



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ACI KAVUN (*ECBALLIUM ELATERIUM* L.1758)'UN
SAZAN (*CYPRINUS CARPIO* L.1758) BALIKLARI
ÜZERİNDEKİ MİKRONÜKLEUS VE KAN HÜCRE
MORFOLOJİLERİNE ETKİLERİ**

Emin SEYFİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR / 2018



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ACI KAVUN (*ECBALLIUM ELATERIUM* L.1758)'UN
SAZAN (*CYPRINUS CARPIO* L.1758) BALIKLARI
ÜZERİNDEKİ MİKRONÜKLEUS VE KAN HÜCRE
MORFOLOJİLERİNE ETKİLERİ**

Emin SEYFİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU

KIRŞEHİR / 2018

“Acı Kavun (*Ecballium elaterium* L.)’un Sazan (*Cyprinus carpio* L.1758) Balıkları Üzerindeki Mikronükleus ve Kan Hücre Morfolojilerine Etkileri” adlı bu çalışma, 19/11/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Genetik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU (Danışman)

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Fen Edebiyat Fakültesi



Dr. Öğr. Üyesi

Muradiye KARASU AYATA

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Sağlık Yüksek Okulu



Dr. Öğr. Üyesi Sevgi ÜNAL

Bartın Üniversitesi

Fen Fakültesi



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Bu çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi biriminin FEF.A4.18.010 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

EMİN SEYFİ



ÖNSÖZ

Araştırmalarımı yönetip yönlendiren ve her türlü yardımlarını esirgemeyen danışmanım Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU'na teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim. Ayrıca tezimin planlama ve yazım aşamasında önerileri ile katkıda bulunan Dr. Öğr. Üyesi Muradiye KARASU AYATA'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Sevgi ÜNAL'a teşekkür ederim.

Beni her zaman destekleyip tez çalışmamda kendime olan güvenimi artırmamda yardımcı olan sevgili arkadaşlarım Enver Oğuz KARACA ve Yasemin DEMİR'e

Arazi çalışmalarımda yardımcı olan kardeşim Emre SEYFİ'ye ve bugüne kadar her konuda maddi ve manevi desteği hiçbir zaman eksik etmeyen AİLEM'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kasım, 2018

Emin SEYFİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ _____	iii
İÇİNDEKİLER _____	iv
RESİM LİSTESİ _____	vi
ŞEKİL LİSTESİ _____	vii
TABLO LİSTESİ _____	viii
GRAFİK LİSTESİ _____	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ _____	x
ÖZET _____	xi
ABSTRACT _____	xiii
1. GİRİŞ _____	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI _____	3
2.1. Araştırma Konusu Familya ve Türlerine Ait Genel Bilgiler _____	3
2.1.1. Cucurbitaceae (Kabakgiller) Familyasına Ait Genel Bilgiler _____	3
2.1.1.1. <i>Cyprinidae</i> Familyasına Ait Genel Bilgiler _____	4
2.1.2. Araştırma Konusu Türlerine Ait Genel Bilgiler _____	4
2.2. Kan Dokusu _____	5
2.2.1. Kan Hücreleri _____	7
2.2.2. Kan Hücre Anormallikleri _____	8
2.3. Mikronükleus Testi _____	8
2.3.1. <i>In vivo</i> Mikronükleus Testi _____	11
2.3.2. <i>In vitro</i> Mikronükleus Testi _____	12
2.4. Literatür Özeti _____	13
3.MATERYAL VE METOD _____	20
3.1.Materyal _____	20
3.1.1. <i>Ecballium elaterium</i> L. (Acı kavun) _____	20

3.1.2. <i>Cyprinus carpio</i> L. 1758 (Sazan Balığı)	21
3.2. Metot	22
3.2.1. Giemsa Boyasının Hazırlanması	22
3.2.2. <i>E. elaterium</i> Meyve Özsuyunun Çıkarılması	22
3.2.3. Balıklara <i>E. elaterium</i> Özsuyu Uygulama	22
3.2.4. Balıklardan Kan Alma İşlemi ve Preparat Hazırlama	23
3.2.5. Mikronükleus Testinin Uygulanması	24
3.2.6. Kan Hücrelerinin İncelenmesi	24
3.2.7. Verilerin İstatistiksel Analizi	25
4. BULGULAR	26
4.1. Kan Hücrelerinin İncelenmesi	26
4.1.1. Eritrosit Nükleus Anormallikleri	26
4.1.2. Eritrosit Sitoplazma Anormallikleri	30
4.1.3. Eritrosit Nükleus Hacimlerinin Ölçülmesi	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
6. ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	43
EKLER	50
Ek 1. Etik Kurul Onayı	50
Ek 2. Orman ve Su İşleri Bakanlığı İzin Yazısı	52
Ek 3. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İzin Yazısı	53
Ek 4. Bildiri Özeti	54
ÖZGEÇMİŞ	56

RESİM LİSTESİ

	Sayfa No
Resim 3.1. <i>E. elaterium</i> meyveleri toplanan iller.....	20
Resim 3.2. <i>E. elaterium</i> bitkisinin toplandığı araziden görünüm.	21
Resim 3.3. Araziden toplanan <i>E. elaterium</i> bitkisinin olgun meyveleri	21
Resim 4.1. <i>C. carpio</i> 'ya ait eritrositlerde tespit edilen nükleus anormallik türleri: Normal eritrosit (a), Çentikli nükleus (b), Mikronükleus (c), Loblu nükleus (d), Binükleat (e), Tomurcuklu nükleus (f).....	27
Resim 4.2. <i>C. carpio</i> 'ya ait eritrositlerde tespit edilen sitoplazma anormallik türleri: Sferosit (a), Hipokromi (b), Eliptosit (c).....	31



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. MN oluşum şeması (Şekeroğlu, 2011).....	9
Şekil 2.2. Sitokinezi bloklanmış hücrede bulunan mikronükleus (Şekeroğlu, 2011).	10
Şekil 3.1. Deney bileşenlerinin uygulama zamanları	23
Şekil 3.2. <i>C. carpio</i> 'nun eritrosit ve eritrosit nükleus alanlarının ölçümü	25



TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1. Cucurbitaceae familyasına ait Türkiye’de yetişen türler.....	3
Tablo 3.1. Deney ve kontrol grubuna ait bilgiler.....	22
Tablo 4.1. Eritrositlerin nükleuslarında tespit edilen anormallik sayıları, (MN: Mikronükleus, LB: Loblu nükleus, BL: Tomurcuklu nükleus, NT: Çentikli nükleus, BN: Binükleat)	28
Tablo 4.2. Eritrositlerin nükleuslarında tespit edilen anormallik sayısı % değerleri, (MN: Mikronükleus, LB: Loblu Nükleus, BL: Tomurcuklu nükleus, NT: Çentikli nükleus, BN: Binükleat)	28
Tablo 4.3. Eritrositlerde tespit edilen nükleus anormallikleri sayılarının anlamlılık bilgileri, (MN: Mikronükleus, LB: Loblu nükleus, BL: Tomurcuklu nükleus, NT: Çentikli nükleus, BN: Binükleat).....	29
Tablo 4.4. Eritrositlerin sitoplazmalarında tespit edilen anormallik sayıları.....	31
Tablo 4.5. Eritrositlerin sitoplazmalarında tespit edilen anormalliklerin sayılarının % değerleri	32
Tablo 4.6. Eritrositlerde tespit edilen sitoplazma anormalliklerinin frekans değerlerinin anlamlılık bilgileri	33
Tablo 4.7. Üç farklı <i>E. elaterium</i> özsuyu derişiminin <i>C. carpio</i> ’nun eritrosit alanı (μm^2) üzerine etkisi.....	34
Tablo 4.8. Farklı <i>E. elaterium</i> özsuyu derişiminin <i>C. carpio</i> ’nun eritrosit alanı (μm^2) üzerine etkisinin karşılaştırılması.	35

GRAFİK LİSTESİ

	Sayfa No
Grafik 4.1. Eritrosit nükleuslarında meydana gelen anormallik ortalama değerleri, (MN: Mikronükleus, LB: Loblu nükleus, BL: Tomurcuklu nükleus, NT: Çentikli nükleus, BN: Binükleat)	29
Grafik 4.2. Eritrosit sitoplazmasında meydana gelen anormallik ortalama değerleri	32
Grafik 4.3. Ortalama sitoplazma hacmi değişimi.....	35



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
gr	Gram
ml	Milimetre
mm³	Milimetreküp
µm	Mikrometre
µl	Mikrolitre
%	Yüzde
‰	Binde
°C	Santigrat derece
Kg	Kilogram
Cm	Santimetre
m	Metre

Kısaltmalar	Açıklama
Min-max	Minimum ve maksimum
M.S.	Milattan sonra
MN	Mikronükleus
LB	Loblu nükleus
BL	Tomurcuklu nükleus
NT	Çentikli nükleus
Cyt-B	Sitokalsin B
ppm	Parts Per Million (Milyonda Bir)
MMC	Mitomisin-C
KA	Kromozon anormalliği
KKD	Kardeş kromatid değişimi

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ACI KAVUN (*ECBALLIUM ELATERIUM* L. 1758)'UN SAZAN (*CYPRINUS CARPIO* L. 1758) BALIKLARI ÜZERİNDEKİ MİKRONÜKLEUS OLUŞUMUNA VE KAN HÜCRE MORFOLOJİLERİNE ETKİLERİ

Emin SEYFİ

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU

Kasım 2018, xiv+57 sayfa

Yüzyıllardır hastalıkların tedavisinde diğerk tedavi seçeneklerinin yanı sıra bitkiler ve bitkisel ilaçlardan da yararlanılmaktadır. Bu bitkilerden birisi olan acı kavun, acı kelek ve şeytan keleği de denilen *Ecballium elaterium* bitkisi sinüzit, egzama gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Kullanıldığında tedavi edici özelliğinin yanı sıra, insanlar üzerinde ciddi biyolojik hasarlar da bıraktığı görülmektedir. Bu çalışmada, acı kavun meyvelerinden elde edilen özsuynun sazan balıklarının hücre morfolojilerine etkisinin olup olmadığı ve mikronükleus oluşumuna etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Uygulama 3 doz ve 1 kontrol grubu olmak üzere 4 grup üzerinde yapıldı. Üç farklı gruba ait akvaryumlara sırasıyla 100, 200 ve 300 ppm dozlarda acı kavun özsuynun 72 saat uygulandı. Balıklardan kan yayma preparatları hazırlandı. Hazırlanan preparatlar mikroskop altında taranarak kan hücrelerinin morfolojilerinde meydana gelen değışiklikler ve mikronükleus oluşmuş eritrositler tespit edildi. Deney grubuna ait preparatlarda yapılan taramalarda tespit edilen hücreler ile kontrol grubundaki hücrelerin morfolojileri arasında farklılıklar olduğu gözlemlendi. Sonuç olarak acı kavun özsuynunun sazan balığı kan hücrelerinde bölünme esnasında mikronükleus

oluşumuna neden olduğu ve kan hücrelerinin morfolojilerinde bazı bozukluklara neden olduğu tespit edildi. Bu veriler ile acı kavun özsuğunun genotoksisiteye neden olduğu düşünülmektedir.

Kasım 2018, xiv+57 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Ecballium elaterium*, *Cyprinus carpio*, Mikronükleus, Eritrosit morfolojisi



ABSTRACT

MASTER THESIS

THE MICRONUCLEUS ASSAY AND BLOOD CELL MORPHOLOGY IN CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.1758) EXPOSED TO SQRTING CUCUMBER (*ECBALLIUM ELATERIUM* L.1758)

Emin SEYFİ

Kırşehir Ahi Evran University

Graduate School of Natural and Applied Science

Biology Department

Supervisor: Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU

November 2018, xiv+57 pages

Plants and plant-based medications are being utilized. One of these plants, bitter melon, *Ecballium elaterium* and also referred to as the bitter unripe melon and the squirting cucumber. It is also seen that along side its therapeutic properties when used, it leaves serious biological damage on human. This study aims to see whether the juice acquired from these bitter melon fruits have any effect on the morphologies of the cells of carp and its effect on micronucleus formation. It was administered in 4 groups, of which 3 were dosage groups and 1 was a control group. The bitter melon juice was administered over the course of 72 hours in 100, 200, and 300 ppm doses to the aquariums belonging to the three different dosage groups. Blood smear preparations were made from the fish. By scanning the prepared preparations under a microscope, the changes that occurred in the morphologies of the blood cells of the fish and the blood cells in which micronucleus formed were identified. In the preparations belonging to the control group, it was seen that there were differences between the cells identified in the scans and the morphologies of the cells in the control group. As a result, it was determined that bitter melon juice leads to micronucleus formation during the

division in blood cells of carp and that it leads to some disorders in the morphologies of blood cells. With these data, it is thought that bitter melon juice causes genotoxicity.

November 2018, xiv+57 pages

Key words: *Ecballium elaterium*, *Cyprinus carpio*, Micronucleus, Erythrocyte morphology.



1. GİRİŞ

Yüzyıllardır bazı hastalıkların tedavisinde modern tıp tarafından uygulanan, kanıta ve bilimsel çalışmalara dayalı tedavi seçeneklerinin yanı sıra bitkiler ve bitkisel ilaçlardan da yararlanılmaktadır. Tümör, egzama ve sinüzit gibi birçok hastalıklar üzerinde tedavi edici özelliği olduğu düşünülen bitkilerin kullanıldığı yöntemler M.S. 900’lü yıllardan günümüze kadar gelen kültürel ve geleneksel bir yöntemdir. Teknolojinin ve hastalıklara bulunan tedavi yöntemlerinin günümüzdeki kadar gelişmediği dönemlerde tedavi edici özelliği olduğu düşünülen bitkilerden yapılan ilaçlar ve merhemler sürekli gelişerek ölümcül olabilecek düzeydeki hastalıklara çare olmuşlardır. Günümüzde bitkiler ile bazı hastalıkların tedavisi geleneksel tıp olarak adlandırılmaktadır. Geleneksel tıp farmakoloji (ilaç bilimi)’den farklı olarak çalışmaktadır. Farmakoloji; geleneksel tıbbın kullandığı bitkilerden yola çıkarak doğada mevcut olan bitkilerin ya da maddelerin içerdikleri etken maddeleri damıtarak veya onları sentezleyerek ilaçlar üretmektedir. Geleneksel tıp ise farmakolojinin kullandığı maddeleri içeren bitkiler doğal olarak kullanılmaktadır.

Türk bilim insanlarının geleneksel tıp üzerinde yaptığı birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmalar M.S. 900’lü yıllara dayanmaktadır. İbn-i Sînâ (930-1037) ve El-Bîrûnî’nin (973-1051) tıp ve eczacılık üzerine yaptıkları çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan İbn-i Sînâ’ya ait olan “Küçük Tıp Kanunu” adlı eser bitkisel ilaçlar ve bu ilaçlar ile yapılan tedavi yöntemlerinden bahsetmektedir (Keskinbora, 2013).

Son dönemlerde insanların beslenme alışkanlıklarının ve ortam şartlarının değişmesi sonucunda ortaya çıkan hastalıklar ve bu hastalıklara ilaçların yetersiz kalması insanların geleneksel tıba olan ilgisinin artmasına neden olmuştur. Tıbbın gelişmediği dönemlerde, Türkiye’de tedavi amaçlı kullanılan bitkileri ve bu bitkilerin kullanım yöntemleri “Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi” adlı eserde ayrıntılı olarak anlatılmıştır (Baytop, 1982).

Son iki bin yıldır bilinen, tümör, cilt lekeleri, egzama ve sinüzit gibi birçok hastalığa karşı meyve, kök ve yapraklarından yararlanılan bitkilerden bir tanesi *Ecballium elaterium* bitkisidir. *E. elaterium* bitkisi halk arasında acı kavun, acı kelek, cırtlayan, eşek hıyarı olarak da isimlendirilmektedir.

E. elaterium bitkisi Cucurbitaceae familyasının bir üyesi olup otsu bir bitkidir (Ekici, 1998). *E. elaterium*, Avrupa'nın güneyinde bulunan ülkelerde ve ülkemizin çoğu yerinde yetişmekte olup en çok Akdeniz bölgesinde yetişmektedir (Güllü, 2016). Plinius adlı ünlü bir kitap yazarı *E. elaterium* bitkisinin “doğanın sahip olduğu mucizevi bitkilerden birisi” olduğunu söylemiştir. Literatür araştırmalarında dünya üzerinde çeşitli tedavi yöntemlerinde ve bilimsel çalışmalarda kullanıldığına dair birçok bilgiye de rastlamak mümkündür (Sezik, 1997).

E. elaterium bitkisi toksik özellik taşıdığından uzun yıllardır tıbbi alanlarda kullanılmaktadır. Kimyasal mekanizması tam olarak bilinmeyen *E. elaterium* bitkisinin tedavi etkisinin yanında boğaz ağrısı, burun, ağız ve solunum yollarında ödem gibi yan etkilerinin olduğu ve hayatı olumsuz etkileyen reaksiyonlara neden olduğu da yapılan çalışmalar ile belirtilmiştir (Güllü, 2016). Halk tarafından sinüzit tedavisinde meyve özsuyunun bilinçsiz kullanım sonucu insanlar üzerinde ciddi hasarlara ve ölümlere neden olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda artan vakalardan dolayı 2016 yılında Sağlık Bakanlığı'na ait 46085174 nolu genelge ile *E. elaterium* bitkisinin kullanımı ve aktarlar tarafından satışı yasaklanmıştır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2016).

E. elaterium bitkisinin olgun meyvelerinden elde edilen özsuynun canlılar üzerinde bazı tahribatlara neden olduğu bilinmektedir (Mazokopakis, 2009). Canlıların kan hücrelerinde, genellikle eritrositlerin sayılarında ve şekillerinde meydana gelen değişiklik canlı metabolizmasını olumsuz etkilemektedir (Verhovsek, 2017). *E. elaterium* bitkisinin canlı üzerindeki etkisi fare, bitkiler ve kültüre alınmış insan eritrositleri üzerinde denenmiştir. Yapılan çalışmalarda bitki özsuynun hücreler üzerindeki etkileri gözlemlenmiştir (Çelik, 2009; Shabbar ve Maslat, 2007). Literatür taramaları sonucunda ise *E. elaterium* özsuynun *Cyprinus carpio* (sazan balıkları)'nın kan hücrelerine etkileri üzerine yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Balıklarda olgun alyuvar hücreleri çekirdeğe sahip olduğundan *E. elaterium* özsuynun kan hücrelerine olan farmakolojik etkisi balıklar üzerinde test edilerek daha rahat gözlemlenebilecektir. Bu kapsamda bu tez çalışmasında akvaryumlarda *E. elaterium* özsuynuna maruz bırakılan *C. carpio* (sazan) balıklarında mikronükleus oluşumu ve kan hücre morfolojilerinde değişimin olup olmadığının gözlemlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Araştırma Konusu Familya ve Türler Ait Genel Bilgiler

2.1.1. Cucurbitaceae (Kabakgiller) Familyasına Ait Genel Bilgiler

Kabakgiller familyasına ait üyeler genellikle bir veya iki evcikli, nadiren bazı üyeleri tırmanıcı ve sürünücü otsu bitkilerdir. Yapraklar alternat, genellikle palmat veya pinnat, 5 loblu veya parçalıdır. Sarmal şeklindeki sülükler genellikle yaprak sapının üst tarafında bulunur. Çiçekler yaprak koltuklarında kimoza veya tek, tek eşeyli, çok ender olarak erdişi, ışınsal simetrik özelliklere sahiptirler. Sepaller 5, birleşiktir. Petaller 5, birleşik, çan ve terskoni şeklindedir. Stamenler 5, anterler U şeklinde kıvrılmıştır. Dişi çiçekler 1 pistilli, ovaryum alt durumlu, genellikle 3 karpelli, 1 lokuslu, ovüller sahiptir. Meyveleri genellikle büyük, kabuğu yumuşak ve odunsu yapılıdır (Seçmen, 1992).

Sıcak iklimlerde yayılış gösteren 90 cins ve tahminen 1000 türü vardır. Ülkemizde 3 cins ve 8 türü doğal yayılış gösterir. Ayrıca pek çok türü de kültüre alınmıştır. Türleri gıda maddesi olarak kullanılan önemli bir familyadır. Bu familyaya ait bazı türler ülkemizde gıda maddesi olarak da kullanılmaktadır (Davis, 1972; Seçmen, 1992). Kabakgiller familyasından ülkemizde yetişen türler Tablo 2-1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Cucurbitaceae familyasına ait Türkiye’de yetişen türler.

Bilimsel Adı	Türkçe Adı
<i>Cucumis melo</i>	Kavun
<i>Cucumis sativus</i>	Hıyar
<i>Luffa cylindrica</i>	Lif kabağı
<i>Lagenaria siceraria</i>	Su kabağı
<i>Ecballium elaterium</i>	Acı kavun
<i>Citrullus colocynthis</i>	Ebucehil karpuzu
<i>Citrullus lanatus</i>	Karpuz
<i>Sechium edule</i>	Dikenli kabak

2.1.1.1. Cyprinidae Familyasına Ait Genel Bilgiler

Türkiye’de bulunan balık familyaları üzerinde yapılan çalışma ile 27 familyaya ait 92 cins ve 371 tür belirlenmiştir. Türlerin yarısından fazlasının Cyprinidae familyası üyesi olduğu tespit edilmiştir (Kuru, 2014). Cyprinidae familyasının üyelerinin vücutları genellikle pullarla kaplıdır. Çenelerinde dişler yoktur. Yutak bölgesinde bulunan farinks dişleri besinin öğütülmesine yarar. Bu dişler 1-2 veya 3 sıralı olabilir. Yüzme keseleri iki odacıklıdır. Pilorik uzantıları (kör bağırsak) yoktur. Üreme zamanı erkeklerinin baş kısımlarında kabarcıklar oluşur. Birçok türü ilkbaharda yumurta bırakır (Kuru, 2013).

2.1.2. Araştırma Konusu Türlerle Ait Genel Bilgiler

2.1.2.1. Ecballium elaterium Linnaeus, 1758

Acı kavun (*Ecballium elaterium* L.) bitkisi, Cucurbitaceae familyasının bir üyesi olup otsu bir bitkidir. Bölgesel olarak; eşek hıyarı, cırtlayan, yabancı hıyar ve acı dölek gibi isimlerle de bilinmektedir. Halk tarafından meyve özsuğu, çoğunlukla sinüzit tedavisinde bilinçsizce kullanılmaktadır (Baytop, 1982).

E. elaterium bitkisi; yatık gövdeye sahip, çok yıllık otsu bir bitki olup, gövde ve yapraklarının üzeri sert tüylerle örtülüdür. Ham hali koyu yeşil olan ve olgunlaştıkça açık sarı renkli, aşağı sarkık duran meyvelere sahiptir. Meyveler olgunlaştıkça içerisinde meydana gelen basınç nedeni ile meyve sapa bağlı olduğu yerden koparak özsuğu ile beraber tohumlarını dışarıya kuvvetle fırlatmaktadır (Davis, 1972; Baytop, 1982).

E. elaterium bitkisine ait meyve ve kökler, eski Mısır döneminden beri halk tarafından bilinen ve yaygın kullanımı olan bir bitkidir. Bitkinin halk arasında müshil ve idrar arttırıcı etkisinin olduğu bilinmektedir. Saf halde yüksek miktarlarda kullanıldığında en çok bağırsağı tahriş etmekte ve kanlı ishallere neden olmaktadır (Atasu, 1985). Bitkinin kurutulan köklerinden hazırlanan lapa ve merhemler, tümör ve egzama gibi cilt hastalıklarına ve romatizma ağrılarına karşı kullanılmıştır. Olgun meyvelerinin sıkılması ile elde edilen taze özsuğun, buruna çekilmek suretiyle sinüzite karşı kullanımı Anadolu’da oldukça yaygındır (Davis, 1972; Baytop, 1982).

***Ecballium elaterium* Bitkisinin Farmakolojik Özellikleri**

E. elaterium bitkisi Cucurbitaceae familyasına özgü kükurbitasin adıyla bilinen bileşenlerden birçoğunu içermektedir (Lavie, 1958; Konopa, 1966). Bu bitkiden ilk izole edilen kükurbitasin 1831'de Marries ve Henrel (Konopa, 1966) tarafından bulunan a-Elaterin (Sinonim kükurbitasin-E) olmuştur. İlerleyen yıllarda kükurbitasin üzerine artan çalışmalar ile kükurbitasin E-D-I-G-H-B-L ve A olmak üzere 8 adet kükurbitasin bulunmuştur (Atasu, 1985). Yapılan çalışmalarda bitkiye ait meyvelerden elde edilen özsuynun antitümöral etkisi olduğu tespit edilmiştir (Konopa, 1966). Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda bitkiye ait meyve özsuynunun sahip olduğu kükurbitasinlerden en fazla E ve B'nin aktif olarak etki gösterdiği tespit edilmiştir (Belkin, 1952).

2.1.2.2. *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758

Cyprinus carpio (sazan balığı) bireyleri yanlardan biraz basık, kalın ve iri pullarla örtülü bir vücuda, sert ve uzun sırt yüzgecine sahiplerdir. Sazan balıkları vücuduna oranla küçükbaş ve kamburumsu bir sırta sahiptir. Ağız başın ortasında bulunmakta, keratinin bir örtüyle kaplı olan kalın ve sarkık dudaklara sahiptir. Ağızın her iki yanında, bir çifti önde diğeri arkada olmak üzere iki çift ince kısa bıyık bulunmaktadır. Ülkemizde bulunan örnekleri içerisinde 1 metre uzunluğa ve 15 kg ağırlığa ulaşan bireylere rastlamak mümkündür. Üremeleri ilkbahar mevsiminde gerçekleşir. Yetişkin olmayan bireylerde cinsiyeti belirlemek oldukça güçtür. Üreme zamanı yaklaşan erkek bireylerin üst kafa bölgesinde küçük yuvarlak çıkıntılar oluşur. Dişi bireylerin karınları oldukça şişkin ve gergindir. Bu özellikleri ile üremeye yakın zamanlarda cinsiyeti ayırt etme olanağı vardır. Anadolu'da genellikle çok soğuk olan yüksek dağ gölleri haricinde birçok gölde ve bazı büyük nehirlerin yavaş akan derin yerlerinde bulunurlar (Geldiay ve Balık, 1996; Sarıhan ve Tekelioğlu, 2005).

2.2. Kan Dokusu

Balıklarda kan dokusu 1857'de Elasmobranchii (Kıkırdaklı balık)'de leyding organının bulunmasıyla birlikte anlaşılmaya başlanmıştır. Daha sonraki zamanlarda da kan dokusu ve kan hücrelerinin oluşumunu anlamaya yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Bu çalışmalar farklı organlarda da yapılarak kan hücreleri hakkında bilgi sahibi olunmuştur (Arnold, 2009).

Kan dokusu kardiyovasküler sistemde dolaşan sıvı halinde bir bağ dokusu çeşididir (Timur, 2013). Diğer dokuların aksine matriksi sıvı olan bir dokudur. Diğer dokularla irtibatlı olan bu doku canlılar için çok önemli olan bir fonksiyonu yerine getirir (Aktümsek, 2010). Kan dokusu diğer dokulara benzemeksizin hücreleri sabit değildir. Kan dokusu hücreleri devamlı olarak kan dolaşımını içerisinde bir yerden diğerine hareket etmektedir. Kanın sahip olduğu en önemli görevi organizmanın sahip olduğu normal şartların devamlılığını sağlamaktır. Memelilerde vücut ağırlığının %7-8'ini kan oluşturur. Toplam kanın %45-65'ini plazma kısmı, %35-55'ini ise kan hücreleri oluşturmaktadır. Balıklarda ise bu durum omurgalı hacminden daha az olup 2 - 17 ml/100 g arasında değişmektedir (Karataş, 2005). Kanda bulunan plazmanın yapısında erimiş halde inorganik iyonlar, kan proteinleri (osmotik basıncı kontrol eden albümin, lipitleri taşıyan lipoproteinler, hemoglobin pigmentini bağlayan globülinler, bakırı bağlayan seruloplazmin, kanın pıhtılaşmasını sağlayan fibrinojen ve inorganik iyodu bağlayan iyoduroforin), glikoz, lipoitler, aminoasitler, vitaminler, atık maddeler, erimiş gazlar, hormonlar ve enzimler bulunur. Kan hücreleri ise alyuvar (eritrosit)'lar, akyuvar (lökosit)'lar ve trombositlerden oluşur. Lökositler, sitoplazmalarında granül içeren granülositler ve granül içermeyen agranülositler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Granülositler, içerdikleri granüllerin boyanma yeteneğine göre nötrofil, eozinofil ve bazofil olmak üzere üç tiptedir. Agranülositlerin ise lenfositler ve monositler olmak üzere iki tipi vardır (Tanyolaç, 2000; Demir, 2009).

Balıklarda kan hücreleri diğer omurgalıları göre farklı şekilde oluşmaktadır. Balıklarda kan hücreleri oluşumu memelilerden daha hızlı gerçekleşmektedir (Fange, 1992). Bazı balıklar fertilizasyondan sonra 22 saat içinde hemoglobini, 24 saat içinde eritrosit üretirken bu durum memelilerde 8-19 gün içinde gerçekleşir (Govani ve ark., 2005).

Kanın canlı vücudunda gerçekleştirdiği birçok görevi vardır. Bu görevler;

- Besinleri direk ve indirekt olarak gerekli hücelere taşımak,
- Hücrelerde oluşan karbondioksit ve atık maddeleri uzaklaştırmak,
- Hormon ve diğer düzenleyici maddelerin hücreler ve dokular arasında dağıtımını sağlamak,
- Tampon görevi görerek fizyolojik dengeyi sağlamak ve vücut ısısını ayarlama görevi almak,
- Pıhtılaşmayı sağlamak,

- Vücudu yabancı maddelere ve hastalıklara karşı koruyan bağışıklık sisteminde görev almaktır (Timur, 2013).

2.2.1. Kan Hücreleri

Balıklarda olgun kan hücreleri üç gruba ayrılmaktadır.

- Eritrositler (Alyuvarlar)
- Lökositler (Akyuvarlar)
 - Granülosit
 - Eozinofil
 - Nötrofil
 - Bazofil
 - Agranülosit
 - Monosit
 - Lenfosit
- Trombositler

2.2.1.1. Eritrositler

Kandaki hücrelerin % 99'dan fazlasını eritrositler oluşturmaktadır. Memeli eritrositleri, deve ve lama hariç nükleussuz ve bikonval (iç bükey) disk şekline sahiptir. Kırmızı kemik iliğinde oluşarak kana karışan genç eritrositler, olgunlaşarak nükleus ve birçok organelini kaybederek nükleussuz hale gelirler (Aktümsek, 2002).

Eritrositler, üstten görünüşleri yassı ve oval şekilli olup ender olarak ortası çukur bir diski andırmaktadır. Sarı-kırmızı renkli ve nükleusa sahiptir. Ortalama çapları türlere göre değişiklik göstermektedir ve 7-36 μ arasında olup 1 mm³ kanda 20 bin ile 30 bin arasında değişiklik göstermektedir (Karataş, 2005).

Eritrositlerin büyüklükleri ve kandaki sayısı canlı türüne göre değişmektedir (Aktümsek, 2010). Kan dolaşımında bulunan eritrositler çoğunlukla uzamış şekle sahip olan olgun eritrositlerdir. Fakat olgun olmayan eritrositler de kanda az miktarda gözlemlenebilmektedir. Olgun olmayan eritrositlerin sayısı; canlı türüne, yaşa, mevsime ve çevre şartlarına göre değişebilmektedir (Timur, 2013). Kemik iliğinde üretilen genç eritrositler kan plazmasına

karıştıktan sonra olgunlaşmaktadır. Kan plazmasında bulunan olgun eritrositlerin çekirdeğinin içinde bulunan kromatinin yapısında değişiklik meydana gelmektedir. Genç eritrositlerde nükleus genellikle dış merkezli, yuvarlak şekilli ve olgun eritrositlerin çekirdeğine göre daha büyüktür. Olgun eritrositlerde nükleus hücrenin merkezinde ve oval şekildedir. Ayrıca olgunlaşmamış eritrositlerin sahip olduğu nükleustan daha küçüktür (Tavares-Dias, 2006).

Eritrositler, karakteristik bir özelliği olan kırmızı rengini hemoglobinden almaktadır. Hemoglobin kanın oksijen bağlama gücünü arttırmaktadır. Renksiz bir protein olan globin, demir atomu içeren sarı-kırmızı renkli bir pigment olan hem'den meydana gelmektedir. Kanın oksijen taşıma kapasitesi hemoglobin miktarı ile doğru orantılıdır. Ayrıca hemoglobin sayısı da eritrosit sayısına bağlıdır. Balıkların çoğu oksijeni kanda % 90'ı hemoglobine bağlanmış şekilde, geri kalan kısmı ise plazmada erimiş şekilde taşınmaktadır (Demir, 2009).

Balıklarda eritrositler yaşam boyu oluşmaya ve kan dolaşımındaki eritrositlerde hemoglobin içeriği açığa çıkmaya devam etmektedir. Ayrıca, son çalışmalar ile balık eritrositlerinin bağışıklık sisteminde rol oynayan hücreler gibi hareket edebileceği de ortaya çıkarılmıştır (Claver ve Quaglia, 2009; Mumford, 2007).

2.2.2. Kan Hücre Anormallikleri

Anormallik, dünya genelinde canlılar üzerinde en yaygın görülen kan hastalıklarıdır. Kan hücre anormallikleri genel olarak erişkin bireylerde daha sık görülmektedir. Kırmızı kan hücresinin birincil işlevi, dokulara oksijen iletmektir. Kırmızı kan hücreleri kemik iliğinden üretilmektedir ve bu üretim için hücrede yeterli miktarda hemoglobin içermesi gerekir. Anormallik, eritrosit üretimi sırasındaki hemoglobin miktarına, böbrek yetmezliği ve hastalık durumuna ve diğer dış veya iç aktörlere bağlı olarak oluşmaktadır. Eritrositlerde meydana gelen anormallik türleri nükleus ve sitoplazma anormallikleri olarak iki gruba ayrılmaktadır (Verhovsek, 2017).

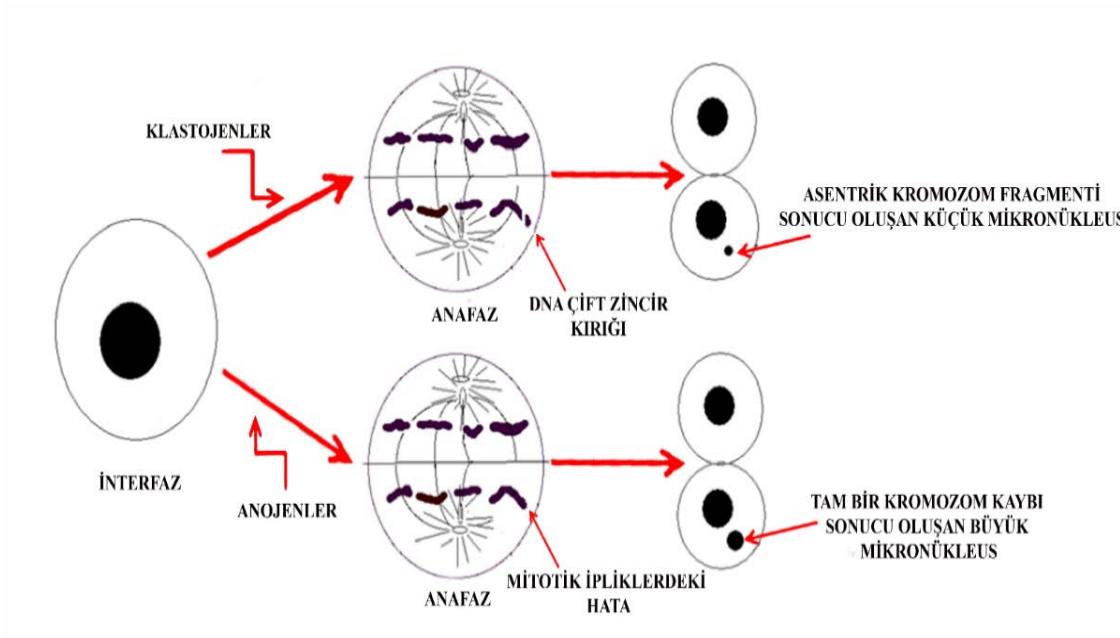
2.3. Mikronükleus Testi

Kromozomların yapılarının tam anlamıyla anlaşılmasına rağmen, kromozomlarda meydana gelen anormallikler DNA seviyesindeki hasarların belirtisidir. Örneğin;

kromozomlarda meydana gelen kırılma, DNA'nın sahip olduğu çift iplikli yapının tekrar tamir edilememesinden kaynaklanabilir (Savage, 1993). Kromozomlarda parça kaybı veya kromozomların hatalı ayrılışı, kanser oluşumunda ve yaşlanmada çok önemli bir olaydır. Klasik sitogenetik tekniklerde, telofaz evresinde bulunan ve sitoplazma bölünmesi durdurulmuş hücreleri gözlemleyerek ve anormallikleri sayarak hücreler incelenmektedir (Natarajan, 1982). Bu yaklaşım detaylı bir analiz yapılmasını sağlar ancak metafaz evresinde meydana gelen daha kompleks anormalliklerin daha ayrıntılı belirlenmesinde eksikleri vardır ve kromozom kusurlarını tespit etmede daha basit yeni yöntemler geliştirilmiştir.

Mikronükleuslar (MN), mitoz bölünme sırasında hücrenin kutuplarına gidemeyen tüm kromozomlar veya sentromeri olmayan kromozom kırıklarını içeren sitoplazma bölünmesi durdurulmuş hücrelerde görülebilir. Telofaz evresinde, kromozomlardan geriye kromozom kırıkları veya tam kromozomlar etrafında nükleer bir zar oluşur ve bu oluşan yapı hücrenin ana çekirdeğinden daha küçük olduğundan "mikronükleus" olarak isimlendirilir (Şekil 2.1).

MN testleri kromozomlarda meydana gelen kırılmaları ya da tam kromozom kayıplarını belirlemede en uygun ve güvenilir bir ölçüm sağlamaktadır. MN'ler hücrede nükleus bölünmesi tamamlandıktan sonra oluştuğu için, hücre döngüsünün iki nükleuslu safhasında daha rahat ölçülür (Fenech, 2007).



Şekil 2.1. MN oluşum şeması (Şekeroğlu, 2011).

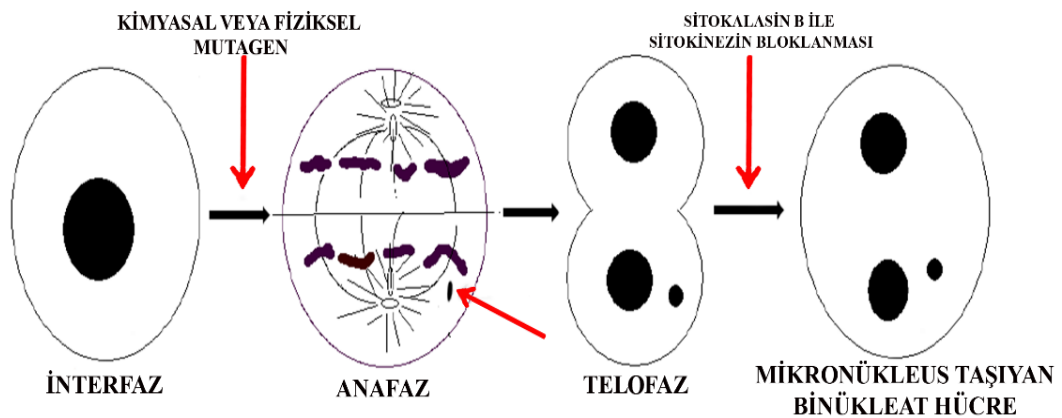
Mikronükleus kullanım tekniği,

1. Farmasötik ajanların neden olduğu sitogenetik etkilerinin incelenmesinde,
2. Klastojen ve anojenlerin etkilerinin araştırılmasında,
3. *In vivo* ve *in vitro* yöntemlerle genotoksik hasarların incelenmesinde,
4. Radyolojik kazalarda genetik materyalde meydana gelen hasarların belirlenmesinde,
5. Kanser oluşma riskinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Şekeroğlu, 2011).

MN test yöntemi uzun yıllardır kromozom anormallik tekniklerine göre daha kolay ve kısa zamanda değerlendirilebildiği için radyasyon çalışmasında, kimyasal ilaç kullanımı sonucunda oluşabilecek DNA hasarını belirlemede kullanılmaktadır (Şekeroğlu, 2011).

MN testi ilk olarak 1950 yıllarında bitki hücrelerinde kromozom hasarının ölçülmesinde kullanılmıştır. 1970'li yıllarda hayvan hücreleri başta olmak üzere kültüre alınmış insan lenfositlerinde kimyasal karsinojenleri belirleme amacıyla yönelik olarak kullanılmaya başlanmıştır (Özkara, 2015).

Standart lenfosit kültürlerine veya canlı vücuduna uygun konsantrasyona sitokalsin-B (Cyt-B) ilave edilmesiyle, nükleus bölünmesini tamamlamış ancak sitoplazma bölünmesini gerçekleştirilmemiş çift nükleusa sahip hücrelerde mikronükleus bulunduran hücrelerin oranı tespit edilmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Sitokinezi bloklanmış hücrede bulunan mikronükleus (Şekeroğlu, 2011).

Sitoplazma bölünmesi durdurulmuş iki nükleuslu (binükleat) hücreler ve MN sayımında şu kriterler kullanılmaktadır;

1. İncelenen hücreler çift nükleusa sahip olmalıdır ve belirgin sitoplazmasıyla yuvarlak veya oval görünümlü olmalıdır.

2. MN çapı ana nükleusun 1/3'ü kadar veya daha küçük olmalıdır.

3. MN'ler ana nükleustan açık bir şekilde ayrılmış olmalıdır veya mikronükleer sınırlar nükleer sınırlardan ayırt edilebilir olmalıdır.

4. Ana nükleus ile aynı oranda boya alma özelliği olmalıdır (Şekeroğlu, 2011).

MN testi *in vitro* ve *in vivo* olarak iki şekilde yapılmaktadır.

2.3.1. *In vivo* Mikronükleus Testi

Lenfosit kültürlerindeki çalışmalara benzer olarak MN tekniği, *in vivo* olarak da uygulanmaktadır. Memelilerde kullanılan *in vivo* mikronükleus testi, *in vitro* mikronükleus test sistemlerinden elde edilen mutajenik etkinin daha ayrıntılı araştırılmasına ve bileşiğin *in vivo* metabolizması, farmakokinetiği ve DNA'da meydana gelen hasarın onarım süreçleri gibi faktörlerin değerlendirilmesine de olanak sağlamaktadır (Şekeroğlu, 2011; Widel, 2001). En sıklıkla kullanılan *in vivo* MN testi, memeli eritrositlerinde meydana gelen MN sıklığının belirlendiği bir testtir. Bu test genellikle memeli kemik iliğinde ve periferik kan hücrelerindeki eritrositlerin analizi yapılarak, test edilen bileşiğin kromozomal hasara neden olup olmadığının saptanmasında kullanılır. Eritrositler kemik iliğinde üretilmektedir ve kana karıştıktan sonra nükleuslarını kaybetmektedir. Eritrositlerin nükleuslarında meydana gelen hasarı daha kolay tespit edebilmek için eritrositler nükleuslarını kaybetmeden önce kemik iliği içerisinden numune alınır ve MN testi yapılır (Widel, 2001).

2.3.1.1. *In vivo* Testlerde Mikronükleus Sayısının Belirlenmesi:

Mikronükleus testi için yapılan çalışmalarda hazırlanan preparatların her birinde mikroskop altında rastgele 1000 adet eritrosit sayılır ve sayılan eritrositlerin içerisinde MN taşıyanların sayıları tespit edilerek yüzdeleri çıkarılır (Şekeroğlu, 2011). Eritrositlerin içerisinde oluşan MN'ler ana çekirdeğin 1/3 ya da daha az çapında, boyanma özelliği ana çekirdeğin boyanma özelliği ile aynı, yuvarlak şekilli, boyandıkları zaman koyu mavi renkli olması nedeni ile daha kolay ayırt edilebilmektedir (Fenech, 2000).

2.3.2. *In vitro* Mikronükleus Testi

In vitro testi, test ajanlarının kromozomal hasarı indükleme yeteneğinin saptanmasında kullanılmaktadır. Sıklıkla incelenen anormallikler; kromozom kırılmaları ve kromozom boşlukları (gaps) olup bu test ile translokasyonlar, endoreduplikasyonlar ve poliploidi gibi daha kompleks değişiklikler de değerlendirilebilmektedir (Fenech, 1991; Widel, 2001).

In vitro mikronükleus testinin yürütülmesiyle ilgili çok farklı metodlar yayınlanmıştır. Protokollerdeki varyasyonlar; analiz edilecek hücreleri, hücrelere uygulanan işlemleri ve Cyt-B kullanımını kapsar. Çok fazla çeşit olduğu için bugün rutin genotoksisite testi için üzerinde fikir birliğine varılmış bir protokol yoktur. Yakın gelecekte genel bir metod dizaynı oluşturmak amacıyla çalışmalar sürmektedir (OECD, 2007).

In vitro mikronükleus testinde farklı tipte hücreler kullanılmıştır ve bunların tümü eşit derecede kabul görmektedir. En yaygın olarak kullanılanı Chinese hamster ovaryum hücreleridir. Bunun yanısıra insan periferal kan lenfositleri de (tüm kan veya izole lenfositler) sıklıkla kullanılmaktadır. İnsan periferal kanında en uygun hücre tipi araştırılmış ve Wuttke, “B-lenfositlerin, T-lenfositlere kıyasla mikronükleus oluşumunda radyasyon etkisine, daha duyarlı olduğunu” bildirmişlerdir (Fenech, 1991; OECD, 2007).

2.3.2.1. *In vitro* Testlerde Mikronükleus Sayısının Belirlenmesi

Mikronükleus sayısını belirlemek amacıyla hazırlanan her bir preparatta iki nükleuslu (binükleat) 1000 adet hücre incelenir ve incelenen bu hücreler içerisinde MN taşıyanların frekansı belirlenmektedir. Ayrıca incelenen binükleat hücrelerde tespit edilen toplam MN sayısı belirlenerek MN taşıyan binükleat hücrelerin oranı ve toplam MN sayısının incelenen binükleat hücre sayısına bölünmesiyle hücre başına düşen MN ortalaması ve MN yüzdesi hesaplanır (Fenech, 2000).

2.4. Literatür Özeti

Kimyasal ve bitkisel ilaçların canlılar üzerinde mikronükleus oluşumuna etkisi üzerine literatürde farklı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları şunlardır:

Çiğremiş, Gaffaroğlu, Erdoğan, Türköz, Yüksel, Yılmaz, Yılmaz (2003) tarafından yapılan bir çalışmada tekstil fabrikası atığının *Cyprinion macrostomus*'un karaciğer, böbrek ve kan dokuları üzerinde biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik etkileri incelenmiştir. Çalışmada 3 yaşındaki *C. macrostomus*' lar 10-35 gün boyunca % 2,5' lik tekstil fabrikası atığı bulunan ortamda yaşatılmıştır. Sonuç olarak; 35 gün boyunca tekstil atığına maruz kalan grupta karaciğer ve böbrek glutatyon (GSH) konsantrasyonları kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalırken 35 günlük grubun karaciğer ve böbrek malondialdehit konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı gözlemlenmiştir.

Yılmaz (2005) tarafından “parathion methyl (insektisit)’in *Barbus mystaceus* (Syn: *Barbus rajanorum mystaceus*) bireyleri üzerindeki genotoksik etkinin eritrosit MN testi ile belirlenmesi” adlı çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada 4 gün boyunca 125, 150, 175, 200, 225 ppm’lik dozlarda parathion methyl’e maruz bırakılan 24 adet *B. mystaceus* bireylerinin kanındaki eritrositlerde MN oluşmuş eritrosit sayısı belirlenmiştir. Sonuç olarak en yüksek MN ortalaması %2,65 ile 225 ppm’lik doza maruz bırakılan *B. mystaceus* bireylerinde tespit edilmiş ve doz miktarına bağlı olarak mikronükleus bulunan eritrosit sayısında artış olduğu tespit edilmiştir.

Koçak (2005) tarafından yapılan sitrik asitin *Tinca tinca* (L., 1758) (Pisces: Cyprinidae) üzerindeki genotoksik etkisinin mikronükleus testi ile belirlenmesi adlı çalışmada, gıda katkı maddesi sitrik asitin *T. tinca* üzerindeki genotoksik etkisi statik akut deney tekniği kullanılarak yapılmış ve genotoksik etkinin belirlenmesinde eritrosit mikronükleus testi kullanılmıştır. Sitrik asit maruziyetinde meydana gelen mikronükleuslu hücreler incelenmiş ve sitrik asitin sebep olduğu genotoksik etki tespit edilmiştir. Uygulamalar hem zamana hem de doza bağlı olarak yapılmıştır ve balıklar sitrik asitin 200, 300, 400 ppm’lik dozlarına 24, 48, 72, 96 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Sitrik asitin farklı sürelerde ve farklı dozlarda uygulanması sonucunda mikronükleus sayılarında bir artış olduğu gözlenmiştir.

Arslan, Dalgıç, Sarıçakmak, Sarıgil, Ülker, Koçak, Memmi (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, su ekosistemine evsel, endüstriyel ve genel amaçlı kullanım sonucunda kirletici olarak karışan bulaşık deterjanı ve çamaşır suyunun standart test organizmasının lepistes

(*Poecilia reticulata*) balıkları üzerindeki genotoksik etkileri MN testi kullanarak araştırılmıştır. 15 µl'lik bulaşık deterjanı ve çamaşır suyuna 4 gün süreyle maruz bırakılan lepistes bireylerinin kan örnekleri 4. günün sonunda alınmıştır. Dört gün süreyle 15 µl'lik bulaşık deterjanı ve çamaşır suyuna maruz kalan balıkların MN değerlerinde artış olduğu gözlemlenmiştir.

Kosai, Jiraungkoorskul, Syntatayakul, Jiraungkoorskul (2011) tarafından yapılan çalışmada su ile farklı dozlarda seyreltilen kurşun (Pb) ve kalsiyum (Ca)'un *Oreochromis niloticus* bireyleri üzerindeki mikronükleus oluşumu ve eritrosit morfoloji bozuklukları araştırılmıştır. Çalışmada 6 farklı dozda ortama verilen kimyasalların balıkların üzerindeki etkisi ve LC₅₀ değeri hesaplanmıştır. Her bir doz grubunda incelenen eritrositlerde 4 farklı sitoplazma anormallik türü tespit edilmiş ve bu anormalliklerin doz grupları arasındaki sayısal değerleri hesaplanarak aralarındaki farklılıklar tespit edilmiştir. Her grupta tespit edilen loblu nükleus (LB), tomurcuklu nükleus (BL), çentikli nükleus (NT), binükleat (BN) anormallik türlerine ait frekanslar NT> LB> BN> BL olarak bulunmuştur. Bu çalışmada kurşun tarafından uyarılan eritrositlerde meydana gelen anormalliklere kalsiyumun azaltma yönünde etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Özkan, Gündüz, Berköz, Özlüer Hunt (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, kadmiyumun farklı derişimlerinin *Oreochromis niloticus*'un periferik eritrositlerin üzerine genotoksik etkileri, mikronükleus ve nükleus anormallikleri testleri yapılarak araştırılmıştır. Çalışmada balıklar 10 gün boyunca 0,5 ve 1,0 mg/L kadmiyuma maruz bırakılmıştır. Çalışmanın 2. 4. 6. ve 10. günlerinde mikronükleus ve diğer nükleus anormallikleri olan loblu nükleus, tomurcuklu ve çentikli nükleus bulunduran eritrositler sayılarak belirlenmiştir. Pozitif kontrol amacıyla 4 mg/L derişiminde cyclophosphamide (siklofosfamid) içeren ortam kullanılmıştır. Uygulanan kalsiyum derişimleri periferik eritrositlerde MN frekansını önemli oranda artırmış ve 1,0 mg/L kadmiyum derişimi, MN frekansını üzerinde 0,5 mg/L kadmiyum derişimine göre daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Deney süresince, en yüksek MN frekansını 4. günde saptanmıştır. Sonuç olarak, kadmiyum derişimleri etkisiyle, periferik eritrositlerde MN frekansları ve nükleus anormallikleri frekanslarının derişime ve zamana bağlı olarak yükseldiğini, fakat 6. günden itibaren azalma eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir.

Arkına, Gülten, Yakut (2012) tarafından yapılan çalışmada, benzalkonyum klorürün insan lenfositleri üzerindeki genotoksik etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada dezenfektan olarak çok yaygın kullanılan benzalkonyum klorürün genotoksik etkisi *in vitro* MN testi kullanılarak

araştırılmıştır. Çalışmada, herhangi bir genotoksik ajana maruz kalmamış ve hayatlarında hiç sigara kullanmamış sağlıklı ve gönüllü erkeklerden alınarak hazırlanan tam kan lenfosit kültürleri kullanılmıştır. Hazırlanan kültürlere 6 farklı konsantrasyonda benzalkonyum klorür ilave edilerek mikronükleus oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Her kültürden 1000 hücre değerlendirilerek mikronükleus analizi yapılmıştır. Negatif kontrol kültürlerinden elde edilen sonuçlar ile yapılan karşılaştırma sonucunda, kullanılan konsantrasyonların hiçbirinde mikronükleus değerlerinde anlamlı artış gözlenmemiştir. Sonuç olarak uygulanan *in vitro* kültür koşullarında benzalkonyum klorürün anlamlı genotoksik etkisi tespit edilmemiştir.

Hayretdağ, Gürken, Yakın, Tok (2014) tarafından yapılan çalışmada Türkiye’de, Vize (Kırklareli) ve Kızılcahamam (Ankara) ilçelerinden toplanan *Coronella austriaca*, *Dolicophis schmidti* ve iki *Natrix tessellata* örneğinin periferik kan eritrositlerinde ortalama mikronükleer eritrosit (MNE) frekansları ve nükleus anormallikleri incelenmiştir. Kan hücreleri üzerinde çalışma yapılan tüm yılan türlerinde farklı sayıda mikronükleus tespit edilmiştir. Buna ek olarak, çalışmada üç farklı nükleus anormallik çeşidi tespit edilmiştir. Bu anormallikler; nükleer tomurcuk, çentikli ve tomurcuklu nükleus olarak belirlenmiştir. Türkiye’deki üç bölgenin farklı demografik ve coğrafi özelliklere (Trakya, İç Anadolu ve Doğu Anadolu) sahip olduğu bu yılan incelemesinin sonucunda, eritrositlerde bildirilen benzer genotoksik etkilerin çevresel kirletici etkiler taşıdığı için yaygınlaşabileceği sonucuna varılmıştır.

Güler Kanter (2015) tarafından yapılan bir çalışmada Kızılırmak Nehri’nde yayılış gösteren bazı balık türlerinde periferik kan hücreleri incelenmiştir. Bu çalışma Kızılırmak Nehri’nde yayılış gösteren Cyprinidae familyasından *Alburnoides bipunctatus* (Bloch, 1782), *Capoeta baliki* Turan, Kottelat, Ekmekçi & İmamoğlu, 2006, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, *Luciobarbus escherichii* (Steindachner, 1897), *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758) ve *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758)’nin kan hücre morfolojilerini tespit etmek ve bu türlerin sahip olduğu eritrosit hücrelerinin ve nükleuslarının çap uzunluklarını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Arslan, Duman, Kanbur, Akyüz (2016) tarafından yapılan çalışmada “Kayseri’nin Pınarbaşı ilçesinde yakalanan gökkuşuğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) genotoksisite yönünde incelenmesi yapılmıştır. Bu çalışmada Bahçelik barajının beş ayrı noktasından 6 balık yakalanmıştır. Balıkların kan örnekleri, karaciğer ve böbrek dokuları alınmıştır. Komet tekniği, doku örnekleri üzerinde, MN tekniği ise kan numuneleri üzerinde

gerçekleştirilmiştir. İncelemede kafes ortamında yetiştiricilik yapılan balıklardaki MN içeren hücre sayısının, diğer gruplara oranla daha belirgin olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak kafeste yetiştirilen balıklarda genetik hasarın daha fazla olduğu, bunun kafeste yaşanan stres ve beslenme koşullarına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan literatür taramasında *E.elaterium* bitki özsuyu kullanılarak yapılan bazı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda hayvan ve insan kan hücreleri kullanılmıştır. Bu çalışmalar şu şekildedir;

Rencüzoğullari, Kayraldiz, Diler, Yavuz, Arslan, Kaya, Topaktaş (2005) tarafından yapılan çalışmada, İnsan periferik lenfositlerini kullanarak anti-inflamatuar etkiye sahip *E. elaterium* meyve özsuyunun mutajenik etkilerini araştırmak için, insan periferik lenfositleri 24 ve 48 saat süreyle tek başına üç doz (18, 36 ve 72 µl / 1) meyve özsuyu ile tedavi edilmiştir. *E. elaterium* meyve özsuyunun antimutajenik etkilerini araştırmak için, insan lenfositleri aynı zamanda meyve suyu ve 0.25 µg / ml mitomisin-C (MMC) karışımı ile işlenmiştir. *E. elaterium* meyve özsuyu, tek başına kullanıldığında toplam kromozom anormalliği (KA) yüzdesini (özellikle sayısal KA yüzdesine göre yapısal KA yüzdesi) indüklemiş ve MMC ile karışım olarak kullanıldığında toplam KA yüzdesini sinerjik olarak indüklemiştir. *E. elaterium* meyve özsuyu, 24 ve 48 saatlik tedavi süresi için kardeş kromatid değişimi (KKD) frekansını etkilememiştir. Buna karşılık, *E. elaterium* ve MMC, bir karışım sinerjik olarak, yalnızca 48 saatlik tedavi süresince en yüksek konsantrasyonda KKD frekansını uyarmıştır. *E. elaterium* tek başına doz bağımlı olmayan şekilde mitotik indeksi düşürürken replikasyon indeksini azaltmamıştır. Karışım olarak, *E. elaterium* ve MMC tek başına, *E. elaterium*'un sitotoksik etkilerinden daha yüksek bir sitotoksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, *E. elaterium*'un insan çevresel lenfositlerde mutajenik ve sitotoksik bir etkisi olduğu halde *E. elaterium*'un antimutajenik etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Çelik ve Aslantürk (2009) tarafından yapılan çalışmada, *Allium cepa* (soğan) yumruları, *E. elaterium* meyve suyunun dört konsantrasyonu (10 ml / L, 20 ml / L, 50 ml / L ve seyreltilmemiş) ile 72 saat işleme tabi tutulmuş ve kontrol olarak musluk suyu (pH 7.3) kullanılmıştır. Sonuçlar, *E. elaterium* meyve özsuyu tedavisinden sonra *A. cepa* kök uç hücrelerinde hücre bölünmesi üzerine ve kök gelişimindeki etkilerin önemli ölçüde doza bağımlı (P <0.05) olduğunu göstermiştir. Ayrıca, *E. elaterium* meyve özsuyu, kök ucu hücrelerinde ve mikronukleus oluşumlarında doza bağlı kromozom sapmalarının frekansı (kırımlar, yapışkanlık ve kutup sapmaları) önemli ölçüde arttırmıştır. Seyreltilmemiş *E.*

elaterium meyve suyuyla tedavi edilen grupta bölünen bir hücre olmamış, ancak değişen sıklıkta piknotik/apoptotik hücreler saptanmıştır.

Shabbar ve Maslat tarafından (2006) yılında yapılan çalışma, Ürdün'de geleneksel bir halk tıbbı olarak sarılığın tedavisinde uygulanan *E. elaterium* meyve özsuyunun genotoksitesini araştırmak üzere tasarlanmıştır. LD₅₀'nin, uygulanan suyun 61 µl'si olduğu tahmin edilmiştir. *E. elaterium* 'un potansiyel genotoksitesini, mikronükleus (MN) tahlili ve DNA tek sarmal kırılma (SSB) teknikleri ile incelenmiştir. Sonuçlar, meyve suyunun, kontrol grubuna kıyasla, *E. elaterium* özsuyunun test gruplarına oral olarak verilmesiyle DNA'daki MN oluşumunu ve SSB'sini önemli ölçüde indüklediğini ortaya koymuştur. Bu verilerle birlikte, *E. elaterium* özsuyunun genotoksite yaratma potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Balıklardaki kan hücrelerinin morfolojik yapıları üzerine farklı çalışmalar da yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları şunlardır:

Zhang, Xie, Xiong, Liu, Suolang, Shang (2011) tarafından *Glyptosternon maculatum* (Syn: *Glyptosternum maculatum*)'un kan hücre morfolojisinin diğer balık türleri ile olan benzerlik ve farklılıklarını tespit etmek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışmanın sonunda *G.n maculatum*'un kan hücrelerinin morfolojisi bazı farklılıklarla birlikte diğer balık türleri ile benzer bulunmuştur. *G. maculatum*'un eritrositlerinin daha büyük oluşu, bazofil ve eosinofil hücrelerinin yokluğu ve trombosit hücrelerinin beş farklı şekilde oluşu bu farklar arasında gösterilmiştir.

Tripatti, Latimer, Burnley (2004) tarafından yapılan çalışmada *C. carpio*'nun kan hücrelerinin morfolojik yapıları incelenmiştir. Hazırlanan preparatlar Wright boyası ile boyanarak lökosit hücreleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışma eritrosit hücrelerinin; oval şekilli, merkezinde oval çekirdeğe ve çekirdeği çevreleyen parlak sarı-turuncu renkli sitoplazmaya sahip hücreler olarak tanımlanması ile sonuçlanmıştır. Trombosit hücreleri, uzamış çekirdeğe sahip oval şekilli hücrelerdir ve sitoplazmaları parlak gri renktedir. Araştırmacılar, nükleuslarını birden fazla loba sahip olan monosit hücrelerinin ise daha bol sitoplazmaları ve sahip oldukları sitoplazmik vakuelleri ile büyük lenfositlerden ayırt edilebileceklerini ve monosit hücrelerinin *C. carpio*'nun sahip olduğu en büyük lökosit hücre tipi olduğunu belirtmişlerdir. Nötrofil hücre nükleuslarının çok loblu, sitoplazmalarının ise bol ve eozinofilik olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, bazofil

hücrelerinin hücre nükleuslarının çoğunlukla hücrede dış merkezli konumda yer aldığını ve hücrelerin sahip olduğu sitoplazmanın bol, genellikle vakuollü ve parlak mavi-gri renkte olduğunu belirtmişlerdir. İncelemede, ayrıca *C. carpio*'nun eosinofil hücrelerinin nükleuslarının asimetrik şekilli ve sitoplazmalarının kırmızı granüllere sahip olduğu görülmüştür.

Katalay ve Parlak (2002) tarafından yapılan araştırmada, İzmir Körfezi'nin farklı bölgelerinden seçilen istasyonlarda yakalanan *Gobinus niger* (kömürcü kaya balıkları)'den kan örnekleri alınarak kan parametreleri (beyaz kan hücreleri (lökosit), kırmızı kan hücreleri (eritrosit), hemoglobin, hematokrit ve ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu, trombosit) ölçümü yapılmıştır. Mikroskopta yapılan çalışmalarda kirliliğin etkisiyle bazı histopatolojik değişikliklerin ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Normal kırmızı kan hücrelerinde bulunan oval şekle sahip eritrositler tamamen değişime uğramış ve dejenere olmuş eritrosit sayısında artış gözlemlenmiştir. Normal olarak oval şekilli hücre çeperi ile oval ve yassı şekilli nükleuslar değişikliğe uğrayarak eliptosit ve küresel şekil aldığı ve hücrelerin dikensi bir yapı kazandığı gözlemlenmiştir. Normal beyaz kan hücre yapısında karakteristik olarak gördüğümüz küçük lenfositler yerine anormal, kalın ve yoğun lenfositler gözlemlenmiştir.

Şahan, Altun, Nevşat (2009) tarafından yapılan çalışma, Ceyhan Nehri'nin tarımsal, sanayi, mezbaha ve evsel atıklarının karıştığı bölge (Büyükmangıt köyü) ile aynı nehir üzerinde bulunan Aslantaş Barajı'nda yapılmıştır. Çalışmada kirlilik indikatörü su parametre değerleri ile bunların doğal *C. carpio* ve *Capoeta barroisi*'de lökosit hücre tipleri (lenfosit, monosit, nötrofil, ösinofil)'nin miktarları ve büyüklüklerine olan etkileri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda kirliliği belirlenen nehir bölgelerinde canlı savunma sisteminin en temel hücrelerinden olan lökosit hücrelerden monosit ve nötrofil hücrelerin miktarları ile büyüklüklerinde artış olduğu, ancak hücrelerde yapısal bir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir.

Kaya ve Akbulut (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, *in vivo* etkiye sahip farklı kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapya balığının eritrosit morfolojisinde meydana gelen değişimler araştırılmıştır. Balıklar düşük (0,5 mg/L), orta (2,5 mg/L) ve yüksek (5 mg/L) olmak üzere 3 farklı kurşun konsantrasyonlarına 14 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Çalışma sonunda orta ve yüksek doz kurşuna maruz bırakılan gruplarda kontrol grubuna göre önemli değişimlerin olduğu görülmüştür. Orta ve yüksek dozlarda kurşun eritrosit çekirdeğinin alanı, uzunluğu ve genişliğinde kontrole göre önemli azalma olurken,

sitoplazma alanı ve hücre genişliğinde kontrol grubuna göre önemli bir artış olmuştur. Artan kurşun konsantrasyonlarının tilapya balığının eritrosit hücre morfolojisinde değişimlere neden olabileceği sonucuna varılmıştır.

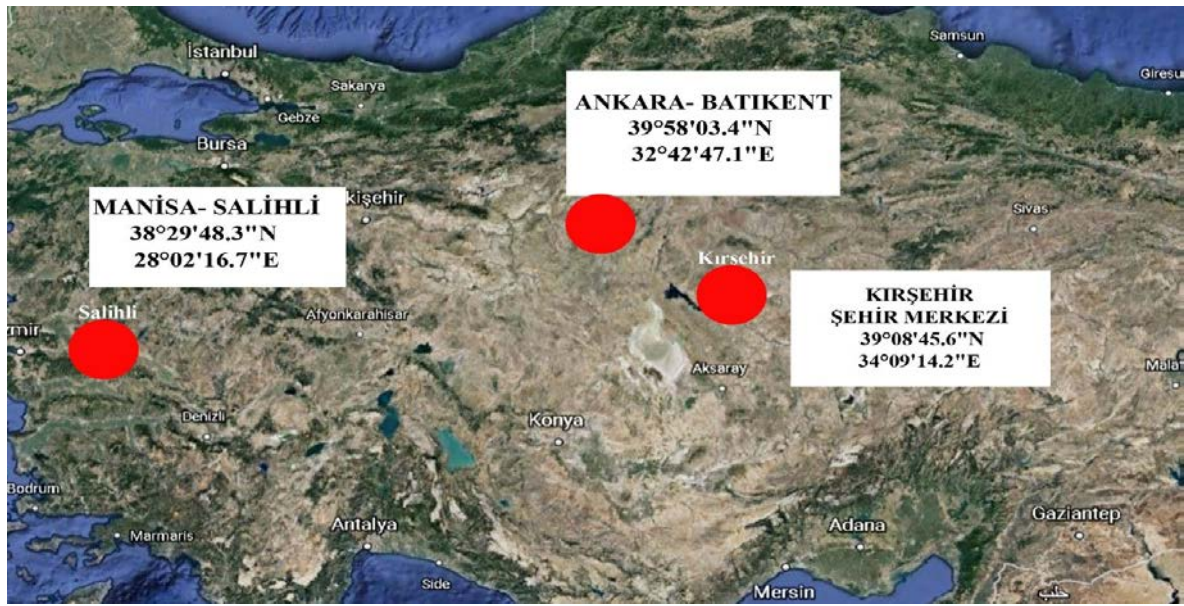


3.MATERYAL VE METOD

3.1.Materyal

3.1.1. *Ecballium elaterium* L. (Acı kavun)

Araştırmada kullanılmak üzere Kırşehir, Ankara ve Manisa illerinin sınırları içerisinde (şekil 3.1) boş arazilerde yabancı olarak yetiştiği bilinen acı kavun (*E. elaterium*) bitkisine ait olgun meyveler (Resim 3.2) Ekim ve Kasım aylarında toplanarak laboratuvar ortamına getirildi.



Resim 3.1. *E. elaterium* meyveleri toplanan iller.



Resim 3.2. *E. elaterium* bitkisinin toplandığı araziden görünüm.



Resim 3.3. Araziden toplanan *E. elaterium* bitkisinin olgun meyveleri.

3.1.2. *Cyprinus carpio* L. 1758 (Sazan Balığı)

Araştırmada kullanılacak balıklar Orman ve Su İşleri Bakanlığına bağlı DSİ 7. Bölge Müdürlüğü 73. Şube Müdürlüğü Yedikır Su Ürünleri İstasyonunda hibe yolu ile temin edildi. Alınan balıklar havalandırmalı taşıma bidonlarına konuldu ve kısa sürede laboratuvara getirilerek akvaryumlara aktarıldı. Bu çalışmada 28 adet balık kullanıldı.

3.2. Metot

3.2.1. Giemsa Boyasının Hazırlanması

Hassas terazide tartılan 1 gr Giemsa boyası havana eklenmiş ve üzerine azar azar gliserin eklenerek karışım sağlandı. Karışım balon jofeye aktarılmış ve benmari 50-55 °C’de ısıtılmıştır. Toz boya tamamen eriyene kadar bole jofe benmari’de tutuldu. Boya eridikten sonra balon jofe benmariden çıkartıldı ve oda sıcaklığında soğutuldu. Balon jofeye 66 ml metil alkol eklenmiş ve homojen bir şekilde karışımı sağlandı. Hazırlanan solüsyon renkli bir şişeye aktarılmış ve ağzı kapatılarak 2-3 hafta oda ısısında bekletildi. Bekletilen boya, süzgeç kâğıdı ile süzülerek renkli şişede stok Giemsa boyası olarak saklandı.

3.2.2. *E. elaterium* Meyve Özsuyunun Çıkarılması

Araziden getirilen olgun *E. elaterium* meyveleri bozulma süreci başladığından vakit kaybetmeden olgun meyveler steril bir kaptan ezildi. Ezilen meyveler steril süzgeç kâğıdından geçirilerek süzülme işlemi yapıldı. Elde edilen meyve özsuyu deney aşamasında kullanılmak üzere derin dondurucuda -20 °C’de dondurularak saklandı.

3.2.3. Balıklara *E. elaterium* Özsuğu Uygulama

Laboratuvara canlı olarak getirilen balıkların 173 litrelik (90x48x40 cm) havalandırılmalı akvaryumlara konularak stres düzeyini azaltmak için ortama uyum sağlamaları beklendi. Laboratuvara getirilen 28 adet balık; 1 kontrol ve 3 deney grubu olmak üzere 4 farklı gruba ayrıldı. Gruplara ait bilgiler ve deney grubuna verilen *E. elaterium* özsuğu ppm miktarları Tablo 3.1’deki gibidir.

Tablo 3.1. Deney ve kontrol grubuna ait bilgiler

	Kontrol	Deney grupları		
	Grubu	1	2	3
Balık sayısı	7	7	7	7
<i>E. elaterium</i> ppm değeri	0	100	200	300

Laboratuvar ortamında -20 °C’ de bekletilen *E. elaterium* özsuğu hızlı bir şekilde eritilip, 100 ppm, 200 ppm ve 300 ppm’lik dozlar için sırası ile 17.3, 34.6 ve 51.9 ml olarak ölçülerek akvaryumlara eklendi. Bu uygulama 3 gün boyunca akvaryumların suları değiştirilerek tekrarlandı.

Deneyin 24. saatinde 1 mg Cyt-B (Sigma, 6762) 79 ml dimetil sülfoksitte çözdürülerek hazırlanan 80 ml çözeltiden her bir balığa 1 ml Cyt-B enjekte edilerek mitoz bölünmenin son evresi olan telofaz evresi (sitoplazma bölünmesi)'nin durdurulması sağlandı. Kontrol ve deney gruplarındaki her bir balığa Cyt-B enjekte edildikten 48 saat sonra balıklardan kan alma işlemi gerçekleştirildi.

Akvaryumlara *E. elaterium* özsuyu eklenmesi ve balıklara Cyt-B verilmesi ile ilgili zaman çizelgesi Şekil 3.1'deki gibidir.



Şekil 3.1. Deney bileşenlerinin uygulama zamanları

3.2.4. Balıklardan Kan Alma İşlemi ve Preparat Hazırlama

Balıklardan kan alma işleminde, kana mukoza karışmaması için iyice kurularak temizlenen balıklar başlarına darbe vurma yöntemi ile bayıltıldı. Bayıltılan balıkların keskin bir bıçak ile kuyruk yüzgecinin 1-2 cm gerisinden kesildi (Kocabatmaz ve Ekingen, 1984). Kuyruk venasından akan kan, mercimek tanesi büyüklüğünde olmak üzere, doğrudan daha önceden temizlenmiş olan lamın bir kenarına alındı. İkinci bir lamın kısa kenarı kan damlasına 45°'lik açı ile değdirildi. Kan ikinci lamın kenarı boyunca yayılınca kadar bekletildi. İkinci lam ters yönde ve iki lam arasındaki açı değiştirilmeden ileri doğru hızla hareket ettirilerek kanın ince bir şekilde lam üzerine yayılması sağlandı. Hazırlanan preparatlar havada bir gün kurutulmuş ve kurutulan preparatlar iki dakika metil alkol ile fikse edildi. Fikse edilen preparatlar şalelere dizilerek %5'lik Giemsa boya içerisinde 20 dakika bekletildi. Boyanan preparatlar son damlası berrak olana kadar distile su ile yıkandı ve havada kurutuldu. Hazırlanan preparatlar (frotiler) Entellan ile kapatılarak Leica DM 3000 araştırma mikroskobunda tarandı ve kan hücrelerinin fotoğrafları çekildi.

3.2.5. Mikronükleus Testinin Uygulanması

Bu çalışmada MN testlerinden *in vivo* yöntemi kullanılarak elde edilen kan örneklerinden preparat hazırlandı.

Her bir *C. carpio* dan 2 adet preparat hazırlandı. Hazırlanan preparatlar Leica DM 3000 model araştırma mikroskopunda incelenerek MN oluşumları ve frekansları belirlendi. Preparatlarda yapılan taramalarda her bir preparatta rastgele 1000 eritrosit sayılmış, sayılan her 1000 eritrosit içerisinde MN'li olanların sayısı belirlendi. Kontrol grubu ile deney gruplarında tespit edilen MN'li eritrosit sayıları arasındaki benzerlik ve farklılıklar, SPSS yazılımı ile istatistiksel olarak hesaplandı.

3.2.6. Kan Hücrelerinin İncelenmesi

Her bir balık için hazırlanan preparatlarda Fenech (2000) tarafından belirlenen kriterler çerçevesinde 1000 adet hücre sayıldı. Sayılan bu hücreler içerisinde bulunan alyuvar hücre morfolojileri incelenerek anormallik gösteren hücrelerin sayıları belirlendi. Alyuvar hücrelerinin sitoplazmalarında ve nükleuslarında tespit edilen anormal hücrelerin frekansları belirlendi. Preparatlarda yapılan taramalarda tespit edilen anormal hücre sayılarının her bir gruptaki toplam sayı değeri binde (%) olarak hesaplandı.

3.2.6.1. Eritrosit Nükleus Anormallikleri

Eritrositlerin nükleuslarında meydana gelen anormallikler Carrocco (1990) tarafından yapılan çalışmada kullanılan yöntemlere göre 5 gruba ayrıldı. Bu gruplar; mikronükleus , loblu nükleus, tomurcuklu nükleus , çentikli nükleus ve binükleat olarak isimlendirildi.

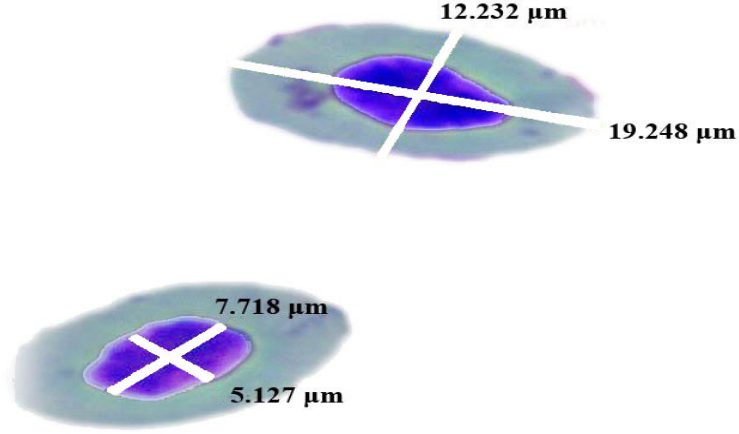
Akvaryumlara verilen 3 farklı dozdaki *E. elaterium* özsuyu doz miktarına göre preparatlarda sayılan anormal hücre sayıları ile kontrol grubu verileri karşılaştırılarak doz miktarına göre anormal hücre sayıları arasındaki değişimler karşılaştırıldı.

3.2.6.2. Eritrosit Sitoplazma Anormallikleri

Eritrositlerin sitoplazmalarında tespit edilen anormallik çeşitleri ise Tejendra (1985) tarafından yapılan çalışmada belirlenen anormallik çeşitlerine göre gruplara ayrıldı.

3.2.6.3. Eritrositlerde Sitoplazma ve Nükleus Alan Ölçümü

Her bir balığa ait boyanmış yayma preparatlarında en az 150 tane eritrosit ve 150 tane nükleus'un uzun ve kısa kenarları ölçülerek (Şekil 3.2), alanları aşağıda belirtilen formüllere göre hesaplandı (U.K; Uzun kenar, K.K; Kısa kenar) (Gregory, 2003).



Şekil 3.2. *C. carpio*'nun eritrosit ve eritrosit nükleus alanlarının ölçümü

$$\text{Eritrosit alanı} = \pi \times \text{U.K./2} \times \text{K.K./2} \mu\text{m}^2$$

$$\text{Nükleus alanı} = \pi \times \text{U.K./2} \times \text{K.K./2} \mu\text{m}^2$$

3.2.7. Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel olarak analizinde SPSS 24.0 versiyonu kullanıldı. Ppm değerine ait grup parametrelerinin normal dağılım gösterip göstermediği tek yönlü varyans analizi testi ile değerlendirildi. Hücrelerde tespit edilen anormal alyuvar sayıları çok yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı. Deney grupları arası istatistik değerlendirmesi Scheffe çoklu karşılaştırma testi ile yapıldı. $P < 0,05$ seviyesinde bulunan farklar anlamlı olarak ifade edilerek bütün grupların verileri ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi

4. BULGULAR

Yapılan çalışmada *Ecballium elaterium* özsuynunun balıklar üzerindeki genotoksik etkisi araştırılmış ve elde edilen sonuçlar doz-anormallik sayısı arasındaki ilişki dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Deneyde eritrositlerde bulunan MN'leri ve morfolojik bozuklukları tespit edebilmek için dört farklı grupta bulunan bireylerden alınan kan örnekleri ile hazırlanan preparatlarda rastgele 1000 hücre sayılmış ve her grupta toplamda 14000 hücre incelenmiştir. Yapılan inceleme sonucunda, farklı dozlarda uygulanan *E. elaterium* özsuynunun, doz artışıyla MN içeren ve anormalliğe sahip eritrosit sayılarında artış olduğunu gözlemlenmiştir.

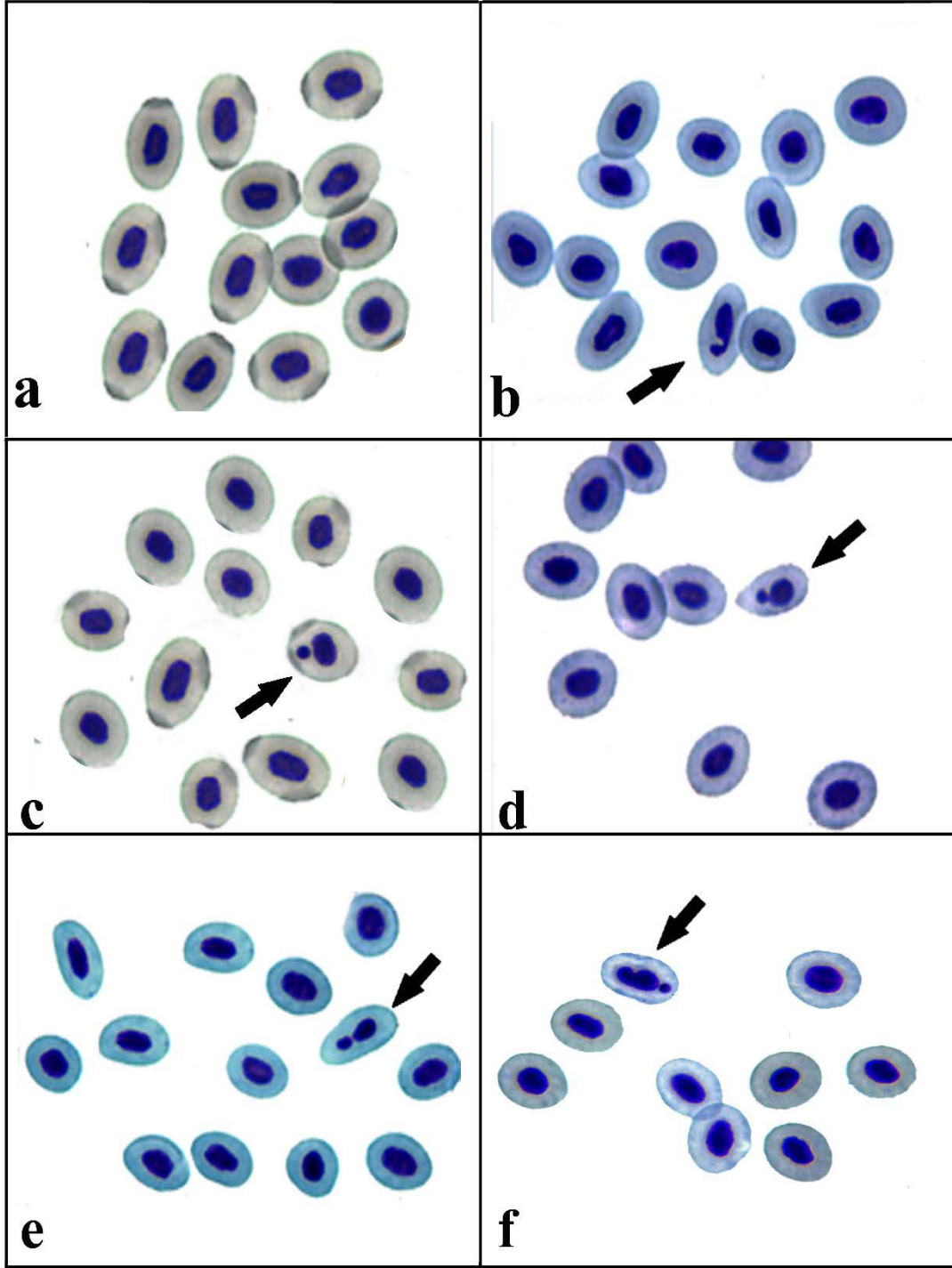
4.1. Kan Hücrelerinin İncelenmesi

Kan hücrelerinin incelenmesi sürecinde kontrol grubunda bulunan örneklere ait kan hücreleri ile deney grubunda bulunan örneklerin kan hücreleri karşılaştırılarak değerlendirme yapılmıştır. Deney grubunda bulunan örneklere ait preparatlarda bulunan MN'li eritrosit sayısı ve anormalliğe sahip hücre sayıları karşılaştırıldığında, doz artışı ile MN'li ve anormal hücre sayısının arttığı tespit edilmiştir.

4.1.1. Eritrosit Nükleus Anormallikleri

Taranan tüm preparatlarda tespit edilen anormallikler Corrasca (1990) tarafından yapılan isimlendirmeye göre gruplara ayrıldığında 5 ayrı grup oluşmaktadır. Bu gruplar eritrosit nükleuslarında meydana gelen anormallik türüne göre gruplara yapılmıştır. Bu gruplar; LB, BL, NT, BN ve MN olarak isimlendirilmişlerdir.

Hücrelerde yapılan analizlerde eritrosit hücrelerinin nükleuslarında tespit edilen anormallik türleri Resim 4.1'de ve tespit edilen anormalliklere ait sayısal değerleri Tablo 4.1'deki gibi bulunmuştur.



Resim 4.1. *C. carpio*'ya ait eritrositlerde tespit edilen nükleus anormallik türleri: Normal eritrosit (a), Çentikli nükleus (b), Mikronükleus (c), Loblu nükleus (d), Binükleat (e), Tomurcuklu nükleus (f)

Tablo 4.1. Eritrositlerin nükleuslarında tespit edilen anormallik sayıları, (MN: Mikronükleus, LB: Loblu nükleus, BL: Tomurcuklu nükleus, NT: Çentikli nükleus, BN: Binükleat)

Dozlar	Örnek Sayısı	Sayılan Hücre	Anormallik Çeşitleri				
			MN	LB	BL	NT	BN
Kontrol	7	14000	0	8	12	14	4
100	7	14000	8	10	18	20	8
200	7	14000	14	20	28	34	8
300	7	14000	24	34	46	58	17

Tablo 4.1'deki verilere göre, dört farklı grupta bulunan preparatlarda, hücreler içerisinde tespit edilen nükleus anormallik türlerine ait hücredeki sayıları verilmiştir. Bu verilere göre kontrol grubu ve 3 farklı deney grubunda toplam 14000 hücre sayılmıştır. Kontrol grubuna ait preparatlarda sayılan 14000 eritrosit içerisinde MN'ye rastlanmazken LB; 8, BL; 12, NT; 14 ve BN; 4 adet bulunmuştur. Deney grubunda bulunan 100 ppm doz uygulanan grupta MN; 8, LB; 10, BL; 18, NT; 20 ve BN; 8 adet bulunmuştur. 200 ppm uygulanan grupta MN; 14, LB; 20, BL; 28, NT; 34 ve BN; 8 adet bulunmuştur. Son olarak 300 ppm doz uygulanan grupta MN; 24, LB; 34, BL; 46, NT; 58 ve BN; 14 adet bulunmuştur. Bu veriler dikkate alındığında akvaryum ortamına verilen *E. elaterium* özsu miktarı arttıkça eritrosit nükleuslarında meydana gelen anomolilerin sayısal değerlerinde artış olduğu tespit edilmiştir.

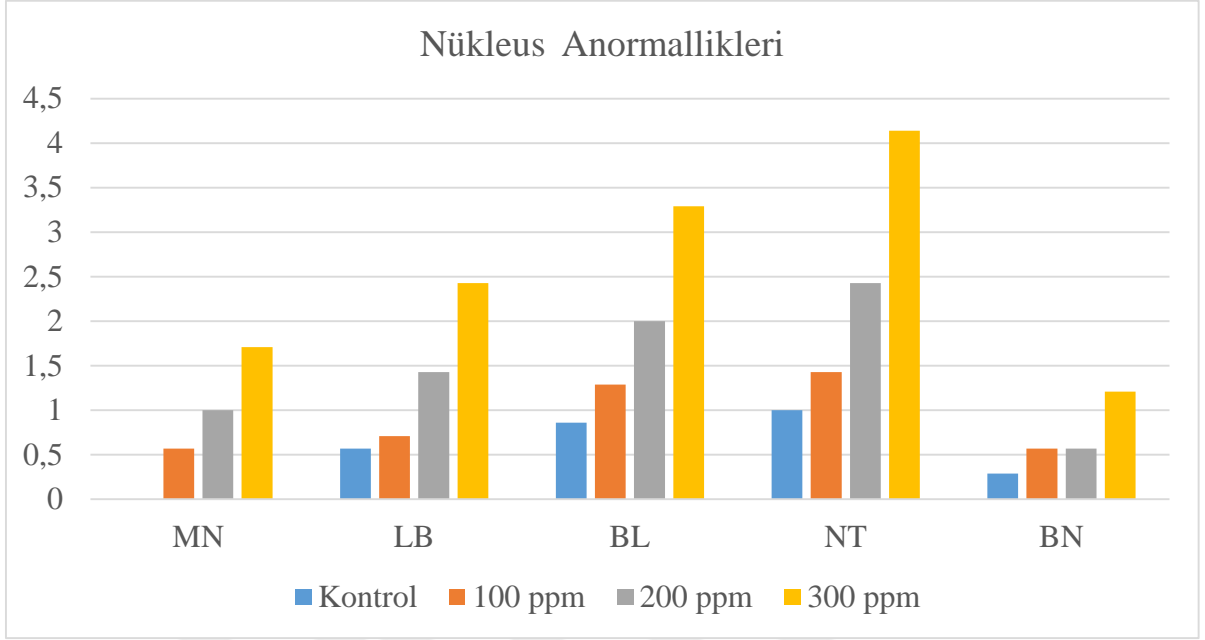
Taranan tüm preparatlarda tespit edilen nükleus anormallikleri ve MN sayılarının % üzerinden değerleri alındığında Tablo 4.2'deki gibi olmaktadır.

Tablo 4.2. Eritrositlerin nükleuslarında tespit edilen anormallik sayısı % değerleri, (MN: Mikronükleus, LB: Loblu Nükleus, BL: Tomurcuklu nükleus, NT: Çentikli nükleus, BN: Binükleat)

Dozlar	Anormallik Çeşitleri % Değerleri				
	MN	LB	BL	NT	BN
Kontrol	0,00	0,57	0,86	1,00	0,29
100	0,57	0,71	1,29	1,43	0,57
200	1,00	1,43	2,00	2,43	0,57
300	1,71	2,43	3,29	4,14	1,21

Tablo 4.2'de verilen her bir gruba ait nükleusu anormal olan hücre sayılarının % değerleri grafik olarak verildiğinde doz artışına dağılım anormali sayılarındaki artış daha rahat görülebilmektedir. Bu artış Grafik 4.1'deki gibi olmaktadır.

Grafik 4.1. Eritrosit nükleuslarında meydana gelen anormallik ortalama değerleri, (MN: Mikronükleus, LB: Loblu nükleus, BL: Tomurcuklu nükleus, NT: Çentikli nükleus, BN: Binükleat)



Grafikteki verilere göre kontrol grubu içerisinde incelenen 14000 hücre arasında MN'li eritrosit hücresine rastlanmazken LB, BL NT ve BN'li hücelere rastlanmıştır. Deney grupları içerisinde tespit edilen 5 farklı anormallik türüne ait sayısal veriler akvaryumlara verilen *E. elaterium* özsuyu doz miktarına göre artış olduğunu göstermektedir.

Dört farklı gruptaki eritrosit içerisinde tespit edilen nükleus anormalliklerine ait sayısal değerlerin gruplar arasındaki farklılığı, istatistiksel olarak her bir grup kendi arasında karşılaştırıldığında Tablo 4.3'deki gibi olmaktadır.

Tablo 4.3. Eritrositlerde tespit edilen nükleus anormallikleri sayılarının anlamlılık bilgileri, (MN: Mikronükleus, LB: Loblu nükleus, BL: Tomurcuklu nükleus, NT: Çentikli nükleus, BN: Binükleat)

Gruplar	Karşılaştırma (ppm)	Nükleus Anormallikleri				
		MN	LB	BL	NT	BN
Kontrol	100 ppm	P<0,05	P>0,05	P<0,05	P>0,05	P>0,05
	200 ppm	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P>0,05
	300 ppm	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
100 ppm	200 ppm	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	300 ppm	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
200 ppm	300 ppm	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05

Eritrositlerin nükleuslarında tespit edilen anormallik sayılarının anlamlılık düzeyleri incelendiğinde (Tablo 4.3);

Dört farklı grupta incelenen eritrositlerde tespit edilen anormalliklerin sayıları karşılaştırıldığında mikronükleus (MN) değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa sahip olduğu tespit edilmiştir ($P>0,05$).

Dört farklı grupta bulunan eritrositlerden loblu çekirdeğe (LB) sahip eritrosit sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında kontrol grubu ile 100 ppm doz verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken ($P>0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($P<0,05$).

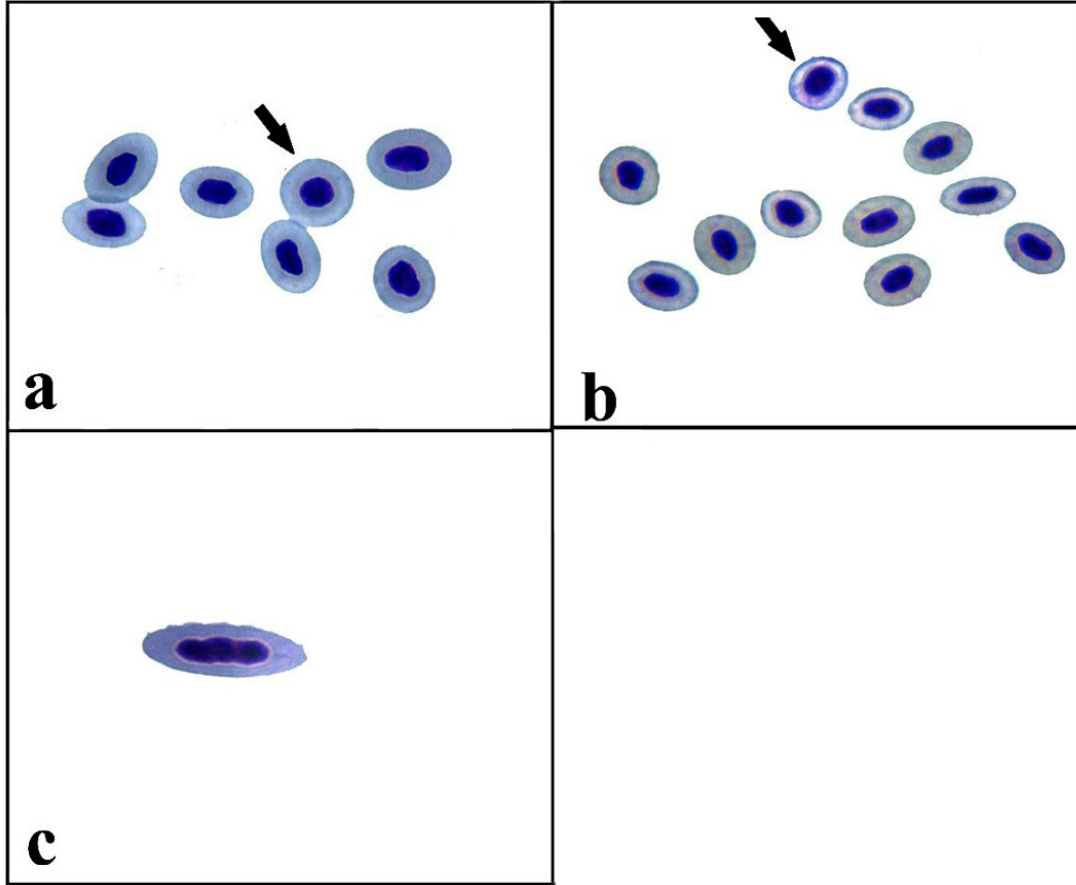
Dört farklı grupta bulunan eritrositlerden tomurcuklu çekirdeğe (BL) sahip eritrosit sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($P<0,05$).

Dört farklı grupta bulunan eritrositlerden çentikli nükleus (NT) sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında kontrol grubu ile 100 ppm doz uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($P>0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($P<0,05$).

Dört farklı grupta bulunan binükleat (BN) sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında kontrol grubu ile 100 ppm ve 200 ppm doz uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($P>0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($P<0,05$).

4.1.2. Eritrosit Sitoplazma Anormallikleri

Hücrelerde yapılan analizlerde eritrosit hücrelerinin sitoplazmalarında tespit edilen anormallik türleri Resim 4.2'deki gibi ve tespit edilen anormalliklere ait sayısal veriler ise Tablo 4.4'deki gibi bulunmuştur.



Resim 4.2. *C. carpio*'ya ait eritrositlerde tespit edilen sitoplazma anormallik türleri: Sferosit (a), Hipokromi (b), Eliptosit (c)

Preparatlarda yapılan taramalarda tespit edilen sitoplazma anormalliği olan eritrositler incelendiğinde üç çeşit anormalliğe rastlanmıştır. Bu anormallikler; sferosit (eritrosit sitoplazmasının tam yuvarlak şekil), hipokromi (eritrositlerde hemogloblin eksikliğine dayalı ortaya çıkan soluk boyalı), eliptosit (eritrositlerin eliptik ve uzamış şekilli).

Tablo 4.4. Eritrositlerin sitoplazmalarında tespit edilen anormallik sayıları

Dozlar (ppm)	Örnek Sayısı	Sayılan Hücre	Anormallik Çeşitleri		
			Sferosit	Eliptosit	Hipokromi
Kontrol	7	14000	6	4	10
100	7	14000	14	10	12
200	7	14000	18	14	20
300	7	14000	22	20	26

Tablo 4.4'de verilen sayısal verilerde balıkların eritrosit sitoplazmalarında meydana gelen değişikliklerin her bir preparatta sayılan 14000 hücrede bulunma miktarları verilmektedir.

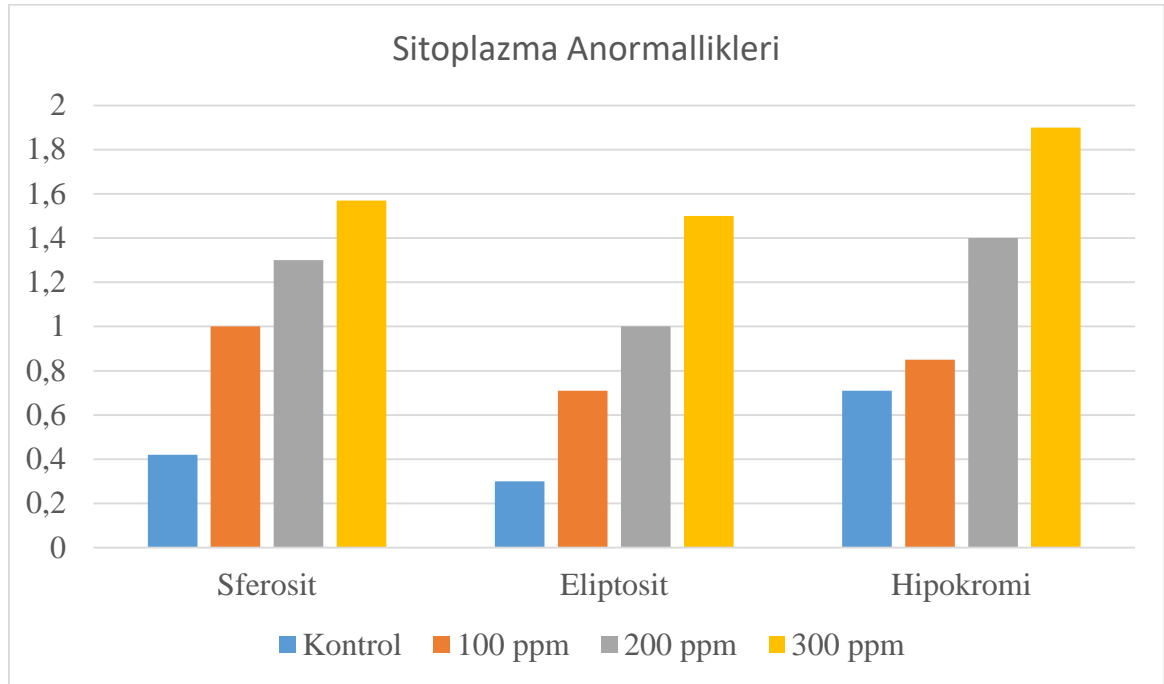
Bu veriler dikkate alındığında eritrosit sitoplazmasında meydana gelen anormallikler ile oluşan sferosit (yuvarlak şekil) hücrelerin sayıları sırasıyla 6, 4 ve 10 olarak bulunmuştur. Eliptosit çekirdeğe sahip eritrositlerin sayıları sırasıyla 14, 10 ve 12 olarak bulunmuştur. Hipokromiye sahip eritrositlerin sayıları ise sırasıyla 22, 20 ve 26 olarak bulunmuştur. Her bir grupta sayılan eritrositlerde tespit edilen nükleus anormalliği bulunan hücrelerin sayılarının % olarak sayısal değeri Tablo 4.5'deki gibidir.

Tablo 4.5. Eritrositlerin sitoplazmalarında tespit edilen anormalliklerin sayılarının % değerleri

Dozlar (ppm)	Anormallik Çeşitleri % değerleri		
	Sferosit	Eliptosit	Hipokromi
Kontrol	0,42	0,30	0,71
100	1	0,71	0,85
200	1,3	1,0	1,40
300	1,57	1,50	1,90

Her bir grupta sayılan 14000 eritrosit içerisinde, sitoplazmasında şekilsel olarak anamoli bulunanların sayısı akvaryumlara verilen *E. elaterium* özsu miktarına göre artmaktadır. *E. elaterium* özsu miktarına göre artış gösteren anamoli sayıları % olarak hesaplandığında elde edilen sayısal değerler grafik üzerine aktarıldığında bu artış daha rahat gözlenmektedir. Sitoplazmada meydana gelen anormalliklerin ortalama değerleri Grafik 4.2'deki gibidir.

Grafik 4.2. Eritrosit sitoplazmasında meydana gelen anormallik ortalama değerleri



Grafikte bulunan veriler incelendiğinde eritrositlerin sitoplazmalarında tespit edilen anormallik sayıları akvaryumlara verilen doz miktarı ile artış göstermektedir. Sitoplazma anormalliği olarak tespit edilen sferosit ve eliptosit sayıları doz miktarına göre artış gösterirken hipokromili eritrositlerde kontrol grubu ile 100 ppm doz verilen grup arasında fazla bir fark bulunmamakta, ancak doz miktarı arttığında hipokromili hücre sayısı artmaktadır.

Dört farklı grupta sayılan eritrosit içerisinde tespit edilen sitoplazma anormalliklerine ait sayısal değerlerin gruplar arasındaki farklılığı istatistiksel olarak her bir grup kendi arasında karşılaştırıldığında Tablo 4.6'daki gibi olmaktadır.

Tablo 4.6. Eritrositlerde tespit edilen sitoplazma anormalliklerinin frekans değerlerinin anlamlılık bilgileri

Gruplar	Karşılaştırma (ppm)	Sitoplazma Anormallikleri		
		Sferosit	Eliptosit	Hipokromi
Kontrol	100 ppm	P>0,05	P>0,05	P>0,05
	200 ppm	P>0,05	P<0,05	P<0,05
	300 ppm	P<0,05	P<0,05	P<0,05
100 ppm	200 ppm	P>0,05	P>0,05	P<0,05
	300 ppm	P<0,05	P<0,05	P<0,05
200 ppm	300 ppm	P<0,05	P<0,05	P<0,05

Eritrositlerin sitoplazmalarında anormallik tespit edilen hücrelerin sayısal verileri incelendiğinde (Tablo 4.6);

Dört farklı grupta bulunan sferositli hücrelerin sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında kontrol grubu ile 100 ppm ve 200 ppm doz verilen gruplar arasında ve 100 ppm doz verilen grup ile 200 ppm verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (P>0,05). Diğer gruplar arasındaki anlamlılık düzeylerinde ise farklılık olduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

Dört farklı grupta bulunan eliptosit şekle sahip eritrosit sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında kontrol grubu ile 100 ppm doz uygulanan grubu arasında ve 100 ppm ile 200 ppm doz uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (P>0,05). Diğer gruplar arasındaki anlamlılık düzeylerinde ise farklılık olduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

Dört farklı grupta bulunan hipokromiye sahip eritrosit sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında kontrol grubu ile 100 ppm doz uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($P>0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P<0,05$).

4.1.3. Eritrosit Nükleus Hacimlerinin Ölçülmesi

Dört farklı grupta bulunan preparatların her birinde 150 adet eritrosite ait hücre hacmi ile nükleus hacmi arasındaki fark alınarak sitoplazma hacmi ölçüldüğünde Tablo 4.7’deki sonuç ortaya çıkmaktadır.

Tablo 4.7. Üç farklı *E. elaterium* özsuğu derişiminin *C. carpio*’nun eritrosit alanı (μm^2) üzerine etkisi

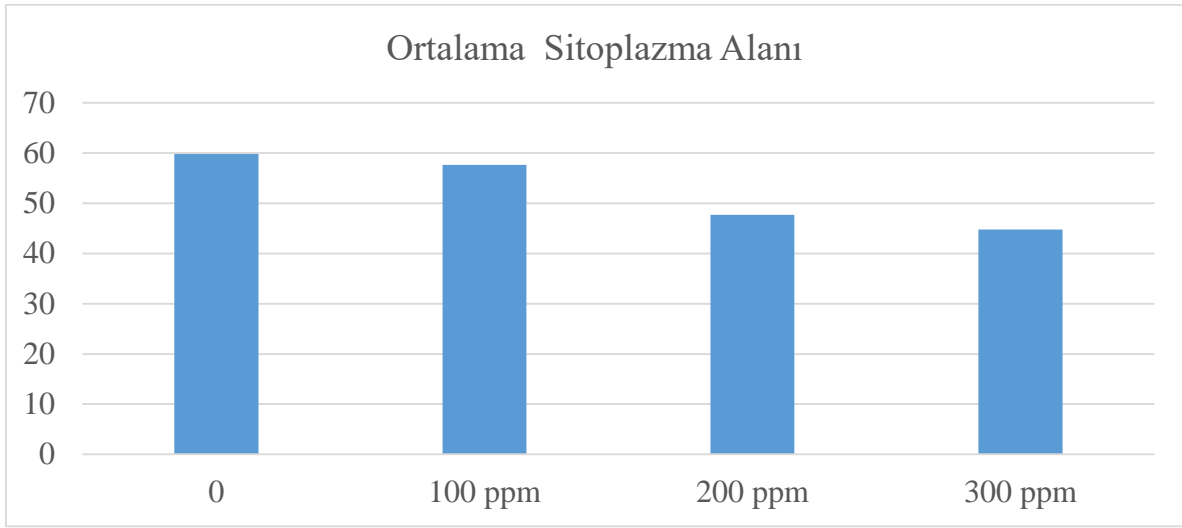
Derişim (ppm)	\bar{X} (μm^2) \pm S \bar{X}
0,0	59,82 \pm 3,12
100,0	57,66 \pm 2,16
200,0	47,70 \pm 6,17
300,0	44,77 \pm 4,27

$\bar{X} \pm S\bar{X}$: Aritmetik ortalama ve standart sapma

Kontrol grubu ile deney gruplarında bulunan hücrelerin, hücre hacmi ile nükleus hacmi arasındaki farkı alınarak her bir preparatta hacmi ölçülen 150 eritrosite ait ortalama sitoplazma değeri hesaplanmıştır. Ölçüm yapılan gruplarda kontrol grubunda 59,55 μm^2 , deney gruplarında ise 100 ppm’lik grupta 55,67, 200 ppm’lik grupta 47,59 ve 300 ppm’lik grupta 45,20 μm^2 olarak ölçülmüştür.

Dört farklı grupta bulunan preparatların her birinde 150 adet eritrosite ait hücre hacmi ile nükleus hacmi arasındaki fark alınarak sitoplazma hacmi ölçüldüğünde akvaryuma eklenen *E. elaterium* özsuğu derişim miktarına göre eritrositlerin sitoplazma hacimlerinde meydana gelen değışim Grafik 3’teki gibi olmaktadır.

Grafik 4.3. Ortalama sitoplazma hacmi değişimi



Akvaryum ortamına eklenen *E. elaterium* özsuyu miktarı arttıkça eritrositlerin sitoplazma alanlarında azalma meydana gelmektedir. Bu azalma grafik 4.3'teki gibi olmaktadır.

Gruplarda bulunan hücrelerin sitoplazma alanları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki sitoplazma değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı oranda değiştiği gözlenmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Farklı *E. elaterium* özsuyu derişiminin *C. carpio*'nun eritrosit alanı (μm^2) üzerine etkisinin karşılaştırılması.

Gruplar	Karşılaştırma (ppm)	Sitoplazma Hacmi
Kontrol	100 ppm	P<0,05
	200 ppm	P<0,05
	300 ppm	P<0,05
100 ppm	200 ppm	P<0,05
	300 ppm	P<0,05
200 ppm	300 ppm	P<0,05

Tablo 4.8'deki bilgilere göre;

Her bir grupta bulunan preparatlarda 150 adet eritrositin sitoplazma alanı hesaplandığında ve bu dört farklı grup arasındaki sayısal farklılıklar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında her bir grubun kendi arasında anlamlı bir farklılığa sahip olduğu sonucuna varılmıştır (P<0,05).

Bu farklar karşılaştırıldığında akvaryumlara verilen *E. elaterium* özsuyu ppm değeri arttıkça sitoplazma alanının azaldığı gözlenmiştir. *E. elaterium* özsuyu eritrositlerin sitoplazmalarının küçülmesine neden olmuştur.

Akvaryumlara eklenen 3 farklı dozdaki *E. elaterium* özsuyu içeriğinin hücre sitoplazması içerisinde hücrenin yapısına gerekli olan maddelerin sentezlenmesini durdurarak hücrelerin büyümesini engellediği ve sitoplazma alanının küçüldüğü gözlenmiştir.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Balık kan hücreleri üzerine yapılan çalışmalarda eritrosit hücrelerinin kanda en fazla sayıda görülen hücre tipi olduğu tespit edilmiştir (Örün, 2000). Eritrositlerin yapısında meydana gelebilecek hasarlar canlı üzerinde olumsuz etki bıraktığı bilinmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda *Ecballium elaterium* bitkisine ait olgun meyvelerden elde edilen özsuynun balık eritrositleri üzerine olan etkisi araştırıldı. Yapılan bu çalışmada akvaryum ortamında bulunan *Cyprinus carpio* bireylerine 3 farklı dozda *E. elaterium* meyve özsuynun verilmesi sonucunda balıkların kan hücrelerinde MN oluşumu ve kan hücrelerinin morfolojilerinde anormallik olduğu tespit edildi.

Yapılan literatür taramasında *E. elaterium* meyvelerinden elde edilen özsuynun insanlar üzerindeki etkisi üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmalarda;

E. elaterium bitkisine ait meyvelerden elde edilen özsuynun, kronik sinüziti bulunan ve sinüzit tedavisine karşı burun damlası olarak kullanan hastalarda Cingi, Erkuş, Cingi, Başer, Keçik, Öner, (1983) tarafından yapılan çalışmada, bu bitkiyi ait özsuynun kullanan hastaların yaklaşık % 50'si, Sezik, Kaya, Aydan (1982) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise hastaların yaklaşık % 71'inde iyileşme olduğu sonucuna varılmıştır. Ekici, Satılmış, Ay, Dülger, Malyer (1993) tarafından yapılan farklı bir çalışmada ise hastaların yaklaşık % 62'sinde iyileşme olduğu görülmüştür.

Mazokopakis, Karefilakis, Starakis (2009) kronik hastalığı veya hastalık geçmişi bulunan 269 hasta üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada, hastaların % 2,2'sinin *E. elaterium* bitkisine ait meyve özsuynun kullandığı ve alerji geçmişi bulunan (1-astım, 1-gıda ve 3-ilaç alerjisi) 5 hastada ciddi yan etkiler meydana geldiği sonucuna varmışlardır.

Cingi ve Sezik adlı araştırmacılar tarafından yapılan iki farklı çalışmada *E. elaterium* meyve özsuynunun tedavi edici etkisinin olduğu belirlenmiştir. Bu durumun aksine Mazokopakis tarafından yapılan çalışmada astım ve alerjik rahatsızlığı olan hastalarda tedavi edici özelliğinin aksine ciddi yan etkilerinin olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan bu çalışmada ise Cingi ve Sezik adlı araştırmacıların yaptığı çalışmaların sonuçlarından farklı olarak *E. elaterium* meyve özsuynun balık kan hücreleri üzerinde MN oluşturduğu ve kan hücre morfolojilerini olumsuz etkilediği sonucuna varıldı.

E. elaterium bitkisinin meyve özsuyunun hücreler üzerindeki genotoksik etkisinin belirlenmesi için yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalarda ise, bu bitkiye ait meyve özsuyunun uygulandığı canlılarda toksik etkilere neden olduğu gözlemlendi. Bu araştırma, *E. elaterium* ile yapılan diğer genotoksik çalışmalara uygunluk göstermiş ve uygulamalar sonucunda farklı canlılar üzerinde yapılan çalışmaların sonucunu destekleyen sonuçlara ulaşıldı. *E. elaterium* meyve özsuyunun toksik özelliğinin tespit edildiği çalışmalar aşağıdaki gibidir:

Çelik ve Aslantürk (2009) tarafından yapılan bir çalışmada soğan kök hücreleri üzerinde *E. elaterium* özsuyu genotoksik etkilerini araştırılmıştır. Farklı dozlarda *E. elaterium* bulunan ortamlarda çimlendirilen soğan kök hücrelerinde MN'li hücreler gözlenmiştir. Farklı doz bulunan ortamlarda çimlenen soğan kök hücrelerinde tespit edilen MN sayısının doz miktarına bağlı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Shabbar ve Maslat (2009) tarafından yapılan farklı bir çalışmada ise, *E. elaterium* meyve özsuyunun (*Mus musculus*) fareler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada 8 farklı dozlarda hazırlanan meyve özsuyu 32 farklı fareye oral yoldan uygulanmıştır. Farelerden alınan kan örnekleri incelendiğinde *E. elaterium* meyve özsuyunun hücrelerde MN oluşumuna neden olduğu gözlenmiştir. Çalışma sonucunda hücrelerde oluşan MN sayısının meyve özsuyunun doz miktarındaki artışa bağlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan bu çalışmada ise kontrol grubuna göre, akvaryumlara eklenen özsuyun doz miktarına bağlı olarak *C. carpio* bireylerine ait eritrosit çekirdeklerinde meydana gelen MN ve kan hücre morfolojilerinde meydana gelen anormallik sayısında anlamlı bir artış bulundu.

Nepomuceno, Ferrari, Spano, Centene (1997) tarafından *C. carpio* bireyleri üzerinde yapılan çalışmada, üç farklı havuzda bulunan balıklar üç farklı dozda metalik cıvaya (Hg0) maruz bırakılmıştır. Farklı dozlara maruz bırakılan balıklardan alınan kan ile hazırlanan preparatlarda MN oluştuğu gözlenmiştir. Balık kan hücrelerinde meydana gelen MN sayısının akvaryumlara eklenen cıva doz miktarına bağlı olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmada balıklara verilen *E. elaterium* meyve özsuyunun neden olduğu MN'li hücre sayısı Nepomuceno ve ark. (1997) tarafından yapılan çalışmaya benzer olarak balıklara uygulanan etken maddenin doz miktarı ile doğru orantılı olarak arttığı tespit edildi.

Yapılan bu çalışmada, 4 farklı grupta bulunan preparatlarda eritrositlere ait sitoplazma alanları ölçüldüğünde ve 4 farklı grupta yapılan ölçümler karşılaştırıldığında akvaryumlara

verilen *E. elaterium* özsu ppm değeri arttıkça hücrenin sitoplazma alanında bir azalma olduğu tespit edildi.

Gregory (2003) tarafından belirlenen standart ölçülerde eritrosit hücre alanı $68,99 \mu\text{m}^2$, nükleus alanı $9,90 \mu\text{m}^2$ ve sitoplazma alanı $59,09 \mu\text{m}^2$ olarak verilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise kontrol grubunda bulunan eritrositlerin sitoplazma alanları $59,82 \mu\text{m}^2$ olarak bulundu. Kontrol grubunda bulunan eritrositlerde belirlenen sitoplazma alanı ile Gregory, (2003) tarafından belirlenen sitoplazma alanı karşılaştırıldığında kontrol grubunda tespit edilen bu değerin normal bir eritrositin sitoplazma alanına yakın bir değer olduğu görüldü.

E. elaterium bitkisine ait meyve özsu, kök ve yapraklarında yapılan çalışmalarda 8 farklı kukurbitasin bulunduğu tespit edilmiştir (Atasu, 1985). Bu bitkiden sentezlenen kukurbitasinler üzerine bazı çalışmalar yapılmıştır bu çalışmalardan birisi aşağıda verilmiştir;

Yılmaz (2016), yaptığı bir çalışmada *E. elaterium* bitkisine ait meyve öz suyundan kukurbitasin sentezleyerek bu kukurbitasinlerin kanser hastaları üzerindeki etkisi araştırmıştır. Yapılan çalışmada sentezlenen kukurbitasin I'nın kanser hasatları üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada ise *E. elaterium* özsu içeriği olan kukurbitasinlerden herhangi biri sentezlenmeden özsu doğrudan kullanıldı. Bitkiye ait özsuyun içeriğinde bulunan kukurbitasinlerden hangisinin *C. carpio* kan hücrelerinde anormallilere neden olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Nepomuceno ve ark. (1997) tarafından yapılan bir çalışmada *C. carpio* bireylerinden hazırlanan preparatlarda 2000 adet hücre sayılarak tespit edilen MN sayısı 1000 hücre üzerinden ‰ olarak hesaplanmıştır.

Yapılan bu çalışmada tespit edilen nükleus anormalliği ve sitoplazma anormalliğine ait sayılar ‰ olarak hesaplandığında elde edilen veriler ile Nepomuceno ve ark. (1997) tarafından yapılan çalışmada elde edilen veriler arasında benzerlik olduğu tespit edildi.

Witeska tarafından 2004 yılında yapılan “*C. carpio* bireylerinde bakır, çinko, kadmiyum ve kurşunun eritrosit morfolojisi üzerine etkilerinin” araştırıldığı bir çalışmada bakırın eritrosit morfolojileri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı ancak çinko, kadmiyum ve kurşunun eritrositlerin sitoplazma alanlarında artışa neden olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada ise Witeska (2004)'nin çalışmasından farklı olarak eritrositlerin sitoplazmalarında küçülme olduğu belirlenmiştir. Çinko, kadmiyum ve kurşunun etkisinde *C. carpio* bireyelerine ait eritrosit alanları artarken, yapılan çalışmada *E. elaterium* bitkisine ait meyve özsuyu etkisinde azalma olduğu tespit edildi.

Yapılan bu çalışmada dört farklı gruba ait preparatlarda sayılan eritrositlerde, anormallik bulunan hücre sayılarının SPSS programında istatistiksel olarak analizi yapıldı. Anormallik bulunan hücre sayılarında bağımlı grupların karşılaştırılması Arıkan, Gülten, Yakut (2012) tarafından yapılan çalışmada kullanılan yöntemle benzer olarak yapıldı. Arıkan tarafından yapılan çalışmada anormallik tespit edilen hücre sayıları ‰ olarak hesaplanarak elde edilen sayısal verilerin bağımlı gruplar arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldı. Yapılan çalışmada ise Arıkan ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmaya benzer olarak anormallik bulunan hücrelerin sayısal değerleri ‰ olarak hesaplandı ve elde edilen verilerin bağımlı gruplar arasındaki anlamlılık düzeylerine SPSS programında tek yönlü varyans analizi testi kullanılarak bakıldı ($P<0,05$).

Literatürde bulunan *E. elaterium* özsuyunun diğer canlılar üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmalar ile karşılaştırıldığında *E. elaterium* bitkisine ait olgun meyvelerden elde edilen özsuyun canlılar üzerinde olumlu etkilerinin yanında olumsuz etkilerinin de olduğu tespit edildi. *C. carpio* bireyelerinin bulunduğu ortama eklenen *E. elaterium* özsuyunun, *C. carpio* kan hücreleri üzerinde meydana getirdiği hasarlar incelendiğinde ve hücrelerde meydana gelen hasarlar literatürde bulunan farklı çalışmalar ile karşılaştırıldığında *E. elaterium* özsuyunun *C. carpio* kan hücreleri üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceği sonucuna varıldı.

6. ÖNERİLER

Bitkilere ve bitkisel kaynaklı ilaçlara olan güven geçmiş yıllardan günümüze artarak gelmektedir. İnsanlar tıbbi açıdan tedavi yöntemi bulamadığı veya tedavi masraflarının çok olduğu durumlarda çareyi bitkilerde aramaktadır. Tedavi edici özelliği olduğuna inanılan bitkiler insanlar tarafından bilinçsizce kullanıldığında bazı durumlarda tedavi edici özelliğinin yanında insanlar üzerinde ciddi hasarlar bıraktığı da bilinmektedir.

İbn-i Sînâ ve Baytop gibi tıbbi bitkiler üzerine çalışmalar yapan ve eserler yazan bilim insanlarının eserlerinde ismi geçen bitkiler üzerine yapılan çalışmalar yapılmalıdır. Tedavi edici özelliği olan bitkiler üzerine yapılan çalışmalar ile kan hücreleri üzerine olumsuz etkileri olan bitkiler belirlenmelidir. Kan hücreleri üzerine olumsuz etkileri olabilecek bitkilerin belirlenmesi sonucunda insanların bu bitkileri bilinçsizce kullanmaları önlenabilir.

E. elaterium bitkisine ait meyvelerden elde edilen özsuyn ve köklerinden elde edilen merhemlerin detaylı bir şekilde çalışılması, bitkiye ait özsuyn içeriğinin daha ayrıntılı olarak keşfedilmesi tıbbi bir bitki olarak değerlendirilmesi için önemli bir kaynak olacaktır. Ayrıca halk arasında yayılan bazı olumsuz görüşler, düzensiz şehirleşme ve iklim değişiminden kaynaklanan etkilere bağlı olarak Türkiye’de yetişmekte olan birçok tıbbi özelliği bulunan bitki yok olma tehlikesi altındadır.

Ülkemizde yetişen ve tedavi amaçlı kullanılan bitkiler zamanla yok olduğu için bu bitkilerin halk tarafından yaygın olarak kullanımı ve özellikle de bazı hastalıklara karşı kullanımına ait bilgiler zamanla yok olmaktadır. Türkiye’de yetişen *E. elaterium* gibi bitkilerin tıbbi değerlerinin daha rahat anlaşılması ve geleneksel tıp amacıyla daha rahat kullanılabilmesi için geniş kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

E. elaterium bitkisinin Cucurbitaceae familyasına özgü kukurbitasin adıyla bilinen triterponik bileşenlerden birçoğunu içermektedir. Yapılan çalışmalarda kukurbitasin E-D-I-G-H-B-L ve A olmak üzere 8 adet kukurbitasin bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada *E. elaterium* özsuyn doğrudan kullanıldığı için balık eritrositlerine *E. elaterium* bitkisine ait kukurbitasinlerden hangisinin etki ettiği tam olarak bilinmemektedir. *E. elaterium* özsuynunun içeriğinde bulunan 8 farklı kukurbitasinlerden her biri tek tek sentezlenerek balık kan hücreleri üzerindeki etkisi ayrıntılı olarak incelenmelidir.

E. elaterium bitkisinin halk tarafından daha güvenilir bir şekilde kullanılabilmesi için daha kapsamlı araştırmaların da gerekli olduğu düşünölmektedir.



KAYNAKLAR

- Aktümsek, A.; Konuk, M., 2002, *Canlılar Bilimi*, Nobel Yayın, 2. Baskı, Ankara.
- Aktümsek, A., 2010, *Genel Zooloji*, Nobel Yayın, 6. Baskı, Ankara.
- Arıkan, Ş., Gülten, T., Yakut, T., 2012, *Benzalkonyum Klorürün İnsan Lenfositleri Üzerindeki Genotoksik Etkisinin Araştırılması*, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 38(1), 13-18.
- Arnold, J. E., 2009, *Hematology of Fish: WBC and RBC Cell Morphology*, Proceeding of the American College of Veterinary Pathologists Concurrent Annual Meetings, Monterey, California, USA.
- Arslan, P., Dalgıç, M., A., Sarıçakmak, S., Sarıgil, N., Ülker, Ş., Koçak Memmi, B., 2011, *Çamaşır Suyu ve Bulaşık Deterjanının Lepistes (Poecillia Reticulata Peters, (1859) Balıkları Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Mikronükleus Testi Kullanılarak Araştırılması*, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi; 4:29-37.
- Arslan, K., Duman, F., Kanbur, M., Akyüz, B., 2016, *Kayseri İli, Pınarbaşı İlçesinde Doğal Olarak Yakalanan ve Yetiştiriciliği Yapılan Gökkuşluğu Alabalıklarının (Oncorhynchus Mykiss) Genotoksisite Yönünden İncelenmesi*, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 13 (2), 131-1369.
- Atasu, E.; Cihangir, V., 1985, *Ecballium Elaterium Bitkisinin Farmakognozideki Yeri*, Pharmacia- JTPA, 25:55 (3), s. 391-395.
- Baytop, T., 1982, *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Belkin, M., Fitzgerald, D.B., 1952, "Tu-mour-damaging capacity of plant materials, plants used as cathartics" Journal of the National Cancer Institute, 13, 139.
- Carrasco, K.R., K.L. Tilbury, M.S. Myers, 1990, *Assessment of the pis cine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects* Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 4 (7): 2123-2136.

- Cingi, M. İ. Erkuş, S., Cingi, E., Başer, C. H., Keçik, M. C. ve Öner Ü., 1982, *Kronik Sinüzitlerde Ecballium elaterium' un Etkilerinin Araştırılması*, Anadolu Tıp Dergisi, 5, 123-136.
- Claver, J. A.; Quaglia, A. I. E., 2009, *Comparative Morphology, Development and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates*, Journal of Exotic Pet Medicine, 18, 87-97.
- Çelik, T., A., Aslantürk, Ö., S., 2009, *Investigation of Cytotoxic And Genotoxic Effects of Ecballium elaterium Juice Based On Allium Test*, Methods Find Exp Clin Pharmacol, 31(9): 591-596
- Çiğremiş, Y., Gaffaroğlu, M., Erdoğan, K., Türköz, Y., Yüksel, Ş., Yılmaz, M., Yılmaz, H., R., 2003, *Tekstil Fabrikası Atığının Cyprinion Macrostomus, Karaciğer, Böbrek ve Kan Dokusuna Olan Biyokimyasal, Histopatolojik ve Genotoksik Etkisi*, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(1), 230-235.
- Davis, P. H., 1972, *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Edinburg at teh Universty Press, vol. 4, s. 200-202.
- Demir, N., 2009, *İhtiyoloji*, Nobel Yayın, 4. Baskı, Ankara.
- Ekici, M., Satılmış A., Ay, Y. D., Dülger, B., Mal Yer, H., 1998, *Ecballium Elaterium (L.) Meyvelerinin Sinüzite Karşı Kullanımı*, Ekoloji Çevre Dergisi' 7(27), s.24-25.
- Fenech MF, Dunaiski V, Osborne Y, Morley AA., 1992, *The Cytokinesis-Block Micronucleus Assay As A Biological Dosimeter İn Spleen And Peripheral Blood Lymphocytes Of The Mouse Following Acute Whole-Body İrradiation: Mutation Research 1991*, 263: 119-126.
- Fange, R., 1992, *Fish Blood Cells*, Fish Physiology, Vol. XIIB.
- Fenech, M., 2000, *The In Vitro Micronucleus Technique*, Mutation Research 455, s.81-95.
- Fenech, M., 2007, *Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay*, Nature Protocols Vol.2 No.5, 1084-1105.
- Geldiay, R., Balık, S., 1996, *Türkiye Tathısu Balıkları*, Ege Üniversitesi Basımevi, II. Baskı, İzmir, 269-279.

Gregory, T. R. (16 Ekim 2003). *Fish Erythrocyte Sizes*. Animal Genome Size Database, Erişim: <http://www.genomesize.com/cellsize/fish.htm> [02 Şubat 2009].

Govoni, J. J.; West, M. A; Bonaventura, J.; Goddette, G. And Jenkins, T. E., 2005, *The Ontogeny Of Haematopoiesis In The Marine Teleost Leiostomus Xanthurus And A Comparison Of The Site Of İnitial Haematopoiesis With Opsanus Tau* , Journal of Fish Biology, 67, 696-712.

Güllü, İ. B., Öcal, N., 2016, *Tıbbi Bir Bitki Olarak Ecballium Elaterium (L.)'un Tedavi Alanlarının Araştırılması*, Balıkesir Üniversitesi Fen Bil. Enstitüsü. Dergisi, Cilt 18(1), s.49-57.

Hayretdağ, S., Gürken, M., Yakın, B.Y., Tok, C.V., 2014, *A Preliminary Study On Micronuclei And Nuclear Abnormalities In The Erythrocytes*, Biharean Biologist 8 (1): 53-55.

Kanter, A. G., 2015, *Kızılırmak Nehri 'nde Yayılış Gösteren Bazı Balık Türlerinde Periferel Kan Hücrelerinin İncelenmesi*, Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

Karataş, M., 2005, *Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri*, Nobel Yayın, 1. Basım, Ankara.

Katalay, S., Parlak, H., 2002, *Su Kirliliğinin, Gobius Niger Linn., 1758 (Pisces: Gobiidae) 'In Kan Parametreleri Üzerine Etkileri*, Ege Journal of fisheries & Aquatic Sciences, 19(1-2): 115-121.

Kaya, H., Akbulut, M., 2012, *Kurşuna Maruz Bırakılan Tilapia (Oreochromis mossambicus) 'nın Eritrosit Morfolojisinde Görülen Değişimler*, Alınteri, 22(B):10-15.

Keskinbora, H. K., 2013, *İbn-i Sina 'nın Küçük Tıp Kanunu*, Bahçeşehir Üniversitesi Yayınları, 1. Baskı, İstanbul.

Kocabatmaz, M., Ekingen, G., 1982, *Değişik Tür Balıklardan Kan Örneği Alınması ve Hematolojik Metotların Standardizasyonu*. Tübitak Projesi, Proje No: VHAG-557, 4s.

Konopa, J., 1966, *"Antitumour substan-ces from Bryonia aIba"*, Neoplasma, 13 (3), 335-8.

Koçak, Y., 2005, *Sitrik asitin Tinca tinca (L., 1758) (PISCES: CYPRINIDAE) üzerindeki genotoksik etkisinin mikronükleus testi ile belirlenmesi*, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.

Kosai, P., 2011, Jiraungkoorskul, W., Synsatayakul, A., Jiraungkoorskul, K., *Efficacy of Calcium Reducing Lead Toxicity in Hematology of Oreochromis niloticus*, Journal of Fisheries and Aquatic Science 6 (3): 346-355.

Kuru, M., 2013, Kemikli Balıklar, *Omurgalı Hayvanlar*, 6. Bölüm, Palme Yayıncılık, Ankara, ISBN:978-975-747-52-5, 207-208.

Kuru, Vahdet, Yerli, Mangıt, Ünlü, Alp, 2014, *Fish Biodiversity in Inland Waters of Turkey*, Journal of Academic Decumants for Fisheries and Aquaculture, 3:93-120

Lavie, D., Szinai, S., 1958, "*The Consti-tuents of Ecballium elaterium L.11. a Elaterin 11*" Journal of the American Chemical Society, 80, 707-710.

Mazokopakis, E., Karefilakis, C. M. and Starakis, I. K., 2009, *The Safety and Efficacy of the Fruit Juice of Ecballium elaterium in the Treatment of Acute Rhinosinusitis*, The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 2, 1273-1274.

Mumford, S., Heidel, J., Smith, C., Morrison, J., MacConnell, B., Blazer, B., 2007, *Fish Histology and Histopathology*, U.S. Fish and Wildlife Service, National Conservation Training Center.

Natarajan, A., T., Obe, G., 1982, Mutagenicity Testing with Cultured Mammalian Cells, Cytogenetic Assays Book chapter, 171-213.

Nepomuceno, JC., Ferrari, I., Spano, MA., Centene, AJ., 1997, *Detection of micronuclei in peripheral erythrocytes of Cyprinus carpio exposed to metallic mercury*. Environ Mol Mutagen, 30Ç:293-297.

OECD, 1997, *In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test*, 473.

(<http://www.oecd.org/dataoecd/18/33/1948434.pdf>)

Örün, İ., 2000, *Karakaya Baraj Gölünde Yaşayan ve Ekonomik Öneme Sahip Bazı Balık Türlerinin [Acanthobrama marmid Heckel 1843, Leuciscus cephalus orientalis (Nordman*

1840), *Chondrostoma regium* (Heckel 1843) ve *Capotea capotea umbla* (Heckel 1843)]
Hematolojik Yönden İncelenmesi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 182.

Özkan, F., Gündüz, S.G., Berköz, M., Özlüer Hunt, A., 2011, *Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of Nile tilapia, Oreochromis niloticus, following exposure to sublethal cadmium doses*, Turkish Journal of Zoology, 35(4): 585-5921

Özkara, A., Akyıl, D., 2015, *Bitkilerde Mikronükleus Testi İle İlgili Genotoksik Hasarın Değerlendirilmesi*, Afyon Kocatepe Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü.

Rencüzoğulları, E., İla, H. B., Kayraldiz, A., Diler, S. B., Yavuz, A., Arslan, M., Funda Kaya, F., Topaktaş, M., 2006, *The Mutagenic and Antimutagenic Effects of Ecballium elaterium Fruit Juice in Human Peripheral Lymphocytes*, Russian Journal of Genetics, 42(6); 623-627.

Shabbar M.S. ve Maslat A.O., 2007, *Genotoxicity of Ecballium elaterium (L). A Rich Cucurbitaceae Fruit Juice Using Micronucleus Assay and DNA Single Strand Break Techniques*, The Internet Journal of Health, Vol. 6 Nr. 2.

Sarıhan, E.; Tekelioğlu, N., 2005, *Balık Üretimi*, Nobel Yayınevi, Ankara.

Savage, IR., 1993, *Update on target theory applied to chromosomal aberrations* environ. Environmental and Molecular Mutagenesis, 22, 198-207.

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Leblebici, E., Görk, G., Bekat, L., 1992, *Tohumlu Bitkiler Sistematigi*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 116, İzmir.

Sezik, E., 1997, *Research On The Turkish Medicinal Plant Ecbalium Elaterium*, Chemistry of Natural Compounds, 33(5), s.541-542.

Sezik, E., Kaya, S. ve Aydan, M., 1982, *Ecballium elaterium Meyvelerinin Sinüzite Etkisi*, Eczacılık Bülteni, 24, 33-36.

Şahan, A., Altun, T., Nevşat, İ. E., 2009, *Ceyhan Nehri (Adana-Türkiye)'Nin Farklı Bölgelerinden Yakalanan Bazı Cyprinidae'lerde Lökosit Hücre Tiplerinin Belirlenmesi*, Journal of Fisheries Sciebcas, 3(2):134-145.

Şekeroğlu, V., Şekeroğlu, Z., A., 2011, *Genetik Toksisite Testleri*, Tübvav, 4(3), 221-229.

Şekeroğlu, V., Şekeroğlu, Z., A., 2011, *Genotoksik Hasarın Belirlenmesinde Mikronükleus Testi*, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 64(4), s.241-252.

Tanyolaç, J., Tanyoloç, T., 2000, *Genel Zooloji*, Hatipoğlu Yayınevi, 6. Basım, Ankara.

Tavares-Dias, M., 2006, *A morphological and cytochemical study of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes on four freshwater teleosts*, *Journal of Fish Biology*, 68, 1822-1833.

T.C. Sağlık Bakanlığı, 2016, *Aktarlarda, baharatçılarda ve Benzeri Dükkânlarda Satılması Mahzurlu ve Tehlikeli Olan Maddeler genelgesi*, sayı;46085174.

Tejendra, S. G., Jaglish, C. P., 1985, *Mercury-Induced Blood Anormallikes in the Freshwater Teleost*. *Water Air and Soil Pollution* 24, 165-171.

Timur, G., 2013, *Balık Histolojisi ve Embriyolojisi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.

Tripatti, N. K., Latimer, K. S., Burnley, V. V., *Hematologic reference intervals for koi (Cyprinus carpio), including blood cell morphology, cytochemistry, and ultrastructure*, *Veterinary Clinical Pathology*, 33(2):74.

Verhovsek, M., McFarlane, A., 2004, *Abnormalities in Red Blood Cells*, McKean, S.C., Ross, J.J, Dressler, D.D., Scheurer, D.B., *Principles and Practice of Hospital Medicine*, American Colloge of Physicians Second Edition, 2017;1400-1419.

Yılmaz, K., 2016, *Kukurbitasin I Ve Ecballium elaterium L. Ekstraktının Meme Kanseri Hücreleri Üzerine İnhibisyon Etkisinin Araştırılması*, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1-98.

Yılmaz, Ö, 2005, *Parathion Methyl (İnsektisit)'in Barbus Rajanorum Mystaceus (Heckel,1843) Üzerindeki Genotoksik Etkisinin Eritrosit Mikronükleus Testi İle Belirlenmesi*, Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları, 72-76.

Zhang, H., Xie, C., Li, D., Xiong, D., Liu, H., Suolang, S., Shang, P., 2011, *Blood cells of a sisorid catfish Glyptosternum maculatum (Siluriformes: Sisoridae), in Tibetan Plateau*, *Fish Physiol Biochem*, 37:169-176.

Widel, M., Kolosza, Z., Jedruu, S., Lukaszczyk, B., Raczek-Zwierzycka, K., Vwierniak, A., 2001, *Micronucleus assay in vivo provides significant prognostic information in human*

cervical carcinoma; the updated analysis, International Journal of Radiation Biology, 77(5), 631-636.

Witeska, M., 2004, “*The Effect of Toxic Chemicals on Blood Cell Morphology in Fish*”, Fresenius Environmental Bulletin, 13(12a):1379-1384.



EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



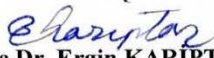
T.C.
AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 68429034/ 40
Konu: Onay belgesi

16.12.2016

Sayın: Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU

Sorumlu yürütücü olarak planladığınız “*Acı Kavun (Ecballium Elaterium L.)’un Sazan (Cyprinus Carpio L.1758) Balıkları Üzerindeki Mikronükleus ve Kan Hücre Morfolojilerine Etkileri* ” başlıklı araştırmanıza ait Etik Kurulu kararı ekte olup;
Gereğini rica ederim.


Doç.Dr. Ergin KARIPTAŞ
Yerel Etik Kurulu Başkanı

Ek: 1 Adet Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

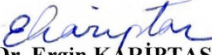
Adres: Ahi Evran Üniversitesi Rektörlüğü Merkez Yerleşkesi, 40200 KIRŞEHİR
Telefon: 0386 280 4800

T.C.
AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARLARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Toplantı Saati	Karar Sayısı
16 / 12 / 2016	19	15: 00	1

Doç. Dr. Ergin KARİPTAŞ başkanlığında yapılan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu toplantısında aşağıdaki karar alınmıştır.

KARAR NO – 1: Araştırma yürütücüsü Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU liderliğinde 96 Adet Sazan Balığı (*Cyprinus Carpio* L.1758) üzerinde yapılması planlanan “Acı Kavun (*Ecballium Elaterium* L.)’un Sazan (*Cyprinus Carpio* L.1758) Balıkları Üzerindeki Mikronükleus ve Kan Hücre Morfolojilerine Etkileri ” adlı araştırmanın etik açıdan yapılabilirliğine ve konunun ilgili öğretim üyesine tebliğine oybirliği ile karar verildi.


Doç. Dr. Ergin KARİPTAŞ
(Başkan)

Yrd.Doç.Dr. Zeynel Abidin ERBESLER

Üye



Yrd.Doç.Dr. Atilla TAŞKIN

Üye



Doç.Dr. Ufuk KARADAVUT

Üye



Dr. Zikri GÜREL

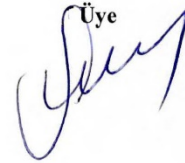
Üye

Doç.Dr.H. Mutlu Kart GÜR

Üye

(il Döğ. Görevli.)
Kastamonu

Ecz. Suat YAĞMUR



Üye

Veteriner Hekim Demirel ERGÜN

Üye



Ek 2. Orman ve Su İşleri Bakanlığı İzin Yazısı



T.C.
ORMAN VE SU İŞLERİ BAKANLIĞI
Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü



Sayı : 72784983-488.04-35052
Konu: Araştırma İzinleri

10.02.2017

AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜNE
(Fen Bilimleri Enstitüsü)
KIRŞEHİR

İlgi : AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ'NİN 07.12.2016 tarihli ve 6341 sayılı yazısı

Üniversiteniz Fen Fakültesi Bilimleri Enstitüsü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU tarafından yürütülecek olan "Acı Kavun (*Ecballium elaterium* L.)'un Sazan (*Cyprinus carpio* L. 1758) Balıkları Üzerindeki Mikronükleus ve Kan Hücre Morfolojilerine Etkileri" başlıklı proje kapsamında araştırmacı personelin yürütmesi planlanan arazi çalışmaları ile ilgili Bilimsel Araştırma İzin Başvurusu Genel Müdürlüğümüz yetki ve sorumlulukları çerçevesinde incelenmiş olup, buna göre;

- Çalışmaların sahada bulunan flora, fauna, doğal ve kültürel değerlerin yanı sıra ekosistem bütünlüğüne de zarar vermeyecek şekilde yapılması,
 - Arazi çalışması öncesinde ve arazide yapılacak her türlü çalışma ile ilgili Orman ve Su İşleri Bakanlığının ilgili İl Şube Müdürlüklerine bilgi verilmesi, korunan alanlarda yapılacak çalışmalarda mihmandar bulundurulması
 - Arazi çalışmalarının yapılacağı yerin il merkezlerinde Valiliğe, ilçelerde ise Kaymakamlığa bilgi verilmesi,
 - Çalışmalar kapsamında toplanacak örneklerde temsil edici yeterlilikte miktarın aşılması ve bu örneklerin Genel Müdürlüğümüz onayı alınmadan yurtdışına çıkarılmaması,
 - Araştırma ara ve sonuç raporlarının basılı ve dijital ortamda birer kopyasının Genel Müdürlüğümüze ve ilgili Bölge Müdürlüklerine gönderilmesi,
- şartıyla bahse konu çalışmaların yapılması Genel Müdürlüğümüzce uygun görülmüş olup, izin belgesi ekte gönderilmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Mustafa AKINCIOĞLU
Bakan a.
Genel Müdür Yardımcısı

EKLER :

1- Bir Takım Araştırma İzni

DAĞITIM :

Gereği:
Ahi Evran Üniversitesi Rektörlüğüne

Bilgi:
IX. Bölge Müdürlüğü
XI. Bölge Müdürlüğü

Bu evrak 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na göre elektronik olarak imzalanmıştır.
Evrak doğrulama adresi: <http://ebys.ormansu.gov.tr/Dogrulama.aspx?d=fszD>

Güvenli Elektronik İmza
Aslı Aynıdır
N. ARTIRAN
Bard. S. S. S.

Adres : Alparslan Türkeş Cad. No:71 Beştepe 06560 Yenimahalle -
ANKARA
Telefon : 03122075594
e-posta : ydagasan@cob.gov.tr

Ayrıntılı Bilgi : Yakup DAĞAŞAN Uzman

Fax :
Elektronik Ağ: www.ormansu.gov.tr

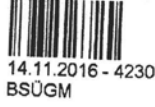
Ek3. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İzin Yazısı



T.C.
GIDA, TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü



Sayı : 67852565/140.03.03-
Konu : Araştırma İzni



98135

AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜNE
(Genel Sekreterlik)

KIRŞEHİR

İlgi: 02.11.2016 tarihli ve 92819890-1708-5679 sayılı yazınız.

Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof.Dr.Muhammet GAFFAROĞLU tarafından yürütülecek olan " Acı Kavun (*Ecballium elaterium L.*)'un Sazan (*Cyprinus carpio L. 1758*) Balıkları Üzerindeki Mikronükleus ve Kan Hücre Morfolojilerine Etkileri" isimli projenin arazi çalışmaları için izin talep eden ilgi yazı ve ekleri incelenmiştir.

Söz konusu çalışma kapsamında; Prof.Dr.Muhammet GAFFAROĞLU ile Yüksek lisans öğrencisi Emin SEYFİ'nin; 01 Ocak 2017 ile 31 Aralık 2019 tarihleri arasında aylık periyotlarda Kırşehir ve Amasya İl'lerinde bulunan akarsu ve göllerin sığ kısımlarından ağ, atrap ve elektroşoker yardımı ile toplam 96 adet örneğin yakalanmasına;

Çalışma yapılacak güne ait; çalışma takvimi programının çalışmaların yapılacağı ilde bulunan Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğüne önceden bildirilmesi, İl Müdürlüklerinde görevli bir personelin imkanlar dahilinde çalışma bölgelerindeki proje çalışmalarına katılması, " Ticari ve Amatör Su Ürünleri Avcılığını Düzenleyen Tebliğ"lerde belirtilen hükümlere riayet edilmesi, çalışmalara yabancı araştırmacının katılmaması, proje çalışma sonuçlarının Bakanlığımıza gönderilmesi, elde edilen su ürünlerinin hiçbir suretle satılmayacağı, örneklerin izin alınmadan yurt dışına çıkartılmayacağı ve av araçlarının kullanımı sırasında oluşabilecek her türlü kazaya karşı güvenlik tedbirlerinin alınması ve bu konudaki tüm sorumluluğun proje çalışanlarında olduğunun bilinmesi şartlarına uyulması kaydı ile uygun görülmüştür.

Gereğini rica ederim.

Turgay TÜRKÜYLMAZ
Bakan a.
Genel Müdür Yardımcısı

DAĞITIM:

Gereği:

- Kırşehir ve Amasya Valiliklerine (İl Müdürlükleri)- İçişleri Bakanlığına
- Ahi Evren Üniversitesi Rektörlüğüne (Jandarma Genel Komutanlığı)
- (Genel Sekreterlik)

Bilgi:

- İçişleri Bakanlığına
- (Jandarma Genel Komutanlığı)

Adres: Eskişehir Yolu 9. Km. 06060 Lodumlu /Çankaya – ANKARA
Telefon No : (312) 287 33 60 Faks No: (312) 258 30 39
e-posta:tolga.aydoslu@tarim.gov.tr İnternet Adresi:www.tarim.gov.tr/BSGM/

Bilgi için İrtibat:Tolga AYDOSLU
Mühendis
Telefon No: 0312 258 3086



ACI KAVUN (*ECBALLIUM ELATERIUM* L. 1758)'UN SAZAN (*CYPRINUS CARPIO* L. 1758) BALIKLARI ÜZERİNDEKİ MİKRONÜKLEUS OLUŞUMUNA VE KAN HÜCRE MORFOLOJİLERİNE ETKİLERİ

Emin SEYFİ¹, Muhammet GAFFAROĞLU²

¹Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kırşehir

seyfiemin@gmail.com

²Ahi Evran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kırşehir

Özet

mgaffaroglu@gmail.com

Geçmişte ve günümüzde hastalıkların tedavisinde diğer tedavi seçeneklerinin yanı sıra bitkiler ve bitkisel ilaçlardan da yararlanılmaktadır. Bu bitkilerden birisi olan acı kavun, acı kelek ve şeytan keleş de denilen *Ecballium elaterium* bitkisi sinüzit, egzama gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Kullanıldığında tedavi edici özelliğinin yanı sıra, insanlar üzerinde ciddi biyolojik hasarlar da bıraktığı görülmektedir. Bu çalışmada, acı kavun meyvelerinden elde edilen özsuynun sazan balıklarının hücre morfolojilerine etkisinin olup olmadığı ve mikronükleus oluşumuna etkisi amaçlanmıştır. Uygulama 3 doz ve 1 kontrol grubu olmak üzere 4 grup üzerinde yapıldı. Üç farklı doz grubuna ait akvaryumlara sırasıyla 100, 200 ve 300 ppm dozlarda acı kavun özsuynun 72 saat uygulandı. Balıklardan kan yayma preparatları hazırlandı. Hazırlanan preparatlar mikroskop altında taranarak balık kan hücrelerinin morfolojilerinde meydana gelen değişiklikler ve mikronükleus oluşmuş kan hücreleri tespit edildi. Deney grubuna ait preparatlarda yapılan taramalarda tespit edilen hücreler ile kontrol grubundaki hücrelerin morfolojileri arasında farklılıklar olduğu gözlemlendi. Sonuç olarak acı kavun özsuynun sazan balığı kan hücrelerinde bölünme esnasında mikronükleus oluşumuna neden olduğu ve kan hücrelerinin morfolojilerinde bazı bozukluklara neden olduğu tespit edildi. Bu veriler ile acı kavun özsuynun genotoksititeye neden olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Ecballium elaterium*, *Cyprinus carpio*, Mikronükleus, Eritrosit morfolojisi

THE MICRONUCLEUS ASSAY AND BLOOD CELL MORPHOLOGY IN CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.1758) EXPOSED TO SQUIRTING CUCUMBER (*ECBALLIUM ELATERIUM* L.)

Abstract

Along with the other treatment options in the treatment of patients in the past and today, plants and plant-based medications are being utilized. One of these plants, bitter melon, *Ecballium elaterium* and also referred to as the bitter unripe melon and the squirting cucumber. It is also seen that along side its therapeutic properties when used, it leaves serious biological damage on human. This study aims to see whether the juice acquired from these bitter melon fruits have any effect on the morphologies of the cells of carp and its effect on micronucleus formation. It was administered in 4 groups, of which 3 were dosage groups and 1 was a control group. The bitter melon juice was administered over the course of 72 hours in 100, 200, and 300 ppm doses to the aquariums belonging to the three different dosage groups. Blood smear preparations were made from the fish. By scanning the prepared preparations under a microscope, the changes that occurred in the morphologies of the blood cells of the fish and the blood cells in which micronucleus formed were identified. In the preparations belonging to the control group, it was seen that there were differences between the cells identified in the scans and the morphologies of the cells in the control group. As a result, it was determined that bitter melon juice leads to micronucleus formation during the division in blood cells of carp and that it leads to some disorders in the morphologies of blood cells. With these data, it is thought that bitter melon juice causes genotoxicity.

Key words: *Ecballium elaterium*, *Cyprinus carpio*, Micronucleus, Erythrocyte morphology.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Emin SEYFİ
Doğum Yeri	Kırşehir
Doğum Tarihi	29.10.1991
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05310306693
E- Posta Adresi	seyfiemin@gmail.com



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Fakülte	Eğitim Fakültesi
Bölüm	Fen Bilgisi Öğretmenliği
Mezuniyet Yılı	2014

Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Programı	Genetik
Mezuniyet Tarihi	

Makale ve Bildiriler
<p>Uluslar Arası konferans ve Sempozyum</p> <p>Seyfi, E., Haliloğlu, A., Çağlar, E., Bilgin S. Fen Bilgisi Öğretmen Adaylarının Eğitimi Süresince Aldığı Alan Bilgisi Dersleri ve ÖSYM Tarafından Yapılan Öğretmenlik Alan Sınavına İlişkin Görüşleri. IInd International Eurasian Educational Research Congress, 8-10 Haziran 2015, Ankara, Özet Bildiri</p> <p>Seyfi, E., Gaffaroğlu, M., Acı Kavun (<i>Ecballium elaterium</i> L. 1758)'un Sazan (<i>Cyprinus carpio</i> L. 1758) Balıkları Üzerindeki Mikronükleus Oluşumuna ve Kan Hücre Morfolojilerine Etkileri, IInd International Scientific and Vocational Studies Congress, 05-08 Temmuz 2018, Nevşehir, Özet Bildiri</p>

Projeler

1. Gaffaroğlu M, Karasu Ayata M, Ünal S, **Seyfi E.** *Gobio maeandricus Naseka*, Erk'akan ve Küçük, 2006'un Sitogenetik Analizi. Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri FEF.A3.16.006, (Yardımcı Araştırmacı, 2016-2017)
2. Karasu Ayata M, Gaffaroğlu M, Ünal S, **Seyfi E.** *Luciobarbus kottelati Turan*, Ekmekçi, İlhan & Engin, 2008 (Teleostei, Cyprinidae)'de Karyolojik Araştırmalar. Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, FEF.A3.16.013 (Yardımcı Araştırmacı, 2016-2017).
3. Acı Kavun (*Ecballium elaterium L.*)'un Sazan (*Cyprinus carpio L.1758*) Balıkları Üzerindeki Mikronükleus ve Kan Hücre Morfolojilerine Etkilerinin incelenmesi. Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, FEF.A4.18.010 (Araştırmacı, 2018-Devam ediyor).