

T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Alcea rosea'NİN
Drosophila melanogaster'DE
LARVAL ve ERGİN TOKSİSİTE
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tezi Hazırlayan
Gülhis ŞEN

Danışman
Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2023

T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Alcea rosea'NİN
Drosophila melanogaster'DE
LARVAL ve ERGİN TOKSİSİTE
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tezi Hazırlayan
Gülhis ŞEN

Danışman
Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2023

Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK danışmanlığında Gülhis ŞEN tarafından hazırlanan “*Alcea rosea*’NİN *Drosophila melanogaster*’DE LARVAL ve ERGİN TOKSİSİTE ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

22/08/2023

JÜRİ

Başkan : Prof. Dr. Özgür VATAN

Üye : Prof. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ

Üye : Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..../..../2023

Doç. Dr. Cemal ÇARBOĞA

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan tüm bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar dahilinde elde edilerek sunulduğunu ve tarafıma ait olmayan her türlü ifade ve bilgilerin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Gülhis ŞEN



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, desteğini ve ilgisini her zaman hissettiğim sevgili danışmanım Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK'a;

Bir dönem öğrencisi olduğum, akademik bilgilerini benimle paylaşan, bu yolda ilerlemem konusunda her zaman beni motive eden sayın Doç. Dr. Ümit KUMBIÇAK'a;

Laboratuvar tecrübelerini benimle paylaşan, yardımlarını esirgemeyen değerli laboratuvar arkadaşım Şeyma CİVAN'a ve arazi çalışmalarında her zaman yanımda olan değerli ailesine;

Laboratuvar çalışmalarında yardım ve desteklerinden dolayı değerli laboratuvar arkadaşım Hatice POYRAZ'a;

Her zaman destekleri ile yanımda olup bu süreçte beni motive eden arkadaşlarım Erdem KOCAMAN, Alper DEMİREZEN, Ümmügülsüm TEKGÜNDÜZ ve Tareq DBL'e;

Bana her zaman her koşulda güvenen, tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım babam Suat ŞEN, melek annem Necla ŞEN ve biricik ablam Büşra ŞEN ŞAHİN'e sonsuz teşekkür ederim.

Alcea rosea'NİN *Drosophila melanogaster*'DE LARVAL ve ERGİN TOKSİSİTE

ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Gülhis ŞEN

NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2023

ÖZET

İnsanlar var olduklarından beri başta beslenme olmak üzere çeşitli hastalıkları tedavi etmek ya da hastalıklardan korunmak amacıyla bitkileri kullanmaktadırlar. Bitkilerin hemen hepsinde bulunan flavanoidler, bitkilerin tıp alanlarında tedavi amaçlı kullanımını artırmıştır. Günümüzde ise tedavi edici bitkilerin kontrolsüz ve bilinçsiz kullanımı insan sağlığı için bir tehdit unsuru haline gelmiştir. Genellikle süs bitkisi olarak bilinen *Alcea rosea* L. özellikle fitoterapi alanında kullanılan, iltihap giderici, immün düzenleyici, analjezik ve hipoglisemik özelliklere sahip Malvaceae familyasına ait tedavi edici bir bitkidir. Bu çalışmada, *A. rosea*'nın *Drosophila melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyunda larval ve ergin toksisite üzerine olan etkileri ilk kez araştırılmıştır. Bu amaçla, *A. rosea* metanolik özütü 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml olmak üzere üç farklı konsantrasyonda larva ve ergin bireylere uygulanmıştır. Larval mortalite deneyinde 3. evre larvalar; ergin toksisite deneyinde virgin dişi ve yeni nesil erkek bireyler elde edilerek deneyler kurulmuştur. Sonuç olarak, larval mortalitenin negatif kontrol grubuna göre uygulama gruplarında sırasıyla %11,39, %14,59 ve %17,79 oranlarıyla arttığı belirlenmiştir. Larvadan ergine gelişen sineklerin %46,61'inde anomaliler mevcut olup kalitesiz bireyler tespit edilmiştir. Artan konsantrasyon miktarına bağlı olarak anomalili bireylerin miktarında da artış olduğu belirlenmiştir. Ergin toksisite kapsamında 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml'lik uygulama gruplarına ait maksimum ömür uzunluğu değerleri dişi bireylerde sırasıyla $50,66 \pm 13,43$; $56,00 \pm 14,14$ ve $53,00 \pm 4,24$ gün; erkek bireylerde $49,00 \pm 14$; $53,66 \pm 12,50$ ve $61,66 \pm 7,50$ gün olarak tespit edilmiştir. Ortalama ömür uzunluğu ise dişilerde sırasıyla $35,15 \pm 7,75$; $31,21 \pm 7,09$ ve $23,68 \pm 1,08$ gün; erkeklerde $31,72 \pm 3,32$; $31,35 \pm 4,95$ ve $26,24 \pm 8,86$ gün olarak belirlenmiştir.

Negatif kontrol grubuna göre, 75 mg/ml'deki erkeklerin maksimum ömür uzunluğu hariç uygulama gruplarındaki dişi ve erkek bireylerin maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun azaldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, uygulama gruplarında doz artışına bağlı olarak meydana gelen mortalite, ortalama ve maksimum ömür uzunluğu verileri negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.

Anahtar Kelimeler: *Alcea rosea*, *Drosophila*, Larval mortalite, Ömür Uzunluğu

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK

Sayfa Adeti: 62

Research about the Effects of *Alcea rosea* on Larval and Adult Toxicity

in *Drosophila melanogaster*

(M. Sc. Thesis)

Gülhis ŞEN

NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF SCIENCE

August 2023

ABSTRACT

Since the existence of humans, plants have been used for various purposes, primarily for nutrition and treating or preventing diseases. Flavonoids, found in almost all plants, have increased the use of plants for therapeutic purposes in the field of medicine. However, the uncontrolled and unconscious use of medicinal plants has become a threat to human health. *Alcea rosea* L., commonly known as hollyhock, is a medicinal plant belonging to the Malvaceae family and is used in phytotherapy for its anti-inflammatory, immunoregulatory, analgesic, and hypoglycemic properties. In this study, the effects of *A. rosea* on larval and adult toxicity in *Drosophila melanogaster*'s wild-type strain Oregon R were investigated for the first time. For this purpose, *A. rosea* methanolic extract was applied at three different concentrations: 25 mg/ml, 50 mg/ml, and 75 mg/ml to larvae and adult individuals. The third instar larvae were used for the larval mortality experiment, and virgin females and newly emerged males were used for the adult toxicity experiment. The results showed that larval mortality increased by 11.39%, 14.59%, and 17.79% in the treatment groups compared to the negative control group. In the developing from larvae to adults, 46.61% of the flies showed anomalies, indicating the presence of low-quality individuals. The number of abnormal individuals increased with increasing concentration. In the adult toxicity experiment, the maximum lifespan for female individuals was $50,66 \pm 13,43$; $56,00 \pm 14,14$ and $53,00 \pm 4,24$ days for the treatment groups of 25 mg/ml, 50 mg/ml, and 75 mg/ml, respectively, while for male individuals, it was $49,00 \pm 14$; $53,66 \pm 12,50$ and $61,66 \pm 7,50$ days. The mean lifespan for females was $35,15 \pm 7,75$; $31,21 \pm 7,09$ and $23,68 \pm 1,08$ days, and for males, it was $31,72 \pm 3,32$; $31,35 \pm 4,95$ and $26,24 \pm 8,86$ days. Compared to the negative control group, the

maximum and mean lifespans of both female and male individuals decreased in the treatment groups except for the maximum lifespan of males at 75 mg/ml. In conclusion, when the mortality, mean, and maximum life span data that occur due to dose increasing in the treatment groups were compared with the negative control group, the differences between the groups are statistically significant.

Keywords: *Alcea rosea*, *Drosophila*, Larval mortality, Lifespan

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK

Page Number: 62



İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY SAYFASI.....	i
TEZ BİLDİRİM SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiii
1. BÖLÜM	
GİRİŞ	1
2. BÖLÜM	4
GENEL BİLGİLER	
2.1. Sistematik Bilgiler.....	4
2.1.1. Bitkilerin özelliklerine genel bir bakış.....	4
2.1.2. Malvaceae familyası genel özellikleri.....	5
2.1.2.1. <i>Alcea rosea</i> L.	5
2.1.3. <i>Drosophila melanogaster</i> ve yaşam döngüsü	7
2.1.3.1. Yumurta	8
2.1.3.2. Larva	9
2.1.3.3. Pupa.....	9
2.1.3.4. Ergin.....	10
2.1.3.5. <i>Drosophila melanogaster</i> 'de erkek ve dişi birey tayini.....	11
2.1.3.5.1. Eşey tarağı.....	11
2.1.3.5.2. Abdomen şekli ve rengi	12

2.2.	Yaşlanma ve Yaşlanma Teorileri.....	12	
2.2.1.	Serbest radikaller teorisi.....	13	
2.2.2.	Somatik mutasyon birikimi teorisi.....	13	
2.2.3.	Antagonistik pleitropi teorisi.....	13	
2.2.4.	İmmünolojik teori.....	14	
2.2.5.	Nöroendokrin teori.....	14	
2.2.6.	Hücre yaşlanması teorisi.....	14	
2.2.7.	Uzun yaşam genleri teorisi.....	15	
2.2.8.	Proteinlerin değişikliğe uğraması teorisi.....	15	
2.3.	Yaşlanmayı ve Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler.....	15	
2.3.1.	İç faktörler.....	16	
2.3.1.1.	Anasal yaş.....	16	
2.3.1.2.	Genetik yapı.....	16	
2.3.1.3.	Eşeylik.....	16	
2.3.1.4.	Yumurta üretimi.....	17	
2.3.2.	Dış (Çevresel) faktörler.....	17	
2.3.2.1.	Beslenme.....	17	
2.3.2.2.	Işık.....	18	
2.3.2.3.	Sıcaklık.....	18	
2.3.2.4.	Nem oranı.....	18	
2.3.2.5.	Popülasyon yoğunluğu.....	19	
2.3.2.6.	Radyasyon.....	19	
3. BÖLÜM			
MATERYAL ve METOT.....			20
3.1.	Materyaller.....	20	
3.1.1.	Kullanılan bitki materyali.....	20	
3.1.2.	Kullanılan model organizma.....	20	

3.1.3.	Kullanılan maddeler ve cihazlar.....	21
3.2.	Metot	22
3.2.1.	Kullanılan bitkinin toplanması ve kurutulması	22
3.2.2.	Kullanılan bitkinin metanol ekstraktının hazırlanması	23
3.2.3.	Bitki ekstraktını içeren ana stok çözeltisinin hazırlanması	24
3.2.4.	Besiyeri hazırlama.....	25
3.2.5.	Eterizasyon işlemi	25
3.2.6.	Deney gruplarına uygulanacak bitki ekstraktının dozlarının belirlenmesi	26
3.2.7.	Larval mortalite deneyi	26
3.2.8.	Ömür uzunluğu deneyleri.....	27
3.2.9.	Larval mortalite, ortalama ve maksimum ömür uzunluğunun belirlenmesi ...	29
3.3.	İstatiksel Analiz.....	29
4. BÖLÜM		
BULGULAR.....		30
4.1.	<i>A. rosea</i> Tohumlarının Metanol Ekstraktının 3. Evre Larvalarda Mortalite Üzerine Olan Etkileri.....	30
4.2.	<i>A. rosea</i> Tohumlarının Metanol Ekstraktının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri	38
5. BÖLÜM		42
SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....		42
KAYNAKLAR		48
ÖZGEÇMİŞ		62

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. <i>A. rosea</i> 'nın sistematik bilgileri.....	6
Tablo 2.2. <i>D. melanogaster</i> 'in sistematik bilgileri	7
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar	22
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan kimyasal ve sarf malzemeler.....	22
Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan deney grupları	26
Tablo 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki <i>A. rosea</i> tohumunun metanolik özütüne maruz kalan <i>D. melanogaster</i> Oregon R soyuna ait 3.evre larvalarda larval mortalite değerlerine ait istatistiki değerlendirmeler.....	31
Tablo 4.2. <i>A. rosea</i> tohumunun metanolik özütü ile beslenen Oregon-R yabanıl soyunun dişi ve erkek bireylerine ait ortalama ve maksimum ömür uzunluğu değerleri	39
Tablo 4.3. Doz artışına bağlı olarak ortalama ve maksimum ömür uzunluğu verileri..	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>A. rosea</i> genel görünüşü.....	6
Şekil 2.2. <i>D. melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü.....	8
Şekil 2.3. <i>D. melanogaster</i> yumurtasının görüntüsü.....	8
Şekil 2.4. <i>D. melanogaster</i> larval gelişim evreleri.....	9
Şekil 2.5. <i>D. melanogaster</i> 'in pupa gelişim evreleri.....	10
Şekil 2.6. <i>D. melanogaster</i> 'in genel vücut yapısı	11
Şekil 2.7. Erkek bireylerde bulunan eşey tarağı.....	11
Şekil 2.8. <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerinde abdomen şekli ve rengi	12
Şekil 3.1. <i>A. rosea</i> tohumlarının genel görünüşü	20
Şekil 3.2. Oregon R stok kültürleri	21
Şekil 3.3. <i>A. rosea</i> tohumlarının kurutulmuş ve öğütülmüş hali.....	23
Şekil 3.4. Özüt elde etme işlemi	24
Şekil 3.5. Larval mortalite deneyi.....	27
Şekil 3.6. Ömür uzunluğu deneyi.....	28
Şekil 3.7. Ömür uzunluğu deney düzeneği	29
Şekil 4.1. Oregon-R yabancı soya ait 3.evre larvalarda farklı konsantrasyonlardaki <i>A. rosea</i> tohumunun metanolik özütünün larval toksisite üzerine etkilerinin karşılaştırılması	32
Şekil 4.2. 25 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarındaki malformasyonlar	33
Şekil 4.3. 50 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarındaki malformasyonlar	35
Şekil 4.4. 75 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarındaki malformasyonlar	37
Şekil 4.5. <i>A. rosea</i> tohumunun metanolik özütü ile beslenen Oregon-R yabancı soyunun dişi popülasyonu ait hayatta kalış grafiği.....	40
Şekil 4.6. <i>A. rosea</i> tohumunun metanolik özütü ile beslenen Oregon-R yabancı soyunun erkek popülasyonuna ait hayatta kalış grafiği.....	40

SİMGELER ve KISALTMALAR

♂ Erkek birey

♀ Dişi birey

TP53 Tümör protein p53

mg Miligram

ml Mililitre

NaCl Sodyum klorür

% Yüzde

BK Büyüme kontrol

SK Solvent kontrol

SS Standart sapma

1. BÖLÜM

GİRİŞ

Son yıllarda insanların yaşam kalitelerini arttırmak, hastalıklardan korunmak ya da bazı hastalıkları tedavi etmek amacıyla ilaçlardan çok doğal kaynaklara verdikleri önem artış göstermektedir. Bu kapsamda, geleneksel ve alternatif tıpa ilgi yoğunlaşmıştır. Ancak günümüzde, geleneksel ve alternatif tıptan çok tıbbın bir parçası haline gelen fitoterapi kavramı daha dikkat çekici hale gelmiştir [1].

Bitkilerin tıbbi olarak kullanımının antik çağlara dayandığı bilinmektedir [2]. Tıbbi bitkilerle ilgili en eski yazılı kaynaklar, Sümerler'in kil tabletleri, Hammurabi'nin tıbbi bitkiler ve sağlık alanındaki kanunlarının yazılı olduğu dikilitaşı ve Ebers papirüsleridir [3]. Bazı kaynaklara göre, Çinlilerin ve Mısırlıların hastalıkları bitkilerle tedavi eden ilk kişiler olduğu ifade edilmiştir. Tıbbın babası olarak tanınan Hipokrat ve öğrencisi Aristoteles tıbbi bitkileri hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullandıklarından, Antik Yunan döneminde yaşayan bireylerin de tedavi yöntemi olarak bitkileri tercih ettikleri düşünülmektedir [2,4]. Tesadüfi bir şekilde veya deneme yanılma yöntemiyle hangi hastalığın tedavisinde hangi bitkinin kullanılması gerektiği hakkında elde edilen bilgiler Eski Mısır, Asur ve Babil dönemlerinden günümüze kadar gelmiştir [5,6].

19. yüzyıldan itibaren sentetik ilaçların üretiminde artış olmasına rağmen teknolojik ilerlemenin neden olduğu yeni sağlık sorunlarının ortaya çıkmasıyla birlikte insanlar yeniden tıbbi bitkileri kullanmaya başlamışlardır [7]. Ayrıca artan sentetik ilaçların neden olduğu yan etkiler, ekonomik sorunlar, kesin bir tedavisi bulunamayan bazı kronik hastalıklar ve bitki gibi doğal kaynakların her zaman daha etkili ve zararsız olduğu varsayımı da tıbbi bitkilerin kullanımının artmasına yol açmıştır [8]. Tedavi amaçlı kullanılan bitki sayısı, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenmiş olup bu sayı yaklaşık 20.000'dir [9]. Türkiye'de ise 650 kadar bitki bu amaçla kullanılmaktadır [10]. Türkiye coğrafi konumu, dört mevsimin yaşanması, bitki türlerinin fazla olması, tarım

alanındaki potansiyeli ve yüz ölçümünün geniş olması sayesinde tıbbi bitkiler kapsamında önde gelen ülkeler arasındadır [11].

Ebegümeçigiller olarak bilinen Malvaceae bünyesinde bazı tıbbi bitkileri barındıran bir familyadır. Malvaceae'daki bitkiler yayılış alanı geniş olan, huni şeklinde büyük, parlak çiçeklere sahip tek ya da çok yıllık otsu bitkilerdir. Bu çalışmada kullanılan *Alcea rosea* L. (Gülhatmi) ise Malvaceae familyasında yer alan türlerden biri olup *Alcea* tek veya çok yıllık, basit veya dallanmış yapıda bir cinstir [12]. Çin veya Güneydoğu Asya'nın tropikal bölgelerinden geldiği düşünülmektedir [13].

A. rosea geleneksel tıpta, fitoterapide kullanılan bir bitkidir. Çoğunlukla süs bitkisi olarak bilinmektedir ancak günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda bu türün iltihap giderici, immün düzenleyici ve mide rahatsızlıklarında kullanımı gibi çeşitli özelliklere sahip olduğu kanıtlanmıştır [14]. Çiçekleri boğaz ağrısı, öksürük ve kadınlarda adet döneminde görülen karın ağrısını gidermek için kullanılmaktadır [15,16]. Ayrıca, bu bitkinin çiçekleri doğal gıda boyası olarak da tercih edilmektedir [17]. Yapılan çalışmalarla birlikte *A. rosea*'nın antimikrobiyal olduğu, diyabetik farelerde hipoglisemik aktivite gösterdiği, analjezik özelliğinin bulunduğu ortaya konulmuştur [18,19,20].

A. rosea dünyada birçok ülkede çeşitli rahatsızlıkların tedavisi için kullanılmaya devam etmektedir. Bu rahatsızlıklara böbrek ve rahim iltihabı, sindirim sistemi ve idrar yolu enfeksiyonları, romatizma örnek olarak verilebilir [16]. Ayrıca bitkinin yılan sokmalarında da tedavi edici etkisinin olduğu bilinmektedir [21]. Türkiye'de ise çeşitli bölgelerde, özellikle İç Anadolu Bölgesinde yaşayan insanlar tarafından gülhatmi çiçeklerinin göğüs ağrısı, öksürük, balgam giderici olarak çayının demlenip içilmesi, salatalara eklenmesi şeklinde yerel halk tarafından tedavi edici bir bitki olarak kullanılmaktadır. Beslenmenin, yaşam kalitesi ve süresi üzerinde son derece büyük rol alan önemli bir kriter olduğu bilinmektedir. Beslenme kriteri göz önünde bulundurularak insanlar da daha sağlıklı ve kaliteli bir yaşam için bitkilerden beslenme aracılığıyla destek almaktadırlar. Bu kapsamda, genel etkilerinin ne olduğu kesin bir şekilde belli olmayan ya da daha fazla araştırılmaya ihtiyaç duyulan çeşitli bitkilerin bitki çayı gibi gıda

maddesi kategorisinde tüketilmesi, doğru bir yaklaşım değildir. Saygı [22], uygun bir dozdaki kullanımda yararlı etkiler gösterebilen maddelerin doz aşımı söz konusu olduğunda zarar verici hatta öldürücü olabildiğini ifade etmiştir. Bir başka ifadeyle, düşük miktarlarda yararlı etkiler gösteren bitkilerin, yüksek miktarlarda kullanıldığında zararlı etkilere sebep olabileceğini söylemek mümkündür.

Bu tez çalışmasında, Malvaceae familyasında yer alan *A. rosea* tohumlarının metanol ekstraktının, *D. melanogaster*'de larval mortalite ve ergin ömür uzunluğuna etkisi araştırılması amaçlanmıştır. Günlük hayatta insanlar tarafından çoğunlukla hastalıklardan korunmak ve hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılan gülhatmi bitkisinin tohumlarının ömür uzunluğu ve yaşam kalitesi üzerine olası etkilerinin öngörülmesi hedeflenmiştir. Çalışma bulgularından elde edilen sonuçların, *A. rosea*'nın geleneksel tıp ve fitoterapi başta olmak üzere ilgili alanlarda kullanılmasının güvenilirliği hakkında önemli veriler sağlayacağı düşünülmektedir.

2. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

2.1. Sistematik Bilgiler

2.1.1. Bitkilerin özelliklerine genel bir bakış

Bitkiler alemi, ağaçlar, çiçekler, otları içerisinde bulunduran, doğada geniş yer kaplayan bir canlı grubudur. Dünyada yaklaşık 374.000 bitki türü bulunmaktadır [23]. Bitkiler fotosentez yaparak kendileri için gerekli olan besini sağlamasının yanısıra diğer canlıların da ihtiyaç duyduğu enerjiyi ürettikleri için insanlar dahil olmak üzere bütün canlıların yaşamlarını devam ettirebilmeleri açısından oldukça önemlidir [24].

Her bitkinin belirli bir yaşam süresi olmakla birlikte bitkiler yaşam döngülerinin uzunluğuna göre tek yıllıklar, iki yıllıklar, çok yıllıklar olmak üzere üç grup altında incelenebilir. Tek yıllık bitkiler çimlenme, çiçeklenme, tohum üretimi ve ölüm aşamalarını içeren, bir yıl ya da bir yıldan daha kısa bir sürede yaşam döngülerini tamamlayan bitkilerdir. İki yıllık bitkiler, iki büyüme mevsimine ihtiyaç duyan bitkilerdir. İlk yıl çok fazla yaprak oluşturur ve besin maddelerini depolarlar. Ardından ikinci yıl depoladıkları enerjiyi kullanarak çiçeklenir ve meyve verirler. İkinci yılın sonunda artık bitki ölür. Ağaçları, çalıları içeren çok yıllık bitkiler ise uzun yıllar yaşayan bitkilerdir [25].

Bitkiler tohumlu bitkiler ve tohumlu bitkiler olarak iki grup altında yer almaktadır [26]. Tohumlu bitkiler, ilkel bitkilerdir. İlkel bitkilerin çoğunda kök, gövde, yaprak gibi yapılar görülmez ve bitki yapraksı ya da şeritsi bir yapı halindedir. Bunlar algler, karayosunları ve eğreltiotları gibi bitkilerdir. Tohumlu bitkiler ise sahip oldukları tohumları ile tohumlu bitkilerden ayrılırlar. Ayrıca tohumlu bitkiler açık ve kapalı tohumlu bitkiler olarak iki alt grupta ele alınmaktadır. Açık tohumlu bitkiler, tohumları

açıkta gelişen ve tohum taslakları ovaryumlar olarak adlandırılan odacıklar tarafından sarılmayan bitkilerdir [27]. Bu bitkiler genellikle iğne şeklinde yapraklara, çok nadir pulsu ya da şeritsi yapraklara sahip olabilirler. Kuraklığa dayanıklı, uzun ömürlü bitkilerdir. Kapalı tohumlu bitkiler ise tohumları ovaryumlar yani odacıklar içerisinde gelişen bitkilerdir [28]. Kapalı tohumlu bitkilerin çiçekleri yapı, şekil ve renk olarak oldukça çeşitlilik göstermekle birlikte bu gruptaki bitkiler, kara bitkilerinin %90'ını temsil eden en önemli topluluktur [29].

İlk çağlara ait arkeolojik bulgulara göre, insanların bitkileri hem besin kaynağı olarak hem de çeşitli sağlık problemlerini çözmek için kullandıkları tespit edilmiştir [30]. Ülkemiz 167 familya, 1320 cins, 9996 tür, 1989 alt tür ve toplam 11707 takson ile son derece kapsamlı ve çeşitli bir bitki örtüsüne sahiptir [31]. Bunlardan 3649 takson endemik olup sadece ülkemizde doğal olarak yetişmektedir [31]. Bu kapsamda, Türkiye bitki türü zenginliği bakımından dünyada sayılı ülkeler arasına girmiştir.

2.1.2. Malvaceae familyası genel özellikleri

Ebegümeçigiller olarak da bilinen Malvaceae, 200'den fazla cins ve yaklaşık 2300 tür bitkiden oluşan bir familyadır [32]. Soğuk bölgeler hariç geniş bir yayılım göstermektedir. En çok yayılış gösterdiği bölge Güney Amerika olarak bilinmektedir [33]. Bu familyada tek ya da çok yıllık otsu bitkiler yer almaktadır. Çiçekleri büyük, parlak, huni şeklinde olup çok nadir tek eşeyli ve ışımsal simetrik olabilir. Çiçekleri kimoz çiçek şeklinde olup çoğunda kalikse benzeyen epikaliks olarak adlandırılan bir yapı bulunur. Alternat dizilişli, tam veya elsi loplu, stipüllü yapraklara sahiptirler. Sepal ve petal olarak adlandırılan çanak ve taç yapraklar, serbest veya kaidede birleşiktir. Dişicik borusunu (stigma) çevreleyen çok sayıda stamen vardır ve stamenlerin filamentleri bir tüp şeklinde birleşmiştir. Sadece bir tane diş organ olup üst durumlu ovaryum yapısı mevcuttur. Bu familyadaki meyvalar merikarpa ayrılmış ve yarılmış şekildedir [34].

2.1.2.1. *Alcea rosea* L.

Gülhatmi olarak da adlandırılan *A. rosea*, Malvaceae familyasının bir üyesidir. Tek veya çok yıllık bir bitkidir. Ülkemizdeki türler ise genellikle çok yıllıktır. Gülhatminin bol

güneş ışığı alan, zengin topraklarda en etkili şekilde yetiştiği bilinmektedir. *A. rosea*'nın genel görünüşü Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. *A. rosea* genel görünüşü

Gülhatmi genellikle haziran ve eylül aylarında çiçeklenir. Beyaz, pembe, mor, kırmızı, sarı ve bordo renkli çiçekleri çoğunlukla çizgili, lekeli, yalın ya da katmerlidir. Yaprakları güçlü olmakla birlikte geniş, kalp şeklindedir. Yapraklar 5-7 parçalı olup kenar kısımları dişlidir. Bitkinin genel itibariyle hem yaprakları hem de gövdesi tüylüdür. Boyu yaklaşık olarak 2-2,5 metreye ulaşabilmektedir. Ayrıca tohumları çoğunlukla kahverengi, böbreksi şekle sahip oval ve basıktır. *A. rosea*, ılıman iklim bitkisi olduğu için güneşli, sıcak ve rüzgâr almayan yerlerde daha iyi gelişim gösterir [35]. *A. rosea*'nın sistematik bilgisi, Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. *A. rosea*'nın sistematik bilgileri

Alem	Plantae
Bölüm	Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Sınıf	Magnoliopsida (İki çenekliler)
Takım	Malvales
Familya	Malvaceae (Ebegümeçigiller)
Cins	<i>Alcea</i>
Tür	<i>A. rosea</i>

2.1.3. *Drosophila melanogaster* ve yaşam döngüsü

Genetik alanında en çok çalışılan organizmalardan biri *Drosophila*'dır. *D. melanogaster* Latince 'nem seven' anlamına gelen, Diptera takımının Drosophilidae familyasının bir üyesidir. *D. melanogaster*, Johann Wilhem Meigen tarafından 1830 yılında tanımlanmıştır. *D. melanogaster*, tam başkalaşım geçiren bir organizma olup yumurta, larva ve pupa dönemlerini yaklaşık 10 günde tamamlar. Ergin ömür uzunluğu, normal şartlarda 45-60 gün arasında değişiklik göstermektedir. *Drosophilalar* sıcak ve nemli bölgelerde yayılış gösterirler. Tablo 2.2.'de *D. melanogaster*'in sistematik bilgileri verilmiştir.

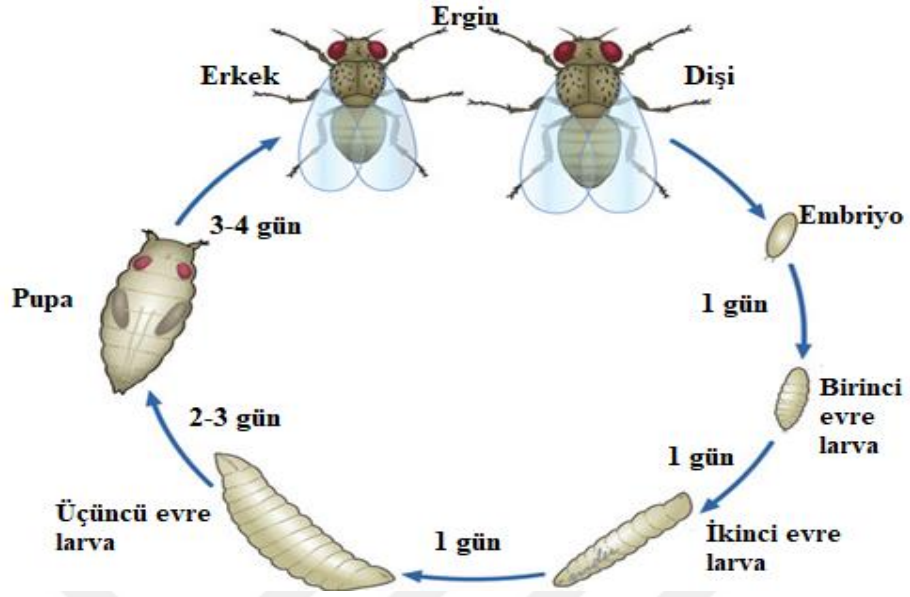
Tablo 2.2. *D. melanogaster*'in sistematik bilgileri

Alem	Hayvanlar alemi
Şube	Eklem bacaklılar
Sınıf	Böcekler
Takım	Çift Kanatlılar
Alt takım	Karasinekler
Aile	Drosophilidae
Cins	<i>Drosophila</i>
Tür	<i>D. melanogaster</i>

D. melanogaster'ın yaşlanma ve ömür uzunluğu çalışmalarında başlıca seçilme nedenleri,

- kısa bir hayat döngüsüne sahip olması,
- çok sayıda yavru döl verebilmesi,
- kültürünün kolay olması ve maliyetinin az olması,
- küçük bir yapıya sahip olması ve oluşabilecek çeşitli varyasyonların, fizyolojik değişimlerin morfolojik olarak kolaylıkla gözlenebilmesidir.

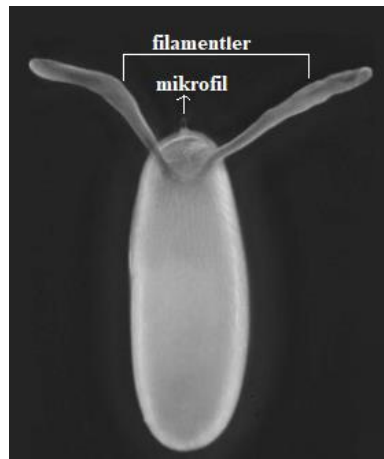
Yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere *D. melanogaster*'in yaşam döngüsü temelde dört ayrı safhadan meydana gelmektedir. Gelişme, iki aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşama, embriyonik dönem olup bu dönem, yumurta döllendikten sonra başlayıp birinci evre larvanın yumurtadan çıkacağı sürece kadar devam eder [36]. İkinci aşamayı post-embriyonik dönem oluşturur. Bu dönem ise birinci evre larvadan ergin bireyin gelişmesine kadar devam eden süreci kapsamaktadır (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. *D. melanogaster*'in yaşam döngüsü [37]

2.1.3.1. Yumurta

Drosophila'nın yumurtaları yaklaşık 0.5mm boyutunda ventral yüzü yuvarlak, dorsal yüzü daha düz olan bir yapıya sahiptir. Dorsal bölgenin ön kısmında yumurtaların besiyerine batmasını engelleyen iki adet filament bulunur (Şekil 2.3.) [38]. Bu filamentler, tüm yumurtayı çevreleyen koryonun uzantılarıdır. Ayrıca yumurtanın bu ön ucunda spermin yumurtaya girişini sağlayan, mikrofil olarak adlandırılan bir açıklık mevcuttur. Her yumurtlamada yaklaşık beş yumurta bırakan dişi birey, tüm yaşamı boyunca 400'e yakın yumurta bırakabilir [39]. Döllenmiş yumurtalar, çiftleşmenin ardından bırakılır. 22-24 saat sonra yumurtalar larvalara gelişirler [40].

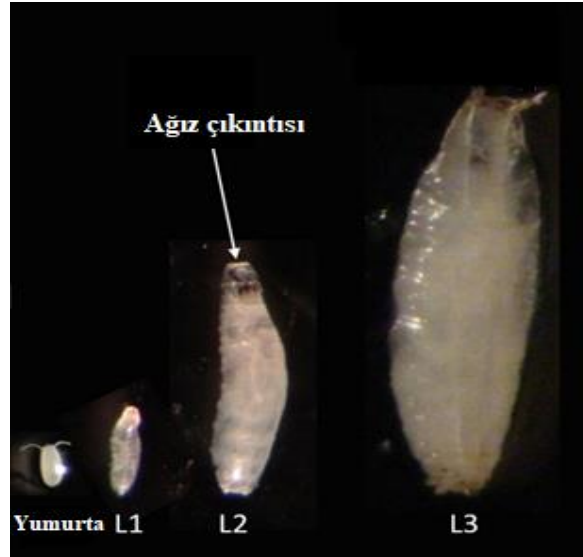


Şekil 2.3. *D. melanogaster* yumurtasının görüntüsü [41]

2.1.3.2. Larva

Larvalar, yumurtadan yaklaşık olarak 22-24 saat sonrasında çıkarlar. Larva, bir tane baş segmenti, üç toraks segmenti ve sekiz abdomen segmenti olmak üzere toplam 12 segmentten oluşmaktadır. Larvalar son derece yumuşak ve esnek bir vücut yapısına sahiptir. Larva aşaması boyunca kütikül tabaka iki kez değiştirilir. Bu olay gömlek değiştirme olarak da adlandırılır ve larva aşamasını 1.evre, 2.evre ve 3.evre olmak üzere üç evreye ayırır (Şekil 2.4.). Birinci evre ve ikinci evre bir gün sürerken; üçüncü evre iki gün sürmektedir. Üçüncü evre larvalar, tükürük bezlerinde politen kromozom oluşumuyla önemlidirler.

Larvalar besiyeri içinde ilerleyerek beslenirler. Birinci evredeki larva sadece besiyerinin yüzeyinden beslenir. İkinci evreye geçen larva, artık besiyerinin içerisine girmeye başlar. Larva evresinden pupa evresine geçebilmek için larvaların 0.3mg eşik ağırlık değerine ulaşması gerekir. Bu değere ulaştıklarında artık besiyerini terkedip pupalaşma için kültür şişesinin duvarına yerleşirler. Bu aşamadan yaklaşık 24 saat sonra pupalaşma başlar [39].

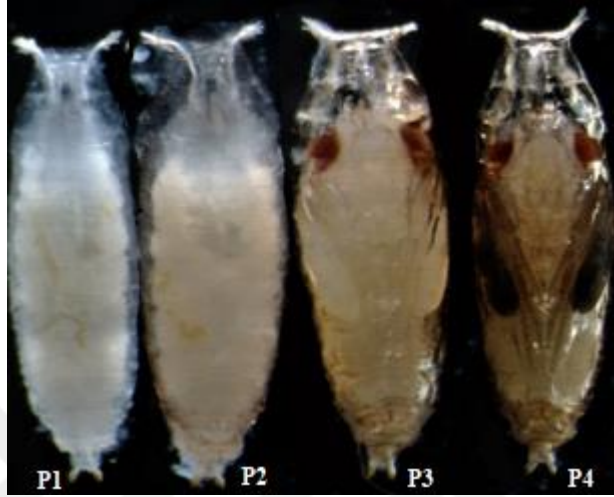


Şekil 2.4. *D. melanogaster* larval gelişim evreleri [42]

2.1.3.3. Pupa

Larvalar kültür şişesinin duvarına tırmanarak ilk olarak koyu sarı-kahve renkte prepupaya, ardından 3-4 saat sonra pupaya gelişirler (Şekil 2.5.). *D. melanogaster*

başkalaşım sürecini pupa içinde geçirir. Bu süreçte, tükürük bezleri, yağ doku, bağırsak ve kaslar ayrışırken beyin ve malpigi tüpleri yalnızca yapısal değişiklik geçirir [43]. Bu şekilde, farklılaşmış hücre grupları ve imajinal disklerden ergin birey gelişmiş olur [40].

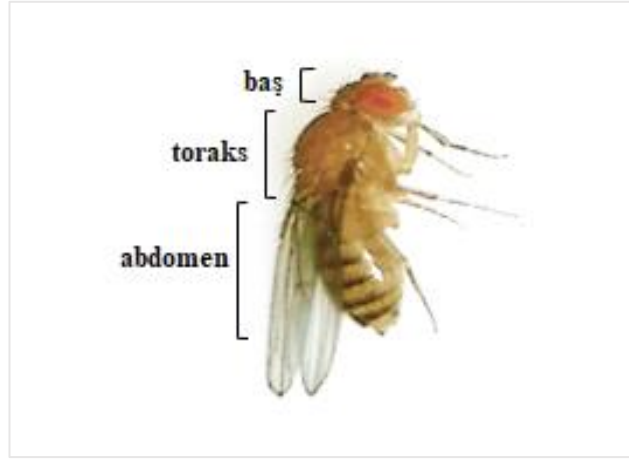


Şekil 2.5. *D. melanogaster*'ın pupa gelişim evreleri [44]

2.1.3.4. Ergin

Pupadan ergin bireyin gelişmesi yaklaşık 4-5 günde gerçekleşmektedir. Gelişimini tamamlayan sinekler pupa kılıfını parçalayarak dışarı çıkarlar. İlk önce açık renkli, uzun vücutlu şekilde görülmelerine rağmen birkaç saat içinde renkleri koyulaşır. Başlangıçta kanatlar kırışık ancak sonradan açılıp normal bir ergin görünüme ulaşırlar. Pupadan çıkan dişiler yaklaşık 5-6 saat sonra eşeyssel olgunluğa erişirler. Erkek bireyler ise pupadan çıktıktan birkaç saat sonra çiftleşebilirler [39].

Drosophila baş, toraks ve abdomen olmak üzere üç bölgeden oluşmaktadır (Şekil 2.6). Baş bölgesinde ağız ve bir çift anten mevcuttur. Başın tepesinde üç basit göz ve iki tarafında da bir petek göz vardır. Toraksta her segmentte bir çift bacak bulunmaktadır. İkinci ve üçüncü toraks segmentinde ise sırasıyla iki tane kanat ve iki tane halter organı bulunmaktadır. Büyük, sert kıllar ve küçük, yumuşak kıllar baş ve toraks bölgesini kaplar. Bu kıllar duyu organı olarak görev yapmaktadırlar [45].



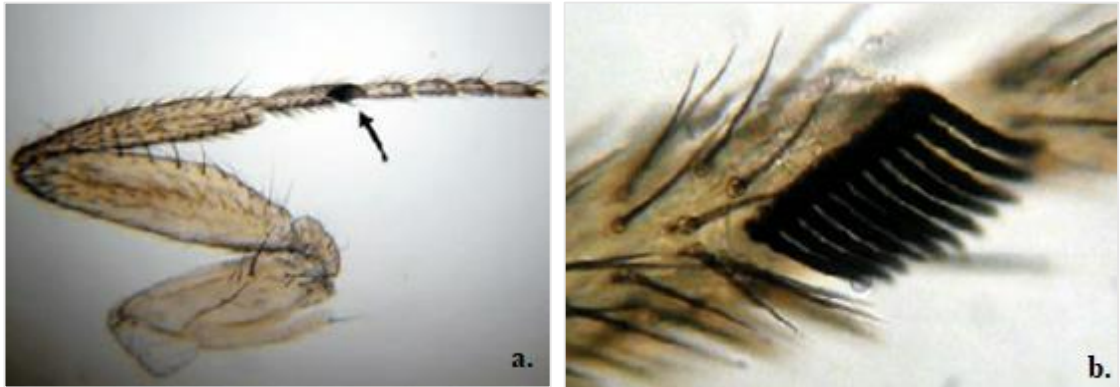
Şekil 2.6. *D. melanogaster*'in genel vücut yapısı [46]

2.1.3.5. *Drosophila melanogaster*'de erkek ve dişi birey tayini

Dişi ve erkek bireyler eşey tarağı, abdomen şekli ve rengi dahil olmak üzere morfolojik olarak birbirlerinden farklılık göstermektedirler.

2.1.3.5.1 Eşey tarağı

Erkeklerde, birinci tarsus segmentinde siyah, kalın kıl demetinden oluşan metatarsal tarak yani diğer adıyla eşey tarağı bulunmaktadır (Şekil 2.7.). Erkek bireylerin çiftleşme sırasında dişilerini kavrayabilmesi için bu oluşum gereklidir. Dişilerde bu yapıya benzer bir oluşum yoktur [47].



Şekil 2.7. Erkek bireylerde bulunan eşey tarağı: a. Siyah okla eşey tarağı gösterilen ön bacak, b. Eşey tarağı kılları [48]

2.1.3.5.2. Abdomen şekli ve rengi

Abdomen şekli ve rengi, erkek ve dişilerde farklılık göstermektedir. Şekil 2.8.'de gösterildiği üzere, erkeklerde abdomen ucu daha kısa ve yuvarlak yapıdayken dişilerde anal plakadaki çıkıntı nedeniyle uzun ve sivridir. Dişilerin yaşlandıkça taşıdıkları yumurtalar nedeniyle abdomenleri genişler [36]. Dişilerin abdomeninde 7, erkeklerin abdomeninde 5 tane segment vardır. Dişilerde segmentler daha açık renge sahipken erkeklerde abdomenin posterior kısmı siyahtır (Şekil 2.8.). Bunun nedeni ise son segmentlerin yüksek miktarda pigment içermesidir.



Şekil 2.8. *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerinde abdomen şekli ve rengi [49]

2.2. Yaşlanma ve Yaşlanma Teorileri

Yaşlanma, çeşitli iç ve dış faktörler sonucunda canlıda yapısal ve fonksiyonel değişimlere yol açan, organizmayı ölüme götüren süreçler olarak tanımlanabilir. Yaşlanma, son derece karmaşık bir süreç olduğundan bu süreç tek bir mekanizma ile açıklanamaz. Bu kapsamda, yaşlanma ile ilgili biyolojik mekanizmaların çoğunun teori düzeyinde olduğunu ve bu teorilerin hiçbirinin tek başına yaşlanmayı açıklamakta yeterli olmadığını belirtmek mümkündür [50].

2.2.1. Serbest radikaller teorisi

Yaşlanma ile ilgili teorilerden en çok kabul görüleni, serbest radikal teorisi dir. Serbest radikal teorisi, ilk kez Denham Harman tarafından ortaya konulmuştur [51]. Bu teori, çeşitli faktörler nedeniyle serbest radikallere maruz kalınarak hücre hasarının meydana geldiğini, hücre fonksiyonlarındaki bozulma ile kanser veya ömür uzunluğunun kısılması ile birlikte ölümün meydana geldiğini açıklamaktadır [52]. Yaş arttıkça serbest radikallere verilen cevap yetersiz kaldığından vücutta biriken radikallerin yaşlanma ile doğrudan ilişkili olduğu kabul edilmektedir [53-57]. Örneğin, farelerin ve güvercinlerin aynı miktarlarda oksijen tükettiği ancak mitokondri tarafından oksidan üretiminin güvercinlerde farelerdekinden %30 daha az olduğu tespit edilerek iki türün ömür uzunluklarının birbirinden farklı olduğu bildirilmiştir. Bu bağlamda, ömür uzunluğu oksijen kullanımı ile değil, oksidan üretim hızıyla ilişkilendirilerek serbest radikal teorisi desteklenmiştir [58].

2.2.2. Somatik mutasyon birikimi teorisi

Somatik mutasyon teorisinde yaşlanma, ultraviyole ışınlar, çeşitli kimyasallar ve serbest radikaller gibi çeşitli etkenler sonucunda somatik hücrelerde geri dönüşümsüz hasarların meydana gelmesi ve bu hasarların birikmesi olarak ifade edilebilir [59]. Bu teori, somatik hücrelerde biriken hasarların birçok hastalığa neden olduğunu savunmaktadır. Kanser insidansının, yaşla birlikte somatik hücrelerde biriken onkojenik mutasyonların varlığıyla artması bu teoriyi destekler niteliktedir [60].

2.2.3. Antagonistik pleiotropi teorisi

Antagonistik pleiotropi teorisine göre genç yaşlarda yararlı etkileri fazla olan bazı genlerin yaş aldıkça zararlı etkiler gösterebileceği ve bu genlerin yaşlanma sürecini hızlandıracağı savunulmaktadır [61]. Bu teoriye vücutta tümör oluşumunu engellemek amacıyla görev alan, ‘genomun koruyucusu’ olarak da adlandırılan TP53 geni örnek olarak verilebilir. TP53 geninin genç yaşlarda olumlu etkiler gösterdiği, ileriki yaşlarda

ise doku onarımında görev alan kök hücrelerin çoğalmasını engelleyerek yaşlanma sürecini hızlandırdığı bildirilmiştir [62].

2.2.4. İmmünolojik teori

İmmünolojik teoriye göre yaşlanma, T-lenfositlerinin görevini etkili bir şekilde yerine getirememesi ile açıklanmaktadır. T-lenfositlerinin olgunlaştığı timus bezinin küçülmesi ile meydana gelen fonksiyon bozuklukları ve hücresel farklılaşma yaşlanma sürecinde timus bezinin önemini vurgulamaktadır. Yaş ilerledikçe vücudun kendine ait olanı tanıma özelliğini yitirmesi sonucunda yıkımların meydana gelmesi immünolojik teori ile açıklanmaktadır [63]. Örneğin, alzheimer ve kardiyovasküler hastalıkların oluşmasının immün sistemdeki değişikliklerle bağlantılı olduğu bildirilmiştir [64].

2.2.5. Nöroendokrin teori

Bu teoriye göre yaşlanmanın, nöral ve endokrin fonksiyonlarında bozulma sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir [65]. Özellikle hipofiz bezinde meydana gelen değişikliklerin yaşlanmada önemli rol oynadığı görüşü bildirilmektedir [66]. Bu teoriye, böbrek üstü bezinden salgılanan dehidroepiandrosteron hormonunun vücuttaki normal seviyesinden daha az miktarda bulunması sonucunda yaşlanma sürecinin meydana gelmesi örnek olarak verilebilir [67].

2.2.6. Hücre yaşlanması teorisi

Telomerler kodlanmayan özelleşmiş DNA tekrar dizilerinden oluşan, ökaryotik organizmalarda linear kromozomların uçlarında bulunan heterokromatik bölgelerdir [68,69]. Telomerler, replikasyon sürecinde rol almakla birlikte füzyon, rekombinasyon ve yıkım gibi anormal koşullardan kromozomların son bölümünü korumaktadır [70]. Somatik hücrelerde hücre bölündükçe telomerler kısalır ve telomerler belirli bir kısalığa ulaştığında hücre artık daha fazla bölünemez. Bu teoriye göre, telomerlerin en son ulaşabildiği kısalığa ulaşması yaşlanmaya neden olmaktadır. Yaşlılardaki telomer

uzunluğunun gençlere oranla daha kısa olması durumu bu teoriyi destekler niteliktedir [71].

2.2.7. Uzun yaşam genleri teorisi

Hücre içinde iç veya dış etkenlerin meydana getirdiği hasarlara karşı çeşitli kontrol mekanizmalarında görev alan genler uzun yaşam genleri olarak adlandırılmaktadır. Bu genler, meydana gelen hasarın onarılmasında görev almaktadırlar [72,73]. Bu teori, uzun yaşam genlerinin beklenen yanıtı verememesi sonucunda hücrede biriken hasarların yaşlanmaya neden olduğunu açıklamaktadır [74].

2.2.8. Proteinlerin değişikliğe uğraması teorisi

Proteinlerde yapısal olarak meydana gelen değişiklikler fonksiyonlarında da meydana gelmektedir [50]. Bu teori, proteinlerde meydana gelen değişikliklerin çeşitli reaksiyonlarda bozulmalara neden olarak yaşlanmanın tetiklendiğini savunmaktadır. Örnek olarak, hücre dışı matriks proteinlerindeki değişiklikler protein-protein etkileşimlerinin artmasına neden olarak damar sertliği, katarakt gibi sağlık problemlerine yol açmaktadır [50].

Bu teorilerin hiçbiri tek başına yaşlanmayı açıklamak için yeterli olmamakla birlikte teorilere ek olarak yaşlanma sürecini, ömür uzunluğunu etkileyen başka etkenler de bulunmaktadır. Bu etkenler, iç ve dış faktörler olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır [45].

2.3. Yaşlanmayı ve Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler

Yaşlanma ve ömür uzunluğu anasal yaş, genetik yapı, eşeylik, yumurta üretimi gibi iç faktörler ve beslenme, ışık, sıcaklık, nem oranı, popülasyon yoğunluğu ve radyasyon gibi dış faktörler tarafından etkilenmektedir [75-84].

2.3.1. İç faktörler

2.3.1.1. Anasal yaş

Anasal yaşın, ömür uzunluğu üzerinde önemli bir etkisi bulunmaktadır. Rotiferlerden *Philodina citrina* kullanılarak yapılan çalışmalar, yavru bireyin ömür uzunluğunda anasal yaşın kayda değer etkisini ilk kez ortaya koymuştur [85]. Genç dişi sineklerin yavrularının, yaşlı dişi sineklerin yavrularından daha yüksek yaşayabilirlik gösterdiği, yaşlı bireylerin yavrularının gençlerin yavrularına göre daha yavaş gelişim gösterdikleri bildirilmiştir [86]. Ancak anne yaşı ve yavru sineğin ömür uzunluğu arasında bir bağlantı olmadığını ifade eden çalışmalar da mevcuttur [87]. Bu bağlamda, annenin yaşı arttıkça yavruda ömür uzunluğunun azalmasının temel nedeninin annede miktarı artan mutasyonlardan kaynaklandığı ifade edilmiştir [88].

2.3.1.2. Genetik yapı

D. melanogaster'de belirli mutant genlerin ve gen kombinasyonlarının ömür uzunluğundaki etkisi, beş mutant gene sahip bireylerin, bu genlerden sadece bir tanesine sahip olan bireylerden daha az yaşamları sonucu keşfedilmiştir [89]. Yaklaşık 13.600 gene sahip *D. melanogaster*'de yumurta verimi, larva popülasyonu, gelişim evreleri gibi parametreler değerlendirildiğinde, *Drosophila*'nın farklı soyları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. Bu farklılıkların tümü genetik özelliklerle ilişkilendirilmiştir [90]. Ayrıca, *D. melanogaster*'ın sahip olduğu genlerin, hayatı boyunca ne kadar yumurta üretebileceğini etkilediği de bildirilmiştir [91].

2.3.1.3. Eşeylik

Dişi ve erkek *Drosophila*'lar birbirlerinden farklı ömür uzunluklarına sahiptirler. Bu durumun metabolizmadan kaynaklı olabileceği, dişi ve erkek bireylerin DNA, RNA ve protein seviyelerinin belirlenip erkeklere göre bu moleküllerin dişilerde çok daha fazla miktarda bulunduğu ortaya konulmasıyla desteklenmiştir [92]. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda genellikle erkek bireylerin, dişilere göre daha kısa ömürlü oldukları ifade

edilmesine rağmen bazı *Drosophila* soylarında yapılan araştırmalar, bu genellemeyi kısıtlamıştır. Bu kapsamda, *D. melanogaster*'in Oregon soyu dişilerinde ömür uzunluğunun erkeklere göre daha uzun olduğu, Canston S soyunda böyle bir fark gözlenmediği bildirilmiştir [93]. Tüm bu verilere rağmen eşey ile ömür uzunluğu arasındaki ilişkinin, erkek bireylerin dişilere göre daha az ömür uzunluğuna sahip olduğu şeklinde kabul edilen bir genellenenin varlığından bahsetmek mümkündür.

2.3.1.4. Yumurta retimi

Yumurta retimi ile ömür uzunluğu arasındaki ilişki, yumurta üretimi düşük virgin dişilerin, çiftleşmiş ve yüksek miktarda yumurta üreten dişilere göre ömür uzunluğunun daha fazla olması sonucu ortaya konulmuştur [94]. Yüksek miktarda yumurta üretiminin dişilerin ömür uzunluğunu azalttığı bildirilmiştir [95].

2.3.2. Dış (evresel) faktörler

2.3.2.1. Beslenme

Böceklerin mr uzunluğunu etkileyen en önemli faktörlerden biri beslenmedir. Uygun olmayan bir besiyeri, larvaların gelişim sürelerinin uzamasına sebep olarak erginlerin vücut büyüklüğünü azaltmaktadır [96,97]. Yetişkinlerdeki yumurta verimliliğinin de besiyerindeki protein miktarına bağlı olduğu bilinmektedir [96]. şeker maddesi olarak galaktoz kullanımı *Drosophila*'da ömür uzunluğunu kısaltmaktadır [98].

Beslenmenin, *D. melanogaster* zerindeki etkisini araştırmak amacıyla besiyerine araştırılmak istenen besin türü ilave edilip *D. melanogaster*'de gelişimsel veya genetik etkiler gözlemlenebildiği gibi besin kısıtlaması yapılarak gelişimsel veya genetik değişimler gözlemlenebilir. Yapılan bir çalışma, hiperoksi altında veya Cu/Zn-süperoksit dismutaz eksikliğinde besin ortamına kakao ilavesinin *Drosophila*'lada ömür uzunluğunu önemli lde arttırdığını ortaya koymuştur [99]. Bununla birlikte, Mn-süperoksit dismutaz eksikliğinde besiyerine kakao ilavesi de mortalite oranını artırarak erken lme neden olmuştur. Gcl bir antioksidan olan kurkuminin *Drosophila*'da ömür uzunluğunu

artırdığı ve bu etkinin artmış süperoksit dismutaz aktivitesi ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir [100]. Bir başka çalışmada, birçok meyve ve sebze de bulunan karotenoidlerden biri olan luteinin *D. melaogaster*'de ömür uzunluğunu artırdığını, ayrıca hidrojen peroksit ve parakuat tarafından indüklenen mortalite oranını da azalttığı kanıtlanmıştır [101].

2.3.2.2. Işık

Işık, *D. melanogaster*'in metabolik ve gelişimsel evrelerinde rol oynayan önemli bir faktör olup sineklerin pupadan çıkış sürelerine, metabolik hızlarına ve ömür uzunlukları üzerine etki göstermektedir [102,103,104]. 1973 ve 1998 yıllarında yapılan çalışmalar ile devamlı ışık gören ortamda bulunan ergin bireylerin ömür uzunluğunun kısaldığı tespit edilirken devamlı karanlık ortamda bulunan erkeklerin ömür uzunluğunda %20, dişilerin ise %43 oranında artış olduğu ifade edilmiştir [105,106,107].

2.3.2.3. Sıcaklık

Soğukkanlı canlılar grubuna dahil olan böceklerin artan çevresel sıcaklıkta metabolik aktiviteleri, solunum hızları değişmekte ve oluşan serbest radikaller hücresel hasarı tetikleyerek ömür uzunluğunda azalmaya neden olmaktadır. 19, 24 ve 29°C olmak üzere farklı sıcaklıklara sahip ortamlarda, artan sıcaklığın *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunda azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir [53]. 25°C'de yaşayan sinekler soğuk strese maruz bırakıldıktan sonra 19 ve 22°C'lik ortamlara transfer edildiğinde, sineklerin ömür uzunluğunun arttığı ve bu strese maruz kalan sineklerin, 25°C'de tutulan sineklerin öldüğü yaşlarda güçlü bir strese dayanabildikleri bildirilmiştir [108].

2.3.2.4. Nem oranı

D. melanogaster gelişim sürecinde yüksek neme ihtiyaç duyar [96]. *Drosophila*'nın normal bir gelişim gösterebilmesi için bulunduğu ortamın nem oranının %40-60 olması ve bu değer in %55'in altına inmemesi gerekmektedir [109]. Nem oranının çok fazla

olmasının pupaların hayatta kalma oranlarını azalttığı ve larval gelişimin kısa sürede tamamlanmasına sebep olduğu bilinmektedir [82].

2.3.2.5. Popülasyon yoğunluğu

Popülasyon yoğunluğu, genellikle larva evresindeki bireylerde çalışılan bir parametredir. Artan popülasyon yoğunluğu, larva büyümesinde gecikmeye neden olmaktadır. Bu durumda ergin bireylerde ömür uzunluğu artmaktadır [110]. Artan popülasyon yoğunluğunun, ergin bireylerin geç gelişim göstermesine ve daha küçük vücut yapısına sahip olmasına neden olarak erginlerin normal bireylere göre daha uzun yaşadıkları bildirilmiştir [111]. Bunların aksine, popülasyon yoğunluğunun artmasının besin miktarını azaltacağı ve fiziksel çevrenin değişerek sineklerin ömür uzunluğunun azalacağı da ifade edilmiştir [112].

2.3.2.6. Radyasyon

Böcekler, radyasyona oldukça dayanıklı canlılardır. Ancak radyasyonun dozuna bağlı olarak farklı etkiler meydana gelebilmektedir. Bu kapsamda, yüksek dozda radyasyonun somatik mutasyon birikimine neden olduğu ve bu nedenle ömür uzunluğunu kısalttığı, düşük dozda radyasyonun ise ömür uzunluğunu arttırdığı bildirilmiştir. Bu durum bazı enfeksiyonların radyasyon ile azalması ya da sineklerin çevresel faktörlere karşı dirençli hale gelmesinin sonucu olarak değerlendirilmiştir [39]. Yapılan bir çalışmada, dişi ve erkek sineklerin radyo frekansı elektromanyetik radyasyon ortamına maruz bırakılması sonucu, radyasyon ortamının sinekler üzerindeki etkileri, ilk 3 gündeki pupa yüzdesinin ve ilk 2 gündeki eklozyon oranının artması ile ortalama gelişme süresinin kısalması şeklindedir [84].

3. BÖLÜM

MATERYAL ve METOT

3.1. Materyaller

3.1.1. Kullanılan bitki materyali

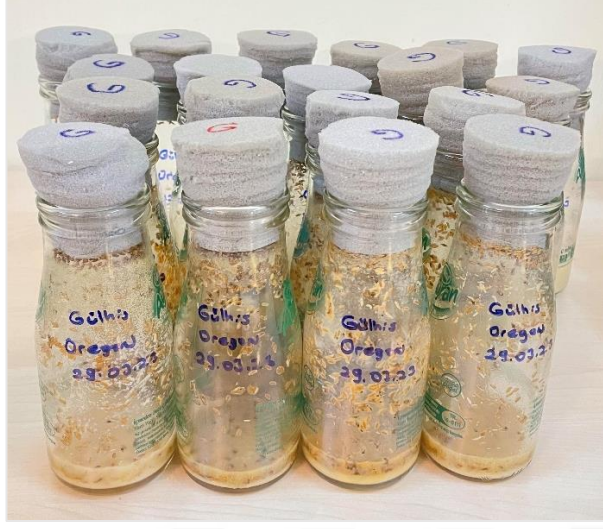
Çalışmada kullanılan Malvaceae familyasına ait *Alcea rosea*'nın tohumları, Nevşehir ili merkezinden toplanmıştır. Bitkinin tür teşhisi Doç. Dr. Gençay AKGÜL (Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) tarafından yapılmıştır. Tohumların genel görünüşü Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *A. rosea* tohumlarının genel görünüşü

3.1.2. Kullanılan model organizma

Deneylede *D. melanogaster* Oregon R yabanıl tip larva ve ergin bireyleri kullanılmıştır. Oregon R mutant olmayan, yuvarlak, kırmızı gözlerle sahip yabanıl tip bir soydur. Bu soy, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Genetik Laboratuvar'ında stoklanmaktadır (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Oregon R stok kültürleri

Çalışmalarda kullanılan tüm *Drosophila* kültürleri, yaklaşık %50-60 bağıl nem ve yaklaşık 25-26°C sıcaklıktaki ortamda muhafaza edilmiştir. *Drosophila* 'lar, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda bırakılmıştır. Stoklar, yaklaşık 15 günde bir yenilenmiştir. Sinekler yalnızca taze besiyerine aktarılma sürecinde gün ışığına çıkarılmıştır.

3.1.3. Kullanılan maddeler ve cihazlar

Besiyeri olarak hem kuru instant besiyeri hem de standart *Drosophila* besiyeri kullanılmıştır. Standart *Drosophila* besiyeri için maya, şeker, agar, mısır unu, distile su ve asit karışımı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan cihazlar, kimyasallar ve sarf malzemeler Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

Kullanılan Cihazlar	Marka Adı
Hassas terazi	Kern Abj
Soxhlet ekstraksiyon cihazı	Isolab
Evaporatör	Buchi- Rotavapor R-3
Isıtıcı tabla	Velp Scientifica
Stereo mikroskop	Leica
Etüv	Isolab
Saf su cihazı	Isolab

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan kimyasal ve sarf malzemeler

Çalışmada kullanılan kimyasal ve sarf malzemeler	
Asetik asit	Baget
Metanol	Cam pipet
NaCl	Mikropipet
Dietil eter	Cam şişe
Mezür	Petri kabı
Filtre kâğıdı	Pamuk
Beher	Sünger
Deney tüpleri	Sulu boya fırçası

3.2. Metot

3.2.1. Kullanılan bitkinin toplanması ve kurutulması

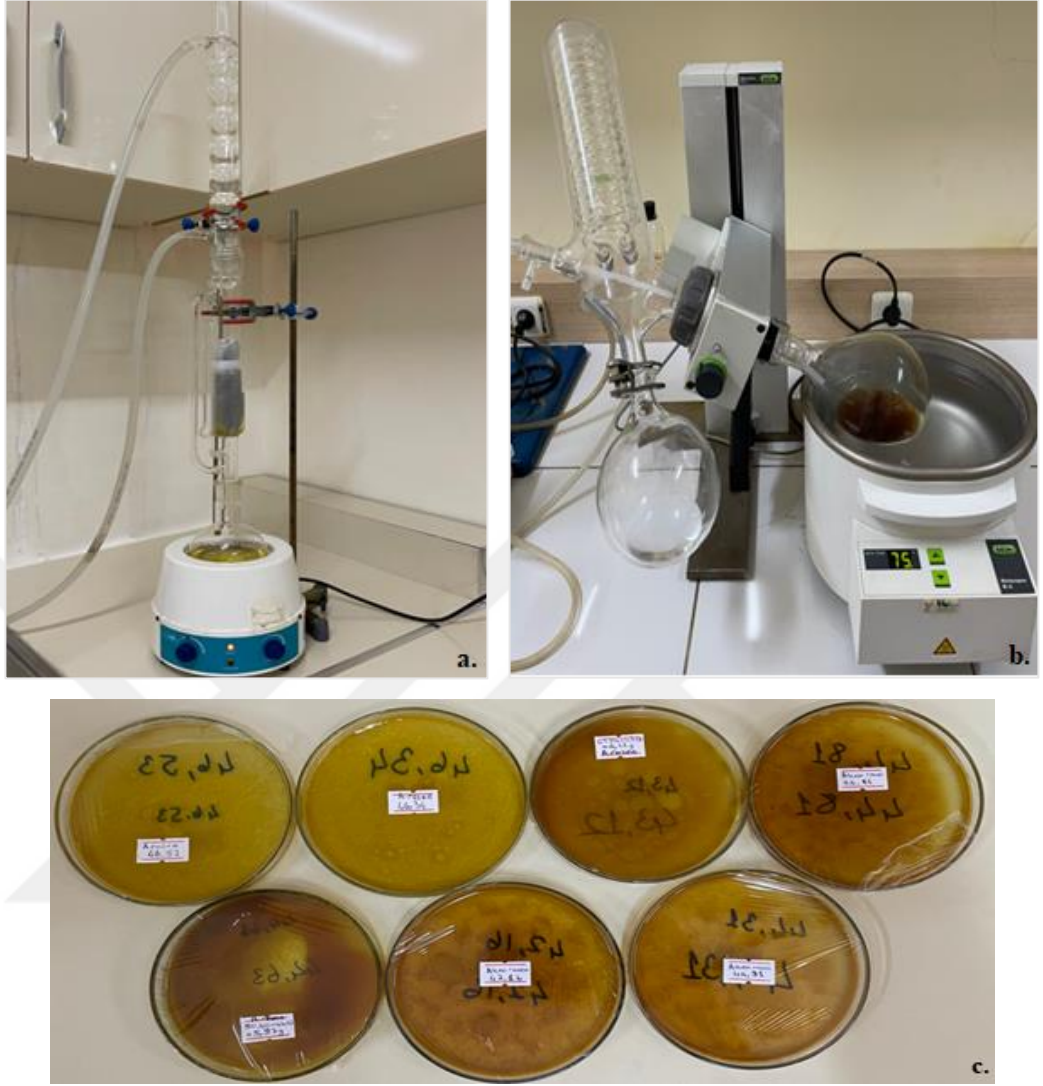
Bitkinin tohumları çalışmada kullanılması ve ekstraktının çıkarılması amacıyla serbest bir şekilde kurutma kağıdına serilerek güneş ışığı görmeyen karanlık bir ortamda oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kuruyan *A. rosea* tohumları havan içerisinde ezilerek öğütülmüştür. Bu şekilde küçük, toz halinde tohumlar elde edilmiştir (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. *A. rosea* tohumlarının kurutulmuş ve öğütülmüş hali

3.2.2. Kullanılan bitkinin metanol ekstraktının hazırlanması

A. rosea tohumlarının metanol ekstraktının hazırlanması için Soxhlet ekstraksiyon cihazı ve evaporatör kullanılmıştır (Şekil 3.4.a.). Kurutulup öğütülen tohumlar, 35 gr olacak şekilde tartılıp ekstraktör filtre kağıdına konulmuş ve bu filtreler ekstraktöre pens ile yerleştirilmiştir. Çözücü olarak bir balon joje içerisine 350 ml metanol eklenmiş, bu şekilde metanollü özüt hazırlanmıştır. Elde edilen özütten metanolü ayırtmak için ise 75°C sıcaklığa ayarlı evaporatör cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.4.b.). Elde edilen saf tohum özütü eşit şekilde petri kaplarına dökülmüş ve kullanılıncaya kadar buzdolabında +4°C'de saklanmıştır (Şekil 3.4.c.).



Şekil 3.4. Özüt elde etme işlemi: a. soxhlet cihazı ve ekstraksiyon süreci, b. evaporatör ve evaporatör işlemi, c. bitki özütleri

3.2.3. Bitki ekstraktını içeren ana stok çözeltisinin hazırlanması

İlk olarak ekstraktı çözmek amacıyla hassas terazide 0,36 gram NaCl tartılmıştır. Manyetik karıştırıcıda 40 ml distile su içerisinde 0,36 gram NaCl'nin çözünmesi sağlanmıştır. Ardından 3000 mg *A. rosea* tohum özütü tartılmış, hazırlanan tuzlu su çözeltisi içerisinde çözdürülerek anastok çözeltisi hazırlanmıştır.

3.2.4. Besiyeri hazırlama

Drosophila besiyeri için mısır unu, şeker, maya, agar, distile su ve asit karışımı kullanılır. Besiyeri içeriği 104 g mısır unu, 94 g şeker, 19 g maya, 6 g agar, 6 ml asit karışımı, 1020 ml distile sudan oluşmaktadır [113]. Besiyerinde kullanılan asit karışımı için ise 836 ml propionik asit, 83 ml ortofosforik asit, 1081 ml distile su kullanılmaktadır [113].

Oregon R stok kültürleri, standart *Drosophila* besiyerinde tutulur [114]. Besiyeri yapımında asit haricindeki tüm maddeler belirli ölçülerde tartılmış ve karıştırılarak kaynaması sağlanmıştır. Karışım kaynadıktan sonra kısık ateşte yaklaşık 10 dakika pişirme işlemine devam edilmiştir. Hazır hale gelen karışım ateşten alınmış ve içerisine asit ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Asit kullanılmasındaki amaç, oluşabilecek enfeksiyonların önüne geçmektir. Karışımın çok sıvı ya da çok katı olmamasına dikkat edilmiştir. Karışım, ilk sıcaklığı çıktıktan sonra 250 ml'lik kültür şişelerine 4-5 cm olacak şekilde dökülmüştür. Ardından şişelerin üzeri temiz bir kurutma kâğıdı ile kapatılıp şişeler bir gün boyunca oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Besiyerleri soğuyup katılaştığında kültür şişelerinin ağzı steril bir sünger ya da pamukla kapatılmış, kullanılıncaya kadar buzdolabında saklanmıştır.

3.2.5. Eterizasyon işlemi

Eterizasyon yani bayıltma işlemi, hızlı bir şekilde hareket eden sineklerin aktarımının sorunsuz bir şekilde gerçekleştirilmesi için gereklidir. Aksi takdirde *Drosophila*'lar yerçekiminin tersine, ışığa doğru ve kimyasal maddelere yönelme davranışı gösterdiklerinden kontrol altında tutulmaları neredeyse mümkün olmamaktadır [115]. Bu amaçla genellikle hem ekonomik olması hem de çalışma kolaylığı sağlaması açısından dietil eter tercih edilmektedir. Sinekleri bayıltma işlemi, sineklerin 250 ml'lik boş şişelere aktarılması ile başlatılmıştır. Ardından, dietil eter batırılmış bir pamuk ile şişenin ağzı hızlı bir şekilde kapatılmıştır. En fazla iki dakika sonunda hareketsiz hale gelen sinekler, aktarım yapılmak üzere şişeden çıkarılmıştır. Sineklerin çok uzun süre etere maruz bırakılmamasına dikkat edilmiştir.

3.2.6. Deney gruplarına uygulanacak bitki ekstraktının dozlarının belirlenmesi

Literatür taramaları ile daha önce yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar göz önünde bulundurularak deneme grupları oluşturulmuş ve 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml olmak üzere üç farklı konsantrasyon değeri uygulanmıştır (Tablo 3.3.).

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan deney grupları

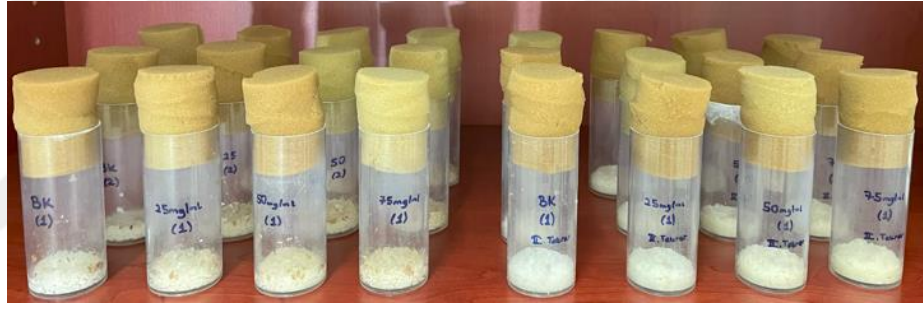
Deney Grupları	
1. Grup	BK (Büyüme Kontrol = Negatif Kontrol)
2. Grup	SK (Solvent Kontrol)
3. Grup	25 mg/ml
4. Grup	50 mg/ml
5. Grup	75 mg/ml

3.2.7. Larval mortalite deneyi

Larval mortalite deneyi için 3.evre larvalar kullanılmıştır. 3. evre larvaları elde etmek amacıyla,

- *D. melanogaster*-Oregon R yabanıl soyunun aynı yaşta virgin dişi ve erkek bireyleri toplanmıştır.
- Aynı yaşta sinekler elde etmek için standart *Drosophila* besiyeri içeren şişelere 10 ergin dişi ve 10 erkek sinek eklenmiştir.
- Bir hafta sonra ortamdaki sinekler uzaklaştırılmış, virgin dişiler ve yeni nesil erkek sinekler elde edilmiştir.
- Daha sonra virgin dişi ve erkekler, 10 ♀ x 10 ♂ olacak şekilde yeni bir besiyerine aktarılıp çaprazlama gerçekleştirilmiştir.
- 4-6 saat sonra bu ergin sinekler ortamdan uzaklaştırılmıştır.
- Yaklaşık 72 saatin sonunda elde edilen üçüncü evre larvalar, farklı konsantrasyonlarda bitki ekstraktını içeren kuru Instant *Drosophila* Medium (IDM) içeren deney tüplerine aktarılmıştır.
- Her bir doz için deney tüplerine toplam 100 larva eklenmiştir.

- Larvalar 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml olmak üzere elde edilen ekstraktın farklı konsantrasyonları ile beslenmiştir (Şekil 3.5). Larvaların, kalan gelişim süreçlerini bu ortamda beslenerek tamamlaması sağlanmıştır.
- Negatif ve solvent kontrol grupları sırasıyla sadece distile su ve distile su + NaCl ile hazırlanmış besiyerinden oluşturulmuştur.
- Bu süreçte deney gruplarının her biri her gün kontrol edilmiş ve ilk ergin sinek oluştuğu an bir hafta boyunca sayım yapılmıştır.
- Her gün sayım yapılarak ölen larvalar not edilmiştir.
- Oluşan ergin bireyler stereo mikroskop altında incelenerek malformasyonlu bireyler fotoğraflanmıştır.
- Deneyler 3 defa tekrar edilmiştir.



Şekil 3.5. Larval mortalite deneyi

3.2.8. Ömür uzunluğu deneyleri

Ömür uzunluğu deneyi, dişi ve erkek bireyler için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla,

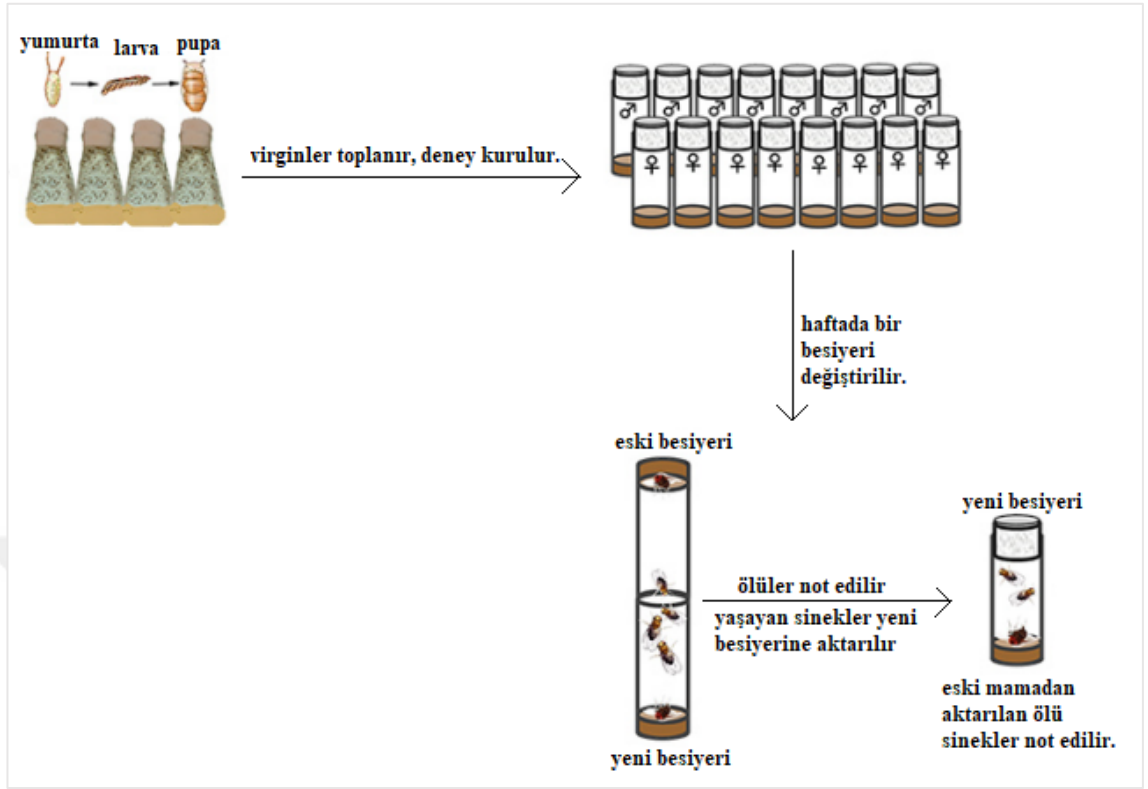
- Aynı yaşta bireyler ile çalışabilmek için, ♀ 10 X ♂ 10 olacak şekilde erkek ve dişi bireyler çaprazlanarak ön stoklar oluşturulmuştur.
- Bir hafta sonunda ebeveynlerin oluşacak yavrularla karışmaması için ortamdan uzaklaştırılması sağlanmıştır.
- Pupa oluşumundan itibaren ergin bireyler çıkmaya başladığında, yaklaşık dört saatte bir virgin dişi ve erkekler ayrı ayrı olacak şekilde farklı şişelerde toplanmıştır.
- Her deney grubu için 2 deney şişesi kullanıldığından her şişeye 25'er ergin birey olmak üzere her bir doz için 50 dişi ve 50 erkek sinek toplanmıştır.

- Bu bireyler, boş şişelere aktarılarak uygulamadan iki saat önce aç bırakılmıştır.
- Ardından aç bırakılan sinekler, larval mortalite deneyinde kullanılan 25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan *A. rosea* tohumunun metanolik ekstraktını içeren instant *Drosophila* besiyeri bulunan deney şişelerine aktarılarak uygulama grupları oluşturulmuştur (Şekil 3.6).
- Negatif ve solvent kontrol grubu olarak sırasıyla distile su ve distile su + NaCl kullanılmıştır.
- Deneyle, kontrol grupları ve uygulama grupları dahil olmak üzere aynı süre zarfında başlatılmıştır. Sinekler, her günün başında ve sonunda sayılmıştır.
- Ölü sineklerin sayısı not edilip kültür şişelerinden uzaklaştırılmıştır.
- Besiyeri tazeleme işlemi haftada bir kez olacak şekilde yapılmıştır. Bu şekilde deneye son birey ölünceye kadar devam edilmiştir.

Ömür uzunluğu deney düzeneği Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Ömür uzunluğu deneyi



Şekil 3.7. Ömür uzunluğu deney düzeneği [116]

3.2.9. Larval mortalite, ortalama ve maksimum ömür uzunluğunun belirlenmesi

Larval mortalite, negatif kontrol grubu esas alınarak belirlenmiştir. Ömür uzunluğu çalışmasında ise yaşamaya devam eden sineklerin sayısının %50'ye ulaştığı gün ortalama ömür uzunluğu olarak belirlenirken; bu sineklerin sayısının %10'a ulaştığı gün maksimum ortalama ömür uzunluğu olarak belirlenmiştir [117].

3.3. İstatiksel Analiz

Larval mortalite ve ömür uzunluğu deneylerinden elde edilen veriler IBM Statistics SPSS26.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Kontrol ve deney gruplarının maksimum ve ortalama ömür uzunluklarına ait elde edilen ortalamaların farklılık gösterip göstermediği “Tek Yönlü Varyans Analizi” (One Way ANOVA) kullanılarak analiz edilmiştir. Farklılıkların hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için ise gruplar arası karşılaştırılmalarda LSD testi kullanılmıştır. Bireylerin hayatta kalış eğrileri Microsoft Windows Office Excel programı kullanılarak oluşturulmuştur.

4. BÖLÜM

BULGULAR

Bu çalışmada, geleneksel tıp ve fitoterapi alanlarında kullanılan *Alcea rosea*'nın olası etkileri, model organizma *Drosophila melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyunda larval mortalite ve ömür uzunluğu yöntemleri ile araştırılmıştır. Bu amaçla, larval mortalite ve ömür uzunluğu deneyleri için distile su ile oluşturulan negatif kontrol grubu, distile su + NaCl'den oluşturulan solvent kontrol grubu ve bitki özütünü içeren üç farklı konsantrasyona (25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml) sahip deney grupları ile çalışılmıştır. Bitkinin larva ve ergin bireylerdeki olası etkileri belirlenerek sonuçlar fotoğraflanarak grafiklerle gösterilmiştir.

4.1. *A. rosea* Tohumlarının Metanol Ekstraktının 3. Evre Larvalarda Mortalite Üzerine Olan Etkileri

A. rosea tohumlarının larval mortalite üzerine olan etkilerini tespit etmek amacıyla bitki özütünün farklı konsantrasyonları (25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml) *D. melanogaster*'in 3.evre larvalarına uygulanmış ve larvadan pupaya, pupadan ergine gelişen bireyler günlük olarak incelenmiştir. Larval mortaliteyi belirlemek amacıyla her bir grup için 100 larva yirmi beşerli gruplar halinde şişelere eklenerek bu larvalardan ölen larvalar, erginleşebilen bireyler not edilmiş ve elde edilen veriler istatistiki olarak karşılaştırılmıştır. Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Belirlenen dozlarda doz artışına bağlı olarak larval mortalitede artış gözlenmiştir. Negatif kontrol grubunda larval mortalite oranı %0 olarak belirlenirken; 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml uygulama gruplarında larval mortalite oranı sırasıyla %11,39, %14,59 ve %17,79 olarak tespit edilmiştir. 50 mg/ml ve 75 mg/ml uygulama gruplarına kıyasla 25 mg/ml'lik uygulama grubunun daha düşük larval mortalite oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Doz artışına bağlı olarak meydana gelen yüzde mortalite oranı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ANOVA testinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık

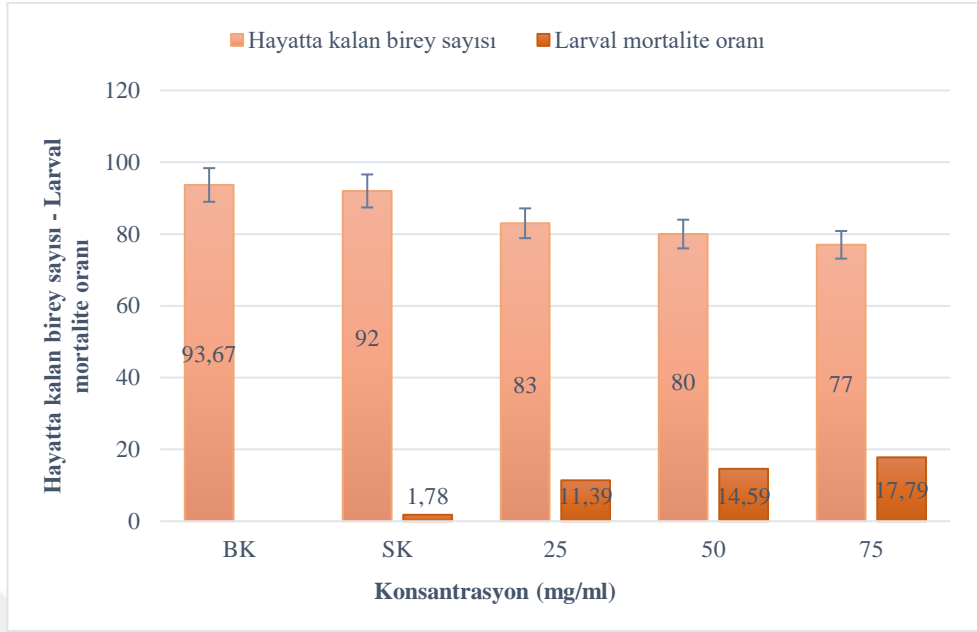
görülmüştür ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.1.). Farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için LSD testi uygulanmıştır. Negatif kontrol grubu ile deney grupları arasında 25 mg/ml ve 50 mg/ml $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılık görülürken 75 mg/ml doz ile hem negatif kontrol hemde solvent kontrol grupları arasında $p \leq 0,01$ düzeyinde anlamlı farklılık görülmüştür. Bu sebeple aynı dozlarla ortalama ve maksimum ömür uzunluğu deneyleri yapılmasına karar verilmiştir.

Tablo 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki *A. rosea* tohumunun metanolik özütüne maruz kalan *D. melanogaster* Oregon R soyuna ait 3.evre larvalarda larval mortalite değerlerine ait istatistiki değerlendirmeler

Deney grupları	Larva sayısı	Ergin hale gelen birey sayısı	Mortalite oranı (%)
Negatif kontrol	100	93,67 ± 1,53	%0
Solvent kontrol	100	92,00 ± 2,65	%1,78
25 mg/ml	100	83,00 ^a ± 8,18	%11,39
50 mg/ml	100	80,00 ^{a, c} ± 7,00	%14,59
75 mg/ml	100	77,00 ^{b, d} ± 5,19	%17,79

a: negatif kontrole göre $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlı, b: negatif kontrole göre $p \leq 0,01$ düzeyinde anlamlı, c: solvent kontrole göre $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlı, d: solvent kontrole göre $p \leq 0,01$ düzeyinde anlamlı

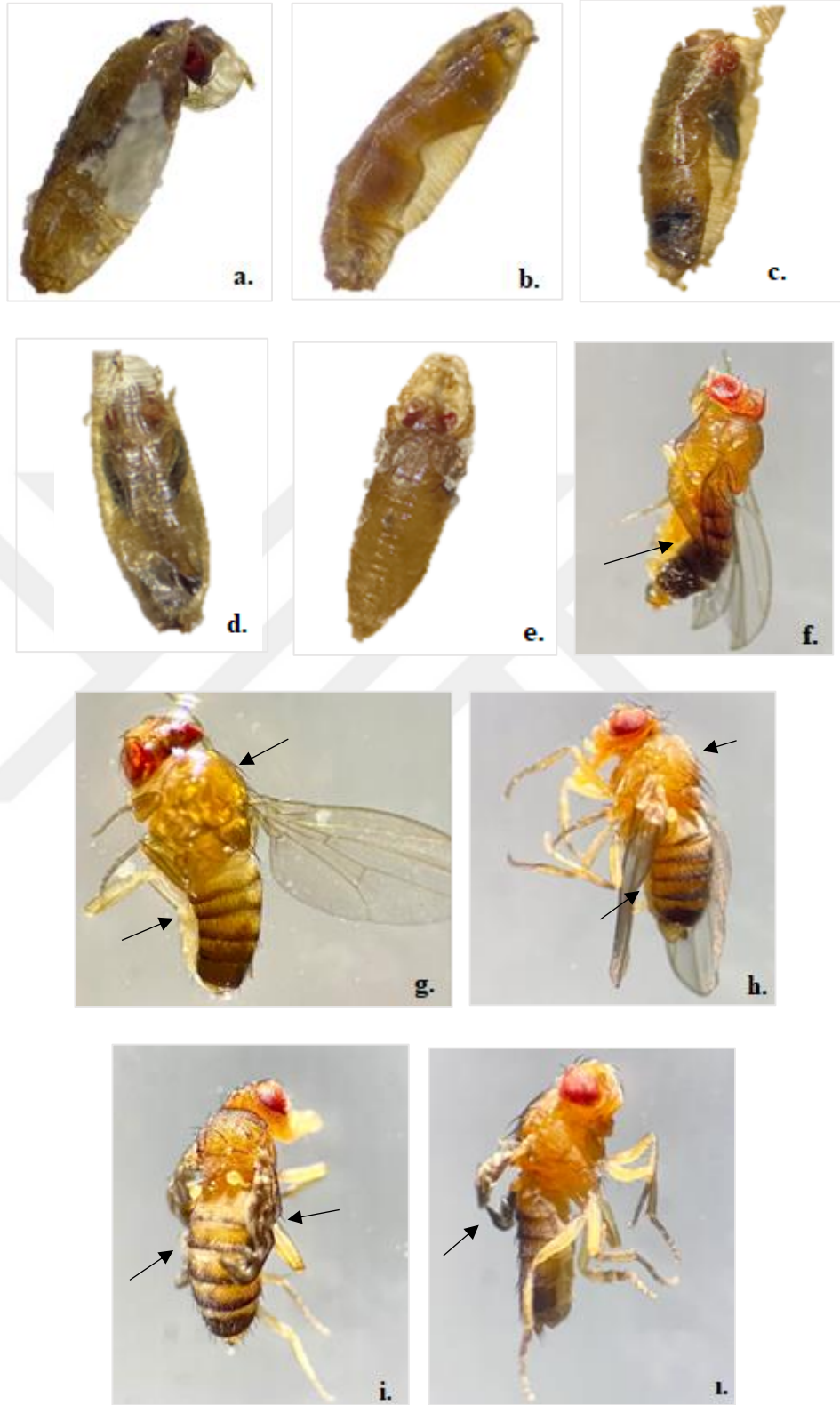
Negatif ve solvent kontrol gruplarında larvaların hayatta kalış oranı sırasıyla %93,67 ve %92 olarak tespit edilmiştir. Larva döneminden itibaren farklı konsantrasyonlarda *A. rosea* tohum özütü içeren besiyerinde beslenen larvaların 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml'lik konsantrasyonlara ait uygulama gruplarında ise hayatta kalış oranı sırasıyla %83, %80 ve %77 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1.). Bu kapsamda, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında uygulama gruplarında hayatta kalış oranının farklı oranlarda azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Oregon-R yabancı soya ait 3.evre larvalarda farklı konsantrasyonlardaki *A. rosea* tohumunun metanolik özütünün larval toksisite üzerine etkilerinin karşılaştırılması

Ayrıca, larval mortalite deneyi kapsamında gelişimini tamamlayamayıp ölen larvalar, pupa evresine geçip bu evrede kalarak ergin bireye gelişemeyen ve ergin hale gelen ancak malformasyonlara sahip olan tüm bireyler stereo mikroskop altında incelenerek fotoğraflanmıştır (Şekil 4.2, 4.3, 4.4).

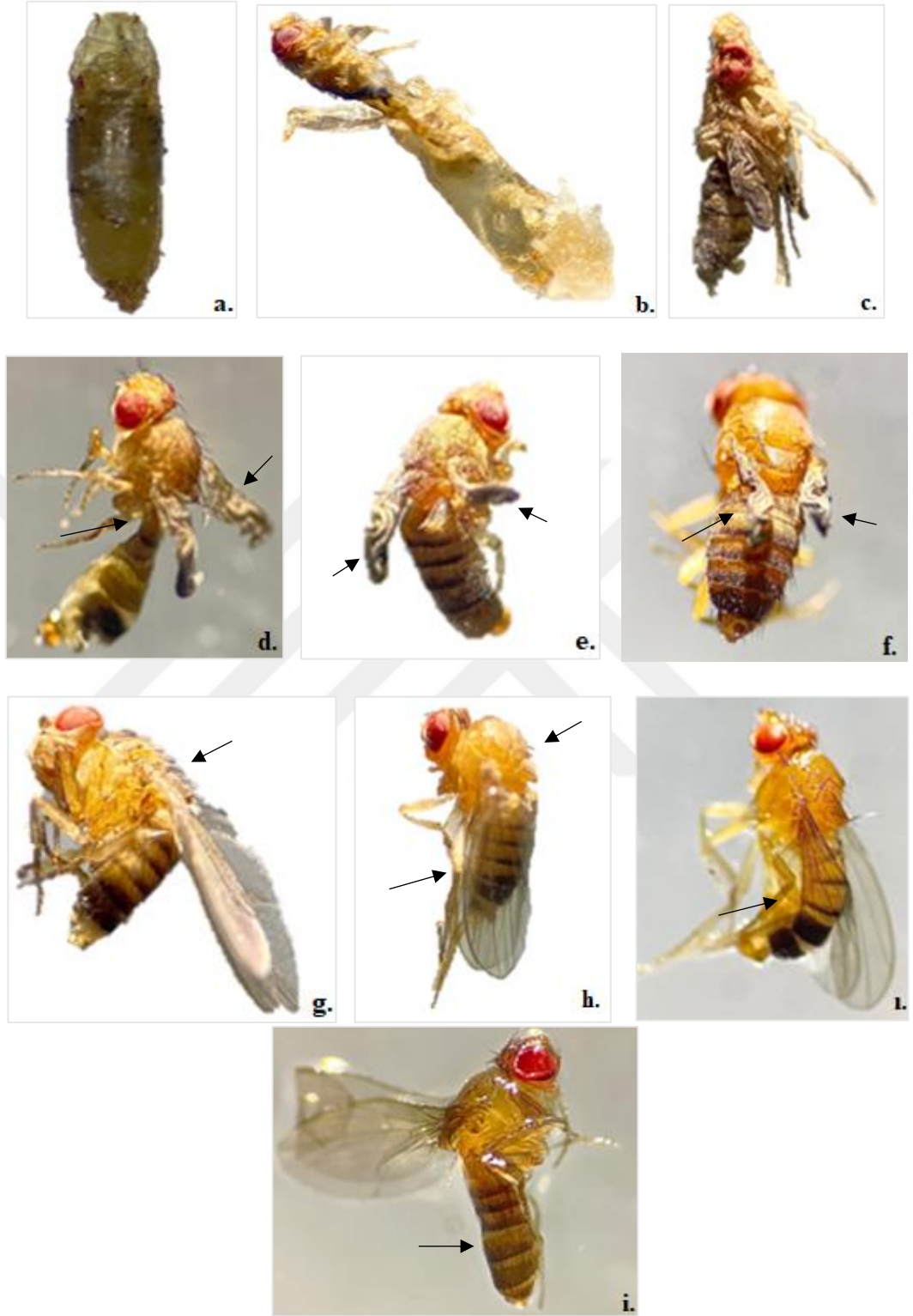
25 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarındaki bireylerde pupa dönemini neredeyse tamamlamış ancak ergin birey haline gelişememiş (Şekil 4.2.a-b-c-d-e), abdomen bölgesinde sağa-sola kıvrılma (Şekil 4.2.f), toraks ve abdomende şişlik (Şekil 4.2.g-h), kanatlarda makas benzeri tırtıklı bir yapı (Şekil 4.2.i-1) olmak üzere çeşitli malformasyonlar saptanmıştır.



Şekil 4.2. 25 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarındaki malformasyonlar: a-b-c-d-e. pupa dönemini neredeyse tamamlamış ancak ergin birey haline gelişememiş bireyler; f. abdomen bölgesinde sağa-sola kıvrılma; g-h. toraks ve abdomende şişlik; ı-i. kanatlarda makas benzeri tırtıklı bir yapı

50 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarında pupa evresine geçip ergin hale gelişemeyen (Şekil 4.3.a), pupa evresini tamamlayıp ergine geçiş sürecini neredeyse tamamlayan ancak bu evrede ölen (Şekil 4.3.b), kanat ve toraks kısmında çeşitli malformasyonlara sahip ve genel itibariyle doğru bir gelişim göstermeyen (Şekil 4.3.c), tırtıklı yapıya benzer kanata ve gelişmemiş abdomen yapısına sahip (Şekil 4.3.d), kanatlarda malformasyonların gözlendiği (Şekil 4.3.e-f), toraks bölgesinde sağa yığılmanın olduğu (Şekil 4.3.g), toraks ve abdomende şişlik (Şekil 4.3.h) ve abdomen bölgelerinde anomaliye sahip (Şekil 4.3.i-1) bireyler elde edilmiştir.





Şekil 4.3. 50 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarındaki malformasyonlar: a-b. pupa evresine geçip ergin hale gelişemeyen, erginleşme sürecinde ölen, c. kanat ve toraks bölgesinde malformasyon, d. tırtıklı yapıya benzer kanat ve gelişmemiş abdomen, e-f. kanatlarda malformasyonlar, g. toraksta sağa yığılma, h. toraks ve abdomende şişlik, i-i. abdomen bölgelerinde anomali

75 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarında normal gelişimini tamamlamamış (Şekil 4.4.a.), vücut ve göz yapısında çeşitli anomalilere sahip (Şekil 4.4.b-c), pupa evresini tamamlayamayan ve ergin birey haline gelişemeyen (Şekil 4.4.d-e.), toraks bölgesinde şişliğe sahip (Şekil 4.4.f), abdomeni gelişmemiş (Şekil 4.4.g.) bireyler tespit edilmiştir.

75 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarında bireyler genellikle küçük vücut yapısına sahiptir. Bu durum, normal birey ve küçük vücut yapısına sahip birey olmak üzere karşılaştırılmalı olarak Şekil 4.4.h.'de (sol taraftaki normal bir birey; sağ taraftaki küçük vücut yapısına sahip bir birey) gösterilmiştir.



Şekil 4.4. 75 mg/ml'lik konsantrasyona ait uygulama gruplarındaki malformasyonlar: a. düzgün bir gelişim gösterememiş birey, b-c. vücutta ve gözde çeşitli anomaliler, d-e. pupa evresinde kalıp erginleşemeyen bireyler, f. toraksta şişlik, g. gelişmemiş abdomen, h. büyük (sol) ve küçük (sağ) vücut yapısına sahip bireyler

İstatistiki olarak anlamlı sonuçlar elde edilerek morfolojik yapılar değerlendirildiğinde, erginleşen bireylerin %46,61'inde malformasyonlar olduğu tespit edilmiştir. 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml uygulama gruplarında oluşan bireylerin sırasıyla %37, %47 ve %56'sında anomali gözlemlenerek doz miktarı arttıkça malformasyonlara sahip bireylerin sayısında da artış olduğu belirlenmiştir.

4.2. *A. rosea* Tohumlarının Metanol Ekstraktının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri

A. rosea tohum özütü larval mortalite deneyinde çalışılan konsantrasyonlarda (25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml) *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyunun dişi ve erkek bireyleri için ayrı olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler, kontrol gruplarına ait veriler ile karşılaştırılarak istatistiksel analizler yapılmıştır (Tablo 4.2.).

Ortalama ömür uzunluğu negatif ve solvent kontrol gruplarının dişi bireylerinde sırasıyla $48,58 \pm 4,16$ ve $39,35 \pm 8,18$ gün olarak tespit edilirken erkek bireylerde $38,63 \pm 0,19$ ve $35,25 \pm 2,01$ gündür. 25 mg/ml bitki ekstraktı uygulanan erkek bireylerde ortalama ömür uzunluğu $31,72 \pm 3,32$ gün iken doz artışına bağlı olarak ortalama ömür uzunluğu azalmış ve 75 mg/ml'lik uygulama grubunda $26,24 \pm 8,86$ güne düşmüştür. Aynı şekilde dişi bireylerde uygulanan doz miktarı 25 mg/ml'den 75 mg/ml'ye çıkarıldığında ortalama ömür uzunluğu $35,15 \pm 7,75$ günden $23,68 \pm 1,08$ güne düşmüştür (Tablo 4.2, Şekil 4.5., Şekil 4.6.). Uygulanan madde konsantrasyonlarında cinsiyete bağlı olarak ortalama ömür uzunlukları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde dişi bireyler ve erkek bireyler arasında ortalama ömür uzunlukları açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p \geq 0,05$) (Tablo 4.2).

Her iki popülasyona ait ortalama ömür uzunluğu değerleri kontrol ve uygulama grupları ile karşılaştırıldığında en uzun ortalama ömür uzunluğunun negatif kontrol grubunda, en kısa ortalama ömür uzunluğunun ise 75 mg/ml'lik uygulama grubundaki bireylerde olduğu tespit edilmiştir.

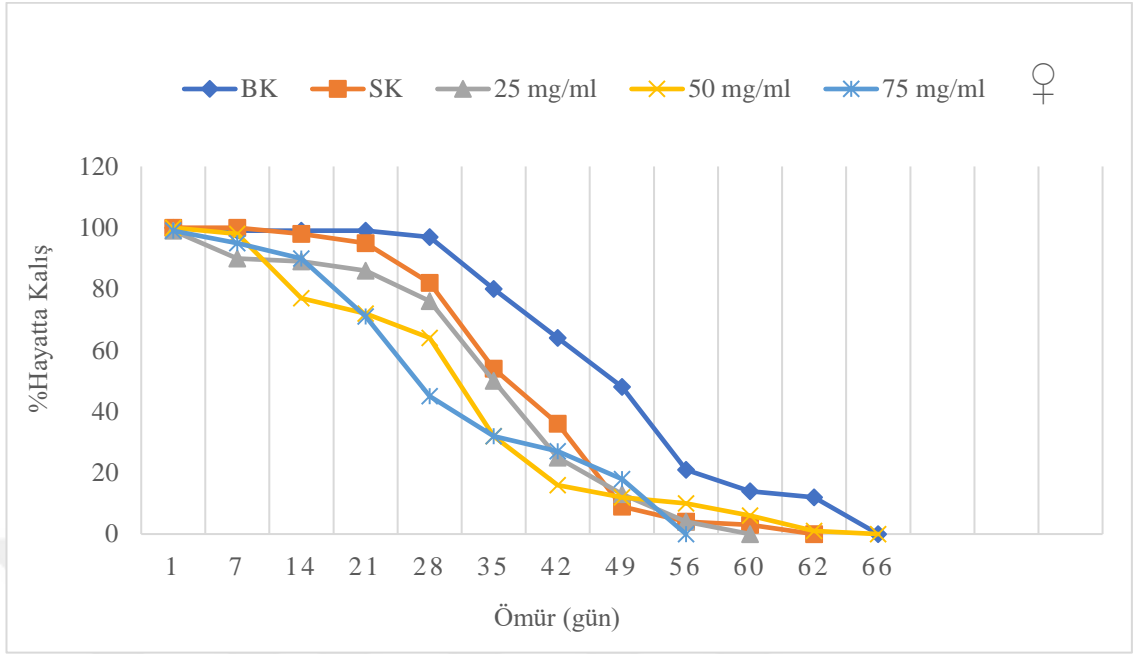
Cinsiyete göre maksimum ömür uzunluğu bulguları erkek bireyler için negatif kontrol, solvent kontrol, 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml dozları için sırasıyla $56,66 \pm 5,50$, $53,66 \pm 0,57$, $49,00 \pm 14$, $53,66 \pm 12,50$ ve $61,66 \pm 7,50$ gün; dişi bireyler için $64,00 \pm 3,46$, $48,66 \pm 19,09$, $50,66 \pm 13,43$, $56,00 \pm 14,14$ ve $53,00 \pm 4,24$ gün olarak elde edilmiştir. Uygulanan dozlarda cinsiyete bağlı olarak maksimum ömür uzunlukları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde dişi ve erkek bireyler arasında maksimum ömür uzunlukları açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p \geq 0,05$) (Tablo 4.2.).

Her iki popülasyona ait maksimum ömür uzunluğu değerleri kontrol ve uygulama grupları ile karşılaştırıldığında en uzun maksimum ömür uzunluğunun kontrol grubunda, en kısa maksimum ömür uzunluğunun ise dişilerde solvent kontrol grubunda, erkeklerde 25 mg/ml’lik uygulama grubundaki bireylerde olduğu tespit edilmiştir.

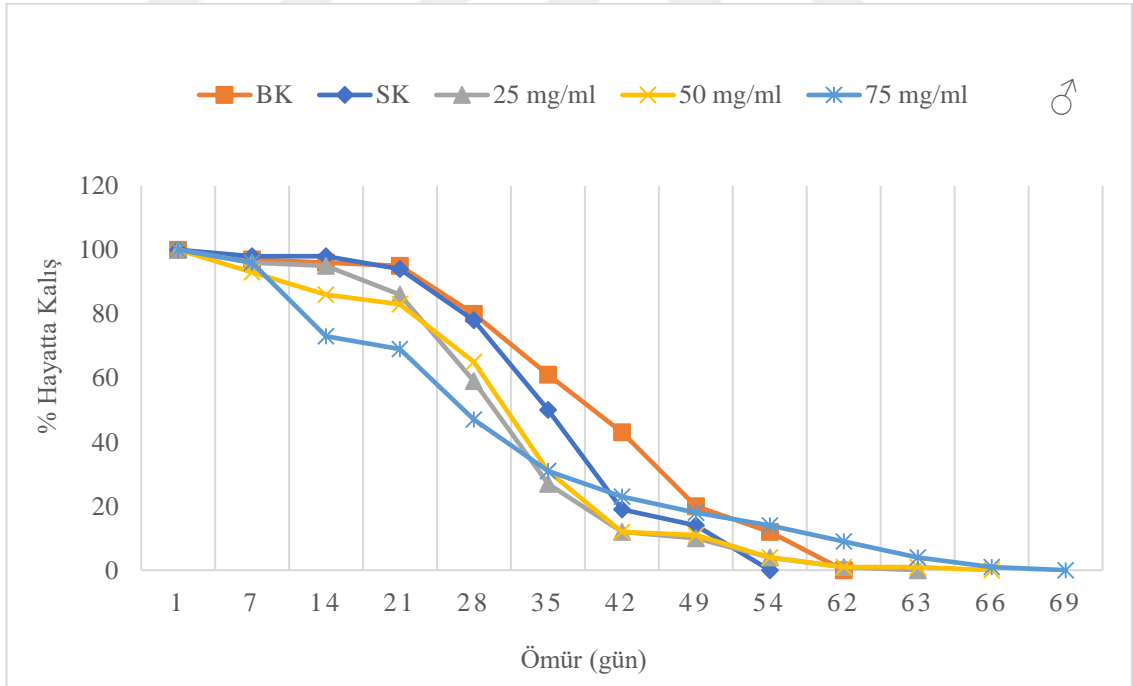
Tablo 4.2. *A. rosea* tohumunun metanolik özütü ile beslenen Oregon-R yabancıl soyunun dişi ve erkek bireylerine ait ortalama ve maksimum ömür uzunluğu değerleri ($p \geq 0,05$)

Deney grupları	Birey sayısı	♀♀		♂♂	
		Ortalama ömür uzunluğu \pm SS	Maksimum ömür uzunluğu \pm SS	Ortalama ömür uzunluğu \pm SS	Maksimum ömür uzunluğu \pm SS
Negatif kontrol (BK)	100	48,58 \pm 4,16	64,00 \pm 3,46	38,63 \pm 0,19	56,66 \pm 5,50
Solvent kontrol (SK)	100	39,35 \pm 8,18	48,66 \pm 19,09	35,25 \pm 2,01	53,66 \pm 0,57
25 mg/ml	100	35,15 \pm 7,75	50,66 \pm 13,43	31,72 \pm 3,32	49,00 \pm 14
50 mg/ml	100	31,21 \pm 7,09	56,00 \pm 14,14	31,35 \pm 4,95	53,66 \pm 12,50
75 mg/ml	100	23,68 \pm 1,08	53,00 \pm 4,24	26,24 \pm 8,86	61,66 \pm 7,50

SS: Standart Sapma



Şekil 4.5. *A. rosea* tohumunun metanolik özütü ile beslenen Oregon-R yabancı soyunun dişi popülasyonu ait hayatta kalış grafiği



Şekil 4.6. *A. rosea* tohumunun metanolik özütü ile beslenen Oregon-R yabancı soyunun erkek popülasyonuna ait hayatta kalış grafiği

Doz artışına bağlı olarak kontrol grupları ile deney grupları açısından ortalama ömür uzunluğu verileri hesaplanmıştır. Negatif kontrol grubunda ortalama ömür uzunluğu $43,61 \pm 6,05$ gün olup, tez çalışmasında araştırılan 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml

dozlarında ömür uzunlukları sırasıyla $33,44 \pm 5,65$, $31,28 \pm 5,47$, $24,96 \pm 5,82$ gün olarak bulunmuştur. Doz artışına bağlı olarak ömür uzunluğunun azalmakta olduğu görülmüştür. Yapılan istatistiksel değerlendirmede 25 mg/ml doz grubu ile negatif kontrol grubu karşılaştırıldığında aralarındaki fark $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlı görülmüştür. 50 mg/ml ve 75 mg/ml dozları ile negatif kontrol grubu karşılaştırıldığında ise gruplar arası fark $p \leq 0,01$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. 75 mg/ml doz grubu ile sırasıyla solvent kontrol grubu karşılaştırıldığında $p \leq 0,01$ düzeyinde, 25 mg/ml doz grubu arasında $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlı ilişki bulunmuştur (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. Doz artışına bağlı olarak ortalama ve maksimum ömür uzunluğu verileri

Deney grupları	Ortalama ömür uzunluğu \pm SS	Maksimum ömür uzunluğu \pm SS
Negatif kontrol (BK)	$43,61 \pm 6,05$	$61,33 \pm 6,18$
Solvent kontrol (SK)	$37,30 \pm 5,78$	$51,16 \pm 8,97$
25 mg/ml	$33,44 \pm 5,65^a$	$49,83 \pm 10,74$
50 mg/ml	$31,28 \pm 5,47^b$	$54,83 \pm 10,20$
75 mg/ml	$24,96 \pm 5,82^{b,c,d}$	$57,33 \pm 6,97$

SS: Standart Sapma, a: Negatif kontrole göre ($p \leq 0,05$), b: Negatif kontrole göre ($p \leq 0,01$), c: Solvent kontrole göre ($p \leq 0,01$), d: 25 mg/ml'ye göre ($p \leq 0,05$)

5. BÖLÜM

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

İnsanlar ilk çağlardan beri beslenme veya hastalıkları tedavi etmek amacıyla doğanın sunduğu otlar, çiçekler, yapraklar dahil olmak üzere bitkilerden yararlanmışlardır. Dünyadaki insan nüfusunun yaklaşık %80'inin geleneksel tıpa güvendiği ve birçoğunun da hastalıkları tedavi etmek için bitkilerden yararlandığı bilinmektedir [118]. Ülkemizde ise bitkiler genellikle halk arasında tedavi amaçlı gıda, çay, baharat, uçucu yağlarından yararlanma gibi çeşitli tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır [119]. Beslenmenin kişinin ömür uzunluğunu, yaşam kalitesini artırmak ve sağlıklı bir yaşlanma süreci geçirebilmesi için oldukça önemli bir faktör olduğu bilinmektedir [120]. Böylece, insanların bitkilerle olan ilişkisinin yaşam kalitelerinde beslenme gibi bir çevresel faktörden etkilenebileceğini söylemek mümkündür. Bu kapsamda, günümüze kadar 20.000'e yakın türle temsil edilen tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin yaşlanma sürecindeki rolü ve yaşam kalitesi üzerindeki etkileriyle ilgili çalışmaların henüz tam istenen düzeye ulaşmadığını belirtmek mümkündür. Bu nedenle tez çalışmamızda, ülkemizde tedavi edici bitki olarak kullanılan Malvaceae familyasına ait *Alcea rosea* türünün *Drosophila melanogaster*'de larval ve ergin toksisite üzerine olan etkileri belirlenmiştir.

Malvaceae, Türkiye'de 10 cins ve 47 tür ile temsil edilmekte ve *Alcea* cinsine ait 17 türün ülkemizde yayılış gösterdiği bilinmektedir [33,121]. Bu türler *Alcea acaulis*, *Alcea striata*, *Alcea remotiflora*, *Alcea digitata*, *Alcea setosa*, *Alcea apterocarpa*, *Alcea kurdica*, *Alcea heldreichii*, *Alcea calvertii*, *Alcea hohenackeri*, *Alcea pisidica*, *Alcea guestii*, *Alcea biennis*, *Alcea dissecta*, *Alcea excubita*, *Alcea flavovirens*, *Alcea fasciculiflora* ve *Alcea rosea*'dır. *A. rosea* yabancı bir bitki türü olup genellikle düz, boş arazilerde ve yol kenarlarında yetişmektedir.

Kordalı ve arkadaşları *A. rosea* yapraklarının yüksek miktarda antioksidan, fenolik madde ve toplam karotenoid miktarına sahip olduğunu ifade ederek *A. rosea*'nın farklı alanlarda

kullanım potansiyelinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir [122]. Aynı şekilde başka bir çalışmada, *A. rosea* tohumlarının antioksidan bakımından çok zengin olduğu, tohum ekstraktının kolon kanserinin erken evrelerinde güçlü serbest süpürme yeteneği gösterdiği ve bitkinin tohumlarının düzenli kullanımının kolon kanseriyle mücadelede etkili olabileceği ileri sürülmüştür [123].

2022 yılında Nazir ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *A. rosea*'nın *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* ve *Escherichia coli* bakterilerinde antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Bitkinin metanol ve etil asetat özütlerinin doza bağlı bir şekilde *K. Pneumoniae* hariç ilgili bakterilere karşı yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği, bitkinin metanolik ekstraktının çalışılan bakterilerden *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı daha etkili olduğu ifade edilirken etil asetat ekstraktının ise *E. coli* ve *Staphylococcus aureus*'da en yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir [124].

Literatür taramaları yapıldığında, *A. rosea*'nın *D. melanogaster* üzerindeki etkileriyle ilgili verilere rastlanılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızdan elde edilen bulgular, *A. rosea*'nın farklı organizmalardaki etkileri ve Malvaceae familyasına ait bazı bitkilerin *D. melanogaster* üzerindeki etkileriyle ilgili veriler esas alınarak değerlendirilmiştir.

A. rosea çiçeklerinin KK-Ay farelerinde (tip 2 diyabet mellitus için kullanılan deneysel bir model) serum trigliserit ve glikoz düzeylerini kayda değer ölçüde azalttığı, sahip olduğu dihidroflavonollerle metabolik enzimleri transkripsiyon seviyesinde düzenleyerek glikoz metabolizmasını iyileştirebileceği ve hatta hipoglisemik aktiviteye sahip olduğu Zhang ve arkadaşları tarafından ileri sürülmüştür [19]. Benzer bir çalışmada, *A. rosea* tohum özütünün anti-hiperglisemik ve antioksidan aktiviteleri, açlık kan şekeri düzeyi, karaciğer ve pankreasın antioksidan seviyesi in vivo olarak değerlendirilerek antidiyabetik ve antioksidatif aktiviteleri kanıtlanmıştır. *A. rosea* tohumunun sulu ve metanolik özütünün diyabetik farelerde kandaki glikoz seviyesini sırasıyla %24 ve %46 oranında azalttığı ifade edilerek bu bitkinin antidiyabetik etkinliği ilk kez rapor edilmiştir [125].

D. melanogaster hemolenfinde dolaşan enerji kaynakları glikoz ve trehalozdur [126]. Trehaloz, iki glikoz molekülünün yoğunlaştırılması ile sentezlenen, *Drosophila* hemolenfindeki birincil şeker olup yüksek konsantrasyonlarda tolere edilebilen bir disakkarittir [127,128] Böceklerdeki şeker seviyesi, besin maddesinin içeriğindeki şeker miktarıyla birlikte artış göstermektedir [129]. Yapılan çalışmalarla gülhatmi bitkisinin hem çiçeğinin hem de tohumunun hipoglisemik aktivite gösterdiği göz önünde bulundurularak tez kapsamında gerçekleştirilen larval mortalite deneyinde, *A. rosea* tohum özütü ile beslenen larvalarda glikoz seviyesinin düşük olabileceği ve bu nedenle larvadan ergine gelişemeyen bireyler olduğu gibi, glikoz yetersizliği sonucu larvadan ergine gelişen bireylerin de kalitesiz bireyler olmasının nedeni, bitkinin hipoglisemik aktivitesinden kaynaklı olabilir. Ayrıca, malformasyonlara sahip bu kalitesiz bireyler, gelişim sürecinde ilgili genlerde oluşan nokta mutasyonları sonucu da meydana gelmiş olabilir.

Larval mortalite deney sonuçları değerlendirildiğinde, yalnızca distile su içeren negatif kontrol grubundaki larvalarda mortalite oranı %0 olarak tespit edilmiştir. En düşük (25 mg/ml) ve en yüksek konsantrasyona (75 mg/ml) sahip uygulama grupları için larval mortalite oranı sırasıyla %11,39 ve %17,79 olarak belirlenmiştir. Bu kapsamda, Malvaceae familyasına ait, genellikle tedavi edici bitki olarak kullanılan *Pachira aquatica*'nın *Drosophila melanogaster* üzerindeki etkileri araştırılan başka bir çalışmada bitkinin tohumundan elde edilen yağın, *D. melanogaster*'de %80'den fazla hayatta kalma oranı ile önemli toksik etkilere neden olmadığı bildirilerek elde edilen bulgular bu tez çalışmasındaki veriler ile benzerlik göstermektedir [130].

Diğer birçok hayvanda olduğu gibi *Drosophila* da besin maddelerinden gelen fazla enerjiyi glikojen şeklinde depolamaktadır [131]. Ancak *A. rosea*'nın hipoglisemik aktivitesinden dolayı *Drosophila*'da depo glikoz yani glikojen miktarı yeteri kadar olmayabilir. Glikojen metabolizmasındaki eksiklik ise, larvalarda yarı öldürücülüğe neden olur [132]. Bu nedenle, uygulama gruplarındaki larval mortalite oranları glikojen metabolizmasındaki eksiklikten kaynaklı olabilir.

Böceklerde, uçuş kasları doğrudan uçuş kasları ve dolaylı uçuş kasları olmak üzere iki tip olup vücut ağırlığının büyük bir bölümünü oluşturur. Dolaylı uçuş kasları, hayvanlarda bulunan en fazla enerji tüketen kaslardan biridir [133]. Bu nedenle, *Drosophila* uçuş kaslarının enerji ihtiyacı hemolenfte bulunan yüksek trehaloz seviyesi ile karşılanmaktadır [127]. Bu kapsamda değerlendirilme yapıldığında, larval mortalite deneyinde kalitesiz bireylerde görülen makas benzeri tırtıklı kanat yapısının *A. rosea* tohum özütü ile beslenen larvalardaki yeterli glikoz, trehaloz ihtiyacının karşılanamaması ve bu nedenle uçuş kaslarına yeterli miktarda trehaloz sağlanamadığından gerçekleşmiş olabilir. Ayrıca, kanatlardaki malformasyonlar homeotik gende meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanabilmektedir [134,135]. *A. rosea* ile aynı familyada yer alan, dizanteri, artrit ve yaraların tedavi edilmesinde kullanılan *Luehea divaricara*'nın *D. melanogaster*'deki etkisi somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile belirlenmiş, mutasyon sıklığının önemli derecede yüksek olmadığı Felicio ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir [136].

Hanif ve arkadaşları kobay trakea dokularını kullanarak *A. rosea* çiçeklerinin bronkodilatör etkisini değerlendirmek üzere bir çalışma gerçekleştirerek bitki ekstraktının, K⁺ ve karbamilkolin ile indüklenen kasılmaları gevşettiğini bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda, *A. rosea*'nın fosfodiesteraz enzimi ve Ca²⁺ akışını inhibe etmesi sonucu bronkodilatasyona neden olarak bitkinin solunum bozukluklarındaki potansiyeli doğrulanmıştır [137]. Ayrıca, bu çalışmada *A. rosea*'da toplam 19 tane yağ asidi ve esterleri ilk kez GC-MS ile tespit edilerek rapor edilmiştir [137].

Sherwani ve çalışma arkadaşları da *A. rosea*'da kromatografik, kimyasal ve spektroskopik yöntemlerle analiz yaparak bitkinin tohumunun yağında normal yağ asitleri ve HBr reaktif siklopropenoid yağ asitlerinin bulunduğunu tespit etmişlerdir [138]. Siklopropenoid yağ asitlerinin lipid metabolizmasını, böbreğin işlevini, iltihaplanmayı etkilediği ve bu yağ asitlerinin insan vücudunda emildiği, fizyolojik bir role sahip olabileceği bildirilmiştir [139,140,141].

Son zamanlarda araştırmacılar, aşırı yağ içerikli besinlerin *Drosophila*'nın sağlığı ve fizyolojisi üzerine etkisini araştırmaya yönelmişlerdir. Lipitler enerji metabolizması, hücre zarlarının bütünlüğü, sinyal moleküllerinin biyosentezi ve özellikle ergin dişi sineklerde oogenezi için gereken önemli besin maddelerinden biridir [142,143]. Ancak yapılan çalışmalar sonucunda, aşırı yağ içerikli besinlerin hem erkek hem dişi *Drosophilalarda* ölüm oranını önemli ölçüde arttırdığı ve ömür uzunluğunu da kısalttığı kanıtlanmıştır [144,145,146]. Ayrıca, aşırı yağlı beslenmenin yaşla birlikte *Drosophila* ların tırmanma yeteneğinde azalmaya neden olduğu da bildirilmiştir [147]. Birse ve arkadaşları, aşırı yağlı besin maddesi ile bir hafta beslenmenin bile negatif jeotaksis, kalp fonksiyonu, insülin sinyali ve glikoz homeostazı üzerinde olumsuz etkileri olduğunu ifade etmişlerdir [148].

Çalışmamızda ömür uzunluğu deneylerinde elde edilen verilere göre, dişi bireylerde negatif kontrol grubunda ortalama ömür uzunluğunun $48,58 \pm 4,16$ gün, erkek bireylerde $38,63 \pm 0,19$ gün olduğu belirlenmiştir. En düşük (25 mg/ml) ve en yüksek (75 mg/ml) konsantrasyona sahip uygulama gruplarındaki dişilerin ortalama ömür uzunluğu sırasıyla $35,15 \pm 7,75$ ve $23,68 \pm 1,08$ gün; erkeklerde ise $31,72 \pm 3,32$ ve $26,24 \pm 8,86$ gün olarak tespit edilmiştir. Bu kapsamda, daha önce yapılan çalışmalar ile *A. rosea*'da tespit edilen çeşitli yağ asitlerinin tez çalışmasında kullanılan konsantrasyonlarda (25 mg/ml, 50 mg/ml ve 75 mg/ml) ergin bireylerin ortalama ömür uzunluğunun kısalmasının nedeni olarak değerlendirilebilir. Ancak, Kanno ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Malvaceae familyasının üyesi olan ve metabolik hastalıkların önlenmesinde kullanılan *Theobroma cacao* (kakao) bitkisinden elde edilen triptamitin yağ asidinin ise *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunu artırabileceği bildirilerek tez çalışmasındaki bulgularımızla benzerlik göstermemektedir [149].

Drosophila ve memelilerin enerji metabolizmasında görev alan organlar arasında birçok benzerlik vardır. İkisinde de besinler bağırsaklar tarafından emilir ve iskelet kasları gönüllü enerji harcamasından sorumludur [150]. *Drosophila* yağ dokusu memelilerdeki yağ dokusuna benzer şekilde fazla enerjiyi trigliserit formunda depolar ve memeli karaciğerine benzer olarak metabolizma, besin algılamadan ve glikojen depolamadan sorumludur [151,152]. Tüm bunlara ek olarak, memelilerde bulunan insülin/glukagon endokrin sistemine benzer insülin benzeri peptidler ve glukagon benzeri adipokinetik

hormon *Drosophila*'da glikoz ve lipid metabolizmasında önemli rol oynar [153, 154]. Sonuç olarak enerji metabolizmasının *Drosophila* ve memeliler arasında benzer olan hücre içi, parakrin ve endokrin sinyaller tarafından düzenlendiğini söylemek mümkündür [150]. Bu kapsamda, enerji metabolizmasında görev alan organlar, metabolik yollar ve besin maddelerinden ATP üretimi süreci, insanlar ve *D. melanogaster* arasında karşılaştırılarak değerlendirilebilir [150].

Tez kapsamında gerçekleştirilen larval mortalite ve ömür uzunluğu verilerine dayanarak *A. rosea* tohumunun metanolik özütünün doğrudan toksik olmadığı, dolaylı bir şekilde bazı mekanizmaları tetikleyerek etkisinin olabileceği sonucuna varıldı. Bu nedenle, *Drosophila*'daki sonuçların memelilerde de benzer etkilere sebebiyet verebileceği düşünülmektedir. Bu kapsamda, Malvaceae familyasına ait *A. rosea* ile ilgili çalışmaların artırılması, özellikle in vivo çalışmalara öncelik verilerek bitkinin daha detaylı araştırmalara tabii tutulması ve elde edilecek veriler dahilinde olası etkilerinin belirlenmesi gerektiği önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Altun, D., Ayar, A., Uysal, H., Kara, A. A. ve Ünal E. L., ‘‘Extended longevity of *Drosophila melanogaster* by water and ethanol extracts of *Stachys lavandulifolia*’’, *Pharmaceutical Biology*, 48 (11), 1291-1296, 2010.
2. Gurib-Fakim, A., ‘‘Medicinal plants: traditions of yesterday and drug of tomorrow’’, *Moleculer Aspects of Medicine*, 27 (1), 1-93, 2006.
3. Özdemir, S., ‘‘Diyarbakır ili aktarlarında satılan bitkiler ve etnobotanik özellikleri’’, *Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Artvin, 2019.
4. Jamshidi- Kia, F., Lorigooini, Z. ve Amini-Khoei, H., ‘‘Medicinal plants: past history and future perspective’’, *Journal of Herbmed Pharmacology*, 7 (1), 1-7, 2018.
5. İli, P., ‘‘Bazı Tıbbi Bitkilerin Kimyasal İçerikleri ve Hayvanlara Etkileri’’, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s. 2, Denizli, 2003.
6. Kızıllarlan, Ç., ‘‘İzmit Körfezi’nin Güney Kesiminde Etnobotanik Bir Araştırma’’, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s. 1, İstanbul, 2008.
7. Sewell, D. E. R. ve Kopaei, M. R., ‘‘The history and ups and downs of herbal medicines usage’’, *Journal of Herbmed Pharmacology*, 3 (1), 1-3, 2014.
8. Sümbül, M., ‘‘Gaziantep’te Yetişen Bazı Tıbbi Bitkilerin Antibakteriyel ve Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi’’, *Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s. 1-2, Giresun, 2022.
9. Benli, M. ve Yiğit, N., ‘‘Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi’’, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3 (8), 1-8, 2005.
10. Günçan A., ‘‘Yabancı otların tıbbi ilaçlar açısından önemi’’, *Türkiye II. Herboloji Kongresi*, s. 147-152, İzmir, 1997.
11. Bayram E., Kırıcı S., Tansı S., Yılmaz G., Arabacı O., Kızıl S. ve Telci İ., ‘‘Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Artırılması Olanakları’’, *Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, s. 1, Ankara, 2010.

12. Büyükbayram F., ‘‘Diyarbakır İli’ne Ait Bazı *Alcea L.* Türlerinin Morfolojik ve Anatomik Özellikleri’’, *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s. 2, Diyarbakır, 2019.
13. Hussain, L., Akash, M.S.H., Tahir, M., Rehman, K. ve Ahmed, K.Z., ‘‘Hepatoprotective Effects of Methanolic Extract of *Alcea rosea* against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice’’, *Bangladesh J. Pharmacol*, 9 (3), 322-327, 2014.
14. Lim T. K., ‘‘*Alcea rosea*’’, *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants*, Springer Publishing, Netherlands, s. 292-299, 2014.
15. Duke J. A., ‘‘Handbook of medicinal herbs-2nd edition’’, *CRC Press.*, Boca Raton, s. 378-379, 2002.
16. Duke J. A. ve Ayensu E. S., ‘‘Medicinal plants of China’’, 2 (3), 544, *Reference Publications*, Algonac, 1985.
17. Özcan, M. ve Akgül, A., ‘‘Gıdalar İçin Doğal Renk Maddeleri-I’’, *Gıda*, 20 (4), 209-213, 1995.
18. Mert, T., Fafal, T., Kivçak, B. ve Öztürk, H. T., ‘‘Antimicrobial and cytotoxic activities of the extracts obtained from the flowers of *Alcea rosea L.*’’, *Hacet Univ J Pharm*, 1, 17-24, 2010.
19. Zhang, Y., Jin, L., Chen, Q., Wu, Z., Dong, Y., Han, L., and Wang, T., ‘‘Hypoglycemic activity evaluation and chemical study on hollyhock flowers’’, *Fitoterapia*, 102, 7-14, 2015.
20. Wang, D., Shang, J., Yu, Q., ‘‘Analgesic and anti-inflammatory effects of the flower of *Althaea rosea (L.) Cav.* *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.*, 14, 46-48, 1989.
21. Raffi Shehzad, M., Hanif, M. A., Rehman, R., Bhatti, I. A., and Hanif, A., ‘‘Hollyhock’’, *Medicinal Plants of South Asia*, Elsevier, Chapter 29, s.381-39, 2020.
22. Saygı, Ş., ‘‘Deneysel toksikolojide toksisite testleri ve test sonuçlarının önemi’’, *Gülhane Tıp Dergisi*, 45 (3), 291-298, 2003.
23. Byng, J. W. ve Christenhusz, M. J. M., ‘‘The number of known plants species in the world and its annual increase’’, *Phytotaxa*, 261 (3), 2016.
24. Usman, A. B., Abubakar, S., Alaku, C. ve Nnadi, O., ‘‘Plant: a Necessity of Life’’, *International Letters of Natural Sciences*, 15 (2), 151-159, 2014.

25. Herrera-Estrella, L., ‘‘Bitki Yapısı, Büyüme ve Gelişme’’, Campbell Biyoloji, Ertunç Gündüz, İsmail Türkan, *Palme Yayıncılık*, Ankara, s. 738-750, 2017.
26. Seçmen Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Lelebici, E., Tohumlu Bitkiler Sistematigi (4. Baskı), Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No:116, *Ege Üniversitesi Basımevi*, Bornova, İzmir, 1995.
27. Graham, L.E., Graham, J.M. ve Wilcox, L.W., ‘‘Bitki Biyolojisi, Kani Işık, *Palme Yayıncılık*, s. 337-343, Ankara, 2008.
28. Reece, J. B., Urry, L. A. ve Cain, M. L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V. and Jackson, R.B., ‘‘Campbell Biyoloji’’, Ertunç Gündüz, İsmail Türkan, *Palme Yayıncılık*, Ankara, s. 604-607, 2017.
29. Sauquet, H., von Balthazar, M., Magallo’n, S., Doyle, J.A., Endress, P.K., Bailes, E.J., de Morais, E.B., Bull-Heren’u, K., Carrive, L., Chartier, M., Chomicki, G., Corio, M., Cornette, R., El Ottra, J.H.L., Epicoco, C., Foster, C.SP., Jabbour, F., Haevermans, A., Haevermans, T., Herna’ndez, R., Little, S.A., Löfstrand, S., Luna, J.A., Massoni, J., Nadot, S., Pamperl, S., Prieu, C., Reyes, E., dos Santos, P., Schoonderwoerd, K.M., Sontag, S., Soulebeau, A., Staedler, Y., Tschan, G.F., Wing-Sze Leung, A. ve Schönerberger, J., ‘‘The ancestral flower of angiosperms and its early diversification’’, *Nature Communications*, 8 (16047), 2017.
30. Koçyiğit, M., ‘‘Yalova İlinde Etnobotanik Bir Araştırma’’, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s. 1, 2005.
31. Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M.T., ‘‘Türkiye Bitkileri Listesi Damarlı Bitkiler’’, *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmalar Derneği Yayını*, İstanbul, 2012.
32. Ammar, N. M., El-Kashoury, E-S. A., Abou El-Kassem, L. T., and Abd El-Hakeem, R. E., ‘‘Evaluation of the phenolic content and antioxidant potential of *Althea rosea* cultivated in Egypt’’, *Journal of the Arab Society for Medical Research*, 8, s. 48-52, 2013.
33. Uzunhisarcıklı, M. E. ve Vural M., ‘‘The taxonomic revision of *Alcea* and *Althaea* (Malvaceae) in Turkey’’, *Turk J Bot*, 36 (6), 603-636, 2012.
34. Şen, C., ‘‘Hibiscus sabdariffa L. Bitkisinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesinin Araştırılması’’, *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s. 4, Edirne, 2011.

35. Jing, P., ‘‘Purple Corn Anthocyanins: Chemical Structure, Chemoprotective Activity and Structure/Function Relationships’’, *The Ohio State University, PhD thesis*, Ohio, 2006.
36. Tükenmez, Ü., ‘‘Meyve Sineğinde (*Drosophila melanogaster*) Çeşitli Anestezik Ajanların Ömür Uzunluğu, Fertilite ve Oksidatif Stres Üzerine Etkileri’’, Erzurum Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, *Yüksek Lisans Tezi*, s. 25, Erzurum, 2011.
37. Yung, L., Ong, C., Cai, Y. ve Bay, B., ‘‘*Drosophila melanogaster* as a model organism to study nanotoxicity’’, *Nanotoxicology*, 9 (3), 1-8, 2014.
38. McMillan, I., Fitz-Earl, M. ve Rabson, D. S., ‘‘Quantitative genetics of fertility I. Lifetime egg production of *Drosophila melanogaster*- Theoretical’’, *Genetics*, 65 (2), 349-353, 1970.
39. Ashburner, M. ve Thompson, J. R., ‘‘The Laboratory Culture of *Drosophila*’’, *National Agricultural Library*, 2a, 81-109, 1978.
40. Graft, U., Van Schaik, N. ve Würgler, F. E., ‘‘*Drosophila* Genetics: A Practical Course’’, *Springer – Verlag Press*, s. 239, New York, 1992.
41. Horne-Badovinac, S., ‘‘The *Drosophila micropyle* as a system to study how epithelia build complex extracellular structures’’, *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 2020.
42. Affleck, J. G. ve Walker, V. K., ‘‘*Drosophila* as a Model for Developmental Toxicology: Using and Extending the Drosophotoxicology Model’’, *Developmental Toxicology*, 139-153, 2019.
43. Atlı, E., ‘‘Bazı Çevresel Östrojenlerin *Drosophila melanogaster*’de Gelişim Biyolojisi ve Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi’’, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, s. 7, Ankara, 2010.
44. Chaudhary, G. R., Pandey, A., Singh, A., Yadav, V., Dwivedi, V., Arya, R. ve Lakhotia S. C., ‘‘Chapter 1: Rearing and handling of *Drosophila*-A primer for laboratory experiments’’, *Experiments with Drosophila for Biology Courses*, Lakhotia S. C. ve Ranganath, H. A., *Indian Academy of Sciences*, Bengaluru, India, 7-8, 2021.
45. Ayar, A., ‘‘*Drosophila melanogaster*’in Oregon R Yabanıl ve Vestigial Mutant Soylarında Ekstrem Sıcaklık Şartlarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin

- Araştırılması'', *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s. 24, Erzurum, 2008.
46. Margaritis, L. H., Manta, A. K., Kokkaliaris, K. D., Schiza, D., Alimisis, K., Barkas, G., Georgiou, E., Giannakopoulou, O., Kollia, I., Kontogianni, G., Kourouzidou, A., Myari, A., Roumelioti, F., Skouroliakou, A., Sykioti, V., Varda, G., Xenos, K. ve Ziomas, K., 'Drosophila oogenesis as a bio-marker responding to EMF sources'', *Electromagn Biol Med.*, 33 (3), 165-89, 2014.
47. Uysal, H., Şişman, T., ve Aşkın, H., "Drosophila Biyolojisi ve Çaprazlama Yöntemleri", Atatürk Üniversitesi Yayınları, ISBN: 975-442-111-0, No: 941, s.53, Erzurum.
48. Pavković-Lučić, S., Miličić, D., Lučić, L. ve Kekić, V., "Long-term dietary effects on fruit fly 'love story': size and symmetry of sex combs and male mating success.", *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 23 (6), 1653-1658, 2013.
49. Jalali, M., Saldanha, F. Y. L., ve Jalali, M., "In Vivo Animal Modeling: Drosophila", *Basic Science Methods for Clinical Researchers*, Academic Press, Cambridge, s. 211-235, 2017.
50. Nalbant, S., "Yaşlanmanın Biyolojisi", *Türk Fiz Tıp Rehab Derg.*, 52 (Özel Ek A), A12- A17, 2006.
51. Harman, D., "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry", *J Gerontol.*, 11 (3), 298-300, 1955.
52. Ames, B. N., Shigenaga, M. K. ve Hagen, T. M., "Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of ageing", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90 (17), 7915-7922, 1993.
53. Sestini, E. A., Carlson, J. C. ve Allsopp, R., "The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*, *Experimental Gerontology*", 26 (4), 385-395, 1991.
54. Orr, W. C. ve Sohal, R. S., "Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*", *Science*, 263 (5110), 1128-1130, 1994.
55. Fışkın, K., Kandemir, S., Hamamcı, D., Yeşilada, E. ve Bozcuk, A. N., "Age-related changes in catalase, glutathione reductase activities, the amount of

- glutathione in total body of Oregon and vestigial *Drosophila melanogaster*”, *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 19 (1), 58-90, 1994.
56. Jordens, R. G., Berry, M. D., Gillott, C. ve Boulton, A. A., “Prolongation of life in an experimental model of aging in *Drosophila melanogaster*”, *Neurochemical Research*, 24 (2), 227-233, 1999.
57. Zou, S., Meadows, S., Sharp, L., Jan, L.Y. ve Jan, Y.N., “Genome-wide study of aging and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster*”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (25), 13726-13731, 2000.
58. Herrero A. ve Barja G, “Sites and mechanisms responsible for the low rate of free radical production of heart mitochondria in the long-lived pigeon”, *Mech Ageing Dev.*, 98 (2), 95–111, 1997.
59. Vijgy, J., “Somatic mutations and aging: a reevaluation”, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 447 (1), 117-135, 2000.
60. Curtis, B. A., “Ca fluxes in single twitch muscle fibers”, *J. Gen. Physiol.*, 50 (2), 255-267, 1966.
61. Giaimo, S. ve Fagagna, F. D., “Is cellular senescence an example of antagonistic pleiotropy?”, *Aging Cell*, 11 (3), 378-383, 2012.
62. Ungewitter, E. ve Scoble, H., “Antagonistic pleiotropy and p53”, *Mechanisms of Ageing and Development*, 130 (1-2), 10-17, 2009.
63. Baştürk, B. ve Boyacıoğlu, S., “İmmün yaşlanma”, *Türk Geriatri Dergisi*, 7 (3), 159-161, 2004.
64. Jin, K., “Modern biological theories of aging”, *Aging and Disease*, 1 (2), 72-74, 2010.
65. Zjačić-Rotkvić, V., Kavur, L. ve Cigrovski-Berković, M., “Hormones and aging”, *Acta Clinica Croatica*, 49 (4), 549-554, 2010.
66. Cutler, R. G., “Antioxidants and aging”, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53 (1), 373-37, 1991.
67. Barrou, Z., Charru, P. ve Lidy, C., “Dehydroepiandrosterone (DHEA) and aging”, *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 24 (3), 233-241, 1997.
68. Achi, M. V., Ravindranath, N. ve Dym, M., “Telomere length in male germ cells is inversely correlated with telomerase activity”, *Department of Cell Biology*,

- Georgetown University Medical Center, Washington, Distinct of Colombia, Biol. Reprod.*, 63 (2), 591-598, 2000.
69. Atlı, K. ve Bozcuk, N., ‘‘Telomer ve Hücresel Yaşlanma’’, *Turkish Journal of Geriatrics*, 5 (3), 111-114, 2002.
70. Yılmaz Miroğlu, Y., Dıraman, E. ve Eren, Z., ‘‘Telomer ve Telomeraz’’, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4 (2), 41-48, 2011.
71. Karan, M. A. ve Tufan, F., ‘‘Yaşlanma mekanizmaları’’, *Ege Tıp Dergisi*, 49 (3), 11-17, 2010.
72. Jazwinski, S. M., ‘‘Longevity, genes, and aging’’, *Science*, 273 (5271), 54-59, 1996.
73. Murakami, S. ve Johnson, T. E., ‘‘A genetic pathway conferring life extension and resistance to UV stress in *Caenorhabditis elegans*’’, *Genetics*, 143, 1207-1218, 1996.
74. Çelik, H., ‘‘*Drosophila melanogaster*’de Doz-Süre Etkileşimine Bağlı Olarak Terpenlerin in vivo Toksik ve Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi’’, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s. 23, Erzurum, 2020.
75. Beckerman, A. P., Benton, T. G., Lapsley, C. T., ve Koesters, N., ‘‘How effective are maternal effects at having effects?’’, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273 (1585), 485-493, 2006.
76. Campos-Ortega, J. A., ve Hartenstein, V., ‘‘The embryonic development of *Drosophila melanogaster*’’, *Springer Science and Business Media*, Berlin, 2013.
77. Brown, E. J., Nguyen, A. H., ve Bachtrog, D. ‘‘The Y chromosome may contribute to sex-specific ageing in *Drosophila*’’, *Nature Ecology and Evolution*, 4 (6), 853-862, 2020.
78. David, J., Cohet, Y., ve Fouillet, P., ‘‘The variability between individuals as a measure of senescence: a study of the number of eggs laid and the percentage of hatched eggs in the case of *Drosophila melanogaster*’’, *Experimental Gerontology*, 10 (1), 17-25, 1975.
79. Ayhan, N., ‘‘*Drosophila melanogaster* İzosoylarında Besin Kısıtlamasının Gelişim Süresi ve Yumurta Veriminin Eklemeli Genetik Varyanslarına Etkilerinin Araştırılması’’, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Ankara, 2013.

80. Koç, Y. ve Gülel, A., ‘‘Fotoperiyot ve besin çeşidinin *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera: Drosophiladae) un gelişim süresi, ömür uzunluğu, verim ve eşey oranına etkisi’’, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21 (2), 204-212, 2006.
81. Ayar, A., Uysal, H. ve Altun, D., ‘‘The effects of cold shock on the longevity in Oregon R wild Vestigial mutant of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae)’’, *Ekoloji*, 19 (74), 38-44, 2009.
82. Hodge, S., ‘‘The effect of pH and water content of natural resources on the development of *Drosophila melanogaster* larvae’’, *Drosophila Information Service*, 84, 38-43, 2001.
83. Horváth, B. ve Kalinka, A. T., ‘‘Effects of larval crowding on quantitative variation for development time and viability in *Drosophila melanogaster*’’, *Ecology and Evolution*, 6 (23), 8460-8473, 2016.
84. Wang, Y., Jiang, Z., Zhang, L., Zhang, Z., Liao, Y. ve Cai, P., ‘‘3.5 GHz radiofrequency electromagnetic radiation promotes the development of *Drosophila melanogaster*’’, *Environ Pollut.*, 294, 2022.
85. Lansing, A. I., ‘‘A transmissible, cumulative, and reversible factor in aging’’, *J. Gerontol*, 2 (3), 228 – 239, 1947.
86. McIntyre, G. S. ve Gooding, R. H., ‘‘Effects of maternal age on larval competitiveness in house flies’’, *Heredity*, 85, 480-489, 2000.
87. Yılmaz, M., Özsoy, E. D. ve Bozcuk, A. N., ‘‘Maternal age effects on longevity in *Drosophila melanogaster* populations of different origin’’, *Biogerontology*, 9 (3), 163-168, 2008.
88. Kern, S., Ackermann, M., Stearns, S. C. and Kawecki, T. J., ‘‘Decline in offspring viability as a manifestation of aging in *Drosophila melanogaster*’’, *Evolution*, 55 (9), 1822-1831, 2001.
89. Gonzales, B. M., ‘‘Experimental studies on the duration of life. VIII. The influence upon duration of life of certain mutant genes of *Drosophila melanogaster*’’, *The American Naturalist*, 57 (651), 289-325, 1923.
90. Gelegen, L. ve Yeşilada, E., ‘‘*Drosophila melanogaster*’ in Bazı Gelişimsel Özellikleri Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi’’, *Turk. J. Biol.*, 24, 585–591, 1999.
91. Keller, J. E. C. ve Mitchell, D. F., ‘‘Interchromosomal genotypic interactions in *Drosophila*. II. an analysis of viability characters’’, *Genetics*, 49 (2), 293, 1964.

92. Samis, H. V., Erk, F. C. ve Baird, M. B., "Senescence in *Drosophila*. I. Sex differences in nucleic acid, protein and glycogen levels as a function of age", *Experimental Gerontology*, 6 (1), 9-18, 1971.
93. Iliadi, K. G., İliadi, N. N. ve Boulianne, G. L., "Regulation of *Drosophila* life-span: Effect of genetic background, sex, mating and social status", *Exp. Gerontol.*, 44 (8), 546 – 553, 2009.
94. Gowen, J. W. ve Johanson, L. E., "On the mechanism of heterosis; Metabolic capacity of different races of *Drosophila melanogaster* for egg production", *The American Naturalist*, 80 (788), 149-179, 1946.
95. Tatar, M. ve Promislow, D. E. L., "Fitness costs of female reproduction", *Evolution*, 51 (4), 1323-1326, 1997.
96. Ashburner, M., "*Drosophila: A Laboratory Handbook*", *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, s. 689, New York, 1989.
97. Layalle, S., Arquier, N., ve Léopold, P., "The TOR pathway couples nutrition and developmental timing in *Drosophila*", *Developmental Cell*, 15 (4), 568-577, 2008.
98. Jordens, R.G., Berry, M. D., Gillott, C. ve Boulton, A. A., "Prolongation of life in an experimental model of aging in *Drosophila melanogaster*", *Neurochemical Research*, 24 (2), 227-233, 1999.
99. Bahadorani, S. ve Hilliker, A. J., "Cocoa confers life span extension in *Drosophila melanogaster*", *Nutr Res.*, 28 (6), 377-382, 2008.
100. Suckow, B. K. ve Suckow, M. A., "Lifespan extension by the antioxidant curcumin in *Drosophila melanogaster*", *Int J Biomed Sci.*, 2 (4), 402-405, 2006.
101. Zhang, Z., Han, S., Wang, H. ve Wang, T., "Lutein extends the lifespan of *Drosophila melanogaster*", *Arch Gerontol Geriatr.*, 58 (1), 153-159, 2013.
102. Qiu, J. ve Hardin, P. E., "per mRNA cycling is locked to lights-off under photoperiodic conditions that support circadian feedback loop function", *Molecular and Cellular Biology*, 16 (8), 4182-4188, 1996.
103. Lanciani, C. A., Anderson, J. F. ve Giesel, J. T., "Effect of photoperiod on metabolic rate in a subtropical population of *Drosophila melanogaster*", *Comp Biochem and Physiol A, Comp Physiol.*, 100 (2), 347-348, 1991.
104. Sheeba, V., Sharma, V. K., Shubha, K., Chandrashekar, M. K. ve Joshi, A., "The effect of different light regimes on adult lifespan in *Drosophila*

- melanogaster* is partly mediated through reproductive output”, *Journal of Biological Rhythms*, 15 (5), 380-392, 2000.
105. Allemand, R., Cohet, Y. ve David, J., “Increase in the longevity of adult *Drosophila melanogaster* kept in permanent darkness”, *Experimental Gerontology*, 8 (5), 279-283, 1973.
106. Klarsfeld, A. ve Rouyer, F., “Effects of circadian mutations and LD periodicity on the life span of *Drosophila melanogaster*”, *Journal of Biological Rhythms*, 13 (6), 471-478, 1998.
107. Bağcı, G. ve Bozcuk, A.N., “Ergin *Drosophila*’nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın etkisi”, *Journal of Biology*, 15, 1-8, 1991.
108. Le Bourg, É., “Life-time protection against severe heat stress by exposing young *Drosophila melanogaster* flies to a mild cold stress”, *Biogerontology*, 17 (2), 409-415, 2016.
109. Al-Saffar, Z. Y., Grainger, J. N. R. ve Aldrich, J., “Temperature and humidity affecting development, survival and weight loss of the pupal stage of *Drosophila melanogaster*, and the influence of alternating temperature on the larvae”, *Journal of Thermal Biology*, 21 (5-6), 389-396, 1996.
110. Miller, R. S., Thomas, J. L., “The effects of larval crowding and body size on the longevity of *Drosophila melanogaster*”, *Ecology*, 39 (1), 118- 125, 1958.
111. Lints, F. A., “Size in relation to development time and egg density in *Drosophila melanogaster*”, *Nature*, 197, 1128-1130, 1963.
112. Graves, J. L. ve Mueller, L. D., “Population density effects on longevity”, *Genetica*, 91 (1-3), 99-109, 1993.
113. Ünlü, H., “*Drosophila melanogaster*’de ömür uzunluğunun genetik denetimi”, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Ankara, 1978.
114. Lewis, E. B., “A new Standard food medium”, *Drosophila Information Service*, 34, 117-118, 1960.
115. Doane, W. W., “Quantitation of amylases in *Drosophila* separated by acrylamide gel electrophoresis”, *Journal of Experimental Zoology*, 164 (3), 363-377, 1967.
116. Linford, N. J., Bilgir, C., Ro, J. ve Pletcher, S.D., “Measurement of Lifespan in *Drosophila melanogaster*”, *Journal of Visualized Experiments*, (71), 2013.

117. Huang, S. F., Li, Z. Y., Wang, X. Q., Wang, Q. X. and Hu, F. F., ‘‘Cerium caused life span shortening and oxidative stress resistance in *Drosophila melanogaster*’’, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73 (1), 89-93, 2010.
118. Craig, W. J., ‘‘Health-promoting properties of common herbs’’, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70 (3), 491-499, 1999.
119. Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M. S., ‘‘Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi’’, *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1), 52-67, 2011.
120. Leitão, C., Mignano, A., Estrela, M., Fardilha, M., Figueiras, A., Roque, F. ve Herdeiro, M.T., ‘‘The Effect of Nutrition on Aging-A Systematic Review Focusing on Aging-Related Biomarkers’’, *Nutrients*, 14 (3), 2022.
121. Erarslan, Z. B. ve Koçyiğit, M., ‘‘The Important Taxonomic Characteristics of the Family Malvaceae and the Herbarium Specimens in ISTE’’, *Turkish Journal of Bioscience and Collections*, 3 (1), 2019.
122. Kordalı, ř., Usanmaz Bozhüyük, A., Beyzi, E., Güneş, A. ve Turan, M., ‘‘Tıbbi Bitki Olarak Kullanılan *Malva sylvestris* L. ve *Alcea rosea* L. Türlerinin Antioksidant Enzim, Fenolik Madde ve Bitki Besin Element İçerikleri, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11 (1), 786-794, 2021.
123. Narota, A., Sandeep, K., Kaur, R., Kaur, S., Aggarwal, R. ve Agnihotri, N., ‘‘*Althea rosea* Seed Extract Ameliorates 1,2-Dimethylhydrazine Induced Preneoplastic Lesions in Mouse Model of Colon Cancer by Modulating Oxidative Stress and Inflammation’’, *Pharmacognosy Magazine*, 16 (70), 2020.
124. Nazir, S., Ahmad, M.K., Ali, F., Ul-Nazir, Z. ve Ganie Ah. S., ‘‘Phytochemical analysis and antibacterial potential of *Onosma hispidium* and *Alcea rosea*’’, *Biomedicine*, 42 (1), 47-52, 2022.
125. A Dar, P., Ali, F., Sheikh, I.A., Ganie, S. ve A Dar, T., ‘‘Amelioration of hyperglycaemia and modulation of antioxidant status by *Alcea rosea* seeds in alloxan-induced diabetic rats, *Pharmaceutical Biology*, 55 (1), 2017.
126. Kim, S. K. ve Rulifson, E. J., ‘‘Conserved mechanisms of glucose sensing and regulation by *Drosophila corpora cardiaca* cells’’, *Nature*, 431, 316–320, 2004.
127. Becker, A., Schlöder, P., Steele, J. E. ve Wegener, G., ‘‘The regulation of trehalose metabolism in insects’’, *Experientia*, 52 (5), 433–439, 1996.

128. Ugrankar, R., Berglund, E., Akdemir, F., Tran, C., Kim, M. S., Noh, J., Schneider, R., Ebert, B. ve Graff, J. M., “*Drosophila* glucome screening identifies Ck1alpha as a regulator of mammalian glucose metabolism”, *Nat. Commun.* 6 (7102), 2015.
129. Graham, P. ve Pick, L., “*Drosophila* as a model for diabetes and diseases of insulin resistance”, *Curr. Top. Dev. Biol.*, 121, 397–419, 2017.
130. Marcelino, J. M., Villas Boas, G. R., Cunha, M., Deus Júnior, R., Castro, L. H., Araújo, F. H., Traesel, G. K., Dos Santos, A. C., Souza, R. I., Paes, M., Gubert, P., Guterres, Z. D. R., de Lima, F. F., Silva, T., Silva, R. C., Cardoso C. A. L., Argandoña, E. J., Macorini, L. F. ve Oesterreich, S. A., “Determination of preclinical safety of oil obtained from *Pachira aquatica* Aublet (Malvaceae) seeds: histopathological, biochemical, hematological, and genetic toxicity studies in rats”, *Drug Chem Toxicol.*, 45 (4), 1504-1521, 2020.
131. Galikova, M. ve Klepsatel, P., “Obesity and aging in the *Drosophila* model”, *Int. J. Mol. Sci.*, 19 (7), 2018.
132. Yamada, T., Habara, O., Yoshii, Y., Matsushita, R., Kubo, H., Nojima, Y. ve Nishimura, T., “The role of glycogen in development and adult fitness in *Drosophila*”, *Development*, 146 (8), 2019.
133. Wegener, G., “Flying insects: Model systems in exercise physiology”, *Experientia*, 52 (5), 404–412, 1996.
134. Cribbs, D.L., Pattatucci, A.M., Pultz, M.A. ve Kaufman, T.C., “Ectopic expression of the *Drosophila* homeotic gene proboscipedia under Antennapedia P1 control causes dominant thoracic defects”, *Genetics*, 132 (3), 699-711, 1992.
135. Karataş, A. ve Bahçeci, Z., “Cypermethrin’in *Drosophila melanogaster*’de ergin bireylerin morfolojisi ve eşey oranına etkisi”, *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19, 1-14, 2009.
136. Felício, L. P., Silva, E. M., Ribeiro, V., Miranda, C. T., Vieira, I. L., Passos, D. C., Ferreira, A. K., Vale, C. R., Lima, D. C., Carvalho, S. ve Nunes, W. B., “Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: SMART/wing”, *Genet Mol Res.*, 4, 10 (1), 16-24, 2011.
137. Hanif, M., Mehmood, M. H., Ishrat, G., Virji, S. N., Malik, A., Ahmed, M., ve Gilani, A-H., “Pharmacological basis for the medicinal use of *Alcea rosea* in

- airways disorders and chemical characterization of its fixed oils through GC-MS”, *Pak J Pharm Sci.*, 32 (5), 2019.
138. Sherwani, M. R. K, Chouhan, S., Malik, A., Parveen, S. ve Sharma, S., ‘‘Isolation and characterization of cyclopropenoid fatty acids in *Althea rosea* seed oil’’, *International Journal of Research in Phytochemistry and Pharmacology*, 2 (1), 52-54, 2012.
139. Jones, S. E., Whitehead, K., Saulnier, D., Thomas, C. M., Versalovic, J. ve Britton, R. A., ‘‘Cyclopropane fatty acid synthase mutants of probiotic human-derived lactobacillus reuteri are defective in tnf inhibition’’, *Gut Microbes*, 2 (2), 69–79, 2011.
140. Peláez, R., Pariente, A., Pérez-Sala, Á., Larráyo, I. M., ‘‘Sterculic Acid: The Mechanisms of Action beyond Stearoyl-CoA Desaturase Inhibition and Therapeutic Opportunities in Human Diseases’’, *Cells*, 9 (1), 140, 2020.
141. Lolli, V., Dall’Asta, M., Del Rio, D. ve Caligiani, A., ‘‘Identification of Cyclopropane Fatty Acids in Human Plasma after Controlled Dietary Intake of Specific Foods’’, *Nutrients*, 12 (11), 2020.
142. Heier, C. ve Kühnlein, R. P., ‘‘Triacylglycerol metabolism in *Drosophila melanogaster*’’, *Genetics*, 210 (4), 1163, 2018.
143. Toprak, U., Hegedus, D., Dogan, C. ve Güney, G., ‘‘A journey into the world of insect lipid metabolism’’, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 104 (2), 2020.
144. Heinrichsen, E. T. ve Haddad, G. G., ‘‘Role of high-fat diet in stress response of *Drosophila*’’, *PloS One*, 7 (8), 2012.
145. Rivera, O., McHan, L., Konadu, B., Patel, S., Sint Jago, S., Talbert, M. E., ‘‘A high-fat diet impacts memory and gene expression of the head in mated female *Drosophila melanogaster*’’, *J. Comp. Physiol. B.*, 189 (2), 179–198, 2019.
146. Woodcock, K. J., Kierdorf, K., Pouchelon, C. A., Vivancos, V., Dionne, M. S., Geissmann, F., ‘‘Macrophage-derived upd3 cytokine causes impaired glucose homeostasis and reduced lifespan in *Drosophila* fed a lipid-rich diet’’, *Immunity*, 42 (1), 133–144, 2015.
147. Liao, S., Amcoff, M., and Nässel, D. R., ‘‘Impact of high-fat diet on lifespan, metabolism, fecundity and behavioral senescence in *Drosophila*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 133, 2021.

148. Birse, R. T., Choi, J., Reardon, K., Rodriguez, J., Graham, S., Diop, S., Ocorr, K., Bodmer, R. ve Oldham, S., “High-fat-diet-induced obesity and heart dysfunction are regulated by the TOR pathway in *Drosophila*”, *Cell Metabol.*, 12 (5), 533–544, 2010.
149. Kanno, K., Kayashima, Y., Tamura, K., Miyara, T., Baba, K., Koganei, M., Natsume, M. ve Imai, S., “Fatty acid tryptamide from cacao elongates *Drosophila melanogaster* lifespan with sirtuin-dependent heat shock protein expression”, *Sci Rep.*, 15, 12 (1), 2022.
150. Chatterjee, N. ve Perrimon, N., “What fuels the fly: Energy metabolism in *Drosophila* and its application to the study of obesity and diabetes”, *Sci Adv.*, 7 (24), 2021.
151. Wigglesworth, V. B., “The utilization of reserve substances in *Drosophila* during flight”, *J. Exp. Biol.* 26 (2), 150–163, 1949.
152. Rajan, A. ve Perrimon, N., “Of flies and men: Insights on organismal metabolism from fruit flies”, *BMC Biol.* 11 (38), 2013.
153. Baker, K. D. ve Thummel, C. S., “Diabetic larvae and obese flies-emerging studies of metabolism in *Drosophila*”, *Cell Metab.*, 6 (4), 257–266, 2007.
154. Owusu-Ansah, E. ve Perrimon, N., “Modeling metabolic homeostasis and nutrient sensing in *Drosophila*: Implications for aging and metabolic diseases”, *Dis. Model. Mech.*, 7 (3), 343–350, 2014.