

BAZI NEONİKOTİNOİD İNSEKTİSİTLERİN *Drosophila melanogaster*'de ÖMÜR UZUNLUĞU ile ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ ve OLASI TOKSİK ETKİLERİNİN ÇEŞİTLİ BİTKİ EKSTRAKTLARI KULLANILARAK İYİLEŞTİRİLMESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Sedat ÜNVER

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Moleküler Biyoloji Bilim Dalı
Doç. Dr. Handan UYSAL
2015
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI NEONİKOTİNOİD İNSEKTİSİTLERİN *Drosophila melanogaster*'de ÖMÜR UZUNLUĞU ile ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ ve OLASI TOKSİK ETKİLERİNİN ÇEŞİTLİ BİTKİ EKSTRAKTLARI KULLANILARAK İYİLEŞTİRİLMESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Sedat ÜNVER

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Moleküler Biyoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2015

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**BAZI NEONİKOTİNOİD İNSEKTİSİTLERİN *Drosophila melanogaster*'de
ÖMÜR UZUNLUĞU ile ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİMİ ÜZERİNE
ETKİLERİ ve OLASI TOKSİK ETKİLERİNİN ÇEŞİTLİ BİTKİ
EKSTRAKTLARI KULLANILARAK İYİLEŞTİRİLMESİ ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR**

Doç. Dr. Handan UYSAL danışmanlığında, **Sedat ÜNVER** tarafından hazırlanan bu çalışma **20/04/2015** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **Biyoloji** Anabilim Dalı – **Moleküler Biyoloji Bilim Dalı**'nda **Yüksek Lisans** tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : **Doç. Dr. Handan UYSAL**

İmza :

Üye : **Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ**

İmza :

Üye : **Doç. Dr. Özkan AKSAKAL**

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 22/04/2015 tarih ve 16/612 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI NEONİKOTİNOİD İNSEKTİSİTLERİN *Drosophila melanogaster*'de ÖMÜR UZUNLUĞU ile ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ ve OLASI TOKSİK ETKİLERİNİN ÇEŞİTLİ BİTKİ EKSTRAKTLARI KULLANILARAK İYİLEŞTİRİLMESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Sedat ÜNVER

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Moleküler Biyoloji Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Handan UYSAL

Bu çalışma iki bölümde gerçekleştirilmiştir. İlk bölümde, dünyada ve ülkemizde en çok kullanılan neonikotinoid insektisitlerden İmidakloprid (İMİ) ve Asetamiprid (ASE)'in, *Drosophila melanogaster*'in maksimum ve ortalama ömür uzunluğu üzerine kronik etkileri araştırılmıştır. İkinci bölümde ise, insektisitlere ait olası toksik etkileri giderebilmek için *Salvia lavandifolia* (SL_{su}), *Hypericum scabrum* (HS_{su}), *Capsella bursa-pastoris* (CBP_{su}) ve *Teucrium orientale* (TO_{su}) bitkilerinin su ekstraktları kullanılmıştır. Bu amaçla her iki insektisit dört farklı dozda (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm) Standart *Drosophila* Besiyerine ilave edilmiştir. *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyuna ait erkek ve dişi bireyler bu uygulama gruplarında kronik olarak insektisitlere maruz bırakılmıştır. Hem dişi hem de erkek popülasyonlarında insektisitlerin artan konsantrasyonuna bağlı olarak ömür uzunluğunun kısaldığı gözlenmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarına ait maksimum ve ortalama ömür uzunluğu değerleri karşılaştırıldığı zaman aradaki fark $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Bitki ekstraktlarının uygulanması için ise en toksik etkinin görüldüğü 2.0 ppm uygulama grupları seçilmiştir. Hazır besiyerine 2.0 ppm İMİ / ASE + bitki ekstraktları (SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su}) ilave edilmiştir (1:1 v/v). Bitki ekstraktlarına bağlı olarak *D. melanogaster*'in hem dişi hem de erkek popülasyonunda ömür uzunluğunun arttığı görülmüştür. Bu artış 2.0 ppm İMİ ve ASE uygulama gruplarına göre bütün bitki ekstraktları için $p < 0.05$ düzeyinde hem dişi hem de erkek bireyler için istatistiki olarak da önemli bulunmuştur. Bu çalışmanın ikinci kısmında ise *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin beyin hücrelerinde bulunan asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi üzerine İMİ ve ASE insektisitlerinin etkileri araştırılmıştır. Ayrıca farklı bitkilere ait su ekstraktlarının (SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su}) iyileştirici etkileri de *in vivo* olarak incelenmiştir. Bu amaçla iki deney grubu oluşturulmuştur. İlk deney grubunda ergin bireylere yalnızca farklı dozlarda insektisit (0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 ppm), diğer deney grubunda ise insektisit + bitki ekstraktları birlikte uygulanmıştır. Uygulamalar sonucunda insektisitler doz artışına bağlı olarak ergin bireylerde AChE aktivitesini artırmıştır ($p < 0.05$). Bununla birlikte insektisitler bitki ekstraktları ile birlikte uygulanınca enzim aktivitesi tekrar kontrol grubuna yaklaşmıştır.

2015, 92 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, *Salvia lavandifolia*, *Hypericum scabrum*, *Capsella bursa-pastoris*, *Teucrium orientale*, imidakloprid, asetamiprid, ömür uzunluğu, asetilkolinesteraz.

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATIONS ON EFFECTS OF SOME NEONIKOTINOID INSECTICIDES ON THE LONGEVITY AND ACETYLCHOLINESTERASE ENZYME OF *Drosophila melanogaster* AND IMPROVE OF POSSIBLE TOXIC EFFECTS BY USING THE PLANT EXTRACTS

Sedat ÜNVER

AtaturkUniversity
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Biology
Department of Molecular Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Handan UYSAL

This study occurred two part. In the first part, imidacloprid (IMI) and acetamiprid (ACE) which are the most commonly neonicotinoid in our country and the world have been investigated chronic effects on the maximum and average longevity of *Drosophila melanogaster*. In the second part, the water extracts of *Salvia lavandulifolia* (SL_{wtr}), *Hypericum scabrum* (HS_{wtr}), *Capsella bursa-pastoris* (CBP_{wtr}) and *Teucrium orientale* (TO_{wtr}) plants were used to remove possible toxic effects of the insecticides. For this purpose, both insecticides were added to the Standard Drosophila Medium (SDM) at different doses (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm). Male and female individuals of wild type *D. melanogaster* Oregon R were chronically exposed to the insecticides in these application groups. It was determined that the mean life span of female and male *D. melanogaster* populations decreased with the increasing concentrations of IMI and ACE in comparison to the control group. When the maximum and average life span values of the control and application groups were compared, the difference was found to be statistically significant ($p < 0.05$). 2.0 ppm application groups which are the most toxic effects have been selected to applied the plant extracts (SL_{wtr}, HS_{wtr}, CBP_{wtr} and TO_{wtr}) were added to the prepared medium. It was appeared that the longevity in both male and female populations of *D. melanogaster* increased depending on the plant extracts. This increase was statistically significant for both male and female individuals in the all plant extracts according to 2.0 ppm IMI and ACE application groups ($p < 0.05$). The second part of this study, effects of IMI and ACE insecticides were investigated on the activity of acetylcholinesterase enzyme in brain cells of adult individuals of *D. melanogaster*. Additionally, the curative effects of the water extracts belong to the different plants (SL_{wtr}, HS_{wtr}, CBP_{wtr} and TO_{wtr}) were examined as *in vivo*. For this purpose, two experiment groups were occurred. It was applied to the adult individuals only different doses insecticides (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm) in the first experiment group and together insecticides + plant extracts in other experiment group. According to present result, the insecticides increased AChE activity in adult individuals depending on the doses increase ($p < 0.05$). However, enzyme activity approached to the control group when insecticides applied together with plant extracts.

2015, 92 pages

Keywords: *Drosophila melanogaster*, imidacloprid, acetamiprid, *Salvia lavandulifolia*, *Hypericum scabrum*, *Capsella bursa-pastoris*, *Teucrium orientale*, longevity, acetylcholinesterase.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Öncelikle bu çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde büyük emeği geçen, yapıcı katkı, öneri ve desteklerini hiç esirgmeden benimle paylaşan çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Handan UYSAL'a,

Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ökkeş ATICI'ya, bitkilerin teşhislerine yardımcı olan bölümümüz öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Meryem ŞENGÜL'e ve Biyoloji Bölümü'nün tüm öğretim elemanlarına,

Ayrıca çalışmalarım sırasında ve tez yazım aşamasında büyük yardımlarını gördüğüm arkadaşlarım Sayın Arş. Gör. Melike YILDIZ, Halit KIZILET ve Caner KASIMOĞLU'na teşekkür ederim.

Son olarak hayatımın her anında benden desteklerini esirgemeyen, ilgi ve sevgilerini her zaman hissettiğim sevgili aileme sonsuz sevgilerimi sunarım.

Sedat ÜNVER

Nisan, 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRTACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Pestisitler	1
1.2. İnsektisitler	3
1.3. Neonikotinoidler.....	4
1.4. Asetilkolin	7
1.4.1. Asetilkolinesteraz enzimi (E.C 3.1.1.7)	9
1.5. Ömür Uzunluğu ile İlgili Teoriler (Yaşlanma Teorileri).....	11
1.5.1. Somatik mutasyon teorisi	11
1.5.2. Serbest radikal teorisi	11
1.5.3. Antagonistik pleiotropi teorisi.....	11
1.5.4. Mutasyon birikimi teorisi	12
1.5.5. Nöroendokrin teori	13
1.6. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler.....	14
1.6.1. İç faktörler	14
1.6.1.a. Anasal yaş.....	14
1.6.1.b. Yumurta üretimi (fekundite)	15
1.6.1.c. Eşey	16
1.6.1.d. Genetik yapı	16
1.6.2. Dış (Çevresel) faktörler	17
1.6.2.a. Beslenme	17
1.6.2.b. Radyasyon	18
1.6.2.c. Popülasyon yoğunluğu	18
1.6.2.d. Işık	19

1.6.2.e. Sıcaklık	19
1.7. Çalışmalarımızda Kullanılan Bitkilere Ait Özellikler	20
1.7.1. <i>Salvia lavandulifolia</i> vahl.....	20
1.7.2. <i>Hypericum scabrum</i> L.	21
1.7.3. <i>Capsella bursa-pastoris</i> Medik.	22
1.7.4. <i>Teucrium orientale</i> L.....	23
2. KAYNAK ÖZETLERİ	27
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	35
3.1. Materyal.....	35
3.1.1. Kullanılan organizma	35
3.1.2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in sistematığı	37
3.1.3. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü.....	37
3.1.4. Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler.....	39
3.1.5. Yararlanılan alet ve cihazlar	39
3.2. Yöntem	40
3.2.1. Besiyeri hazırlama	40
3.2.2. Bayıltma yöntemi	41
3.2.3. Deneylerde kullanılan bitkilerin toplanması	41
3.2.4 Bitkilerin ekstraksiyonu	41
3.2.5. <i>D. melanogaster</i> 'in ergin bireylerine ait kafa homojenatlarının hazırlanması.....	42
3.2.6. Enzim aktivite ölçümü.....	42
3.2.7. Ergin sineklerin toplanması.....	43
3.2.8. Ergin bireylere neonikotinoid ve bitki ekstraktlarının uygulanması	43
3.2.9. Çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanması	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	46
4.1. İmidakloprid'in Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	46
4.2. Asetamiprid'in Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	49
4.3. İMİ + Farklı Bitkilere Ait Su Ekstraktlarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri	51
4.4. ASE + Farklı Bitkilere Ait Su Ekstraktlarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri	54

4.5. İmidakloprid'in AChE Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	57
4.6. Asetamiprid'in AChE Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	59
4.7. İMİ + Bitki Ekstraktlarının AChE Aktivitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	60
4.8. ASE + Bitki Ekstraktlarının AChE Aktivitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	62
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	64
KAYNAKLAR	78
ÖZGEÇMİŞ	93

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde değer
°C	Santigrat derece
♀♀	Erkekler
♂♂	Dişiler
cc	Santimetreküp
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
K	Potasyum
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
m	Metre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
Na	Sodyum
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

Kısaltmalar

ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz enzimi
ALT	Alanin aminotransferaz
ASE	Asetamiprid
Asetil-CoA	Asetilkoenzim A
AST	Aspartat aminotransferaz

ATC	Asetiltiyokoliniyodat
CBP _{su}	<i>Capsella bursa-pastoris</i> bitkisinin su ekstraktı
DDT	Diklorodifeniltrikloroetan
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)
E.C.	Enzim kod numarası
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EMS	Etil metansülfonat
EPA	Çevre Koruma Ajansı
EÜ	Enzim ünitesi
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Redükte Glutasyon
HCl	Hidroklorik asit
HS _{su}	<i>Hypericum scabrum</i> bitkisinin su ekstraktı
i.p.	İntraperitoneal
İMİ	İmidakloprid
MN	Mikronükleus
nAChR	Nikotinik asetilkolin reseptörü
SDB	Standart Drosophila besiyeri
SL _{su}	<i>Salvia lavandifolia</i> bitkisinin su ekstraktı
SOD	Süperoksit dismutaz
TEPP	Tetraetilpropilfosfat
TO _{su}	<i>Teucrium orientale</i> bitkisinin su ekstraktı
Tris	Trihidroksimetilaminometan
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. İmidakloprid'in kimyasal formülü.....	6
Şekil 1.2. Asetamiprid'in kimyasal formülü.....	7
Şekil 1.3. Asetilkolinin sentez reaksiyonu.....	8
Şekil 1.4. Asetilkolinin yıkım reaksiyonu	9
Şekil 1.5. Asetilkolinesteraz enziminin açık formülü.....	10
Şekil 1.6. Asetilkolinesterazın sinir hücresindeki fonksiyonu.....	10
Şekil 1.7. Salvia lavandulifolia vahl.	21
Şekil 1.8. Hypericum scabrum L.	22
Şekil 1.9. <i>Capsella bursa-pastoris</i> Medik	23
Şekil 1.10. <i>Teucrium orientale</i> L.	24
Şekil 3.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü	38
Şekil 4.1. İMİ uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait ömür eğrileri	48
Şekil 4.2. ASE uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait ömür eğrileri	50
Şekil 4.3. İMİ + bitki ekstraktları uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait ömür eğrileri	53
Şekil 4.4. ASE + bitki ekstraktları uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait ömür eğrileri	56
Şekil 4.5. İMİ uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerlerinin karşılaştırılması.....	58
Şekil 4.6. ASE uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerlerinin karşılaştırılması.....	60
Şekil 4.7. İMİ + bitki ekstraktları uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerlerinin karşılaştırılması	62
Şekil 4.8. ASE + bitki ekstraktları uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerlerinin karşılaştırılması	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Aktivite ölçümü	42
Çizelge 4.1. İMİ uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun karşılaştırılması	47
Çizelge 4.2. ASE uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun karşılaştırılması	51
Çizelge 4.3. İMİ ve bitki ekstraktları uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun karşılaştırılması	52
Çizelge 4.4. ASE ve bitki ekstraktları uygulanmış <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun karşılaştırılması	55
Çizelge 4.5. İMİ uygulanan <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerleri	58
Çizelge 4.6. ASE uygulanan <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerleri	59
Çizelge 4.7. İMİ + bitki ekstraktları uygulanan <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerleri	61
Çizelge 4.8. ASE + bitki ekstraktları uygulanan <i>D. melanogaster</i> 'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerleri	63

1. GİRİŞ

1.1. Pestisitler

Pestisitler insan, hayvan ve bitki üzerinde ya da çevresinde yaşayan, besinlerin üretim, depolama ve tüketimi sırasında besin değerini düşüren ya da zarara uğratan böcek, kemirici, yabani ot, mantar gibi canlı formların yıkıcı etkilerini azaltmak için kullanılan kimyasal maddelerdir. Pestisit kelimesi Latince kökenli olup “zararlı öldürücü” anlamına gelmektedir.

Ünal (2004)’a göre ise pestisitler sorun yaratan böcekler, hayvanlar, mikroorganizmalar, yabani otlar ve diğer zararlıların yok edilmesinde ya da davranışlarının değiştirilmesinde kullanılan aktif kimyasal maddelerdir.

Pestisitler, etkiledikleri canlı grubuna göre; insektisit (böcekleri öldüren), akarisit (akarları öldüren), nematisit (nematodları öldüren), mollusisit (yumuşakçaları öldüren), rodentisit (kemirgenleri öldüren), avisit (kuşları öldüren), afisit (yaprak bitlerini öldüren), fungusit (fungusları öldüren), bakterisit (bakterileri öldüren), herbisit (otları öldüren) ve algisit (algleri öldüren) olarak tanımlanmaktadır (Öncüer 1995).

İnsanoğlu tarafından pestisit kullanımı oldukça eski zamanlardan beri yapılmaktadır. İlk herbisit kullanımına dair bilgiler M.Ö. 1200 yılına ait iken, insektisit ve fungusit kullanımına dair bilgilerin M.Ö. 1000 yılına ait olduğu düşünülmektedir (Öztürk ve Özge 1978). M.Ö. 100 yılında Ranunculaceae (Düğün çiçeğigiller) familyasından *Helleborus* cinsine ait *Helleborus niger* (noel gülü) ve *Helleborus orientalis* (çöplemecik) bitkilerinin fare, sıçan ve böcek kontrolünde kullanıldığı bilinmektedir. M.S. 900 yılında ise Çinliler arseniği böceklerle karşı bir çeşit insektisit olarak kullanmıştır (Ware 1983). Doğal kaynaklı organik ve inorganik bileşiklerin bitki koruma alanında kullanımına II. Dünya Savaşı öncesine kadar devam edilmiştir. Ancak sentetik bileşiklerin kullanımına başlandıktan sonra doğal kaynaklı organik ve inorganik

bileşiklerin kullanımı azalmış, sentetik pestisit kullanımı da hızla artmıştır. İlk sentetik pestisit, 1874 yılında sentezlenmiş olan organik klorlu insektisitlerden diklorodifeniltrikloroetan (DDT)'dir. Ancak DDT'nin insektisit özelliği 1939 yılında Paul Müller tarafından keşfedilmiştir. 1938 yılında ise Bernard Shrader tarafından ilk organik fosforlu insektisit olan tetraetilpropilfosfat (TEPP) üretilmiştir. Yıllar geçtikçe zararlılar ile mücadelede kullanılan pestisitlerin yapısı ve türü değişime uğrayarak günümüzde kullanılan kimyasal bileşiklere dönüşmüşlerdir. İnsanlara, hayvanlara ve bitkilere çeşitli derecelerde zararı dokunabilecek 10.000 'den fazla böcek, 1500 tür nematod, 600'den fazla yabancı ot ve 1500'den fazla bitki hastalığının varlığı göz önüne alındığında ise kullanılan pestisitlerin sınıflara ayrılması kaçınılmaz olmuştur (Haktanır ve Arcaç 1998).

Öztürk (1990) pestisitleri görünüşlerine, fiziksel yapılarına, formülasyon şekillerine, içerdikleri aktif maddesine, zehirlilik derecesine, kullanım tekniğine, etkiledikleri zararlı ve hastalık grubu ile zararlıların biyolojik gelişim dönemine göre çok değişik şekillerde sınıflandırmıştır. Pestisitler, kimyasal yapıları gereği toksik etkilerini çeşitli düzeylerde tüm canlılarda gösterirler. Bu özelliklerin sonucu olarak da hedef olmayan faydalı böceklerin, arıların, kuşların, evcil hayvanların, balıkların ve hatta insanların etkilenmesine neden olurlar. Pestisitlerin etkileri genellikle akut ya da kronik zehirlenme şeklinde kendini göstermektedir. (Delen vd 1995; Ünal ve Gürkan 2001; Delen vd 2005).

Pestisit kullanımının 1950 yılından günümüze kadar 50 kat arttığı ve yıllık kullanımın yaklaşık 2,5 milyon ton/yıl olduğu Tadeo (2008) tarafından rapor edilmiştir. Dünya da pestisit kullanımının %80'i gelişmiş ülkelere ait iken Türkiye'nin bu oran içindeki payı sadece %0.6'dır. Bu verilere rağmen tarım ilacı olarak kullanılan pestisit tüketiminin 1979 yılından 2005 yılına kadar ülkemizde de %45.29 oranında bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Ancak ülkemizdeki pestisit tüketimi gelişmiş ülkelere nazaran oldukça düşüktür (Nafiz vd 2005).

Türkiye'de kullanılan tarım ilaçlarının %47'si insektisitlere, %24'ü herbisitlere, %16'sı fungusitlere ve %13'ü de diğer gruplara aittir. Dünya'da ise herbisitler tarım ilaçları içinde %47 ile birinci sırada yer alırken onu insektisitler %29 ve fungusitler de %19 oranı ile takip etmektedir (Dağ vd 2000). Bu gruplar için ayrılan pazar payı da yılda yaklaşık olarak 230-260 milyon \$ olarak hesaplanmıştır. Ülkemizde bölgelere göre tarım ilacı tüketimi; Akdeniz Bölgesi'nde %22.5, İç Anadolu Bölgesi'nde %20.5, Ege Bölgesi'nde %18, Marmara Bölgesi'nde %17, Karadeniz Bölgesi'nde %11, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde %7.5, Doğu Anadolu Bölgesi'nde de %3.5 civarındadır (Turabi 2004).

1.2. İnsektisitler

İnsektisitler, zararlı böceklerin öldüren ya da çoğalmalarını durduran kimyasal bileşiklerdir. İnsektisitler etkilerini çoğunlukla sinir sistemi fonksiyonlarını bozarak gösterirler (Gubler 1998). Bu nedenle onların toksik etki mekanizmaları ve hedef aldıkları organlar bütün türlerde hemen hemen aynıdır. Ancak bu toksik etkinin şiddeti uygulama dozuna, hedef organizmanın herhangi bir insektisite maruz kalma süresine, biyotransformasyon hızına ve absorpsiyon yoluna bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik göstermektedir. Kullanımının kolay oluşu ve kullanım için özel bir eğitim gerektirmemesi insektisit kullanılmasını yaygınlaştırmıştır (Hammouda *et al.* 1995).

İnsektisitler; organik klorlular, organik fosforlular, karbamatlar, piretroidler ve neonikotinoid insektisitler olmak üzere beş ana gruba ayrılırlar (Casida and Quistad 1998). Organik klorlu insektisitler, nöron membranlarında katyon transferini etkileyerek merkezi sinir sisteminin uyarılması ile etkilerini gösterirler. Bu grubun en önemli temsilcisi ilk kez kullanılan insektisitlerden biri olan DDT'dir. Organik fosforlu insektisitler ise sinir uçlarındaki asetilkolinesteraz aktivitesini engelleyerek fosforilasyon sürecindeki enzimi inaktif hale getirirler ve nöral iletimi bloke ederler. Paration, diazinon gibi bileşiklerin yer aldığı organik fosforlu insektisitlerden en yaygın kullanılanı malationdur. Karbamatlar da etkisini organik fosforlulara benzer şekilde gösteren insektisitlerdir. En sık kullanılan temsilcisi karbamil'dir (Simpson and

Schuman 2002; Weiss *et al.* 2004). İnektisitlerin bir diğeri grubu olan piretroidler ise Asteraceae (papatyagiller) familyasından *Chrysanthemum cinerariaefolium* (dalmaçya pireotu) ve *Pyrethrum roseum* (Kafkasya pireotu, oltu otu) bitkilerinden izole edilen doğal bileşiklerdir (Shafer *et al.* 2008). Bu gruba ait bileşikler, merkezi sinir sistemi üzerindeki toksik etkilerini özellikle voltaj bağımlı sodyum kanallarının aktivasyonunu ve kapanmasını inhibe edip membran geçirgenliğini arttırarak yapmaktadırlar. Böylece daha uzun süre açık kalan membrandan daha çok sodyum iyonu geçişi ve depolarizasyon meydana gelmektedir (Ray and Fry 2006; Shafer *et al.* 2008).

1.3. Neonikotinoidler

İnektisitlerin bir grubu olarak son 30-40 yıldır tüm dünyada ürün koruma ve hayvan zararlılarının kontrolü amacıyla neonikotinoidler kullanılmaktadır. Yaygın kullanılan inektisitlere karşı zararlı böceklerin direnç göstermesi ile kontrolü zor böcekler için ve çevreye zararlı olmayan yeni bir inektisit geliştirilmesi ihtiyacı sonucu bu gruba ait bileşiklerin üretimine başlanmıştır (Yamamoto and Casida 1999; Ambrose 2003).

Neonikotinoidlerin en önemli özelliklerinden birisi bitkiler tarafından kolaylıkla absorbe edilebilmeleridir. Buna bağlı olarak çok sayıda emici ve ısırcı böcekler ile bazı kelebekler ve kın kanatlılar gibi zararlıları kontrol etmek için düşük dozlarda bile hızla etkili olabilmektedirler (Casida and Quistad 2004; Tomizawa and Casida 2005). Böceklerin neonikotinoidlerden etkilenme belirtileri düzenli olmayan abdominal titreme, kanatları germe, şiddetli vücut sarsıntısı, halsizlik, felç ve ölümdür (Schroeder and Flattum 1984).

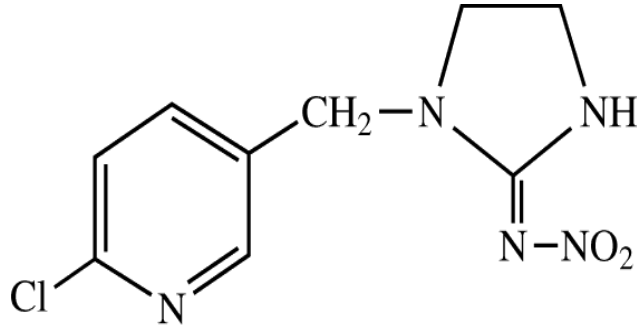
Neonikotinoidler, kimyasal yapılarının farklılıklarından dolayı; kloronikotinil, tianikotinil ve furanikotinil olmak üzere üç alt gruba ayrılırlar (Tomizawa 2000; Shimomura *et al.* 2003; Tomizawa and Casida 2003). Kloronikotinil grubu içinde imidakloprid, nitenpiram, asetamiprid ve tiakloprid, tianikotinil grubu içinde tiyametoksam ve klotiyanidin, son grup olan furanikotinil alt grubu içinde de

dinotefuran yer almaktadır. Neonikotinoidler, dünyada kullanılan tüm insektisitlerin yaklaşık %11-%15'ini oluşturmaktadırlar (Tomizawa and Casida 2005).

Neonikotinoid insektisitler içinde ilk üretilen bileşik imidakloprid (İMİ)'tir. Kloronikotinil grubu içinde yer alan bu bileşiğin kimyasal formülü 1-(6-kloro-3-piridilmetil)-2-nitroimino-imidazolidin şeklindedir (Yamamoto 1996). Yüksek etkili neonikotinoid insektisitlerin bilinen en iyi örneğidir (Tomizawa and Casida 1999). Şekil 1.1'de İMİ'nin kimyasal formülü verilmiştir. İMİ, ışığa dayanıklı olması (Kagabu and Medej 1995; Kagabu and Akagi 1997) ve çeşitli omurgalı hayvanlara göre böceklerde yüksek seçici toksisite göstermesi nedeni ile insektisit olarak dünya piyasasında hızla artan bir kullanım alanına sahiptir (Liu *et al.* 2010). Tüm neonikotinoidlerde olduğu gibi İMİ de böceklerle karşı yıkıcı toksisite gösterirken memelilerde, kuşlarda ve balıklarda daha düşük akut ve kronik toksisiteye sahiptir (Nagata *et al.* 1998). İMİ, kedi ve köpeklerde pireye karşı kullanılan koruyucu bir ajandır (Schulz-Jander and Casida 2002). Bunun yanı sıra bir çeşit piretroid insektisit olan permetrin ile kombine edilerek köpeklerde kenelere karşı koruyucu etkili damla tarzında da kullanılmaktadır (Machida *et al.* 2008). Çeşitli ülkelerde sebzelerde, meyvelerde, şeker pancarında, pamukta ve pirinçte ürün kaybına sebep olan Homoptera ve Hemiptera familyasına ait zararlılar ile mücadelede (Matsuda *et al.* 2001), kedi ve köpeklerde de Siphonapterlerle (pireler) mücadelede kullanılmaktadır (Tomizawa and Casida 2005). Ülkemizde ise pamuk bitkisinde pamuk yaprakbiti dışında meyve, sebze, tütün, antepfıstığı, turunçgiller ve üzüm bağında çeşitli zararlılara karşı ruhsatlı olarak yaygın biçimde kullanıldığı bilinmektedir (Yücer 2012).

Lucero *et al.* (2000) İMİ'ye maruz kalan tarım işçilerinde mikronükleus (MN) oranının arttığını belirlemişlerdir. 0.2-0.5 mg/kg konsantrasyonda uygulanan İMİ, *Eisenia fetida* (toprak solucanı)'da sperm anormalliğine ve DNA hasarına sebep olmuştur (Zang *et al.* 2000). ABD'de pamuk ekim alanlarında düzenli İMİ kullanımına bağlı olarak *Microplitis croceipes* dişilerinin ömür uzunluğu ve konak arama yeteneğinde azalma görülürken (Stapel *et al.* 2000), insan periferik lenfosit hücrelerinde de DNA hasarları önemli derecede artmıştır (Feng *et al.* 2005). 17 mg/kg İMİ'ye maruz kalan erkek

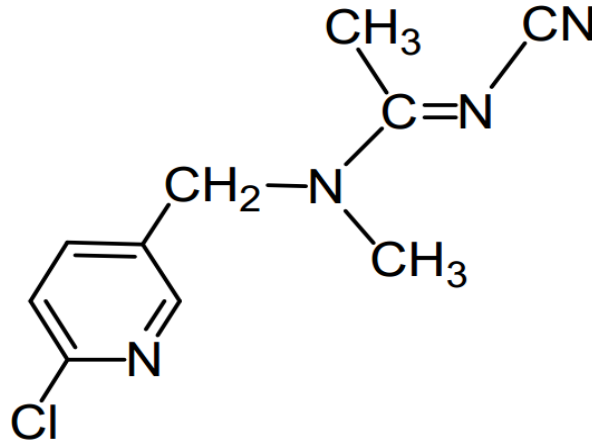
ratlarda tiroid lezyonları, dişi ratlarda kilo kaybı gözlenmiştir. 100 mg/kg İMİ ise dişi ratlarda ayrıca retina atrofisine de neden olmuştur (Kidd and James 1994; Meister 1995). Bazı araştırmalarda ise İMİ uygulamasının sitotoksik, genotoksik, nörotoksik (Karabay and Oğuz 2005) ve gebelikte yavru gelişimi üzerine olumsuz etkileri belirlenmiştir (Abou-Donia *et al.* 2008). Yine yapılan bir başka çalışmada, *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarına uygulanan 2.0 ppm İMİ ve ASE'nin somatik mutasyonlara sebep olduğu görülmüştür (Uysal and Kızılet 2013). İMİ ve ASE neonikotinoidlerinin *Phytoseiulus persimilis* (avcı akar)'de, ergin öncesi ölüm oranını artırdığı ve yumurta verimini azalttığı da gözlenmiştir (Stark *et al.* 1992).



Şekil 1.1. İmidakloprid'in kimyasal formülü

Asetamiprid (ASE), neonikotinoid ailesinde üretimine başlanan ikinci bileşiktir. 1995 yılında Japonya'da (Yamamoto and Casida 1999), 1996 yılında da Mospilan ticari ismi ile Türkiye'de piyasaya sürülmüştür (Dursun vd 2013). Bu bileşiğin kimyasal yapısı bir siyanoamidin ve bir 6-kloro-3-piridilmetil'den meydana gelmektedir (Şekil 1.2). ASE, Çevre Koruma Ajansı (Environmental Protection Agency: EPA) ve Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization: WHO) tarafından sıcakkanlı hayvanlar için orta derecede zehirli sınıfta gösterilmektedir. Toprakta yarılanma ömrü 3 gün olup kalıcı olmayan grupta yer almaktadır (Yılmaz 2011). ASE, bitkilerin yaprak altları, genç sürgünleri ve büyüme noktalarında zararlı olan ısırcı-çiğneyici, sokucu-emici ağız yapısına sahip zararlıların yok edilmesinde oldukça etkili olmaktadır (Öncüler ve Durmuşoğlu 2008). Bu neonikotinoid ülkemizde pamuk, tütün, patates, domates, biber, patlıcan, salatalık, antepfıstığı, karpuz, fındık, elma ve kirazda çeşitli zararlılara karşı kullanılmaktadır (Yücer 2012).

ASE, memelilerde düşük toksisiteye sahiptir. Örneğin erkek sıçanlar ve farelerde ASE toksisitesi, 200 mg/kg olarak belirlenmiştir (Ambrose 2003). 25, 30, 35 ve 40 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ASE, insan periferik lenfosit kültürlerinde hem 24 hem de 48 saatlik muamelede MN ve kardeş kromatit değişimi (KKD) frekansını önemli derecede artırırken mitoz bölünme indeksini de düşürmüştür (Kocaman 2007). Yine *Aphytis melinus* (yaprak biti)'un ergin bireylerinde ASE uygulamasından 48 saat sonra yüksek oranda ölüm meydana gelmiştir (Rill *et al.* 2008). Naranjo and Akey (2004) yapmış oldukları çalışmada, beyazsinek ile mücadelede kullanılan ASE'nin oldukça etkili bir insektisit olduğunu belirtmişlerdir.



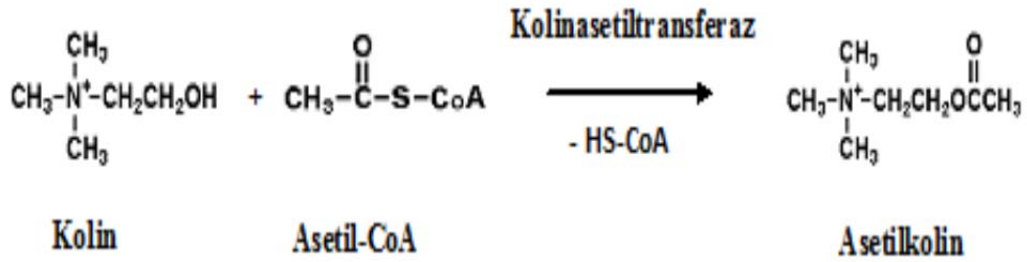
Şekil 1.2. Asetamiprid'in kimyasal formülü

1.4. Asetilkolin

Bir alkaloid olan asetilkolin (ACh), ilk tanımlanan ve en çok çalışılan sinir uyarı ileticisi yani nörotransmitterdir. Kimyasal formülü $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ olan ACh, asetik asit ile kolinin esteridir. İlk kez 1914 yılında İngiliz bilim insanı Henry Hallet Dale tarafından tanımlanmıştır. 1921 yılında ise Avustralya'lı Otto Loewi tarafından kurbağa kalpleri üzerinde yapılan deneyler sonucunda bir nörotransmitter olarak doğrulanmıştır. Bu keşif Henry Hallett Dale ve Otto Loewi'ye 1936'da Nobel Ödülü kazandırmıştır (Kent 2000).

Keşfedildiği dönemlerde asetilkolinin sadece sinir uçlarından etkilendiği hedef doku veya organa ya da ikinci sinir hücresine sinir impulsu taşıma görevi olduğu düşünülmekteydi. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda, asetilkolinin bu görevinin yanı sıra sinir ve kas lifleri boyunca biyoelektriksel akımın oluşmasında da görev yaptığı tespit edilmiştir (Wilson and Nachmanason 1954).

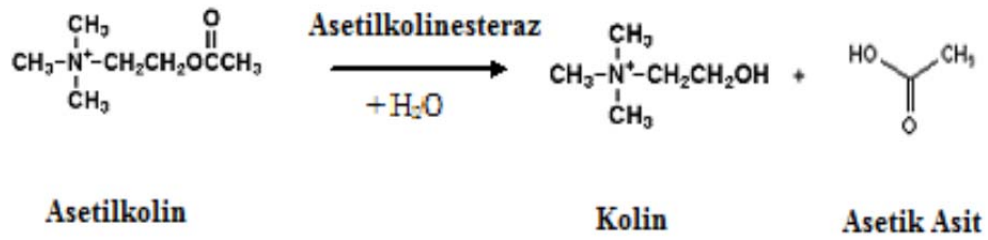
ACh'nin asetil kaynağı, sinir ucu hücrelerdeki mitokondrilerden sentezlenen asetilkoenzim A'dır (Asetil-CoA). Kolin kaynakları ise hücre membranındaki fosfolipidler ile ACh hidrolizi sonucu açığa çıkan ve sonra yeniden ACh sentezinde kullanılan kolindir. Ayrıca günlük olarak alınan birçok besin maddesi de kolin kaynağıdır. Kolin, sinir ucuna sinaps veya kavşak aralığından aktif transportla alınmaktadır. Kolinin asetillenmesi ise sinir hücresine alındıktan sonra sitoplazmada gerçekleşmektedir (Kent 2000). Şekil 1.3'de asetilkolinin sentez reaksiyonu verilmiştir. Organizmalarda farklı kaynaklardan sentezlenen kolin ve asetil-CoA kolinasetiltransferaz enzimi ile asetilkoline dönüştürülür.



Şekil 1.3. Asetilkolinin sentez reaksiyonu

Asetilkolin, canlıda birbirine yakın sinir hücreleri arasındaki dar aralıklardan sinirsel uyarıların taşınmasında rol oynar. Kas hücrelerinin kasılmasını sağlayan bu sinirsel uyarıların taşınması, elektrokimyasal olarak gerçekleşir. Elektrikçe yüklü iyonlar sinir ve kas hücrelerine ait membranlar boyunca akar ve iyon akışı bir sinapsa ulaşıncaya kadar devam eder. Böylelikle, sinir hücresindeki ufak veziküller içinde depo edilmiş olan taşıyıcı ACh'in serbest kalması sağlanır (Güven 2000). ACh sinaps boyunca difüzyonla ve yakındaki sinir lif membranına bağlanır. Bu bağlanma olur olmaz hücre

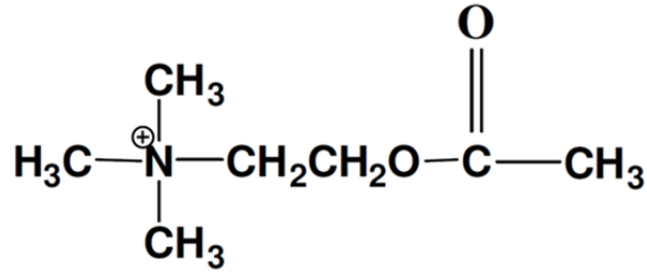
membranı boyunca sodyum (Na) ve potasyum (K) iyonları yer değiştirir. Böylece ikinci bir sinir hücresinde sinirsel uyarım başlamış olur (Noyan 1996). Sinir uçları tarafından salgılanan ACh, görevini yaptıktan sonra asetilkolinesteraz enzimi tarafından hidrolizlenerek kolin ve asetik asite ayrılır (Tel 2010). Şekil 1.4’de asetilkolinin hidroliz reaksiyonu görülmektedir.



Şekil 1.4. Asetilkolinin yıkım reaksiyonu

1.4.1. Asetilkolinesteraz enzimi (E.C 3.1.1.7)

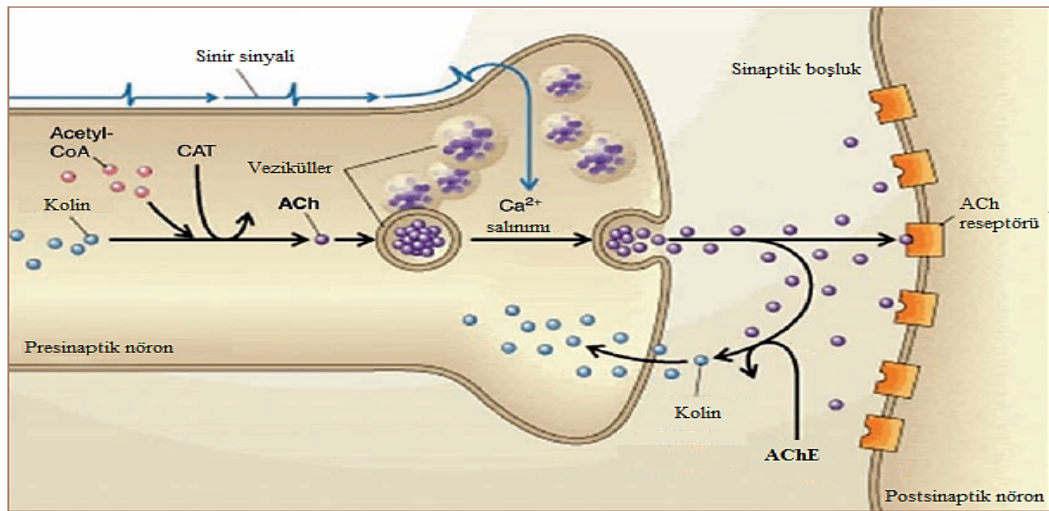
Bu enzim, ilk defa 1938 yılında *Torpedo marmoreta* (elektrik balığı) elektrik organından ekstraksiyon yoluyla saflaştırılmıştır. Açık formülü Şekil 1.5’de verilmiş olan asetilkolinesteraz enzimi (AChE), nörotransmitter bir madde olarak görev yapan asetilkolinin (ACh) kolin ve asetik asite hidrolizinden sorumlu bir enzimdir (Vale 1998; Pope *et al.* 2005). Oldukça spesifik olan ve yalnızca asetilkolini hidroliz eden asetilkolinesteraz, dış çevre ile lifin iç kısmı arasında konsantrasyon farklılıklarının oluşması neticesi Na^+ iyonunun geçişine ve bir elektrik akımının meydana gelmesine de sebep olmaktadır. Bu olayın sonunda asetilkolin, AChE enzimi tarafından hidroliz edilerek inaktif hale getirilir. Hidroliz sonunda iki tane inaktif kısım meydana gelir. Bunlar, kolin ve asetik asittir. Sinir sinyallerinin sinir liflerinden düz kaslara ve iskelet kaslarına, salgı bezlerine ve otonom sinir düğümlerine, aynı zamanda merkezi sinir sistemi içerisinde iletilmesinin düzgün işleminde AChE enziminin kritik bir görevi vardır. AChE aktivitesinin engellenmesi durumunda parasempatik ve sempatik motor sinirler ile merkezi sinir sisteminin çalışmasında aksaklıklar oluşur (Lotti 1995).



Şekil 1.5. Asetilkolinesteraz enziminin açık formülü

ACh salınımında Ca^{+2} önemli rol oynar. Aksiyon potansiyeli ile depolarize olan sinir sonu membranındaki kalsiyum kanalları açılır. Ekstrasellüler bir iyon olan Ca^{+2} hücre içine girer. Yoğunluk farkı nedeniyle aksoplazma içine difüze olur ve asetilkolin veziküllerinin membrana doğru giderek yapışmasını sağlar. Burada veziküller açılır ve çok sayıda asetilkolin molekülü sinaps aralığına çıkar (Nelson and Cox 2005). Şekil 1.6'da AChE enziminin sinir hücresi içindeki fonksiyonu şematik olarak verilmiştir.

AChE, dokularda serbest ya da fosfolipidlerle bileşik halinde bulunur ve lipotrofik (yağlanmayı engelleyici) etkiye sahiptir (Aras ve Ersen 1988; Tel 2010). Organizmada genellikle beyinde, sinir hücrelerinde, kasta ve eritrositlerde bulunmaktadır (Wilson and Nachmansohn 1954).



Şekil 1.6. Asetilkolinesterazın sinir hücresindeki fonksiyonu (Anonymous 2010)

1.5. Ömür Uzunluğu ile İlgili Teoriler (Yaşlanma Teorileri)

1.5.1. Somatik mutasyon teorisi

Somatik mutasyon teorisinde, DNA hasarına hücrel cevap kapasitesinin, yaşlanma olayında önemli bir belirleyici olduğu bildirilmiştir (Slijepcevic 2008). Bu teoriye göre, somatik hücrelerde yaşam boyu biriken mutasyonlar birçok hastalığa neden olmaktadır. Örneğin, onkogenik mutasyonların somatik hücrelerde yaşam boyu birikmesi yaş ilerledikçe kanser görülme sıklığını artırmaktadır (Curtis 1966).

1.5.2. Serbest radikal teorisi

Yaşlanma teorileri içerisinde en çok kabul gören ve incelenen teori serbest radikal teorisidir. Harman (1956)'a göre, yaşlanmanın sebebi, her biri serbest radikal formu olan oksidatif fosforilasyon ürünlerinin birikimidir. Bu radikallerin birikimi, lipitlerden proteinlere tüm biyomoleküllere zarar vermektedir. Oluşabilecek zarar ise vücut tarafından üretilen süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve redükte (indirgenmiş) glutatyon (GSH) gibi antioksidanlar ile dışarıdan besinlerle alınan A, C ve E gibi vitaminler tarafından önlenmektedir. Canlıların vücutlarında oksidan-antioksidan oranlarının iyi ayarlanması, sağlıklı yaşam ve verim fonksiyonları açısından son derece önemlidir (Altun Çolak and Uysal 2014). Böceklerde ve insanlarda, SOD, GPx ve GSH gibi enzimlerin ifadelerindeki artışa bağlı olarak ömür uzunluğunda artış gözlenmiştir (Sohal and Weindruch 1996). Bu teoriye göre, yaşam boyu sürekli serbest radikallere maruz kalınması sonucunda hücre hasarı oluşmakta, hücrelerin büyüme, gelişme ve farklılaşma fonksiyonlarında bozulma, kanser veya ölüm meydana gelmektedir (Ames *et al.* 1993).

1.5.3. Antagonistik pleiotropi teorisi

Williams (1957) tarafından ortaya atılan bu teoriye göre, yaşamın erken dönemlerinde yararlı etkileri olan genler, geç dönemlerde zararlı etkiler gösterebilmektedirler (Rose

1985). Çünkü genlerin ifadeleri her zaman olumlu ya da her zaman olumsuz değildir. Erken yaşta uyum karakterleri üzerinde olumlu etkileri olan alleller, pozitif doğal seçim sonucu seçilmişlerdir. Yalnızca ileri yaşlarda ifade olabilecek negatif etkili bir mutasyon, üreme periyodunu etkilemeyecek ve dolayısıyla doğal seçilimin etkisi geç dönemde zayıf kalacaktır (Partridge and Barton 1993; Zwaan *et al.* 1995) Ancak artan yaşla birlikte azalan doğal seçim baskısı, aynı genlerin olumsuz etkisini baskılayamadığında uyum bileşenlerinin gücünün azalması söz konusudur. Örnek vermek gerekirse; insanda testosteron hormonu, yaşamın erken döneminde üreme başarısını artırırken geç dönemde prostat kanseri riskini arttırmaktadır (Gann *et al.* 1996). Sonuç olarak antagonistik gen etkileri, erken ve geç dönem yaşam öyküsü karakterleri arasında negatif bir korelasyon göstermektedir. *D. melanogaster* ile yapılan birçok çalışma da bu teoriyi destekler niteliktedir. Örneğin, bu organizmada ki tek gen mutasyonlarının büyük bir kısmı ömür uzunluğunu artırsa da yumurta veriminde düşüş ya da kısırlık meydana getirmektedir (Komitopoulou *et al.* 1983).

1.5.4. Mutasyon birikimi teorisi

Bu zamana kadar yaşlanma ile ilgili çeşitli teoriler üretilse de, yaşlanmanın evrimsel teorileri içinde en güçlü görüşlerden birisi mutasyon birikimi teorisidir. Bu teoriye göre, genç yaşlardaki zayıf doğal seleksiyonlar, tekrarlanan zararlı mutasyonların etkisiyle hayatta kalış ve üremeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Medawar 1952; Charlesworth 1994). Yaşlanmanın evrimsel teorileri için anahtar nokta, doğal seçim gücünün artan yaşla birlikte azaldığıdır. Genç organizmada ifade edilen negatif etkili bir mutasyon, tüm üreme periyodunu etkileyecektir, dolayısıyla mutasyonun etkisine karşı seleksiyon güçlü olacaktır. Yalnızca ileri yaşlarda ifade edilen negatif etkili bir mutasyon erken üreme periyodunu etkilemeyecektir, dolayısıyla geç ortaya çıkan bir mutasyon üzerine seleksiyonun etkisi daha zayıf olacaktır (Partridge and Fowler 1992; Partridge and Barton 1993; Tower 1996; Zwaan 1999; Kirkwood 2002).

Popülasyonda yaşlı bireylerin sayısının artması, bireyler arasındaki çeşitliliğin (varyasyonun) yüksek olması anlamına gelmektedir (Hughes and Charlesworth 1994).

Geç yaşlarda ifade olmaya başlayan mutasyonlarla birlikte alel çeşitliliğindeki artış popülasyonun genetik yapısını da değiştirmektedir. Bu nedenle mutasyon birikimi teorisi, popülasyonların genetik değişimleri konusunda da tahminde bulunmaktadır. Bunlardan birisi; genç bireylerin artan yaşla birlikte ebeveynlerine benzemesidir. Çünkü yumurta verimi ve hayatta kalabilirlik, kalıtılabilir yaşam öyküsü karakterleridir. Yaşlanan bireylerin, popülasyonda oluşturduğu varyasyon, bir süreliğine sabit kalır çünkü erginleşen genç bireyler de aynı varyasyon aralığındadırlar. Geç dönem mutasyonlarının sayısı arttıkça, popülasyonun genetik çeşitliliğinin artış göstermesi beklenir. Ancak *D. melanogaster*'de bu çeşitlilik tam olarak belirlenememiştir (Promislow *et al.* 1996). Mutasyon birikimi teorisinin bir diğer tahmini ise, kendileşme çöküntüsüdür (inbreeding depression). Yaşlanmayla birlikte uyum bileşenlerindeki düşüş aslında popülasyonla da ilgili bir sonuçtur. Yani sürekli aynı bireyler arasında meydana gelen gen akışı, popülasyonun genetik çeşitliliğin azalmasına ve artan yaşla birlikte daha çok olumsuz etkili mutasyonun birikimine neden olmaktadır (Pletcher *et al.* 1998).

Yaşla birlikte devamlı artan genetik varyansın en büyük nedeni, mutasyon birikimi olabilir (Tatar *et al.* 1996). Bu birikim, artan yaşla birlikte doğal seleksiyon baskısını azaltırken, zararlı mutasyonların elemine edilme ya da frekanslarını düşürme olasılığını azaltmakta ya da yok etmektedir (Rose 1999). Böylece oluşan mutasyon birikimi genetik varyansı arttırmaktadır. Bu yüzden, yaşlanma ile genetik varyansın artması üzerinde mutasyon birikiminin önemli bir etkisi olduğu düşünülmektedir (Tatar *et al.* 1996). Aynı şekilde, *Drosophila*'da mortalite de genetik varyansın sürekliliği ile ilişkilendirilmekte ve bu da yaşlanma mekanizması için geçerli olan mutasyon birikimi teorisi ile desteklenmektedir (Pletcher *et al.* 1998).

1.5.5. Nöroendokrin teori

Bu teoride yaşlanmanın sadece nöronal ve nöronlarla ilgili hormonal mekanizmalarda fonksiyonel azalmaya bağlı olarak geliştiği savunulur. Bu teorinin temelinde, hormonal denge sistemimizi hayat boyu yöneten hipotalamus bulunmaktadır. Hipotalamus-

hipofizer salgı bezi aksı, büyümenin düzenlenmesinde ve yaşlanmanın temel mekanizmalarında yer almaktadır. Özellikle kadınlarda üretkenlik sona erince bu aksın fonksiyonlarında da hızlı bir azalma meydana gelir. Bu teori hipofizektomi (hipofiz bezinin çıkartılması) yapılmış farelerde de test edilmiş ve doğrulanmıştır (Mobbs 1996).

Yine bu teoriye göre yaşlanma, vücudun maruz kaldığı çeşitli kimyasal maddeleri engelleme ve dışarı atma mekanizmasında hassasiyetin azalması sonucu oluşmaktadır. Şöyleki; Biyolojik yaşlanmayı endokrin disfonksiyonu ile açıklayan bu görüşe göre, 25 yaşından sonra endokrin bezlerde anatomik değişikliklerin meydana gelişinin yanı sıra hormon sentezi, transportu, salgılanması, reseptör ve/veya reseptör sinyal iletimi mekanizmasının bozulması söz konusudur. Benzer şekilde yaşla birlikte büyüme hormonu, östrojen, testosteron, progesteron gibi steroid hormonların sentez ve salıverilmeleri de azalmaktadır. Yaşa bağlı olarak meydana gelen arteriosklerozis ve cilt yaşlanması immün disfonksiyon gibi süreçler genellikle östrojen eksikliğine bağlıdır. Ancak artan oksidatif stres ve glutatyon eksikliğinde bu süreçte etkili olmaktadır.

Yukarıda açıklanan teorilerin hiç birisi, tek başına yaşlanmayı açıklamak için yeterli değildir. Açıklanan bütün teorilerin yanı sıra yaşlanmayı ve ömür uzunluğunu etkileyecek başka faktörler de mevcuttur. Lints and Lints (1971) tarafından ömür uzunluğunu etkileyen faktörler iç (anasal yaş, yumurta üretimi, eşey ve genetik yapı) ve dış (sıcaklık, beslenme, popülasyon yoğunluğu, ışık, nem ve radyasyon) faktörler olmak üzere iki sınıfa ayrılarak incelenmiştir.

1.6. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler

1.6.1. İç faktörler

1.6.1.a. Anasal yaş

Anasal yaş ile ilgili ilk çalışmalar Lansing tarafından *Philodina citrina* türü ile yapılmıştır. Lansing (1947, 1948) rotiferler ile yaptığı çalışmalarda, yaşlı analardan

gelişen kuşakların gelişim hızının dölden dölle birikimli bir etki gösterdiğini ve ömür uzunluğunun giderek azaldığını belirlemiştir. Bu azalmaya da “Lansing etkisi” demiştir. (Lansing 1952). Hercus and Hoffman (2000) tarafından yapılan bir başka çalışmada, anasal yaştan yaşayabilirlik üzerine olan etkisi *D. serrata*’da araştırılmış ve yavru dölün yaşayabilirliğinin artan anasal yaş ile azaldığı saptanmıştır. Bu çalışmada, farklı çevrelerin ömür uzunluğu üzerine etkisi de incelenmiş ve genç annelerin yavru dölllerinin çevresel strese (besinsel kısıtlama ve soğuk uygulaması) yaşlı annelerinkinden daha dayanıklı olduğu ve daha uzun yaşadığı belirlenmiştir. Bu çalışmaların aksine Yılmaz *et al.* (2008) tarafından *D. melanogaster* ile yapılan bir çalışmada da annenin yaşı ile yavru dölün ömür uzunluğu arasında bir ilişkinin olmadığı yani tipik bir Lansing etkisinin gözlenmediği vurgulanmıştır.

1.6.1.b. Yumurta üretimi (fekundite)

Canlıda ömür uzunluğunu etkileyen faktörlerin başında yumurta üretimi gelmektedir. Yapılan çalışmalar ile de bu gösterilmiştir. Örneğin, Maynard-Smith (1958), ovaryumları indirgenmiş mutant dişilerin üreme yapılarının eksikliğine bağlı olarak ömür uzunluğunun arttığını bulmuştur. Pearl *et al.* (1927)’a göre, yumurtlama oranı artan dişilerde ömür uzunluğu azalmaktadır. Üreme ve ömür uzunluğu arasındaki bu ilişki, antagonistik pleiotropi teorisini de desteklemektedir (Finch 1990). Yapılan diğer deneylerde, yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, yumurta üretimi düşük çiftleşmemiş dişilerden daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür (Gowen and Johanson 1946). Tatar and Promislow (1997) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise yüksek oranlarda yumurta üretiminin dişilerin hayatta kalış oranını düşürdüğü belirtilmektedir. Sgro and Partridge (1999)’e göre ise *D. melanogaster*’de yumurta üretiminde meydana gelen düşüş, dişilerin mortalite oranını ve mortalite hızını da düşürmektedir. Tatar *et al.* (1993), bir arı türü olan *Callosobruchus maculatus* dişilerinde çiftleşme ve yumurta üretiminin artışıyla birlikte yaşa özgü mortalite oranının ve duyarlılığın hızlandığını belirlemişlerdir.

1.6.1.c. Eşey

Drosophila'da erkek ve dişi bireyler farklı ömür uzunluklarına sahiptirler. Eşey ile ömür uzunluğunun etkileşimini araştıran çalışmalarda, genellikle *Drosophila* erkeklerinin dişilere göre daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür. Iliadi *et al.* (2009)'un yaptığı bir çalışmada, *D. melanogaster*'in Oregon R soyu dişilerinin erkeklerine göre daha uzun ömürlü olduğu gözlenmiştir. Ancak çeşitli *Drosophila* soylarıyla yapılan araştırmaların bu genellemeyi zayıflattığı da bilinmektedir. Ünlü (1991) tarafından yapılan bir çalışmada, Oregon R soyu erkeklerinin dişilerden daha uzun yaşadığı, *vermillion* ve *miniature* mutantlarında da dişilerin erkeklerden daha uzun yaşadığı belirlenmiştir. *D. melanogaster*'in erkek ve dişilerinde DNA, RNA ve protein seviyeleri tayin edildiğinde, dişilerde bu moleküllerin erkeklere oranla çok daha fazla olduğu Samis *et al.* (1971) tarafından bildirilmiştir.

1.6.1.d. Genetik yapı

Hücreyi ve dolayısıyla organizmayı yöneten molekül olan DNA üzerindeki genler ve bu genlerdeki bazı değişimler ömür uzunluğu üzerinde etkili olmaktadır. Bu durumda, organizmanın değişik soylarında görülen ergin ömür uzunluğundaki çok belirgin farklar genetik etkenlere bağlanabilir (Bozcuk 1978). Genlerin ömür uzunluğu üzerindeki etkisini araştırmaya yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Lin *et al.* (1998)'un yaptığı bir çalışmada, çeşitli streslere dayanıklı hale getirilmiş *Drosophila*'nın *methuselah* (*mth*) mutantında ömür uzunluğunun %35 oranında arttığı gözlenmiştir. Rogina *et al.* (2002) tarafından *D. melanogaster* ile yapılan bir başka çalışmada ise, tek bir gendeki bağımsız beş P-elementinde meydana gelen insersiyon mutasyonunun, fertilite ve fiziksel aktivitede herhangi bir azalma olmaksızın ortalama ergin ömür uzunluğunu %40-80 oranında artırdığı görülmüştür. “Chico” geninde meydana gelen bir mutasyonun da *Drosophila*'nın ortalama ömür uzunluğunu %48, maksimum ömür uzunluğunu ise %41 oranında artırdığı saptanmıştır (Clancy *et al.* 2001). Orr and Sohal (1992) tarafından *Drosophila* ile yapılan bir başka çalışmada, reaktif oksijen türevlerini (ROS) ortadan kaldıran süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz

enzimlerini kodlayan genlerin aktarıldığı transgenik bireylerde ömür uzunluğunun arttığı belirlenmiştir. Bir nematod olan *Caenorhabditis elegans* üzerinde yapılan araştırmalarda, *age-1*, *age-2*, *gro-1*, *daf-23*, *daf-2*, *clk-1* gibi bazı genlerin, ömür uzunluğunu önemli oranda değiştirdiği bulunmuştur. Örneğin; *age-2* mutasyonunun ortalama ömür uzunluğunu %17, maksimum ömür uzunluğunu ise %21 oranında artırdığı, *age-1* ve *age-2* mutasyonunu aynı anda taşıyan bireylerin ise normal bireylere göre iki kat daha uzun yaşadıkları belirlenmiştir (Yang and Wilson 1999).

1.6.2. Dış (Çevresel) faktörler

1.6.2.a. Beslenme

Canlılar için beslenme yaşamsal faaliyetler için hayati derecede önemlidir. Bunun sonucu olarak da besin çeşidinin farklı olması canlıların ömür uzunluğunu etkilemektedir. Yapılan birçok çalışma ile de bu etki kanıtlanmıştır. Örneğin, sadece sukroz+agar'la beslenen *D. subobscura* popülasyonunun standart ortamda beslenenlerden yaklaşık %50 daha kısa ortalama ömür uzunluğuna sahip olduğu bulunmuştur (Bozcuk 1970). Chippindale *et al.* (1993) ise yaptığı bir çalışmada, *Drosophila* besiyerinde maya miktarını azaltarak besinsel kısıtlama uygulamış ve besinsel kısıtlamaya maruz kalan bireylerin kontrol gruplarına göre daha uzun ömürlü olduğunu belirlemiştir. Benzer bir çalışmada, *Drosophila*'nın besi ortamındaki maya miktarı değiştirilmiş (%1, %2, %4, %8, %16) ve besi ortamındaki maya miktarı arttıkça ortalama ömür uzunluğunun azaldığı bulunmuştur (Mair *et al.* 2005). Sakal likeni olarak bilinen *Usnea longissima*'nın su ekstraktları *D. melanogaster*'in erkek ve dişi popülasyonlarına uygulandığı zaman düşük dozda (0,5 ml) ekstraktın bireylerin ömür uzunluğunda artışa, yüksek dozda (2,5 ml) ekstraktın ise ömür uzunluğunda azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir (Uysal *et al.* 2009). Başka bir liken türü olan ciğer likeni (*Lobaria pulmonaria*)'nin metanol, kloroform ve su ekstraktlarının *D. melanogaster*'de ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, tüm ekstraktların konsantrasyon artışına paralel olarak ömür uzunluğunu artırdığı, ancak metanol ekstraktlarının diğerlerine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Uysal vd 2009).

1.6.2.b. Radyasyon

Böcekler genel olarak radyasyona oldukça dayanıklı canlılardır. Örneğin; *D. melanogaster*'de ergin sineklerin somatik hücrelerinin bölünerek yenilenmemesi (Bozcuk 1972) radyasyona dayanıklılıklarını artıran nedenlerden birisidir. Fakat yapılan bazı çalışmalarda, yüksek dozdaki radyasyonun somatik mutasyon birikimine neden olarak ömür uzunluğunu kısalttığı, düşük dozdaki radyasyonun ise ömrü uzatıcı etkisinin olduğu bildirilmiştir. Ömür uzunluğundaki bu artış, muhtemelen bazı enfeksiyonların radyasyon etkisiyle azalması ya da sineğin çevresel direncinin artması sonucudur (Ashburner and Wright 1978). Dalgıç *et al.* (2002) tarafından yapılan başka bir çalışmada, mikrodalga frekansındaki elektromanyetik radyasyonun *D. melanogaster*'in bazı mutant soylarında ömür uzunluğuna etkisi araştırılmış ve sonuçta özellikle mutant dişilerin ömür uzunluğunda azalma görülürken, erkeklerin ömür uzunluğunda artış tespit edilmiştir.

1.6.2.c. Popülasyon yoğunluğu

Popülasyon yoğunluğunun etkileri *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin aksine daha çok larval dönemdeki bireyler üzerinde çalışılmıştır. Popülasyon yoğunluğundaki fazlalıktan kaynaklanan larva büyümesindeki gecikme, ergin bireylerde ömür uzunluğunu artırıcı bir etkiye sebep olmaktadır (Miller and Thomas 1958). Örneğin standart bir üreme tüpündeki yumurta sayısı 7'den 480'e yükseltildiğinde ortalama ergin ömrünün %60 oranında arttığı kaydedilmiştir. Popülasyon yoğunluğunun artışına bağlı olarak *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin gelişimleri daha geç ve vücut büyüklükleri daha küçük olduğu için bireylerin normal bireylere göre daha uzun yaşadıkları belirlenmiştir (Lints 1963). Bu çalışmaların aksine Graves and Mueller (1993) yaptıkları çalışmada, artan popülasyon yoğunluğunun ortamdaki besin miktarını azaltacağını bunun sonucunda ise fiziksel çevrenin değişeceğini ve hastalık gibi birçok faktörü etkileyeceğinden ömür uzunluğunun azalacağını belirtmişlerdir.

1.6.2.d. Işık

Fotoperiyodun *D. melanogaster*'in yumurta ve pupadan çıkış süresinde (Qiu and Hardin 1996), metabolik hızında (Lanciani *et al.* 1991) ve ömür uzunluğunda (Sheeba *et al.* 2000) etkili olduğu tespit edilmiştir. *D. melanogaster* ile yapılan çalışmalarda, sabit sıcaklıkta, aynı besin tipiyle beslenen, fakat farklı fotoperiyot şartlarına maruz kalan bireylerde, metabolik hızın farklı olduğu, genel olarak kısa gün şartlarına maruz kalanlarda metabolik hızın, uzun gün şartlarına maruz kalanlardan daha yüksek olduğu, dolayısıyla kısa gün şartlarında gelişmenin daha hızlı gerçekleştiği ifade edilmiştir (Lanciani *et al.* 1991). Farklı *Drosophila* türleri ile yapılan çalışmalarda, sürekli ışıklı ortamın ergin ömür uzunluğunu kısalttığı (Allemand *et al.* 1973; Klarsfeld and Rouyer 1998), buna karşın sürekli karanlık ortamda yaşatılan aynı türün erkeklerinde %20, dişilerinde ise %43'e varan oranlarda ömür uzunluğunun arttığı gözlenmiştir (Allemand *et al.* 1973; Bağcı ve Bozcuk 1991).

1.6.2.e. Sıcaklık

Böcekler soğukkanlı (Poikilothermal) canlılar olduklarından, çevresel sıcaklıktaki yükselme, onların metabolik aktivitesini, solunum hızını ve serbest radikal oluşumunu artırarak hücresel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya neden olmaktadır. Yani yaşamaya izin veren sıcaklık sınırları dışındaki sıcaklık artışı, canlıda ısı üretiminde ve oksijen harcanmasında artış meydana getirerek ömür uzunluğunu kısaltmaktadır (Sestini *et al.* 1991). Maynard Smith (1958) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı sıcaklıkların (20, 25, 30.5 ve 33°C) *D. subobscura*'nın ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmış ve sıcaklık arttıkça ömür uzunluğunun azaldığı saptanmıştır. Sestini *et al.* (1991) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu 19, 24 ve 29°C de çalışılmış ve ömür uzunluğunun sıcaklıkla ters orantılı olduğu belirlenmiştir. Yine Bağcı vd (1990) tarafından *D. melanogaster* ile yapılan bir çalışmada da minimum sıcaklık dalgalanmalarının ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bunun için besiyerine transfer sırasında etüvde tutulan ve dışarı çıkarılan bireylerin ömür uzunlukları karşılaştırıldığında, transfer sırasında 28°C'de ki etüvden 10 dakika için 20-

22°C'ye çıkarılan bireylerin daha uzun yaşadığı gözlenmiştir. Ayar *et al.* (2009) soğuk şokunun (-3°C'de) *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarında ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmış ve sonuç olarak hem Oregon R yabanıl hem de *Vestigial* mutant soylarının dişi ve erkek gruplarında artan uygulama sürelerine (1, 2 ve 3 saat) paralel olarak ortalama ömür uzunluklarının kısaldığını bildirmiştir. Yaptığı benzer bir çalışmada ise *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarına bu kez sıcak şoku uygulamış (39°C'de) ve her iki türde de artan uygulama sürelerine (1, 2 ve 3 saat) paralel olarak ortalama ömür uzunluklarının yine kısaldığını gözlemiştir (Ayar *et al.* 2012).

1.7. Çalışmalarımızda Kullanılan Bitkilere Ait Özellikler

1.7.1. *Salvia lavandulifolia* vahl.

Lamiaceae familyası içinde yer alan *Salvia* türleri veya cinsi dünyada yoğun olarak Amerika ve Güneybatı Asya'da yetişmektedir. Yurdumuzda ise Akdeniz başta olmak üzere neredeyse bütün bölgelerde 1-3350 metre yükseklikler arasında, özellikle eğimli yamaçlarda (Vural and Adıgüzel 1996), Haziran ve Ağustos ayları arasında yetişmektedir (Aksakal 2006). Ülkemizde bulunan bu cinse ait 87 türün %50,6'sı endemiktir (Hedge 1982). *Salvia* türlerinin tıbbi özelliklerine ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığına ilişkin ilk kayıtlara eski çağlardan kalma mezar ve anıtların süslü yazı ve resimlerinde rastlanmaktadır (Nakipoğlu ve Oğuz 1990). Latince "Salveo" kelimesi "kurtarmak", "iyileştirmek" anlamlarına geldiği için, bu cinse bu kelimeden türetilen "Salvia" ismi verilmiştir (Özdemir and Şenel 2001). *Salvia lavandulifolia* ekstraktları ve bileşenlerinin antikolinesteraz, antioksidant, yangı önleyici, östrojenik ve merkezi sinir sistemi baskılayıcı etkileri ile Alzheimer hastalığının tedavisinde başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (Perry *et al.* 2003). Şekil 1.7'de bu türün doğal hali verilmiştir.



Şekil 1.7. *Salvia lavandulifolia* vahl.

1.7.2. *Hypericum scabrum* L.

Hypericum scabrum L. (syn. *H. cymosum* Hochst; *H. galioides* Freyn ve Sint.) Guttiferae (Hypericaceae) familyasından çok yıllık, otsu bir bitkidir. Ülkemizde 750-3200 m arası yükseklikte, kayalık yamaçlarda yetişmekte ve Mayıs-Ağustos ayları arasında çiçek açmaktadır. *Hypericum* türleri Türkiye’de halk arasında kantaron, binbirdelik otu, kan otu, koyun kıran, kuzu kıran, kılıç otu, mayasıl otu, püren, sarı kantaron ve yara otu olarak bilinmektedir (Baytop 1994). Dünyada 360 türle temsil edilen *Hypericum* cinsi özellikle Akdeniz Havzası gibi ılıman iklimlerin hakim olduğu alanlarda yayılış göstermektedir (Şekil 1.8). Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika’da doğal olarak yetişmektedir (Martonfi *et al.* 2006).

Hypericum türlerinin kurutulmuş veya taze çiçekli dalları geleneksel tedavide pek çok hastalığın tedavisinde çeşitli şekillerde kullanılmaktadır (Medina *et al.* 2006). *H. scabrum*, antibakteriyel (Azırak and Erdoğan 2003), kas gevşetici, sakinleştirici, anti-inflamatuar (Tanker 1971) ve antibiyotik (Erdoğan *et al.* 2004) aktiviteleri ile önemli farmakolojik potansiyele sahiptir. Özbekistan’ın geleneksel tıbbi bitkilerinden biri olan *H. scabrum* mesane, bağırsak ve kalp rahatsızlıklarının tedavisinde, romatizma ve sistite karşı kullanılmaktadır (Tanaka *et al.* 2004).



Şekil 1.8. *Hypericum scabrum* L.

1.7.3. *Capsella bursa-pastoris* Medik.

Capsella bursa-pastoris (L.) Medik. ülkemizde çobançantası veya cıngıldaklıot olarak bilinen Cruciferae (Brassicaceae) familyasına ait kozmopolit bir bitkidir (Baytop 1999). Bu bitki Şekil 1.9'da doğal haliyle görülmektedir. Türkiye'nin her yerinde, her ortamda yetişebilen bu bitkinin çiçeklenme dönemi 1. ve 12. aylar arasındadır (Hedge 1965). *C. bursa-pastoris* Türkiye'de deniz seviyesinden 2000 metre (Davis 1965), Alp dağlarında ise 3000 metreye kadar olan yüksekliklerde doğal olarak yetişmektedir (Aksoy *et al.* 1998). Taze yaprakları salata olarak veya pişirilerek tüketilen *C. bursa-pastoris*, değişik tıbbi amaçlar ile de kullanılmaktadır. Avrupa devletleri ile Çin Halk Cumhuriyeti'nde demleme çay olarak göz hastalıklarında, dizanteriyi kontrol etmek, ateş düşürmek için ve diüretik olarak kullanıldığı bilinmektedir (Defelice 2001). Yine bu bitkilerin farelerde Ehrlich solid tümör gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir (Kuroda *et al.* 1976). Ayrıca yüzeysel olarak ve özellikle uterusu görülen kanamaların durdurulmasında da etkili olduğu bildirilmektedir (Vermathen and Glasl 1993).



Şekil 1.9. *Capsella bursa-pastoris* Medik

1.7.4. *Teucrium orientale* L.

Teucrium L. cinsi, Lamiaceae familyası içinde yer alan, çoğunluğu Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren ve dünyada 200 civarında türe sahip önemli bir cinstir. Halk arasında kirve otu, doğu yermişesi, doğu ipar yavşanı olarak bilinmektedir (Şekil 1.10). Kutuplardan Himalaya'lara kadar hemen hemen her habitat ve 0 ile 5100 m yükseklik aralığında yetişirler (Heywood 1978). *Teucrium* cinsinin Türkiye'de doğal olarak 32 türü bulunmaktadır. Bu bitkiler tek yıllık, çok yıllık otsu bitki ya da çalı formundadırlar (Davis 1988; Güner *et al.* 2000). 20 ile 40 cm arası boya sahip olan *Teucrium orientale* bitkisi volkanik alanlar, kireç taşlı yamaçlar ile bozkırlarda dağılış göstermektedir (Baytop 1999; Karahan and Yılmaz 2001) ve halk arasında *Teucrium* türleri 2000 yıldan daha uzun süredir tıbbi amaçlı bitkiler olarak kullanılmaktadır (Ulubelen *et al.* 1995; Bedir *et al.* 2003). Uçucu yağlarından elde edilen siklopentil aldehit türevleri farmakolojik etkilerinden dolayı enfeksiyon hastalıklarının yanı sıra saman nezlesi ve astım gibi alerjik hastalıkların tedavisinde de özel öneme sahiptir (Debat *et al.* 1979). Yine *T. orientale* bitkisinden elde edilen luteolin 7-*O*-rutinozid isimli antioksidanın son derece güçlü bir radikal süpürücü olduğu da bilinmektedir (Çakır *et al.* 2006).



Şekil 1.10. *Teucrium orientale* L.

Ülkemiz bitki çeşitliliği yönünden oldukça zengindir. Buna rağmen bitkilerin alternatif tıpta kullanımına dair çalışmalar oldukça az ve yetersizdir. Oysa tıbbi öneme sahip bitkiler, içeriklerindeki antioksidan özelliğe sahip bileşikler sayesinde canlılarda meydana gelen çeşitli hasarların ve hastalıkların tedavisinde kullanılabilmektedirler. Yıllardır çeşitli bitki ekstraktlarıyla insektisitlerin canlılar üzerinde oluşturmuş olduğu bazı hasarların giderilmesi çalışmaları yapılmaktadır. Özellikle nadir bulunan birçok bitki türünde mutajen ve karsinojen ajanları baskılayan maddelerin bulunduğu bilinmektedir (Bhattacharya 2011).

Örneğin; *Salvia lavandulifolia* (İspanyol ada çayı) ekstraktları ve bileşenlerinin antioksidant, yangı önleyici ve östrojenik özellikleri Perry *et al.* (2003) tarafından belirlenmiştir. Ramos *et al.* (2010) yaptıkları çalışmada, *Salvia* türlerinin sulu ekstraktlarında bulunan rosmarinik asit ile luteolin-7-glukozitin, oksidatif ajanlara maruz bırakılmış olan Caco-2 ve HeLa hücrelerini oksidatif DNA hasarına karşı koruduğunu ve DNA onarımını uyardığını vurgulamışlardır. Kardiovasküler hastalıkların tedavisi için kullanılan *Salvia miltiorrhiza* (Çin ada çayı) iyi bilinen geleneksel bir Çin tıp bitkisidir (Chen *et al.* 2001; Zhao *et al.* 2005). Ayrıca bazı *Salvia* türlerinin de antikanser, anti-inflamatuar ve antibakteriyel özelliğe sahip olduğunu

Ulubelen *et al.* (2001) yaptıkları çalışmalar ile gözlemişlerdir. *S. fruticosa* (Anadolu ada çayı) bitkisinin ise kan şekerini düşürücü (Gabriel 1996) etkisinin yanında gaz söktürücü, idrar arttırıcı ve yara iyileştirici olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Baytop 1984).

Mara *et al.* (2010) *Miconia* cinsine ait *M. stenostachya*, *M. cabucu* ve *M. abicans* ile yaptıkları çalışmada, bu bitki ekstraktlarının kemoterapide kullanılan doksorubisine bağlı olarak meydana gelen mutajeniteye karşı koruyucu etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir. *Urtica dioica* (ısırgan otu) ekstraktının ise serbest radikallere karşı görev yaparak vücudu zararlı etkilerden koruduğu görülmüştür (Kan *et al.* 2009). Hosseinnimehr *et al.* (2010) antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen *Zataria multiflora* bitkisinin fare kemik iliği hücrelerinde siklofosfamide bağlı genotoksisiteyi ve oksidatif stresi azalttığını vurgulamıştır.

Hypericum perforatum (sarı kantaron) ekstraktları günümüzde çoğunlukla antidepresan olarak bilinmektedir (Bombardelli and Morazzoni 1995). Bu kullanımının yanı sıra karaciğer hipertrofisi, akciğer enfeksiyonu ve yaralara karşı iyileştirici olarak da kullanılmaktadır (Newall *et al.* 1996). *Hypericum scabrum* (karahasançayı) bitkisinin de alternatif tıpta basur ve kabızlığa karşı kullanıldığı iyileştirici etkilerinin olduğu da belirlenmiştir (Baytop 1984).

Teucrium flavum (sarı yavşan) ve *T. montanum* (dağdalak) bitkileri Türkiye’de halk arasında ülser ve şeker hastalığını tedavi etmek ve obezite ile mücadele için (Zeybek ve Zeybek 1994; Ulubelen *et al.* 1995; Baytop 1999), *T. chamaedrys* (kısamahmut) bitkisi anti-romatizmal, idrar sökücü ve sindirim sistemine yardımcı bir ajan olarak tanımlanmıştır (Özel *et al.* 2006). Kumara Swamy *et al.* (2007), Hindistan’da *Embelia* cinsine ait bazı bitki türleri ile yaptığı çalışmada ise bu bitkilerin romatizma ve ateş gibi rahatsızlıkların giderilmesinde anti-inflamatuvar, meyvesinin tümör tedavisinde, yapraklarının da deri yaralanmalarında iyileştirici olarak kullanılabileceğini belirtmiştir.

Halk arasında kılıç otu, sarı civanperçemi veya sarıçiçek olarak bilinen *Achillea biebersteinii*, iştah açıcı özelliğinin yanı sıra astım ve kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca yapraklarının kanayan bölgedeki kanın durması için kullanıldığı da bilinmektedir (Baytop 1999). *Aloe vera* (tıbbi sarısabır) bitkisine ait ekstraktların yanık tedavisinde kullanıldığı, epitel doku oluşumunu ve iyileşmeyi hızlandırdığı belirlenmiştir (Maenthaisong *et al.* 2007). *Nigella sativa* (çörek otu) bitkisinin ise anti-tümör (Worthen *et al.* 1998), antioksidan (Burits and Bucar 2000) ve bağışıklık sistemini kuvvetlendirici etkilerinin olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Salem and Hossain 2000).

Bu çalışmanın ana hedeflerini şöyle özetleyebiliriz:

Son yıllarda insektisit piyasasında kullanımı hızla artan, özellikle tarımsal üretimde ve hasat sonrasında koruyucu olarak kullanılan, neonikotinoid sınıfına ait imidakloprid ile asetamiprid insektisitlerinin *D. melanogaster*'in erkek ve dişi popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğu üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. İnsektisitlere bağlı olarak ömür uzunluğunda gözlenebilecek olası negatif etkilerin biyokimyasal yönden de değerlendirilebilmesi için AChE aktivitesinde meydana gelebilecek değişikliklerde enzimatik olarak incelenecektir.

Ayrıca, çok eski yıllardan beri farmakolojide ve alternatif tıpta çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılan ve ülkemiz için kozmopolit olan *Salvia lavandulifolia*, *Hypericum scabrum*, *Capsella bursa-pastoris* ile *Teucrium orientale* bitkilerine ait su ekstraktlarının, bu insektisitlere karşı koruyucu etkilerinin tespit edilmesi de hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Deneysel çalışmalarımız iki aşamalı olarak yapılmıştır. Öncelikle İMİ ve ASE insektisitlerinin *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkileri ve bu etkilerin AChE ile olan ilişkisi belirlenmiştir. Daha sonra ise İMİ ve ASE insektisitleri ve çeşitli bitkisel ekstraktların etkileri birlikte incelenmiştir. Bu nedenle kaynak özetleri iki kısma ayrılmıştır. İnsektisitler ve farklı organizmalar arasındaki etkileşimler ile bitkisel ekstraktların canlılar üzerindeki etkileri ayrı ayrı olmak üzere kronolojik sırayla verilmiştir.

İnsektisitlerin çeşitli canlılar üzerindeki etkilerini belirlemek için yapılan çalışmaların bazıları şöyledir;

Zettler and Lecato (1974), diklorvos ve malation insektisitlerinin subletal dozlarının *Attagenus megatoma* (halı böceği)'da ömür uzunluğunu kısalttığını, ovulasyon süresini ve üreme sistemini olumsuz etkilediğini tespit etmişlerdir.

Fitzpatrick and Dowell (1981), Hemiptera takımına ait *Aleurocanthus woglumi*'ye 14 farklı insektisit uygulamış ve bu böceğin Hymenoptera takımına ait olan parazitoidleri *Amitus hesperidum* ve *Prospaltella opulenta*'da bütün insektisitlerin yumurta açılımını ve ömür uzunluğunu azalttığını bulmuşlardır.

Hsieh and Allen (1986), asetat, metomil ve permetrin gibi insektisitlerin *Myzus persicae* (yaprak biti)'da ergin bireylerin yaşam sürelerini kısalttığını belirtmişlerdir.

Bhunya and Pati (1990), 10, 15 ve 20 mg/kg deltametrinin intraperitoneal (i.p.) olarak 24, 30 ve 35 saat boyunca uygulanmasının albino farelerde, sperm anormallikleri ile kemik iliğinde kromozom anormallikleri ve mikronükleus oranlarını önemli derecede artırdığını bildirmişlerdir.

Beckage *et al.* (1988), bir Hymenopter olan *Cotesia congregata* üzerinde yaptıkları çalışmada, 10 µg azadiraktini 4. evre larvaya enjekte ettiklerinde, deri değiştirmenin baskılandığını ve %100 ölümün gerçekleştiğini belirlemişlerdir.

Robert and Olson (1989) tarafından subletal dozda metopren ve malation, Diptera takımına ait *Culex quinquefasciatus*'un 4. evre dişi larvalarına uygulanmış ve ergin böceklerde ömür uzunluğu, yumurta verimi ve yumurta açılımının azaldığı belirlenmiştir.

Özkan and Emre (1997), organofosforlu bir insektisit olan malationla yaptıkları çalışmada, *Pimpla turionellae*'da (Hymenoptera: Ichneumonidae) 0.05 ve 0.01 ppm'lik malation konsantrasyonlarında yaşam süresi ve yumurta veriminin önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir.

Stapel *et al.* (2000), tarafından yapılan bir çalışmada, Amerika Birleşik Devletlerindeki pamuk ekim alanlarında İMİ'nin düzenli olarak kullanılması ile bir Hymenopter olan *Microplitis croceipes* dişilerinde ömür uzunluğu ve konak arama yeteneğinin azaldığı gözlenmiştir.

Çakır ve Sarıkaya (2004)'ya göre, danizinon, diklorvos, metil paration ve azametifos gibi insektisitler, *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğunu azaltmakta ve yüksek oranda mortaliteye neden olmaktadır.

Ruiu *et al.* (2008), *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) ile yaptıkları çalışmada, ergin parazitoidlerin azadiraktin içeren besinle beslenmesi sonucu ömür uzunluklarının erkek bireylerde %25,1 dişi bireylerde ise %15,7 oranında kısaldığını belirtmişlerdir.

Wakil *et al.* (2008), tarafından yapılan bir çalışmada, %5 azadiraktin ile 72 saat beslenen *Helicoverpa armigera* (yeşil kurt) larvalarında 2. larval evrede %50, 4. larval evrede ise %40 oranında ölüm meydana geldiği gözlenmiştir.

Literatür taramaları sırasında, insektisitler ve asetilkolinesteraz enzimi arasındaki ilişkinin belirlenmesi için yapılan çalışmaların son derece sınırlı olduğu belirlenmiştir. Konuyla ilgili olarak farklı organizmalar ile yapılan çalışmalardan bazılarına ait özet bilgiler şöyledir;

Das and Mukherjee (2000), sazan balığına (*Labeo rohita*) 15, 30 ve 45 gün süre ile spermetrin uygulanması sonucunda, canlının beyin dokusunda uygulama süresine bağlı olarak AChE enzim aktivitesinin azaldığını gözlemişlerdir. Özellikle 45 günlük uygulama sonucunda bu enzimin aktivitesi 15 ve 30 günlük uygulamalara göre önemli derecede azalmıştır.

Fernández-Vega *et al.* (2002), yılan balığına (*Anguilla anguilla*) 96 saat süre ile 0.22 ppm tiyobenkarb uygulamışlar ve beyin dokusunda AChE aktivitesinin 2. saatten itibaren azaldığı ve toplamda %20 inhibisyona uğradığını belirtmişlerdir. Ancak depurasyon (tekrar temiz suya bırakılma) süresinde AChE aktivitesinde inhibisyon gözlenmemiş tam aksine enzim aktivitesinde artma meydana gelmiştir.

Capowiez *et al.* (2003), tarafından yapılan çalışmada, subakut olarak uygulanan İMİ'nin etkisindeki 2 farklı toprak solucanı türünde (*Aporrectodea nocturna* ve *Allolobophora icterica*) AChE aktivitesinin değişmediği belirtilmiştir.

Chang *et al.* (2006), yaptığı bir çalışmada, tatlı su karidesi olan *Macrobrachium rosenbergii*'yi triklorfonun 0.2 ve 0.4 mg l⁻¹ dozlarına 24 saat süreyle maruz bırakarak hemolenf ve hepatopankreas dokularında AChE enzim aktivitesi değişimini gözlemişlerdir. Triklorfonun 0.2 ve 0.4 mg l⁻¹ dozları hemolenf ve hepatopankreas uygulama gruplarında enzim aktivitesini düşürmüştür.

Abou-Donia *et al.* (2008), Sprague-Dawley sıçanına gebeliğinin 9. gününde i.p. olarak İMİ uygulaması yapmışlardır. Bu bireylerden doğan 30 günlük Sprague-Dawley sıçan yavrularının beyin dokusunda AChE enzim aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Beyin dokusunda AChE enzim aktivitesinin artmasının, ACh miktarının dolayısıyla optimal

nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) işlevlerinin azalmasından kaynaklanan nörotoksik etkilere katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir.

Dondero *et al.* (2010), bir çeşit midye olan *Mytilus galloprovincialis*'in solungaç dokusunda, İMİ uygulamasının sonucunda AChE enzim aktivitesinin azaldığını, tiakloprid (THİ) kullanımının ya da her iki neonikotinoid'in (İMİ+THİ) aynı anda kullanımının ise AChE enzim aktivitesini artırdığını gözlemiştir.

Moraes *et al.* (2011), sazan balığının (*Cyprinus carpio*) yaşam ortamına 7, 30 ve 90 gün boyunca bir herbisit çeşidi olan imazetapir eklemiş ve canlının beyin, kas ve karaciğer dokularında AChE enzim aktivitesindeki değişimleri araştırmışlardır. 7. günün sonunda, beyinde AChE aktivitesinin arttığını, kas dokusunda ise önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. 30. günün sonunda ise beyinde AChE aktivitesi azalırken, kas dokusunda artış olmuştur. 90. günün sonunda da yine kas dokusunda AChE aktivitesinin azaldığı görülmüştür.

Çeşitli bitkisel ekstraktlar kullanılarak yapılan çalışmalardan bazıları da şöyledir;

Kuroda *et al.* (1976) yaptıkları çalışmada, *C. bursa-pastoris* bitkisine ait ekstraktların farelerde Ehrlich solid tümör gelişimini inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Hypericum cinsine ait bitkiler ile yapılan çalışmalarda, ovaryum kanseri, mide kanseri, lenfosit tümörü ve çeşitli karsinomların etkili bir şekilde tedavi edildiği gözlenmiştir (Duke 1985).

Baytop'a göre (1999), erkurtaran, kısa mahmut, dalak otu, kumacı otu, meşecik, yermeşesi ve yerpalamudu olarak bilinen *Teucrium chamaedrys* L. bitkisinin gövde, yaprak ve çiçek kısımları kaynatılıp suyu içilebilmektedir. Bu bitkinin halk arasında tıbbi olarak romatizma ve karın ağrısı şikâyetlerinde yatıştırıcı olarak kullanıldığı da bilinmektedir.

Hunt *et al.* (2001), *Hypericum perforatum* (sarı kantaron) ekstraktının antioksidan etkisini değerlendirmek amacıyla insan plasenta damar dokusu kullanmışlar ve bu bitkinin insan plasenta damar dokusunda serbest radikal üretimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

Rasekh *et al.* (2001) yaptıkları çalışmada, *Teucrium polium* (mayasıl otu)'un su ekstraktının hiperlipidemik ratlarda kolesterol ve trigliserit serum seviyelerini önemli derecede düşürdüğünü göstermişlerdir.

Çakır *et al.* (2003), *Hypericum hyssopifolium* (binbirdelikotu)'un metanol ekstraktlarında bulunan hiperisin, I3, II8 biapigenin, kuarsetin flavonoidleri ve kuarsetin glikozidlerinin güçlü antioksidan aktivite gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada, *H. hyssopifolium*'a ait tüm ekstraktların güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu ve 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikallerini giderme aktivitesinin yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Orhan *et al.* (2004), tarafından 21 çeşit tıbbi bitkinin kloroform: metanol (1:1) ekstraktlarının hem asetilkolinesteraz hem de bütirilkolinesteraz enzimleri üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Bu *in vitro* çalışmada, tıbbi bitkilerden bazılarının %inhibisyon oranlarını önemli ölçüde değiştirdiği görülmüştür. Özellikle Ericaceae (Fundagiller) familyasındaki bazı bitkilerin asetilkolinesterazı, Fumariaceae (Şahtereotugiller) ve Caesalpiniaceae familyasındaki bazı bitkilerin ise bütirilkolinesterazı kuvvetle inhibe ettikleri belirlenmiştir.

Savelev *et al.* (2004) yaptıkları çalışmada, *S. fruticosa* (Anadolu ada çayı)'dan elde edilen yağın insanlarda kolinesteraz enzimini zamana ve doza bağlı olarak inhibe ettiğini ve nörotoksik etki oluşturduğunu saptamışlardır.

Panovska *et al.* (2005), bir *Teucrium* türü olan *T. montanum* L. (yermeşesi) ile yaptıkları çalışmada, bitkinin serbest radikal giderici, hidroksi radikal giderici ve *in vitro*

antioksidan kapasitesinin olduğunu ve bu bitkiye ait ekstraktların doğal antioksidan olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Salehi *et al.* (2005) tarafından, *Ziziphora clinopodioides* (kekik, catır) bitkisinin metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ve radikal süpürücü etkisi incelenmiş ve bu bitkiye ait ekstraktın güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit edilmiştir.

Çakır *et al.* (2006), *Teucrium orientale* (kirve otu) bitkisinden izole edilen ve bir flavonoit olan luteolin 7-*O*-rutinozit isimli antioksidanın son derece güçlü bir radikal süpürücü olduğunu bildirmişlerdir.

Nino *et al.* (2006), Kolombiya florasında bulunan bazı bitkilerin ham ekstraktlarının asetilkolinesteraz enzimi üzerine *in vitro* inhibisyon etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışma için, *Asteraceae* (Papatyagiller), *Euphorbiaceae* (Sütlegengiller), *Rubiaceae* (Kökboyagiller) ve *Solanaceae* (Patlıcangiller) familyasından yirmiyedi çeşit bitki kullanılmıştır. Sonuç olarak en iyi inhibisyona sahip bitkilerin *Solanaceae* familyasından *Solanum lycocarpum* ve *Witheringia coccoloboides* türlerine ait ekstraktlar olduğu bulunmuştur.

Devi *et al.* (2007), gastrik ülser oluşturulmuş ratlara uygulanan *Terminalia arjuna* ekstraktının ülser yarasının iyileşmesinde etkili olduğunu ve bu iyileşmenin de hücrelerde biriken serbest radikallerin süpürülmesi suretiyle olduğunu belirtmişlerdir.

Gachkar *et al.* (2007), *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye) bitkisinin antioksidan, antiviral ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir.

Kampkötter *et al.* (2007), *Ginkgo biloba* (Japon eriği) EGb761 ekstraktının bir tür nematod olan *Caenorhabditis elegans*'ın ömür uzunluğu üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalarında, bitki ekstraktının oksidatif strese direnci artırarak *C. elegans*'ın ortalama ömrünü %10 oranında uzattığını gözlemişlerdir.

Yine *Salvia officinalis* (tıbbi ada çayı), *Sideritis perfoliata* (fincan çayı), *Satureja thymbra* (Halil İbrahim zahteri), *Laurus nobilis* (Akdeniz defnesi) ve *Pistacia palestina* (*Filistin sakızı*) bitkilerine ait ekstraktların, insanda tümör hücrelerinin gelişmesini engellediği belirlenmiştir (Loizzo *et al.* 2007).

Mukherjee *et al.* (2007) yaptıkları çalışmada; Acanthaceae (Ayıpençesigiller), Apocynaceae (Zakkumgiller), Amaryllidaceae (Nergisgiller), Angelicae, Araceae (Yılanyastığıgiller), Berberidaceae (Karamukgiller), Buxaceae (Şimşirgiller), Compositae (Bileşikgiller), Coniferae (Kozalakgiller), Cyperaceae (Hasırotugiller), Ericaceae (Fundagiller), Euphorbiaceae (Sütlegengiller), Fumariaceae (Şahtereotugiller), Gentianaceae (Gentiyağiller), Guttiferae (Binbirdelikotugiller), Lamiaceae (Ballıbabagiller), Leguminosae (Baklagiller), Liliaceae (Zambakgiller), Lycopodiaceae (Kibritotugiller), Malvaceae (Ebegümeçigiller), Magnoliaceae (Manolyagiller), Molluginaceae (Halıotugiller), Moraceae (Dutgiller), Musaceae (Muzgiller), Papaveraceae (Haşhaşgiller), Piperaceae (Karabibergiller), Rubiaceae (Kökboyagiller), Rutaceae (Sedefotugiller), Sapotaceae, Solanaceae (Patlıcangiller) ve Tamaricaceae (İlgıngiller) familyalarına mensup bitkilerin potansiyel AChE enzimi inhibitörleri olduğunu belirtmişlerdir.

Matkowski *et al.* (2008) yaptıkları araştırmada, *Salvia miltiorrhiza*, *S. verticillata* ve *S. przewalskii* gibi farklı ada çayı türlerinin köklerinden ve yapraklarından metanol ile elde ettikleri ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini incelemişler ve *S. przewalskii*'nin yaprak ekstraktının en güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Eidi and Eidi (2009) ise *S. officinalis* yapraklarının, normal ve diyabetik fareler üzerine antidiyabetik etkisini araştırmışlardır. Yapraklardan hazırlanan etanol ekstraktı, diyabetik farelerde serum glikoz, trigliserit, toplam kolesterol, üre, ürik asit, kreatin, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ile insülin plazmasının azalmasına neden olurken normal farelerde herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir.

Uysal vd (2009), *Lobaria pulmonaria* likeninden elde edilen metanol, kloroform ve su ekstraktlarının *D. melanogaster*'in erkek ve dişi popülasyonlarının ömür uzunluğu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda, *L. pulmonaria*'nın metanol, kloroform ve su ekstraktlarına maruz bırakılan her iki popülasyonda da ömür uzunluğunun konsantrasyon artışına paralel olarak arttığı gözlenmiştir. Metanol ekstraktının kloroform ve su ekstraktına göre daha etkili olduğu, su ekstraktının ise metanol ve kloroform ekstraktlarına göre daha az etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Ramos *et al.* (2010) *S. officinalis* (SO), *S. fruticosa* (SF) ve *S. lavandulifolia* (SL) ekstraktlarının ve bunların temel bileşenleri olan rosmarinikasit (RA) ve luteolin-7-glukozidin (L-7-G) oksidatif ajanlara maruz bırakılmış Caco-2 ve HeLa hücre DNA'larının korunması ve Caco-2 hücre DNA'sının onarılması üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak SO, SF ve SL bileşenlerinin (RA ve L-7-G) hücreleri oksidatif DNA hasarlarına karşı koruduğu ve DNA onarımını uyardığı belirlenmiştir.

Uysal *et al.* (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, *Echium amoenum* (engerek otu)'un metanol ekstraktlarının etil metansülfonat (EMS)'in genotoksik etkilerini azalttığı gözlenmiştir.

Kızılet *et al.* (2013), *D. melanogaster*'e EMS uygulamasından sonra oluşan genotoksik hasarın, *Rosa canina* (kuşburnu) bitkisine ait etanol ekstraktı tarafından giderildiğini tespit etmişlerdir.

Kasımoğlu and Uysal (2014) tarafından yapılan bir çalışmada da insan lenfosit hücrelerine uygulanan sipermetrin ve fenvalerat insektisitlerinin oluşturduğu genotoksik hasarın yine *Rosa canina* bitkisine ait su ve etanol ekstraktları ile giderildiğini belirtmişlerdir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan organizma

Drosophila hayvanlar âleminin insecta sınıfına dâhil olan Diptera takımının Drosophilidae familyası (sirke sinekleri) içinde yer alır. Dört çift kromozomu bulunan ve tam başkalaşım geçiren *Drosophila* embriyo, larva, pupa, prepupa ve ergin olmak üzere beş farklı hayat evresine sahiptir. İlk olarak 1910 yılında Thomas Morgan tarafından genetik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır. *D. melanogaster*, sitogenetik, popülasyon genetiği gibi genetiğin çeşitli alt dallarında, moleküler genetik ve hatta gen mühendisliği gibi moleküler biyoloji dallarında da en çok kullanılan organizmalardandır (Çakır ve Sarıkaya 2004).

Drosophila'da bütün böceklerde olduğu gibi vücut baş (kaput), göğüs (toraks) ve karın (abdomen) olmak üzere üç kısma ayrılır. Baş ve toraks duyu organı olarak görev yapan kıllarla kaplıdır. Altı segmentten oluşan başın iki yanında petek gözler, tepesinde üç tane basit göz ile iki anten bulunur. Toraks üç segmentten oluşur ve her segmentte bir çift bacak bulunur. İkinci segmentte bir çift kanat yer alırken üçüncü segmentteki kanatlar körelmiş ve bunlar halter organına dönüşmüştür. Abdomen dişi ve erkek bireylerde farklılık göstermektedir. Dişi bireylerin abdomeninin ucu uzun ve sivri, erkek bireylerinki daha kısa, yuvarlak (küt) ve siyahtır. Bu özellikler cinsiyetin belirlenmesinde yeterlidir ancak çok genç erkeklerde, abdomendeki pigmentasyon yoğunlaşmadığından dişi birey seçiminde hatalar olabilir. Cinsiyetin tam olarak anlaşılması için erkeklerin birinci çift bacağındaki, eşey tarağı olarak adlandırılan koyu renkli sıra sıra kıllar karakteristiktir. Dişilerde böyle bir yapı bulunmaz (Uysal vd 2006).

Çalışmalarımızda, *Drosophila melanogaster*'in (Diptera: Drosophilidae) Oregon R yabanıl türü kullanılmıştır. Bu soylar, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji

Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda uzun yıllardan bu yana kendileştirmek suretiyle yaşıatılmaktadırlar. *D. melanogaster* Oregon R (Meigen. 1830) soyu normal, yuvarlak-kırmızı gözlü ve herhangi bir mutant karakter taşımayan yabancı tip (w.t.= wild type) soyudur.

Uzun yıllardan beri genetik çalışmalarda *Drosophila*'nın tercih edilmesini sağlayan ve diğer organizmalara üstün kılan birçok özelliğinden bazıları ise aşağıda verilmektedir (Uysal vd 2006).

- 1) *Drosophila* birçok doğal ya da yapay varyasyonların gözlenebildiği bir organizmadır. Mutant bireylerde kıl tipi, göz şekli, göz rengi, vücut rengi kanat şekli gibi farklı fenotipik özellikleri görebilmek mümkündür. Bu tip zıt karakterleri çıplak gözle ya da binoküler mikroskop altında incelemek oldukça kolaydır.
- 2) *Drosophila*'nın hayat devri çok kısadır. Yumurtadan çıktıktan sonra $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ve %40-60 bağıl nemde yaklaşık 9-10 günde ergine gelişip üremeye başlar.
- 3) Bir dişi birey günde ortalama 40-50 yumurta bırakır. 10 günlük bir gelişim süresinde yaklaşık 400-500 yumurta bırakması *Drosophila*'nın genetiksel özellikleriyle ilgili bilginin doğru belirlenmesi ve sonuçların güvenilirliği açısından da oldukça önemlidir.
- 4) Laboratuvarında kültürleri kolaylıkla yapılabilir ve besinlerin maliyeti ucuzdur.
- 5) Az sayıda ve kolay incelenebilen kromozom yapısına sahiptir. Üçüncü evre larvalarının tükürük bezlerinde dev kromozomların bulunması kromozom haritaları ve kromozom fonksiyon analizlerinin yapılmasını sağlar.
- 6) Arı döl olarak saklanabildikleri gibi kontrollü çaprazlamaların (araştırmacının kontrolü altında belli özellikleri taşıyan organizmaların çaprazlanması) yapılabildiği en uygun organizmalardan biridir. Çaprazlamanın özelliğine bağlı olarak özel ata soylar seçilip eşleşmeleri sağlanır ve elde edilen bireyler birkaç nesil kaydedilir. Kaydedilen veriler sonucu ile araştırılan özelliğin kalıtımı hakkında bilgi edinilir.
- 7) Sinekler basit düzenekler hazırlanarak eterle ya da karbondioksit düzeneği ile kolayca bayıltılabilir. Yukarıda belirtilen özellikler bakımından *Drosophila*, genetik araştırmalar için ideal bir organizmadır.

3.1.2. *Drosophila melanogaster*'in sistematigi

Şube: Arthropoda (=Eklem bacaklılar)

Alt Şube: Mandibulata-Antennata

Sınıf: Insecta-Hexapoda (=Böcekler-Altı bacaklılar)

Alt Sınıf: Pterygota (=Kanatlı böcekler)

Üst Takım: Mecopteroidea-Panorpoidea (=Uzun kanatlılar)

Takım: Diptera (= Çift kanatlılar)

Alt Takım: Brachycera (=Sinekler-Kısa antenliler)

Aile: Drosophilidae (=Sirke sinekleri-Meyve sinekleri)

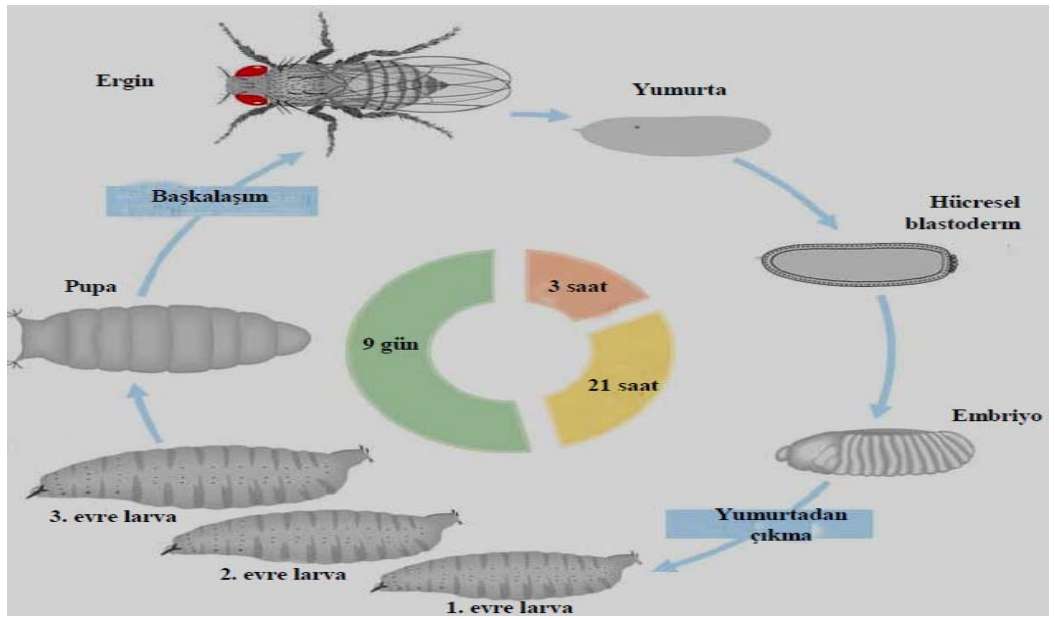
Cins: *Drosophila*

Tür: *Drosophila melanogaster*

3.1.3. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü

D. melanogaster'de gelişim tam başkalaşım (holometabol) şeklindedir. Ergin olmadan önce *D. melanogaster* embriyosu sırasıyla üç larva, prepupa, pupa evreleri geçirir. Larval gelişim sırasında gömlek değiştirme olarak adlandırılan, kütikül tabakasının iki kez yenilenmesi larval yaşamı üç evreye ayırır. İki deri değiştirme arasındaki periyoda “instar (evre)” denir. Böylece larval yaşamda yumurtadan çıkış ile ilk deri değiştirme birinci evre, ilk deri değiştirme ile ikinci deri değiştirme arası ikinci evre ve ikinci deri değiştirmeden sonra prepupaya kadar üçüncü evre olarak adlandırılmaktadır. Bu evrelerin süreleri; birinci evre için 1 gün, ikinci evre için 1 gün ve üçüncü evre için 2-3 gündür. İkinci deri değiştirmede larvanın boyu 4-4,5 mm uzunluğundadır. Bu evrede larvanın şeffaf olan vücut duvarından bağırsak ve gonad gibi organlar görülebilir (Pandey *et al.* 1995; Uysal vd 2006). Üçüncü evre larvaları ise beslenmelerini tamamlayıp besiyerini terk eder ve bulunduğu kabın kuru yerine geçerler. Bu evre prepupal dönemdir ve larvalar bulundukları kültür şişesinin kenarlarına tırmanır. Bu aşamada ektizon hormonunun artışıyla kendilerini çevreleyen kütikül sertleşir ve bulundukları yerde sabitleşerek pupa dönemine geçmiş olurlar. İlk başta beyaz olan

pupa iki saat sonra sarı-kahverengi alır. Pupa aşamasında bir erginin organları ve vücut formuna sahip bir bireyin gelişmesi için gerekli dönüşümler gerçekleşir. Bu gelişme $25\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık ve %40-60 bağıl nemde 4-5 günde tamamlanır. Gelişimin tamamlanması ile pupanın rengi koyulaşır, kıvrılmış durumda olan kanatlar iki koyu eliptik yapı olarak görülebilir ve göz pigmentleri belirginleşir. Ergin, pupa kılıfının anteriorunu delerek dışa çıkar (Uysal vd 2006).



Şekil 3.1. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü (Morgan 2007)

Pupadan yeni çıkan ergin bireyler açık renkli, pigmentsiz ve uzun vücutludur. Fakat bir kaç saat içinde pigmentasyon gerçekleşir ve koyulaşırlar. Aynı zamanda başlangıçta kırışık olan kanatları açılarak normal ergin görünümünü alırlar. Erkek bireyler bir iki saat içinde eşeysel olgunluğa ulaşırken, dişi bireyler 3,5-4,0 saat sonra eşeysel olgunluğa erişirler ve çiftleşme yani döllenme olmaksızın yumurta bırakabilirler. Ancak döllenmemiş yumurtalar açılmaz (McMillan *et al.* 1970). Ergin bireylerde vücut baş (kaput), göğüs (toraks) ve karın (abdomen) olmak üzere üç kısma ayrılır. Baş ve toraks duyu organı olarak görev yapan kıllarla kaplıdır. Altı segmentten oluşan başın iki yanında petek gözler, tepesinde üç tane basit göz ile iki anten bulunur. Toraks üç segmentten oluşur ve her segmentte bir çift bacak bulunur. İkinci segmentte bir çift kanat yer alırken üçüncü segmentteki kanatlar körelmiş ve bunlar halter organına

dönüşmüştür. Abdomen dişi ve erkek bireylerde farklılık göstermektedir. Dişi bireylerin abdomeninin ucu uzun ve sivri, erkek bireylerinki daha kısa, yuvarlak (küt) ve siyahtır. Bu özellikler cinsiyetin belirlenmesinde yeterlidir ancak çok genç erkeklerde, abdomendeki pigmentasyon yoğunlaşmadığından dişi birey seçiminde hatalar olabilir. Cinsiyetin tam olarak anlaşılması için erkeklerin birinci çift bacağındaki, eşey tarağı olarak adlandırılan koyu renkli sıra sıra kıllar karakteristiktir (Uysal vd 2006).

3.1.4. Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmalarımızda kullanılan imidakloprid, asetamiprid, dietil eter, dimetil sülfoksit (DMSO), propiyonikasit, asetiltiyokolin iyodat, sodyum sitrat, sodyum fosfat dibazik, trihidroksimetil aminometan, hidroklorik asit, 5,5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit, etilendiamin tetraasetik asit (Sigma, St. Louis, MO), hazır besiyeri (Carolina) ve bacto-agar (Difco) kullanılmıştır. Kafa homejenatlarının hazırlanması için kullanılan sıvı azot ise Atatürk Üniversitesi, Kimya Bölümü'nden temin edilmiştir.

3.1.5. Yararlanılan alet ve cihazlar

Çalışmalar esnasında aşağıdaki alet ve cihazlardan yararlanılmıştır.

Spektrofotometre	: Beckman Coulter DU730 (Optimum-one/UV-VIS)
Hassas terazi	: KERN ABJ 220-4M
Otomatik pipet	: Eppendorf
Manyetik karıştırıcı	: Wisestir MSH-20A
Saf su cihazı	: GFL 2001-4
Buzdolabı	: Vestel IDEA 465 A NF
Derin dondurucu (-20°C)	: Uğur Freezer
Derin dondurucu (-85°C)	: Sanyo Ultra Low
Liyofilizatör	: Labconco 117
Etüv	: Binder Etüv RE 53
Soğutmalı santrifüj	: Hettich zentrifugen mikro 220R

Pastör fırını	: redLINE RF 115 (230V)
Kuarz küvet	: Semi Micro Quartz Cuvette 10mm Pathlength
Mikrosantrifüj tüpü	: 2 ml'lik Ependorf tüpü,
Binoküler mikroskop	: Leica

3.2. Yöntem

3.2.1. Besiyeri hazırlama

Laboratuvar stok kültürleri Standart *Drosophila* Besiyeri'nde (SDB) tutulmaktadır. SDB hazırlamak için gereken malzemeler; 9 g agar, 60 g toz şeker, 19 g bira mayası, 50 g mısır unu, 565 cc saf su ve 3-3,5 cc propionik asittir. 440 cc saf su temiz bir beherde kaynatılır. Kaynamaya başlayan saf suya önce 9 g agar, daha sonra 60 g şeker ilave edilip bir cam baget yardımıyla iyice karıştırılır. Bir başka beher içinde 125 cc saf suda 50 g mısır unu ve 19 g bira mayası ezilir. Karıştırılarak ezilen bu karışım kaynayan şeker-agar karışımına ilave edilerek karıştırmaya devam edilir. Karışım kaynamaya başladıktan sonra karıştırma işlemine 15 dk daha kısık ateşte devam edilmelidir. Bu safhada karışımın kıvamına dikkat etmek gerekir. Eğer karışım çok sıvı olursa besin ortamı soğuduğu zaman katılaşmayacak ve sinekler besin ortamına yapışacaktır. Karışım çok fazla katılaşırse hem şişelere doldurmak hem de sineklerin beslenmesi güçleşecektir. Bu durumlar göz önüne alınarak hazırlanan besin ortamı ateşten indirilir. Karışım biraz soğuduktan sonra küf inhibitörü olarak kullanılan 3-3,5 cc propionik asit ilave edilip hazırlanan besin ortamı henüz sıcakken sterilizatörden çıkarılmış steril olan 250 ml'lik kültür şişelerine dökülür. Son olarak üzerleri temiz kurutma kâğıtlarıyla kapatılarak bir gün oda sıcaklığında soğumaları için bekletilir. Besiyerleri soğuyup katılaştığında kültür şişelerinin ağzları steril sünger veya gazlı bezden yapılmış tıkaçlarla kapatılıp. Kullanılincaya kadar buzdolabında saklanır.

3.2.2. Bayıltma yöntemi

Drosophila'lar, negatif geotropik (yerçekiminin tersine) ve pozitif fototropik (ışığa doğru) yönelim (davranış) gösterdiklerinden eterize edilirler. Deneylerimizde ekonomik oluşu ve çalışma kolaylığı nedeniyle dietil eter kullanılmıştır. Bayıltma işlemi için basit bir düzenek hazırlanmıştır. Cam kroze, içinde bir miktar eter bulunan erlen mayer içine yerleştirilmiş ve krozenin ağzı bir petri kabı ile kapatılmıştır. Krozenin tabanında bulunan torf gözeneklidir ve bu sayede eter krozenin içine buharlaşır. Krozenin gövdesinde bulunan sinekler bu şekilde bayıltılmış olur. Sineklerin bayıldığı görüldüğü andan itibaren hemen sayımlar yapılmalı ve sinekler etere fazla süre maruz bırakılmamalıdır. Bayıltma (eterizasyon) işlemi, ana-baba stoklarının kurulması ve uygulama gruplarının oluşturulması için kullanılmıştır. Ömür uzunluğu deneylerindeki transfer işlemleri sırasında eterizasyon yapılmamıştır.

3.2.3. Deneylerde kullanılan bitkilerin toplanması

Lamiaceae familyasından *Salvia lavandulifolia* Vahl. (adaçayı), *Teucrium orientale* L. (mayasilotu) ve Guttiferae familyasından *Hypericum scabrum* L. (binbirdelik otu) bitkileri Erzurum ili Palandöken Dağı'ndan (yaklaşık olarak 2250 metre yükseklikten), Brassiceae familyasından *Capsella bursa-pastoris* L. Medik. (çoban çantası) bitkisi ise Atatürk Üniversitesi Kampüsü'nden (yaklaşık olarak 1950 metre yükseklikten) 2013 yılı Temmuz ayı içinde toplanmıştır.

Bitkinin teşhisi Bölümümüz öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Meryem Şengül tarafından yapılmıştır.

3.2.4 Bitkilerin ekstraksiyonu

S. lavandulifolia, *H. scabrum*, *C. bursa-pastoris* ve *Teucrium orientale* örnekleri direk ışık görmeyen serin ve temiz bir ortamda kurutulup öğütülmüştür. Her bitkiden ayrı ayrı 100 gram öğütülmüş bitki kuruşu tartılıp 24 saat boyunca 70–80°C'deki su banyosunda

bekletilmiştir. Süzgeç kâğıdı ile süzülen çözeltilerde kalan su da liyofilizatör yardımı ile uzaklaştırılarak bitkilere ait su ekstraktları elde edilmiştir (Çakır *et al.* 2003).

3.2.5. *D. melanogaster*'in ergin bireylerine ait kafa homojenatlarının hazırlanması

-80°C'de dondurulmuş sinek kafaları sıvı azot içeren havana alınıp ezilmiştir. Ortalama kafaların gramı başına 10 ml %0,5 Triton X-100 içeren 0,1 M fosfat tamponu (pH:7,4) eklenip +4°C'de 13 000 rpm hızda 15 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant enzim kaynağı olarak kullanılmak üzere temiz bir tüpe alınmıştır (Hsiao *et al.* 2004).

3.2.6. Enzim aktivite ölçümü

AChE aktivite ölçümü için Ellman yöntemi (Ellman *et al.* 1961) kullanılmıştır. Bu yöntemde, kullanılan asetiltiyokolin iyodat'ın AChE enzimi ile tepkimeye girmesi sonucu tiyokolin ve asetat oluşmaktadır. Oluşan tiyokolin de, 5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile reaksiyona girerek sarı renkli bir bileşik oluşturur. Yöntemin prensibi bu sarı rengin 412 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır. Aktivite yönteminde kullanılacak çözeltiler ve miktarları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Aktivite ölçümü

Çözeltiler	1.küvet (Kör)	2.küvet (Örnek)
Saf su	800 µl	750 µl
1M tris-HCl (5mM EDTA, pH: 8,0)	100 µl	100 µl
0,5 mM DTNB (%1'lik Na-sitrat içinde)	50 µl	50 µl
Enzim çözeltilisi	50 µl	50 µl
10 mM Asetiltiyokolin iyodat	-	50 µl
Toplam	1000 µl	1000 µl

Aktivite ölçümü için her bir küvete Çizelge 3.1’de belirtilen miktarlarda çözeltiler pipetlenmiş ve absorbans değişimi 412 nm’de 5 dakika boyunca köre karşı ölçülmüştür. Sonra dakika başına aktivite hesaplamaları için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$E\ddot{U} = \frac{\Delta OD}{13,6} \times \frac{Vc}{Ve} \times f$$

Formülde yer alan kısaltmaların açılımları da şöyledir;

EÜ = ml başına enzim ünitesi

ΔOD = 412 nm’de optik dansitenin dakika başına değişimi

Vc = Küvetteki çözeltilerin son hacmi

Ve = Küvetteki saf enzim çözeltisinin hacmi

f = Seyreltme faktörü

13.6 = Asetiltiyokolin iyodat için molar absorbtivite kat sayısı

3.2.7. Ergin sineklerin toplanması

Ömür uzunluğu ve enzim aktivitesi deneylerinde kullandığımız bütün sinekler, *D. melanogaster*’in Oregon R soyuna ait dişi ve erkek bireylerdir. Bu amaçla, sineklerin toplanabilmesi için standart *Drosophila* besiyeri (SDB) içeren kültür şişelerinde çaprazlamalar yapılarak ön stoklar oluşturulmuştur. Pupadan çıkan aynı yaşlı (1-3 günlük) çiftleşmemiş 100’er dişi ve erkek sinek, her deney grubu ile bunlara ait kontrol grupları için ayrı ayrı toplanmış ve deneylerimiz için kullanılacak bütün sinekler hazırlanmıştır.

3.2.8. Ergin bireylere neonikotinoid ve bitki ekstraktlarının uygulanması

Deneylerimizde kullanılacak olan neonikotinoidlerden İMİ ve ASE’ye ait çalışma dozlarını belirlemek için birçok ön çalışma yapılmıştır. Bu ön çalışmalar sonucu, 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 ppm olmak üzere dört doz belirlenmiştir. 0,5 ppm’den düşük dozlarda

ömür uzunluğu ile enzim aktivitesi deneylerinde herhangi bir etki görülmezken, 2,0 ppm'in üstündeki dozlarda ise her iki deney için de yaşayabilen birey elde edilememiştir. Bu nedenle daha düşük ve daha yüksek dozlar çalışılamamıştır.

Ömür uzunluğu deneylerinde İMİ ve ASE ergin bireylere şu şekilde uygulanmıştır; pupadan çıkan aynı yaşlı (1-3 günlük) çiftleşmemiş 100'er dişi ve erkek sinek, kontrol ve uygulama grupları için boş kültür şişelerine konularak neonikotinoid uygulamasından 2 saat önce aç bırakılmıştır. Daha sonra SDB ve farklı dozlarda neonikotinoid içeren (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 ppm) kültür şişelerine alınmışlardır. Kontrol ve uygulama gruplarının dışında insektisitlerin çözücüsü olan %1 DMSO da negatif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Deneylerimizin diğer uygulama grubunda ise SDB'ye ASE ve İMİ'nin en yüksek dozu (2,0 ppm) ile bitkisel su ekstraktları (SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su}, TO_{su} 1:1 v/v) birlikte ilave edilmiştir. Besi yerleri haftada iki kez olmak suretiyle deney boyunca her uygulama grubunda tazelenmiştir.

Enzim aktivitesi deneylerinde ise ömür uzunluğu deneylerinden farklı olarak kullanılan dozlar (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 ppm) hazır besi yerine uygulanmıştır. Uygulama, 2 saat önce aç bırakılmış dişi ve erkek olarak ayrılan sinek gruplarına bir hafta boyunca sürekli aynı ortamda beslemek suretiyle gerçekleşmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarının dışında insektisitlerin çözücüsü olan %1 DMSO da yine negatif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Bitkisel su ekstraktları (SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su}, TO_{su}) ise ömür uzunluğu deneylerinde olduğu gibi ASE'nin ve İMİ'nin en yüksek dozu (2,0 ppm) ile (1:1 v/v) birlikte kullanılmıştır. Bütün uygulama gruplarından elde edilen dişi ve erkek sinekler enzim aktivitesi çalışılncaya kadar -80'de saklanmıştır.

3.2.9. Çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanması

1) 0,1M fosfat tamponu (%0,5 Triton X-100, pH: 7,4): 3,5 g Na₂HPO₄ tartılıp 200 ml saf suda çözülür. 1250 µl Triton X-100 eklenir. 1 N HCl ile pH 7,4'e ayarlanıp son hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanır.

- 2) 1M tris-HCl (5mM EDTA, pH: 8,0): 12,108 g tris ve 0,148 g EDTA 70 ml saf suda çözülür. 1 N HCl ile pH 8'e ayarlanır ve son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- 3) 0,5 mM DTNB (%1'lik Na-sitrat içinde): 0,004 g DTNB ve 0,2 g sodyum sitrat tartılıp saf suyla 20 ml'ye tamamlanır.
- 4) 10 mM Asetiltiyokolin iyodat: 0,058 g asetiltiyokolin iyodat tartılıp saf suyla 20 ml'ye tamamlanır.

3.3. İstatistiksel Yöntemler

Deneylerimizin sonucunda elde edilen sayısal verilerin istatistiksel analizleri için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 15.0 programı kullanılmıştır. Bu amaçla Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. İstatistiksel önemlilik düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

Deneylerimizde kullandığımız bütün grafikler Microsoft Windows Office-Excel programı kullanılarak çizilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada, İMİ ve ASE insektisitleri ile çeşitli bitkisel ekstraktların *D. melanogaster*'in erkek ve dişi popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca yine insektisit ve insektisit + bitkisel ekstrakt uygulamaları sonucu, erkek ve dişi bireylerin kafa homojenatları kullanılarak beyin dokusu sinir hücrelerinde bulunan AChE enzimi aktivitesinde meydana gelebilecek olası değişikliklerin belirlenmesine çalışılmıştır.

4.1. İmidakloprid'in Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Yaptığımız çalışmalar ile *D. melanogaster*'in erkek ve dişi popülasyonlarında İMİ'nin maksimum ömür uzunluğu ile ortalama ömür uzunluğu üzerine etkileri belirlenmiştir. Maksimum ömür uzunluğu, kontrol (no.1) ve negatif kontrol grubu olan DMSO kontrol (no.2) gruplarında ♀♀ için sırasıyla 78 ve 74 gün, ♂♂ için ise 76 ve 74 gün olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). Kontrol ve negatif kontrol grubu arasındaki fark istatistikî olarak önemsizdir ($p>0.05$). Ancak İMİ'nin doz artışına bağlı olarak *D. melanogaster*'in erkek ve dişi popülasyonlarında maksimum ömür uzunluğu kontrol grubuna göre kısalmıştır (Çizelge 4.1 ve Grup no.3-6). Çizelge 4.1'de de görüldüğü gibi, İMİ uygulama gruplarında (0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 ppm) maksimum ömür uzunluğu sırası ile ♀♀ için 59, 57, 50, 48 gün; ♂♂ için de 57, 55, 44, 41 gündür. Maksimum ömür uzunluğu bakımından kontrol ve İMİ uygulama grupları arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Erkek ve dişi popülasyonlarına ait ömür uzunluğu eğrileri kontrol ve uygulama grupları için Şekil 4.1'de görülmektedir.

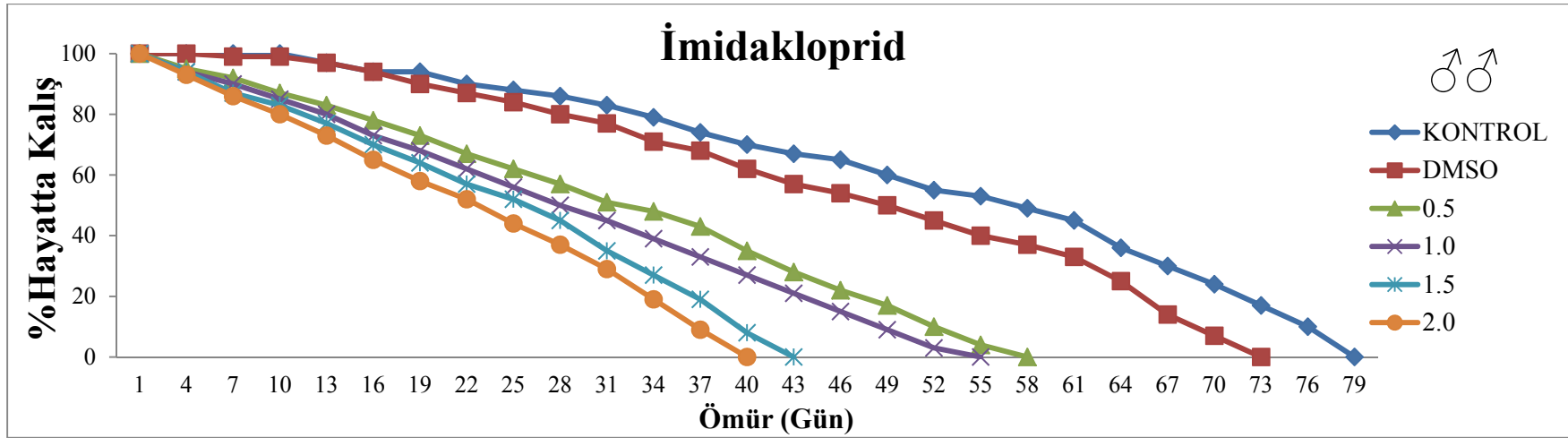
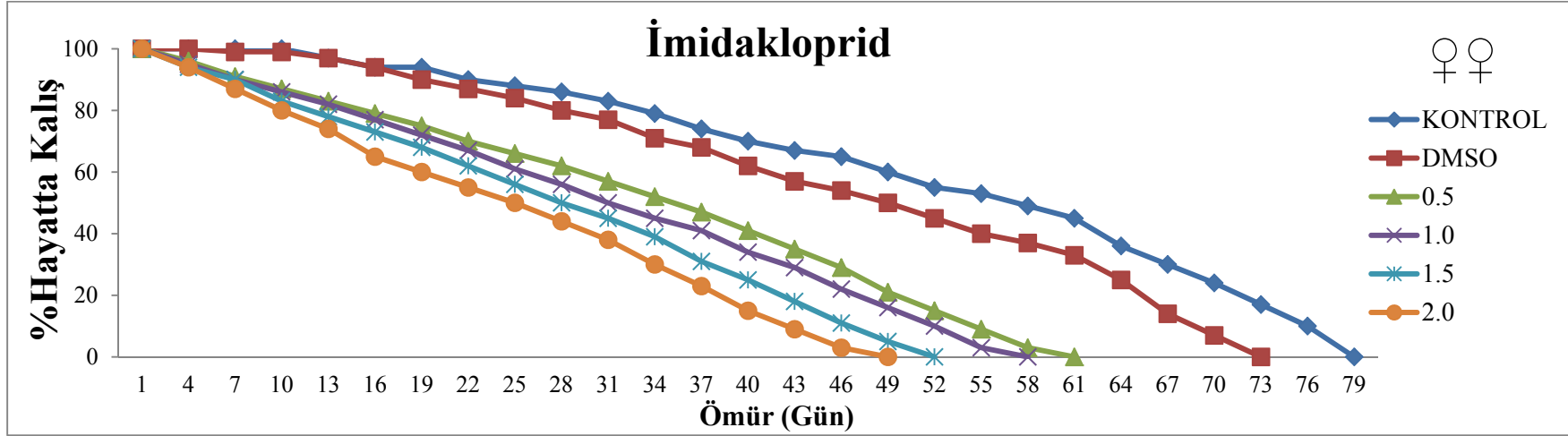
D. melanogaster'in erkek ve dişi popülasyonlarına ait maksimum ömür uzunluğunun yanı sıra ortalama ömür uzunluğu da belirlenmiştir. İMİ'nin kontrol ve DMSO kontrol grubunda ortalama ömür uzunluğu ♀♀ için sırasıyla 49.15 ± 1.99 ve 48.83 ± 1.94 ; ♂♂ için ise 48.48 ± 2.23 ve 48.30 ± 2.21 olarak bulunmuştur. İki grup arasındaki fark ♀♀ ve ♂♂ için önemsizdir ($p>0.05$). Hem dişi hem de erkek popülasyonlarında İMİ'in doz

artışına bağlı olarak ortalama ömür uzunluğu kontrol grubuna göre oldukça gerilemiştir. Şöyleki; kontrol grubunda ♀♀ için 49.15 ± 1.99 gün olan ömür uzunluğu 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 ppm İMİ için sırası ile 43.45 ± 1.18 , 43.71 ± 1.31 , 41.00 ± 1.22 ve 36.27 ± 1.12 güne gerilemiştir. ♂♂’de ise 48.48 ± 2.23 gün olan bu değer sırası ile 41.07 ± 1.50 , 39.25 ± 1.47 , 31.05 ± 1.44 ve 30.53 ± 1.12 güne kadar düşmüştür (Çizelge 4.1). Kontrol ve tüm uygulama grupları arasında gözlenen bu düşüş, hem dişi hem de erkek popülasyonu için istatistikî olarak önemlidir ($p < 0.05$).

Çizelge 4.1. İMİ uygulanmış *D. melanogaster*’in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun karşılaştırılması

İmidakloprid (ppm)								
Uygulama grupları	Dişi Popülasyonu				Erkek Popülasyonu			
	Birey sayısı	Maks. ömür	Ortalama ömür uzunluğu $\pm$ SH	Gruplar arası önem kontrolü	Birey sayısı	Maks. ömür	Ortalama ömür uzunluğu $\pm$ SH	Gruplar arası önem kontrolü
Kontrol (1)	100	78	49.15 ± 1.99	1-3* 1-4* 1-5* 1-6* 2-3* 2-4* 2-5* 2-6*	100	76	48.48 ± 2.23	1-3* 1-4* 1-5* 1-6* 2-3* 2-4* 2-5* 2-6*
DMSO (2)	100	74	48.83 ± 1.94		100	74	48.30 ± 2.21	
0.5 ppm (3)	100	59	43.45 ± 1.18		100	57	41.07 ± 1.50	
1.0 ppm (4)	100	57	43.71 ± 1.31		100	55	39.25 ± 1.47	
1.5 ppm (5)	100	50	41.00 ± 1.22		100	44	31.05 ± 1.44	
2.0 ppm (6)	100	48	36.27 ± 1.12		100	41	30.53 ± 1.12	

Maks: Maksimum, S.H.: Standart Hata, *: Gruplar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir

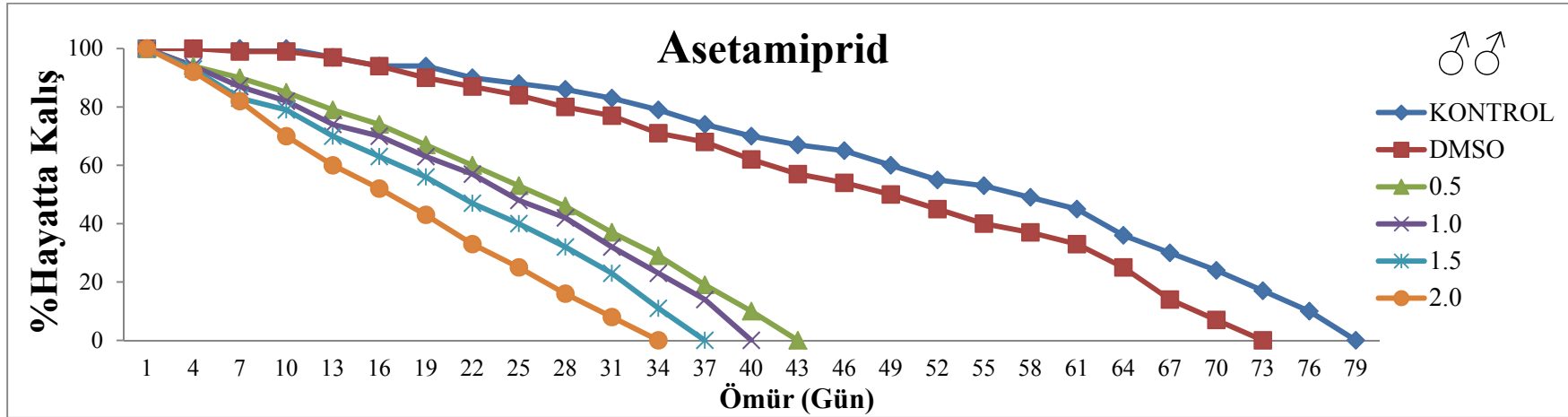
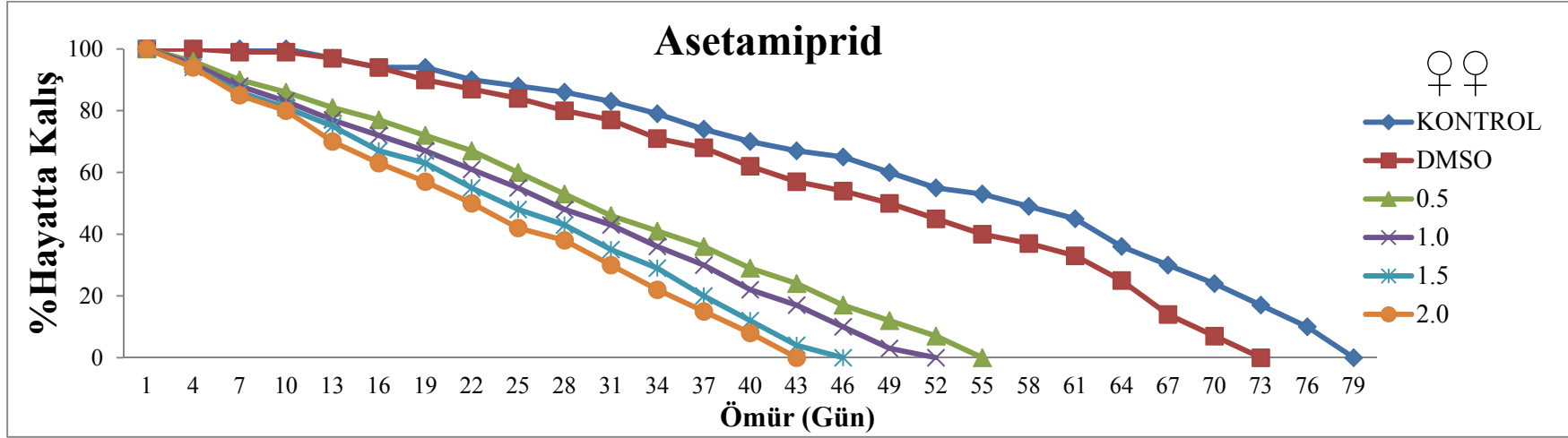


Şekil 4.1. İMİ uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait ömür eğrileri

4.2. Asetamiprid'in Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Deneylerimizde kullandığımız bir diğer insektisit ASE'dir. ASE'nin de İMİ gibi *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarına ait uygulama gruplarında maksimum ömür uzunluğu ile ortalama ömür uzunluğu üzerine etkileri belirlenmiştir. Maksimum ömür uzunluğu, kontrol (no.1) ve %1'lik DMSO kontrol grubunda (no.2) sırasıyla ♀♀ için 78 ve 74 gün, ♂♂ için de 76 ve 74 gün olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2). Kontrol ve negatif kontrol grubu arasındaki fark istatistikî olarak her iki popülasyonda da önemsizdir ($p>0.05$). ASE uygulama gruplarında ise doz artışına bağlı olarak *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ömür uzunluğu kontrol grubuna göre oldukça kısalmıştır (Çizelge 4.2 ve Grup no.3-6). Şöyleki; ASE için 4 farklı uygulama grubunda (0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 ppm) maksimum ömür uzunluğu sırası ile ♀♀ için 54, 52, 45, 43 gün; ♂♂ için de 43, 41, 36, 34 gündür (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2). Kontrol ve ASE uygulama grupları arasında maksimum ömür uzunluğu bakımından gözlenen fark istatistikî olarak $p<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

ASE'nin *D.melanogaster*'in ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarında maksimum ömür uzunluğunun dışında ortalama ömür uzunluğu üzerine etkileri de belirlenmiştir. ASE için kontrol (no.1) ve DMSO kontrol grubunda (no.2) ortalama ömür uzunluğu sırasıyla ♀♀ için 49.15 ± 1.99 ve 48.83 ± 1.94 ; ♂♂ için de 48.48 ± 2.23 ve 48.30 ± 2.21 olarak bulunmuştur. İki grup arasındaki fark hem ♀♀ hem de ♂♂ için önemsizdir ($p>0.05$). ASE'nin dişi uygulama gruplarında ortalama ömür uzunluğu doz artışına bağlı olarak (0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 ppm) sırası ile 40.57 ± 1.28 , 38.91 ± 1.02 , 30.43 ± 1.28 ve 29.52 ± 1.13 'e gerilemiştir. ♂♂'de ise bu değerlerin sırası ile 24.60 ± 1.24 , 23.48 ± 1.17 , 21.93 ± 1.33 ve 19.09 ± 1.15 'e kadar düştüğü gözlenmiştir (Çizelge 4.2). Kontrol ve tüm uygulama grupları arasındaki fark hem dişi hem de erkek popülasyonu için istatistikî olarak önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.2. ASE uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait ömür eğrileri

Çizelge 4.2. ASE uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun karşılaştırılması

Asetamiprid (ppm)								
Uygulama grupları	Dişi Popülasyonu				Erkek Popülasyonu			
	Birey sayısı	Maks. ömür	Ortalama ömür uzunluğu± SH	Gruplar arası önem kontrolü	Birey sayısı	Maks. ömür	Ortalama ömür uzunluğu± SH	Gruplar arası önem kontrolü
Kontrol (1)	100	78	49.15±1.99	1-3* 1-4* 1-5* 1-6* 2-3* 2-4* 2-5* 2-6*	100	76	48.48±2.23	1-3* 1-4* 1-5* 1-6* 2-3* 2-4* 2-5* 2-6*
DMSO (2)	100	74	48.83±1.94		100	74	48.30±2.21	
0.5 ppm (3)	100	54	40.57±1.28		100	43	24.60±1.24	
1.0 ppm (4)	100	52	38.91±1.02		100	41	23.48±1.17	
1.5 ppm (5)	100	45	30.43±1.28		100	36	21.93±1.33	
2.0 ppm (6)	100	43	29.52±1.13		100	34	19.09±1.15	

Maks: Maksimum, S.H.: Standart Hata, *: Gruplar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir

4.3. İMİ + Farklı Bitkilere Ait Su Ekstraktlarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri

Yaptığımız çalışmalar sonucunda *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarında İMİ insektisitine ait en toksik etki 2.0 ppm uygulama grubunda meydana gelmiş ve hem maksimum hem de ortalama ömür uzunluğu son derece kısalmıştır (Çizelge 4.1-4.3). İMİ'nin doz artışına bağlı olarak ömür uzunluğunda gözlenen kısalmayı önleyebilmek için bir başka araştırma grubu oluşturulmuştur.

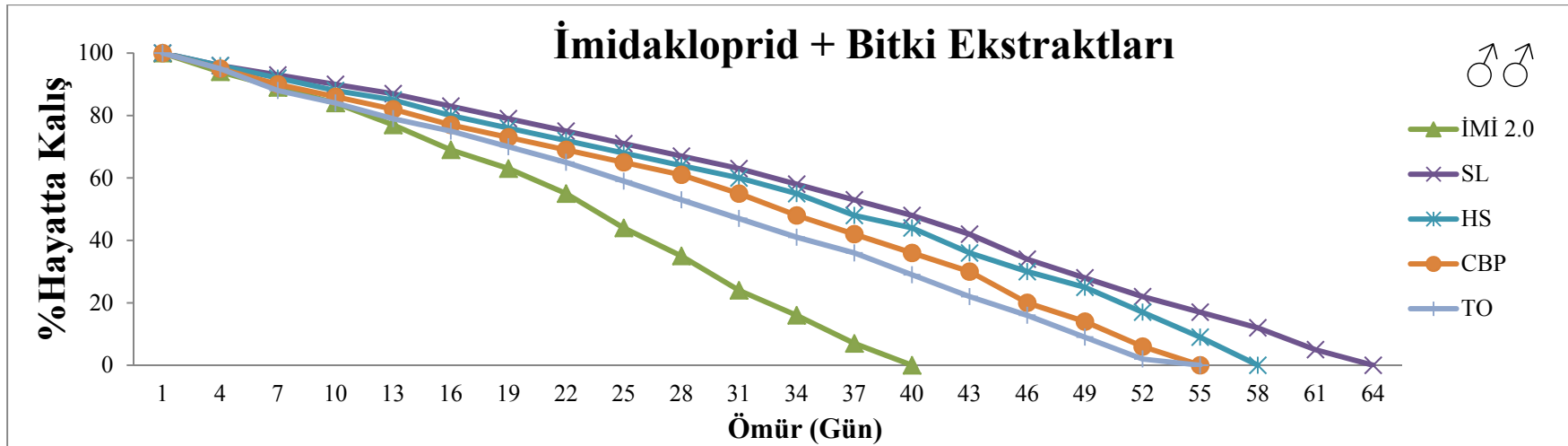
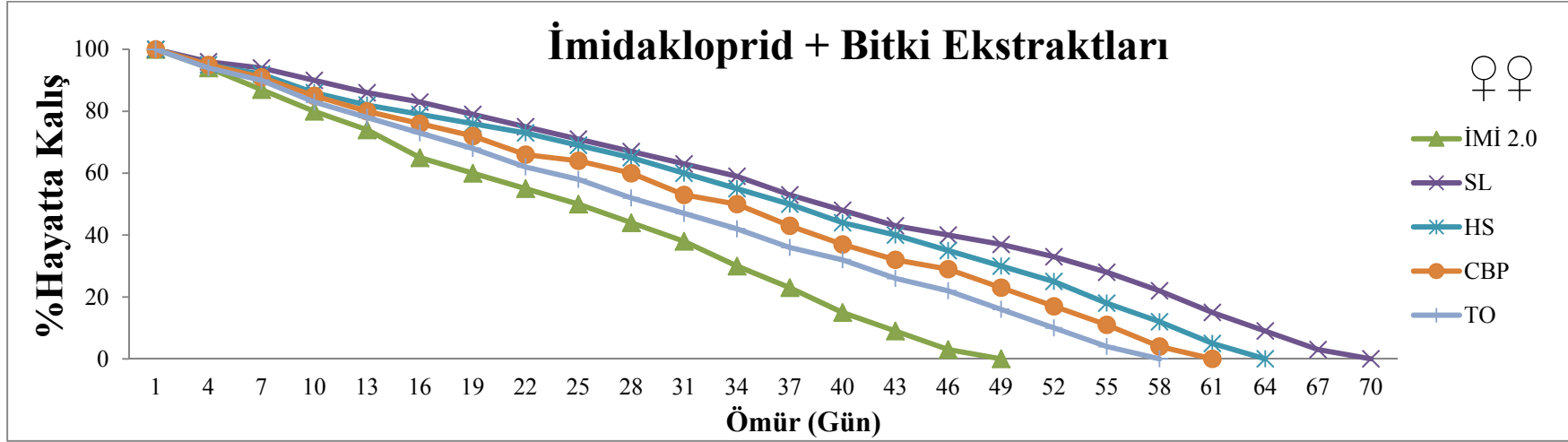
Bu amaçla farklı familyalara ait ve kozmopolit olan *Salvia lavandulifolia*, *Hypericum scabrum*, *Capsella bursa-pastoris* ve *Teucrium orientale* bitkilerine ait su

ekstraktlarının ömür uzunluğu üzerine etkilerini belirlemek için, bu bitkilere ait su ekstraktları (SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su}) İMİ'nin en yüksek uygulama grubuna (2.0 ppm) ilave edilmiştir (1:1 v/v). Elde ettiğimiz sonuçlara göre, bitki ekstraktlarının tümü *D. melanogaster*'in hem dişi hem de erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunu artırmıştır. Şöyleki; Çizelge 4.1'de de görüldüğü gibi, 2.0 ppm İMİ uygulama grubunda maksimum ömür uzunluğu ♀♀'de 78 günden 48 güne; ♂♂'de ise 76 günden 41 güne gerilemiştir (p<0.05).

Çizelge 4.3. İMİ ve bitki ekstraktları uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun karşılaştırılması

İmidakloprid (ppm)								
Uygulama grupları	Dişi Popülasyonu				Erkek Popülasyonu			
	Birey sayısı	Maks. ömür	Ortalama ömür uzunluğu± SH	Gruplar arası önem kontrolü	Birey sayısı	Maks. ömür	Ortalama ömür uzunluğu± SH	Gruplar arası önem kontrolü
2.0 (1)	100	48	36.27±1.12	-	100	41	30.53±1.12	-
2 ppm İMİ + Bitki Ekstraktları								
İMİ + SL (2)	100	70	48.38±1.70	1-2* 1-3* 1-4* 1-5*	100	63	41.30±1.41	1-2* 1-3* 1-4* 1-5*
İMİ + HS (3)	100	65	42.75±1.57		100	59	39.14±1.43	
İMİ + CBP (4)	100	62	41.69±1.38		100	55	33.65±1.46	
İMİ + TO (5)	100	59	40.91±1.30		100	55	33.76±1.38	

Maks: Maksimum, S.H.: Standart Hata, *: Gruplar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir



Şekil 4.3. İMİ + bitki ekstraktları uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait ömür eğrileri

Ancak İMİ + SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su} ekstraktları ile elde edilen maksimum ömür uzunluğu değerleri ♀♀ için sırası ile 70, 65, 62 ve 59 gün; ♂♂ için ise 63, 59, 55 ve 55 gün olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3). Tüm bitki ekstraktlarına bağlı olarak her iki eşeyde de gözlenen maksimum ömür uzunluğundaki artış istatistikî olarak $p < 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Maksimum ömür uzunluğunun yanı sıra İMİ + bitki ekstraktlarının *D.melanogaster*'in hem dişi hem de erkek popülasyonlarında ortalama ömür uzunluğu üzerine etkileri de belirlenmiştir. 2 ppm İMİ uygulama grubunda (no.1) ortalama ömür uzunluğu ♀♀ için 36.27 ± 1.12 , ♂♂ için 30.53 ± 1.12 gündür (Çizelge 4.1-4.3). Bu değerler, İMİ + bitki ekstraktları uygulama gruplarında (SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su}) ♀♀ için sırası ile 48.38 ± 1.70 (no.2), 42.75 ± 1.57 (no.3), 41.69 ± 1.38 (no.4) ve 40.91 ± 1.30 (no.5); ♂♂ de ise 41.30 ± 1.41 (no.2), 39.14 ± 1.43 (no.3), 33.65 ± 1.46 (no.4) ve 33.76 ± 1.38 (no.5) gün olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3). İMİ + bitkisel ekstraktlara bağlı olarak ortalama ömür uzunluğunda gözlenen artış tüm uygulama grupları için önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

4.4. ASE + Farklı Bitkilere Ait Su Ekstraktlarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri

Yaptığımız çalışmalar sonucunda ASE insektisitine ait maksimum ve ortalama ömür uzunluğunu bakımından en toksik etki, İMİ de olduğu gibi yine en yüksek doz olarak seçilen 2.0 ppm uygulama grubunda gözlenmiştir (Çizelge 4.2-4.4). Bu nedenle SDB'ye ASE'nin bu uygulama dozu ile birlikte çeşitli bitkilere ait su ekstraktları (SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su}) ilave edilmiştir (1:1 v/v). En son birey ölünceye kadar sürdürülen maksimum ve ortalama ömür uzunluğu deneyleri tamamlandığı zaman bitki ekstraktlarının tümünün *D. melanogaster*'in hem dişi hem de erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunu artırdığı gözlenmiştir.

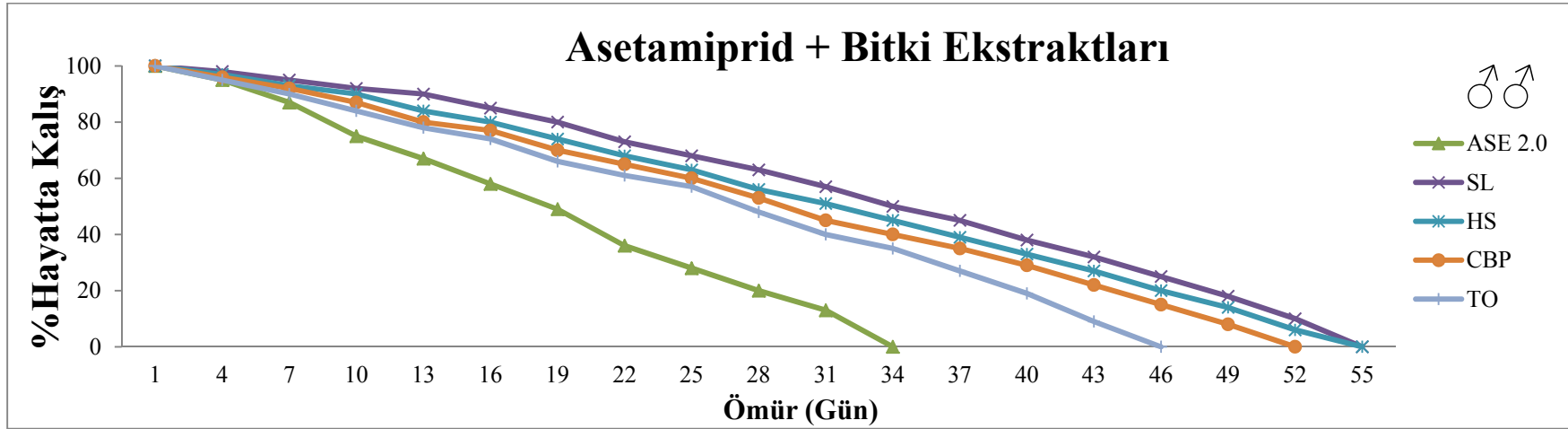
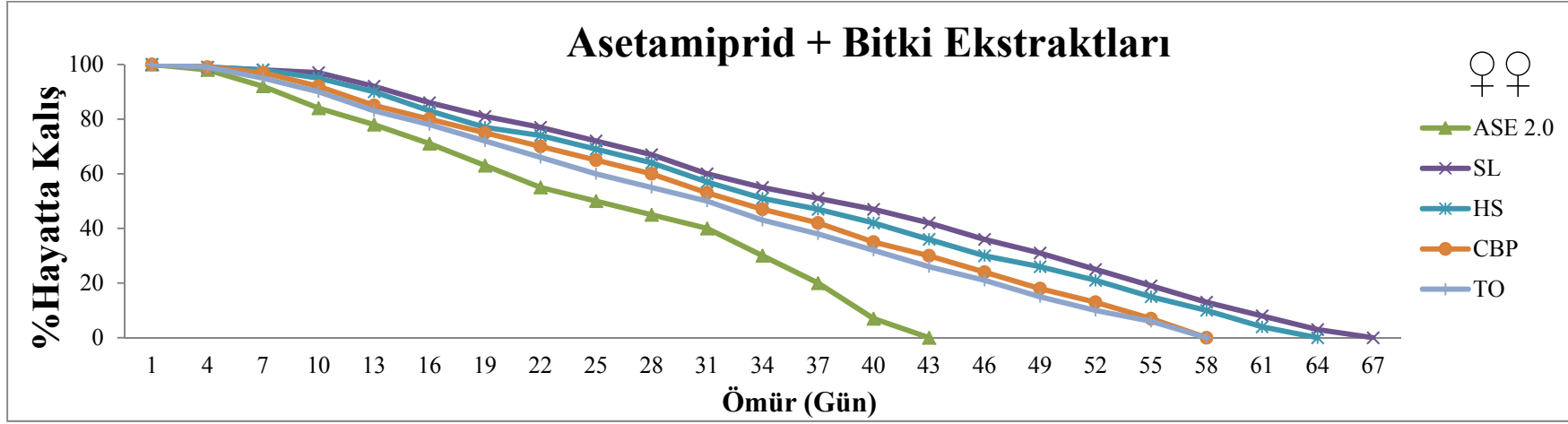
ASE + SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su} ekstraktları ile elde edilen maksimum ömür uzunluğu ♀♀'de 67, 64, 58 ve 58 gün; ♂♂'de 55, 55, 51 ve 48 gündür (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4).

Bitki ekstraktlarına bağılı olarak her iki eşeyde de gözlenen maksimum ömür uzunluğundaki artış istatistikî olarak önemlidir ($p<0.05$). Maksimum ömür uzunluğunun dışında her iki eşeye ait ortalama ömür uzunluğu da süre olarak incelendiği zaman bitki ekstraktlarına bağılı olarak yine artış belirlenmiştir. Şöyleki; 2.0 ppm ASE uygulama grubunda (no.1) ortalama ömür uzunluğu ♀♀ için 29.52 ± 1.13 ve ♂♂ için 19.09 ± 1.15 gün olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4). ASE + bitki ekstraktları uygulama grubunda ise bu değerlerin arttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4).

Çizelge 4.4. ASE ve bitki ekstraktları uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ve ortalama ömür uzunluğunun karşılaştırılması

Asetamiprid (ppm)								
Uygulama grupları	Dişi Popülasyon				Erkek Popülasyon			
	Birey sayısı	Maks. ömür	Ortalama ömür uzunluğu± SH	Gruplar arası önem kontrolü	Birey sayısı	Maks. ömür	Ortalama ömür uzunluğu± SH	Gruplar arası önem kontrolü
2.0 (1)	100	43	29.52 ± 1.13	-	100	34	19.09 ± 1.15	-
2 ppm ASE + Bitki Ekstraktları								
ASE + SL (2)	100	67	47.16 ± 1.67	1-2* 1-3* 1-4* 1-5*	100	55	39.95 ± 1.19	1-2* 1-3* 1-4* 1-5*
ASE + HS (3)	100	64	44.02 ± 1.52		100	55	38.58 ± 1.35	
ASE + CBP (4)	100	58	40.74 ± 1.29		100	51	32.95 ± 1.39	
ASE + TO (5)	100	58	40.94 ± 1.28		100	48	31.33 ± 1.20	

Maks: Maksimum, S.H.: Standart Hata, *: Gruplar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir



Şekil 4.4. ASE + bitki ekstraktları uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait ömür eğrileri

Bu değerler ASE + SL_{su} / HS_{su} / CBP_{su} ve TO_{su} uygulama grupları için sırası ile ♀♀’de 47.16±1.67 (no.2), 44.02±1.52 (no.3), 40.74±1.29 (no.4), 40.94±1.28 gün (no.5); ♂♂’de ise 39.95±1.19 (no.2), 38.58±1.35 (no.3), 32.95±1.39 (no.4) ve 31.33±1.20 gün (no.5) olarak bulunmuştur. 2.0 ppm ASE ve ASE + bitkisel ekstraktlara ait uygulama gruplarının ortalama ömür uzunluğu değerleri karşılaştırıldığı zaman gözlenen artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur (p<0.05).

4.5. İmidakloprid’in AChE Enzim Aktivitesi zerine Etkilerinin Belirlenmesi

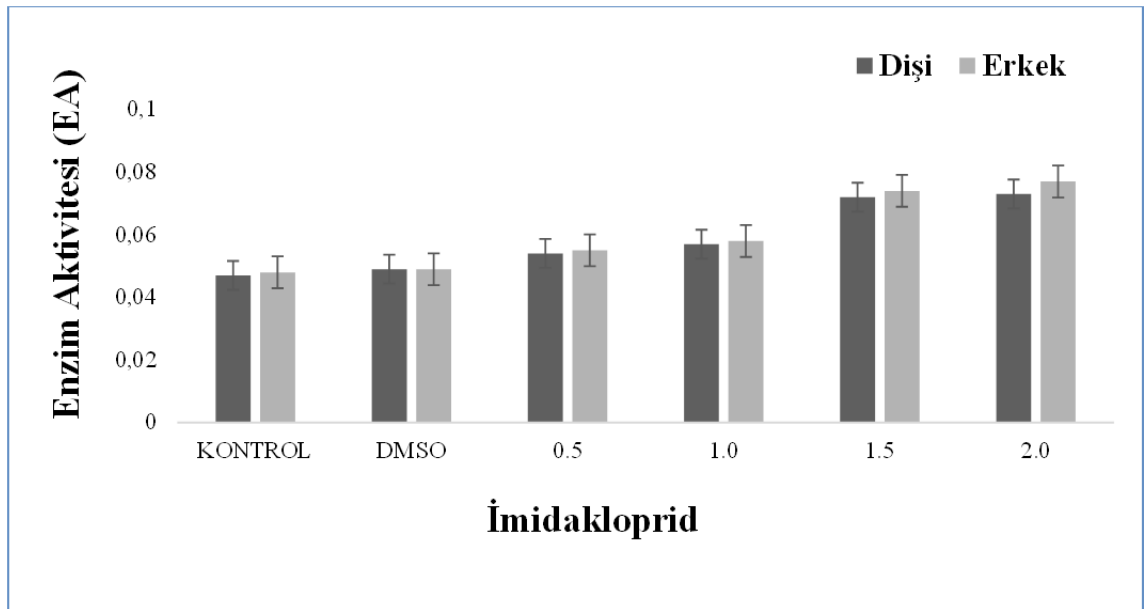
Neonikotinoidlerle ilgili olarak yaptığımız çalışmaların ikinci kısmında *D. melanogaster*’in hem dişi hem de erkek bireylerinde AChE enzim aktivitesi değerlendirilmiştir. Bu amaçla maksimum ve ortalama ömür uzunluğunu belirlemek için kullanılan 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 ppm uygulama grupları ile çalışılmıştır. Saf su ve DMSO kontrol gruplarının yanı sıra insektisit grupları da hazırlanmış ve 1-3 günlük ergin bireyler bu besiyerlerinde yaklaşık 7 gün kronik uygulanmaya tabi tutulmuştur. Bu süre içinde besiyerleri 2 kez yenilenmiştir.

Ergin dişi ve erkek bireylerin kafa homojenatları kullanılarak yapılan AChE enzim aktivitesine ait ölçüm sonuçları saf su kontrol ve DMSO kontrol grupları için ♀♀’de 0.047 ve 0.049 E; ♂♂’de ise 0.048 ve 0.049 E olarak bulunmuştur (izelge 4.5). Saf su ve DMSO kontrol gruplarına ait AChE aktivite değerleri, ♀♀ ve ♂♂ için karşılaştırıldığı zaman aradaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (p>0.05). Dört farklı dozda (0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 ppm) İMİ uygulanan dişi bireylerde AChE enzim aktivitesi sırasıyla 0.054, 0.057, 0.072 ve 0.073 E; erkek bireylerde ise 0.055, 0.058, 0.074 ve 0.077 E olarak ölçülmüştür (izelge 4.5 ve şekil 4.5). İMİ uygulama gruplarına ait dişi ve erkek bireyler için AChE enzim aktivitesi sonuçları, saf su ve DMSO kontrol grubu sonuçlarıyla karşılaştırıldığı zaman aradaki fark istatistiki olarak p<0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.5. İMİ uygulanan *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerleri

İmidakloprid		
Uygulama Grupları	AChE Aktivite Değerleri (EÜ)	
	Dişi Popülasyon	Erkek Popülasyon
KONTROL (1)	0.047 ^a	0.048 ^a
DMSO (2)	0.049 ^a	0.049 ^a
0.5 (3)	0.054 ^b	0.055 ^b
1.0 (4)	0.057 ^b	0.058 ^b
1.5 (5)	0.072 ^c	0.074 ^c
2.0 (6)	0.073 ^c	0.077 ^c

*Aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05)



Şekil 4.5. İMİ uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerlerinin karşılaştırılması

4.6. Asetamiprid'in AChE Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Çalışmalarımızda kullandığımız bir diğer insektisit ASE'dir. ASE uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerinde AChE enzim aktivitesi de değerlendirilmiştir. Bu amaçla maksimum ve ortalama ömür uzunluğunu belirlemek için kullanılan 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 ppm uygulama grupları ile saf su ve DMSO kontrol grupları hazırlanmış ve 1-3 günlük ergin bireyler bu besiyerlerinde yaklaşık 7 gün kronik uygulanmaya tabi tutulmuştur. Bu süre içinde besiyerleri 2 kez yenilenmiştir.

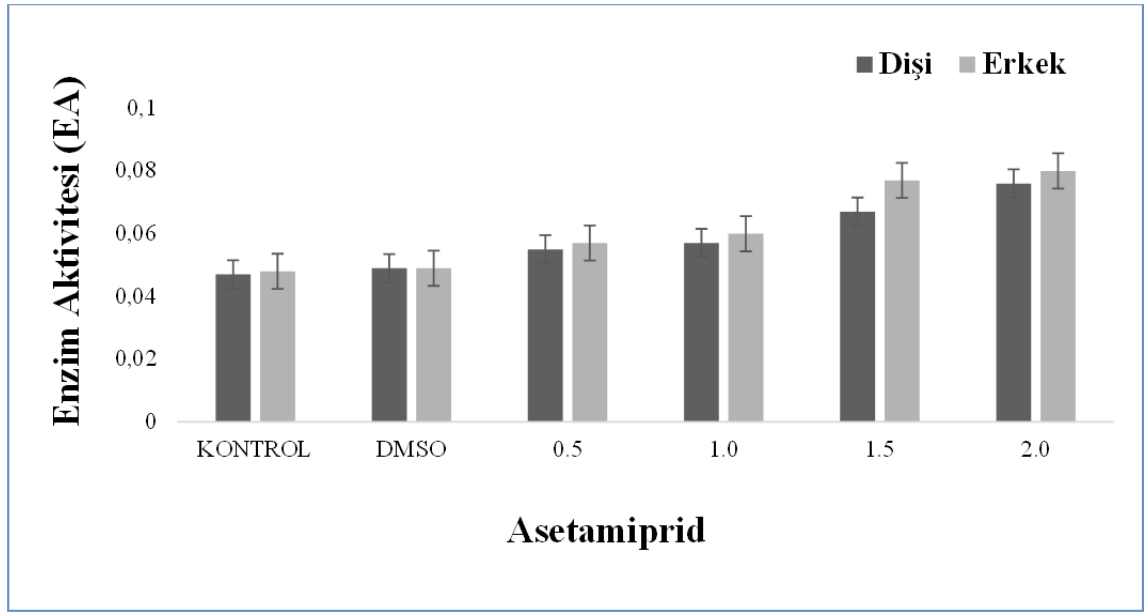
Saf su ve DMSO kontrol gruplarında, *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerinin kafa homejanatı kullanılarak ölçülen AChE enzim aktivitesi dişi bireylerde sırası ile 0.047 ve 0.049 EÜ, erkek bireylerde ise 0.048 ve 0.049 EÜ'dür (Çizelge 4.6). Hem dişi hem de erkek bireyler için ölçülen AChE enzim aktivitesine ait değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0.05$).

Çizelge 4.6. ASE uygulanan *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerleri

Asetamiprid		
Uygulama Grupları	AChE Aktivite Değerleri (EÜ)	
	Dişi Popülasyon	Erkek Popülasyon
KONTROL (1)	0.047^a	0.048^a
DMSO (2)	0.049^a	0.049^a
0.5 (3)	0.055^b	0.057^b
1.0 (4)	0.057^b	0.060^b
1.5 (5)	0.067^c	0.077^c
2.0 (6)	0.076^d	0.080^c

*Aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0.05$)

0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 ppm ASE uygulamasında ise *D. melanogaster*'in dişi bireylerinde AChE enzim aktivitesi sırasıyla 0.055, 0.057, 0.067 ve 0.076 EÜ'ye; erkek bireylerde ise sırası ile 0.057, 0.060, 0.077 ve 0.080 EÜ'ye yükselmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6). ASE uygulanmış dişi ve erkek bireylerin AChE enzim aktivitesi sonuçları, saf su ve DMSO kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman aralarındaki fark istatistiki olarak $p < 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.



Şekil 4.6. ASE uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerlerinin karşılaştırılması

4.7. İMİ + Bitki Ekstraktlarının AChE Aktivitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Bölüm 4.5'de anlatıldığı gibi farklı dozlarda (0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0) İMİ uygulaması, *D. melanogaster*'in hem dişi hem de erkek bireylerinde AChE enzim aktivitesini saf su ve DMSO kontrol gruplarına göre artırmıştır (Çizelge 4.5). Bu artışın önlenmesi için bu kez farklı bitkilere ait su ekstraktları ile yeni bir deney grubu oluşturulmuştur.

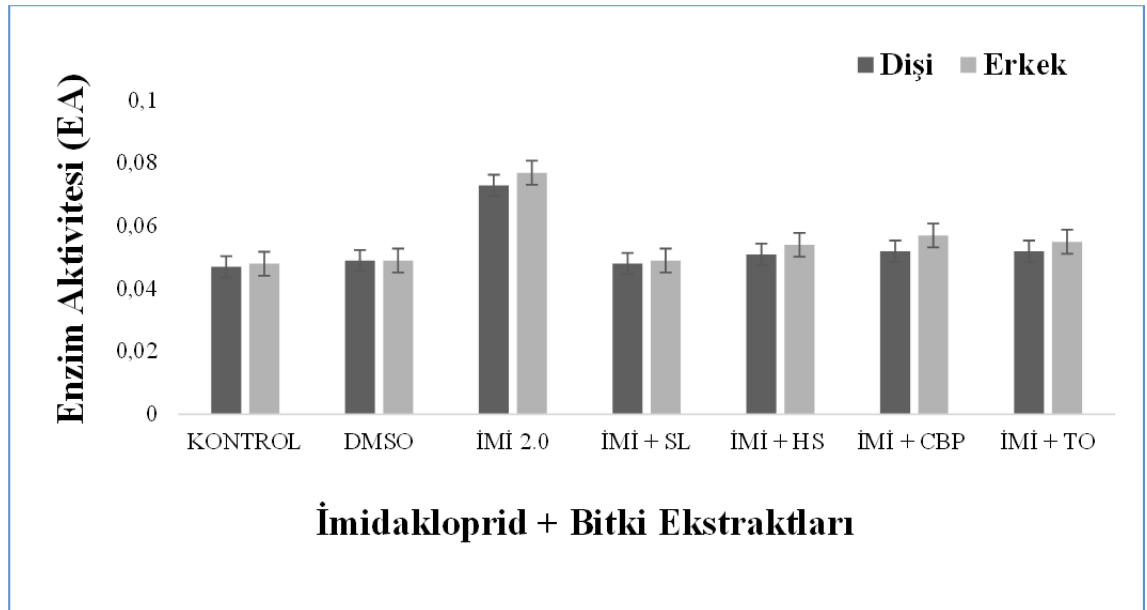
2.0 ppm İMİ uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait kafa homojenatlarında ölçülen enzim aktivitesi sırası ile 0.073 ve 0.077 EÜ'dür (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. İMİ + bitki ekstraktları uygulanan *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerleri

İmidakloprid + Bitki Ekstraktları		
Uygulama Grupları	AChE Aktivite Değerleri (EÜ)	
	Dişi Popülasyon	Erkek Popülasyon
KONTROL (1)	0.047^a	0.048^a
DMSO (2)	0.049^a	0.049^a
İMİ (3)	0.073^b	0.077^b
İMİ + SL (4)	0.048^a	0.049^a
İMİ + HS (5)	0.051^a	0.054^a
İMİ+CBP (6)	0.052^a	0.057^c
İMİ + TO (7)	0.052^a	0.055^c

* Aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05)

İMİ + SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su} uygulama gruplarında ise AChE enzim aktivitesi dişi bireylerde sırası ile 0.048, 0.051, 0.052 ve 0.052 EÜ; erkek bireylerde ise sırası ile 0.049, 0.054, 0.057 ve 0.055 EÜ olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7). Elde edilen bu verilere göre, kullanılan bütün bitkisel su ekstraktlarının 2.0 ppm İMİ'nin sebep olduğu AChE enzim aktivitesindeki artışı düşürdüğü ve bu değerlerin 2.0 ppm İMİ uygulama grubu ile karşılaştırıldığı zaman hem dişi hem de erkek bireyler arasında meydana gelen farkın da istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (p<0.05).



Şekil 4.7. İMİ + bitki ekstraktları uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerlerinin karşılaştırılması

4.8. ASE + Bitki Ekstraktlarının AChE Aktivitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

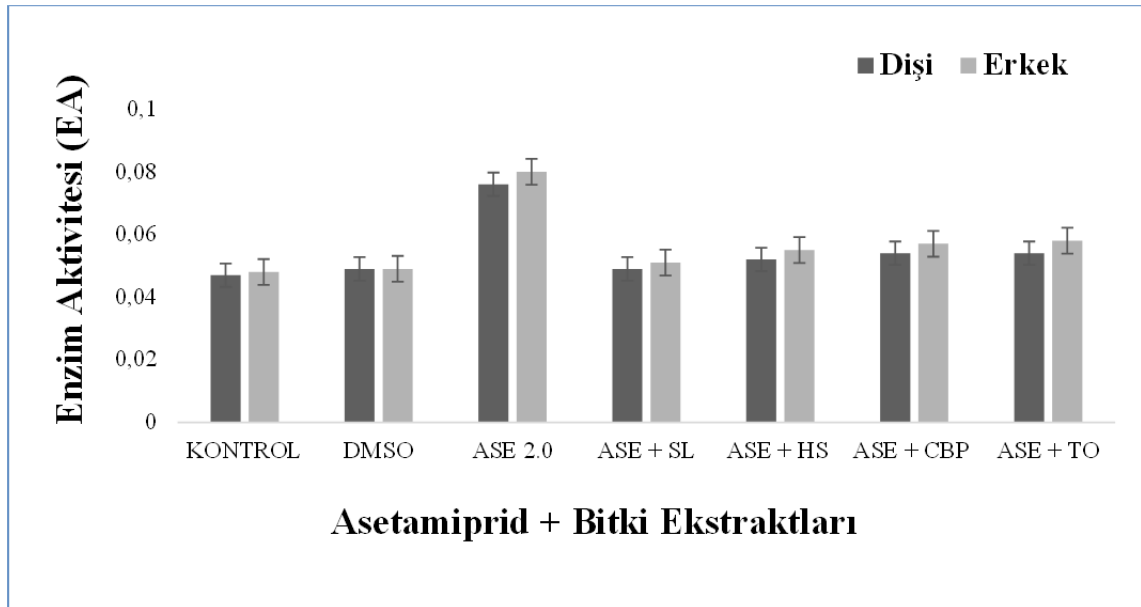
Bölüm 4.6'da farklı dozlarda (0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0) ASE'nin, *D. melanogaster*'in hem dişi hem de erkek bireylerinde AChE enzim aktivitesini saf su ve DMSO kontrol uygulama gruplarındaki dişi ve erkek bireylere göre artırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Bu artışın önlenmesi için farklı bitkilere ait su ekstraktları ile yine yeni bir deney grubu oluşturulmuştur.

2.0 ppm ASE uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait kafa homojenatlarında ölçülen enzim aktivitesi sırası ile 0.076 ve 0.080 EÜ'dür (Çizelge 4.8). ASE + SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su} uygulama gruplarında ise AChE enzim aktivitesi dişi bireylerde sırası ile 0.049, 0.052, 0.054 ve 0.054 EÜ; erkek bireylerde ise sırası ile 0.051, 0.055, 0.057 ve 0.058 EÜ'dür (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8). Kullanılan bütün bitkisel su ekstraktları, 2.0 ppm ASE'nin sebep olduğu AChE enzim aktivitesindeki artışı düşürmüş ve bu değerler 2.0 ppm ASE uygulama grubu ile karşılaştırıldığı zaman hem dişi hem de erkek bireyleri oluşturan gruplar arasında meydana gelen farkın istatistiksel olarak da önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$).

Çizelge 4.8. ASE + bitki ekstraktları uygulanan *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerleri

Asetamiprid + Bitki Ekstraktları		
Uygulama Grupları	AChE Aktivite Değerleri (EÜ)	
	Dişi Popülasyon	Erkek Popülasyon
KONTROL (1)	0.047^a	0.048^a
DMSO (2)	0.049^a	0.049^a
ASE (3)	0.076^b	0.080^b
ASE + SL (4)	0.049^a	0.051^a
ASE + HS (5)	0.052^a	0.055^c
ASE+CBP (6)	0.054^a	0.057^c
ASE + TO (7)	0.054^a	0.058^c

* Aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0.05$).



Şekil 4.8. ASE + bitki ekstraktları uygulanmış *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait AChE enzim aktivite değerlerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yaşlanma, canlının gelişimi sırasında yıpranması, metabolik reaksiyonlarının azalması ve bozulması sonucu fonksiyonlarını kaybederek ölüme gitmesi sürecidir. Ya da yaşlanma, istisnasız olarak her canlıda görülen, tüm işlevlerinde azalmaya neden olan, sürekli ve evrensel bir olgu olarak tanımlanabilir. Farklı bir ifade ile de organizmanın molekül, hücre, doku, organ ve sistemleri düzeyinde, zamanın ilerlemesi ile ortaya çıkan, geriye dönüşü olmayan yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin tümüdür. Gerçek biyolojik yaşlanma değişik bireylerde farklı hızlarda olabilmektedir; çünkü genetik özellikler, yaşam tarzı, hastalıklar ve kişilerin fiziksel olaylarla başa çıkma yolları birçok değişiklik göstermektedir. Normal yaşlanma sürecinde, zamana bağlı olarak ortaya çıkan değişiklikler, normal koşullar altında fonksiyon kaybına neden olmazlar, ancak organ sistemlerinin rezervlerinde ve homeostatik kontrolde bir azalma söz konusudur. Canlılarda ömür uzunluğu farklı türlerde, aynı türün farklı eşeylerinde ve mutant bireyler arasında farklılık göstermektedir. Ömür uzunluğu bakımından benzeri durum *Drosophila*'nın farklı türlerinde, aynı türün farklı eşeylerinde ve mutant bireyleri arasında da görülmektedir. Hatta aynı genotipe sahip popülasyonlar farklı çevresel koşullarda farklı ömür uzunluklarına sahip olabilmektedirler (Ünlü and Bozcuk 1979).

Çalışmamızda besiyerlerine kronik olarak eklenen İMİ ve ASE insektisitleri ile kullanılan bitki ekstraktlarının dışında, ömür uzunluklarını etkileyebilecek dış (çevresel) ya da iç faktörler uygulama ortamında stabil tutulmuştur. Bu durumda kontrol ve uygulama grupları arasında maksimum ve ortalama ömür uzunluğu ile AChE enzim aktivitesi bakımından gözlenen farkın yalnızca İMİ ve ASE insektisitleri ile İMİ / ASE + bitki ekstraktlarından kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Maksimum ve ortalama ömür uzunluğunu etkileyebilecek faktörlerden birisi olan fotoperiyodun, *D. melanogaster*'in yumurta ve pupadan çıkış süresinde (Qiu and Hardin 1996), metabolik hızında (Lanciani *et al.* 1991) ve ömür uzunluğunda (Sheeba *et al.* 2000) etkili olduğu belirlenmiştir. Farklı *Drosophila* türleri ile yapılan çalışmalarda, sürekli ışıklı ortamın ergin ömür uzunluğunu kısalttığı (Klarsfeld and Rouyer 1998),

buna karşın sürekli karanlık ortamda yaşatılan *D. melanogaster* erkeklerinde %20, dişilerinde ise %43'e varan ömür uzunluğu artışının olduğu gözlenmiştir (Bağcı ve Bozcuk 1991). Yaptığımız çalışmada, kontrol ve deney gruplarına ait bireyler sadece besin değişimi sırasında şişeden şişeye transfer edilirken sıcaklık kabinlerinden çıkarılmış ve böylece ışığın ömür uzunluğu üzerine etkisi indirgenmiştir.

Yapılan çalışmalar, besin çeşidinin *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunu önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. *Drosophila*'da çok düşük oranlarda (%1) agar içeren besin ortamlarında gelişimin normal ve ölüm hızının düşük olduğu, buna karşın %8'lik agar içeren besin ortamında erkeklerin en uzun ömre sahip oldukları ve eşeyler arasındaki ömür uzunluğu farklılığının en az oranda olduğu gözlenmiştir (David *et al.*1975). Çalışmamızda, besin çeşidi ve oranlarından doğabilecek farklılıkları önlemek için deney süresince taze hazırlanan SDB kullanılmıştır.

Yapılan deneylerde, yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, yumurta üretimi düşük bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür (Tatar and Promislow 1997). Çalışmamızda, tüm dişi bireylerin virjin olması için pupadan çıkan bireyler çiftleşme yeteneği kazanmadan dişi ve erkek olmak üzere ayrı ayrı şişelerde toplanmışlardır. Böylece hem erkek hem de dişilerin aynı yaşlı, çiftleşmemiş bireyler olması sağlanmış ve anasal yaşın ömür uzunluğunu etkileyici bir faktör olması da önlenmiştir (Lansing 1952).

Fred and Timothy (1997), on farklı *Drosophila* popülasyonu ile yaptıkları çalışmada, bira mayası içeren besin ortamında metabolik atıkların olmaması halinde ömür uzunluğunun arttığını tespit etmişlerdir. Dolayısıyla besin ortamının sık sık yenilenmesi ile atık maddelerin ömür uzunluğu üzerindeki negatif etkisi de giderilmiştir. Bu amaçla çalışmalarımızda tüm grupların besin ortamı haftada iki kez değiştirilerek metabolik atıkların ortamdaki uzaklaşması sağlanmıştır.

Çalışmamızda, yaş farkından doğabilecek etkiyi de ortadan kaldırmak için tüm uygulama gruplarda aynı yaşlı (1-3 günlük) bireyler kullanılmıştır. Böylece ömür

uzunluğunu etkileyebilecek tüm iç ve dış etkenler sabit tutulmuştur. Bu durumda, eşit koşullarda tutulan aynı genotipli sineklerin ömür uzunluklarındaki değişikliklerin sadece ortama ilave edilen İMİ ve ASE ile farklı bitkilere ait su ekstraktlarından kaynaklanabileceğini söyleyebiliriz.

Ömür uzunluğu çalışmalarından elde ettiğimiz bulgulara göre; maksimum ömür uzunluğu kontrol grubunda ♀♀ için 78, ♂♂ için de 76 gün olarak bulunmuştur. Ancak hem İMİ hem de ASE, doz artışına bağlı olarak *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarında maksimum ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre kısaltmıştır (Çizelge 4.1-4.2 ve Grup no.3-6). Şöyle ki; İMİ uygulanmış ♀♀'de maksimum ömür uzunluğu artan doza bağlı olarak (0.5, 1.0 1.5 ve 2.0 ppm) 59 günden 48 güne; ♂♂ için ise 57 günden 41 güne (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1); ASE'nin aynı uygulama gruplarında ise bu değerler ♀♀ için 54 günden 43 güne; ♂♂ için ise 43 günden 34 güne düşmüştür (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2). Kontrol ve uygulama grupları arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Ömür uzunluğu ile ilgili çalışmalarımızın ikinci kısmında 2.0 ppm İMİ/ASE ile birlikte uygulanan bitkilere ait su ekstraktları (SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su}) maksimum ömür uzunluğunu sırasıyla ♀♀ için 48 günden 59-70 güne, ♂♂'de ise 41 günden 55-63 güne (Çizelge 4.3); 2 ppm ASE ile birlikte uygulanan bitkilere ait su ekstraktları da ♀♀'de yine maksimum ömür uzunluğunu 43 günden 58-67 güne, ♂♂'de ise 34 günden 48-55 güne yükseltmiştir (Çizelge 4.4). Bitki ekstraktlarına bağlı olarak her iki eşeyde gözlenen ömür uzunluğundaki artış istatistikî olarak önemlidir ($p<0.05$).

Doz artışına bağlı olarak İMİ ve ASE insektisitleri, *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerinde ortalama ömür uzunluğunu da düşürmüştür (Çizelge 4.1-4.2). Ancak insektisitlerle birlikte bitki ekstraktları kullanıldığı zaman ortalama ömür uzunluğuna ait değerler, tıpkı maksimum ömür uzunluğunda olduğu gibi kontrol grubuna yaklaşmış ve bu sonuçlar istatistikî olarak $p<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3-4.4). Yapılan literatür araştırmalarında insektisitler ile çeşitli canlı grupları arasında farklı etkileşimler olduğu görülmüştür. Zettler and Lecato (1974), yaptığı çalışmada diklorvos

ve malation insektisitlerinin subletal dozlarının *Attagenus megatoma* (halı böceği)'da ömür uzunluğunu %63 ile %74 oranında kısalttığını, aynı zamanda ovulasyon süresini ve üreme sistemini olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir. Fitzpatrick and Dowell (1981), Hemiptera takımına ait *Aleurocanthus woglumi*'ye 14 farklı insektisit uygulamış ve bu böceğin Hymenoptera takımına ait olan parazitoidlerinden *Amitus hesperidum* ve *Prospaltella opulenta*'da bütün insektisitlerin yumurta açılımını ve ömür uzunluğunu azalttığını vurgulamışlardır. Yine asefat, metomil ve permetrin gibi insektisitlerin *Myzus persicae* (yaprak biti)'da ergin bireylerin yaşam sürelerini sırası ile %82, %87 ve %100 oranında kısalttığı belirlenmiştir (Hsieh and Allen 1986). Robert and Olson (1989), subletal dozda metopren ve malation'u Diptera takımına ait *Culex quinquefasciatus*'un 4. evre dişi larvalarına uygulamış ve bu insektisitlerin ergin böceklerin yumurta verimi ile ömür uzunluğunu %39 ile %50 oranında azalttığını, yumurta açılımını da %30 ile %36 oranında düşürdüğünü belirlemişlerdir. Organofosforlu insektisitlerden birisi olan malationla yapılan bir başka çalışmada ise 0.05 ve 0.01 ppm malation *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae)'da ortalama yaşam süresini 2.75 ile 3.75 güne indirmiştir. Ancak daha yüksek uygulamalarda 24 saat içinde %100 ölüme neden olmuştur. Ayrıca malationun yumurta verimini önemli ölçüde azalttığı da gözlenmiştir (Özkan and Emre 1997).

Beckage *et al.* (1988), bir Hymenopter olan *Cotesia congregata* üzerinde yaptıkları çalışmada, 10 µg azadiraktini 4. evre larvaya enjekte ettiklerinde, deri değiştirmenin baskılandığını ve %100 ölümün gerçekleştiğini belirlemişlerdir. *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) ile yapılan bir çalışmada ise ergin parazitoidlerin yine azadiraktin içeren besinle beslenmesi sonucu ömür uzunluklarının erkek bireylerde %25,1 dişi bireylerde ise %15,7 oranında kısaldığı belirlenmiştir (Ruiu *et al.* 2008). Stapel *et al.* (2000), tarafından yapılan bir çalışmada da Amerika Birleşik Devletleri'ndeki pamuk ekim alanlarında İMi'nin düzenli olarak kullanılması ile bir Hymenopter olan *Microplitis croceipes* dişilerinde ömür uzunluğunun kısaldığı, konak arama yeteneğinin ise 2 ile 18 gün periyodunda azaldığı gözlenmiştir. %5 azadiraktin ile 72 saat beslenen *Helicoverpa armigera* (yeşil kurt) larvalarında 2. larval evrede %50, 4. larval evrede ise %40 oranında ölüm meydana geldiği belirlenmiştir (Wakil *et al.* 2008).

Çakır ve Sarıkaya (2004) ise 1, 3, 5 ve 7 ppm dozlarında danizinon, diklorvos, metil paration ve azametifos gibi insektisitleri 2 ile 4 saat boyunca kronik olarak *Drosophila melanogaster*'in ergin bireylerine uygulamış ve artan doza bağlı olarak bütün insektisitlerin ömür uzunluğunu %21 ile %75 oranında azalttığını ve yüksek oranda mortaliteye neden olduğunu gözlemişlerdir. Daha önce yapılan çalışmalarda, insektisitlerin farklı organizmaların çeşitli gelişim parametrelerini etkiledikleri ve özellikle ömür uzunluğunu önemli ölçüde indirdiği gözlenmiştir. Tüm bu bulgular ile bizim sonuçlarımız paralellik göstermektedir.

İnsektisitler çeşitli canlı gruplarında konak arama yeteneğini, ömür uzunluğu, yumurta verimi ya da yumurta açılımını inhibe etmektedir. Ancak insektisitlerin bu tip etkilerinin dışında sitotoksik etkili oldukları da bildirilmiştir. Örneğin; 10, 15 ve 20 mg/kg deltametrinin i.p. olarak 24, 30 ve 35 saat boyunca uygulanmasının albino farelerde sperm anormallikleri ile kemik iliğinde kromozom anormallikleri ve mikronükleus oranlarını önemli derecede artırdığı belirlenmiştir (Bhunya and Pati 1990). Bu gibi sitotoksik etkilerin ömür uzunluğunu azaltabileceği de kuvvetle muhtemeldir.

Enzim aktivitesi çalışmaların da ise *D. melanogaster*'in hem dişi hem de erkek bireylerine farklı konsantrasyonlarda uygulanan İMİ ve ASE'nin, beyin hücreleri homojenatında AChE enzim aktivitesini kontrol grubuna göre artırdığı görülmüştür (Çizelge 4.5-4.6). Buna karşın 2.0 ppm İMİ ve 2.0 ppm ASE ile birlikte SL_{su}, HS_{su}, CBP_{su} ve TO_{su} ekstraktları aynı anda uygulandığı zaman ise kullanılan tüm bitkisel ekstraktların İMİ ve ASE'nin sebep olduğu AChE enzim aktivitesindeki artışı düşürdüğü (Çizelge 4.7-4.8) ve bu değerlerin kontrol grubu değerlerine yaklaştığı belirlenmiştir (p<0.05).

Chang *et al.* (2006), yaptığı bir çalışmada tatlı su karidesi olan *Macrobrachium rosenbergii*'yi triklorfonun 0.2 ve 0.4 mg l⁻¹ dozlarına 24 saat süreyle maruz bırakarak hemolenf ve hepatopankreas dokularında AChE enzim aktivitesi değişimini gözlemişlerdir. Triklorfon, 0.2 ve 0.4 mg l⁻¹ hemolenf ve hepatopankreas uygulama gruplarında enzim aktivitesini düşürmüştür. Abou-Donia *et al.* (2008) ise Sprague-

Dawley sıçanına gebeliğinin 9. gününde i.p. olarak İMİ uygulaması yapmışlardır. Bu bireylerden doğan 30 günlük sıçan yavrularının beyin dokusunda AChE enzim aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Beyin dokusunda AChE enzim aktivitesinin artmasının, ACh miktarının dolayısıyla optimal nAChR işlevlerinin azalmasından kaynaklanan nörotoksik etkilere katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir.

Yine yapılan bir çalışmada, Güney Asya sazan balığına (*Labeo rohita*) 15, 30 ve 45 günlük süreler ile sipermetrin uygulanması yapılmış ve canlının beyin dokusunda uygulama süresine bağlı olarak AChE enzim aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. Özellikle 45 günlük uygulama sonucunda enzim aktivitesinin 15 ve 30 günlük uygulamalara göre önemli derecede azaldığı belirtilmiştir (Das and Mukherjee 2000). Moraes *et al.* (2011), sazan balığının (*Cyprinus carpio*) yaşam ortamına 7, 30 ve 90 gün boyunca bir herbisit çeşidi olan imazetapir eklemiş ve canlının beyin, kas ve karaciğer dokularında AChE enzim aktivitesindeki değişimleri araştırmışlardır. 7. günün sonunda, beyinde AChE aktivitesinin arttığını, kas dokusunda ise önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. 30. günün sonunda ise beyinde AChE aktivitesi azalırken, kas dokusunda artış olmuştur. 90. günün sonunda da yine kas dokusunda AChE aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Dondero *et al.* (2010) ise bir çeşit midye olan *Mytilus galloprovincialis*'in solungaç dokusunda, İMİ uygulamasının sonucunda AChE enzim aktivitesinin azaldığını, tiakloprid (THİ) kullanımının ya da her iki neonikotinoit'in (İMİ + THİ) aynı anda kullanımının ise AChE enzim aktivitesini artırdığını gözlemişlerdir. Yılan balığına (*Anguilla anguilla*) 96 saat süre ile 0.22 ppm tiyobenkarb uygulanması sonucu beyin dokusunda AChE aktivitesinin 2. saatten itibaren azaldığı ve toplamda %20 inhibisyona uğradığı belirlenmiştir. Ancak depurasyon (tekrar temiz suya bırakılma) süresinde AChE aktivitesinde inhibisyon gözlenmemiş tam aksine enzim aktivitesinde artış meydana gelmiştir (Fernández-Vega *et al.* 2002). Capowiez *et al.* (2003), tarafından yapılan çalışmada ise subakut olarak uygulanan İMİ'nin etkisindeki 2 farklı toprak solucanı türünde (*Aporrectodea nocturna* ve *Allolobophora icterica*) AChE aktivitesinin değişmediği belirtilmiştir.

Yapılan literatür çalışmalarında, farklı insektisitlerin çeşitli canlı gruplarında AChE aktivitesini değiştirdiği, bu değişimin uygulama dozu ve süresine bağlı olarak artış/azalış şeklinde meydana geldiği görülmüştür. Yapmış olduğumuz bu çalışmada artan doza bağlı olarak İMİ ve ASE'nin *D.melanogaster*'in beyin dokusunda AChE aktivitesini artırdığı belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuç literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir.

İnsektisitleri de kapsayan çevresel kirleticilerin oksidatif potansiyelleri, canlıda oksidatif strese neden olmaktadır. Oksidatif stres, reaktif oksijen partikülleri (ROS) oluşumu ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Canlıda artan serbest radikaller karbonhidrat, protein, lipit ve nükleik asit gibi biyomolekülleri veya hücresel komponentleri etkileyerek yeni serbest radikalleri oluştururlar ve hücrede yapısal hasarlar ile metabolik değişikliklere yol açarlar (Ferreira *et al.* 2006). Yıllardır çeşitli bitki ekstraktlarıyla insektisitlerin canlılar üzerinde oluşturmuş olduğu bazı hasarların giderilmesi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle nadir bulunan birçok bitki türünde mutajen ve karsinojen ajanları baskılayan maddelerin bulunduğu bilinmektedir (Bhattacharya 2011).

Rasekh *et al.* (2001) yaptıkları çalışmada, *Teucrium polium* (mayasıl otu)'un su ekstraktının hiperlipidemik ratlarda kolesterol ve trigliserit serum seviyelerini önemli derecede düşürdüğünü göstermişlerdir. Halk arasında er kurtaran, kısa mahmut, dalak otu gibi farklı isimler ile bilinen *Teucrium chamaedrys* L. bitkisinin ise gövde, yaprak ve çiçek kısımları kaynatılıp suyu içilebilmektedir. Ayrıca bu bitkinin halk arasında tıbbi olarak romatizma ve karın ağrısı şikâyetlerinde yatıştırıcı olarak kullanıldığı da bilinmektedir (Baytop 1999). Panovska *et al.* (2005), *Teucrium montanum* L. (yermeşesi) ile yaptıkları çalışmada, bu bitkinin serbest radikal giderici, hidroksi radikal giderici olduğunu ve *in vitro* doğal bir antioksidan olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise *Teucrium orientale* (kirve otu) bitkisinden izole edilen ve bir flavonoit olan luteolin 7-*O*-rutinozit isimli antioksidanın son derece güçlü bir radikal süpürücü olduğu belirtilmiştir (Çakır *et al.* 2006).

Mukherjee *et al.* (2007) yaptıkları çalışmada; Acanthaceae (Ayıpençesigiller), Apocynaceae (Zakkumgiller), Amaryllidaceae (Nergisgiller), Araceae (Yılanyastığıgiller), Berberidaceae (Karamukgiller), Buxaceae (Şimşirgiller), Compositae (Bileşikgiller), Coniferae (Kozalakgiller), Cyperaceae (Hasırotugiller), Ericaceae (Fundagiller), Euphorbiaceae (Sütlegengiller), Fumariaceae (Şahtereotugiller), Gentianaceae (Gentiyangiller), Guttiferae (Binbirdelikotugiller), Lamiaceae (Ballıbabagiller), Leguminosae (Baklagiller), Liliaceae (Zambakgiller), Lycopodiaceae (Kibritotugiller), Malvaceae (Ebegümeçigiller), Magnoliaceae (Manolyagiller), Molluginaceae (Halıotugiller), Moraceae (Dutgiller), Musaceae (Muzgiller), Papaveraceae (Haşhaşgiller), Piperaceae (Karabibergiller), Rubiaceae (Kökboyagiller), Rutaceae (Sedefotugiller), Solanaceae (Patlıcangiller) ve Tamaricaceae (İlgıngiller) familyalarına ait bitkilerin potansiyel AChE enzimi inhibitörleri olduğunu belirtmişlerdir.

Ramos *et al.* (2010) *Salvia officinalis* (SO), *S. fruticosa* (SF) ve *S. lavandulifolia* (SL) ekstraktlarının ve bunların temel bileşenleri olan rosmarinikası (RA) ve luteolin-7-glukozidin (L-7-G) oksidatif ajanlara maruz bırakılmış Caco-2 ve HeLa hücre DNA'larının korunması ve Caco-2 hücre DNA'sının onarılması üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak SO, SF ve SL bileşenlerinin (RA ve L-7-G) hücreleri oksidatif DNA hasarlarına karşı koruduğu ve DNA onarımını uyardığı belirlenmiştir. Eidi and Eidi (2009) ise *S. officinalis* yapraklarının, normal ve diyabetik fareler üzerine antidiyabetik etkisini araştırmışlardır. Yapraklardan hazırlanan etanol ekstraktı, diyabetik farelerde serum glikoz, trigliserit ve toplam kolesterol miktarının azalmasına neden olurken normal farelerde herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir. Ayrıca *S. fruticosa* (Anadolu ada çayı)'dan elde edilen yağın insanlarda kolinesteraz enzimini zamana ve doza bağlı olarak inhibe ettiği ve nörotoksik etkileri giderdiği de saptanmıştır (Savelev *et al.* 2004). Yine *S. officinalis* (tıbbi ada çayı), *Sideritis perfoliata* (fincan çayı), *Satureja thymbra* (Halil İbrahim zahteri), *Laurus nobilis* (Akdeniz defnesi) ve *Pistacia palestina* (Filistin sakızı) bitkilerine ait ekstraktların, insanda tümör hücrelerinin gelişmesini engellediği belirlenmiştir (Loizzo *et al.* 2007). *S. miltiorrhiza*, *S. verticillata* ve *S. przewalskii* gibi farklı ada çayı türlerinin köklerinden ve yapraklarından metanol

ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve *S. przewalski*'nin yaprak ekstraktının en güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Matkowski *et al.* 2008).

Nino *et al.* (2006), Kolombiya florasında bulunan bazı bitkilerin ham ekstraktlarının AChE enzimi üzerine *in vitro* inhibisyon etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışma için, *Asteraceae* (Papatyagiller), *Euphorbiaceae* (Sütlegengiller), *Rubiaceae* (Kökboyagiller) ve *Solanaceae* (Patlıcangiller) familyasından yirmiyedi çeşit bitki kullanılmıştır. Sonuç olarak en iyi inhibisyona sahip bitkilerin *Solanaceae* familyasından *Solanum lycocarpum* ve *Witheringia coccoloboides* türlerine ait ekstraktlar olduğu bulunmuştur.

Orhan *et al.* (2004) tarafından 21 çeşit tıbbi bitkinin kloroform: metanol (1:1) ekstraktlarının hem AChE hem de bütirilkolinesteraz enzimleri üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Yapılan bu *in vitro* çalışmada, tıbbi bitkilerden bazılarının %inhibisyon oranlarını önemli ölçüde değiştirdiği görülmüştür. Özellikle Ericaceae (Fundagiller) familyasındaki bazı bitkilerin AChE'yi, Fumariaceae (Şahtereotugiller) ve Caesalpiniaceae familyasındaki bazı bitkilerin ise bütirilkolinesterazı kuvvetle inhibe ettikleri belirlenmiştir.

Hypericum cinsine ait bitkiler ile yapılan çalışmalarda, ovaryum kanseri, mide kanseri, lenfosit tümörü ve çeşitli karsinomların etkili bir şekilde tedavi edildiği gözlenmiştir (Duke 1985). Çakır *et al.* (2003), *Hypericum hyssopifolium* (binbirdelikotu)'un metanol ekstraktlarında bulunan hiperisin, I3, II8 biapigenin, kuarsetin flavonoidleri ve kuarsetin glikozidlerinin güçlü antioksidan aktivite gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada, *H. hyssopifolium*'a ait tüm ekstraktların güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu ve 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikallerini giderme aktivitesinin yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan başka bir çalışmada, *Hypericum perforatum* (sarı kantaron) ekstraktının antioksidan etkisini değerlendirmek amacıyla insan plasenta damar dokusu kullanılmış ve bu bitkinin insan plasenta damar dokusunda oluşan serbest radikal üretimini inhibe ettiği belirlenmiştir (Hunt *et al.* 2001).

Uysal vd (2009), *Lobaria pulmonaria* likeninden elde edilen metanol, kloroform ve su ekstraktlarının *D. melanogaster*'in erkek ve dişi popülasyonlarının ömür uzunluğu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda, *L. pulmonaria*'nın metanol, kloroform ve su ekstraktlarına maruz bırakılan her iki popülasyonda da ömür uzunluğunun konsantrasyon artışına paralel olarak arttığı gözlenmiştir. Metanol ekstraktının kloroform ve su ekstraktına göre daha etkili olduğu, su ekstraktının ise metanol ve kloroform ekstraktlarına göre daha az etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Yine Uysal *et al.* (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, *D. melanogaster*'e EMS (etil metansülfonat) uygulamasından sonra meydana gelen genotoksik hasar, *Echium amoenum* (engerek otu)'un metanol ekstraktı ve *Rosa canina* (kuşburnu)'nın etanol (Kızılet *et al.* 2013) ekstraktı ile giderilmiştir. Aynı şekilde insan lenfosit hücrelerine uygulanan sipermetrin ve fenvalerat insektisitlerinin oluşturduğu genotoksik hasarın da yine *R. canina* bitkisine ait su ve etanol ekstraktları ile giderilebildiği tespit edilmiştir (Kasımoğlu and Uysal 2014).

Kuroda *et al.* (1976) yaptıkları çalışmada, *C. bursa-pastoris* bitkisine ait ekstraktların farelerde Ehrlich solid tümör gelişimini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Devi *et al.* (2007) ise gastrik ülser oluşturulmuş ratlara uygulanan *Terminalia arjuna* ekstraktının ülserin iyileşmesini sağladığı ve bu iyileşmenin de hücrelerde biriken serbest radikallerin süpürülmesi suretiyle olduğunu belirtmişlerdir. *Ginkgo biloba* (Japon eriği) EGb761 ekstraktının bir tür nematod olan *Caenorhabditis elegans*'ın ömür uzunluğu üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalarda, bitki ekstraktının oksidatif strese direnci artırarak *C. elegans*'ın ortalama ömrünü %10 oranında uzattığı belirlenmiştir (Kampkötter *et al.* 2007). Salehi *et al.* (2005) tarafından *Ziziphora clinopodioides* (kekik) bitkisinin metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ve radikal süpürücü etkisi incelenmiş ve bu bitkiye ait ekstraktın güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit edilmiştir. *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye) bitkisinin ise antioksidan, antiviral ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkilerinin olduğunu belirlenmiştir (Gachkar *et al.* 2007).

Son yıllarda insana ve hedef olmayan organizmalara daha az etkili olan, hedef organizmalar için ise en etkili insektisit geliştirme çabaları artmıştır (Tomizawa and

Casida 2009). Bu amaçla 1980 yılından itibaren neonikotinoid grubu insektisit üretimine başlanmıştır. Neonikotinoid insektisitlerden olan ve çalışmamızda da kullandığımız İMİ ve ASE, böceklerin sinir sistemine etkileyerek toksik etkiye sebep olmaktadır. Şöyle ki; AChE enzimi sinir sisteminin sağlıklı çalışması için gerekli bir enzimdir. ACh, sinirler arasında ve sinirlerden kaslara iletimi sağlar, salındıktan sonra ise bu iletilerin temizlenmesi gerekir. Aksi takdirde iletim devam eder. Bu temizleme işlemi, AChE tarafından gerçekleştirildiğinden sinirler arasındaki sinyallerin düzgün bir şekilde iletilmesi için bu enzim gereklidir. ACh, kolinerjik nöronların gövdesinde bulunan kolin ile asetilCoA'dan gelen asetilin kolinasetiltransferaz (ChAT) enzimi tarafından birleştirilmesi yoluyla oluşmaktadır. Oluşan ACh, aksonal transport yoluyla sinir uçlarına taşınır ve sinaptik aralığa salınır. Normal kolinerjik ileti, sinaptik aralıktaki ACh'in, kolinesteraz enzimleri tarafından hızlı katalitik hidrolizi yolu ile sonlandırılmasına bağlıdır (Swartz 2000). Bu hidroliz sonucu sinaptik aralıkta oluşan kolin tekrar presinaptik nörona alınır ve ACh sentezinde kullanılır. Kolinesterazların ortamda bulunmaması, hemasetilkolin sentezi için gereken hücre içi kolinaz almasına hem de sinaptik aralıktaki ACh etkisinin uzamasına yol açmaktadır (Silver 1974; Mesulam *et al.* 2002). Organizmalarda AChE'nin inhibisyonu sinir sisteminin aşırı uyarılmasına, solunum faaliyetlerinin durmasına ve sonuçta ölüme neden olmaktadır (Balali-Mood and Shariat 1998). Böceklerde neonikotinoid zehirlenmesinin belirtileri ise düzenli olmayan abdominal titreme, kanatları germe, şiddetli vücut sarsıntısı, halsizlik, felç ve sonunda ölüm şeklinde gözlenmektedir (Schroeder and Flattum 1984).

Uzun süreli insektisit maruziyetlerinde canlıların antioksidan savunma mekanizmasının etkilendiği bildirilse de antioksidan enzim aktiviteleriyle ilgili çalışma sonuçları oldukça değişkenlik göstermektedir (Thapar *et al.* 2002). Bazı çalışmalar insektisitlerin neden olduğu oksidatif stres ve serbest radikalleri ortadan kaldırmak amacıyla aktivasyonun arttığını bildirirken (Bayoumi *et al.* 2001; Kalender *et al.* 2004), bazı araştırmalar ise insektisit metabolizması sonucu oluşan oksidan moleküllerinin enzimlere bağlanarak aktivitelerini inhibe ettiğini göstermektedir (Panemangalore and Bebe 2000; Kanbur *et al.* 2008). Ayrıca nAChR'lerin uyarılmasının nitrik oksit (NO) üretimini de arttırdığı farklı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Clouse *et al.* 2000; Green *et al.* 2000).

İnsektisitlerin toksik etkileri sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri, birçok oksidatif olayı ve lipid peroksidasyonu tetikleyerek doku hasarlarına neden olmaktadır (Kanbur *et al.* 2008). Beyin, yüksek oranda metabolik aktiviteye, düşük antioksidan kapasitesine ve yenilenemeyen nöronal hücrelere sahip olduğundan oksidatif hasara karşı en hassas dokudur (Shohami *et al.* 1997). Bu nedenle de en çok etkilenen hücrelerin başında gelmektedir.

nAChR'ler, böcekler ve memelilerin sinir sisteminde bulunan temel iyon uyarıcı reseptörlerdir. Memelilerde ayrıca sinir kas kavşağında kas hücre zarı üzerinde bol miktarda bulunurlar (Raymond-Delpech *et al.* 2005). Reseptörün hücre dışında uzun N-terminal bölümü yer alır ve uyarıcı özellikteki bir nörotransmitter olan ACh'nin bağlanma bölgesini oluşturur. Reseptöre ACh'nin bağlanmasıyla birlikte, nAChR'lerin merkezinde yer alan iyon kanalından, katyon iyon akışı gerçekleşir (Karlin 2002). Böylece sinaps sonrası sinir ve kas hücre zarı depolarize olurken aksiyon potansiyelinin oluşumu tetiklenmiş olur. nAChR, neonikotinoid insektisitlerin hedef bölgesidir. Bu insektisitler sinir sistemindeki nAChR'lere bağlanıp agonist (uyarılma) gibi etki ederek nöroeksitasyon (nöronun uyarılması) yaratırlar (Scharf 2003). Neonikotinoidlerin ilk toksik belirtisi, nAChR'e üzerine gösterdikleri agonist etki ile ortaya çıkan nöroeksitasyon iken diğer bir etkisi ise uzun süren nöroinhibitör etkileridir (Watson 2001). Nöronal nAChR'lerin Ca^{2+} geçirgenliği oldukça fazladır. Ayrıca, nöronal nAChR'lerin aktivasyonu sonucu artan Ca^{2+} üretimi önemli hücre içi sinyaller oluşturabilir (Vernino *et al.* 1992; Dajas-Bailador and Wonnacott 2004). Rathouz *et al.* (1996), nikotinik agonistlerin nAChR'lere bağlanmasıyla voltaj-kapılı Ca^{2+} kanallarının aktive olduğunu ve bunun sonucunda hücre içi Ca^{2+} salgılanmasını arttığını bildirmişlerdir. Kullanılan neonikotinoid çeşidine, kullanılan canlı türüne ve etki ettiği dokuya göre neonikotinoidlerin etkileri canlıdan canlıya değişiklik göstermektedir (Dondero *et al.* 2010).

Eski çağlardan beri tarım ürünlerini korumada kullanılan insektisitlerin, günümüzde gelişen tekniklerle hedef dışı canlılara karşı daha az toksik olarak üretilmeleri amaçlanmıştır. Ancak yaptığımız çalışma ve daha önce yapılan benzer çalışmalar, bu

toksisitenin düşük dozlarda bile hedef dışı organizmalarda özellikle sinir sistemi üzerine etkilerini göstermektedir. Bu çalışmada, son yıllarda ülkemizde de tarım alanlarında zararlı böceklerin öldürülmesinde kullanımına sıklıkla başvuru alan neonikotinoid insektisitlerden İMİ ile ASE'nin *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine olası toksik etkileri incelenmiştir. Her iki insektisit artan dozlarına bağlı olarak *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerinde oluşturdukları toksik etkilerden dolayı ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Buradan yola çıkarak çok düşük dozlarda bile kullanılacak İMİ ve ASE'nin zararlı böceklerin yanı sıra hedef dışı böceklerin yaşamını olumsuz etkileyebileceği belirlenmiştir.

Ülkemizde de geniş yayılış gösteren *S. lavandulifolia* Vahl., *H. scabrum* L., *C. bursa-pastoris* Medik. ve *T. orientale* L. bitkilerine ait su ekstraktlarının, İMİ ve ASE insektisitlerine karşı antioksidan kapasitelerinin olup olmadığı da bu çalışmayla tespit edilmeye çalışılmıştır. Toksik etkilere sahip olduğunu belirlediğimiz İMİ ve ASE'nin bu etkilerini giderebilmek için her bitkiye ait su ekstraktı uygulaması İMİ ve ASE insektisitleri ile birlikte yapılmıştır. Kullanılan tüm bitkisel su ekstraktlarının insektisitlerin toksik etkilerini ortadan kaldırarak *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerinde yaşam sürelerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırmalarından dolayı bütün bitkilerin antioksidan kapasitesine sahip olduğunu söyleyebiliriz. Ancak deneylerimizde kullandığımız bu bitkiler, maksimum ömür uzunluğu, ortalama ömür uzunluğu ve enzim aktivitesi etkileri bakımında ele alındığı zaman, en etkili ekstraktın *S. lavandulifolia* Vahl., bitkisine ait olduğu belirlenmiştir. Daha sonra ise sıralama *H. scabrum* L., *C. bursa-pastoris* Medik. ve *T. orientale* L. şeklindedir ($SL_{su} > HS_{su} > CBP_{su} \geq TO_{su}$). En düşük iyileştirici etkiye sahip olan *C. bursa-pastoris* Medik. ve *T. orientale* L. bitkilerine ait su ekstraktı bile incelemiş olduğumuz maksimum ömür uzunluğu, ortalama ömür uzunluğu ve enzim aktivitesi gibi gelişim parametrelerine ait değerleri, kontrol grubu değerlerine yaklaştırmıştır.

Bu bitkilerin antioksidan özelliklerinin ise onların sahip olmuş olduğu farklı bileşik yapılarından kaynaklandığı söyleyebilmek mümkündür. Şöyle ki; daha önce yapılan literatür incelemelerine göre, *S. lavandulifolia* bitki ekstraktı çeşitli uçucu yağlar (bornil

asetat, terpineol), terpenler (borneol, limonen, α -pinen, β -pinen, geraniol) ve flavonoidler (salvigenin, rutin, luteolin, hispidulin) açısından oldukça zengindir. (Lu and Foo 2002; Savelev *et al.* 2004; Şenol 2009). *H. scabrum* bitki ekstraktında ise naftodiantronlar (hiperisin, psödohiperisin), floroglusinoller (hiperforin, adhiperforin), flavonoidler (hiperozit, kesretin, kemferol, mirisetin, kersitrin, amentoflavon, isokersitrin), tanenler (prosiyanidin, kateşin, epikateşin polimerleri, kateşik tanen, kafeik asit) ve uçucu yağlar (metil-2-oktan, n-nonan, metil-2-dekan) bol miktarda bulunmaktadır (Hegnauer 1989; Kurbanov and Mutayev 1993; Çakır *et al.* 1997). *C. bursa-pastoris* bitkisinin ekstraktında çok fazla miktarda flavonoid (tricin, kaempferol, kesretin) ve birçok yağ asiti (azelaik asit, palmitik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit, araşidik asit) vardır (Kılıç vd 2007; Song *et al.* 2007). *T. orientale* bitkisinin ekstraktlarında ise uçucu yağlar (α -thujen, α -pinen, 3-oktanol, kamfen, β -pinen), flavonoidler (luteolin-7-*O*-rutinosid, luteolin-7-*O*-glukozid, hesperetin-7-*O*-rutinosid, 8-*O*-acetyl harpagid, 8-*O*-methyl harpagid) ve tanenler (geraniol, karvakrol) yer almaktadır (Çakır *et al.* 2006; Yaylı 2007). Bu konuda yapılan tüm çalışmalar, bitkisel ekstraktların içermiş olduğu bu gibi bileşiklerin antioksidan, antibakteriyel ve antimutajenik etkilerini işaret etmektedir.

Bu çalışma, *D. melanogaster*'in çeşitli gelişim parametreleri üzerine İMİ ve ASE insektisitlerinin toksik etkileri ile ilgili yeni bilgiler elde etmemizi sağlamıştır. Bu bilgiler, biyokimyasal toksikoloji alanında yapılan çalışmalara katkı sağlayacak ve öncü bilgi olarak kullanılabilecektir. Ayrıca, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu/olabileceği bilinen bitki ekstraktlarının belirlenerek, bunların gıda ve sağlık sistemlerindeki etkilerinin incelenmesi ve çalışılması ile çeşitli hastalıkların alternatif yollar ile tedavi edici uygulamalarına yönelik devamlılığın sağlanması oldukça önem teşkil etmektedir.

KAYNAKLAR

- Abou-Donia, M.B., Goldstein, L.B., Bullman, S., Tu, T., Khan, W.A., Dechkovskaia, A.M. and Abdel-Rahman, A.A., 2008. Imidacloprid induces neurobehavioral deficits and increases expression of glial fibrillary acidic protein in the motor cortex and hippocampus in offspring rats following in utero exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 71 (2), 119-130.
- Aksakal, Ö., 2006. Erzurum ve Çevresinde Yetişen *Salvia* L. Cinsine ait Bazı Türlerin (*Salvia longipedicellata*, *Salvia rosifolia*) Morfolojisi ve Otoekolojisi Üzerine Araştırmalar. Y. Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Aksoy, A., Dixon, J.M. and Hale, H.G., 1998. *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medicus, *Thlaspi bursa-pastoris* L., *Bursa bursa-pastoris* (L.) Shull, *Bursa pastoris* (L.) Weber. *Journal of Ecology*, 86, 171-186.
- Allemand, R., Cohet, Y. and David, J., 1973. Increase in the longevity of adult *D. melanogaster* kept in permanent darkness. *Experimental Gerontology*, 8, 279-283.
- Altun Çolak, D. and Uysal, H., 2014. Protective effects of Coenzyme Q10 and Resveratrol on PeCDD induced oxidative stress on transheterozigot larvae of *Drosophila melanogaster*. 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels, Isparta, Turkey.
- Ambrose, M.L., 2003. Characterization of the Insecticidal Properties of Acetamiprid Under Field and Laboratory Conditions. A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University, Raleigh, USA.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M., 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of ageing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90, 7915-7922.
- Anonymous, 2010. <http://sls.weco.net/CollectiveNote20/AD> (24.02.2015).
- Aras, K. ve Ersen, G., 1988. Tıbbi Biyokimya Teorik ve Klinik Enzimoloji. Ankara Üniversitesi Basımevi, 198-203 s, Ankara.
- Ashburner, M. and Wright, T.R.F., 1978. The Genetics and Biology of *Drosophila*. Academic Press Limited, Volume 2c, 617 p, London.
- Ayar, A., Uysal, H. and Altun, D., 2009. The effects of cold shock on the longevity in Oregon R wild *Vestigial* mutant of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Ekoloji*, 19 (74), 38-44.
- Ayar, A., Uysal, H., Altun, D. and Aşkın, H., 2012. The effects of heat shock on the longevity in some strains of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Applied Biological Sciences*, 6 (1), 51-55.
- Azırac, S. and Erdoğan, Ö.T., 2003. Antibacterial activities of *Hypericum scabrum*. ISOPS-7: International Symposium on Pharmaceutical Sciences-7, Ankara University, Faculty of Pharmacy Publications, Proceedings and Abstracts, 17-21 s, Ankara, Turkey.
- Bağcı, G. ve Bozcuk, A.N., 1991. Ergin *Drosophila* 'nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın etkisi. *Doğa-Turkish Journal of Biology*, 15, 124-131.

- Bağcı, G., Bağcı, H. ve Bozcuk, A.N., 1990. Minimum sıcaklık dalgalanmalarının ömür uzunluğuna etkisi. *Doğa-Turkish Journal of Biology*, 14, 1-5.
- Balali-Mood, M. and Shariat, M., 1998. Treatment of organophosphate poisoning. Experience of nerve agents and acute pesticide poisoning on the effects of oximes. *Journal of Physiology*, 92 (5), 375-378.
- Bayoumi, A.E., Garcia-Fernandez, A.J., Ordonez, C., Perez-Pertejo, Y., Cubria, J.C., Reguera, R.M., Balana-Fouce, R. and Ordonez, D., 2001. Cyclodiene organochlorine insecticide induced alterations in the sulfur-redox cycle in CHO-K1 cells. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 130, 315-323.
- Baytop, T., 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, Türkiye.
- Baytop, T., 1994. A Dictionary of Vernacular Names of Wild Plants of Turkey. Publication of the Türk Dil Kurumu (The Turkish Language Society) No. 578. Ankara.
- Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi - Geçmişten Bugüne 2. Baskı. Nobel Tıp Basımevi, 348-349 s, İstanbul.
- Beckage, N.E., Metcalf, J.S., Nielson, B.D. and Nesbit, D.J., 1988. Disruptive effects of azadirachtin on development of *Cotesia congregata* in Host Tobacco Hornworm Larvae. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 9, 47-65.
- Bedir, E., Manyam, R. and Khan, I.A., 2003. Neo-clerodane diterpenoids and phenylethanoid glycosides from *Teucrium chamaedrys* L. *Phytochemistry*, 63, 977-983.
- Bhattacharya, S., 2011. Natural antimutagens: A review. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5, 116-126.
- Bhunya, S.P. and Pati, P.C., 1990. Effect of deltamethrin, a synthetic pyrethroid, on the induction of chromosome aberrations, micronuclei and sperm abnormalities in mice. *Mutagenesis*, 5, 229-232.
- Bombardelli, E. and Morrazzoni, P., 1995. *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, 66 (1), 43-68.
- Bozcuk, A.N., 1972. DNA synthesis in the absence of somatic cell division associated with ageing in *Drosophila subobscura*. *Experimental Gerontology*, 7, 147-156.
- Bozcuk, A.N., 1978. The effects of some genotypes on the longevity of adult *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 13, 279-286.
- Bozcuk, S., 1970. Water and Salt Relations of Static Species with Particular Reference to the Problem of Halophytes. Ph. D, Thesis University of Sussex, UK.
- Burits, M. Bucar, F., 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, 323-328.
- Çakır, A., Duru, M.E., Harmandar, M., Ciriminna, R., Passannanti, S. and Piozzi F., 1997. Comparison of the volatile oils *Hypericum scabrum* L. and *Hypericum perforatum* L. from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 12, 285-287.
- Çakır, A., Mavi, A., Kazaz, C., Yıldırım, A. and Küfrelioğlu, O.I., 2006. Antioxidant activities of the extracts and components of *Teucrium orientale* L. var. *orientale*. *Turkish Journal of Chemistry*, 30, (4), 483-494.
- Çakır, A., Mavi, A., Yıldırım, A., Duru, M.E., Harmandar, M. and Kazaz, C., 2003. Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology*, 87 (1), 73-83.

- Çakır, Ş. ve Sarıkaya, R., 2004. Bazı organik fosforlu insektisitlerin *Drosophila melanogaster*'in yaşama yüzdesi üzerine etkisi. Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 24 (3), 71-80.
- Capowiez, Y., Rault, M., Mazzia, C. and Belzunces, L., 2003. Earthworm behaviour as a biomarker a case study using imidacloprid. *Pedobiologia*, 47, 542-547.
- Casida, J.E. and Quistad, G.B., 1998. Golden age of insecticide research: past, present or future. *Annual Review of Entomology*, 43, 1-16.
- Casida, J.E. and Quistad, G.B., 2004. Why insecticides are more toxic to insect than people: The unique toxicology of insects. *Journal of Pesticide Science*, 29, 81-86.
- Chang, C.C., Leeb, P.P., Hsu, J.P., Yeh, S.P. and Cheng, W., 2006. Survival, and biochemical, physiological, and histopathological responses of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to short-term trichlorfon exposure. *Aquaculture*, 253, 653-666.
- Charlesworth, B., 1994. *Evolution in Age-Structured Populations*. Cambridge University Press, 320 p, Cambridge, England.
- Chen, X.G., Li, Y., Yan, C.H., Li, L.N. and Han, R., 2001. Cancer chemopreventive activities of S-3-1, a synthetic derivative of tanshinone. *Journal of Asian Natural Products Research*, 3, 63-75.
- Chippindale, A.K., Leroi, A.M., Kim, S.B., and Rose, M.R., 1993. Phenotypic plasticity and selection in *Drosophila* life- history evolution. I. Nutrition and the cost of reproduction. *Journal of Evolutionary Biology*, 6, 171-193.
- Clancy, D.J., Gems, D., Harshman, L.G., Oldham, S., Stocker, H., Hafen, E., Leivers, S.J. and Partridge, L., 2001. Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein. *Science*, 292, 104-106.
- Clouse, W.D., Yamaguchi, H., Phillips, M.R., Hurt, R.D., Fitzpatrick, L.A., Moyer, T.P., Rowland, C., Schaff, H.V. and Miller, V.M., 2000. Effects of transdermal nicotine treatment on structure and function of coronary artery bypass grafts. *Journal of Applied Physiology*, 89, 1213-1223.
- Curtis, B.A., 1966. Ca fluxes in single twitch muscle fibers. *Journal of General Physiology*, 50, 255.
- Dağ, S.S., Aykaç, V.T., Gündüz, A., Kantarcı, M. ve Şişman, N., 2000. Türkiye'de tarım ilaçları endüstrisi ve geleceği. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi, Cilt 2, 933-958 s, Ankara.
- Dajas-Bailador, F. and Wonnacott, S., 2004. Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling. *Trends in Pharmacological Sciences*, 25 (6), 317-324.
- Dalgıç, B.Ş., Koçak, B., Özsoy-Emecen, G., Bozcuk, A.N., Ünlü, H. ve Saka, B., 2002. Elektromanyetik radyasyonun ergin *Drosophila melanogaster* mutantlarında ömür uzunluğuna etkisi. XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, Özetler, Malatya.
- Das, B.K. and Mukherjee, S.C., 2000. A Histopathological study of Carp (*Labeo rohita*) exposed to hexachlorocyclohexane. *Veterinarski Arhiv*, 70 (4), 169-180.
- David, J., Cohet, Y. and Fovillet, P., 1975. 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, 17-25.

- Davis, P.H., 1965. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, 1, 343-344 p, Edinburgh.
- Davis, P.H., 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, 5, 67-69 p, Edinburgh.
- Debat J, Lemaine J, Riffaud J.P., 1979. Therapeutical compounds containing cyclopentyl compounds. Patent Application, 2022413 A, United Kingdom.
- Defelice, M., 2001. Shepherd's-purse, *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic. Weed Technology, 15, 892-895.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A. 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve duyarlılık azalışı sorunları. Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 629-648 s, Ankara.
- Delen, N., Tosun, N., Toros, S., Öztürk, S., Yücel, A. ve Çalı, S., 1995. Tarım İlaçları Kullanımı ve Üretimi. Türkiye Cumhuriyeti Ziraat Bankası Kültür Yayınları No: 26, 1015-1028 s, Ankara.
- Devi, R.S., Narayan, S., Vani, G. and Devi, C.S.S., 2007. Gastroprotective effect of *Terminalia arjuna* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. Chemico-Biological Interactions, 167 (1), 71-83.
- Dondero, F., Negri, A., Boatti, L., Marsano, F., Mignone, F. and Viarengo, A., 2010. Transcriptomic and proteomic effects of a neonicotinoid insecticide mixture in the marine mussel (*Mytilus galloprovincialis*, Lam.). The Science of the Total Environment, 408 (18), 3775-3786.
- Duke, J.A., 1985. Handbook of Medicinal Herbs. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Dursun, O., Mert, K., Özgür, K., Orhan, D. ve Hatice, K., 2013. Sera Beyazsineği (*Trialeurades vaporariorum*, Westwood) üzerinde asetamiprid etken maddeli bazı preparatların etkisi. Türkiye Entomoloji Bülteni, 3 (2), 89-97.
- Eidi, A. and Eidi, M., 2009. Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes and Metabolic Syndrome Clinical Research and Reviews, 3 (1), 40-44.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andes, V. and Featherstone, R.M., 1961. A new, rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol, 7, 88-95.
- Erdoğrul, Ö.T., Azırak, S. and Tosyalı, C., 2004. Antimicrobial activities of *Hypericum scabrum* L. extracts. Journal of Science and Engineering, 7, 38-42.
- Feng, S., Kong, Z., Wang, X., Peng, P. and Zeng, E.Y. 2005. Assessing the genotoxicity of imidacloprid and RH-5849 in human peripheral blood lymphocytes *in vitro* with comet assay and cytogenetic tests. Ecotoxicology and Environmental Safety, 61, 239-246.
- Fernández-Vega, C., Sancho, E., Ferrando, M.D. and Andreu, E., 2002. Thiobencarb-induced changes in acetylcholinesterase activity of the fish *Anguilla anguilla*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 72, 55-63.
- Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M.L.M. and Araújo, M.E.M., 2006. The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. Journal of Ethnopharmacology, 108, 31-37.
- Finch, C.E., 1990. Longevity, Senescence and the Genome. University of Chicago Press, Chicago, USA.

- Fitzpatrick, G.E. and Dowell, R.V., 1981. Survival and emergence of citrus blackfly 280 (*Aleurocanthus woglumi*) parasitoids after exposure two insecticides. *Environmental Entomology*, 10 (5), 728-731.
- Fred, H. and Timothy, J.B., 1997. An analysis of resource allocation in response to dietary yeast in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 43 (8), 779-788.
- Gabriel, A., 1996. Etherischöl-Untersuchungen an *Salvia triloba* L. Windsammlungen aus der Westtürkei. Justus-Liebig Universität Gießen, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I, Gießen, Germany.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezae, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A. and Rasooli, I., 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102, 898-904.
- Gann, D., Phillimore, J., Thorburn, L., Simmonds, P. and Staton, M., 1996. Over - Specification of Engineering Services. A report sponsored by the SEC Group and the DoE Construction Sponsorship Directorate, Technopolis, Brighton.
- Gowen, J.W. and Johanson, L.E., 1946. On the mechanism of heterosis. I. Metabolic capacity of different races of *Drosophila melanogaster* for egg production. *The American Naturalist*, 80, 149-179.
- Graves, J.L. and Mueller, L.D., 1993. Population density effects on longevity. *Genetica*, 91, 99-109.
- Green, J.T., Richardson, C., Marshall, R.W., Rhodes, J., McKirdy, H.C., Thomas, G.A.O. and Williams, G.T., 2000. Nitric oxide mediates a therapeutic effect of nicotine in ulcerative colitis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 14, 1429-1434.
- Gubler, D.J., 1998. Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. *Emerging Infectious Diseases*, 4, 442-450.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. and Başer, K.H.C., 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, 11, Edinburgh.
- Güven, A., 2000. Asetilkolinesteraz'ın önemi ve inhibitörleri. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 6, 145-151.
- Haktanır, K. ve Arcaç, S., 1998. Çevre Kirliliği. Ankara Üniversitesi Yayınları No: 1503, 457 s, Ankara.
- Hammouda, O., Gaber, A. and Abdel-Raouf, N., 1995. Microalgae and wastewater treatment of pesticides, metals, and their effect on algal species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 31, 205-210.
- Harman, D., 1956. Ageing: A theory based in free radical and radiation chemistry. *Journals of Gerontology*, 2, 298-300.
- Hedge, I.C., 1965. *Capsella* Medik. In *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, 1, 343-344.
- Hedge, I.C., 1982. *Salvia* L. In *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, 7, 400-461.
- Hegnauer, R., 1989. Chemataxomic der Pflanzen. Birkhauser Verlag, 8, 218-225, Stuttgart.
- Hercus, M.J. and Hoffman, A.A., 2000. Maternal and grandmaternal age influence offspring fitness in *Drosophila*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 267, 2105-2110.

- Heywood, V.H., 1978. Flowering Plants of the World. Oxford University Press, 239, London.
- Hosseinnimehr, S.J., Ahmadashrafi, S., Naghshvar, F., Ahmadi, A., Ehasnalavi, S. and Tanha, M., 2010. Chemoprotective effects of *Zataria multiflora* against genotoxicity induced by cyclophosphamide in mice bone marrow cells. Integrative Cancer Therapies, 9, 219-223.
- Hsiao, Y.M., Lai, J.Y., Liao, H.Y. and Feng, H.T., 2004. Purification and characterization of acetylcholinesterase from oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 5340-5346.
- Hsieh, C.Y. and Allen, W.W., 1986. Effects of insecticides on emergence, survival, longevity and fecundity of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae) from mummified *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). Journal of Economic Entomology, 79, 1599-1602.
- Hughes, K.A. and Charlesworth, B., 1994. A genetic analysis of senescence in *Drosophila*. Nature, 367, 64-66.
- Hunt, E.J., Lester, C.E., Lester, E.A. and Tackett, R.L., 2001. Effect of St. John's wort on free radical production. Life Sciences, 69, 181-190.
- Iliadi, K.G., Kamyshev, N.G., Popov, A.V., Iliadi, N.N., Rashkovetskaia, E.L., Nevo, E. and Korol, A.B., 2009. Peculiarities of the courtship song in the *Drosophila melanogaster* populations adapted to gradient of microecological conditions. Zhurnal Evolyutsionnoi Biokhimii i Fiziologii, 45 (5), 478-85.
- Kagabu, S. and Akagi, T., 1997. Quantum chemical consideration of photostability of imidacloprid and related compounds. Pesticide Science Society of Japan, 22 (2), 84-89.
- Kagabu, S. and Medej, S., 1995. Stability comparison of imidacloprid and related compounds under simulated sunlight, hydrolysis conditions and tooxygen. Biotechnology and Biochemistry, 59 (6), 980-985.
- Kalender, S., Kalender, Y., Ögütçü, A., Uzunhisarcıklı, M., Durak, D. and Açıkgöz, F., 2004. Endosulphan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. Toxicology, 202, 227-235.
- Kampkötter, A., Pielarski, T., Rohrig, R., Timpel, C., Chovolou, Y., Wätjen, W. and Kahl, R., 2007. The *Ginkgo biloba* extract EGb761 reduces stress sensitivity, ROS accumulation and expression of catalase and glutathione S-transferase 4 in *Caenorhabditis elegans*. Pharmacological Research, 55 (2), 139-147.
- Kan, Y., Orhan, İ., Koca, U., Özçelik, B., Aslan, S., Kartal, M. and Küsmenoğlu, Ş., 2009. Fatty acid profile and antimicrobial effect of the seed oils of *Urtica dioica* and *U. pilulifera*. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, 6, 21-30.
- Kanbur, M., Liman, B.C., Eraslan, G. and Altinordulu, Ş., 2008. Effects of cypermethrin, propetamphos, and combination involving cypermethrin and propetamphos on lipid peroxidation in mice. Environmental Toxicology, 23 (4), 473-479.
- Karabay, N.U. and Oguz, M.G., 2005. Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos. Genetics and Molecular Research, 4 (4), 653-662.

- Karahan, F. and Yılmaz, H., 2001. Determination of some alpina plants suitable for landscape planning Erzurum and surroundings. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 25 (4), 225-233.
- Karlin, A., 2002. Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors. Nature Reviews Neuroscience, 3 (2), 102-14.
- Kasımoğlu, C. and Uysal, H., 2014. Mutagenic biomonitoring of pirethroid insecticides in human lymphocyte cultures: Use of micronuclei as biomarkers and recovery by *Rosa canina* extracts of mutagenic effects. Pharmaceutical Biology, doi:10.3109/13880209.2014.935865.
- Kent, M., 2000. Advanced Biology. Oxford University Press, England.
- Kidd, H. and James, D., 1994. Agrochemicals Handbook. Royal Society of Chemistry, Third Edition, Cambridge, England.
- Kılıç, C.S., Aslan, S., Kartal, M. ve Coşkun M., 2007. *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik (Cruciferae) tohumlarının ve köklerinin sabit yağ içerikleri açısından karşılaştırılması. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 36 (1), 1-7.
- Kirkwood, T.B.L., 2002. Evolution of ageing. Mechanisms of Ageing and Development, 123, 737-745.
- Kızılet, H., Kasımoğlu, C. and Uysal, H., 2013. Can the *Rosa canina* plant be used against alkylating agents as a radical scavenger? Polish Journal of Environmental Studies, 22, 1263-1267.
- Klarsfeld, A. and Rouyer, F., 1998. Effects of circadian mutations and LD periodicity on the lifespan in *Drosophila melanogaster*. Journal of Biological Rhythms, 13, 471-478.
- Kocaman, A., 2007. Acetamiprid ve Alpha-Cypermethrin Pestisidlerinin Tek Başına ve Karışım Halinde Kullanıldıkları Zaman İnsan Periferik Lenfositlerindeki *in vitro* Genotoksik Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Komitopoulou, K., Gans, M., Margaritis, L.M., Kafatos, F.C. and Masson, M. 1983. Isolation and characterization of sex-linked female-sterile mutations in *Drosophila melanogaster* with special attention to eggshell mutants. Genetics, 105, 897-920.
- Kumara Swamy, H.M., Krishna, V., Shankarmurthy, K., Abdul Rahiman, B., Mankani, K.L., Mahadevan, K.M., Harish, B.G. and Raja Naika, H. 2007. Wound healing activity of embelin isolated from the ethanol extract of leaves of *Embelia ribes* Burm. Journal of Ethnopharmacology, 109 (3), 529-534.
- Kurbanov, M.K. and Mutayev, M.M., 1993. Contents of biologically active substances in *Hypericum scabrum* L. growing in different regions of Tajikistan. Rastitel'nye Resursy, 29 (1), 40-43.
- Kuroda, K., Akao, M., Kanisawa, M. and Miyaki, K., 1976. Inhibitory effect of *Capsella bursa-pastoris* extract on growth of Ehrlich solid tumor in mice. Cancer Research, 36, 1900-1903.
- Lanciani, C.A., Anderson, J.F. and Giesel, J.T., 1991. Effect of photoperiod on metabolic rate in a subtropical population of *Drosophila melanogaster*. Comparative Biochemistry and Physiology, 2, 347-348.
- Lansing, A.I., 1947. A transmissible, cumulative, and reversible factor in aging. Journal of Gerontology, 2, 228-239.

- Lansing, A.I., 1948. Evidence for aging as a consequence of growth cessation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 34, 304-310.
- Lansing, A.I., 1952. *Crowdry's Problems of Ageing*. Williams and Wilking Ed: Baltimore, Maryland.
- Lin, Y.J., Seroude, L. and Benzer, S., 1998. Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*. *Science*, 282, 943-946.
- Lints, F.A. and Lints, L.V., 1971. Influence of preimaginal environment on fecundity and ageing in *Drosophila melanogaster* hybrids. III. Developmental speed and life span. *Experimental Gerontology*, 6, 427-445.
- Lints, F.A., 1963. Size in relation to development time and egg density in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 197, 1128-1130.
- Liu, G.Y., Ju, X.L. and Cheng, J. 2010. Selectivity of imidacloprid for fruit fly versus rat nicotinic acetylcholine receptors by molecular modelling. *Journal of Molecular Modelling*, 16, 993-1002.
- Loizzo, M.R., Tundis, R., Menichini, F., Saab, A.M., Statti, G.A. and Menichini, F., 2007. Cytotoxic activity of essential oils from Labiatae and Lauraceae families against *in vitro* human tumor models. *Anticancer Research*, 27, 3293-9.
- Lotti, M., 1995. Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation. *Clinical Chemistry*, 41, 1814-1818.
- Lu, Y. and Foo, L.Y., 2002. Polyphenolics of *Salvia*-a review. *Phytochemistry*, 59, 117-40.
- Lucero, L., Pastor, S., Suárez, S., Durbán, R., Gómez, C., Parrón, T., Creus, A. and Marcos, R., 2000. Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutation Research*, 464, 255-262.
- Machida, H., Kondo, T., Kanehira, K., Hagimori, I. and Kamio, T., 2008. The inhibitory effect of a combination of imidacloprid and permethrin on blood feeding by mosquitoes in dogs raised under outdoor conditions. *Veterinary Parasitology*, 154 (3-4), 318-324.
- Maenthaisong, R., Chaiyakunapruk, N., Niruntraporn, S. and Kongkaew, C., 2007. The efficacy of *Aloe vera* used for burn wound healing: A systematic review. *Burns*, 33, 713-8.
- Mair, W., Matthew, D.W. and Partridge, L., 2005. Calories do not explain extension of life span by dietary restriction in *Drosophila*. *PLOS Biology: A Peer-Reviewed Open-Access Journal*, 3 (7), 1305-1311.
- Mara, S.J., Mazzaron, G.R., Prates, M.M., Yanagui, K., Vilegas, W., Aparecida, V.E. and De Syllos Cólus, I.M., 2010. Cytotoxic and mutagenic evaluation of extracts from plant species of the *Miconia* genus and their influence on doxorubicin-induced mutagenicity: An *in vitro* analysis. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63 (5), 499-504.
- Martonfi, P., Repcak, M. and Zanvit, P., 2006. Secondary metabolites variation in *Hypericum maculatum* and its relative. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 56-59.
- Matkowski, A., Zielinska, S., Oszmjanski, J. and Zarawska, E.L., 2008. Antioxidant activity of extracts from leaves and roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *S. przewalskii* Maxim. and *S. verticillata* L. *Bioresource Technology*, 99 (16), 7892-7896.

- Matsuda, K., Buckingham, S.D., Kleier, D., Rauh, J.J., Grauso, M. and Sattelle, D.B., 2001. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22, 11, 573-580.
- Maynard-Smith, J., 1958. The effects of temperature and of egg-laying on the longevity of *Drosophila subobscura*. *The Journal of Experimental Biology*, 35, 832-842.
- McMillan, I., Fitz-Earl, M. and Rabson, D.S., 1970. Quantitative genetics of fertility I. life time egg production of *Drosophila melanogaster*. *Theoretical Genetics*, 65 349-353.
- Medawar, P.B., 1952. *An Unsolved Problem of Biology*. H.K. Lewis, 1-55 p, London.
- Medina, M.A., Martinez-Poveda, B., Amores-Sanchez, M.I. and Quesada, A.R., 2006. *Hyperforin*: Morethan an antidepressant bioactive compound? *Life Sciences*, 79, 105-111.
- Meister, R.T., 1995. *Farm Chemicals Handbook 95*. Meister Publishing Company, Willoughby, Ohio, USA.
- Mesulam, M.M., Guillozet, A., Shaw, P., Quinn, B., 2002. Widely spread butyrylcholinesterase can hydrolyze acetylcholine in the normal and Alzheimer Brain. *Neurobiology of Disease*, 9, 88-93.
- Miller, R.S. and Thomas, J.L., 1958. The effects of larval crowding and body size on the longevity of *Drosophila melanogaster*. *Ecology*, 39, 118-125.
- Mobbs, C.V., 1996. *Neuroendocrinology of Ageing*. Ed: Schneider EL, Rowe JW, *Handbook of the biology of aging*, Academic Press, 234-82 p, San Diego, USA.
- Moraes, B.S., Closen, B., Loro, V.L., Pretto, A., Toni, C., Avila, L.A., Marchesan, E., Machado, S.L.O., Zonella, R. and Reimche, G.B., 2011. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 328-335.
- Morgan, D.O., 2007. *The Cell Cycle: Principles of Control*. New Science Press.
- Mukherjee, P.K., Kumar, V., Mal, M. and Houghton, P.J., 2007. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 14, 289-300.
- Nafiz, D., Durmuşoğlu, E. ve Güncan, A., 2005. Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. 6. Türkiye Ziraat Fakültesi Kongresi Yayınları, 18 s, Ankara.
- Nagata, K., Song, J.H., Shono, T. and Narahashi, T., 1998. Modulation of the neuronal nicotinic acetylcholine receptor-channel by the nitromethylene heterocycle imidacloprid. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 285 (2), 731-738.
- Nakipoğlu, M. ve Oğuz, G., 1990. İzmir çevresinde yayılış gösteren Bazı *Salvia* (Adaçayı) türlerinin biyosistematigi üzerine araştırmalar. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1 (2), 23-29.
- Naranjo, S.E. and Akey, D.H., 2004. Comparative efficacy and selectivity of acetamiprid for the management of *Bemisia tabaci*. *Arizona Cotton Report*, 6, 198-207.
- Nelson, D.L. ve Cox, M.M., 2005. *Biyokimyanın Etkileri*. Palme Yayıncılık, 444-445 s, Ankara.
- Newall, C.A., Anderson, L.A. and Phillipson, J.D., 1996. *Herbal Medicines Pharmaceuticals*. Press London, 250-252 p, London, England.

- Nino, J., Hernandez, J.A., Correa, Y.M. and Mosquera, O.M., 2006. *In vitro* inhibition of acetylcholinesterase by crude plant extracts from Colombian Flora. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101 (7), 783-785.
- Noyan, A., 1996. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. Meteksan Yayınları, 1157 s, Ankara.
- Öncüer, C. ve Durmuşoğlu, E., 2008. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları No: 28, 220-224-299-300 ve 302 s, Aydın.
- Öncüer, C., 1995. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Ege Üniversitesi Basımevi, 333 s, İzmir.
- Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M.I. and Khalid, A., 2004. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 91, 57-60.
- Orr, W.C., and Sohal, R.S., 1992. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 263, 1128-1130.
- Özdemir, C. and Şenel, G., 2001. The morphological, anatomical and karyological properties of *Salvia forskahlei* L. (Lamiaceae) in Turkey. *Journal of Economic and Taxonomic Botany*, 19, 297-313.
- Özel, M.Z., Göğüş, F. and Lewis, A.C., 2006. Determination of *Teucrium chamaedrys* volatiles using direct thermal desorption-comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1114 (1), 164-169.
- Özkan, F. and Emre, I., 1997. Effects of orally administrated malathion, an organophosphate insecticide, on longevity, egg production and hatchability of adult female *Pimpla turionellae* L. *Turkish Journal of Zoology*, 21, 309-313.
- Öztürk, S. ve Özge, N., 1978. Bitki Koruma İlaçları. Eser Matbaası, 331 s, Ankara.
- Öztürk, S., 1990. Tarım İlaçları. Hasat Yayıncılık ve Reklamcılık, 523 s, İstanbul.
- Pandey, P., McGowen, R.M., Vogel, E.W. and Butterworth, F.M., 1995. In: *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change*. Plenum Press, 184 p, New York.
- Panemangalore, M. and Bebe, F.N., 2000. Dermal exposure to pesticides modifies antioxidant enzymes in tissues of rats. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 35 (4), 399-416.
- Panovska, T.K., Kulevanova, S. and Stefova, M., 2005. *In vitro* antioxidant activity of some *Teucrium* species (Lamiaceae). *Acta Pharmaceutica*, 55, 207-214.
- Partridge, L. and Barton, N.H., 1993. Optimally, mutation and the evolution of ageing. *Nature*, 362, 305-311.
- Partridge, L. and Fowler, K., 1992. Direct and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 46, 76-91.
- Pearl, R., Minner, J.R. and Parker, S.L., 1927. Experimental studies on the duration of life. XI. Density of population and the life duration in *Drosophila*. *American Naturalist*, 61, 289-318.
- Perry, N.S.L., Bollen, C., Perry, E.K. and Bollard, C., 2003. *Salvia* for dementia therapy, review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75, 651-658.

- Pletcher, S.D., Houle, D. and Curtsinger, J.W., 1998. Age-specific properties of spontaneous mutations affecting mortality in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 148, 287-303.
- Pope, C., Karanth, S. and Liu, J., 2005. Pharmacology and toxicology of cholinesterase inhibitors: uses and misuses of a common mechanism of action. *Environmental Toxicological Pharmacology*, 19, 433-446.
- Promislow, D.E.L., Tatar, M., Khazaeli, A.A. and Curtsinger, J.W., 1996. Age-specific patterns of genetic variance in *Drosophila melanogaster*. I. Mortality. *Genetics*, 143, 839-848.
- Qiu, J. and Hardin, P.E., 1996. *per* mRNA cycling is locked to lights-off under photoperiodic conditions that support circadian feedback loop function. *Molecular and Cellular Biology*, 16, 4182-4188.
- Ramos, A.A., Azqueta, A., Pereira-Wilson, C. and Collins, A.R., 2010. Polyphenolic compounds from *Salvia* species protect cellular DNA from oxidation and stimulate DNA repair in cultured human cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7465-7471.
- Rasekh, H.R., Khoshnood-Mansourkhani, M.J. and Kamalinejad, M., 2001. Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. *Fitoterapia*, 72, 937-939.
- Rathouz, M.M., Vijayaraghavan, S. and Berg, D.K., 1996. Elevation of intracellular calcium levels in neurons by nicotinic acetylcholine receptors. *Molecular Neurobiology*, 12 (2), 117-131.
- Ray, D.E. and Fry, J.R., 2006. A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides. *Pharmacology and Therapeutics*, 111 (1), 174-193.
- Raymond-Delpech, V., Matsuda, K., Sattelle, B.M., Rauh, J.J. and Sattelle, D.B., 2005. Ion channels: molecular target of neuroactive insecticides. *Invertebrate Neuroscience*, 5 (3-4), 119-33.
- Rill, S., Grafton-Gardel, E.E. and Morse, J., 2008. Effects of two insect growth regulators and a neonicotinoid on various life stages of *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *BioControl*, 53, 579-587.
- Robert, L.L. and Olson, J.K., 1989. Effect of sublethal dosages of insecticides on *Culex quinquefasciatus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5 (2), 239-46.
- Rogina, B., Helfand, S.L. and Frankel, S., 2002. Longevity regulation by *Drosophila* Rpd3 deacetylase and caloric restriction. *Science*, 298, 1745.
- Rose, M.R., 1985. Life history evolution with antagonistic pleiotropy and overlapping generations. *Theoretical Population Biology*, 28, 342-358.
- Rose, M.R., 1999. Genetics of ageing in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 34, 577-585.
- Ruiu, L., Satta, A. and Floris, I., 2008. Effects of an azadirachtin-based formulation on the non-target muscoid fly parasitoid *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). *BioControl*, 47, 66-70.
- Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S. and Yousefzadi, M., 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (boiss.) rech. f. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28 (10), 1892-1896.

- Salem, M.L. and Hossain, M.S., 2000. *In vivo* acute depletion of CD 8 (+) T cells before murine cytomegalovirus infection upregulated innate antiviral activity of natural killer cells. *International Journal of Immunopharmacology*, 22, 707-718.
- Samis, H.V., Erk, F.C. and Baird, M.B., 1971. Senescence in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 6, 9-18.
- Savelev, S.U., Okello, E.J. and Perry, E.K., 2004. Butyryl- and acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. *Phytotherapy Research*, 18 (4), 315-24.
- Scharf, M.E., 2003. Neurological Effects of Insecticides. In: Pimental D Eds; *Encyclopedia of Pest Management*, Marcel-Dekker, 1-5 p, New York.
- Schroeder, M.E. and Flattum, R.F., 1984. The mode of action and neurotoxic properties of the nitromethylene heterocycle insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 22, 148-160.
- Schulz-Jander, D.A. and Casida, J.E., 2002. Imidacloprid insecticide metabolism: human cytochrome P450 isozymes differ in selectivity for imidazolidine oxidation versus nitroimine reduction. *Toxicology Letters*, 132, 65-70.
- Şenol, F.S., 2009. Türkiye’de Yetişen Bazı *Salvia* Türlerinin Asetilkolinesteraz İnhibitör Etkisi Üzerinde Araştırmalar. Y. Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Sestini, E.A., Carlson, J.C. and Allsopp, R., 1991. The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 26, 385-395.
- Sgro, C.M., and Partridge, L., 1999. A delayed wave of death from reproduction in *Drosophila*. *Science*, 286, 2521-2524.
- Shafer, T.J., Rijal, S.O. and Gross, G.W., 2008. Complete inhibition of spontaneous activity in neuronal networks *in vitro* by deltamethrin and permethrin. *Neuro Toxicology*, 29 (2), 203-212.
- Sheeba, V., Sharma, V.K., Shubha, K., Chandrashekar, M.K. and Joshi, A., 2000. The effect of different light regimes on adult life span in *Drosophila melanogaster* is partly mediated through reproductive output. *Journal of Biological Rhythms*, 15, 380-392.
- Shimomura, M., Yokota, M., Okumura, M., Matsuda, K., Akamatsu, M., Sattelle, D.B. and Komai, K., 2003. Combinatorial mutations in loops D and F strongly influence responses of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor to imidacloprid. *Brain Research*, 991, 71-77.
- Shohami, E., Beit-Yannai, E. and Horowitz, M., 1997. Oxidative stress in closed-head injury. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 17, 1007-1019.
- Silver, A., 1974. *The Biology of Cholinesterases*. American Elsevier Publishing, New York.
- Simpson, W.M. and Schuman, S.H., 2002. Recognition and management of acute pesticide poisoning. *American Family Physician*, 65, 1599-1604.
- Slijepcevic, P., 2008. DNA damage response, telomere maintenance and ageing in light of the integrative model. *Mechanisms of Ageing and Development*, 129 (1-2), 11-16.
- Sohal, R.S. and Weindruch, R., 1996. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science*, 273, 59-63.

- Song, N., Xu, W., Guan, H., Liu, X., Wang, Y. Nie, X., 2007. Several flavonoids from *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic. Asian Journal of Traditional Medicines, 2 (5).
- Stapel, J.O., Cortesero, A.M. and Lewis, W.J., 2000. Distruptive sublethal effects of insecticides on biological control: Altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. Biological Control, 17, 243-249.
- Stark, J.D., Wong, T.T., Vargas, R.I. and Thalman, R.K., 1992. Survival, longevity and reproduction of tephritid fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) reared from fruit flies exposed to azadiractin. Journal of Economic Entomology, 85, 1125-1129.
- Swartz, H.J., 2000. Neurotransmitters. Principles of Neural Science, McGraw-Hill Companies, 280-297 p, USA.
- Tadeo, J.T., 2008. Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples. CRC Press. New York, USA.
- Tanaka, N., Takaishi, Y., Shikishima, Y., Nakanishi, Y., Bastow, K. and Lee K.H., 2004. Prenylated Benzophenones and Xanthones from *Hypericum scabrum*. Journal of Natural Products, 67, 1870-75.
- Tanker, N., 1971. *Hypericum scabrum* L. hakkında. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 1, 10-15.
- Tatar, M. and Promislow, D.E.L., 1997. Fitness costs of female reproduction. Evolution, 51, 1323-1326.
- Tatar, M., Carey, J.R. and Vaupel, J.W., 1993. Long-term cost of reproduction with and without accelerated senescence in *Callosobruchus maculatus* analysis of age-specific mortality. Evolution, 47, 1302-1312.
- Tatar, M., Promislow, D.E.L., Khazaeli, A.A. and Curtsinger, J.W., 1996. Age spesific patterns of genetic variance in *Drosophila melanogaster*. II. covariance with age-specific mortality. Genetics, 143, 849-858.
- Tel, G., 2010. *Salvia chionantha*'nın Uçucu Bileşenlerinin Karakterizasyonu Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerin Belirlenmesi. Y. Lisans Tezi Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Thapar, A., Sandhir, R. and Kiran, R., 2002. Acephate induced oxidative stress in erythrocytes. Indian Journal of Experimental Biology, 40, 963-996.
- Tomizawa, M. and Casida, J.E., 1999. Minor structural changes in nicotinoid insecticides confer differential subtype selectivity for mammalian nicotinic acetylcholine receptors. British Journal of Pharmacology, 127, 115-122.
- Tomizawa, M. and Casida, J.E., 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. Annual Review of Entomology, 48, 339-64.
- Tomizawa, M. and Casida, J.E., 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 45, 68-247.
- Tomizawa, M. and Casida, J.E., 2009. Molecular recognition of neonicotinoid insecticides: the determinants of life or death. Accounts of Chemical Research, 42 (2), 260-269.
- Tomizawa, M., 2000. Neonicotinoid insecticide receptors. Pesticide Outlook, 6, 238-240.

- Tower, J., 1996. Ageing mechanisms in fruit flies. *BioEssays*, 18, 799-807.
- Turabi, M.S., 2004. Türkiye’de tarımsal ilaç tescil ve ruhsat sistemi. Tarımsal İlaçlar ve Organik Tarım Konferansı, KTMMOB Ziraat Mühendisliği Odası, Lefkoşe, KKTC.
- Ulubelen, A., Öksüz, S., Topçu, G., Gören, A.C. and Voelter, W., 2001. Antibacterial diterpenes from the roots of *Salvia blepharochlaena*. *Journal of Natural Products*. 64, 549-551.
- Ulubelen, A., Topcu, G. and Sonmez, U., 1995. Chemical and biological evaluation of genus *Teucrium*. *Studies in Natural Products Chemistry (Bioactive natural Products, Part D)*, 23, 591-648.
- Ünal, G. ve Gürkan, M.O., 2001. İnsektisitler: Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri. I. Baskı, Ethemoglu Ofset Matbaacılık, 97-98 s, Ankara.
- Ünal, M., 2004. Pestisit kullanımı ve meydana getirdiği çevre problemleri. *Morfoloji Dergisi*, 11,12 (1-2), 78-84.
- Ünlü, H. and Bozcuk, A.N., 1979. Genetics of longevity in *Drosophila*. II. the effects of three autosomal genes on the lifespan of *Drosophila*. *Hacettepe Bulletin of Natural Sciences and Engineering*, 8, 13-19.
- Ünlü, H., 1991. *Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunda yellow alellerinin heterozis etkisinin farklı backgroundlarda incelenmesi. *Doğa Türk Biyoloji Dergisi*, 15, 98-109.
- Uysal, H. and Kızılet, H., 2013. One of the most important environmental pollutions: Insecticides. 4th Annual Convention of Eurasian Silk Road Universities Consortium (ESRUC), Kalinga Institute of Industrial Technology (KIIT), Bhubaneswar, India.
- Uysal, H., Altun, D. ve Aslan, A., 2009. *Drosophila melanogaster*’de *Lobaria pulnaria* (L.) Hoffm. likeninin ömür uzunluğu üzerine etkisi. *Türk Bilim Araştırma Vakfı Bilim Dergisi*, 2 (3), 271-276.
- Uysal, H., Altun, D., Aşkın, H. and Aslan, A., 2009. Effects of water extract of *Usnea longissima* Ach. on the longevity of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, (5a), 699-703.
- Uysal, H., Kızılet H., Ayar, A. and Taheri, A., 2015. The use of endemic Iranian plant, *Echium amoenum* against the ethyl methanesulfonate and the recovery of mutagenic effects. *Toxicology and Industrial Health*, 31 (1),44-51.
- Uysal, H., Şişman, T. ve Aşkın, H., 2006. *Drosophila* Biyolojisi ve Çaprazlama Yöntemleri. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum.
- Vale, J.A., 1998. Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus (OP) insecticide poisoning. *Toxicology Letters*, 102, 649-652.
- Vermathen, M. and Glasl, H., 1993. Effect of the herb extract of *Capsella bursa-pastoris* on blood coagulation. *Planta Medica*, 59, 670.
- Vernino, S., Amador, M., Luetje, C.W., Patrick, J. and Dani, J.A., 1992. Calcium modulation and high calcium permeability of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuron*, 8 (1), 127-34.
- Vural, M. and Adıgüzel, N., 1996. A new species from Central Anatolia: *Salvia aytachii* M. Vural et N. Adıgüzel (Labiatae). *Turkish Journal of Botany*, 20 (6), 531-534.
- Wakil, W., Ashfaq, M., Ghazanfar, M.U., Akhtar, S. and Malhi, Z.A., 2008. Laboratory bioassay with neem (*Azadirachta indica* A. Juss) products to control *Helicoverpa armigera* (Hübner) fed on chickpea. *Pakistan Entomologist*, 30 (1), 51-54.

- Ware, G.W., 1983. Pesticides: Chemical Tools. Pesticides Theory and Application. 3-15 p, New York.
- Watson, G.B., 2001. Actions of insecticidal spinosyns on caminobutyric acid responses fi-om small-Jiameter cockroachneurons. Pesticide Biochemistry and Physiology, 71 (1), 208.
- Weiss, B., Amler, S. and Amler, R.W., 2004. Pesticides. Pediatrics, 113, 1030-1036.
- Williams, G.C., 1957. Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. Evolution, 11, 398-411.
- Wilson, I.B. and Nachmanason, D., 1954. In Ion Transport Across Membrans (HT Clarke Ed). Academic Press, 35 p, New York.
- Worthen, D.R., Ghosheh, O.A. and Crooks, P.A., 1998. The *in vitro* anti-tumor activity of some crude and purified components of black seed, *Nigella sativa* L. Anticancer Research, 18, 1527-1532.
- Yamamoto, I. and Casida, J.E., 1999. Nicotinoid Insecticides and the Nicotinicacetyl-Choline Receptor. Springer Verlag, Japan.
- Yamamoto, I., 1996. Neonicotinoids-mode of action and selectivity. Agrochemicals Japan, 68, 14-15.
- Yang, Y. and Wilson, D.L. 1999. Characterization of a life-extending mutation in age-2, a new aging gene in *Caenorhabditis elegans*. The Journals of Gerontology, 54, 137-142.
- Yaylı, N., 2007. Bazı *Teucrium* L. Taksonlarında Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimleri ve Antimikrobiyal Aktiviteleri. Y. Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Yılmaz, C., 2011. Örtüaltı Domates Yetiştiriciliğinde Sera Beyazsineği [*Trialeurodes vaporariorum* (Westw.) (Hom.:Aleyrodidae)]'ne Karşı Leonardit Kaynaklı Hümkik Maddelerle Karıştırılarak Uygulanan Bazı İnsektisitlerin Parçalanma Süresi ve Biyolojik Etkinliği Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Yılmaz, M., Özsoy, E.D. and Bozcuk, A.N., 2008. Maternal age effects on longevity in *Drosophila melanogaster* populations of different origin. Biogerontology, 9, 163-168.
- Yücer, M.M., 2012. Ruhsatlı Tarım İlaçları. Hasad Yayıncılık, 11 s, İstanbul.
- Zang, Y., Zhong, Y., Luo, Y. and Kong, Z.M., 2000. Genotoxicity of two novel pesticides for the earthworm, *Eisenia fetida*. Environmental Pollution, 108, 271-278.
- Zettler, J.L. and Lecato, G.L., 1974. Sublethal doses of malathion and dichlorvos: effects of fecundity of the black carbet betle. Journal of Economic Entomology, 67 (1), 19-21.
- Zeybek, N. ve Zeybek, U., 1994. Farmasötik Botanik. Ege Üniversitesi, İzmir.
- Zhao, J., Muhammad, I., Dunbar, D.C., Mustafa, J. and Khan, I.A., 2005. New alkamides from maca (*Lepidium meyenii*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 690-693.
- Zwaan, B.S., Bijlsma, R. and Hoekstra, R.F., 1995. Direct selection on life span in *Drosophila melanogaster*. Evolution, 49 (4), 649-659.
- Zwaan, R.A., 1999. Embodied cognition, perceptual symbols, and situation models. Discourse Processes, 28, 81-88.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Trabzon’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Trabzon’da tamamladı. 2008 yılında girdiği Giresun Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nden 2012 yılında mezun oldu. Aynı yıl, Erzurum Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji Bilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen aynı bölümde öğrenimine devam etmektedir.