Zou, S., Meadows, S., Sharp, L., Jan, L. Y. and Jan, Y. N. (2000). Genome-wide study of aging and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(25), 13726-13731.

Zubov, D. A. and Davis, A. P. (2012). *Galanthus panjutinii* sp. nov.: a new name for an invalidly published species of *Galanthus* (Amaryllidaceae) from the northern Colchis area of Western Transcaucasia. *Phytotaxa*, 50(1), 55-63.

Zwaan, B. J. (1999). The evolutionary genetics of ageing and longevity. *Heredity*, 82(6), 589-597.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Osman ERTAN

### **Bilimsel Faaliyetler (Yayınlar, Bildiriler, Katıldığı Projeler)**

Ertan, O. ve Ayar, A. (2022). Altı Farklı *Galanthus elwesii* Bitki Ekstresinin *Drosophila melanogaster*'de Larval Mortalite Üzerine Etkisi. 5<sup>th</sup> International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 23-25 November. Oral Presentation Proceeding Book, Page: 434, Ankara, Türkiye.