

TEMMUZ 2019

Yüksek Lisans Tezi-Biyoloji

SELÇUK KÖK

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**URMU DUT'UN (*Morus rubra* L.) BİYOLOJİK AKTİVİTE
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ ve *Stenotrophomonas
maltophilia* ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SELÇUK KÖK
TEMMUZ 2019**

**URMU DUT'UN (*Morus rubra* L.) BİYOLOJİK AKTİVİTE
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ ve *Stenotrophomonas maltophilia*
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Selçuk KÖK

Temmuz 2019



©2019 [Selçuk KÖK]

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ

Tezin Başlığı : Urmu Dut'un (*Morus rubra* L.) Biyolojik Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi ve *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin Adı Soyadı : Selçuk KÖK

Sınav Tarihi : 31.07.2019

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. A. Necmeddin YAZICI
Enstitü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER
Enstitü Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN
Danışman

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

İmzası

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

.....

Doç. Dr. İbrahim H. KILIÇ

.....

Dr. Öğr. Üyesi Tamer ÜSTÜNER

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Selçuk KÖK

ABSTRACT

DETERMINATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY POTENTIAL OF URMU MULBERRY (*Morus rubra* L.) AND INVESTIGATION OF EFFECTS ON *Stenotrophomonas maltophilia*

KÖK, Selçuk

M.Sc.in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Özaslan

July 2019

56 pages

There are many plant species consumed for medical purposes in our country. Many of these plants have been reported to have antimicrobial activities. In addition, it was emphasized that antioxidant substances, including some fruits and vegetables, have protective activities against cancer, cardiovascular diseases and it has been observed consumers tend to buy products rich in antioxidant substances. In our study, antioxidant capacity of Urmu Mulberry (*Morus rubra*) fruit was investigated and DNA protective activity was investigated. In addition, the antibacterial activity of Urmu Mulberry (*M. rubra*) on *Stenotrophomonas maltophilia* was investigated and reported. As a result, it was observed that the amount of antioxidant extracts of Urmu Mulberry (*M. rubra*) fruits was good enough and DNA protective activity had an effect on DNA protective activity. In the antibacterial study on *S. maltophilia*, Urmu Mulberry extract had no antibacterial effect on *S. maltophilia*. The effects of Urmu Mulberry on *S. maltophilia* bacteria and DNA damage was researched in this thesis for the first time.

Key words: Antibacterial, Antioxidant, DNA Protective Activity, *Morus rubra*

Oxidant, *Stenotrophomonas maltophilia*

ÖZET

URMU DUT'UN (*Morus rubra* L.) BİYOLOJİK AKTİVİTE POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ ve *Stenotrophomonas maltophilia* ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

KÖK, Selçuk

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Temmuz 2019

56 sayfa

Ülkemizde tıbbi amaçlı tüketilen birçok bitki türü bulunmaktadır. Bu bitkilerin çoğunun antimikrobiyal etkilerinin olduğu birçok kez bildirilmiştir. Bununla beraber bazı meyve ve sebzelerin de içerdiği antioksidan maddelerin kanser, kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etkisinin olduğu vurgulanmış ve tüketicilerde antioksidan madde açısından zengin ürünlere yönelme olduğu görülmüştür. Çalışmamızda Urmu Dut (*Morus rubra*) meyvesinin antioksidan kapasitesi araştırılmış ve DNA koruyucu aktivitesine bakılmıştır. Ayrıca Urmu Dut (*M. rubra*)' un *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisine karşı antibakteriyel etkisi araştırılarak raporlanmıştır. Sonuç olarak Urmu Dut (*M. rubra*) meyvesinin özütlerinin antioksidan miktarının iyi olduğu gözlemlenmiş ve DNA koruyucu aktivitesinin ise DNA koruma üzerine etki potansiyelinin olduğu saptanmıştır. *S. maltophilia* bakterisi üzerine yapılan antibakteriyel çalışmada ise *S. maltophilia* bakterisi üzerine Urmu Dut özütünün antibakteriyel bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Urmu Dut' un *S. maltophilia* bakterisi ve DNA hasarı üzerine etkileri ilk kez bu tez çalışmasında araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel, Antioksidan, DNA Koruyucu Aktivite , *Morus rubra*, Oksidan, *Stenotrophomonas maltophilia*



“Canım esime ve kızına”

TEŞEKKÜR

Eğitimimde ve hayatımda büyük emeği olan değerli bilgileriyle eğitimim boyunca bana yol gösteren, sabırla desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN' a,

Yüksek lisansım boyunca tecrübelerinden faydalandığım ve kendileriyle çalışmaktan kıvanç duyduğum Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ 'a ve Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ' e,

Yüksek lisans dönemi boyunca yardımlarını esirgemeyen Bekir Sıddık KURT, Sami Serhat TONUS ve Mesut ÇAY' a,

Yaşamım boyunca beni hep destekleyen ve sevgilerini esirgemeyen Aileme,

Tezim boyunca benden yardımını esirgemeyen, her zaman her koşulda beni destekleyen hayat arkadaşım sevgili eşim Esra KÖK, ve canım kızım Beliz KÖK' e

SONSUZ TEŞEKKÜRLER

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	v
ÖZET	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
TABLolar LİSTESİ	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
KISALTMALAR.....	xiv
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ.....	1
1.1. Dut Sistematığı.....	3
1.1.1. <i>Moraceace</i>	4
1.1.1.1. <i>Morus alba</i>	6
1.1.1.2. <i>Morus nigra</i>	7
1.1.1.3. <i>Morus rubra</i>	9
1.2. Ekolojik İstekleri.....	10
1.3. Toprak İstekleri.....	11
1.4. Anavatanı.....	11
1.5. Fenolojik, Pomolojik ve Kalite Özellikleri.....	12
1.6. Kullanım Alanları.....	13
1.7. Allerjen Etki.....	14
1.8. Serbest Radikaller.....	14
1.9. Antioksidan.....	15
1.10. Reaktifler ve DNA Hasarı.....	15
1.11. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	17
1.11.1. Tarihçe ve Sınıflandırma.....	17
1.11.2. Üreme ve Kültür Özellikleri.....	17
1.11.3. Biyokimyasal Özellikler.....	18

1.11.4. Antijenik ve Genomik Özellikler.....	18
1.11.5. Virölans Faktörleri ve Patogenez.....	19
1.11.6. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Kaynaklı Enfeksiyonlar.....	20
1.11.7. Epidemiyoloji.....	21
1.11.8. Laboratuvar Tanısı.....	21
1.11.8.1. Antibiyotik Direnci.....	23
1.11.8.1.1. Beta-Laktam Direnci.....	23
1.11.8.1.2. Aminoglikozid Direnci.....	23
1.11.8.1.3. Kinolon Direnci.....	23
1.11.8.1.4. Makrolid Direnci	24
1.11.8.1.5. Trimetoprim/Sülfametoksazol Direnci	24
1.11.9. Korunma.....	24
1.11.10. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	25
BÖLÜM 2.....	26
LİTERATÜR ÖZETİ.....	26
BÖLÜM 3.....	28
MATERYAL VE METOT.....	28
3.1. Materyal.....	28
3.2. Antioksidan Kapasite Belirleme Çalışmaları.....	29
3.2.1. Toplam Antioksidan (TAS) Analizi.....	30
3.2.2. Toplam Oksidan (TOS) Analizi.....	31
3.3. <i>Morus rubra</i> L. (Urmu Dut) Bitkisinin Özütünün DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi.....	32
3.3.1. DNA Koruyucu Aktivite.....	32
3.3.1.1. Agaroz Jelin Hazırlanması.....	33
3.3.1.2. Kontrol ve Özütlerin Hazırlanması.....	34
3.4. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Bakterisine Karşı Antibakteriyel Etkinlik Testi.....	35
3.4.1. Disk Difüzyon (Antibiyogram) Testi.....	35
BÖLÜM 4.....	37

BULGULAR.....	37
4.1. DNA Koruyucu Aktivitesi Belirlenmesinde Elde Edilen Sonuçlar.....	37
4.2. TAS ve TOS Aktivite Sonuçları.....	38
4.3. Disk Difüzyon Testi Sonuçları.....	39
BÖLÜM 5	41
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR.....	44



TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 4.1 TAS Referans Değerleri.....	38
Tablo 4.2 TOS Referans Değerleri.....	38
Tablo 4.3 TAS ve TOS Su Sonuçları.....	39
Tablo 4.4 TAS ve TOS Metanol Sonuçları.....	39

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1 <i>Moraceace</i>	4
Şekil 1.2 <i>Morus alba</i>	6
Şekil 1.3 <i>Morus nigra</i>	7
Şekil 1.4 <i>Morus rubra</i>	9
Şekil 1.5 Dünyada Dut Türlerinin (<i>morus</i> spp.) Yaygın Olarak Bulunduğu Alanlar	10
Şekil 4.1 Jel Görüntüsü.....	37
Şekil 4.2 Urmu Dut Su Özütünün Disk Difüzyon Sonucu	40
Şekil 4.3 Urmu Dut Metanol Özütünün Disk Difüzyon Sonucu.....	40

KISALTMALAR LİSTESİ

H₂O₂	Hidrojen Peroksit
AOM	Azoxymethane
dH₂O	Distile Su
TOS	Toplam Oksidan Seviye
TOS	Toplam Antioksidan Seviye
ABTS	2,2 AzinoBis (3-Etil Benzo Tiazolin-6-Sulfonik Asit)
MHA	Mueller Hinton Agar
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
HPLC	High liquid pressure chromatography
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
8-OHdG	8-hidroksi-2'- deoksiguanozin
UV	Ultraviyole
DMSO	Dimetil Sülfoksit
MHA	Mueller Hinton Agar
rDNA	Ribozomal DNA
DNaz	Deoksiribonükleaz
GNSA	Gram Negatif Selektif Agar
TMP/SXT	Trimetoprim /Sülfametoksazol
CLSI	Clinical and Laboratory Standarts Institute
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyonu

BÖLÜM 1

GİRİŞ

İnsan varlığının görüldüğü bütün bölgelerde var olan bitkiler yaşam boyunca deneme yanılma yöntemi ile kullanılmıştır. Tıbbi ve aromatik bitkiler ile tedavi bir kültür ve gelenek varlığına dayanması nedeniyle halk arasında ilaç olarak kullanılan bitkiler üzerindeki araştırmalar önem kazanıp yapılan birçok çalışma ile bu sözlü kültür yazılı kültüre dönüştürülmektedir. Türkçe’de bitki adları ile ilgili önemli kaynaklardan biri Divan-ı Lügati’t Türk’tür (Şahin, 2007; Gümüştam, 2010). Günümüzde ise beslenme kültürü doğal ve organik gıdalara doğru yönelmektedir. Gerek kırsal kesimde gerekse şehirlerde, hastalıkların tedavisinde ve hastalıklardan korunmak için diğer tedavi seçeneklerinin yanı sıra bitkiler ve bitkisel ilaçlardan yararlanılmaktadır (WHO, 2002; Mosihuzzaman, 2012).

Zengin bir floraya sahip olan ülkemizde 11.014 taksonun yayılış gösterdiği, bu taksonlardan yaklaşık 500’ünün tıbbi ve aromatik bitki olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Baytop, 1984). Günümüzde kullanılan ilaçların yaklaşık % 25’inin aktif etken maddesini bitkisel materyaller oluşturmaktadır (Sadock ve Sadock, 2005).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan bir bildirime göre dünya nüfusunun %70-80’inin temel sağlık hizmetleri uygulamalarında bitkisel ürünlerden yararlandıkları, ürünleri kullandıkları ifade edilmektedir (Chan, 2003). Özellikle Afrika toplumlarında bu gibi ürün kullanımı toplumun %80’inde görülmektedir (WHO, 2002; Willcox ve Bodeker, 2004). Amerika’da yapılan bir çalışmada ileri yaşta olanlar daha genç yaştaakilere göre, kadınlar erkeklere göre, öğrenim durumu yüksek olanlar düşük gruba göre ve normal beden kitle indeksi değerine sahip olanlar diğerlerine göre daha fazla bitkisel ürün kullanmaktadırlar (Satia-Abouta vd., 2003).

Çok sayıda bilimsel araştırmacı, sebze ve meyvelerin pigment içerikleriyle, insan sağlığıyla veya hastalık risklerinin azaltılması konularıyla ilgilenmektedirler (Lin ve Tang, 2007). Bununla beraber bitkiler üzerine sayısız çalışmalar sonucunda bitkilerin; doğal antioksidan, kozmetik ya da bazı ürünler için antioksidan olabileceği görülmektedir. Epidemiyolojik kanıtlar, zengin meyve ve sebze içeren diyetlerle kalp hastalıkları, kanser ve diğer kronik hastalık risklerinin azaldığını göstermektedir. Meyve ve sebze tüketimi antioksidan tüketimini arttırmaktadır. Bu antioksidanlar karotenoidler, askorbitler, tokoferol ve flavonoidlerdir. *Moraceae* familyasının en önemli türleri *Morus* penusunda yer alır. Black mulberry olarak bilinen *Morus nigra*, white mulberry olarak *Morus alba*, purple mulberry olarak *Morus rubra* bazı türlerdir. *Morus* cinsine ait türler çoğu ülkede kendiliğinden (yani yetiştiriciliği yapılmaksızın) bulunmaktadır. Bunlar bioflavonoid olarak bilinen çözülebilir bitkisel komponentler içermektedirler. Bu güçlü antioksidanlar onlara medisinai özelliklerini kazandırmaktadır. Antosiyanin önemli bir pigment olup meyve renklerinden sorumludur. Major bileşik olarak cyanidin 3- glukozid ve cyanidin 3- rutinoside tanımlanmıştır (Koca, 2008). İbrahim Turan ve arkadaşları 2016 yılında yapmış oldukları araştırmada, akciğer ve prostat kanser hücreleri üzerine apoptosiz etkisini çalışmışlardır. *Morus* cinsine ait diğer türler araştırılmış iken *M. rubra*'nın herhangi sitotoksik etkisinin araştırılmadığını belirtmişlerdir. Hem prostat hem de akciğer kanser hücreleri üzerine potansiyel mitokondriyal membran canlılığını azalttığı, hücre ölümü G1 fazında arttırdığını göstermişlerdir. Gundogdu ve arkadaşları 2011 yılında yapmış oldukları araştırmada *Morus* cinsine ait *M. nigra*, *M. alba* ve *M. rubra*'nın kimyasal bileşik analizlerini çalışmışlardır. HPLC analizi sonucunda *M. nigra*'nın diğerlerine göre fenolik bileşik içerdiğini rapor etmişlerdir. Suman Bala Sharma ve arkadaşları 2010 yılında yapmış oldukları çalışmada *M. rubra* yaprak ekstraktlarının antidiyabetik etkinliğini araştırmışlardır. *M. rubra* yapraklarının su ekstraktlarının potansiyel bir anti-hiperglisemik ve antioksidan olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmalarında aynı zamanda nontoksik olduğunu da belirtmişlerdir.

Araştırmalar insan besin tüketiminde meyve ve sebzelerin kansere yakalanma riski arasındaki ters ilişkiyi ortaya çıkarmıştır (Kaur ve Kapoor, 2002). Bu sebeple meyve ve sebzelerin fitokimyasal içeriğinin çıkarılması ve antioksidan potansiyellerinin belirlenmesi bazı özel kanser türlerindeki tıbbi çalışmalara ışık tutması açısından önem teşkil etmektedir. Bu fitokimyasallardan en önemlileri; antosiyanin ve karotenoidler

gibi doğal pigmentler, elajik asit, quercetin gibi fenolik maddeler, minareller, A, E ve C gibi vitaminler olarak sayılabilmektedir (Özgen ve Scheerens, 2006).

Antosiyanin miktarı yüksek olan ahududu, böğürtlen, dut, nar, çilek, vişne, kiraz, erik, üzüm gibi koyu kırmızı ve mor renkteki meyve ve sebzelerin çeşitli kanser, damar ve kalp rahatsızlıkları gibi erken ölümlere sebebiyet veren hastalıkların ortaya çıkmasını durdurmada etkili olduğu yapılan araştırmalarla kanıtlanmaya çalışılmıştır. Antioksidanlar gıdaların içerisinde doğal olarak bulunabileceği gibi, gıdalarda kimyasal reaksiyonların sonucunda da ortaya çıkabilmekte veya doğal kaynaklardan özütlenecek gıdalara katılabilmektedirler (Özgen ve Scheerens, 2006).

Ülkemizde ve dünyada son zamanlarda fenolik bileşikler ve içerisinde bulunan antosiyanin içerikleri nedeniyle üzüksü meyvelerin üretim ve tüketiminde önemli bir artış meydana gelmiştir. Polifenoller; kuvvetli antioksidanlar olarak bilinir ve bu grup içerisinde antosiyaninler önemli bir kısmı oluşturur (Elmacı ve Altuğ, 2002).

Meyvelerde kırmızı, mor-siyah ve mavi rengin oluşumunu sağlayan pigmentler olarak bilinen antosiyaninlerin, yapılan laboratuvar çalışmaları sonucunda, değişik türlerdeki kanser tümörlerinin tedavisinde etkili olduğu saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada kanserojen azoxymethane (AOM) ile temas ettirilen deney hayvanlarında siyah ahududu tozu ile beslenen farelerin %80 oranında daha az kanser hücresi oluşturduğu saptanmıştır (Özgen ve Scheerens, 2006).

1.1 Dut Sistematiği

Dutlar Urticales takımının, *Moraceae* familyasının *Morus* cinsine ait türlerdir. Şu ana kadar yaklaşık 100 kadar dut türünün tanımlanması yapılmıştır. Bunların 13-14'ü yaygın karşılaşılan dut türleridir. Bunlar genelde; Karadut (*Morus nigra*), Beyaz dut (*Morus alba*), Çin dutu (*Morus australis*), Afrika dutu (*Morus mesozygia*), Moğol dutu (*Morus mongolica*), Teksas dutu (*Morus microphylla*), Kırmızı dut (*Morus rubra*), Himalaya dutu (*Morus serrata*), Ihlamur yapraklı dut (*Morus tiliaefolia*), *Morus trilobata*, *Morus cathayana*, *Morus liboensis*, *Morus notabilis*'dir (Erdoğan ve Pırlak, 2005).

1.1.1 Moraceae

Alem: Plantae

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Takım: Urticales

Familya: Moraceae

Cins: Morus sp.

Tür: *Morus rubra*



Şekil 1.1 Moraceae

Ilıman bölgelerde; *Morus alba* (Beyaz dut), *Morus nigra* (Karadut) ve *Morus rubra* (Mor dut) sık rastlanılan türlerdir(Elmacı ve Altuğ, 2002). Dut, çeşitli iklimlere ve farklı toprak koşullarına uyum yetenekleri nedeniyle ılıman, tropik ve subtropik iklim alanlarında bulunan bir meyvedir.

Birçok meyve türünde olduğu gibi Anadolu, dut meyvesinin de anavatanı ve en eski kültür alanlarından biridir. Ülkemizin çoğu tarım bölgelerinde yetiştirme koşulları çok uygun olduğundan yüksek kalitede dut meyvesi elde edilir (Güngör ve Şengül, 2008). Türkiye’de her yıl 3.554.000 adet dut ağacından yaklaşık 80.000 ton/yıl dut hasadı yapılmaktadır. Türkiye’de dut üretimi oldukça yaygın ve önemli düzeyde olup daha çok Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinde üretilmektedir. Erzincan 7246 ton üretim ile ilk sırada yer alırken bunu sırasıyla 5140 ton ile Ankara, 4329 ton ile Malatya ve 3950 ton ile Elazığ izlemektedir.

Dut bitkisi, 15-16 m uzunluğa kadar ulaşabilmektedir. Hızlı büyüme özelliğine sahiptirler. Gövde yapısı genel olarak silindirik, dik ve kalındır. Kabuk kısmı çatlaklı ve gri kahve renklidir. Tepe çapı 6 ile 8 metreye kadar ulaşabilir, seyrek ve top

görünümüne sahiptir. Kök kısımları etli, gevrek yapıda ve kırılıgandır. Bitki yılını doldurdukça kuvvetli yan kökler geliştirir. Yaprakları saplı, iki sıra üzerine dizili, tabanı yuvarlak veya kalpsi bir yapıda, üst yüzü koyu tonlarda, alt yüzü ise daha açık yeşil renklidir. Yaprak yapısı genel olarak sivri bir uç yapısına sahiptir. Sürgünler parlak sarı bir renge sahiptir ve hafif tüy varlığı gözlemlenmektedir. Sürgünler kesildiğinde süt gibi salgı salgılar. Çiçekler, bir evcikli olup yaprakların koltuğunda ve saplı durumlar halinde bulunur. Çiçekler nisan – mayıs aylarında açar. Genel olarak rüzgâr yoluyla tozlaşma gerçekleşir. Dut meyvesi çiçek sapı üzerinde bulunan çiçeklerin her birinden oluşan agregat yapıdadır. Meyvenin oluşumuna, karpellerden başka çiçeğin örtü yapraklarının da katkısı olduğundan dolayı, dut yalancı meyveler grubunda yer almaktadır. Çiçeklerin meyveciklerin üzerine dizildikleri eksen, çiçek sapı ve meyve sapı olmak üzere iki bölümden oluşur. Meyve olgunlaşmaya başladığında çiçek sapı etli hale gelmektedir, buna rağmen meyve sapını oluşturan kısım etli yapı kazanmamaktadır. Dut ağaçlarında monoik, dioik ve erselik çiçek tiplerine rastlanabilmekle birlikte, genelde ağaçlar monoik yani tek evciklidir. Bir başka deyişle erkek ve dişi çiçekler ayrı yerlerde fakat aynı ağaçta yer alır. Erkek çiçekler bir süre sonra dökülür, dişi çiçeklerden de meyve elde edilir. Haziran – temmuz aylarında da meyve olgunlaşma gösterir. Tohum toplama zamanı temmuz – ağustos aylarıdır. Dut ağacının ülkemiz ekonomisine ipek üretiminden başka, birçok alanda katkısı bulunmaktadır. Bu sebeple dut ağacına sadece ipek böceğinin besin kaynağı gözüyle bakılmamalıdır. Dut yaprağı küçük ve büyük baş hayvanların beslenmesinde taze ve kuru yem olarak da kullanılmaktadır. Bundan başka dut ağacı kâğıt üretiminde, çuval yapımında da kullanılmaktadır. Budama işlemine dayanıklı ve sert bir yapıda olması sebebiyle oldukça değerlidir. 100 gram taze dut meyvesinin içerdiği besin değerlerine baktığımızda; 93 kalori, 0,9 gr protein, 19,8 gr karbonhidrat, 1,1 gr yağ, 0,9 gr lif, 60 mg kalsiyum, 1,1 mg demir, 0,05 mg B1 vitamini, 0,07 mg B2 vitamini, 0,2 mg B3 vitamini ve 17 mg C vitamini bulunduğunu söyleyebiliriz.

Dut'un gerek bitkisi gerek meyvesi değişik alanlarda kullanılarak değerlendirilebilmektedir (Polat, 2004). Yapraklarından beden ve zihin gevşetici, rahatlatıcı etkiye sahip çaylar yapılan, meyvesinden de şarap, jöle, reçel, pekmez gibi çeşitli ürünlerin elde edildiği dut, halk arasında bağırsakları düzenlemek, ateşi ve kan basıncını düşürmek, ağız yaralarını tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Yüksek oranda antosiyanin içermesi nedeniyle kalp-damar hastalıklarını engellemekte,

kansere karşı koruma sağlamaktadır. Dutun biyolojik ve farmakolojik özellikleri hakkında günümüzde çok az bilgiye sahip olunmasına karşın, içecek piyasasında dut ağacının yapraklarından elde edilen içeceklerin önemi artmaktadır (Bae and Suh, 2007).

Dut, şeker, organik asit ve antosiyanin pigmentlerince zengin bir meyvedir. Toplam antosiyanin içeriği 1229-2057 µg.g-1 arasında değişmektedir. İçerdiği antosiyaninler nedeniyle meyve suyu, şurup ve şarap gibi gıdaların önemli bir bileşeni olarak kullanılmaktadır. Dut meyvesinin antidiabetik, antioksidatif ve antiinflamator etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Bu biyolojik etkilere, içerdiği fenolik bileşikler özellikle antosiyaninler nedeniyle sahip olmaktadır. Antosiyanin pigmentlerinin dut meyvesinde oldukça önemli iki rolü vardır. Bunlardan birincisi son ürünün özelliklerini etkileyen ve ürünün duysal özelliklerinin oluşmasında tamamlayıcı rol oynayan çeşitli formları içermesi, ikincisi sağlık üzerindeki etkileridir (Bae and Suh, 2007).

1.1.1.1 *Morus alba* (Beyaz Dut)



Şekil 1.2 *M. alba*

Moraceae familyasının *Morus* cinsinin *Morus alba* türünü oluşturan beyaz dut bitkisi dünyada çok yaygın bir yetiştirme alanına sahiptir (Duke, 1983). Ana vatanı Çin olan beyaz dut bitkisi ülkemizde de doğal yayılım göstermekte ve deniz seviyesinden yüksek rakımlı bölgelere kadar hemen her yerde yetişmektedir (Duke, 1983). Ancak geçmiş yılların istatistiklerine bakıldığında ülkemizde dut üretim miktarı her geçen yıl azalmış ve 2018 yılında dut üretiminde yüzde 10,4 azalış görülmüştür (TÜİK, 2018). Ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen 3 farklı dut türü bulunmaktadır. Bunlar beyaz dut

(*M. alba*), kara dut (*M. nigra*) ve mor dut (*M. rubra*)' dır. Bu üç dut içerisinde en yaygın ve ağaç sayısı en fazla olan beyaz duttur. Bunu sırası ile karadut ve mor dut takip etmektedir (Davis, 1982, Lale ve Özçağırın, 1996). Beyaz dut üzerinde yapılan araştırmalar önceleri ipekböceği yetiştiriciliği nedeniyle yaprak üzerine yoğunlaşmışsa da son yıllarda yurt dışında ve yurt içinde yapılan çalışmalar dut bitkisine meyvesi açısından da önem verilmeye başlandığını göstermektedir (Fan vd., 1988; He vd., 1989; Koul vd., 1993; Xiaolan vd., 1998; Güloğlu vd., 1999).

Beyaz dut meyveleri iki yüzü basık, ucu yuvarlak, yumuşak, sulu, tatlı, lezzeli ve sarımsı renklidirler (Lale ve Özçağırın, 1996). Meyve de, toplam kuru madde %20,89, çözünür kuru madde %19,32, protein %1,47, toplam şeker %13,31, titrasyon asitliği %0,32, K, Ca, Mg ve Fe sırasıyla 229,9, 74,6, 29,2 ve 1,449 mg/100 g olarak bildirilmiştir (Özdemir ve Topuz, 1998).

Beyaz dut yaprakları, meyveleri, gövdesi, kök kabukları birçok hastalığın tedavisinde direk veya yardımcı etken olarak kullanılmaktadır (Duke, 1983;Huo, 2002; Moore, 2002).

1.1.1.2 *Morus nigra* (Kara Dut)



Şekil 1.3 *M. nigra*

Anavatanı İran'dır. 10 – 15 metre boya erişebilir. Yaprakları 6–12 cm büyüklüğünde olup kenarları düzensiz kaba dişlidir. 2 – 3 lopludur ve kışın yaprak döker. Yürek biçimindeki yaprakların üst yüzü koyu yeşil ve tüylü, alt yüzü yumuşak sık tüylüdür. Bu sebeple ipek böcekçiliğinde yapraklarından yararlanılmaz. Bol ışıklı ortamlardan hoşlanır. Sulu ve kireçli topraklarda dut gelişimi daha iyi olmaktadır (MEB 2013).

Koyu renkli meyveler flavonoidler, antosiyaninler ve karotenoidleri içeren fenolik bileşikler bakımından oldukça zengindir. Karadutta fenolik bileşik miktarı oldukça yüksek olduğu belirtilmektedir (Lin ve Tang, 2007).

Fenolik bileşikler antioksidan, antimutajenik, antikarsinojenikler gibi çeşitli biyokimyasal aktivitelere sahiptirler (H. Tapieco vd., 2002). Dut meyvesi, laksidatif (barsak boşaltmaya yardım edici), dizanteri tedavisinde tamamlayıcı (yardım edici), odontaljik (diş ve çevresindeki dokularda ortaya çıkan ağrılara karşı), antihelmitik (barsak kurduna karşı), ekseptorant (balgam söktürücü), hipoglisemik (kan şekerini düşürücü), emetik (kusturucu) amaçlarla kullanımının yanı sıra, Türkiye’de ağız lezyonlarının tedavisinde de kullanılmaktadır (Lin ve Tang, 2007; H.Tapieco vd., 2002; T. Baytop, 1984; M. Özgen vd., 2009). Modern tıpta dutun tek kullanımı karaduttan elde edilen şuruptur (Grieve, 2002). Karadut şurubu gargara olarak ağız ve boğaz hastalıklarına, özellikle de bebeklerde pamukçuklara karşı uygulanır. Karadut kök ve gövde kabukları idrar söktürücü ve tenya düşürücü olarak bilinir. Meyveleri iştah açar. Karadut yapraklarından, hafif kan şekerini düşürücü etkisi nedeniyle faydalanılır (Asımgil, 1997).

Meyve ve sebzeler fenolik madde, karotenoid, antioksidan vitamin ve antioksidan minerallerce zengindir (Sağlam, 2007). Dünya genelinde yaklaşık çeyrek asırdır fenol bileşikleri ve antosiyanin içerikleri nedeniyle üzüksü meyvelerin üretim ve tüketiminde büyük oranda artış meydana gelmiştir. Bu grup içerisinde antosiyaninler önemli bir kısmı oluşturur. Antosiyaninlerden en önemlileri sinayidin-3- glikozid, siyanidin -3- rutinosid gibi antosiyaninler ve etil linolenat, palmitik asit, elajik asit, stearik asit, linoleik asit ve linolenik asit gibi fenolik bileşiklerdir (Elmacı ve Altuğ, 2002).

Antosiyaninler meyvelere kırmızı, mor-siyah ve mavi rengi veren pigmentler olarak bilinir. Yapılan klinik çalışmalarda, üzüksü meyvelerin içerdiği antosiyaninler ve fenoliklerin tümörlerin tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (Özgen ve Scheerens, 2006).

Kara dut meyvesi söktürücü etki gösterir, şurup yapımında, ilaçlara renk ve tat katmak amacıyla kullanılır. Ayrıca dut ağacının kabukları, yaprakları ve meyveleri şeker hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır (Bremness,1999).

1.1.1.3 *Morus rubra* (Mor Dut)



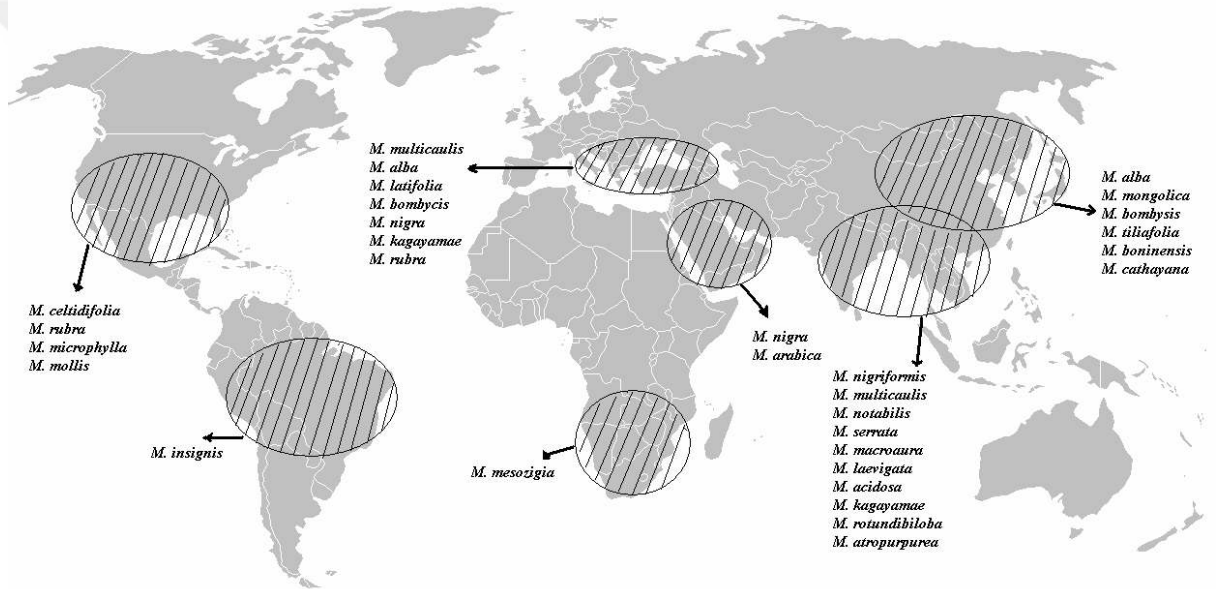
Şekil 1.4 *M. rubra*

Yerli *M. rubra* çoğunlukla nehir kıyısındaki bölgelerde görülür ve kuzeydoğu ABD ve güneydoğu Kanada da dahil olmak üzere pek çok alanda nadir görülür ve nesli tehdit altındadır (Ambrose ve Kirk, 2004; Penskar, 2009; USDA, 2012). *M. alba*'nın, hızlı olarak genişlemesi ve büyümesi *M. rubra*'ya göre üreme avantajları nedeniyle, *M. rubra*'nın varlığına yönelik bir tehdit oluşturmaktadır (Burgess vd., 2005; Nepal, 2008). Ülkemizde az yetişmektedir. Boyu 15 – 20 metredir. Yaprakları 7 – 12 cm büyüklüğünde, üst yüzü kaba tüylü ya da tüysüz, alt yüzü yumuşak sık tüylüdür. Meyveleri koyu pembe renkli ve 2 -3 cm büyük, tatlı ve suludur.

Bu yaprak döken ağaç genellikle nemli topraklarda yetişmektedir. Kırmızı dut, güneş ışığına maruz kaldığında açık yerlerde iyi büyür. Kuzey sınırlarında büyüyerek 15 ile 70 feet yüksekliğe ulaşır (1 feet= 30,48 m). Yaprakları dönüşümlü olarak basittir ve 2 ila 8 inç uzunluğunda büyür. Dut yaprakları genellikle kalp şeklindedir. Ancak 0 ila 3 lob' lu olabilirler. Genç ağaçlardaki ve yeni dallardaki yapraklar özellikle değişkendir. Yaprak kenar boşlukları dişlidir, ancak yumuşak dokuya sahiptir. Yaprakların üst kısımları kaba bir doku ile donuk yeşil renktedir, alt kısımları ise tüylü, bulanık ve yumuşak bir his verir. Kabuğu kahverengidir ve pullu plakalara ayrılır. Yeşilimsi-beyaz göze çarpmayan çiçekler, ilkbaharda kümeler halinde, erkek veya dişi çiçekler aynı ağaçta veya ayrı ağaçlarda görülür. Koyu mor meyveler kırmızı olduklarında olgunlaşmaya başlar.

1.2 Ekolojik İstekleri

Morus türlerinin yabani çeşitleri Hindistan'da yetişmektedir (Watt, 1873). Orjininin Doğu Çin, Kore ve Japonya'yı içine alan Çin-Japonya gen merkezli olduğu bildirilmektedir (Vavilov, 1926). Dut popülasyonları çoğunlukla Asya'da özellikle Çin ve Japonya'yı içine alan alanlarda bulunurken, Afrika, Avrupa ve Orta Doğu'da ise daha az kısıtlı alanlarda yayılış gösterdiği görülmektedir (Sharma vd., 2000). Doğal yayılımları ise Asya'nın doğusu, batısı ve güneydoğusu, Avrupada güney ve kuzey'de Amerika'nın güneyinde, Güney Amerikanın kuzeybatısı, Afrika'nın bazı bölümlerindedir. İnsanların dut yetiştirme amacıyla bu alanların ciddi bir şekilde değiştiği görülmektedir (Sharma vd., 2000; Zheng vd., 1988) (Şekil 1.1).



Şekil 1.5 Dünyada dut türlerinin (*Morus* spp.) yaygın olarak bulunduğu alanlar

Dut, ılıman iklimden subtropik iklime kadar değişen farklı ekolojik şartlara uyum sağlamış bir bitkidir. Standart gelişim sıcaklığı 23-29°C'dir. Yıllık yağış isteği yaklaşık 600-2500 mm civarındadır. Az yağış olan bölgelerde sınırlı gelişim göstermektedir. Fakat aşırı sulama, yapraklardaki protein ve karbonhidrat içeriğini azaltır. Dut ağaçlarının ihtiyacı olan su miktarı ağaçların bulunduğu bahçenin toprak yapısına göre değişiklik gösterir. Verimli topraklarda 10 gün aralıklarla, killi topraklarda ise 15 gün aralıklarla sulama isteğine sahiptir. % 65-75 civarında bir atmosferik nem oranı, dutun yetişmesi için uygundur. Gelişme ve yaprak kalitesi için güneş ışığı önemli bir faktördür. Tropik alanlarda dut bir günde 9-10 saatlik ışıktan

ile yetişir. Dut deniz seviyesinden 1400-1500 m yüksekliğe kadar Beyaz Dut (*M. alba*) ve Karadut (*M. nigra*) yetiştirilebilir. Ülkemizde Akdeniz Bölgesinden Doğu Anadolu bölgesine hemen her yerde dut yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Fakat özellikle Kahramanmaraş, Adıyaman, Elazığ, Erzincan, Malatya ve Tokat illerinde ekonomik anlamda yetiştiriciliği yaygındır. Dut subtropik koşullardan ılıman karasal iklime kadar geniş bir yelpazede yetiştiriciliği yapılabilen ender türlerdendir (Polat, 2004).

1.3 Toprak İstekleri

Morus türü tuzlu topraklar dışında, toprak ve iklim koşulları bakımından çok seçici değildir. Sığ topraklar tavsiye edilmez. Derin yapılı topraklarda iyi bir gelişme göstermekle birlikte kireçli, kuru, kurak ve kumlu topraklar üzerinde de yetiştirmeye uygundur. Alkali topraklarda yetişebilir. Optimum toprak pH'ı 6,5-7 olmalıdır.

1.4 Anavatanı

Dut, farklı iklim ve toprak koşullarına adaptasyon kabiliyetinin yüksek olması nedeniyle dünyanın pek çok bölgesinde yetiştirilen bir meyve türüdür. Bu nedenle dünyada geniş bir şekilde yayılım göstermiştir. Başta Anadolu olmak üzere güney bölgeler dutun yetiştirildiği bölgelerdir. Yaygın olmamakla birlikte Avrupa, Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya ve Hindistanda da Kırmızı Dut (*M. rubra*) Çin Dutu (*Morus australis*) yetiştirilmektedir. Türkiye'de dut yetiştiriciliğine özellikle de Karadut yetiştiriciliğine ilginin giderek arttığı görülmektedir. Türkiye'nin yıllık dut meyvesi üretimi 60.000 tondur. Bunun %95'ini Beyaz Dut kalan %5'inde Kırmızı ve Karadut oluşturur. Ülkemiz de dutların isimlendirilmesinde bazı çeşitlilikler ve yanlış tanımlamalar olmaktadır. Özellikle siyah ve kırmızı dutlar birbirleriyle karıştırılmaktadır. Siyah renkli (*M. rubra*) şeker içeriği yüksek az asitli dutlar; kırmızı dut, az olgun meyveleri kırmızı ve koyu kırmızı, çok olgun meyveleri siyahımsı kırmızı olan sulu, asidik dutlar da, Karadut olarak tanımlanır. Karadutun yöresel isimlerinde de çeşitlilik gözlenir. Örneğin Karadut; Tokat-Erbaa taraflarında Ekşiare, Kahramanmaraş, Malatya ve çevrelerinde urumdut, Manisa dolaylarında Şurupluk dut ve Hatay-Antakya civarında tuti olarak adlandırılır. Pakistan'da Urduca dilinde toot olarak, ingilizcede ise yine kara dut anlamında black mulberry olarak adlandırılır.

Birçok meyve türünde olduğu gibi Anadolu, dutun da anavatanı ve en eski kültür alanlarından biridir (Özbek, 1977).

Dut önemli bir vitamin ve enerji kaynağıdır. Dut meyvesi taze ve kurutulmuş olarak tüketildiği gibi, meyvesinden ülkemizde pekmez, reçel, pestil, dut ezmesi, dondurma imalatı, cevizli sucuk, sirke, meyve suyu konsantresi, ispiro gibi ürünler de elde edilir. Diğer ülkelerde ise meyveler taze ve kuru olarak tüketimin yanında ekmek, çörek, pay, puding, dut şarabı ve dondurma yapımında kullanılır. Dut suyu son yıllarda popüler olan bir içecek olup, herhangi bir koruyucu ilave edilmeden soğuk depolanma koşullarında 3 ay süreyle muhafaza edilebilmektedir (Lale ve Özçağır, 1996; Machii vd., 2002; Martin vd., 2002). Dutun meyvesi yanında öteki kısımları da değişik şekillerde değerlendirilmektedir. Nitekim dut yaprağı ipekböceği beslenmesinde (Ryu, 1977) ayrıca, yüksek sindirilebilirlikleri ve iyi protein içerikleri nedeniyle hem geviş getiren hem de tek mideli hayvanların ve balıkların beslenmesinde kullanılmaya uygundur (Trujillo, 2002; Huo, 2002). Dut yaprakları ülkemizde ve dünyada sebze olarak da değerlendirilmektedir. Ayrıca kurutulmuş dut çayı tozu Çin’de çörek, bisküvi, kek ve ekmek yapımında kullanılmaktadır (Huo, 2002; Machii vd., 2002). Amerika’da dut ağacının kabuğunun içteki kısımları kızartılıp una katılarak, çorbalara kıvam verici olarak veya ekmek yapımında tahıllar ile karıştırılarak kullanılmaktadır (Moore, 2002).

1.5 Fenolojik, Pomolojik ve Kalite Özellikleri

Meyve tür ve çeşitlerinin fenolojik, pomolojik ve kaliteye ilişkin diğer özellikleri ise yetiştirme yerinin iklim ve toprak özelliklerine, yüksekliğe ve kültürel işlemler gibi diğer bazı özelliklere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedirler. İzmir bölgesinde yapılan bir araştırmada Karadutun, fenolojik ve pomolojik özellikleri belirlenmiş ve buna göre, tomurcuk patlama dönemi Nisan ayı, çiçeklerin görünme tarihleri Nisan-Mayıs, meyve renginin dönme tarihi Mayıs-Haziran ayları, meyve olgunlaşma tarihi Haziran-Temmuz ve meyve bitim tarihi Temmuz-Ağustos ayları olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada araştırmacılar meyvelerin suda çözünabilir kuru madde oranını; %14, toplam kuru madde miktarını; %16-17, C vitamini miktarını; 16 mg/100g, titre edilebilir asit oranını; %2 olarak saptamıştır. Van’ın Edremit ve Gevaş bölgesinde dutlarının fenolojik ve pomolojik özellikleri ile seçilimi üzerine yapılan bir çalışmada

tomurcuk kabarma tarihleri 5-17 Mayıs, tomurcukların patlama tarihleri 6-18 Mayıs, çiçeklenme tarihleri 20 Mayıs-3 Haziran ve meyvelerin olgunlaşmaya başladığı periyot 18 Haziran-10 Temmuz tarihleri arasında olduğu belirlenmiştir. Tokat bölgesinde yapılan bir araştırmada *M. nigra*'nın tomurcuk patlama tarihleri 15-20 Nisan, çiçeklerin görünme tarihleri 27 Nisan-2 Mayıs ve hasat dönemi 15 Haziran-30 Eylül tarihleri arasında olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar *M. nigra* meyvelerinin pomolojik özelliklerini; meyve ağırlığı 3,02-5,72 gram, meyve en ve boylarını sırasıyla 17,42-20,53 ve 21,21-27,54 mm, titre edilebilir asit oranlarını %1,60-2,11 ve SÇKM oranlarını %13,64-19,18 arasında olduğunu saptanmıştır. Şebinkarahisar'da yetiştiriciliği yapılan yerel dut çeşitlerinin pomolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada *M. nigra* meyvelerinin; meyve ağırlığı 4,05-6,72, SÇKM oranlarını %15,3-19,3 titre edilebilir asit oranlarını %1,47-2,17 ve toplam kuru madde oranlarını %13,6-23,1 arasında belirlemişlerdir (Polat, 2004).

1.6 Kullanım Alanları

Yapılan son çalışmalar dut yaprakları özütlerinde Kuvanon G ve Leachianone G gibi bazı antimikrobiyal maddeler ve bol miktarda flavonoit (kuersetin, rutin and izokuersetin) içerdiğini göstermiştir. Bu flavonoitler oksidasyon reaksiyonlarında antioksidan olarak önemli rol oynayan bileşiklerdir. Yaprak yapısında bulunan antioksidan maddeler lipid peroksidasyonunu engellediği için kardiyovasküler sistemin korunmasında çok önemli rol oynadığı bilinmektedir. Dut yaprak içeriğinde bulunan deoxynojirimycin isimli bileşiğin, glikozidaz, sükras ve maltaz gibi enzimlerin aktivitelerini düzenlediği belirlenmiştir. Bu sebeple dut ağacının kök kabukları, yaprakları ve meyveleri şeker hastalığını tedavisinde kullanılabilmektedir (Bremness, 1999). Birçok uzak doğu ülkesinde diyabet hastalığı bulunan kişiler dut yapraklarından yapılan çaylarını tercih ettikleri bilinmektedir. Dut yapraklarından hazırlanan çay, yeşil çaydan on kat daha fazla içerdiği γ -aminobütirik asit sayesinde kan basıncını düşürmekte ve sakinleştirici etkiye sahip olmakta, deoxynojirimycin ile kan şekeri seviyesini düşük tutmaktadır.

Aynı şekilde dut yaprağı özütünün alzhemier hastalığına karşı bir korunma sağladığı bulunmuştur. *M. nigra* şurubu gargara olarak ağız ve boğaz hastalıklarına, özellikle de bebeklerde pamukçuklara karşı uygulanmaktadır. *M. nigra* yapraklarından, hafif kan

şekerini düşürücü etkisi nedeniyle faydalanılır (Asımgil, 1997). Ayrıca, *M. alba* yaprakları antibakteriyel, kanamayı durdurucu, ateş düşürücü, idrar söktürücü ve terletici özelliğe sahiptir. Taze yapraklar kanamaları durdurmak amacıyla derideki yaralara tampon yapılabilir. Dut meyveleri ise idrar tutamama, baş dönmesi, kulak çınlaması, kansızlık, uykusuzluk, sinir zayıflığı, hipertansiyon, saçların erken ağarması, kabızlık ve böbrek iltihabı tedavilerinde, kök kabukları; romatizma ağrıları ve spazm, astım, akciğer iltihabı, öksürük, bronşit, ödem ve hipertansiyonda kullanılır (Duke, 1983; Huo, 2002; Moore, 2002). Ayrıca *M. nigra* meyvesi söktürücü etki gösterir, şurup yapımında, ilaçlara renk ve tat katmak amacıyla kullanılır.

Dut ağacı nispeten zayıf olmasına rağmen, mobilya işlerinde, çit direklerinde ve tarım aletlerinde kullanılır. Kırmızı dut meyveleri konserveler, reçeller, turtalar ve diğer tatlılar yapmak için kullanılır.

Birçok kabile, çeşitli hastalıkları tedavi etmek için dutun farklı kısımlarını kullanmıştır. Örneğin; Alabama ve Creek Kızılderilileri dut kökünden yapılan bir özünü kullanarak idrar yolu sorunlarını tedavi etti (Heather, vd., 2010)

1.7 Alerjen Etki

Erkek ağaçlar aşırı derecede alerjendir. Dişi ağaçlar az miktarda alerjiye neden olur veya hiç alerjiye neden olmazken bunlardan kaçınılmalıdır. Bunlar polen saman nezlesinden astıma kadar değişken alerjiye neden olabilir.

1.8 Serbest Radikaller

Hücrelerin; protein, DNA, lipid, enzim ve diğer molekül grupları serbest radikaller ile reaksiyona girerek onların metabolizmalarını etkiler (Ferrari vd., 1985). Vücutta doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşmakta, ancak radikal parçalayan antioksidan sistemlerle oluşan serbest radikaller ortadan kaldırıldığından, herhangi bir sitotoksite meydana gelmemektedir. Ancak bu işleyişin radikaller lehine bozulduğu durumlarda bir dizi patolojik olay ortaya çıkmaktadır (Yen vd., 1999). Bu patolojik olaylara oksidatif stres denilmektedir. Oksidatif stresin; lipid peroksidasyonu, enzimlerin

inaktivasyonu ve aktivasyonu, kanser, arterosklerozis, kardiyovasküler hastalıklar, sıtma, nörodejeneratif hastalıklar, böbrek bozuklukları, immun sistem bozukluğu, katarakt, DNA hasarına ve yaşlanmaya neden olan birçok olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır (Halliwell vd., 1997).

1.9 Antioksidan

Reaktif oksijen türleri metabolik ve fizyolojik süreçler boyunca üretilirler. Bunun sonucunda organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar oluşabilir. Böyle bir durumda oksidanlarda artış, antioksidanlarda ise azalma olur; oksidatif/antioksidatif denge oksidatifler lehine bozulur. Bitki özütlerinin antioksidan içeriği sayesinde oksidan artışına karşı konulabilir (Dikilitaş vd., 2011).

Aerobik organizmaların yaşamı için oksijen kesinlikle esastır, ancak yüksek konsantrasyonlarda alındığı zaman toksik etki gösterebilir. Bu temeldeki dioksijen, nispeten tepkisizdir; kısmi redüksiyonu, tek oksijen, süper oksit radikal anyonunu, hidrojen peroksit gibi aktif oksijen türlerini ortaya çıkarır. Bu, kısmen oksidanın fizyolojik fonksiyon üzerindeki etkisine ters olan oksidatif strese bağlıdır. Serbest oksijen radikalleri, eklem iltihaplanması, kanser, aterosklerosis gibi hastalıkların etiyolojinde önemli bir rol oynar. DNA'daki oksidatif hasar yaşlanma konusunda hayati önem taşıyabilir (Cheeseman ve Slater. 1993) ve hücreler arası oksijenin varlığı, hücresel seviyede kasıtsız reaksiyonlar zincirinin başlamasına da neden olabilir. Bu reaksiyonlar kritik hücre biyomoleküllerinin hasar almasına sebep olur. Bu radikaller yüksek oranda toksiktir ve bu sebeple, bitkilerde oksidatif stres yaratır. Serbest radikaller, eşleşmemiş bir elektrona sahip olan bir atom veya moleküldür ve ekstrem olarak reaktiftir, diğer molekülleri destabilize eden hızlı değişken reaksiyonlarla bağlantılıdır ve daha fazla serbest radikal oluşturur.

1.10 Reaktifler ve DNA Hasarı

Reaktifler DNA hasarına yol açarak yapısal değişimlere neden olmaktadır. Tüm DNA bazları arasında en az oksidasyon potansiyeline sahip guanin sıklıkla

reaktiflerden etkilenecek öldürücü doku bozukluklarını meydana getirir (Jena, 2012). Süperoksit radikallerden türevli hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksitin, guanin bazının 8-hidroksiguanine dönüştürmesine sebep olduğundan DNA hasarlarına neden olan en yüksek potansiyele sahip reaktif oksijen radikalleridir (Gutteridge, 1984). Hidrojen peroksit gibi UV ışınları da DNA hasarına neden olabilir. Ultraviyole radyasyon, yeryüzüne ulaşan güneş radyasyonunun çok az bir kısmını oluşturur. UV radyasyonu güneş yanığı, bronzlaşma, erken deri yaşlanması ve kanser gelişimi olmak üzere birçok biyolojik hastalığa neden olmaktadır. Ultraviyole radyasyon, güneşten gelen ışık enerjisinin bir şeklidir. Güneş, elektromanyetik spektrum diye bilinen bir dizi enerji yayar. Enerjinin değişik şekilleri, dalga boylarına göre sınıflandırılır. En kısa dalga boylu olan radyasyon en fazla enerjik olandır. UV radyasyonu 320-400 nm arasında UV-A, 280-320 nm arasında UV-B ve 200-280 nm arasında UV-C olmak üzere üç kategoride sınıflandırılır (Mutlu vd., 2003). UV-C radyasyonu çok fazla enerji yüklü olduğundan potansiyel olarak en fazla zararlı olandır. Bütün UV-C stratosferde oksijen ve ozon tarafından yutulur ve asla dünya yüzeyine erişmez. UV ışınları epidermal Langerhans hücrelerinin sayılarını ve görevlerini etkileyerek onların antikor üretme yeteneklerini azaltır. Bu bozukluk T hücrelerin gelişimini uyararak geç tipte aşırı duyarlılığın baskılanmasına yol açar, tümör gelişmesini engelleyemez (Berkow ve Beers, 1997). En etkili reaktif olan hidrojen peroksit, DNA bazı olan guaninin 8-hidroksiguanine dönüştürmesiyle DNA hasarı oluşturmaktadır (Gutteridge, 1984; Tepe, 2010). Tedavi edici özelliği olan aromatik bitkiler gibi doğal ürünlerden elde edilen özütler DNA koruyucu aktivite araştırmalarında çalışılmaktadır (Tepe vd., 2011).

Meyvecilik kültürü çok eskilere dayanan ülkemiz, dutun anavatanlarından ve doğal yayılış alanlarından olmasına karşın, bu genetik potansiyel yeterince değerlendirilememiştir. Ülkemizin doğal florasında yer alan gerek bitkisinden gerekse meyvesinden çeşitli şekillerde yararlandığımız dut üzerinde yapılmış çalışma sayısı çok azdır ve yapılan araştırmaların çoğu, ipekböceği beslenmesi bakımından, yaprak özellikleri üzerinedir.

Günümüzde önemi gün geçtikçe daha da artan karadut suyu üzerinde yapılan çalışma sayısı diğer meyve türlerine göre çok az olmakla beraber son yıllardaki yapılan araştırmalarda karadutun insan sağlığı üzerinde oldukça faydalı olduğu ve özellikle fenolik maddelerce zengin olduğu belirtilmiştir. Çalışmanın birinci aşamasında Urnu

dut (*M. rubra* L.) meyve özütlerinin su, metanol, solventlerinde özütleri çıkarılmıştır ve daha sonra çalışmanın diğer aşamalarına geçilmiştir. Bundan sonraki aşamada özütlerin biyolojik aktivitesi ve antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.11 *Stenotrophomonas maltophilia*

1.11.1 Tarihçe ve Sınıflandırma

Stenotrophomonas maltophilia, ilk olarak İngiltere’de 1943 yılında J. L. Edwards tarafından plevra sıvısından izole edilip *Bacterium bookeri* olarak adlandırılmış ve muhtemel bir deri kontaminantı olarak bildirilmiştir (Hugh ve Ryschenkow, 1961). Hugh tarafından 1958 yılında oral karsinomu olan bir hastanın orofaringeal sürüntü örneğinden izole edilmiş ve 1960 yılında Hugh ve Ryschenkow tarafından *Pseudomonas maltophilia* olarak adlandırılmıştır (Hugh ve Leifson, 1963). Fenotipik ve genotipik çalışmalar sonucunda Swings ve ark., türün *Xanthomonas* genusuna dahil edilmesini önermişlerdir (Swings vd., 1981). Ancak bu görüş yeterince kabul görmemiş ve flajella sayısı, nitrat redüksiyon özellikleri, fimbriasyon ve bitki patojenite özellikleri de dahil olmak üzere birçok farklılık bildirilerek 1993 yılında Palleroni ve Bradbury tarafından tek üyesi *S. maltophilia* olan *Stenotrophomonas* genusu ilk defa tanımlanmıştır (LiPuma vd., 2011; Denton ve Kerr, 1998). Dört yıl sonra yeni bir tür olarak *Stenotrophomonas africana* tanımlanmış olsa da, sonrasında Coenye ve ark. tarafından bu türün aslında *S. maltophilia* ile aynı olduğu gösterilmiştir (Coenye vd., 2004). Son zamanlarda, *Stenotrophomonas nitritireducens*, *Stenotrophomonas acidaminiphila*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Stenotrophomonas koreensis*, *Stenotrophomonas humi*, *Stenotrophomonas terrae*, *Stenotrophomonas ginsengisoli* ve *Stenotrophomonas daejeonensis* olmak üzere sekiz ilave çevresel *Stenotrophomonas* türü tanımlanmıştır (Lee vd., 2011).

1.11.2 Üreme ve Kültür Özellikleri

S. maltophilia (*Stenos*, Yunanca dar; *trophos*, Yunanca beslenen; *monas*, Yunanca, bir birim; kısıtlı madde ile beslenen tek hücreli canlı; *malt*, eski İngilizce, malt; *philos*, Yunanca, arkadaş; malt arkadaşı) 0.5-1.5 µm uzunluğunda düz veya hafif kıvrımlı spor

oluşturmayan gram negatif non-fermentatif bir basildir. *S. maltophilia*, zorunlu aerob bir mikroorganizmadır. Üremesi için en uygun sıcaklık 35°C olup, 5-40 °C aralığında üreyebilmektedir (Denton ve Kerr, 1998). İzolasyonunda %5 koyun kanlı agar, çikolatamsı agar, MacConkey agar gibi standart bakteriyolojik besiyerleri kullanılabilir. Koyun kanlı agarda düzgün, parlak, beyaz, soluk sarı veya lavanta-yeşili renkte ve amonyak benzeri kokusu olan koloniler meydana getirir. Bazen beta hemoliz ve üremenin yoğun olduğu kısımda yeşilimsi renk değişikliği görülebilir. MacConkey agarda laktozu fermente etmeyen şeffaf koloniler oluşturur. Bazı suşlar saydam besiyerlerinde kahverengimsi pigmentasyon meydana getirebilir (Denton ve Kerr, 1998; Tille, 2014).

1.11.3 Biyokimyasal Özellikler

S. maltophilia, klinik laboratuvarında standart biyokimyasal testlerle tanımlanabilir. Çoğu bakteriye göre inaktif bir metabolizmaya sahiptir (Denton ve Kerr, 1998). *S. maltophilia* türlerinin, oksidazı negatif, glikoz ve maltoz oksidasyonları değişkendir. Lizin dekarboksilaz ve DNaz aktiviteleri pozitiftir. *S. maltophilia* türlerinin ekstraselüler DNaz aktivitesinin saptanması ile diğer glikozu okside eden, Gram negatif basillerden ayrılırlar. Metil yeşili indikatörü ile tüpte ya da DNaz agar üzerinde DNaz aktivitesi saptanabilir. DNaz pozitif organizmalar besiyeri üzerinde şeffaf bir zon oluştururlar (Murray vd., 2009). Jelatin ve eskülini hidrolize eder. Polimiksine duyarlıdır. Nonfermenter bakterilerin tanısında kullanılan arjinin dekarboksilaz, asetamid reaksiyonu, üre hidrolizi, nitrat ve nitrit oluşumu reaksiyonları negatiftir (Durupınar ve Darka, 2008).

1.11.4 Antijenik ve Genomik Özellikler

Somatik O antijenleri ve flajellar H antijenleri tanımlanmıştır. Toplam 31 O antijeni saptanmış olup, O3 en sık rastlanan serotiptir. *S. maltophilia* ve *Brucella* türlerinin O antijenleri arasında çapraz reaksiyon gözlemlendiği bildirilmiştir. *S. maltophilia* suşları tanımlamada kullanılabilecek derecede kendine özgü hücresel yağ asidi kompozisyonuna sahiptir (Denton ve Kerr, 1998).

Çevresel ve klinik örneklerden elde edilen *S. maltophilia* izolatları DNA fingerprinting, DNA hibridizasyon ve 16s rDNA sekanslama yöntemleriyle A, B ve C olarak belirlenmiş üç farklı genomik gruba ayrılmıştır. Klinik izolatların büyük çoğunluğu grup A'da (% 44) ve grup B'de (% 34) yer almaktadır. Grup A'da yer alan suşların enfeksiyon gelişimine yol açan ortak özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir. Özellikle gyrB gibi bazı spesifik genomik gruplara sahip suşların kistik fibrozisli hastaların solunum yolunda kolonizasyona neden olduğu belirlenmiştir (Looney vd., 2009).

1.11.5 Virülans Faktörleri ve Patogenez

Artan klinik önemine rağmen *S. maltophilia*'nın virülansı ve patogenezini ile ilgili bilgiler sınırlıdır ve virülansın genetik ve moleküler temelleri yeterince iyi tanımlanmamıştır (Karaba vd., 2013; DuMont vd., 2015). Biyofilm oluşumu, patogenezde rol oynayan önemli moleküler mekanizmalardan biridir. Biyofilm oluşumunun nozokomiyal enfeksiyonların % 65'i ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. *S. maltophilia*, hastane su tesisat sistemleri, endotrakeal tüpler, kateterler, diyaliz ekipmanları, lavabo ve musluklar gibi hastalarla direkt veya indirekt teması olan nemli yüzeylerde ve konak dokusunda biyofilm oluşturabilmektedir (Brooke, 2012).

S. maltophilia'nın adhezyonunda aynı zamanda bakterinin hareketinden de sorumlu olan fimbria ve flajellalarının önemli rol oynadığı gösterilmiştir (De Oliveira-Garcia vd., 2002,2003; Huang vd., 2006). Biyofilm varlığında, antibiyotiklerin bakteriler ile temasa geçmesinde güçlük olması ve biyofilmin yapısına katılan bakterilerin sergilediği farklı metabolik durum sebebiyle antibiyotiklere duyarlılıkta azalma meydana gelmektedir (Sánchez, 2015). Bakteriyel adhezyon, aynı zamanda enfeksiyon hastalıklarının patogenezinde de ilk basamağı oluşturmaktadır (Di Bonaventura vd., 2004). *S. maltophilia*, fimbria ve flajellaları aracılığıyla prostetik yüzeylere olduğu gibi canlı yüzeylere de tutunabilmektedir (Pompilio vd., 2010; Zgair ve Chhibber, 2011). *S. maltophilia*'nın tüm genom sekans analizinde, adhezyon ve yayılımla ilişkili olduğu bilinen filamentöz hemaglutinin proteinlerini kodlayan gen bölgelerinin varlığı da gösterilmiştir (Crossman vd., 2008).

Klinik *S. maltophilia* izolatları, jelatinaz, DNaz, lipaz, hemolizin ve proteaz gibi ekstrasellüler enzimler üretebilmektedir. Ayrıca lesitinaz, heparinaz ve hyaluronidaz aktivitelerine de rastlanabilmektedir (Thomas vd., 2014).

Melanin gibi pigmentlerin üretimi, bakterileri konağın savunma mekanizmalarından ve çevresel faktörlerden korumaktadır. Ayrıca melanin üretiminin antibiyotik direnci ile de ilişkili olabileceği gösterilmiştir. İnvaziv ve non-invaziv klinik *S. maltophilia* izolatlarının çoğunda melanin üretimi görülebilmektedir (Thomas vd., 2014, Liaw vd., 2010). *S. maltophilia*, siderofor sentezleyebilen mikroorganizmalardan biridir. Sideroforlar, birçok biyolojik süreç için esansiyel olan demirin bakteri tarafından hücre içine alınmasına aracılık eder ve mikroorganizmaların konak vücudunda hayatta kalmasını sağlaması açısından çoğu patojen için önemli bir virülans faktörüdür (Chhibber vd., 2008; García vd., 2012).

1.11.6 *Stenotrophomonas maltophilia* Kaynaklı Enfeksiyonlar

S. maltophilia, sıklıkla hastanede yatmakta olan hastalarda çoklu ilaç direncinden sorumlu nozokomiyal bir patojendir (Durupınar ve Darka, 2008). *S. maltophilia*'nın neden olduğu en sık klinik tablo pnömonidir, bunu bakteriyemi ve daha az sıklıkla yara ve üriner sistem enfeksiyonları takip eder. Nadir olarak menenjit, endokardit, sinüzit, mastoidit, kolanjit ve peritonit, göz enfeksiyonları, epididimit, bursit, artrit ve osteokondrit vakaları da bildirilmiştir (Looney vd., 2009).

S. maltophilia, nozokomiyal pnömonilerin %5'inden sorumludur ve suşların %56-69'u solunum sisteminden izole edilmiştir. Mekanik ventilasyon, trakeostomi, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, nebulizatör gibi solunum yolu cihazı ve aerosolize polimiksin kullanımı *S. maltophilia* ile ilişkili nozokomiyal pnömoni oluşumunda risk faktörleridir (Denton ve Kerr, 1998). *S. maltophilia* pnömonisi olan hastaların mortalite oranları %23-77 olarak rapor edilmiştir, kanserli ve bakteriyemi eşlik eden hastalarda oran daha yüksektir (Looney vd., 2009).

Bakteriyemi, *S. maltophilia* enfeksiyonlarında sık görülen bir klinik tablodur ve giderek artış göstermektedir (Denton ve Kerr, 1998). Kan kültüründen *S. maltophilia* izole edildiğinde kontaminasyon, kolonizasyon ve gerçek enfeksiyonu ayırt edebilmek

için dikkat edilmelidir. Santral venöz kateterler *S. maltophilia* bakteriyemisinin en sık kaynağıdır. Enfekte kateter hemen çıkarıldığında kateter ilişkili enfeksiyonun prognozu iyidir (Looney vd., 2009).

S. maltophilia’ya bağlı endokardit olgularının birçoğu intravenöz ilaç bağımlılılarında ya da prostatik kapak ameliyatı sonrası komplikasyon olarak meydana gelmiştir. *S. maltophilia* endokarditinin prognozu değişkendir. Bu tablolarda sadece antimikrobiyal tedavi yeterli olurken, enfekte kapağın cerrahi ile değiştirilmesi de gerekebilir (Denton ve Kerr, 1998). İdrar örneklerinden sıklıkla *S. maltophilia* izole edilebilmesine rağmen sadece üriner sistem cerrahisi, üriner kateterizasyon ya da yapısal anomalilere ikincil olarak ortaya çıktığında enfeksiyon olarak kabul edilir (Denton ve Kerr, 1998).

1.11.7 Epidemiyoloji

S. maltophilia enfeksiyonlarının insidansı son yıllarda artış göstermektedir (LiPuma vd., 2011). Genel popülasyondaki prevalansı 1997-2003 yılları arasında %0.8-1.4 iken, 2007-2012 yılları arasında %1.3-1.68’e yükselmiştir (Chang vd., 2015). Bu durum, kemoterapi ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı ve invaziv tıbbi uygulamalardaki artışın sonucu olarak risk altında olan hasta popülasyonundaki artışa bağlanabilir (Falagas vd., 2008).

S. maltophilia’ya bağlı toplum kaynaklı enfeksiyonlar görülebilmekle birlikte büyük çoğunluğu nozokomiyaldir ve Dünya Sağlık rgt tarafından hastanelerde önde gelen çoklu ilaca dirençli mikroorganizmalar arasında gösterilmektedir (Tille, 2014; Brooke, 2014). Hem genel popülasyonda hem de yoğun bakım hastalarında en sık solunum yolu enfeksiyonlarına ve ikinci sıklıkta da kan dolaşımı enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Solunum yolu enfeksiyonlarının prevalansı 1997-2004 yılları arasında %3.3-3.5 iken, 2009-2012 yılları arasında %4.4’e yükselmiştir (Chang vd., 2015).

1.11.8 Laboratuvar Tanısı

S. maltophilia, çeşitli olumsuz evre şartlarında ve klinik ortamlarda mevcut olan sıcaklık derecelerinde hayatta kalabilmektedir. Dolayısıyla klinik örneklerden bu mikroorganizmanın izolasyonunda, standart örnek alma, transport ve saklama

teknikleri yeterlidir (LiPuma vd., 2011). Klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan %5 koyun kanlı agar, ikolatamsı agar ve McConkey agar gibi standart besiyerlerinde, normal ortam havasında veya %5 CO₂ varlığında bir gecelik inkübasyonu takiben üretilmektedir (Denton ve Kerr, 1998). Sıvı besiyeri bazlı kan kültürü sistemlerinde standart beş günlük inkübasyon periyodunda saptanabilmektedir. Dolayısıyla lizis santrifügasyon gibi özel tekniklerin kullanımına veya inkübasyon süresinin uzatılmasına gerek yoktur (LiPuma vd., 2011).

Selektif besiyerlerinin kullanımı klinik ve çevresel örneklerden *S. maltophilia* izolasyon oranlarını artırmaktadır. Bu amaçla KF hastalarının balgamından *S. maltophilia* izolasyonunda kullanılmak üzere vankomisin, imipenem ve amfoterisin B içeren VIA besiyeri geliştirilmiştir (LiPuma vd., 2011, Denton vd., 2006). Benzer şekilde Gram negatif selektif agar (GNSA) besiyerinde KF hastalarının balgamındaki Gram negatif mikroflora tespit edilebilmektedir. Novobiyosin, sikloheksimid, amfoterisin, nisin ve kristal viyole içeren GNSA'da *S. maltophilia* 'ya ek olarak, KF hastalarının balgam örneklerinden izole edilebilen diğer Gram negatif bakteriler de üreyebilmektedir (Denton vd., 2006). Bu besiyerleri dışında maltoz, DL-metiyonin, vankomisin, imipenem, amfoterisin B ve brom timol mavisi eklenmiş, Mueller-Hinton agar içeren SM2i besiyeri, *S. maltophilia* izolasyonunda selektif ve ayırt edici bir besiyeri olarak kullanılabilir. SM2i agarda *S. maltophilia* kolonileri mavi-yeşil renkli bir halo ile çevrilmiş, düzgün, yuvarlak, yeşil renkli koloniler şeklinde görünmektedir (Adjidé vd., 2010).

Kesin identifikasyonunda 23S rRNA genini hedef alan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi ile %100 duyarlılık ve özgüllük saptanmıştır. Bu PCR testi ile kıyaslandığında API 20NE (bioMérieux, Fransa) ve VITEK 2 ID-GNB (bioMérieux, Fransa) kartlarının güvenilir identifikasyon sağladığı gösterilmiştir (LiPuma vd., 2011). Ayrıca RapID NF Plus (Remel, ABD), Crystal Enteric/Nonfermenter ID (Becton Dickinson, ABD), Phoenix ID (Becton Dickinson, ABD) gibi diğer ticari sistemlerle de *S. maltophilia* tanımlanabilmektedir. Günümüzde, nükleik asit sekanslama veya kütle spektrofotometrisi temelli yöntemler fenotipik yöntemlere göre daha hızlı ve daha doğru sonuç sağlaması sebebiyle nonfermenterlerin identifikasyonunda daha sık kullanılmaya başlamıştır (Hall, 2015).

1.11.8.1 Antibiyotik Direnci

S. maltophilia β -laktam antibiyotikler, makrolidler, sefalosporinler, florokinolonlar, aminoglikozidler, karbapenemler, kloramfenikol, tetrasiklin, polimiksin ve SXT'de dahil olmak üzere birçok antibiyotiğe direnç gösterir. Düşük membran geçirgenliği, efluks pompaları, beta laktamazlar ve antibiyotik modifiye eden enzimler, *S. maltophilia*'nın intrinsek antibiyotik direncine katkıda bulunmaktadır (Brooke, 2012).

1.11.8.1.1 Beta-Laktam Direnci

S. maltophilia'nın kromozomal kodlanmış L1 ve L2 β -laktamazı vardır. L1; Ambler sınıf B, Zn bağımlı bir metallo- β -laktamazdır ve monobaktam dışındaki tüm β laktamları hidrolize eder. L2; Ambler sınıf A, klavulanik asit duyarlı bir sefalosporinazdır. Periplazmik translokasyon için L1 β -laktamaz bir Sec export sistemi kullanırken, L2 β -laktamaz Tat export sistemi kullanır (Brooke, 2012; Looney vd., 2009). Bu β -laktamazlar genellikle β -laktamlara maruz kalınca indüklenir (Looney vd., 2009).

1.11.8.1.2 Aminoglikozid Direnci

S. maltophilia'da aminoglikozid direnci; aminoglikozid modifiye eden enzimler, efluks pompaları ve ısıya bağlı dış membran proteinlerindeki değişiklikler nedeniyle olabilir. Kromozomal genler aminoglikozid-asetil-transferaz ve aminoglikozidfosfotransferaz'ı kodlar (Looney vd., 2009). Aminoglikozidlerin hücre içine alınmasındaki azalma, en önemli direnç mekanizmasıdır. Isıya bağlı dış membran değişikliği yaparak aminoglikozidlere duyarlılık azalmaktadır. Isı değişimi ile lipopolisakkarit yapıdaki O-polisakkarit ve fosfat parçalarının büyüklüklerindeki değişiklikler aminoglikozid duyarlılığını azaltır (Denton ve Kerr, 1998).

1.11.8.1.3 Kinolon Direnci

S. maltophilia'da kinolon direnci efluks pompaları (özellikle Sme DEF) ve azalmış dış membran geçirgenliği ile olur (Looney vd., 2009). Kinolona dirençli suşların çarpraz

reaksiyon ile kloramfenikol ve doksisikline de direnç gösterdikleri bildirilmiştir (Denton ve Kerr, 1998).

1.11.8.1.4 Makrolid Direnci

Diğer Gram negatif basiller gibi *S. maltophilia* da eritromisine orta duyarlıdır. Bunda ilaca karşı geçirgenliğin azalmasının yanı sıra birçok efluks pompasının etkisi 26 olabilir. Daha önce *Staphylococcus aureus*'da gösterilmiş olan eritromisine karşı direnç oluşturan mphBM, kadmiyumun hücreden atılmasını sağlayan cadA ve cadC bölgelerinin plazmid aracılığı ile *S. maltophilia*'ya aktarılabileceği gösterilmiştir (Alonso vd., 2000).

1.11.8.1.5 Trimetoprim/Sülfametoksazol Direnci

SXT'e direnç, sul1 taşıyan integronlara ve sul2 taşıyan insertion element common region (ISCR) elemanlarına bağlanmıştır. Class 1 integron ve ISCR elemanları vasıtasıyla sul genlerinin mobilizasyonu, SXT kullanımındaki artış ile muhtemelen artacaktır. Klinik tecrübeler göstermiştir ki SXT direnci tedavi sırasında ortaya çıkabilir (Looney vd., 2009). dfrA geni'nin, dihidrofolat redüktaz enzimini kodladığı ve *S. maltophilia*'da trimetoprim direncine neden olduğu bildirilmiştir (Brooke, 2012). Hu vd.(2011), dfrApozitif *S. maltophilia* isolatlarının class 1 integron taşıdıklarını ve SXT'ye karşı dirençli olduklarını göstermişlerdir. dfrA, sul2 ve sul1 genlerinin birlikte olması hem yüksek düzey SXT direncine hem de çoklu ilaç direncine yol açar (Hu vd., 2011).

1.11.9 Korunma

S. maltophilia enfeksiyonlarının önlenmesi için; uygunsuz antibiyotik kullanımından ve yabancı cisimlerin uzun süreli implantasyonundan kaçınılması, uygun steril tekniklerin uygulanması ve enfeksiyon kontrol rehberlerine uyulması, tıbbi malzemelerin dekontaminasyonunda ve sterilizasyonunda etkin protokollerin uygulanması, nozokomiyal etkenler açısından potansiyel risk taşıyan kaynaklardan (su sistemi, içilebilir su, el ve ağız yıkama suları, tıbbi aletler gibi) sürveyans için düzenli örnek alınması gerekmektedir (Tille, 2014; Durupınar ve Darka, 2008). Ayrıca

nötropenik hastaların, bu bakteri açısından daha güvenli olan karbonatlı suları içmeleri önerilmektedir. Nozokomiyal kolonizasyon enfeksiyon epidemisi durumunda el hijyeni uygulamalarının ve gerekli durumlarda eldiven kullanımının önemi vurgulanmalıdır (Durupınar ve Darka, 2008).

1.11.10 Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) rehberinde disk difüzyon yöntemi ile TMP/SMX, levofloksasin ve minosiklin için duyarlılık değerlendirme kriterleri bulunmaktadır. Ancak sıvı mikrodilüsyon, Etest veya agar dilüsyon öncelikli olarak tercih edilmesi önerilen duyarlılık test yöntemleridir (LiPuma vd., 2011).

CLSI rehberinde bu üç antibiyotiğe ilave olarak seftazidim, tikarsilin-klavulonat ve kloramfenikol için de minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) sınır değerleri mevcuttur (CLSI, 2014). EUCAST dokümanlarında sadece TMP/SMX için sınır değerler tanımlanmıştır ve bu ajanın bakteriyostatik özelliğinden dolayı disk difüzyon veya gradient difüzyon yöntemi kullanıldığında, inhibisyon sınırı değerlendirilirken, kenarlardaki hafif üreme göz ardı edilerek, %80 inhibisyonun dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır. Ayrıca diğer ajanlarla elde edilen duyarlılık sonuçlarının klinik yansımaları destekleyecek yeterli veri bulunmadığı belirtilmektedir (Abbott ve Peleg, 2015; EUCAST, 2016).

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETİ

Vojkan vd. (2018), *M. alba*, *M. rubra* ve *M. nigra* meyve ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerini araştırmışlardır. Birçok Gram (+) ve Gram (-) bakteriler üzerine etkilerini mikrodilüsyon yöntemi kullanarak çalışmışlardır. *M. rubra*'nın etkisinin diğer iki türe göre daha az olduğunu bildirmişlerdir.

Arif vd. (2017), *M. nigra* ekstraktının antioksidan, antibakteriyel ve akne tedavisi üzerine etkisini araştırmışlardır. *Propionibacterium acnes* üzerine 5 (% b/u) konsantrasyonu etkili olur iken; *Staphylococcus epidermidis* üzerine 2,5 (% b/u) konsantrasyonu etkili olduğu saptamışlardır. Aynı çalışmada 100-250 Mg/mL'lik konsantrasyonun antioksidan aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Ercişli vd. (2008), *M. nigra* ve *M. rubra* genotiplerinin fitokimyasal içeriklerini analiz etmişlerdir. Çeşitli genotiplerin sahip olduğu yüksek besinsel özelliklerin çeşitlilik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Thabti vd. (2011), *M. alba*, *M. nigra*, *M. rubra* yapraklarının antioksidan aktivitesi ve kompozisyonunu araştırmışlardır. Total fenolik ve total flavonoid açısından *M. rubra* diğer iki dut türüne göre çok daha zengin olduğu saptanır iken; total antosiyanin ve total karetonoid açısından diğer iki türün daha zengin olduğunu göstermişlerdir. Aynı araştırmada DPPH - IC_{50} değerinin ise yine *M. rubra*'nın daha etkili antioksidan aktivite gösterdiğini saptamışlardır.

Gundogdu vd. (2011), *M. nigra*, *M. alba*, *M. rubra* meyvelerinin kimyasal içeriklerini analiz etmişlerdir. Fenolik bileşikler açısından en zengin *M. rubra* meyveleri olduğu, sırasıyla *M. nigra*, *M. rubra*, *M. alba* antioksidan potansiyele sahip olduğunu göstermişlerdir.

Turan vd. (2016), yapmış oldukları araştırmada, akciğer ve prostat kanser hücreleri üzerine apoptosiz etkisini çalışmışlardır. *Morus* cinsine ait diğer türler araştırılmış iken *M. rubra*'nın herhangi sitotoksik etkisinin araştırılmadığını belirtmişlerdir. Hem prostat hem de akciğer kanser hücreleri üzerine potansiyel mitokondriyal membran canlılığını azalttığı, hücre ölümünün G1 fazında arttırdığını göstermişlerdir.

Gundogdu vd. (2011), yapmış oldukları araştırmada *Morus* cinsine ait *M. nigra*, *M. alba* ve *M. rubra*'nın kimyasal bileşik analizlerini çalışmışlardır. HPLC analizi sonucunda *M. nigra*'nın diğerlerine göre fenolik bileşik içerdiğini rapor etmişlerdir.

Suman vd. (2010), yapmış oldukları çalışmada *M. rubra* yaprak ekstraktlarının antidiyabetik etkinliğini araştırmışlardır. *M. rubra* yapraklarının su ekstraktlarının potansiyel bir anti-hiperglisemik ve antioksidan olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmalarında aynı zamanda nontoksik olduğunu da belirtmişlerdir.

Araştırmalar insan besin tüketiminde meyve ve sebzelerin kansere yakalanma riski arasındaki ters ilişkiyi ortaya çıkarmıştır (Kaur ve Kapoor, 2002). Bu sebeple meyve ve sebzelerin fitokimyasal içeriğinin çıkarılması ve antioksidan potansiyellerinin belirlenmesi bazı özel kanser türlerindeki tıbbi çalışmalara ışık tutması açısından önem teşkil etmektedir. Bu fitokimyasallardan en önemlileri; antosiyanin ve karotenoidler gibi doğal pigmentler, elajik asit, quercetin gibi fenolik maddeler, minareller, A, E ve C gibi vitaminler olarak sayılabilmektedir (Özgen ve Scheeren, 2006).

Meyvelerde kırmızı, mor-siyah ve mavi rengin oluşumunu sağlayan pigmentler olarak bilinen antosiyaninlerin, yapılan laboratuvar çalışmaları sonucunda, değişik türlerdeki kanser tümörlerinin tedavisinde etkili olduğu saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada kanserojen azoxymethane (AOM) ile temas ettirilen deney hayvanlarında siyah ahududu tozu ile beslenen farelerin %80 oranında daha az kanser hücresi oluşturduğu saptanmıştır (Özgen ve Scheerens, 2006)

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Gaziantep Üniversitesi kampüsü içinde Fizik Mühendisliği bahçesinde bulunan urmu dut ağacının, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Muhittin Doğan tarafından teşhisi yapılmıştır. Urmu dut meyvesi toplanıp, kurutma kağıdı üzerine serilerek gölgede kurutulmuştur. Kurutulan urmu dut meyveleri ekstraksiyon için öğütücü ile parçalanmıştır. Ekstraksiyon için çözücü ile beraber basınç uygulaması yapılmıştır. Ekstraksiyonda su, metanol çözücü olarak kullanılmıştır. Ekstraktlar diğer analizler yapılincaya kadar +4 °C'de saklanmıştır(Gülaçtı vd., 2007).

Ekstraksiyon metodunda kurutulmuş olan *M. rubra* meyvesi 5 gr olarak tartılmış Soxthern cihazının beherleri içine yerleştirilmiştir. Su için 5.1 bar basınçta, 2 saat boyunca 5 grama 150 ml distile su konularak 130 °C' de işleme tabi tutulmuştur. Metanol içinde aynı miktarlar kullanılarak su yerine 150 ml metonol eklenerek özütleme uygun sıcaklık ve süre belirlenerek gerçekleştirilmiştir. Elde edilen özütler Rotary Evaporator'de 90 °C'de evaporasyon (buharlaştırma) yöntemiyle metanol ve su uzaklaştırılmıştır. Hazırlanan özütler +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Özüt eldesi için soxhlet (Gerhardt EV 14, Germany) evaporatör (Heidolph Almanya) cihazı, çözücü olarak metanol (Merck, Germany), distile su (dH₂O) kullanılmıştır.

Çalışmalarımızda kullanılacak % 5'lik stok özüt için ise +4°C de bulunan su ve metonol özütlerinden 50 mg tartılmış ve üzerine 1000 ml distile su eklenmiştir. Özütlerin tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

3.2 Antioksidan Kapasite Belirleme Çalışmaları

Antioksidan –oksidan dengesi canlı için önemli bir dengedir. Oksidanların hücrelerin lipid, protein, enzim, karbonhidrat ve DNA gibi organik bileşikleri üzerine olumsuz etkileri olabilmektedir.

Hücre zarı üzerinde meydana gelen hasar nedeniyle DNA zincirlerinde rastgele kırılma ve bağlanma oluşabilmekte, enzimler ve yapısal proteinlerin hasara uğraması ile de hücre ölümü ile sonuçlanabilecek durumlar oluşabileceği gibi kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar ile diyabet ve otoimmün bozuklukların meydana gelmesinde önemli roller oynayabilirler (Cornelli, 2009; Pellegrini vd., 2009; Ratnam vd., 2006; Cemeli vd., 2009).

Serbest radikaller özellikle aerobik metabolizma sonucu çok miktarlarda ve devamlı üretilirler. Dış yörüngesinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren molekül ya da molekül parçaları serbest radikallerdir. Eşleşmemiş elektron serbest radikale önemli derecede kimyasal reaksiyona girme potansiyeli kazandırır (Sinclair vd., 1990).

Oksidanlar eğer antioksidan sistemleri yetersiz kaldığında DNA, protein ve lipid gibi makromoleküller üzerine oksidatif etki yaparak hasarlar oluştururlar. Oksidatif hasar yapı değişimi ile birlikte yaşlanma ve hücre ölümüne gidecek şekilde biyolojik süreçlere neden olurlar (Fraga vd., 1990; Stadtman, 1992; Berlett ve Stadtman, 1997; Çavuşoğlu, 2009; Büyükgözel, 2013).

Canlılar oksidatif zarara karşı enzimatik-nonenzimatik savunma sistemlerine yani antioksidan sistemlere sahiptirler (Halliwell, 1997; Kamath vd., 1998). Diyetlerinde bitki kökenli (karotenoid, vitamin C, folik asit, retinol) antioksidan tüketimi ile oksidatif hasarı engelleyerek etkilerinden korunabilmektedirler (Kapoor vd., 2009; Davidson ve Decker, 2009; Yılmaz, 2010).

Çalışmamızda *Morus rubra* L. (Urdu dut) özütünün toplam oksidan (TOS), toplam antioksidan (TAS) kapasitesinin belirlenmesi, potansiyel antioksidan potansiyelinin

ortaya konulması planlanmıştır. Çalışmanın TAS ve TOS bölümü Erel, O. (2004; 2005), yöntemine dayanarak ticari kit ile yapılmıştır.

3.2.1 Toplam Antioksidan Seviye (TAS) Analizi

M. rubra L. (Urmu dut) meyve özütlerinin antioksidan potansiyellerinin saptanması için ticari hazır kit temin edilmiştir. Çalışma protokolünde 50 mg/ml konsantrasyonunda stok olacak şekilde hazırlanmıştır. Antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS'yi renksiz indirgenmiş ABTS formuna dönüşmesine neden olurlar. Spektrofotometrik olarak 660 nm absorbanstaki değişim örneğimizin toplam antioksidan potansiyelini gösterir. Radikal olarak ABTS (2,2 AzinoBis (3-Etil Benzo Tiazolin-6-Sulfonik Asit)'i, Antioksidan olarak ise Vitamin E analogu olan Trolox yani sentetik anoksidan kullanılmaktadır (Halliwell, 1997; Gutteridge, 1984).

Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics TAS Assay Kit kullanılmıştır. Analizde TAS assay kit (Rel Assay Diagnostics, Korea), *Morus rubra* L. (Urmu dut) özüt, Spektrofotometre (Thermo Scientific, USA), Eliza plate kullanılmıştır.

Kit içerisinde;

Reagent 1: (Buffer)

Reagent 2 (Renkli ABTS Radikal Çözeltilisi)

Standart 1 (0,0mmol Trolox Equiv./L)

Standart 2 (1.00mmol TroloxEquiv./L)

Su antioksidan seviyesi ölçümü için, Reagent 1'den 200 µl alınıp kuyucuğa eklendi. Üzerine 12 µl % 5'lik su özütünden hazırlanmış olduğumuz konsantrasyonlar konuldu. Başlangıç absorbansı 660 nm spektrofotometrik olarak ölçüldü. Üzerine 30 µl Reagent 2 ilave edilip, 5 dakika 37 °C' de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 660 nm'de ikinci absorbans ölçümü yapıldı. Metanol antioksidan seviyesi ölçümü için ise yine Reagent 1'den 200 µl alınıp kuyucuğa eklendi. Üzerine 12 µl % 5'lik metanol özütünden hazırlanmış olduğumuz konsantrasyonlar konuldu. Başlangıç absorbansı 660 nm spektrofotometrik olarak ölçüldü. Üzerine 30 µl Reagent 2 ilave edilip, 5 dakika

37 °C' de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 660 nm'de ikinci absorbans ölçümü yapıldı. TAS değeri için aşağıdaki formül kullanılarak hesaplamalar yapıldı.

$$TAS \text{ (mmol/L)} = [\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ Örnek}] / [\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ Örnek}] \times 20$$

$\Delta Abs \text{ Std1}$: (Std1'in ikinci Abs.- Std1'in birinci Abs.)

$\Delta Abs \text{ Std2}$: (Std2'in ikinci Abs.- Std2'in birinci Abs.)

$\Delta Örnek Abs$: (Örneğin ikinci Abs.-Örneğin birinci Abs.)

3.2.2 Toplam Oksidan Seviye (TOS) Analizi

Kit Standart Solusyonları

Reagent 1 (Assay Buffer) 1x50ml

Reagent 2 (Prokromojen Solusyon) 1x10ml

Standart 1 (Blank Solusyon: deiyonize su)

Standart 2 solusyon 1x5ml

Standart çalışma solüsyonunun hazırlanması:

SSSS deiyonize su ile 40 kez seyreltilmiştir. Seyreltilmiş SSSS'ten 50 µl üzerine 10 ml deiyonize su ilave edilerek vortekslenerek, tekrar 50 µl alınıp ikinci kez 10 ml deiyonize su ilave edilerek ve vortekslenerek günlük çalışma standart 2 solüsyonu hazırlanmıştır. 200 µl Reagent 1 ve 30 µl örnek ya da hazırlanan standart solüsyonu ilave edilerek başlangıç absorbansı spektrofotometrik olarak 530 nm'de okunmuştur. Üzerine 10µl Reagent 2 ilave edilerek 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 2. kez 530 nm'de okunup hesaplamalar yapılarak TOS standart değeri belirlenmiştir (Erel, 2005).

Çalışma yapılırken su özütü oksidan ölçümü için; Reagent 1' den 200 µl eklenerek üzerine %5'lik su özütümüzden hazırlamış olduğumuz konsantrasyonlardan 30 µl eklendi. 530 nm' de ilk spektrofotometrik okuma gerçekleştirildi. Daha sonra 10µl Reagent 2 eklenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. Daha sonra 530 nm' de ikinci spektrofotometrik okuma yapıldı. Metanol özütü oksidan ölçümü için; Reagent 1' den 200 µl eklenerek üzerine %5'lik metanol özütümüzden hazırlamış olduğumuz konsantrasyonlardan 30 µl eklendi. 530 nm' de ilk spektrofotometrik okuma

gerçekleştirildi. Daha sonra 10µl Reagent 2 eklenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. Daha sonra 530 nm’ de ikinci spektrofotometrik okuma yapıldı. Aşağıdaki formül kullanılarak Total oksidan değerleri hesaplandı.

TOS Sonuçlarının Hesaplanması:

(Abs Örnek / Abs Standart2) X 20(Standart 2)

3.3 *Morus rubra* L. (Urdu dut) Bitkisinin Özüünün DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi:

3.3.1 DNA Koruyucu Aktivite

Endojen veya ekzojen kaynaklı faktörlerin etkisiyle genetik materyalde meydana gelen tüm değişikliklere DNA hasarı denir. Birçok faktörün etkisiyle Genomik DNA’nın yapısı tehdit altındadır(Kulaksız ve Sancar, 2007). DNA serbest radikallerden çok çabuk etkilenen bir moleküldür. Oksidanlar, antioksidanların yetersiz olduğu durumlarda DNA, protein ve lipid makromoleküllere hasar verirler. (Fraga vd., 1990, Stadtman, 1992). Reaktif oksijen çeşitleri DNA’da 20’den fazla oksidatif baz hasar ürünü meydana getirirler. Bu hasarlanan baz ürünleri, bazlar arasında 8-hidroksi-2’-deoksiguanozin (8-OHdG) oldukça hassas ve en çok görülen oksidatif DNA hasarı göstergesidir(Martinis ve Bianchi, 2002). Aktive olmuş nötrofillerden salınan H₂O₂ hücre zarından kolayca penetire olabildiğinden hücre nükleusuna kadar gidip oluşan hidroksil radikali dört DNA bazıyla kolayca reaksiyona girerek guanini, 8-hidroksiguanine çevirerek baz modifikasyonlarına neden olur bu da DNA hasarı oluşturur(Gutteridge, 1984). DNA hasarı, hücrenin yaşamı boyunca yaygın olarak görülen ve mutasyon, kanser, yaşlanma ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilen bir olaydır (Sancar vd., 2004).

pBR322 DNA (Vivantis, USA), H₂O₂, % 1.5’ lik agoroze jel (Applichem, Germany), distile su (dH₂O), UV translüminatör (DNR-IS, biolink blx 254, Fransa), jel dökümantasyon sistemi (DNR-IS, MiniBIS Pro), DMSO (Merck, Germany).

Özütlerin, DNA'yı UV ve oksidatif kaynaklı hasarlardan koruma etkinliklerinin tespiti için pBR322 plazmid DNA'si kullanılmıştır. Plazmid DNA'sı, özütlerin varlığında H₂O₂ ve UV uygulanarak hasara uğratılmıştır. Russo, vd. (2000), tarafından belirlenen metod uyarınca % 1.5'lik agaroz jel üzerinde görüntüleme gerçekleştirilmiştir.

Daha önce hazırlamış olduğumuz *Morus rubra*'nın % 5' lik metanol ve su stok solüsyonu ile aşağıda belirtilmiş olan oran ve değerler kullanılarak DNA koruyucu aktivitesi için konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Çalışmada bu miktarlar kullanılmıştır.

1/10 için *Morus rubra* L. Su Özütü(5 µl) + dH₂O(45 µl)

1/5 için *Morus rubra* L. Su Özütü(10 µl) + dH₂O(40 µl)

1 /2,5 için *Morus rubra* L. Su Özütü(20 µl) + dH₂O(30 µl)

1/1,25 için *Morus rubra* L. Su Özütü(40 µl) + dH₂O(10 µl)

1/10 için *Morus rubra* L. Metanol Özütü(5 µl) + dH₂O(45 µl)

1/5 için *Morus rubra* L. Metanol Özütü(10 µl) + dH₂O(40 µl)

1 /2,5 için *Morus rubra* L. Metanol Özütü(20 µl) + dH₂O(30 µl)

1/1,25 için *Morus rubra* L. Metanol Özütü(40 µl) + dH₂O(10 µl)

3.3.1.1 Agaroz Jelin Hazırlanması

1. Bu deneyde elektroforez tankını doldurmak ve jel hazırlamak için % 1'lik TBE tamponu kullanılmaktadır. Erlenmayer içindeki 100 ml 1x TBE tamponuna % 1,25 konsantrasyonda olacak şekilde 1,25 g toz agaroz eklenmiştir.
2. Tampon içindeki agarozun erimesi için yeterli süre mikrodalga fırında tutulmuştur.
3. Çözelti 60 C'ye kadar soğutulmuştur.
4. DNA'nın uygulanacağı kuyucukları oluşturmak için cam plakanın yüzeyinden yaklaşık olarak 0,5-1 cm yukarıya tarak yerleştirilmiştir.
5. Agaroz jelin üzerine 25 µl etidyum bromür eklenir. Ilık agaroz çözeltisi kalıbın içine dökülür. Jelin kalınlığı 3-5 mm arasında olmalıdır. Tarağın arasında veya altında hava kabarcıklarının olmamasına dikkat edilmiştir.

6. Jel oda sıcaklığında donması için yaklaşık 1-1,5 saat bekletilmiştir. Jel donduktan sonra tarak ve cam plakanın kenarları dikkatle çıkarılıp jel, elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

3.3.1.2 Kontrol ve Özütlerin Hazırlanması

K1: PlazmitDNA (3µl) + dH₂O (6 µl)

K2: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O(6 µl) + UV(5dk) + H₂O₂ (1 µl)

M1/1,25(*Morus rubra* L.Metanolözütü 5µl)+PlazmidDNA(3µl)+UV(5dk)+H₂O₂(1µl)

M1/2,5(*Morus rubra* L.Metanol özütü5µl)+Plazmid DNA(3µl)+UV(5dk)+ H₂O₂(1µl)

M1/5(*Morus rubra*L. Metanol özütü 5µl) +Plazmid DNA (3µl)+ UV(5dk)+H₂O₂(1µl)

M1/10 (*Morus rubra* L. Metanol özütü 5µl)+Plazmid DNA(3µl)+UV(5dk)+H₂O₂(1µl)

S1/1,25(*Morus rubra* L. Su özütü 5 µl) +Plazmid DNA (3µl) + UV(5dk) + H₂O₂ (1µl)

S1/2,5(*Morus rubra* L. Su özütü 5 µl)+ Plazmid DNA (3µl) + UV(5dk) + H₂O₂ (1 µl)

S1/5 (*Morus rubra* L. Su özütü 5 µl) +Plazmid DNA (3µl) + UV(5dk) + H₂O₂ (1 µl)

S1/10(*Morus rubra* L. Su özütü 5 µl) +Plazmid DNA (3µl) + UV(5dk) + H₂O₂ (1 µl)

Özütlerden 5 µl alınarak ependorf tüp içerisine eklenmiştir. Tüplerin içerisine 3 µl pBR322 plazmid DNA'sı ve 1 µl H₂O₂ eklenmiştir. Örneklerin bulunduğu tüplerle 2 nolu kontrol tüpü ve diğer hazırlanan su ve metanol özütleri 5 dakika UV-C (260 nm)'ye maruz bırakılmıştır. Tüplerin üzerlerine 5 µl yükleme tamponu eklenerek bu karışımdan 10 µl alınıp, yaklaşık 1mm derinliğindeki tampon içinde gömülü halde bulunan jelin kuyucuklarına yavaşça yüklenmiştir. Bu deneyde bromfenol mavisi ve süktroz içeren yükleme tamponu kullanılmıştır. Tankın kapağı kapatılıp elektrik bağlantıları yapıldıktan sonra elektroforez 100 Volt ve 60 dakikaya ayarlanarak çalıştırılmıştır. Jelin fotoğrafını çekmek için jeli alttan ve üstten aydınlatan ultraviyole ışık kaynağı kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforezi uygulamalarından sonra jel dökümantasyon sisteminde görüntülenerek fotoğrafları elde edilmiştir. Plazmid DNA ¼ oranında seyreltilmiştir.

3.4 *Stenotrophomonas maltophilia* Bakterisine Karşı Antibakteriyel Etkinlik Testi

Morus rubra L. (Urdu dut) özütlerinin, antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi için *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisi kullanılmıştır. *Stenotrophomonas maltophilia* suşları Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı öğretim üyesi Prof. Dr. Yasemin ZER'den temin edilmiştir. Antimikrobiyal belirlenebilmesi için Disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite tayini amacıyla disk difüzyon testi European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterleri göz önüne alınarak uygulanmıştır.

3.4.1 Disk Difüzyon (Antibiyogram) Testi

Genellikle bazı bakteri ve mantar gibi canlı mikroorganizmalar tarafından üreme ortamlarında sentezlenen birçok mikroorganizmanın üremesini durdurucu ve öldürücü etki gösteren ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan maddelere antibiyotik denir. Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin canlılar üzerinde olumsuz etkilerine de rastlanabilmektedir.

- ✓ Mikropipet
- ✓ Mueller-Hinton Agar
- ✓ Bakteri suşu *S.maltophilia*
- ✓ İnkübatör
- ✓ Vorteks
- ✓ McFarland Cihazı
- ✓ Petri kapları
- ✓ Eküvyon çubuk
- ✓ Blank disk (6mm)
- ✓ Otoklav
- ✓ Hassas Terazî

Urdu dut (*Morus rubra*) antimikrobiyal belirlenebilmesi için Disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite tayini amacıyla disk difüzyon testi European

Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterleri göz önüne alınarak uygulanmıştır.

Daha önce hazırlanmış olan % 5 Urmu Dut su ve metanol özütlerinden seyreltme işlemi ile 4 farklı konsantrasyon hazırlanmış ve sonra bu solüsyonlardan 6mm çapındaki steril blank (boş) disklerle 30µl olmak üzere emdirilmiştir.

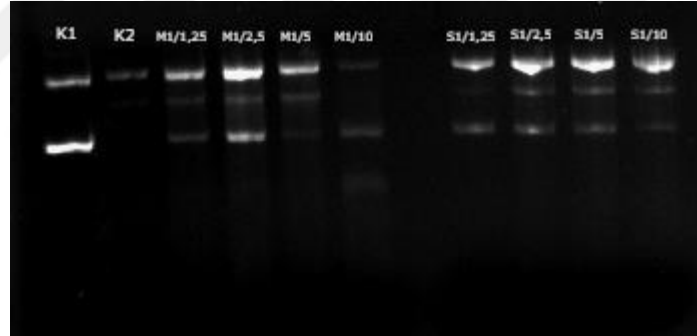
Daha sonra önceden besiyerlerinde üreme kontrolleri yapılan *S. maltophilia* bakteri suşundan bir miktar alınarak ayrı ayrı SF içerisinde 0.5 Baryum Sülfat Bulanıklık Standartı baz alınarak Mcfarland cihazında belirlemeler yapılmıştır. Süspanse hale getirilerek vortekslenerek bu süspansiyonlar steril eküvyon yardımı ile alınan örnek Mueller-Hinton agar yüzeyine 100 µl inoküle edilmiş ve disk difüzyon için kullanılmak amacıyla ekimi gerçekleştirilmiştir. Bu basamakları takiben Urmu dut su ve metanol emdirilmiş diskler steril bir pens ile agar yüzeyine yerleştirilir. İşlem sırasında oluşacak zonların net şekilde ölçülebilmesi için disklerin arasında 22 mm, petri kabı kenarından ise 14 mm uzaklıkta olmasına özen gösterilmiştir. Sonra besiyerleri 24 saat süreyle 37°C' de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun tamamlanmasının ardından meydana gelen zonların çapları cetvel ile ölçülmüştür ve daha sonra değerlendirmek amacıyla kayda alınmıştır.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 DNA Koruyucu Aktivitesi Belirlenmesinde Elde Edilen Sonuçlar

DNA koruyucu aktivite çalışması ile *M. rubra* (urmu dut) meyvesinin farklı konsantrasyonlardaki su ve metanol özütünün DNA koruyucu etkisine bakılmıştır. Sonuçlara göre su özütünün DNA koruyucu etkisi yok iken, metanol özütü konsantrasyonlarından M1/2,5 metanol özütü konsantrasyonunun DNA' yı koruyucu etkisi olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.1 Jel görüntüsü

K1: PlazmitDNA (3µl) + dH₂O (6 µl)

K2: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O(6 µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)

M1/1,25(*Morus rubra* L. Metanol özütü 40 µl) Plazmid DNA (3µl)+UV+H₂O₂ (1 µl)

M1/2,5(*Morus rubra* L.Metanol özütü 40µl) Plazmid DNA (3µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)

M1/5(*Morus rubra* L. Metanol özütü 40 µl) Plazmid DNA (3µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)
M1/10(*Morus rubra* L. Metanol özütü 40 µl) Plazmid DNA(3µl)+UV + H₂O₂ (1 µl)
S1/1,25(*Morus rubra* L. Su özütü 40 µl) Plazmid DNA (3µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)
S1/2,5(*Morus rubra* L. Su özütü 40 µl) Plazmid DNA (3µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)
S1/5(*Morus rubra* L. Su özütü 40 µl) Plazmid DNA (3µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)
S1/10(*Morus rubra* L. Su özütü 40 µl) Plazmid DNA (3µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)

4.2 TAS ve TOS Aktivite Sonuçları

M. rubra (urmu dut) meyvesinin farklı konsantrasyonlardaki su ve metanol özütlerinin, ticari kit ile Total antioksidan ve Total oksidan seviyelerine bakılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu referans değerler ile karşılaştırıldığında, *M. rubra* (urmu dut) meyvesinin su ve metanol özütlerinin yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu, ayrıca oksidan seviyesinde iyi seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.1 TAS referans değerleri

TAS REFERANS DEĞERLERİ (mm Trolox Equiv/L)		
>2.0		Çok iyi
1,45	2,0	Normal
1,2	1,45	Normal Kabul Edilebilir
1	1,1	Düşük Antioksidan Seviyesi
<1,20		Çok Düşük Antioksidan Seviyesi

Tablo 4.2 TOS Referans değerleri

TOS REFERANS DEĞERLERİ (µmol H ₂ O ₂ Equiv/L)		
<5.0		Çok iyi
8	5	Normal
12	8	Yüksek Oksidan Seviyesi
>12		Çok Yüksek Oksidan Seviyesi

Tablo 4.3 TAS ve TOS su sonuçları

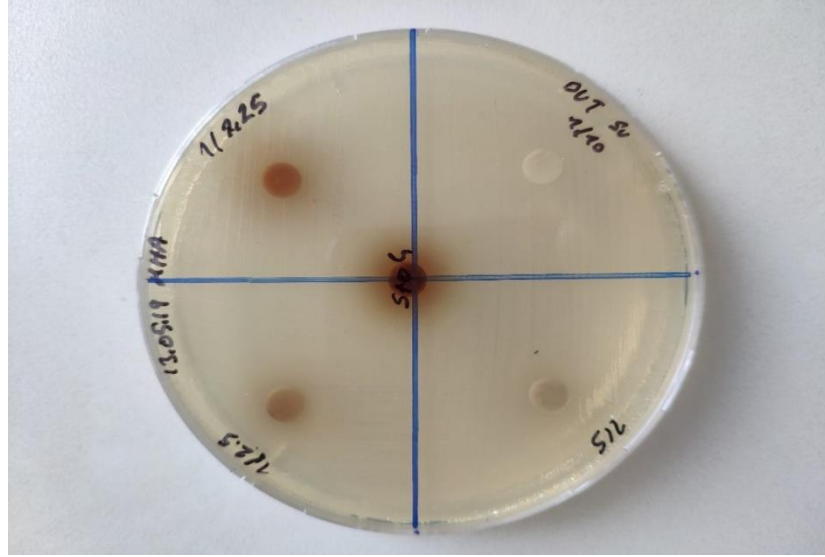
<i>M.rubra</i> su ekstraktı (μl)	Tas Değeri	Tos Değeri
40	4,292	6,841
20	4,273	5,263
10	4,262	4,362
5	4,138	4,353

Tablo 4.4 TAS ve TOS metanol sonuçları

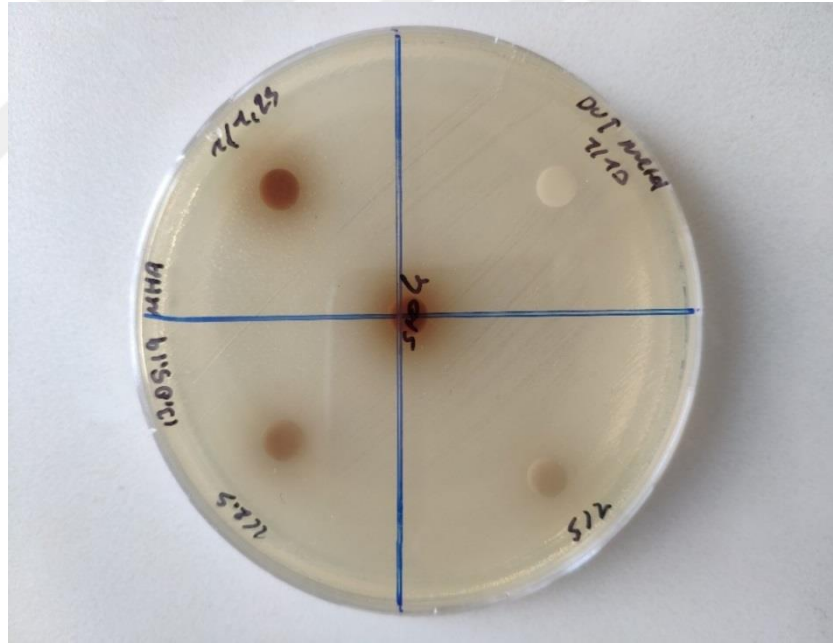
<i>M.rubra</i> Metanol ekstraktı (μl)	Tas Değeri	Tos Değeri
40	4,277	4,146
20	4,262	4,007
10	4,228	3,992
5	4,191	3,970

4.3 Disk Difüzyon (Antibiyogram) Testi Sonuçlar

M. rubra (urmu dut) meyvesinin farklı konsantrasyonlardaki su ve metanol özütlerinin *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisi üzerine antibakteriyel etkisinin olup olmadığı disk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda *Morus rubra* (urmu dut) meyvesinin su ve metanol özütlerinin *S. maltophilia* bakterisi üzerine antibakteriyel bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.2 Urme dut su özütünün disk difüzyon sonucu



Şekil 4.3 Urme dut metanol özütünün disk difüzyon sonucu

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

M. rubra meyvesi, su ve metanol ekstraktlarından hazırlanmış olan konsantrasyonlarda yüksek antioksidan ve düşük oksidan özellik göstermiştir. Bu sonuç literatürdeki diğer çalışmalarla da benzerlik göstermektedir. *M. rubra* meyvesinin yine farklı konsantrasyonlardaki su ve metanol özütleri ile yapılan DNA koruyucu çalışmasında, su özütlerinin H₂O₂ ve UV'ye karşı DNA'yı koruyucu özelliğinin olmadığı gözlemlenmiş, metanol özütü konsantrasyonlarından ise M1/2,5 konsantrasyonunun H₂O₂ ve UV'ye karşı DNA'yı koruyucu özelliğinin olduğu görülmüştür. Bu analiz ilk bizim çalışmamızda yapılmıştır. *M. rubra* meyvesinin farklı konsantrasyonlardaki su ve metanol özütünün *S.maltophilia* bakterisi üzerine yapılan antibakteriyel etkinlik çalışması sonucunda ise herhangi bir etkinin olmadığı görülmüştür. Bu analizde literatür açısından ilk bizim çalışmamızda yapılmıştır.

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda bitkilerin çeşitli kısımlarının antioksidan, antifungal, antibakteriyel, antiviral, antikarsinogenik gibi özelliklerini saptamaya yönelik araştırmalar olduğu görülmektedir. Mevcut endüstriyel, gıda, kozmetik ve tedavi amaçlı kullanılan ürünlerdeki birçok kimyasal ve bitkisel bileşiğin gerek yan etkilerinin saptanması, gerekse gelişen direnç gibi faktörler yeni etkin aday bileşiklerin araştırılmasını zorunlu kılmaktadır. Bilim adamları birçok bitkinin yaprağı, gövdesi, kökleri ve meyvelerinin gerek kimyasal içeriklerini gerekse biyoaktif özelliklerini araştırmışlar ve araştırmaya devam etmektedirler.

Türkiye' de *M. rubra*'nın yayılış alanı olarak Erzurum, İzmir, Kütahya, Kayseri, Malatya, Diyarbakır, Bilecik, Sakarya, Amasya, Tekirdağ, Denizli, Isparta ve Hatay illeri söylenebilir (Davis, 1982). *M. rubra*'nın meyvesi ve yapraklarından çeşitli şekilde faydalanılmakta olup her evde, bahçede yetiştirilen dut üzerinde yapılan araştırma diğer meyve çeşitleriyle kıyaslandığında oldukça azdır.

Dutların antibakteriyel etkinliğine yönelik Vojkan vd. ve Arif vd. araştırmalar yapmışlardır. Bu çalışmalarda Gr(+) ve Gr(-) bakteriler üzerine etkin olduklarını rapor etmişlerdir. Vojkan vd., araştırmasında *M. rubra*'nın diğer iki türe göre antibakteriyel etkinliğinin daha az olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda *M. rubra*'nın *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisi üzerine antibakteriyel etkinliğinin olmadığı saptanmıştır.

Arif vd. (2017); Thabti vd. (2011); Suman vd. (2010), çeşitli dutların yaprak ve meyvelerinin antioksidan özelliklerini araştırmışlar ve iyi antioksidan kapasiteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda *M. rubra* meyvesinin su ve metanol özütlerinin antioksidan potansiyeli konsantrasyonuna bağlı olarak çalışılmış ve en düşük konsantrasyonda bile yüksek antioksidan etki gösterdiği saptanmıştır. Aynı zamanda oksidan olmadığıda ortaya konulmuştur.

M. rubra'nın su ve H₂O₂ 'nin DNA hasarı üzerine herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. İlk kez bizim çalışmamızda bu analiz yapılmıştır. Konsantrasyona bağlı olarak DNA hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği ortaya konulmuştur. Bunların dışında birçok fitokimyasal antidiyabetik, antikarsinojenik özellikleri araştırılmıştır.

Sonuç olarak; *M. rubra* meyvesinin su ve metanol özütlerinin *S. maltophilia* bakterisi üzerine antibakteriyel etkisi, antioksidan-oksidan potansiyeli, DNA hasarı üzerine koruyucu etkileri bu tez çalışmasında araştırılmıştır. *S. maltophilia* bakterisi ve DNA hasarı üzerine etkileri ilk kez bu tez çalışmasında araştırılmıştır.

Çalışmamız *M. rubra* (urmu dut) meyvesinin, farklı konsantrasyonlardaki su ve metanol ekstraktlarının yüksek antioksidan ve düşük oksidan olduğu saptanmıştır. *M. rubra* meyvesinin yine farklı konsantrasyonlardaki su ve metanol özütleri ile yapılan DNA koruyucu çalışmasında, su özütlerinin H₂O₂ ve UV'ye karşı DNA'yı koruyucu özelliğinin olmadığı gözlemlenmiş, metanol özütü konsantrasyonlarından ise M1/2,5 konsantrasyonunun H₂O₂ ve UV'ye karşı DNA'yı koruyucu özelliğinin olduğu görülmüştür.

M. rubra (urmu dut) meyvesi özütünden elde edilen konsantrasyonlarla, *S. maltophilia* bakterisi üzerine antibakteriyel etkinlik çalışması sonucunda, urmu dut özütünün konsantrasyonlarının *S. maltophilia* bakterisi üzerine herhangi bir etkinliği saptanmamıştır.

Piyasada hali hazırda bulunan, UV koruyucu etkisi olduğu düşünülen oxybenzon ve retinil palmitat güneş kremleri, kişisel bakım ürünleri, el ve vücut kremleri içerisinde bulunan aktif bileşenler olarak çok sık kullanılmaktadır (Downs vd., 2015). Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalar ve araştırmalar sonucunda kozmetik ürünlerinin vazgeçilmezi haline gelen bu bileşenlerin yan etkilere sahip oldukları bildirilmiştir. Bunun yanı sıra Oxybenzonun genotoksik ve endokrin sistemi negatif yönde etkileyen bir bileşen olduğu rapor edilmiştir (Zachary vd., 2017). Bu kadar yan etkiye sahip olan ve yaygın kullanılan bu bileşiklere alternatif, yan etkisiz bileşiklerin aranması ve saptanması önem kazanmıştır.

Sonuç olarak; *M. rubra* (urmu dut) meyvesinin, yüksek antioksidan olması ve UV'ye karşı koruyucu olması insan sağlığı, farmokoloji ve endüstriyel açıdan önem arz etmektedir. Çalışmalarımızda elde ettiğimiz sonuçlar, *M. rubra* (urmu dut) meyvesinin yüksek koruyucu potansiyele sahip olması ve kullanılan bitkinin yan etkilerinin olmaması ile bu potansiyelin değerlendirilmesini daha uygun hale getirmektedir. Bu çalışma sonuçları açısından, ileride yapılacak olan çalışmalar için de bir temel oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

Abbott, I. J., Peleg, A. Y.(2015). *Stenotrophomonas*, *Achromobacter*, and nonmelioid *Burkholderia* species: antimicrobial resistance and therapeutic strategies. *Semin Respir Crit Care Med*; **36(1)**:99-110.

Adjidé, C. C., De Meyer, A., Weyer, M., Obin, O., Lamory, F., Lesueur C., Trouillet, L., Biendo, M., Ganry, O. (2010). A Sensitive, Specific and Predictive Isolation Medium Developed for *Stenotrophomonas maltophilia* Study in Healthcare Settings. *Pathol Biol (Paris)*; **58(1)**:11-7.

Alonso, A., Sanchez, P., Martínez, J. L. (2000). *Stenotrophomonas maltophilia* D457R Contains a Cluster of Genes from Gram-positive Bacteria Involved in Antibiotic and Heavy Metal Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **44(7)**, 1778-1782.

Ambrose, J. D., D. Kirk. (2004). National recovery strategy for Red Mulberry (*Morus rubra* L.). Guelph, Ontario.

Arif, B., Aulifa, D. L., Satria W. K. A., Sulastri A. (2017). Antibacterial and Antioxidant Activity of *Morus nigra*. Extract for Acne Treatment. **9(5)**: 611-614

Asımgil, A. (1997). Şifalı Bitkiler, *Timaş Yayınları*, İstanbul, **352** s.

Bae, S. H., Suh, H. J.(2007). Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT Food Science and Technology*, **40**: 955-962

Baytop, T. (1984). Türkiye’ de Bitkiler İle Tedavi. *İstanbul Üniversitesi Yayınları* No:3255, *Eczacılık Fakültesi Yay.*, No: 40, İstanbul.

Berkow, R., Beers, M. D. (1997). *M. The Merck Manual of Medical Information*, U.S. 985

Berlett, B. S., Stadtman, E. R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stres. *J. Biol. Chem.* **272(33)**, 20313-20316.

Bremness, L. (1999). Şifalı Otlar, Çeviren Nejat Ebcioğlu, *İnkılâp Kitabevi Yayın San. Tic. A.Ş.*, İstanbul, 240.

Brooke, J.S. (2014). New strategies against *Stenotrophomonas maltophilia*: a serious worldwide intrinsically drug-resistant opportunistic pathogen. *Expert Rev Anti Infect Ther*; **12(1)**:1-

Brooke, J. S. (2012). *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clinical microbiology reviews*, **25(1)**, 2-41.

Büyükgüzel, E. (2013). Protein Oksidasyonun Biyokimyasal ve Moleküler Mekanizması. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*. **3(1)**, 40-51

Cemeli, E., Baumgartner, A., Anderson, D. (2009). Antioxidants and the Comet assay. *Mutat Res.* **681**, 51–67.

Chan, K. (2003). Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Chemosphere*. **52(9)**, 1361-71.

Chang, Y. T., Lin, C. Y., Chen, Y. H., Hsueh, P. R. (2015). Update on infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. *Front Microbiol*; **6**:893.

Cheeseman, K. H., Slater T. F. (1993). Free radicals in medicine. *Churchill Livingstone Pub. British Med. Bull.*, **49**: 479-724.

Chhibber, S., Gupta, A., Sharan, R., Gautam, V., Ray, P. (2008). Putative virulence characteristics of *Stenotrophomonas maltophilia*: a study on clinical isolates. *World J Microbiol Biotechnol*. **24**:2819-25.

Coenye, T., Vanlaere, E., Falsen, E., Vandamme, P. (2004). *Stenotrophomonas africana* Drancourt et al. 1997 is a later synonym of *Stenotrophomonas maltophilia* (Hugh 1981) Palleroni and Bradbury 1993. *Int J Syst Evol Microbiol.* **54**(Pt. 4):1235-7.

Cornelli, U. (2009). Antioxidant use in nutraceuticals. *Clin Dermatol.* **27**, 175–94.

Crossman, L. C., Gould, V. C., Dow, J. M. (2008). The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. *Genome Biol.* **9**(4): R74.

Çavuşoğlu, C. (2009). Gestasyonel Diabetes Mellitus Olgularında Oksidatif Stres Durumu, TNF- α ve IL-6 Düzeyleri. (Uzmanlık Tezi)

Davis, P. H. (1982). Flora Of Turkey and the east aegean Islands. University Of Edinburg, England. Vol.7.

Davidson, G. P., Decker, T. R. (2009). Chemopreventive Role of Fruits and Vegetables in Oropharyngeal Cancer. *Nutr Clin Pract.* **24**, 250–60.

De Martinis, B. S., De Lourdes Pires Bianchi, M. (2002). Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. *Pharmacol Res.* **46**(2), 129-31.

De Oliveira-Garcia, D., Dall'Agnol, M., Rosales, M., Azzuz, A. C., Martinez, M. B., Girón, J. A.(2002). Characterization of flagella produced by clinical strains of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Emerg Infect Dis.* **8**(9):918-23.

De Oliveira-Garcia, D., Dall'Agnol, M., Rosales, M. (2003). Fimbriae and adherence of *Stenotrophomonas maltophilia* to epithelial cells and to abiotic surfaces. *Cell Microbiol.* **5**(9):625-36.

Denton, M., Hall, M. J., Todd, N. J., Kerr, K. G., Littlewood, J. M.(2006). Improved isolation of *Stenotrophomonas maltophilia* from the sputa of patients with cystic fibrosis using a selective medium. *Clin Microbiol Infect.* **6(7)**:397-8.

Denton, M., Kerr, K. G. (1998). Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev.* **11(1)**:57-80.

Di Bonaventura, G., Spedicato, I., D'Antonio, D., Robuffo, I., Piccolomini, R. (2004). Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia*: modulation by quinolones, trimethoprim-sulfamethoxazole, and ceftazidime. *Antimicrob Agents Chemother* **48(1)**:151-60.

Dikilitaş, M., Güldür, M. E., Deryaoğlu, A., Erel, O. (2011). A novel method of measuring oxidative stress of pepper (*Capsicum annuum* var. Charlee) infected with tobacco mosaic virüs, *Journal of Applied Biosciences*, **37**: 2425-2433.

Downs, C. A., Kramarsky-Winter, E., Segal, R., Fauth, J., Knutson, S., Bronstein, O., Frederic R. C., Rina J., Yona L., Cheryl M. W., Paul P., Kelli C., Ariel K., Yossi L. (2015). Toxicopathological Effects of the Sunscreen UV Filter, Oxybenzone (Benzophenone-3), on Coral Planulae and Cultured Primary Cells and Its Environmental Contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands, *Arch Environ Contam Toxicol*, **70**: 265–288.

Duke, J. A. (1983). *Morus alba* L., Handbook of Energy Crops (unpublished). (www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Morus_alba.html)

DuMont, A. L., Karaba, S. M., Cianciotto, N. P. (2015). Type II secretion-dependent degradative and cytotoxic activities mediated by *Stenotrophomonas maltophilia* serine proteases StmPr1 and StmPr2. *Infect Immun.* **83(10)**:3825-37

Durupınar, B., Darka, Ö. (2008). *Stenotrophomonas maltophilia* ve Burkholderia Türleri. Topçu A. W, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre Enfeksiyonlar.3.baskı, *İstanbul, Nobel tıp kitapçevleri.* 2187-2190

Elmacı, Y., Altuğ, T. (2002). Flavour evaluation of three black mulberry (*Morus rubra*) cultivars using GC/MS, chemical and sensory data. *J. Sci. Food Agric.* **82**, 632–635.

Ercişli S., Orhan E. (2008). Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from northeast Anatolia region of Turkey. *Scientia Horticulturae*, **116**:41-46

Erdoğan, Ü., Pırlak, L. (2005). Ülkemizde Dut (*Morus* spp.) Üretimi ve Değerlendirilmesi, *Alatarım*. **4(2)**: 38-43

Erel, O. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* **37**, 112-119.

Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* **38**, 1103–1111.

Falagas, M. E., Valkimadi, P. E., Huang, Y. T., Matthaiou, D. K., Hsueh, P. R. (2008). Therapeutic options for *Stenotrophomonas maltophilia* infections beyond co-trimoxazole: a systematic review. *J Antimicrob Chemother.* **62(5)**:889-94.

Ferrari, R., Ceconi, C., Curello, S., Cargnoni, A., Condorelli, E., Raddino, R. (1985). Role of oxygen in myocardial ischemic and reperfusion damage: Effect of alpha-tocopherol. *Acta Vitaminol. Enzymol.* **7**: 61-70

Fraga, C. G., Shigenaga, M. K., Park, J. W., Degan, P., Ames, B. N. (1990). Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **87 (12)**, 4533-4537.

García, C. A., Passerini, De., Rossi, B., Alcaraz, E., Vay, C., Franco, M. (2012). Siderophores of *Stenotrophomonas maltophilia*: detection and determination of their chemical nature. *Rev Argent Microbiol.* **44(3)**:150-4.

Grieve, M. (2002). Mulberry common. <http://botanical.com/botanical/mgmh/m/mul.com62>. (Eriřim tarihi: 10.08.2009).

Gundogdu, M., Muradoglua, F., Gazioglu, R. I., Sensoy, B., Yilmaz C. (2011). Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. *HPLC Scientia Horticulturae*. **132** :37–41

Gutteridge, J. M. C. (1984). Lipid peroxidation initiated by superoxide dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. Division of Antibiotics and Chemistry, National Institute for Biological Standards and Control, Holly Hill, Hampstead, London NW6RB, England. *FEBS Lett.* **172**, 245-9.

Gülaçtı, T., Ay, M., Bilici A., Sarıkurku, C. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*. **103**(3):816-822

Gümüřatam, G. (2010). Eski Anadolu Türkçesinde eczacılık terimleri ve bu terimlerin tıp, botanik, zooloji, madencilik, kimya terimleriyle ilişkileri. International Periodical For The Languages. *Literature and History of Turkish or Turkic*. **5**(2), 1032-1087.

Güngör, N., Sengül, M. (2008). Antioxidant activity, total phenolic content and selected physicochemical properties of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *International Journal of Food Properties*, 11: 44-52.

Hall, G. S. (2015). Nonfermenting and miscellaneous Gram-negative bacilli. In: Mahon C. R., Lehman D. C., Manuselis G (eds), *Textbook of diagnostic microbiology (5th ed)* Elsevier, Missouri. pp. **474-94**.

Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: A general introduction. *Nutr. Rev.* **55**(1):S44–S52.

Heather, V. Q., Michael, G. A., Melissa H. F., Mary M. (2010). *Ptychosperma elegans*, Solitaire Palm.

- Hu, L. F., Chang, X., Ye, Y., Wang, Z. X., Shao, Y. B., Shi, W., ve Li, J. B. (2011). *Stenotrophomonas maltophilia* resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole mediated by acquisition of sul and dfrA genes in a plasmid-mediated class 1 integron. *International journal of antimicrobial agents*, **37**(3), 230-234.
- Huang, T. P., Somers, E. B., Wong, A. C. (2006). Differential biofilm formation and motility associated with lipopolysaccharide/exopolysaccharide-coupled biosynthetic genes in *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Bacteriol.* **188**(8):3116-20.
- Hugh, R., Leifson, E. (1963). A description of the type strain of *Pseudomonas maltophilia*. *Int Bull Bacteriol Nomencl Taxon.* **13**(3):133-8.
- Hugh, R., Ryschenkow, E. (1961). *Pseudomonas maltophilia*, an alcaligenes-like species. *J Gen Microbiol.* **26**:123-32.
- Huo, Y. (2002). Mulberry Cultivation and Utilization in China. Mulberry for Animal Production, *FAO Animal Production and Healt Paper.* **147**: 11-44.
- Jena, N. R. (2012). DNA damage by reactive species: Mechanisms, mutation and repair. *J.Biosci.* **37**, 503-517
- Kamath, U., Rao, G., Raghothama, C., Rai, L., Rao, P. (1998). Erythrocyte indicators of oxidative stres in gestational diabetes. *Acta Pediatr.* **87**, 676-679.
- Kapoor, V. K., Chadha, R. (2009). Herbals in the control of ageing. *Drug Discov Today.* **14**(19–20), 992–8.
- Karaba, S. M., White, R. C., Cianciotto, N. P. (2013). *Stenotrophomonas maltophilia* encodes a type II protein secretion system that promotes detrimental effects on lung epithelial cells. *Infect Immun.* **81**(9):3210-9.

Kaur, C., Kapoor, H. C.(2002). Anti-oxidantactivity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Inter. J. Food Sci. and Tech.* **37**, 153-161.

Koca, I., Ustun, N. S., Koca, A. F., Karadeniz, B. (2008). Chemical composition, antioxidant activity and anthocyanin profiles of purple mulberry (*Morus rubra*) fruits *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol. **6(2)** : 39-42 .

Kulaksız, G., Sancar, A. (2007). Nükleotid eksizyon onarımı ve kanser. *Turk J Biochem.* **32(3)**, 104-111.

Lale, H., Özçağiran, R. (1996). Dut Türlerinin Pomolojik, Fenolojik ve Bazı Meyve Kalite Özellikleri Üzerinde Bir Çalışma. *Derim*, **13(4)**: 177-182.

Lee, M., Woo, S. G., Chae, M., Shin, M. C., Jung, H. M., Ten, L. N. (2011). *Stenotrophomonas daejeonensis* sp. nov., isolated from sewage. *Int J Syst Evol Microbiol.* **61(Pt. 3)**:598-604.

Liaw, S. J., Lee, Y. L., Hsueh, P. R. (2010). Multidrug resistance in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*: roles of integrons, efflux pumps, phosphoglucosyltransferase (SpgM), and melanin and biofilm formation. *Int J Antimicrob Agents.* **35(2)**:126-30.

Lin, J. Y., C. Y, Tang. (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables,as well as their stimulatory effects on Mouse splenocyte proliferation. *Food Chem.* **101**, 140-147.

LiPuma, J., Currie, B., Peacock, S., Vandamme, P. (2011). *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Cupriavidus*, *Pandora*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Delftia*, and *Acidovorax*. In: Versalovic J, Carroll K, Funke G, Jorgensen J, Landry M, Warnock D (eds), Manual of clinical microbiology (10th ed) ASM Press, Washington, DC 2011, pp. **692-713**.

Looney, W. J., Narita, M., ve Mühlemann, K. (2009). *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging opportunist human pathogen. *The Lancet infectious diseases*, **9**(5), 312-323.

Machii, H., Koyama, A., Yamanouchi, H. (2002). Mulberry Breeding, Cultivation and Utilization in Japan. Mulberry for Animal Production, FAO Animal Production and Health Paper. **147**: 63-72.

Martin, G., Reyes, F., Hernández, I., Milera, M. (2002). Agronomic Studies with Mulberry in Cuba. Mulberry for Animal Production, FAO Animal Production and Health Paper, **147**: 103-114.

Moore, L. M. (2002). (Morusalba L.). (http://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_moal.pdf) Oskay M, Sari D. 2007. Antimicrobial Screening of Some Turkish Medicinal Plants. *Pharmaceutical Biology*; **45**(3): 176-181.

Mosihuzzaman, M. (2012). Herbal medicine in healthcare--an overview. *Nat Prod Commun.* **6**, 807-12.

Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A. (2009). Klinik Mikrobiyoloji (Çev Edit. AC Başustaoğlu). 9. Baskı, *Atlas Kitapçılık, Ankara*, **cilt 1**: 734-802

Mutlu, B., Toros, H., Şen, O. (2003). Ultraviyole radyasyonun insan sağlığı üzerine etkileri, III. *Atmosfer Bilimleri Sempozyumu*, 19-21 Mart, İTÜ, İstanbul.

Özbek, S. (1977). Genel Meyvecilik. *Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Yay*:**111**, Ders Kitapları:6, Adana. 386.

Özdemir, T., Topuz, A. (1998). Antalya Yöresinde Yetiştirilen Farklı Dutların Bazı Kimyasal Özellikleri. *Derim Dergisi* **15**(1): 30-35.

Özgen, M., Scheerens, J. C. (2006) “Bazı Kırmızı Ve Siyah Ahududu Çeşitlerinin Antioksidan Kapasitelerinin Modifiye Edilmiş Teac Yöntemi İle Saptanması Ve Antikanser Özelliklerinin Tartışılması”. *Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Tokat.

Pellegrini, N., Miglio, C., Rio, D. (2009). Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. *Int J Food Sci Nutr.* **60** (2), 12–22.

Penskar, M.R. (2009). Special plant abstract for *Morus rubra* (Red Mulberry). Lansing, MI.

Polat, A. (2004). Determination of Mulberry Fruit Characteristics Grown in the Antakya District of Hatay Province, *Bahçe* **33** (1-2) 67 – 73

Pompilio, A., Crocetta, V., Confalone, P. (2010). Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cystic fibrosis patients. *BMC Microbiol.* **10**:102.

Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release.* **113**, 189–207.

Ryu, K. S. (1977). Dut Yetiştirilmesi ve Türkiye’de Dut Ziraatı. *İpekböcekçiliği Araştırma Enstitüsü Yayınları* No:60. 89.

Russo A, Acquaviva R, Campisi A, Sorrenti V, Di Giacomo C, Virgata G, Barcellona M. L., Vanella A. (2000). Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biol Toxicol.*; **16**(2):91-8.

Sadock, B. J., Sadock, V. A. (2005). Herbal Medicine. In: Comprehensive Textbook of Psychiatry. 8th edition, Philadelphia: *Williams and Wilkins*, 2411-2417

Saglam, S. (2007). Antosiyanince Zengin Dut, Kiraz ve Gilaburu Meyvelerindeki Fenolikler ve Antioksidan Kapasitesi Üzerine Reçel Yapım _sleminin Etkisi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Konya.

Sancar, A., Lindsey-Boltz, L. A., Ünsal-Kaçmaz, K., Linn, S. (2004). Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the damage checkpoints. *Annu Rev Biochem.* **73**, 39-85.

Sánchez M. B. (2015). Antibiotic resistance in the opportunistic pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front Microbiol* . **6**:658.

Satia-Abouta, J., Kristal, A. R., Patterson, R. E., Littman, A. J., Stratton, K. L., White, E. (2003). Dietary Supplement and Medical Conditions the VITAL study. *Am J Prev Med.* **24** (1), 43-51.

Sharma, A., Sharma, R., Machii, H. (2000). Assesment of Genetic Diversity in a *Morus* Germplasm Collection using Fluorescence- Based AFLP Markers. *Theor. Appl. Genet.***101**:1049- 1055.

Sinclair, A. J., Barnett, A. H. İ., Luneci J. L. (1990). Free radicals and antioxidant systems in health and diseases. *British J Hosp. Med.* **43**, 334-344.

Stadtman, E. R. (1992). Protein oxidation and aging. *Science.* **257** (5074), 1220-1224.

Suman, B. S., Shipra, G., Rini, A., Usha, R., Singhb, R. R., Santosh, K. S. (2010). Antidiabetogenic action of *Morus rubra* L. leaf extract in streptozotocin-induced diabetic rats ; *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **62**: 247–255

Swings, J., de Vos, P., Van den Mooter, M., de Ley, J. (1983). Transfer of *Pseudomonas maltophilia* Hugh 1981 to the genus *Xanthomonas* as *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1981) comb. nov. *Int J Syst Bacteriol.* **33**(2):409-13.

Şahin, H., (2007). Câmi'ü'l-Fürs örneğinde XVI. yüzyıl bitki isimleri. *Turkish Studies.* **2**(2), 570-602.

Tepe, B. (2010). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. **82(2)**:237-46.

Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E., Sarikurkcü, C. (2011). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia* **82**, 237–246.

Thabti, I.; Marzougui, N.; Elfalleh, W.; Ferchichi, A. (2011). Antioxidant composition and antioxidant activity of white (*Morus alba* L.), black (*Morus nigra* L.) and red (*Morus rubra* L.) mulberry leaves. *Acta Bot. Gallica*. **158**, 205–214.

Thomas, R., Hamat, R. A., Neela, V. (2014). Extracellular enzyme profiling of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *Virulence* **5(2)**:326-30.

Tille, P.M. (2014). *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, and similar organisms. In: Bailey & Scott's diagnostic microbiology (13th ed) Elsevier, Missouri.pp. **329-34**.

Trujillo, F. U. (2002). Mulberry for Rearing Dairy Heifers. Mulberry for Animal Production, FAO Animal Production and Health Paper, **147**: 203-206.

Turan, I., Demir, S., Kilinc, K., Aliyazicioglu Y., Alver, A., Misir, S., Ozer, S. Y., Akbulut, K., Mentese, A., Deger, O. (2017). *Morus rubra* Extract Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Lung and Prostate Cancer Cells.,*Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. vol.51, pp.**51-58**.

USDA, NRCS. (2012). The Plants Database. Available at <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=FAVU> [Cited 16 April 2012].

WATT, G. (1873). A dictionary of economic products of India. Vol.4. *Periodical Experts*, Delhi, India. pp. **66- 67**.

WHO traditional medicine strategy. (2002–2005). Geneva: WHO; (2002).

Willcox, M. L., Bodeker, G. (2004). Traditional herbal medicines for malaria. *BMJ*. **329**, 11569.

Vavilov, N. I. (1926). The Origin of Cultivated Plants. *Bulletin of Applied Botany*. Vol. XVI. No. 2.

Voljan, M., Goran, N., Tatjana, M., Mihajlov K., Biljana, A. (2018). Antibacterial Activities Of Fruits Extracts Of Three Mulberry Species (*Morus alba* L., *Morus rubra* L. and *Morus nigra* L.) and bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Acta Medica Medianae* **57(3)**:05-12

Yen, G. C., Wu, J. Y. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chem.*, **65**, 375-379.

Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. **17 (2)**, 143-153.

Zachary, R., Hopkins, Sebastian S., Lee B. (2017). Ozonation of the oxybenzone, octinoxate, and octocrylene UV-filters: Reaction kinetics, absorbance characteristics, and transformation products, *Journal of Hazardous Materials*, **338** 23–32.

Zgair, A. K., Chhibber, S.(2011). Adhesion of *Stenotrophomonas maltophilia* to mouse tracheal mucus is mediated through flagella. *J Med Microbiol* **60**(Pt. 7):1032-7.

Zheng, T., Tan Y., Huang G., Fan, H., MA, B. (1988). Mulberry Cultivation. *FAO Agriculturae Services Bulletin*, **73/1**, Rome, p127

