



Volume (Cilt): 3 • Number (Sayı): 2 • 2019 • Adıyaman, Turkey (Türkiye)

An open access, peer reviewed, international journal of biology.
Adıyaman Bilimsel Araştırmalar Derneği (ABADER), Adıyaman, Türkiye.

Supervisor Editor (Danışman Editör):

Dr. Ahmet Zafer TEL

Editor-in-chief (Baş Editör):

Dr. Mehmet Zülfü YILDIZ

Managing Editor (Yönetici Editör):

Dr. Serdar SÖNMEZ

Language Editors (Dil Editörleri):

English (İngilizce):

Dr. Nazmiye GÜREL CENNETKUŞU

Turkish (Türkçe):

Dr. Süleyman AYDENİZ

Turkish (Türkçe):

Dr. Mehmet Malik BANKIR

Editors (Editörler):

Dr. Ali ALAŞ

Dr. Bahadır AKMAN

Dr. Ergin HAMZAOĞLU

Dr. Ersen Aydın YAĞMUR

Dr. Fatih SATIL

Dr. Görkem DENİZ SÖNMEZ

Dr. Gözde GÜRELLİ

Dr. Hakan KARAARDIÇ

Dr. Konrad MEBERT

Dr. Mehmet BOĞA

Dr. Naşit İÇCİ

Dr. Osman SEYYAR

Dr. S. Cevher ÖZEREN

Dr. Tarkan YORULMAZ

Technical Editor (Teknik Editör)

Dr. Serdar SÖNMEZ

Dr. Bahadır AKMAN

Advisory Board (Bilim Kurulu):

Dr. Ahmet İLÇİM (Mustafa Kemal Ün., Türkiye)	Dr. Katerina FLIEGEROVA (Çek Cumhuriyeti Akademi Bilimi, Çek)
Dr. Ahmet KAHRAMAN (Uşak Ün., Türkiye)	Dr. Kerim ÇİÇEK (Ege Ün., Türkiye)
Dr. Ahmet ÖZKAYA (Adıyaman Ün., Türkiye)	Dr. Khalid Mahmood KHAWAR (Ankara Ün., Türkiye)
Dr. Ali KAYGISIZ (Kahramanmaraş Sütçü İmam Ün., Türkiye)	Dr. Mahmut DOĞAN (Harran Ün., Türkiye)
Dr. Asghar HUSSAIN (Veteriner ve Hayvan Bilimleri, Pakistan)	Dr. Mohammad Moradi GHARAKHLOO (Zanjan Ün., İran)
Dr. Can BİLGİN (Ortadoğu Teknik Ün., Türkiye)	Dr. Murat Aydın ŞANDA (Muş Alparslan Ün., Türkiye)
Dr. Deniz ERGÜDEN (İskenderun Teknik Ün., Türkiye)	Dr. Natalia B. Ananjeva (Sanct Petersburg Zooloji Enstitüsü, Rusya)
Dr. Évva-Hajnalka SAS-KOVÁCS (Oradea Ün., Romania)	Dr. Nazım ŞEKEROĞLU (Kilis 7 Aralık Ün., Türkiye)
Dr. Eyüp BAŞKALE (Pamukkale Ün., Türkiye)	Dr. Ömer VAROL (Muğla Ün., Türkiye)
Dr. Hasan ÖZÇELİK (Süleyman Demirel Ün., Türkiye)	Dr. Özdemir ADIZEL (Yüzüncü Yıl Ün., Türkiye)
Dr. Hikmet Sami YILDIRIMHAN (Uludağ Ün., Türkiye)	Dr. Ridzwan A. HALIM (Putra Ün., Malaysia, Malezya)
Dr. Hisham K. EL-HENNAWY (Emekli Profesör, Mısır)	Dr. Servet ULUTÜRK (Batman Ün., Türkiye)
Dr. Hossein LOTFALIZADEH (Doğu Azarbeycan Zirraat ve Doğal Kaynaklar Araştırma Merkezi, İRAN)	Dr. Sibel ALAGÖZ ERGÜDEN (Çukurova Ün., Türkiye)
Dr. İlhami GÜLÇİN (Atatürk Ün., Türkiye)	Dr. Suha Kenan ARSERİM (Manisa Celal Bayar Ün., Türkiye)
Dr. İsa GÖKLER (Dokuz Eylül Ün. Türkiye)	Dr. Suhaila Omar HASHIM (Pwani Ün., Kenya)
Dr. İbrokhim Y ABDURAKHMONOV (Özbekistan Bilim Akademisi, Özbekistan)	Dr. Turgut AYGÜN (Yüzüncü Yıl Ün., Türkiye)
Dr. Istvan SAS-KOVÁCS (Oradea Ün., Romania)	Dr. Yasin ALTAN (Celal Bayar Ün., Türkiye)
	Dr. Yehudah WERNER (Emekli, İsrail)
	Drs. John MULDER (Doğa Tarih Müzesi Rotterdam, Hollanda)

Cover (Kapak): Atıf'ın Likya Semenderi, *Lyciasalamandra atifi* (Başoğlu, 1967), Photograph: Bayram GÖÇMEN

Grafik ve Tasarım (Graphics and Design): Dr. Serdar SÖNMEZ



Bu dergide yayınlanan eserler Creative Commons Atıf-GayriTicari-AynıLisanslaPaylaş 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

The articles published in this journal are licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License.

Table of Contents (İçindekiler) Volume (Cilt): 3 Number (Sayı): 2 • December (Aralık) 2019

Research Articles (Araştırma Makaleleri)

- Implementation and Monitoring of Different Sample Collection Methods in Feather Mite Researches in Some Passerine Species**
Tüy Akarı Araştırmalarında Farklı Örnek Toplama Metotlarının Bazı Ötücü Kuş Türlerine Uygulanması ve İzlenmesi 68-74
Esra PER, Metin AKTAŞ
- Redescription of *Harpactea christodeltshevi* Bayram, Kunt & Yağmur, 2009 (Araneae, Dysderidae) from Turkey**
Türkiye'den Bilinen *Harpactea christodeltshevi* Bayram, Kunt & Yağmur, 2009 (Araneae, Dysderidae)'nin yeniden betimlenmesi 75-78
Recep Sulhi ÖZKÜTÜK, Ersen Aydın YAĞMUR, Kadir Boğaç KUNT, Nergis KARADUMAN
- Some Chemical and Biological Properties of *Verbascum tripolitanum* Growing in Hatay**
Hatay'da Yetişen *Verbascum tripolitanum*'un Bazı Kimyasal ve Biyolojik Özellikleri 79-82
Hatice DANAHALİLOĞLU, Yener TEKELİ, Yelda GÜZEL
- Assessment of Na⁺/K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase, and Total-ATPase Activities in Gills of Freshwater Mussels Exposed to Penconazole**
Penkonazole Maruz Bırakılan Tatlı Su Midyelerinin Solungaç Na⁺/K⁺-ATPaz, Mg²⁺-ATPaz, Ca²⁺-ATPaz ve Total-ATPaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi 88-92
Ertan YOLOĞLU
- Anatomy and Essential Oil Composition of *Salvia marashica* A. İlçim, F. Celep & Doğan**
Salvia marashica A. İlçim, F. Celep & Doğan Türünün Anatomisi ve Uçucu Yağ Bileşenleri 93-96
Ahmet İLÇİM, İlhan KAR, Şengül KARAMAN, Ahmet Zafer TEL
- The First Record of Zebra Mussel in Sarımeşmet Dam (VAN) and its Possible Effects on Regional Fisheries**
Sarımeşmet Barajı'nda (VAN) İlk Zebra Midye Kaydı ve Zebra Midye Popülasyonunun Bölge Balıkçılığına Olası Etkileri 97-102
Mustafa AKKUŞ, Mustafa SARI, Muhammed ARABACI
- A Floristic Research on Karatepe-Aslantaş National Park and Some Protected Natural/Cultural Areas (Osmaniye, Türkiye)**
Karatepe-Aslantaş Milli Parkı ve Bazı Doğal/Kültürel Koruma Alanları Üzerine Floristik Bir Araştırma (Osmaniye, Türkiye) 103-109
Ahmet Zafer TEL, İshak ORTAÇ, Ahmet İLÇİM
- Cytotoxic Activities of the Crude Venoms of *Macrovipera lebetina lebetina* from Cyprus and *M. l. obtusa* from Turkey (Serpentes: Viperidae) on Human Umbilical Vein Endothelial Cells**
Kıbrıs'tan *Macrovipera lebetina lebetina* ve Türkiye'den *M. l. obtusa* (Serpentes: Viperidae) Ham Zehirlerinin İnsan Kordon Veni Endotel Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri 110-113
Naşit İÇCİ, F. Duygu ÖZEL DEMİRALP, Mehmet Zülfü YILDIZ

Research Note (Araştırma Notu)

- Report of Stranding of Striped Dolphin *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833) in Mersin Bay (Northeastern Mediterranean Sea, Turkey)**
Mersin Körfezi'ndeki (Kuzeydoğu Akdeniz, Türkiye) Çizgili Yunus *Stenella coeruleoalba*'nın (Meyen, 1833) Boğulma Raporu 114-116
Deniz AYAS, Hasan Deniz AKBORA, Nuray ÇİTİFÇİ, Deniz ERGÜDEN

Review (Derleme)

- Cyanobacteria that Promote Plant Growth and Metabolites**
Bitki Gelişimini Teşvik Eden Siyanobakteriler ve Metabolitleri 117-123
Çiğdem KÜÇÜK, Gökşal Sezen
- Propagation of Some Medicinal and Aromatic Plants in Turkey by Biotechnological Methods**
Türkiye'de Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Biyoteknolojik Yöntemlerle Çoğaltılma Çalışmaları 124-131
MEHMET SEZGİN, Emine KAPDAN
- Genotoxic and Mutagenic Effects of Mycotoxins: A Review**
Mikotoksinlerin Genotoksik ve Mutajenik Etkileri: Derleme 132-161
Muhsin AYDIN, Eyyüp RENCÜZOĞULLARI

Implementation and Monitoring of Different Sample Collection Methods in Feather Mite Researches in Some Passerine Species

Esra PER^{1,*}, Metin AKTAŞ[†]

¹Gazi University, Faculty of Science, Department of Biology, Teknikokullar, Ankara, Turkey.
ORCID ID: Esra PER: <https://orcid.org/0000-0002-7764-1215>

Received: 23.07.2019

Accepted: 11.09.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: A large majority of the researches on bird mites in the world and in Turkey is based on alive/dead birds and museum specimens. Ringing stations allow doing host and parasite-based monitoring work without harming birds. In this study, it was aimed to monitor the changes of ten mite species carried by bird species belonging to Passeriformes order in Cernek Ringing Station, Samsun in different years according to different collection methods. During the spring and autumn bird migration periods between 2010 and 2013, the feather mites of some passerine species were investigated by applying different sampling methods. Mite samples were collected with three different collection methods (Pyrethrin use, feather collecting, and mite collecting with forceps) and identified. The most appropriate collection method based on species and habitat diversity of mites, ease of operation and duration, and ethics is collecting and investigating the mites with the forceps by using a stereomicroscope. The feather mite species of the genus *Dolichodectes*, *Proctophyllodes*, and *Trouessartia* were determined on tail and wing feathers while the feather mites of *Analges* and *Strelkoviacarus* genera were determined on the abdominal feathers. This research, which was conducted at a ringing station where bird migration was investigated, shows that future acarology research in Turkey needs to be planned with experts from different areas of interest through an interdisciplinary approach.

Keywords: Cernek Ringing Station, Turkey, Passeriformes, feather mite, stereomicroscope.

Tüy Akarı Araştırmalarında Farklı Örnek Toplama Metotlarının Bazı Ötücü Kuş Türlerine Uygulanması ve İzlenmesi

Öz: Dünya'da ve Türkiye'de kuş akarlarına yönelik araştırmaların büyük bir çoğunluğu canlı/ölü kuşlar ve müze örnekleri üzerinedir. Halkalama istasyonları kuşlara zarar vermeden konak ve parazit temelli izleme çalışmalarının yapılabilmesine imkân vermektedir. Bu araştırmada Samsun, Cernek Halkalama İstasyonunda Passeriformes takımına ait kuş türlerinin taşıdığı on akar türünün farklı toplama metotlarına göre farklı yıllardaki değişimlerinin izlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 2010-2013 yılları arasında ilkbahar ve sonbahar göç döneminde farklı örnek toplama yöntemleri uygulanarak bazı ötücü kuş türlerinin tüy akarları araştırılmıştır. Üç farklı toplama yöntemi (Piretrin kullanımı, tüy toplama ve pens ile akar toplama) ile akar örnekleri toplanmış ve teşhis edilmiştir. Akarların tür ve habitat çeşitliliği, çalışma kolaylığı, süre ve etik açıdan en uygun toplama yöntemi; stereo mikroskop kullanılarak pens ile akarların toplanması ve araştırılmasıdır. Kuyruk ve kanat tüylerinde *Dolichodectes*, *Proctophyllodes* ve *Trouessartia*; karın tüylerinde ise *Analges* ve *Strelkoviacarus* cinslerine ait tüy akarı türleri tespit edilmiştir. Kuş göçlerinin araştırıldığı bir halkalama istasyonunda yapılmış olan bu araştırma, Türkiye'de gelecekte yapılması planlanan akaroloji araştırmalarının farklı ilgi alanlarından uzmanlar tarafından disiplinler arası bir yaklaşım ile planlanması gerektiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Cernek Halkalama İstasyonu, Türkiye, Passeriformes, tüy akarı, stereomikroskop.

1. Giriş

Dünya'nın farklı birçok bölgesinde kuş halkalama istasyonları bulunmaktadır. Kuş halkalama istasyonlarında yapılan çalışmalar, kuş göç yollarının ortaya çıkarılmasının yanı sıra göç sırasında yakalanan kuş türlerinin davranışları ve taşıdıkları parazitlerin izlenmesi ile parazit konak ilişkisinin irdelenmesine de imkan vererek taksonomik ve ekolojik açıdan bilime önemli katkılar sağlamaktadır. Kuş halkalama çalışmaları, kuş ektoparazitlerinin araştırılması açısından yeni bir yol açmıştır. Bu istasyonlarda parazit canlılığının kuşa olan etkisi, kuşun davranışları ve reaksiyonları izlenebilmektedir (Peters, 1933).

Geçmiş yıllarda Dünya'da ektoparazitler ile ilgili araştırmalar ölü kuşlar üzerinden yapılırken günümüzde kuş halkalama çalışmaları ile kuşa zarar vermeden canlı birey üzerinden ektoparazitleri toplanabilmektedir (Watson & Amerson., 1967). Dünya'da ve Türkiye'de kuş akarlarına yönelik araştırmaların büyük bir çoğunluğu

sistemik temelli olup, bu araştırmalarda rastlantısal olarak yakalanmış olan kuş bireyleri ile müze örnekleri kullanılmakta (Gaud & Atyeo, 1996) ya da sis ağıları kullanılarak (Mironov & Fain, 2003; Mironov & Galloway, 2002; Gürler, Mironov, & Erciyas-Yavuz, 2013) canlı kuş bireyleri üzerinden araştırmalar yapılmaktadır.

Türkiye'de Cernek Kuş Halkalama İstasyonu'nda kuş göçü izleme araştırmaları kapsamında 2000 yılından itibaren ilkbahar ve sonbahar kuş göçünde göç eden ötücü kuşlar yakalanarak halkalanmaktadır (Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü, 2018). Tüy akarlarının birlikte yaşam birliği oluşturduğu ötücü kuşlardan Passeriformes takımına ait bazı kuş türleri Türkiye'de ilkbahar ve sonbahar göçünde Kızılırmak Deltası'nda yüksek birey sayıları ile temsil edilmektedir. Bu türlerin bazı bireyleri her yıl göç döneminde bu alanı kullanmakta ve bunların göçleri geniş bir zaman diliminde gerçekleşmektedir.

*Corresponding author: esraper@gazi.edu.tr

Kuşların üzerindeki tüy akarları, sınırlı bir bölgede hareket ederek farklı mikro habitatları işgal etmektedir (Dubinin, 1951; Perez & Atyeo, 1984). Tüy akarlarının işgal ettiği dört ana mikro habitat; yumuşak hav tüyleri, kontur tüylerinin kanat yüzeyleri, uçma ve kuyruk tüylerinin içi ile cilt yüzeyidir (Gaud & Atyeo, 1996). Tüy akarları genellikle kuyruk ve uçma teleklerinde bulunmaktadır (Clayton & Walther, 1997; Dabert & Mironov, 1999). Türkiye’de kuşların tüy akarlarına yönelik olarak farklı metotlar uygulanarak uzun dönemli bir izleme çalışması yapılması özellikle akar-konak özelleşmesi, habitat tercihi ve zamansal değişimin ifade edilmesi açısından önemlidir.

Bu çalışmada Kızılırmak Deltası (Samsun) Cernek Halkalama İstasyonunda Passeriformes takımına ait bazı kuş türlerinin taşıdığı on tüy akarı türünün farklı toplama metotlarına göre farklı yıllardaki değişimlerinin izlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

Bu araştırma 2010-2013 yılları arasında ilkbahar ve sonbahar kuş göç döneminde Samsun ili, Ondokuzmayıs - Bafra ve Alaçam ilçe sınırlarındaki Kızılırmak Deltası’nda bulunan (Şekil 1) Yaban Hayatı Geliştirme Sahası sınırları içinde, Cernek Kuş Halkalama İstasyonunda gerçekleştirilmiştir.



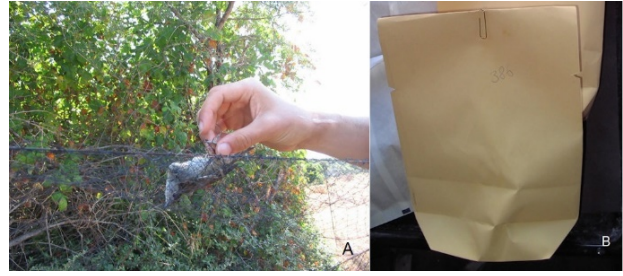
Şekil 1. Kızılırmak Deltası, Cernek Kuş Halkalama İstasyonu.

Halkalama İstasyonu’nda ilkbahar ve sonbahar kuş göç döneminde halkalanan Passeriformes takımına ait on tür araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Bu türler dünyanın farklı bölgelerinden geldikleri için göçe başlama tarihleri de farklılık göstermektedir. Alanda gerçekleştirilen pilot çalışmalarda kuşlarda ektoparazit incelemeleri yapılmış olup en fazla tüy akarı Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae familyası türlerinde görülmüştür. Bu bilgiler doğrultusunda, 10 ötücü kuş türünün tüy akarları toplanmıştır. Bu türler Acrocephalidae familyasından; *Acrocephalus arundinaceus* (Büyük kamışçın), *Acrocephalus scirpaceus* (Sazbülbulü), Scotocercidae familyasından; *Cettia cetti* (Kamış bülbülü), Phylloscopidae familyasından; *Phylloscopus collybita* (Çıvgın), *Phylloscopus trochilus* (Söğüt bülbülü), Sylviidae familyasından; *Sylvia atricapilla* (Karabaşlı ötleğen), *Sylvia borin* (Boz ötleğen) *Sylvia communis* (Akgerdanlı ötleğen), *Sylvia curruca* (Küçük akgerdanlı ötleğen) ve *Sylvia melanocephala* (Maskeli ötleğen)’dir.

Arazi çalışmaları için Tarım ve Orman Bakanlığı’ndan izin alınmıştır. Uzman halkacıların gözetiminde etik kurallar doğrultusunda kuşlara zarar vermeden 3 farklı yöntem kullanılarak tüylerinde yaşayan akarları toplamaya yönelik bir çalışma yapılmıştır.

Kızılırmak Deltası Yaban Hayatı Koruma Sahası, Cernek Kuş Halkalama İstasyonu’nda kuşlar standart sis ağırları kullanılarak yakalanmıştır (Şekil 2A). Her bir birey havalandırma deliği bulunan ayrı ayrı kese kâğıtlarında taşınarak bireyler arası kontaminasyon engellenmeye çalışılmıştır (Watson & Amerson, 1967) (Şekil 2B).

Lisanslı kuş halkacıları tarafından halkalanan her bir birey (Şekil 3A) tüy akarları açısından incelenmiştir (Şekil 3B). Ektoparazit incelemesinden geçen her bir kuş türüne bir kod numarası verilmiş ve kese kâğıtları etiketlenmiştir. Her bir kuş bireyi strese girmeden kısa sürede akar örnekleri toplanmıştır.



Şekil 2. A-Sis ağırlarına yakalanmış bir birey B-Bireylerin taşındığı kese kağıdı.



Şekil 3. A-Halkacı tarafından ölçümleri alınan, B- Telekleri kontrol edilen bir birey.

Akar örneklerini toplamak için ilk metot olarak 2010 yılında piretrin kullanılmıştır (Watson & Amerson, 1967; Clayton & Walther, 1997). Ektoparazitleri toplamak için her bir kuş bireyi bitkisel kökenli piretroidli bir pestisit tozu ile ilaçlanmıştır. Kullanılan piretrin, bazı kasımpatı bitkilerinde doğal olarak bulunan bir pestisittir (Şekil 4A). Bu işlem sırasında siyah renkli karton kullanılarak pestisit tanecikleri ve ektoparazitler toplanmıştır. İlaçlanan birey 2 dk. süresince başı dışarıda kalacak şekilde kese kâğıdı içinde tutulmuştur. Bu işlemin ardından hayvanın başı, kulağı, anüsü, kanat altı ve göğsü üzerinde yeniden bir inceleme yapılmıştır. Ektoparazitler yönünden incelenen kuş bireyleri tekrar doğaya salınmıştır. Kese kâğıdı ve siyah karton üzerine dökülen parazitler %70’lik alkol solüsyonu içeren tüplere alınmıştır (Watson & Amerson, 1967) (Şekil 4B).

İkinci bir metot olarak 2011 yılında her bir birey üzerinde gözleme dayalı bir inceleme yapılmıştır. Akar taşıdığı belirlenen kuşların karın tüylerinden, kanat teleklerindeki sekonder-terciyer tüylerden ya da kuyruk teleğinden bir adet tüy alınmıştır (Clayton & Walther,

1997). Her bir bireye ait tüy ayrı ayrı tüplere alınmış, kod numarası verilmiş ve etiketlenmiştir (Şekil 5A, B, C, D).



Şekil 4. A-Piretroidli bir pestisit tozu ile ilaçlanan bir birey, B- kullanılan malzemeler.



Şekil 5. A-Kuyruk teleklerinden tüy alınması, B- Uçma telekleri, C-Sekonder ve tersiyerden tüylerin toplanması, D-Tüylerin tüplere alınması.

Akar örneklerinin toplanmasında 2012-2013 yıllarında Olympus marka stereo mikroskop kullanılarak üçüncü bir metot uygulanmıştır (Şekil 6A). Tüy akarları doğrudan kuşun üzerinden pens ile alınmıştır (Watson & Amerson, 1967; Clayton & Walther, 1997) (Şekil 6B).



Şekil 6. A-Stereo mikroskop kullanılması B Tüy akarlarının pens ile toplanması.

Strese giren ve göçte yağ skoru yüksek olan kuşlardan örnek alınmamıştır. Farklı yöntemler ile toplanmış olan bütün örnekler %70'lik alkol solüsyonu içeren numaralandırılmış tüplere alınmıştır. Tüplerin üzerine konak kuş türünün tür adı, halka numarası, tarih ve lokasyon bilgileri yazılarak arazi formuna kayıt edilmiştir.

Araziden getirilen her bir numune Gazi Üniversitesi Metin Aktaş Zooloji Müzesi'nde öncelikle stereo mikroskop altında incelenmiştir. İncelenen numunedeki akar bireyleri ince uçlu bir pens yardımı ile lamın üzerine yerleştirilmiştir. Kalıcı preparat yapabilmek için Hoyer

Eriyiği kullanılmıştır. Örneğin üzerine lamel kapatılarak kalıcı preparat haline getirme işlemi tamamlanmıştır. Örneklerin teşhisi Olympus (CX21) ışık mikroskobu ile gerçekleştirilmiştir. Tüy akarlarını teşhis etmek için kitap ve makalelerden (Atyeo & Braasch, 1966; Park & Atyeo, 1971; Santana, 1976; Gaud & Atyeo, 1996; Dabert & Mironov, 1999; Proctor & Owens, 2000; Proctor, 2003; O'Connor, 2009) yararlanılmıştır. Passeriformes takımından bazı ötücü kuş türlerinde tespit edilmiş olan akar türleri; *Analges spiniger* Giebel, 1871 *Strelkoviacar* *quadratus* (Haller, 1882); *Dolichodectes edwardsi* (Trouessart, 1885); *Proctophyllodes cetti* Badek, Mironov, & Dabert, 2008; *Proctophyllodes clavatus* Fritsch, 1961; *Proctophyllodes doleophyes* Gaud, 1957; *Proctophyllodes sylvia* Gaud, 1957; *Trouessartia bifurcata* (Trouessart) 1884; *Trouessartia inexpectata* Gaud, 1957; ve *Trouessartia trouessarti* Oudemans, 1904'tür. Tüy akarlarının Syviidae türlerindeki toplam enfestasyon oranı %62.6 olup bu oran, türler arasında %19.4-94.8 arasında değişiklik göstermektedir. Birey sayısı olarak en fazla inceleme, çalışılan alanda yüksek popülasyonlar ile temsil edilen *Sylvia borin* ve *Sylvia atricapilla* türleri üzerine yapılmıştır. Birey sayısı olarak en az inceleme *Phylloscopus trochilus* ve *Acrocephalus arundinaceus* türleri üzerine yapılmıştır (Tablo 1) (Per & Aktaş, 2018).

Tablo 1. İncelenen kuş türleri ve tüy akarı enfestasyon oranları.

Kuş Türü	İncelenen Birey Sayısı	Akar Tespit Edilen Birey Sayısı	Enfestasyon Oranı %
<i>Acrocephalus arundinaceus</i>	7	5	71.4
<i>Acrocephalus scirpaceus</i>	16	4	25
<i>Cettia cetti</i>	87	52	56.5
<i>Phylloscopus collybita</i>	67	23	34.3
<i>Phylloscopus trochilus</i>	6	2	33.3
<i>Sylvia atricapilla</i>	156	148	94.8
<i>Sylvia borin</i>	153	114	74.5
<i>Sylvia communis</i>	33	9	27.3
<i>Sylvia curruca</i>	31	6	19.4
<i>Sylvia melanocephala</i>	30	7	23.3
Toplam	591	370	62.6

3. Bulgular

Bu çalışmada 2010-2013 yılları arasında Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae familyasına ait 10 kuş türünden toplam 591 birey üzerinden akar örnekleri toplanmıştır. Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae familyasına ait kuş bireylerinin sayısı her yıl ilkbahar göç döneminde düşük, sonbahar göç döneminde yüksek olmuştur. İlkbahar mevsiminde ortalama 45, Sonbahar mevsiminde 152 birey incelenmiştir (Tablo 2). Kuş göçüne bağlı olarak İlkbahar'a oranla Sonbahar döneminde daha düzenli ve daha fazla veri sağlanmıştır.

Arazi çalışmalarında; 2010 yılında piretrin, 2011 yılında tüy toplama, 2012-2013 yıllarında pens ile akarların tek tek toplanması şeklinde farklı toplama yöntemleri kullanılmış olup bir dönemde en az 7 en çok 10 akar türü tespit edilmiştir. Her ilkbahar aynı sayıda (7) akar türü tespit edilmiştir. Sonbaharda ise piretrin kullanılarak 10 tür, tüy toplayarak 9 tür ve pens ile akar toplayarak 10 tür tespit edilmiştir (Tablo 3). Bazı ötücü kuş türlerinde tespit edilmiş olan farklı tüy akarı türlerinin yıllara ve mevsimlere göre değişimi karşılaştırılmış olup 2012 yılı sonbahar mevsiminde araştırılmış olan bütün akar türleri

(10) aynı göç döneminde tespit edilmiştir. Kuyruk ve uçma teleklerinde *Dolichodectes*, *Proctophyllodes* ve *Trouessartia*; karın tüylerinde *Analges* ve *Strelkoviacarus* cinsine ait tüy akarlarının yaşadığı tespit edilmiştir (Tablo 4). Uygulanmış olan farklı tüy akarı toplama yöntemleri şu ölçütler ile karşılaştırılmıştır; biyoçeşitlilik, mikrohabitat

tespiti, çalışma kolaylığı, süre ve etik. Tüy toplama biyoçeşitlilik açısından sınırlı kalmıştır. Piretrin kullanımı zaman alıcı, zor, kuşu strese sokan ve mikrohabitat tespitine izin vermeyen bir yöntem olmuştur. Stereo mikroskop kullanımı ise bu ölçütlere göre en uygulanabilir metot olmuştur (Tablo 5).

Tablo 2. On ötücü kuş türünde yapılan akar incelemesinin yıllara göre ve mevsimlere göre dağılımı.

Yıl	Yöntem	İlkbahar	Sonbahar	Toplam
2010	Piretrin	-	135	135
2011	Tüy toplama	77	143	220
2012	Stereo mikroskop	33	178	211
2013	Stereo mikroskop	25	-	25
Toplam	-	135	456	591
Ortalama	-	45	152	-

Tablo 3. On ötücü kuş türünde tespit edilmiş olan toplam tüy akarı sayısının yıllara ve mevsimlere göre değişimi.

	2010		2011		2012		2013
	Sonbahar	İlkbahar	Sonbahar	İlkbahar	Sonbahar	İlkbahar	
Toplam akar tür sayısı	10	7	9	7	10	7	
Toplandığı bölge	Bütün vücut	Kuyruk, kanat, karın	Kuyruk, kanat, karın	Bütün vücut	Bütün vücut	Bütün vücut	

Tablo 4. On ötücü kuş türünde tespit edilmiş olan farklı tüy akarı türlerinin yıllara ve mevsimlere göre değişimi.

Akar türü	Mikrohabitat	2010		2011		2012		2013
		Sonbahar	İlkbahar	Sonbahar	İlkbahar	Sonbahar	İlkbahar	
<i>Analges spiniger</i>	Vücut (karın)	+	+	+	-	+	-	
<i>Strelkoviacarus quadratus</i>	Vücut (karın)	+	-	+	-	+	-	
<i>Dolichodectes edwardsi</i>	Kanat, kuyruk	+	+	+	+	+	+	
<i>Proctophyllodes cetti</i>	Kanat, kuyruk	+	+	+	+	+	+	
<i>Proctophyllodes clavatus</i>	Kanat, kuyruk	+	+	+	+	+	+	
<i>Proctophyllodes doleophyes</i>	Kanat, kuyruk	+	+	+	-	+	+	
<i>Proctophyllodes sylvia</i>	Kanat, kuyruk	+	+	+	+	+	+	
<i>Trouessartia bifurcata</i>	Kanat, kuyruk	-	-	+	+	+	-	
<i>Trouessartia inexpectata</i>	Kanat, kuyruk	+	+	-	+	+	+	
<i>Trouessartia trouessarti</i>	Kanat, kuyruk	+	-	+	+	+	+	

Tablo 5. Uygulanmış olan farklı tüy akarı toplama yöntemlerinin karşılaştırılması.

Ölçüt	Piretrin	Tüy toplama	Stereo mikroskop
Tür çeşitliliği	+	-	+
Mikrohabitat tespiti	-	-	+
Kolaylık	-	+	-/+
Süre	-	+	-/+
Etik	-	+	+

Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae familyasına ait kuş türlerinde; *Analges*, *Dolichodectes*, *Proctophyllodes*, *Strelkoviacarus* ve *Trouessartia* cinslerine ait toplam 10 akar türü tespit edilmiştir. Bu araştırmada uygulanmış olan tüy toplama ve pens ile inceleme metotlarında; kuyruk ve uçma teleklerinde *Proctophyllodes*, *Dolichodectes* ve *Trouessartia* türlerinden, karın tüylerinde *Analges* ve *Strelkoviacarus* türlerinden tüy akarlarının yaşadığı tespit edilmiştir. Piretrin kullanılmış olan bireylerin akarları, pestisit etkisi ile kuşun vücudunu bir anda terk ettiği için bu akarların kuşun vücudunun hangi bölgesinde yaşadığı tespit edilememiştir. Passeriformes bireyleri üzerinde çıplak gözle doğrudan yapılan incelemelerde tüy akarı enfestasyonu tespit edilen bireyler üzerinde inceleme yapılmıştır. Bu bireylerde özellikle kuyruk ve kanat bölgesinde akar enfestasyonu daha yüksektir. Bunun nedeni kanat ve kuyrukta tespit edilmiş olan *Trouessartia* ve *Proctophyllodes* türlerine ait akar bireyleridir. Bu akar türlerinin, yumurtalarını tür shaftına (rachis) sırayla bıraktığı tespit edilmiştir (Şekil 7).

Tür teşhisi yapılırken birçok preparatta akarların besin içerikleri de görüntülenmiştir (Şekil 8). Bazı

preparatlarda besin içeriklerinin yoğun olması tür teşhisini zorlaştırmıştır.

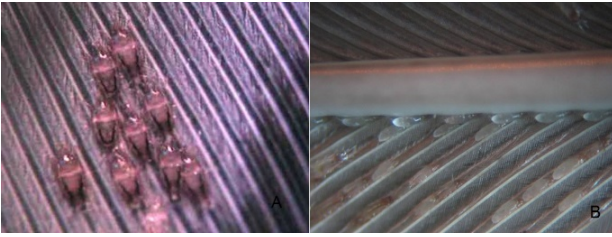
Arazi çalışmalarında yapılan ektoparazitolojik incelemelerde Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae familyasına ait türlerde sadece akar türleri tespit edilmiştir, diğer ektoparazitlerden bit, pire, sinek vb. canlılara rastlanmamıştır.

4. Tartışma

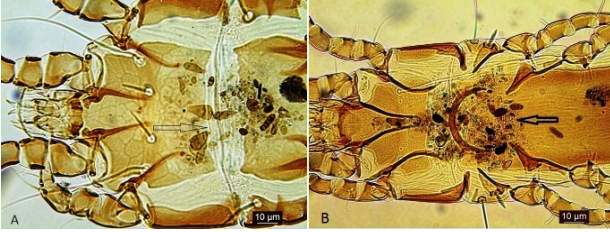
Türkiye’de tüy akarı taksonomisi çok yeni bir araştırma alanı olup, var olan araştırmalar genellikle kısa dönemli çalışmalardan oluşmaktadır (Aksın, 2007; 2010; 2011; Aksın & Erdoğan, 2005; Gürler et al., 2013). Bu araştırma ile 2010-2013 yılları arasında ilkbahar ve sonbahar kuş göç döneminde yüksek birey sayıları ile temsil edilmekte olan Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae familyasına ait kuş türlerinin taşıdığı akar türleri farklı metotlar kullanılarak (pestisit yardımıyla, tüy toplayarak ve pens ile akar toplayarak) toplanmış ve dönemsel değişimler yıllara göre izlenmiştir.

Araştırmada 2010 yılında bitkisel kökenli bir pestisit olan Piretrin kullanılmıştır. Piretrin, akar dışındaki bit ve

sinek gibi diğer ektoparazitleri toplamak için daha elverişlidir. Kuş bireylerinin üzerindeki akarları piretrin ile uzaklaştırmak en zahmetli, en uzun süreli, en stresli ve en tercih edilmemesi gereken yöntem olup bu yöntemin uygulandığı bazı kuş bireyleri üzerinde bir süre uçamama davranışı görülmüştür. Akarlar diğer ektoparazitlere göre çok daha yavaş hareketli ve belli bir vücut bölgesine özelleşmiş olduğu için pestisit kullanmadan da toplanabilmektedir. Bu nedenle 2011 yılından itibaren arazi çalışmalarında doğaya zarar vermemek için pestisit kullanılmamıştır. Piretrin kullanımı yerine her bir birey üzerinde gözleme dayalı bir inceleme yapılarak sekonder ve tersiyer ile karın ve kuyruk tüyünden biri koparılmıştır. Göçmen kuşlardan sekonder ya da tersiyerden bir adet tüy kopartıldığında sadece koparılan tüyde yaşayan akarlar tespit edilebilmektedir. Etik olarak göçmen kuşların primer tüylerinden tüy koparmak sakıncalı olduğu için bu bölgeden tüy toplama yapılmamıştır.



Şekil 7. A- Örtü teleklerindeki *Trouessartia* cinsine ait ergin bireyler, B- Uçma teleklerindeki *Proctophylloides* cinsine ait ergin ve nimfler.



Şekil 8. A- *Trouessartia* sp. (dişi), B- *Proctophylloides* sp. (erkek), bireyin besin içeriği.

Bir araştırmada tüylerin yapısal çeşitliliği, farklı yöntemler kullanılmasına rağmen aynı ya da benzer akar türlerinin tespit edilmesinde ve tespit edilen toplam akar türü sayısında önemli rol oynamaktadır (Proctor & Owens, 2000). Bu araştırmada her ilkbaharda 7 akar türü tespit edilmiştir. Sonbaharda bu rakam tüy toplama yönteminde 9 piretrin ve pens kullanımında 10'a ulaşmıştır. Piretrin kullanıldığında vücuttaki tüm ektoparazitler tespit edilmekte ancak bu akarların mikrohabitatları tespit edilememektedir. Pens kullanıldığında vücut yüzeyindeki her bölge incelenip tüm mikrohabitatlara ulaşılmaktadır. Tüy toplandığında ise tüyün yapısal çeşitliliğine bağlı olarak belirli bir mikrohabitat incelenebilmektedir. Piretrin tozu kullanıldığında bazı taneciklerinin tüylerin arasında kalabildiği gözlenmiştir, göçe devam edecek bu kuşların daha az etkilendiği tespit edilmiştir. Pens ile akar toplama yönteminde hem mikrohabitatların hepsine ulaşılabilen hem de konak kuş daha az stres altında kalmaktadır. Ancak bu metotta kuş uzun süre stereo mikroskop altında incelemek gerekebilmektedir. Bu nedenle stres faktörü göz önüne alınarak hızlı bir şekilde kısa bir zaman aralığında inceleme tamamlanmalıdır. Ayrıca araştırmacının bu konuda deneyimi arttıkça daha hızlı inceleme yapabilmektedir.

Kuş ektoparazitlerinin incelenmesinde kuyruk ya da uçuş teleklerinin yoğun ışığa maruz bırakılması, kullanılabilir bir yöntem olsa da Tüy Akarları (Astigmata) kitabının yazarı Heather Proctor'un kişisel gözlemlerine göre sınırlı bir bölgede hareket eden tüy akarları ışıktan çok etkilenmeyen, küçük boyutlu, açık renkli ve yavaş hareket eden canlılar oldukları için bu yöntem hatalı sonuçlar verebilmektedir. İncelemede büyüteç ya da diseksiyon mikroskobu kullanılması daha hassas sonuçlar vermektedir. Bu çalışmada diseksiyon mikroskobu kullanılarak akar toplanırken cins düzeyinde sınıflandırma yapılabilmektedir. Bu durum arazi çalışması sırasında hangi akar cinslerinin konak kuşun hangi vücut bölgelerinde yoğunlaştığını da göstermiştir.

Başka ülkelerde farklı tüy akarı toplama yöntemleri aynı çalışma içerisinde karşılaştırılmamış olup bu araştırmalarında müze örnekleri, pens ile canlı birey üzerinden toplama ve ölü hayvan üzerinden toplama yöntemi yaygın olarak kullanılmıştır (Berthold, 1990; Kolarova & Mitov., 2008; Mironov, 1996; 1997; Shoker, Tawfek, Ibrahim, & Osman, 2001; Rubtsov & Yakimenko, 2012).

Canlı kuşların üzerindeki parazitler küçük ve hareketli oldukları için tüyler arasında onları bulabilmek bazen çok zor olmaktadır. Pratikte bir kuş bir ya da daha fazla ektoparazit grubunu barındırabilmektedir. Farklı ektoparazitler konağın farklı bölgelerine yerleşmiş olabileceği için detaylı inceleme önemlidir (Peters, 1933). Kızılırmak Deltası'nda yakalanan kuşlar arasında bit enfestasyonu *Alcedo atthis* (Yalıçapkı), *Merops apiaster* (Arıkuşu), *Accipiter nisus* (Atmaca) ve *Upupa epops* (İbik) türlerinde yüksektir (Dik, Erciyas-Yavuz, Per, 2017). Kuşlar çok çeşitli ektoparazit (bit, pire, sinek, akar, kene) için bir liman gibidir. Ancak bu çalışmada pestisit de dâhil farklı örnek toplama yöntemleri kullanılmış olmasına rağmen sadece akar türleri tespit edilmiştir, diğer ektoparazitlere rastlanmamıştır.

Genellikle kuşlar ilkbaharda göç öncesinde tüylerini değiştirmektedir. Buna bağlı olarak akarların popülasyonu yaz sonunda artmaktadır (McClure, 1989). Bu çalışmanın sonucunda Passeriformes takımına ait türlerin tüy akarlarının belirlenmesinde stereomikroskop kullanılarak pens ile akarların toplanması yöntemi ile bir yıllık alan çalışmasının temel bir araştırma için yeterli olduğu tespit edilmiştir. Her ilkbaharda 7 sonbaharda 9-10 akar türü tespit edilmiştir. Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae familyasına ait türlerde yapılan akar incelemesinin yıllara ve mevsimlere göre dağılımına bakıldığında özellikle sonbahar döneminde incelenen kuş birey sayısındaki artış üreme dönemi sonrası tüy değişimi, popülasyon artışı ve halkalama istasyonunun Karadeniz'in kıyısında olmasından kaynaklanmış olabilir. Bu çalışmada sonbahar döneminde ilkbahar dönemine oranla ortalama üç kat daha fazla kuş bireyi yakalanmıştır. Araştırmaya konu olan familyalara ait türlerin ilkbahar ve sonbahar göçü geniş bir zaman diliminde cephesel olarak gerçekleşmektedir. Sonbaharda Afrika'dan yorgun gelen bireyler ile ilkbaharda Avrupa'ya gidecek bireyler bu bölgede beslenmekte ve göçe hazırlanmaktadır.

Tarihsel olarak tüy akarlarının konak-parazit özelleşmesinin uyumu incelendiğinde biyolojik, ekolojik ve zoocoğrafik veriler gerekmektedir. Bu nedenle akarın coğrafi dağılımı ile kuş üzerindeki mikro dağılımı da

önemlidir. Burada kuşun yuvalama davranışı, toz banyosu yapması, sürü oluşturmaması, uçuş tüylerinin özellikleri dikkate alınmalıdır (Peterson, 1975). Araştırma konusu olan Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae türleri benzer yuvalama davranışı gösteren, sadece göç döneminde sürü oluşturan ve toz banyosu yapmayan türlerdir.

Bazı akarlar konağın; tüy, ölü deri, vücut sıvısı ve dokusundan beslenmektedir. Farklı kuş türü ve bireyleri farklı derecelerde parazitlenebilir. Bir bireyin tüm vücudunda bulunabilirken başka bir bireyde bulunmayabilmektedir (Watson & Amerson, 1967). *Analges* ve *Proctophyllodes* cinsine ait türler kanat tüylerinin yanı sıra göğüs ve sırt tüylerinde de bulunmaktadır (Peters, 1933). Bu çalışmada kuyruk ve uçuş teleklerinde *Proctophyllodes*, karın tüylerinde ise *Analges* cinsi tüy akarlarının yaşadığı tespit edilmiştir.

Tüy akarları; kuşların derilerinde ve tüylerinde sürekli parazit ya da simbiyont olarak yaşayan astigmatid akarların geniş bir grubudur (Peterson, 1975; O'Connor, 1982a; 1982b; Gaud & Atyeo, 1996; Mironov, 1999; Dabert & Mironov, 1999; Proctor & Owens, 2000; Proctor, 2003). Bu görüşün aksini savunan çalışmalar da mevcuttur. Bu canlıların konakları ile olan etkileşimlerinin niteliği (kommensalizm, mutualizm veya parazitizm), hala belirsizliğini korumaktadır. Ancak tüy akarları ile ilgili çalışmalar kuş akar etkileşiminin muhtemelen parazitlikten mutualizme doğru gittiğini göstermektedir (Walter & Proctor, 1999; Proctor & Owens, 2000; Blanco, Tella, Potti, & Baz, 2001). Geçmişte pek çok araştırmacı, tüy akarlarını kuşlara zarar veren bir ekto parazite olarak değerlendirmiştir. Ancak günümüzde tüy akarları, kuşlarda en sık görülen ektosimbiyontlardır.

Cernek Kuş Halkalama İstasyonu'nda yakalanan Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae familyasına ait bazı ötücü türleri arasında en yüksek enfestasyon oranı *Sylvia atricapilla* (%94.8) ve *Sylvia borin* (%74.5)'de tespit edilmiştir. *Sylvia melanocephala* (%23.3) ve *Sylvia curruca* (%19.4) ise enfestasyon oranı en düşük olan türlerdir (Per & Aktaş, 2018). Bazı ötücü türleri üzerinde yapılan incelemelerde genellikle bireylerin uçuş ve kuyruk teleklerinde yoğun bir tüy akarı enfestasyonu tespit edilmiştir. Buna rağmen tüy akarlarından dolayı zarar görmüş bitkin ve sağlıklı bir kuş bireyi gözlenmemiştir. Halkalama istasyonunda farklı yıllarda kuş halka numaralarından yapılan kontrollerde aynı bireyler yeniden yakalanmış ve tüylerin üzerinde tekrar tekrar aynı akar türleri tespit edilmiştir. Bu durum kommensalizm görüşünü desteklemektedir. Bu çalışma için bazı Passeriformes türlerinin seçilme nedeni, genellikle bu türlere ait her bir bireyin yoğun tüy akarı enfestasyonuna maruz kalmasıdır. Eğer tüy akarları ekto parazite özelliği gösteren canlılar olsaydı bir kuş bireyinin tüylerini yoğun bir şekilde işgal etmişken, bu bireyin sağlıklı kalması, tüylerinin dökülmemesi, tüylerin yapısının bozulmaması ve tekrar tekrar göç edebilmesi mümkün olamazdı.

Tüy akarları, konağın tüylerindeki mantarları yiyerek konağa yarar sağlamaktadır (Blanco et al., 2001). Çoğu tüy akarının yağ salgısı ile beslendiği bilinmektedir, bu canlılar aynı zamanda mantar sporları ve bu salgı içindeki diğer maddeler ile de beslenmektedir (O'Connor, 1982a; 1982b). Bu çalışma için hazırlanmış olan preparatlarda birçok bireyde sindirilmemiş besin içerikleri

görüntülenebilmiştir, bu görüntülerdeki besinlerin mantar olduğu düşünülmektedir (Şekil 8).

Bu çalışmada Acrocephalidae, Phylloscopidae, Scotocercidae ve Sylviidae familyasına ait kuş türlerinde farklı mikrohabitatlarda; *Analges*, *Dolichodectes*, *Proctophyllodes*, *Strelkoviacarus* ve *Trouessartia* cinsine ait toplam 10 akar türü tespit edilmiştir. Üç farklı örnek toplama yöntemi karşılaştırıldığında; tür çeşitliliği, çalışma kolaylığı, süre, etik ve farklı habitatlara özgü akar türlerinin tespit edilmesi açısından stereo mikroskop kullanılarak pens ile akar toplamanın en uygun yöntem olduğu düşünülmektedir. Halkalama istasyonunda benzer bir araştırma için tüy akarlarının belirlenmesi amacıyla stereo mikroskop ve pens kullanılarak bir yıllık alan çalışması yapılması yeterli olacaktır. Kuşların göç yollarının araştırıldığı bir halkalama istasyonunda yapılmış olan bu araştırma, Türkiye'de gelecekte yapılması planlanan taksonomi temelli akaroloji araştırmalarının disiplinler arası bir yaklaşım ile farklı ilgi alanlarından uzmanlar ile planlanması gerektiğini göstermektedir. Halkalama istasyonları, kuşlara zarar vermeden, konak ve parazit temelli izleme çalışmaları yapılabilmesine imkân vermektedir.

Teşekkür: Bu çalışmanın arazi çalışmaları Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün izni ile Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ornitoloji Merkezi'nden Yakup Sancar Barış, Kiraz Erciyas-Yavuz, Nizamettin Yavuz, Arif Cemal Özsemir ve Arzu Gürsoy Ergen'in katkıları ile gerçekleştirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde Heather Proctor ve Sergey Mironov tüy akarları ile ilgili kaynakları, bilgi ve gözlemlerini paylaşarak, Zafer Karaer, Abdullah Hasbenli ve Selami Candan ise bilimsel önerileri ile katkı sağlamıştır. Bu araştırma 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Temmuz 2014, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye'de sunulmuş ve çalışmanın özeti yayımlanmıştır.

Kaynaklar

- Aksın, N. (2007). *Freyana anatina* (Koch, 1844) feather mites (Acarina, Freyanoidea) recorded for the first time on wild ducks (Subfamily, Anatinae) in Turkey. *Acta parasitologica Turcica*, 31, 302-305.
- Aksın, N. (2010). Chewing lice and feather mites on wild partridges. *Indian Veterinary Journal*, 87, 940-941.
- Aksın, N. (2011). Feather mites (Acarina: Astigmata) on wild quail (*Coturnix coturnix*). *Indian Veterinary Journal*, 88, 69-70.
- Aksın, N., & Erdoğan, Z. (2005). *Pseudolichus solutocurtus* Dubinin, 1956 (Acarina, Pterolichoidea) and *Harpirhynchus* sp. (Acarina, Harpirhynchidae) Dubinin, 1957) species recorded for the first time on wild partridges in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(11), 49-56.
- Atyey, W.T., Braasch N.L. (1966). The feather mite genus *Proctophyllodes* (Sarcoptiformes: Proctophyllodidae), *Bulletin of the University of Nebraska State Museum*, 5, 1-354.
- Berthold, P. (1990). Spatiotemporal programs and genetics of orientation. *Experientia*, 46, 363-371.
- Blanco, G., Tella, J.L., Potti, J., & Baz, A. (2001). Feather mites on birds: costs of parasitism or conditional outcomes? *Journal of Avian Biology*, 32(3), 271-274.
- Clayton, D.H., & Walther, B.A. (1997). Collection and quantification of arthropod parasites of birds, Clayton D.H., Moore J., (eds.) *Host-Parasite Evolution: General Principles and Avian Models* (pp. 419-440). England, Oxford University Press., 488 pp.
- Dabert, J., & Mironov, S.V. (1999). Origin and evolution of feather mites (Astigmata). *Experimental and Applied Acarology*, 23, 437-454.
- Dik, B., Erciyas-Yavuz, K., & Per, E. (2017). Chewing lice (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera) on birds in the Kızılırmak delta, Turkey. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 168(1-3), 53-62.
- Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü. (2018). Türkiye Ulusal Halkalama Çalışmaları Raporu, Tarım ve Orman Bakanlığı, Ankara.
- Dubinin, V.B. (1951). Feather mites (Analgesoidea). Part I. Introduction to the study, *Fauna U.S.S.R. Arachnida*, 6, 1-363.

- Gaud, J., & Atyeo, W. T. (1996). Feather mites of the World (Acarina, Astigmata): the supraspecific taxa. *Annales du Musée Royal de l'Afrique Centrale, Sciences Zoologiques*, 277, 1-193.
- Gürler, A.T., Mironov, S.V., & Erciyas-Yavuz, K. (2013). Avian feather mites (Acari: Astigmata) of Samsun, Turkey. *Acarologia*, 53(1), 17-23.
- Kolarova, N.T. & Mitov, P.G. (2008). Feather mites of the Superfamily Analgoidea (Acari: Astigmata) from Passerines (Aves: Passeriformes) in South Dobrudzha, Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica, Suppl. 2*, 93-104.
- McClure, H.E. (1989). Occurrence of feather mites (Proctophylloidae) among birds of Ventura county lowlands. *California, Journal of Field Ornithology*, 60(4), 431-450.
- Mironov, S.V., & Fain, A. (2003). New species of the feather mite subfamily Pterodectinae (Astigmata: Proctophylloidae) from African passerines (Aves: Passeriformes). *Bulletin de la Société Royale Belge d'Entomologie*, 139, 75-91.
- Mironov, S.V., & Galloway, T.D. (2002). New feather mite taxa (Acari: Analgoidea) and mites collected from native and introduced birds of New Zealand. *Acarologia*, 42, 185-201.
- Mironov, S.V. (1996). Feather mites from passerines of the north-west of Russia. *Parasitologiya*, 30, 521-539.
- Mironov, S.V. (1999). Feather mites: general morphological adaptations, phylogeny and coevolutionary relationships with birds. *Ekologija*, 2, 57-66.
- O'Connor, B.M., (2009). Cohort Astigmatina. In: Krantz G.W., & Walter D.E. (Eds.). *A Manual of Acarology* (pp. 565-657) USA, Texas, Texas Tech. University Press., 816 pp.
- O'Connor, B.M. (1982a). Evolutionary ecology of astigmatid mites. *Annual Review of Entomology*, 27, 385-409.
- O'Connor, B.M. (1982b). Acari: Astigmata. In: Parker S.P (Ed.). *Synopsis and classification of living organisms* (146-169). USA, New York, McGraw-Hill Press., 1119 pp.
- Park C.K., Atyeo, W.T. (1971). A generic revision of the Pterodectinae, a new subfamily of feather mites (Sarcoptiformes: Analgoidea), *Bulletin of the University of Nebraska State Museum*, 9, 39-88
- Per, E., & Aktaş, M. (2018). The Monitoring of Feather mites (Acari, Astigmata) of the Warbler (Aves: Sylviidae) Species in the Kızılırmak Delta, Samsun, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 42, 394-401.
- Perez, T.M., & Atyeo, W.T. (1984). Site selection of feather and quill mites of Mexican parrots. In: *Acarology* (pp.563-570). Griffiths, D.A., & Bowman C.E. (Eds.). England, Chichester, VI. Ellis Horwood Ltd.
- Peters, H.S. (1933). External parasites collected from banded birds. *Bird-Banding*, 4, 68-75.
- Peterson, P.C. (1975). An analysis of host-parasite associations among feather mites (Acari: Analgoidea). *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America*, 9, 237-242.
- Proctor, H., & Owens, I. (2000). Mites and birds: diversity, parasitism and coevolution. *Tree*, 15(9), 358-364.
- Proctor, H.C. (2003). Feather Mites (Acari: Astigmata): Ecology, Behavior, and Evolution. *Annual Review of Entomology*, 48, 185-209.
- Rubtsov, G.A., & Yakimenko, V.V. (2012). The feather mite (Astigmata) fauna of some passerine birds (Passeriformes) in the South of. Western Siberia. *Entomological Review*, 92(9), 1020-1031.
- Santana, F.J. (1976). A review of the genus *Trouessartia*, *Journal of Medical Entomology Suppl.*, 1, 1-128
- Shoker, N.I., Tawfek, N.S., Ibrahim, M.H., & Osman, E.S. (2001). Mites associated with some birds in El-Minia governorate, upper Egypt. *Egyptian Journal of Biology*, 3, 124-136.
- Walter, D.E., & Proctor, H.C. (1999). *Mites: Ecology, Evolution and Behaviour*. CABI Publishing, 352pp.
- Watson, G.E., & Amerson, A.B. (1967). Instructions for Collecting Bird Parasites. *Smithsonian Institution Information*, 477, 1-12.

Redescription of *Harpactea christodeltshevi* Bayram, Kunt & Yağmur, 2009 (Araneae, Dysderidae) from Turkey

Recep Sulhi ÖZKÜTÜK^{1*}, Ersen Aydın YAĞMUR², Kadir Boğaç KUNT^{1,3}, Nergis KARADUMAN¹,

¹Department of Biology, Faculty of Science, Eskişehir Technical University, TR- 26470 Eskişehir, Turkey

²Alaşehir Vocational School, Celal Bayar University, TR-45600 Alaşehir, Manisa, Turkey

³Cyprus Wildlife Research Institute, Taşkent, Kyrenia, Cyprus

ORCID ID: Recep Sulhi ÖZKÜTÜK: <https://orcid.org/0000-0001-5030-3008>; Ersen Aydın YAĞMUR: <https://orcid.org/0000-0002-0396-3975>;
Kadir Boğaç KUNT: <https://orcid.org/0000-0003-3137-5510>; Nergis KARADUMAN: <https://orcid.org/0000-0001-7175-5353>

Received: 04.09.2019

Accepted: 01.10.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: In this study, *Harpactea christodeltshevi* from the southeast Anatolia region of Turkey, is re-described. Some of the information about the body features of females which has not been known to date is given and pictures of female copulatory organ is also presented. *H. christodeltshevi* is in the *rubicunda* (D) group because of the structural features of the body and reproductive organs and its female copulatory organ is unique because of the spherical structure in the tip of the anterior spermatheca and sclerotized ring just under it. Additionally, it is debated that the species saved recently in Gaziantep, Turkey and recorded as *Stalagtia hercegovinensis* is actually *H. christodeltshevi*.

Keywords: Anatolia, Southeast Anatolia, Harpacteinae, spider.

Türkiye'den Bilinen *Harpactea christodeltshevi* Bayram, Kunt & Yağmur, 2009 (Araneae, Dysderidae)'nin yeniden betimlenmesi

Öz: Bu çalışmada Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu bölgesinden bilinen *Harpactea christodeltshevi* türünün yeniden betimlenmesi yapılmıştır. Türün daha önceden bilinmeyen dişisine ait bazı vücut özelliklerine dair bilgiler verilmiş ve ayrıca dişi üreme organının fotoğrafları da sunulmuştur. *H. christodeltshevi*, hem vücut hem de üreme organlarının yapısal özelliklerinden dolayı *rubicunda* (D) tür grubuna dâhil olup türün dişi üreme organı, ön spermatekasının ucunda yer alan küresel yapıya sahip ve hemen onun altında bulunan sklerotize yüzük dolayısıyla eşsizdir. Bunların yanı sıra, yakın geçmişte Türkiye'nin Gaziantep ilinde *Stalagtia hercegovinensis* olarak kaydedilen türün esasında *H. christodeltshevi* olduğu da tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Anadolu, Güneydoğu Anadolu, Harpacteinae, örümcek.

1. Giriş

Örümceklerin Dysderidae familyasına bağlı Harpacteinae alt familyasının yaşayan 181 tür (WSC, 2019) ile en kalabalık cinsi olan *Harpactea*, Türkiye'de 29 tür ile temsil edilmektedir (Danışman, Kunt, & Özkütük, 2019). Bu türlerin büyük çoğunluğunun dağılımları tip yerleri ile sınırlı iken bazıları nispeten daha geniş dağılım göstermektedirler. Örneğin bunlardan *H. babori*, Türkiye Trakya'sının doğu sahil şeridi, Yıldız Dağlarının geneli ve İstanbul'da; *H. sturanyi* ise Türkiye'nin batı iç ve sahil kesimlerinde dağılım göstermektedir (Kunt, 2019).

2000'li yılların sonunda, Bayram, Kunt ve Yağmur (2009) tarafından Adıyaman'ın Gerger ilçesinin 2 km batısında bulunan *H. christodeltshevi*, Türk araştırmacılar tarafından erkek eşey üzerinden betimlenen ilk *Harpactea* türüdür.

Bu kısa makalenin amacı *H. christodeltshevi* türünü yeniden betimlemektir. Makale içerisinde türün erkek ve dişi bireylere ait üreme organlarının fotoğrafları verilecek ve ayrıca ilk betimleme makalesinde yapılan bazı teknik yanlışlıklar düzeltilenektir.

2. Materyal ve Metot

Çalışmada değerlendirilen örnekler, Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesinde bulunan Adıyaman ve Gaziantep illerinden çukur tuzaklar vasıtasıyla

toplanmıştır (Şekil 1). Tür teşhisi Leica M125 marka stereomikroskop vasıtası ile yapılmıştır. Tanımlamada kullanılan vücut ölçümlerinde ve üreme organlarının kısımlarının isimlendirilmesi Chatzaki ve Arnedo (2006)'ya göre yapılmıştır. Metin içerisinde verilen tüm rakamsal birimler milimetre cinsindedir.

Kısaltmalar: AL, abdomen uzunluğu; CL, karapaks uzunluğu; CWmax, karapaksın maksimum genişliği; CWmin, karapaksın minimum genişliği; AME, anteriyör medyan gözler; PLE, posteriyör lateral gözler; PME, posteriyör medyan gözler; AMEd, anteriyör medyan gözlerin çapı; PLEd, posteriyör lateral gözlerin çapı; PMEd, posteriyör medyan gözlerin çapı; ChF, keliseral fangın uzunluğu; ChG, keliseral oyuğun uzunluğu; ChL, keliserlerin toplam uzunluğu; Ta, tarsus; Me, metatarsus; Ti, tibia; Pa, patella; Fe, femur; Tr, trochanter; C, koks; d, dorsal; pl, prolateral; rl, retrolateral; v, ventral.

3. Bulgular

Genus *Harpactea* Bristowe, 1939

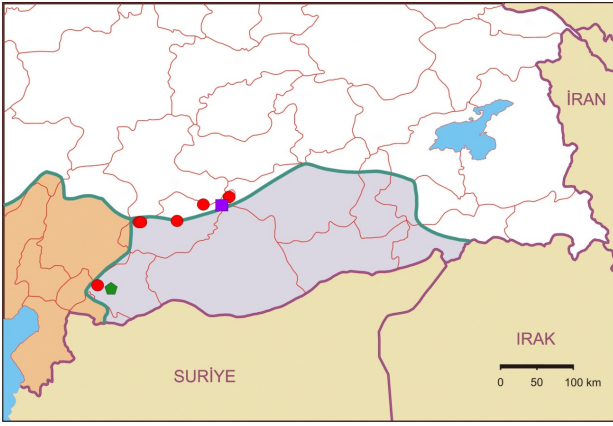
Harpactea christodeltshevi Bayram, Kunt & Yağmur, 2009 (Şekil 2-11)

H. christodeltshevi; Bayram, Kunt & Yağmur (2009): 1, Şekiller 1-9 (Betimleme ♂).

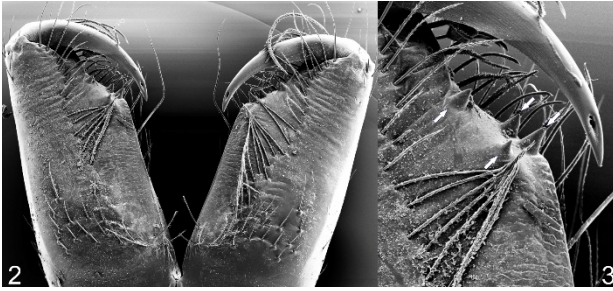
*Corresponding author: sozkutuk@gmail.com

S. hercegovinensis; Varol, 2016: 45, Şekiller 1A-B, 2A-B, 3A-B (Betimleme ♂, yanlış teşhis).

İncelenen örnekler: 10 ♂♂, 3 ♀♀, Gaziantep, Şehitkamil, Sofalıcı köyü (37° 7'36.00"K 37° 5'30.00"D) asl.c. 1200 m 23 Mart ↔ 15 Eylül 2016, leg. E. A. Yağmur; 9 ♂♂, 5 ♀♀, Adıyaman, Gölbaşı, Kapıdere köyü yol ayrımı, 6 km kuzeyi (37°53'8.00"K 37°43'5.00"D), çukur tuzak, 06 Nisan ↔ 21 Ağustos 2017, leg. E. A. Yağmur; 10 ♂♂, 2 ♀♀, Adıyaman, Gerger, Gönen köyü, 3 km kuzeyi (38° 3'44.00"K 39° 6'28.00"D), 05 Nisan 2017 ↔ 31 07 2018, leg. E. A. Yağmur; 4 ♂♂, 8 ♀♀, Adıyaman, Gölbaşı, Kapıdere köyü yol ayrımı, 6 km kuzeyi (37°53'8.00"K 37°43'5.00"D), 21 Ağustos 2017 ↔ 30 Haziran 2018, leg. E. A. Yağmur; Adıyaman, Sincik, Subaşı köyü, 1 km güneyi (38° 0'28.00"K 38°42'32.00"D), 22 Ağustos 2017 ↔ 31 Temmuz 2018, leg. E. A. Yağmur; 13 ♂♂, 1 ♀, Adıyaman, Palanlı köyü (37°50'4.00"K 38°18'56.00"D), 22 Ağustos 2017 ↔ 31 Temmuz 2018, leg. E. A. Yağmur.



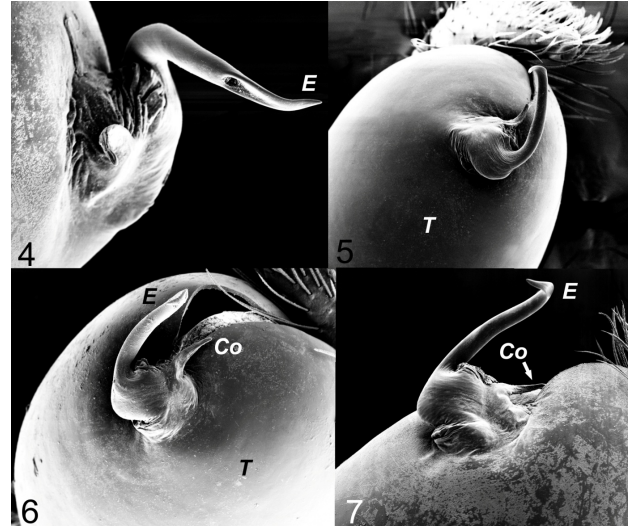
Şekil 1. *Harpactea christodeltshevi*'nin Güneydoğu Anadolu'daki dağılımı. Mor kare ■ tip yeri; Yeşil beşgen ■: Varol (2016); Kırmızı noktalar ●: Örnek toplanan yeni yerler.



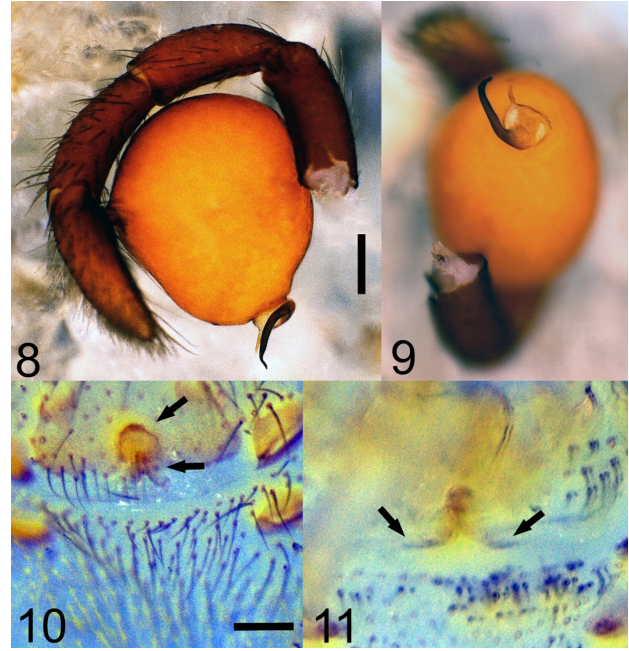
Şekil 2-3. Keliseral dişçikler. Şekil 3'de oklar dişçiklerin keliseral oyuktaki konumlarına işaret etmektedir.

Teşhis: *Harpactea christodeltshevi* tegulumunun yapısal özellikleri itibarıyla *H. martensi* Dunin, 1991 *H. mcheidzeae* Dunin, 1992 ve *H. spasskyi* Dunin, 1992 türleri ile yakınlık göstermektedir. Bununla beraber *H. christodeltshevi*, *H. martensi* ve *H. mcheidzeae*'den kondüktörünün varlığı; *H. spasskyi*'den ise kondüktörünün basit, kısa ve dikensi oluşu sebebi ile kesin bir şekilde ayrılmaktadır. *H. christodeltshevi*'nin dışısının farklılığı ise bahsi geçen türlerin dışilerinden yine vulvar özelliklerinden dolayıdır. Şöyle ki, *H. christodeltshevi*'de anteryör spermateka diğer türlerinkilere kıyasla son derece basittir. Distal krest ve spermatekanın distalinde yer alan genişlik birleşerek adeta bir küre görünümü kazanmıştır. *H. christodeltshevi* bu özelliği sebebi ile Yunanistan'dan bilinen *Harpactea krueperi* (Simon, 1884) ile yakınlık gösterse de, *H. krueperi*'de anteryör spermatekanın bazal transvers kısmı ve anteryör bazal

yay çok daha iyi gelişmiş ve ayrıca *H. christodeltshevi*'ninkilerden kesinlikle farklıdır (Bakınız: Le Peru (2011), sayfa 273, şekil, 418).



Şekil 4-7. *Harpactea christodeltshevi*, erkek üreme organına ait farklı açılardan çekilmiş SEM fotoğrafları E embolus Co kondüktör T tegulum



Şekil 8-11. *Harpactea christodeltshevi*. 8-9. Erkek üreme organına ait farklı açılardan çekilmiş stereomikroskop fotoğrafları. 10-11. Dişi üreme organı, dorsal görünüş. Şekil 10'da üstteki ok küre görünümündeki yapıya; alttaki ok sklerotize halkaya; Şekil 11'deki oklar ise anteryör spermatekanın basal transvers kısmına dikkat çekmektedir. Ölçüm çizgileri: 8: 0.25, 10: 0.075

Vücut Ölçümleri (Erkek / Dişi): AL 1.70-1.80 / 2.30-2.34 CL 1.70-1.80 / 1.52-1.55 CWmax 1.18-1.30 / 1.15-1.20 CWmin 0.50-0.70 / 0.60-0.78 AMEd 0.06-0.08 / 0.06-0.07 PLEd 0.07-0.08 / 0.06-0.09 PMed 0.07-0.08 / 0.07-0.08 ChF 0.30-0.41 / 0.28-0.36 ChG 0.14-0.18 / 0.12-0.20 ChL 0.27-0.38 / 0.14-0.44

Betimleme: Küçük ya da orta boylu harpactein örümceklere. Karapaks açık kahverengi. Fovea mevcut, belirgin ve düz. AME, PLE ve PME halkasal sıralanmışlar. AME'ler arasında çok hafif bir açıklık bulunmaktadır. Sternum, gnathokoksalar ve labyum sarımsı kahverengi; sternumun yüzeyi siyahımsı ince ve kısa tüylerle kaplı;

sternumun kenarında yer alan tüyler diğerlerine kıyasla daha uzun; keliserlerin ön yüzeylerinde siyahımsı, orta kısımlarından tüylerin çıktığı kabartılar bulunmakta; keliserel oyukta dört adet dişçik yer almaktadır.

Bacaklar karapaks ile aynı renkte, yüzeyleri siyahımsı ince tüycüklerle örtülü. Posteriyör yürüme

bacaklarının tarsus ve metatarsuslarında zayıf olmakla beraber skopula bulunmakta. Sayıları bireyler arasında değişmekle birlikte 3. patellalar ile 4. koksalar diken taşımaktadırlar. Bacak formülü: 4123 nadiren 4213. Ayrıntılı bacak dikenlenmesi ve ölçümleri için bakınız Tablo 1-4. Abdomen grimsi, açık kahverengi.

Tablo 1. *Harpactea christodeltshevi*, Bacak dikenlenmesi, erkek

Bacak	I	II	III	IV
C	0	0	0-1 rl	1 rl
Fe	0-3 pl	1-2 pl	1-4 pl 0-2 d 0-2 rl	0-2 pl 0-2 rl 0-4 d
Pa	0	0	1 pl	0
Ti	0	0	3 pl 2 rl 4-5 v	3-4 pl 2-3 rl 4-5 v
Me	0	0	2-3 pl 3-4 rl 3-4 v	3-5 pl 1-2 rl 3 v

Tablo 2. *Harpactea christodeltshevi*, Bacak dikenlenmesi, dişi

Bacak	I	II	III	IV
C	0	0	2 rl	1 rl
Fe	0-2 pl	2 pl	0	2 pl
Pa	0	0	1-2 pl	0
Ti	0	0	3 pl 0-3 rl 4 v	3-4 pl 3 rl 4-5 v
Me	0	0	3 pl 2-3 rl 3-4 v	3-5 pl 2 rl 3 v

Tablo 3. *Harpactea christodeltshevi*, Bacak kısımlarının uzunlukları, erkek

Bacak	C	Tr	Fe	Pa	Ti	Me	Ta
I	0.47/0.64	0.11/0.16	0.89/1.40	0.82/0.84	0.94/1.02	0.76/0.94	0.32/0.32
II	0.37/0.62	0.08/0.14	0.75/1.26	0.69/0.70	0.89/0.74	0.40/0.98	0.30/0.38
III	0.19/0.28	0.13/0.14	0.81/0.82	0.42/0.54	0.64/0.80	0.64/0.88	0.30/0.36
IV	0.37/0.38	0.12/0.14	0.97/1.40	0.42/0.76	0.96/1.20	1.12/1.21	0.40/0.40

Tablo 4. *Harpactea christodeltshevi*, Bacak kısımlarının uzunlukları, dişi

Bacak	C	Tr	Fe	Pa	Ti	Me	Ta
I	0.48/0.56	0.10/0.16	0.88/1.12	0.70/0.72	1.04/0.86	0.84/0.62	0.40/0.40
II	0.38/0.50	0.08/0.14	1.04/1.06	0.62/0.70	0.84/1.00	0.76/0.86	0.32/0.38
III	0.24/0.32	0.10/0.10	0.60/0.94	0.38/0.40	0.40/0.70	0.38/0.80	0.32/0.38
IV	0.28/0.44	0.12/0.18	1.32/1.44	0.54/0.68	1.04/1.20	1.24/1.40	0.40/0.44

Palp. Tegulum oval, şişkin. Embolus ve kondüktör tegulumun ucunda yer alan bir kaide kısmından köken almakta. Embolus kuvvetlice sklerotize olmuş, siyah. Tabanda daha kalın, uca doğru hafifçe incelmekte; ucu kıvrık. Kondüktör tegulum ile aynı renkte, kısa ve dikensi; çıplak gözle çok zor anlaşılma ile birlikte hilalimsidir.

Vulva. Genel olarak zayıf sklerotize olmuş, maserasyon sonrasında bile belli belirsiz seçilmekte. Distal krest ve spermatekanın distalinde yer alan genişlik, muhtemelen birleşerek küre görünümünde bir yapıya dönüşmüştür. Bu yapının, spermatekanın çubuğumsu kısmı ile birleştiği noktada yüzük şeklinde sklerotize bir bölge seçilmektedir. Spermatekanın çubuğumsu kısmının uzunluğu küresel yapı ile yaklaşık olarak aynı olup bu kısım posteriyöre doğru ters V şeklinde ayrılarak anteriyör spermatekanın bazal transvers kısmını oluşturmaktadır.

Not. *Harpactea christodeltshevi*; küresele yakın oval tegulumu, masif embolusu, 3. patellaları ile 4. koksalarının taşıdığı dikenlerden dolayı Deeleman-Reinhold (1993) tarafından tesis edilen *rubicunda* (D) tür grubuna dâhildir. Dişi bireylerin vulvalarında posteriyör divertikulum gözlemlenmemiştir. Muhtemelen çok küçük ve hassas olmalarından dolayı kesi esnasında zarar görmüşlerdir. Ancak dişi bireylerin bacak dikenlenmeleri, *rubicunda* (D) tür grubu ile uyum içerisinde (Bakınız: Tablo 2).

4. Tartışma

Bayram, Kunt ve Yağmur (2009), *Harpactea christodeltshevi*'nin erkeğini betimledikleri makalelerinde erkek üreme organı kısımlarından embolusu kondüktör,

kondüktörü ise embolus olarak yanlış vermişlerdir. *H. christodeltshevi*'nin erkek üreme organının distal uzantıları arasında "aksesuar apofiz" bulunmamaktadır. Oysa Bayram, Kunt ve Yağmur (2009), türün üreme organını betimleyen embolus ve kondüktörün köken aldığı geniş kaideyi "aksesuar apofiz" olarak değerlendirmişlerdir. Chatzaki ve Arnedo (2006), aksesuar apofizi şu şekilde tanımlamaktadırlar: "bazı türlerde görülebilen; embolus ve kondüktörün tersi istikametine yönelmiş apofiz". Bu tanım gereğince *H. christodeltshevi*'nin erkek üreme organında kesinlikle aksesuar apofiz yer almamaktadır. Metin içerisinde sunduğumuz SEM fotoğrafları da bunu ispatlar niteliktedir.

Bosna Hersek, Hırvatistan ve Güney Dalmaçya mağaralarında dağılım gösteren *Stalagtia hercegovinensis* (Nosek, 1905)'te genel olarak gözler tamamen ortadan kalkmıştır. Sadece istisnai olarak Bjelusica (Bosna-Hersek) ve Zaton (Hırvatistan) popülasyonlarında küçük gözlü bireylere rastlanmıştır (Deeleman-Reinhold, 1993). Bunun yanı sıra *S. hercegovinensis*'in her iki eşeyi de ön yürüme bacaklarında çok sayıda diken taşımaktadır ve erkek üreme organında embolusun boyu tegulumu hemen hemen eşittir. Teşhise yönelik olarak sıralanan bu özelliklerin hiç bir tanesi, Varol (2016) tarafından, *S. hercegovinensis* olarak Gaziantep'ten kaydedilen türde bulunmamaktadır. Dikkatli incelendiğinde, ilgili makalede, erkek üreme organı fotoğrafının *H. christodeltshevi*'ye ait olduğu görülmektedir (Bakınız: Varol (2016), sayfa 46, şekil 3B). Ayrıca Varol (2016)'nın örnekleme yerinin (Burç Ormanı, Şahinbey, Gaziantep) yakınındaki bir mesafeden (Sofalıcı Köyü), *H.*

christodeltshevi örneklediğimiz için; bu, iddiamıza ikinci bir ispat niteliğindedir.

Bu çalışma ile daha önce sadece erkeği bilinen *H. christodeltshevi*'nin dişi bireyi de betimlenmiş; ilk betimlemede yapılan bazı teknik hatalar düzeltilmiş, eksiklikler giderilmiş ve sadece tip yerinden bilinen türün dağılım alanı nispeten genişletilmiştir. Bunlara ek olarak da *S. hercegovinensis*, Türkiye Örümcekleri tür listesinden düşürülmüştür.

Kaynaklar

- Bayram, A., Kunt, K.B. & Yağmur, E. A. (2009). A new spider species of the genus *Harpactea* (Araneae: Dysderidae) from southeast Anatolian region of Turkey. *Turkish Journal of Arachnology*, 2(2), 1-4.
- Chatzaki, M., & Arnedo, M.A. (2006). Taxonomic revision of the epigeal representatives of the spider subfamily Harpacteinae (Araneae: Dysderidae) on the island of Crete. *Zootaxa*, 1169, 1-32.
- Danışman, T., Kunt, K.B., & Özkütük, R.S. (2019). The Checklist of the Spiders of Turkey. Retrieved from <http://www.spidersofturkey.info>
- Deeleman-Reinhold, C.L. (1993). The genus *Rhode* and the harpacteine genera *Stalagtia*, *Folkia*, *Minotauria*, and *Kaemis* (Araneae, Dysderidae) of Yugoslavia and Crete, with remarks on the genus *Harpactea*. *Revue Arachnologique*, 10, 105-135.
- Kunt, K.B. (2019). *Antalya ili Harpacteinae (Araneae, Dysderidae) faunası* (Yüksek Lisans Tezi), Eskişehir Teknik Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye.
- Le Peru, B. (2011). The spiders of Europe, a synthesis of data: Volume 1 Atypidae to Theridiidae. *Mémoires de la Société Linnéenne de Lyon*, 2, 1-522.
- Varol, M.İ. (2016). *Stalagtia hercegovinensis* (Nosek, 1905), a new record from Turkey (Araneae: Dysderidae). *Serket*, 15(1), 44-46.
- World Spider Catalog (2019). Natural History Museum Bern. Retrieved from <http://wsc.nmbe.ch>. doi: 10.24436/2.
-

Some Chemical and Biological Properties of *Verbascum tripolitanum* Growing in Hatay

Hatice DANAHALİLOĞLU^{1,*}, Yener TEKELİ², Yelda GÜZEL³

¹Chemistry Technology, Altınözü Agricultural Sciences Vocational School of Higher Education, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

²Faculty of Pharmacy, Adıyaman University, Adıyaman, Turkey

³Department of Biology, Faculty of Science and Letters, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

ORCID ID: Hatice DANAHALİLOĞLU: <https://orcid.org/0000-0002-5060-1205>; Yener TEKELİ: <https://orcid.org/0000-0003-1524-457X>; Yelda GÜZEL: <https://orcid.org/0000-0002-7975-3130>

Received: 30.07.2019

Accepted: 08.10.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: In this study, antioxidant and antimicrobial properties and fatty acid compositions of *Verbascum tripolitanum* were determined. Total phenolic contents were determined by Folin-Ciocalteu method. Antioxidant activity was tested with DPPH free radical scavenging assay, ferric ion reducing power (FRAP), cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC), and β -carotene-linoleic acid emulsion method. The antimicrobial effects of the *V. tripolitanum* were tested by the microdilution broth method against two gram-positive bacterias (*Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistant *S. aureus*), two gram-negative bacterias (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*), and one kind of yeast (*Candida albicans*). The fatty acid compositions were determined by GC-FID.

Keywords: *Verbascum tripolitanum*, antioxidant, antimicrobial, fatty acid.

Hatay'da Yetişen *Verbascum tripolitanum*'un Bazı Kimyasal ve Biyolojik Özellikleri

Öz: Bu çalışmada, Hatay bölgesinde yetişen *Verbascum tripolitanum*'un antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri, yağ asitleri içeriği belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile tayin edilmiştir. Antioksidan aktivite DPPH serbest radikal süpürme yöntemi, Fe³⁺ indirgeme metodu (FRAP), bakır iyonu indirgeme metodu (CUPRAC), ve β -karoten-linoleik asit emülsiyon yöntemleri ile test edilmiştir. *V. tripolitanum*'un antimikrobiyal etkisi 2 gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus*, metisiline dirençli *S. aureus*), 2 gram negatif bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) ve 1 maya türüne (*Candida albicans*) karşı mikrodilüsyon broth metodu ile analiz edilmiştir. Yağ asitleri analizi için GC-FID kullanılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Verbascum tripolitanum*, antioksidan, antimikrobiyal, yağ asitleri.

1. Giriş

Serbest radikaller lipidler, karbohidratlar, protein ve nükleik asitlerle etkileşerek hücre ve doku hasarının meydana gelmesine yol açarlar. Yapılan çalışmalarda serbest radikallerin birçok kanser türü başta olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, kronik ve dejeneratif hastalıkların gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir (Sarıkürkcü, Zengin, Aktümsek, Ceylan, & Şanda, 2015).

Fenolik bileşikler antioksidan aktivite dahil olmak üzere çeşitli biyolojik etkiye sahip olan ve bitkilerde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Meyvelerin, sebzelerin, tahılların ve diğer bitki materyallerinin ekstraktları fenolik bileşiklerce zengin olup lipidlerin oksidatif bozulmasını geciktirerek gıdanın kalitesini ve besin değerini artırır (Kahkönen et al. 1999). Bitkilerin antioksidan özellikleri sağlığın korunmasında, kanser, kalp ve damar hastalıklarının önlenmesindeki önemli rolü bilim insanları, gıda üreticileri ve tüketicilerin bu bitkilere olan ilgisini artırmaktadır. Sentetik antioksidan ve koruyucuların yerine kullanılacak, özellikle bitkisel materyallerden doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin elde edilmesi üzerinde yoğun bir ilgi oluşmuştur (Faydaoğlu & Sürücüoğlu, 2013).

Verbascum cinsine ait türler de, geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerdendir. Anadolu'da çok yaygın olarak yetişen *Verbascum* türleri halk arasında balgam söktürücü ve göğüs yumuşatıcı

olarak kullanılmaktadır. *Verbascum* türlerinin saponin, iridoid ve feniletanoid glikozitleri, monoterpen glikozitler, neolignan glikozitler, flavonoidler, steroidler ve spermin alkaloidler içerdiği belirlenmiştir (Tatlı & Akdemir, 2004). *Verbascum* türlerinin ekstraktları, dekoksion ve infüzyonları tüm dünyada ilk çağlardan beri geleneksel tıpta tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (Küpeli, Tatlı, Akdemir, & Yeşilada, 2007). Türk geleneksel tedavi yöntemlerinde de *Verbascum* çiçek ve yaprakları ekspektoran, mukolitik, sedatif, diüretik olarak ve bronşit, kuru öksürük, tüberküloz ve astım gibi solunum yolu hastalıklarında tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Kozan, Çankaya, Kahraman, Akkol, & Akdemir, 2011).

Bu çalışmada Hatay/Antakya Döver Köyü makilikten toplanan *V. tripolitanum*'un antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir. Antioksidan aktivite testlerinde BHA (Bütillenmiş hidroksianisol) BHT (Bütillenmiş hidroksitoluen) gibi sentetik antioksidan bileşikler karşılaştırma amacıyla kullanılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. *V. tripolitanum*

Çalışmada kullanılan *V. tripolitanum* bitkisi (Şekil 1) Mustafa Kemal Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Yelda GÜZEL tarafından Hatay/Antakya Döver Köyü makiliğinden toplanarak tanımlanmıştır.

*Corresponding author: hakaradeniz@gmail.com

2.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

2.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Toplam fenolik madde miktarı Folin metoduna göre belirlenmiştir (Blainski, Lopes, & Mello, 2013). *V. tripolitanum* ekstre çözeltisi (0.4 mg/ml, 0.25 ml), Folin reaktifi (%10'luk 1.25 ml) ve Na₂CO₃ çözeltisi (%10'luk 3.75 ml) karıştırıldıktan sonra karanlıkta 2 saat inkübe edilen çözeltilerin spektrofotometrede 765 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Aynı işlemler gallik asit (0.4-0.125 mg/ml) için de yapılmıştır. Sonuç 1 gram ekstredeki mg GAE (gallik asit eşdeğeri) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 1. *V. tripolitanum*. Fotoğraf, Doç. Dr. Yelda GÜZEL tarafından çekilmiştir.

2.2.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi

Radikal süpürme aktivitesi Brand, Williams, Cuvelier, & Berset, 1995 metoduna göre belirlenmiştir. *V. tripolitanum* ekstre çözeltilerinin (0.4-0.025 mg/ml, 1.25 ml) üzerine DPPH çözeltisi (6x10⁻⁵ M, 3.75 ml) ilave edildikten sonra karanlıkta 30 dakika bekletilerek spektrofotometrede 517 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Aynı işlemler karşılaştırma amacıyla kullanılan BHA ve BHT çözeltileri (0.4-0.025 mg/ml, 1.25 ml) için de yapılmıştır. % inhibisyon değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$I (\%) = (A_0 - A_{\text{numune}} / A_0) \times 100$$

2.2.3. Bakır İyonu İndirgeme Metodu (CUPRAC)

CuCl₂ (1ml, 1x10⁻² M), neokuproin (1 ml 7.5x10⁻³ M) ve amonyum asetat tamponu (1 ml) karıştırılarak toplam hacim 4.1 ml olacak şekilde x ml ekstre çözeltisi ve (1,1-x) ml su ilave edilmiştir. Aynı işlemler 1.0x10⁻³ M Troloks çözeltisi (50-250 µL) içeren tüplere de uygulanarak toplam hacim 4.1 ml olacak şekilde su ve reaktifler ilave edilmiştir. Yarım saat bekletildikten sonra reaktifleri içeren köre karşı 450 nm'de absorbanslar ölçülmüştür. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi örnek absorbansının Troloksun molar absorplama katsayısına ($\epsilon=1.67 \times 10^4$ L mol⁻¹cm⁻¹)

bölünmesi suretiyle hesaplanmıştır (Güçlü, Altun, Özyürek, Karademir, & Apak, 2006).

2.2.4. Fe İndirgeme Gücü (FRAP)

Bu yöntemde, antioksidanlar tarafından indirgenen Fe(CN)₆⁻³ Fe(CN)₆⁻⁴e dönüşür ve Fe³⁺ ile Fe[Fe(CN)₆]⁻ kompleksini oluşturur (Hou et al., 2012). *V. tripolitanum* ekstresinin çözeltisi (0.4-0.025 mg/ml, 2.5 ml), fosfat tamponu (0.2 M, 2.5 ml) ve potasyum ferrisiyonür çözeltisi (%1'lik 1 ml) karıştırılarak 20 dakika 50°'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra trikloroasetik asit çözeltisi (%10'luk, 2.5 ml) eklenerek santrifüj edilmiş (3000 rpm, 10 dakika), üst fazdan 2.5 ml alınarak 2.5 ml deiyonize su ve %1'lik FeCl₃ çözeltisi eklendikten sonra oluşan yeşil renkli çözeltilerin 700 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Standart olarak kullanılan askorbik asit ve karşılaştırma için BHA ve BHT kullanılmıştır (Oyaizu, 1986).

2.2.5. β- Karoten- Lineolik Asit Emülsiyon Yöntemi

β-karoten-linoleik asit emülsiyon çözeltisi hazırlamak için β- karoten (0.2 mg), kloroformda (1 ml) çözülerek linoleik asit çözeltisi (%60. 0.02 ml) ve Tween 40 (200 mg) ilave edilmiştir. Vakumda kloroform uzaklaştırıldıktan sonra deiyonize suda (100 ml oksijenle doyurulmuş) çözülmüştür. *V. tripolitanum* ekstre çözeltisine (2 mg/ml, 0.2 ml) 4.8 ml β-karoten-linoleik asit emülsiyon çözeltisi eklendikten sonra 470 nm'de absorbansı okunarak (A₀) 50°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bundan sonra 15 dakika aralıklarla 2 saat süresince absorbanslar okunmuştur (A_t). Bu absorbanslardan faydalanılarak absorbans değişim oranı (AO) ve % oksidasyonu engelleme katsayıları hesaplanmıştır. Kontrol çözeltisi olarak metanol, karşılaştırma çözeltisi olarak BHA ve BHT kullanılmıştır (Kaur & Kapoor, 2002).

$$\text{Absorbans değişim oranı (AO)} = \frac{\ln (A_0 / A_t)}{t}$$

A₀ = t₀ anındaki absorbans

A_t = tanındaki absorbans (t= 120 dk)

$$\% \text{ Oksidasyonu engelleme} = \frac{[AO_{(\text{kontrol})} - AO_{(\text{numune})}]}{AO_{(\text{kontrol})}} \times 100$$

2.3. Antimikrobiyal Aktivite Belirlenmesi

Kullanılan mikroorganizmalar Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarından temin edilmiştir.

V. tripolitanum'un antimikrobiyal etkisi mikrodilüsyon broth yöntemi ile minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri bulunarak test edilmiştir. Kullanılan mikroorganizmalar *S. aureus*, metisiline dirençli *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *C. albicans*'tır.

2.4. Yağ Asitleri Bileşiminin Analizi

2.4.1. Bitkilerden Yağ Ekstraksiyonu

20 gram bitki toz haline getirilerek sokslet kartuşuna alınmıştır. Hekzan ile 12 saat süresince sokslet ekstraksiyonu yapılmıştır. Evaporatörde vakumda hekzan uzaklaştırıldıktan sonra balonda kalan kısım *V.*

tripolitanum'un yağ asitlerini belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

2.4.2. Yağ Asitlerinin Esterleştirilmesi

0.2 g yağ üzerine metanollü NaOH çözeltisi (4 ml %2' lik) ilave edildikten sonra su banyosunda 10 dakika sabunlaşma oluncaya kadar kaynatılmıştır. Sabunlaşma sonunda BF₃-metanol kompleksi (5 ml %14'lük) eklenerek 5 dakika daha kaynatıldıktan sonra 2 ml n- heptan ilave edilmiştir. Tüm bunlar bir dakika daha kaynatıldıktan sonra, üzerine 4 ml doygun NaCl çözeltisi eklenmiştir. Ayırma hunisinde fazlar ayrıldıktan sonra üstteki açık sarı renkli faz yağ asitleri analizi için kullanılmıştır.

2.4.3. Yağ Asitleri Analizi

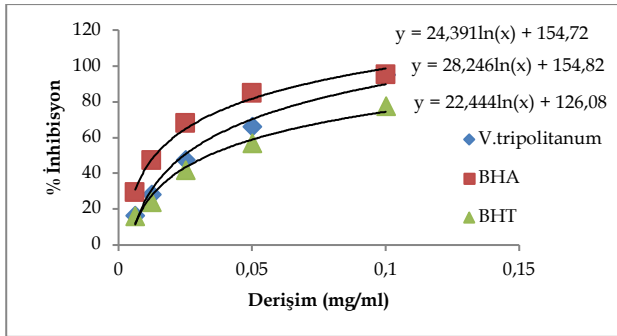
Analizler, Thermo marka, Focus GC model, FID (Flame Ion Dedector) dedektörlü GC (Gaz Kromatografi) ile gerçekleştirilmiştir. Analizlerde 30 m'lik DB-WAX kolon kullanılmıştır. Dedektör sıcaklığı 280 °C ve injektör bloğu sıcaklığı 250 °C olarak ayarlanmıştır. Kolona sıcaklık programı uygulanmıştır. 90 °C'de 2 dakika bekledikten sonra 10 °C/dk artışla 200 °C'ye, bu sıcaklıktan 3 °C/dk artışla 230 °C'ye çıkılarak 12 dakika beklenmiştir. Split oranı 1/50 ve injeksiyon hacmi 1 µL olarak ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz hidrojen olup basınç 65 kPa olarak ayarlanmıştır.

3. Sonuçlar ve Tartışma

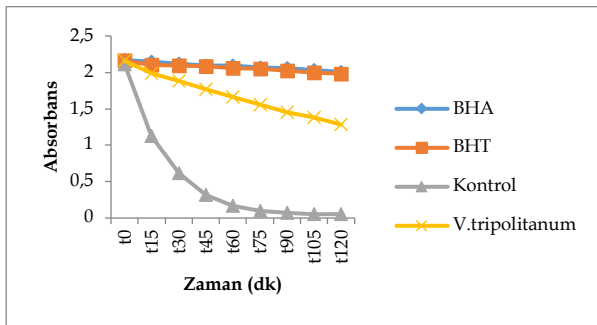
3.1. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

Tablo 1. Antioksidan analiz sonuçları

	Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu mg GAE/ g ekstre	Radikal Süpürme Etkisi IC ₅₀ (µg/mL)	CUPRAC µmol Troloks/g ekstre	FRAP Değeri	%İnhibisyon
BHA	-	13.6±0.8	8.72±0.76	0.59±0.02	97.67±0.48
BHT	-	33.8±5.0	8.34±0.39	0.53±0.02	97.05±0.81
<i>V. tripolitanum</i>	316.3±19.3	33.8±1.6	3.86±0.33	0.44±0.04	86.64±0.77



Şekil 2. *V. tripolitanum* DPPH metodu % inhibisyon-derişim grafiği



Şekil 3. *V. tripolitanum*'a ait zamana karşı absorban değışimi

Çoğu bitkide antioksidan aktivite ile fenolik bileşikler doğrusal ilişkilidir ve lipid peroksidasyonunu engellemede bu bileşiklerin önemli rolü vardır (Gülçin, 2005; Yamaguchi, Takamura, Matoba & Terao, 1998). Tablo 1'de görüldüğü gibi *V. tripolitanum*'un fenolik madde miktarı 316.3 mg GAE/g ekstre olarak belirlenmiştir. *V. oreophilum* bitkisinin su ve etanol ekstraktlarının toplam fenolik içeriklerini sırasıyla 48.6 ve 97.1 µg GAE/mg ekstrakt olarak bildirilmiştir (Gülçin, Köksal, Elmastaş & Aboul-Enein, 2007). *V. cheiranthifolium* türünün kök ve yapraklarının su ekstraktlarının toplam fenolik içeriklerinin sırasıyla 20.2 ve 33.1 mg GAE/g bitki olduğu bildirilmiştir (Dalar & Konczak, 2012).

V. tripolitanum'a ait DPPH metodu % inhibisyon-derişim grafiği Şekil 2'de verilmiştir. Grafikten IC₅₀ değerleri hesaplanarak Tablo 1'de verilmiştir. IC₅₀ değerinin küçük olması antioksidan etkinin güçlü olduğunu göstermektedir. Tablo 1'de görüldüğü gibi *V. tripolitanum*'un IC₅₀ değeri BHA' dan büyük fakat BHT'ye eşit olduğu tespit edilmiştir. Buna göre *V. tripolitanum*'un oldukça güçlü radikal süpürme etkiye sahip olduğu söylenebilir. *V. thapsus* türünün yaprak ve gövdesinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 100 ve 33.16 µg/mL (Kumar & Singh, 2011), *V. pinetorum* türünün IC₅₀ değerinin 13.04 mg/ml olduğu bildirilmiştir (Özcan, Esen, & Çalışkan 2011). *V. tripolitanum*'un FRAP ve CUPRAC değerlerinin BHA ve BHT'den düşük olduğu Tablo 1'den görülmektedir. Sonuçlar BHA>BHT> *V. tripolitanum* şeklindedir.

Linoleik asit oksidasyonunu engelleme metoduna ait absorban-zaman grafiği Şekil 3'te görülmektedir. % inhibisyon değerleri BHA>BHT>*V. tripolitanum* şeklinde olmasına rağmen *V. tripolitanum*'un güçlü oksidasyon engelleme kapasitesine sahip olduğu Tablo 1'de görülmektedir.

3.2. Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları

Çizilen derişim-absorbans grafiklerinde, absorbanın keskin bir düşüşle sabitlendiği ilk nokta *V. tripolitanum*'un kullanılan bakterilere ait MİK değerleri olarak kabul edilmiştir. MİK değerinin küçük olması antimikrobiyal etkinin yüksek olmasının göstergesidir (Kang, Hong, Youm, Choi, & Heo, 2008).

Tablo 2'deki MİK değerlerine bakıldığında *V. tripolitanum*'un kullanılan bakterilerin tümüne karşı etkiye sahip olduğu görülmektedir. *E. coli*, *S. aureus* ve MRSA'ya karşı 512 µg/mL derişimde aktivite göstermiştir. *C. albicans* ve *P. aeruginosa*'ya *V. tripolitanum*'un daha güçlü aktiviteye sahip olduğu ve MİK değerinin her iki bakteri türü için 256 µg/mL olduğu tespit edilmiştir. *Verbascum* türlerinin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Benli, Güney, Bingöl, Geven & Yiğit, 2007; Kahraman, Ekizoğlu, Kart, Akdemir & Tatlı 2011; Mothana et al., 2008).

3.3. Yağ Asitleri Analiz Sonuçları

Gaz kromatografisi ile yapılan yağ asitleri analiz sonuçları Tablo 3 'te verilmiştir. *V. tripolitanum* içeriğinde doymuş yağ asitlerinden miristik asit (14:0) %1.26, palmitik asit (16:0) %26.12, stearik asit (18:0) %6.07 olarak tespit edilmiştir. Doymamış yağ asitlerinden ise cis-10-

pentadekanoik asit (C15:1) %4.33, oleik asit (18:1n9c) %12.97, linoleik asit (18:2n6c) %18.04, linolenik asit (C18:3) %24.83, eikosatrienoik asit (C20:3) %3.93 düzeylerinde belirlenmiştir.

Tablo 2. *V. tripolitanum* MİK değerleri

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	MRSA	<i>C. albicans</i>
MİKdeğeri (µg/mL)	512	512	256	512	256

Tablo 3. *V. tripolitanum* yağ asidi kompozisyonu.

Yağ Asitleri	%	Yağ Asitleri	%	Yağ Asitleri	%
12:0	0.14	15:1	4.33	18:2n6t	18.04
14:0	1.26	16:1	0.27	18:3n6	24.83
15:0	0.22	17:1	0.236	20:2n6	5.723
16:0	26.12	18:1n9c	12.97	20:3n3	3.93
17:0	0.64	20:1n9	0.363	22:6n3	0.28
18:0	6.07	24:1	0.028		
Σ SFA = 34.44		Σ MUFA = 18.20		Σ PUFA = 47.08	
Σ USFA = 65.52					

ΣSFA: Doymuş yağ asidi, ΣMUFA: Tekli doymamış yağ asidi, ΣPUFA: Çoklu doymamış yağ asidi, ΣUSFA: Toplam doymamış yağ asidi

Teşekkür: Bu çalışmaya destek olan Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederiz (Proje no: 243).

Kaynaklar

- Benli, M., Güney, K., Bingöl, Ü., Geven, F., & Yiğit, N. (2007). Antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 6(15), 1774-1778.
- Blainski, A., Lopes, G.C., & Mello, J.C.P. (2013). Application and analysis of the Folin Ciocalteu Method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18, 6852-6865.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C.L.W.T. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Dalar, A., & Konczak, I. (2012). Botanicals from Eastern Anatolia Region of Turkey: Antioxidant capacity and phenolic constituents of endemic herbal medicines. *Journal of Herbal Medicine*, 2, 126-135.
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M.S. (2013). Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 233-265.
- Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S.E., & Apak, R. (2006). Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 76-85.
- Gülçin, İ. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56(7) 491-499
- Gülçin, İ., Köksal, E., Elmastaş, M., & Aboul-Enein, H.Y. (2007). Determination of *in vitro* antioxidant and radical scavenging activity of *Verbascum oreophilum* C. Koch Var. *Joannis* (Fam. Scrophulariaceae). *Research Journal of Biological Sciences*, 2(3), 372-382.
- Hou, W.C., Lin, R.D., Cheng, K.T., Hung, Y.T., Cho, C.H., Chen, C.H., Hwang, S.Y., & Lee, M.H. (2003). Free radical scavenging activity of Taiwanese native plants. *Phytomedicine*, 10, 170-175.
- Kahkönen, M., Hopia A., Vuorela H.J., Rauha J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kahraman, Ç., Ekizoğlu, M., Kart, D., Akdemir, Z.Ş., & Tatlı, İ. (2011). Antimicrobial activity of some *Verbascum* species growing in Turkey. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36, 11-15.
- Kang, C.H., Hong, C.R., Youm, H.S., Choi, S.I., & Heo, T.R. (2008). Growth inhibitory activities of siegesbeckia glabrescens against foodborne pathogens. *Journal of Biotechnology*, 136(1), 717-742.
- Kaur, C., & Kapoor, H.C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 153-161.
- Kozan, E., Çankaya, İ.T., Kahraman, Ç., Akkol, E.K., & Akdemir, Z. (2011). The *in vivo* anthelmintic efficacy of some *Verbascum* species growing in Turkey. *Experimental Parasitology*, 129, 211-214.
- Kumar, G.P., & Singh, S.B. (2011). Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extracts from Trans Himalayan medicinal plants. *European Journal of Applied Sciences*, 3(2), 53-57.
- Küpel, E., Tatlı, İ., Akdemir, Z., & Yeşilada, E. (2007). Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory and antinociceptive glycoterpenoids from the flowers of *Verbascum lasianthum* Boiss. ex Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 444-450.
- Mothana, R.A., Abdo, S.A., Hasson, S., Althawab, F., Alaghbari, S.A., & Lindequist, U. (2010). Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of some Yemeni medicinal plants. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 7(3), 323-330.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307.
- Özcan, B., Esen, M., & Çalışkan, M. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of the various extracts of *Verbascum pincetorum* Boiss. O. Kuntze (Scrophulariaceae). *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15(8), 900-905.
- Sarıkürkcü, C., Zengin, G., Aktümsek, A., Ceylan, O., & Şanda, M.A. (2015). *Onopordum Anaticum* tohumlarının antioksidan aktiviteleri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 41, 89-96.
- Tatlı, İ., & Akdemir, Z. (2004). Chemical constituents of *Verbascum* L. Species. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29, 93-107.
- Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., & Terao, J. (1998). HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62(6), 1201-1204.

Determination of Pesticide-Induced Genotoxicity on Soybean (*Glycine max* L.)

Asuman DEVECİ ÖZKAN^{1*}, Özlem AKSOY²

¹ Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Sakarya University, Sakarya, 54300, Turkey

² Department of Biology, Faculty of Science and Literature, Kocaeli University, Kocaeli, 41380, Turkey

ORCID ID: Asuman DEVECİ ÖZKAN: <https://orcid.org/0000-0002-3248-4279>; Özlem AKSOY: <http://orcid.org/0000-0003-0969-5171>

Received: 04.09.2019

Accepted: 07.11.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: Pesticides are used in agriculture and cause side effects in plants and can be transported to products which we consume. Genotoxic chemical substances distributed to environment and higher plants such as *Glycine max* have been used as an indicator plants that show the genotoxic effects of environmental chemical pollutants. In this respect we investigated the potential genotoxic effect of three different pesticides (Pomarsol Forte WP 80 as a fungicide, Arrivo 25 EC as an insecticide, and The End EC as an herbicide) on *G. max* (*Glycine max* L.) for the first time. In order to determine the genotoxic effects of these pesticides on *G. max*. Median EC (effective concentration) determination analysis, RAPD-PCR (randomly amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction) assay and protein analysis were used. Our results indicated that The End as a herbicide had more inhibitory effects on *G. max* root growth compare to the other pesticides. 20 RAPD primers were used, eighteen primers gave stable results while 11 of them were polymorphic and 7 of them showed the same band profile. Percentage of polymorphism was found as 20%. Total protein content was significantly decreased by insecticide treatment but increased in herbicide treatment ($p < 0.05$). In conclusion these results suggest that these pesticides have genotoxic effects on *G. max* and the use of these chemicals must be reduced to avoid exposure to humans and the environment.

Keywords: cypermethrin, quinalofop-p-ethyl, RAPD-PCR, SDS-PAGE, thiram.

Pestisit-Kaynaklı Genotoksitenin Soya Fasulyesinde (*Glycine max* L.) Belirlenmesi

Öz: Pestisitler, tarımsal alanlarda yaygın olarak kullanılırken bitkilerde yan etkilere neden olmaktadır ve tükettiğimiz ürünlere de taşınabilmektedir. Genotoksik kimyasal maddeler çevreye yayılmaktadır ve *Glycine max* gibi yüksek yapılı bitkiler, kimyasal çevre kirlenmelerinin genotoksik etkilerini gösteren indikatör bitkiler olarak kullanılmaktadır. Bu bağlamda, mevcut çalışmada ilk kez üç farklı pestisit (fungisit olarak Pomarsol Forte WP 80, insektisit olarak Arrivo 25 EC ve herbisit olarak The End EC) potansiyel genotoksik etkisi soya fasulyesi (*Glycine max* L.) üzerinde araştırılmıştır. *G. max* üzerindeki genotoksik etkiyi belirlemek için ortalama etkili konsantrasyon (median EC), RAPD-PCR (rastgele amplifiye polimorfik DNA-polimeraz zincir reaksiyonu) ve protein analizleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar bir herbisit olarak The END pestisitinin diğerlerine göre *G. max* kök büyümesi üzerinde daha fazla inhibe edici etkisi olduğu saptanmıştır. 20 RAPD primeri kullanılmış; bunlardan 18 primer stabil sonuç verirken, 11 tanesi polimorfik ve 7 tanesi benzer bant profili göstermiştir. Polimorfizm yüzdesi, % 20 olarak bulunmuştur. Toplam protein içeriği insektisit muamelesi ile kontrol grubuna göre belirgin şekilde azalırken, herbisit muamelesi sonrası anlamlı olarak artmıştır ($p < 0.05$). Sonuç olarak elde edilen veriler bu pestisitlerin *G. max* üzerinde belirgin genotoksik etkilerinin olduğunu ve bu kimyasallara karşı insan ve çevresel maruziyetin atmasından dolayı kullanımdan kaçınılması gerektiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: cypermethrin, quinalofop-p-ethyl, RAPD-PCR, SDS-PAGE, thiram.

1. Introduction

Numerous pesticides are widely used in agriculture and their usage has become required; however, incorrect uses of these chemical substance causes side effects in plants (Aksoy, Dana, Sanal, & Aktaş, 2007). Pesticides are used in different combinations, at different growth times and storage stages to protect agricultural products from harmful organisms (such as fungi) and to obtain high quality products. Pesticides accumulated after processing in food can be transported to products such as baby food (Wang, Chang, Hwang, Turnbull, & Howard, 2000).

The dithiocarbamate derivative thiram (the active ingredient of Pomarsol Forte 80 WP) is widely used in agriculture to protect vegetables and prevent mold contamination Cypermethrin (the active ingredient of Arrivo 25 EC) is a synthetic pyrethroid used to protect the consumption of commercial agricultural land and household products from insects. Quinalofop-p-ethyl (active ingredient of The End) is a phenoxy herbicide used

for controlling weeds and in many agricultural lands like lentils (Villani, 1998).

The developments in industry and economy have caused the production of genotoxic chemical substances distributed to the environment which cause harmful effects and even death for human beings (Poli et al., 1999). Higher plants have been used as an indicator plants that show the genotoxic effects of environmental chemical pollutants (Angelis, McGuffie, Menke, & Schubert, 2000; Yıldız & Arıkan, 2008; Yıldız, Çiğerci, Konuk, Fidan, & Terzi, 2009).

Evaluating the genotoxic effect through the DNA is more useful because it produces the results in a short time and give precise results. The use of DNA-based techniques to detect changes in DNA sequences is becoming widespread. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) is a method that can be used in genotoxicity studies and changes in the RAPD band profile clearly indicate changes between treated and untreated groups

*Corresponding author: devci@sakarya.edu.tr

in DNA levels against genetic agents (Martins, Lopes, Brehm, & Ribeiro., 2005; Enan, 2006; Liu et al., 2007). In addition, the amount of DNA damage and mutations in bacteria, plants, and animals can be determined through genomic DNA by RAPD as a molecular marker technique (Atienzar, Conradi, Evenden, Jha, & Depledge, 1999). Thus, the genotoxic effect of toxic chemicals has been regarded to alter genomic template stability through the changes in RAPD band profile (Wang, Lu, & Shen, 2007; Cencki et al., 2010).

Our study is aimed to analyze the effect of pesticide pollution on the genetic material of *G. max* by use of the RAPD-PCR and to analyze the alterations in RAPD band profiles with respect to total protein levels and SDS-PAGE band profiles of whole seed proteins. *G. max* was used in this study as an experimental material as it is an important agricultural plant worldwide. We thought that obtained results may suggest a tolerable level of toxicity on *G. max* against to these pesticides which are used widely in agriculture.

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals

Pomarsol Forte WP 80 (thiram), [bis(dimethylthiocarbamoyl) disulfide] is a type of sulfur fungicide which is a 80% water-wettable powder produced by Bayer Company, Arrivo 25 EC (cypermethrin), [(RS)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (1RS)-cis-trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate] is a synthetic pyrethroid which is a 25% emulsifiable solution produced by Hektaş Company and The End EC (Quizalofop-p-ethyl), [Ethyl (2R)-2-[4-(6-chloroquinoxalin-2-yloxy)phenoxy]propionate] is a phenoxy herbicide which is a 5% emulsifiable solution by Agrogenal Company were used as pesticides in this study.

2.2. Determination of EC₅₀ and Treatment of *G. max* Seeds with Pesticides

G. max seeds (50 smiliar pieces) were germinated in distilled water for 24 h and treated with ten different concentrations of Pomarsol Forte WP 80 (0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32 and 0.64 M), Arrivo 25 EC (0.075, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2, 2.4, 4.8, 9.6, 19.2 ve 38.4 M) and The End (0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 ve 6.4 M) for 72 h to determine EC₅₀ (Effective concentration 50). The control group was only treated with distilled water. The root lengths were measured and T/C% was calculated after treatment for 72 h. After determination of EC₅₀ seeds of *G. max* were treated with EC₅₀ and 2xEC₅₀ concentrations for each pesticide. When the roots were 0.5 cm or higher, it was accepted as germinated.

2.3. Randomly Amplified Polymorphic DNA- Polymerase Chain Reaction (RAPD- PCR)

G. max roots were grinded in liquid nitrogen and DNA was isolated with DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). DNA concentration was measured at 260/280 nm using spectrophotometrically. Twenty primers (Table 1) were used in RAPD-PCR assay and optimized to Williams, Kubelik, Livak, Rafalski, and Tingey (1990). In order to determine the molecular weights of the RAPD-PCR amplicons 100-bp, DNA ladder was used. An UV imaging device was used to examine the RAPD-PCR band profile and the Vision WorksLS (Version 6.8) software was used to calculate the each amplicon size. Amplification products were scored as presence (1) or absence (0) and only strong bands were used for analysis. Genetic similarity coefficients between the treatment and untreated control groups were calculated according to Nei (1978)'s unbiased measure via POPGENE (version 1.31) software. Genomic template stability (GST) was estimated using the formula of "GST% = (1-a / n) X 100" (a: RAPD polymorphic bands, n: total bands of control).

Table 1. List of primers name (ID) and their nucleotide sequences used in the RAPD analysis

Number of primers	Name of primers	Sequences of primers (5' → 3')	Tm (°C)	Rate of GC %
1	AD1	GTTGCGATCC	32	60
2	AD2	GTGCTAACC	32	60
3	AD3	ACGCGCATGT	32	60
4	AD4	GACGCCACAC	34	70
5	AD5	CCAGCTTAGG	32	60
6	AD6	CCCCTACAC	34	70
7	AD7	GAGCGTCGAA	32	60
8	AD8	TGCGAGAGTC	32	60
9	AD9	CAGCCCAGAG	34	70
10	AD10	TCGCCGCAA	32	60
11	AD11	GGCACGTAAG	32	60
12	AD12	CCCAGTCACT	32	60
13	AD13	TCGGCGGTTT	34	70
14	AD14	CCATTCCCCA	32	60
15	AD15	ACAGGTGCGT	32	60
16	AD16	GGACGACAAG	32	60
17	AD17	CAGAGTCC	34	70
18	AD18	TCCGATGCTG	32	60
19	AD19	GTCGTTCCTG	32	60
20	AD20	AAAGGGGTCC	32	60

2.4. Protein Analysis

Seed storage total soluble protein isolation was done as described by Saraswati, Matoh, Phupaibul, Lumpkin, & Kobayashi (1993) after 72 h of incubation. Following protein extraction, the Bradford Assay method was used to analyze the concentrations of the total soluble proteins present in the seed (Bradford, 1976). The SDS-PAGE of total seed protein was done as described by Laemmli (1970). After SDS-PAGE performed, the gel was visualized using a photo imaging system and the dendrogram was generated by Visionworks (Version 6.8) software based on the presence or absence of polypeptide bands on the SDS-PAGE gel.

2.5. Statistical Analysis

The data obtained was statistically analyzed using SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). One-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used and p-values less than 0.05 are considered "statistically significant."

3. Results and Discussion

EC₅₀ values were determined ~0.08 M for Pomarsol Forte WP 80 fungicide, ~9.6 M for Arrivo 25 EC insecticide, and ~0.4 M for The End herbicide. Thus, experiments were done using 0.08 M (EC₅₀) and 0.16 M (2xEC₅₀) Pomarsol Forte WP 80 concentrations, 9.6 M (EC₅₀) and 19.2 M (2xEC₅₀) Arrivo 25 EC concentrations and 0.4 M (EC₅₀) and 0.8 M (2xEC₅₀) The End concentrations. It was indicated that The End herbicide had more inhibitory effects on *G. max* seedlings compare to the Pomarsol Forte WP 80 fungicide and Arrivo 25 EC insecticide.

The End herbicide, Pomarsol Forte WP 80 fungicide, and Arrivo 25 EC insecticide are widely used in *G. max* agricultural applications. The genotoxic effects of these

pesticides on *G. max* were investigated for the first time and their possible genotoxic effects were determined. Also studies involving possible genotoxic effects of pesticides on plants are limited to several plant species and need to be expanded.

In order to determine the genotoxic effects of different three pesticides, the RAPD analysis was used between treated and untreated groups with pesticides. Twenty primers (60–70% GC content) were used for evaluating the changes on genomic DNA. Eighteen primers gave stable results while 11 of them were polymorphic and 7 of them showed the same band profile. Additionally, 11 polymorphic RAPD primers showed differences (disappearance and/or appearance) in band profiles between pesticides treated and untreated groups (Fig. 1). Totally 55 bands of untreated group and 308 bands of treated groups were obtained ranged from 146 to 1077 bp. RAPD profile changes of treated and untreated groups were shown in Table 2 compared with their control groups. Value of polymorphisms P (%) was found 20%. It was suggested that the changes in RAPD profile as in Fig. 1, polymorphism was due to the loss and/or gain of the bands in pesticide treated groups compared to the control RAPD band profiles. Obtained results indicated that DNA damage may be serious in the *G. max* root cells after the treatment of these pesticides. When we consider the reasons for the loss or gain of the band causing polymorphism, it can be seen that these conditions may be due to breaks in DNA, modified bases, bulky adducts, DNA-protein cross-links or point mutations (Atienzar Venier, Jha, & Depledge, 2002; Wolf, Blust, & Backeljau, 2004). Appearance and disappearance of bands were found in our RAPD profiles in pesticide treated groups and it can be attributed to mutations and DNA damage on *G. max* (Atienzar & Jha, 2006).

Table 2. The number of bands in control and molecular sizes (base pair, bp) of disappearance (-) and/or appearance (+) of DNA bands for all primers of pesticide-treated germinated root tips of soybean using UVI soft image analyzer software.

Primers	Control	Pomarsol Forte WP 80		Arrivo 25 EC		The End EC	
		PX	P2X	AX	A2X	TX	T2X
AD-1	5	- 636 + 848; 471	636 848	0 1077; 848; 636; 351	0 1077; 848; 351	0 381; 906; 1077	0 381; 906; 1077
AD-3	5	- 0 + 0	0 0	0 825	0 825	0 0	0 0
AD-4	6	- 854 + 0	854 0	626 0	626 854	854 0	345; 420; 854 0
AD-5	3	- 0 + 0	0 0	0 325	0 325	0 0	0 0
AD-7	5	- 0 + 0	0 0	0 0	357; 488 0	0 396	0 396
AD-8	6	- 0 + 0	0 0	0 0	422 0	276 715; 833	276 715; 833
AD-10	5	- 0 + 0	0 0	325 0	252; 325 628	0 1264	0 0
AD-13	3	- 0 + 0	1086 0	0 0	0 447; 538	146 0	146 0
AD-15	7	- 0 + 0	0 0	418; 454 0	418; 454 0	0 0	0 0
AD-17	5	- 0 + 385	0 385	0 0	0 0	0 0	0 0
AD-20	5	- 0 + 0	0 769	252 0	252 0	248 0	248 0
Total	55	2 (-);3(+)	3 (-);3 (+)	6 (-);5(+)	7 (-);10(+)	4 (-);7(+)	6 (-);6(+)

*PX: 0.08 M, P2X: 0.16 M, AX: 9.6 M, A2X: 19.2 M, TX: 0.4 M and T2X: 0.8 M

Additionally, GTS values were calculated for each polymorphic 11 primers and shown in Table 3. The average highest decrease in GTS value (76.9%) was calculated in 19.2 M Arrivo 25 EC insecticide treatment and GTS values were decreased in all the highest pesticide treatment compared to the untreated control groups. DNA

damage, success in repair, and replication of DNA are related in GTS value. Our results showed that GTS values were decreased in all pesticide treatments compared to the untreated control groups. However we cannot say that it is related to the high DNA damage of pesticides because efficacy of DNA repair and DNA replication are

suppressed via the high level of DNA damage (Atienzar & Jha, 2006).

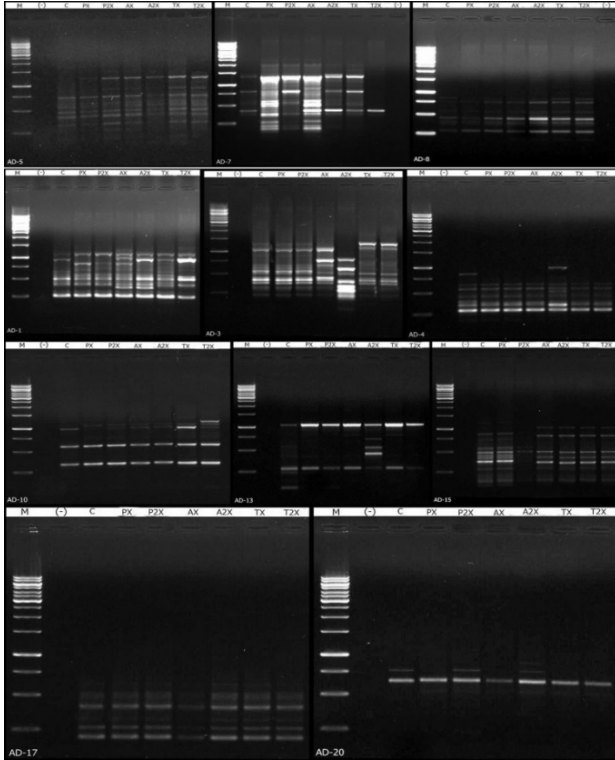


Figure 1. Polymorphic RAPD profiles of pesticide-treated germinated root tips of soybean generated using with primer AD-1, AD-3, AD-4, AD-5, AD-7, AD-8, AD-10, AD-13, AD-15, AD-17 and AD-20. [C: Control, PX: 0.08 M Pomarsol Forte 80 WP, P2X: 0.16 M Pomarsol Forte 80 WP, AX: 9.6 M Arrivo 25 EC, A2X: 19.2 M Arrivo 25 EC, TX: 0.4 M The End EC, T2X: 0.8 M The End EC, M: GeneRuler 100 bp plus DNA Ladder (100–3000 bp)].

The band profiles of *G. max* seeds exposed to different pesticides after SDS-PAGE were shown on Fig. 2. After the treatment of different pesticides, there is a statistically significant reduction in insecticide treatment but a significant increase in herbicide treatment in protein amount of *G. max* ($p < 0.05$) (Fig. 3). The dendrogram

obtained by the evaluation of all protein bands after SDS-PAGE analysis and the genetic distance values were shown on Fig. 4. SDS-PAGE analysis showed that there were changes in protein profiles between the different pesticide treatments groups compared to the untreated control group.

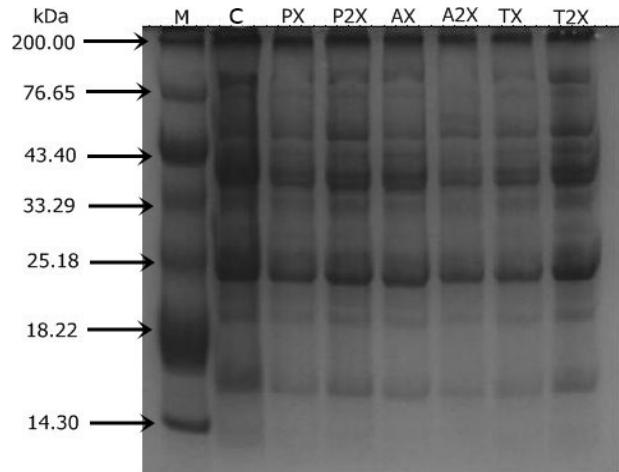


Figure 2. The band profiles of soybean seeds exposed to different pesticides after SDS-PAGE (M: Marker C: Control, PX: 0.08 M Pomarsol Forte 80 WP, P2X: 0.16 M Pomarsol Forte 80 WP, AX: 9.6 M Arrivo 25 EC, A2X: 19.2 M Arrivo 25 EC, TX: 0.4 M The End EC and T2X: 0.8 M The End EC)

It is known that total protein content of cells is an important indicator of various changes in metabolism and changes in response to various environmental pollutants (Singh & Tewari, 2003). It has been showed that various pesticides reduce total protein content in various organisms like *Brassica juncea* L. or *Aporrectodea caliginosa* (Singh & Tewari, 2003; Moshley, Ismail, & Ahmed, 2003). In this study, changes in total protein content of *G. max* roots treated with different pesticides showed an inverse relationship with the pesticide type and we thought that this change is a respond to these pesticides that were used.

Table 3. Genomic template stability (GTS, %) values.

Primers	Control	Pomarsol Forte 80 P		Arrivo 25 EC		The End EC	
		PX	P2X	AX	A2X	TX	T2X
AD-1	100	40.0	60.0	100	100	100	100
AD-3	100	100	100	80.0	100	100	100
AD-4	100	83.3	83.3	83.3	66.6	83.0	50.0
AD-5	100	100	100	66.6	66.6	100	100
AD-7	100	100	100	100	40.0	60.0	60.0
AD-8	100	100	100	100	83.3	50.0	50.0
AD-10	100	100	100	80.0	40.0	80.0	100
AD-13	100	100	66.6	100	100	83.3	83.3
AD-15	100	100	100	71.6	71.6	100	100
AD-17	100	80.0	80.0	100	100	100	100
AD-20	100	100	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0
Average	100	91.1	88.0	87.2	76.9	85.0	83.9

*PX: 0.08 M, P2X: 0.16 M, AX: 9.6 M, A2X: 19.2 M, TX: 0.4 M and T2X: 0.8

In conclusion, plants are directly exposed to pesticides as well as soil, water, and air. Moreover, pesticides are very reactive molecules and they can modify the cellular structures, especially DNA. The present finding supports the claim that these pesticides made a genetic modification on *G. max* seeds and roots. Pesticides have toxic effects on human and the environment, because they accumulate on plants and show toxic effects, exactly

resulting with DNA damage. Pesticides have a wide range of usage in different *G. max* and other plants on agricultural areas and these are discharged into the environment, plants, humans, and so into ground waters. Pesticides are very important due to the mutagenic effects on plants and humans. Therefore, the usage of pesticides should be considered carefully and reduced in order to decrease their exposure to humans and environment.

Further molecular studies are needed to evaluate the genotoxic effects of these chemicals.

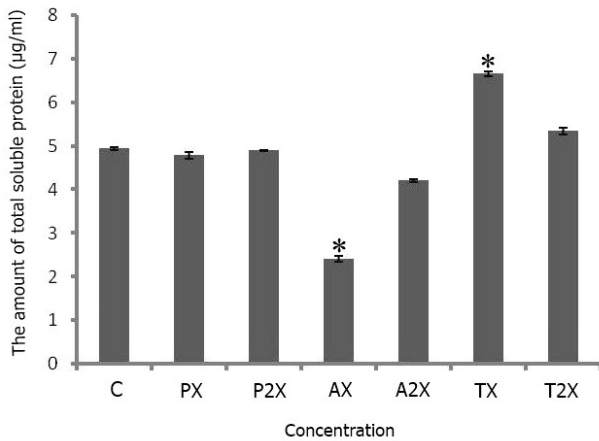


Figure 3. The effects of different pesticide applications on total protein amount in soybean seeds. The values are significantly different at $p < 0.05$ compared with the control group. (PX: 0.08 M Pomarsol Forte 80 WP, P2X: 0.16 M Pomarsol Forte 80 WP, AX: 9.6 M Arrivo 25 EC, A2X: 19.2 M Arrivo 25 EC, TX: 0.4 M The End EC, T2X: 0.8 M The End EC).

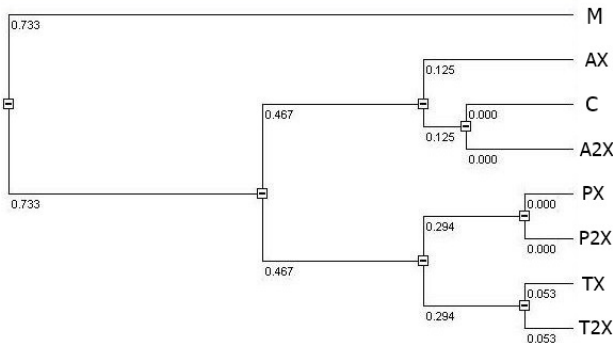


Figure 4. The dendrogram obtained by the evaluation of all protein bands after SDS-PAGE (M: Marker, C: Control, PX: 0.08 M Pomarsol Forte 80 WP, P2X: 0.16 M Pomarsol Forte 80 WP, AX: 9.6 M Arrivo 25 EC, A2X: 19.2 M Arrivo 25 EC, TX: 0.4 M The End EC, T2X: 0.8 M The End EC)

Acknowledgments: This study is supported by Kocaeli University Scientific Research Projects Coordination Unit. Project Number: 2011/43.

References

Aksoy, O., Dane, F., Sanal F.E., & Aktac, T. (2007). The effects of Fusilade (Fluazifop p-butyl) on germination, mitotic frequency and α -amylase activity of lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds. *Acta Physiologia Plantarum*, 29, 115-120.

Angelis K.J., McGuffie, M., Menke, M., & Schubert, I. (2000). Adaption to alkylation damage in DNA measured by the comet assay. *Environmental Molecular Mutagenesis*, 36, 146-150.

Atienzar, F.A., & Jha, A.N. (2006). The random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: a critical review. *Mutation Research*, 613, 76-102.

Atienzar, F.A., Conradi, M., Evenden, A., Jha A., & Depledge, M. (1999). Qualitative assessment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo(a)pyrene. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 2275-2282.

Atienzar, F.A., Venier, P., Jha, A.N., & Depledge M.H. (2002). Evaluation of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay for the detection of DNA damage and mutations. *Mutation Research*, 521, 151-163.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.

Cenkci, S., Cigerci, I.H., Yıldız, M., Ozay, C., Bozdağ A., & Terzi, H. (2010). Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. *Environmental Experimental Botany*, 67, 467-473.

Enan, M.R. (2006). Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to detect the genotoxic effect of heavy metals. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 43, 147-154.

Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-5.

Liu, W., Yang, Y. S., Zhou, Q., Xie, L., Li, P., & Sun, T. (2007). Impact assessment of cadmium contamination on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings at molecular and population levels using multiple biomarkers. *Chemosphere*, 67, 1155-1163.

Martins, N., Lopes, I., Brehm, A., & Ribeiro, R. (2005). Cytochrome B gene partial sequence and RAPD analysis of two *Daphnia longispina* lineages differing in their resistance to copper. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 74, 755-760.

Mosleh, Y.Y., Ismail, S.M., & Ahmed M.T. (2003). Comparative toxicity and biochemical responses of certain pesticides to the mature earthworm *Aporrectodea caliginosa* under laboratory conditions. *Environmental Toxicology*, 18, 338-346.

Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.

Poli, P., Buschini, A., Restivo, F.M., Ficarelli, A., Cassoni, F., Ferrero, I., & Rossi, C. (1999). Comet assay application in environmental monitoring: DNA damage in human leukocytes and plant cells in comparison with bacterial and yeast tests. *Mutagenesis*, 14, 547-556.

Saraswati, R., Matoh, T., Phupaibul, P., Lumpkin, T.A., & Kobayashi, M. (1993). Identification of *Sesbania* species from electrophoretic patterns of seed protein. *Tropical Agriculture (Trinidad)*, 70, 282-285.

Singh, P.K. & Tewari, R.K. (2003). Cadmium toxicity induced changes in plant water relations and oxidative metabolism of *Brassica juncea* L. plants. *Journal of Environmental Biology*, 24, 107-112.

Villani, P. (1998). The dithiocarbamate derivative thiram has currently widespread use as a contact fungicide for the protection of vegetable crops and for mould control in a variety of fields. *Food Chemical Toxicology*, 36, 155-164.

Wang, H., Chang, K.F., Hwang, S.F., Turnbull, G.D., & Howard, R.J. (2000). Effects of root inoculation and fungicide soil drenches on sclerotinia blight of coneflower. *Canadian Journal of Plant Science*, 80, 909-915.

Wang, J., Lu, Y., & Shen G. (2007). Combine defects of cadmium and butachloron soil enzyme activities and microbial community structure. *Environmental Geology*, 51, 1221-1228.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., & Tingey S.V., (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18, 6531-6535.

Wolf, H.D., Blust, R., & Backeljau, T. (2004). The use of RAPD in ecotoxicology. *Mutation Research*, 566, 249-262.

Yıldız, M., & Arkan, E.S. (2008). Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Caryologia*, 61, 45-52.

Yıldız, M., Cigerci, I. H., Konuk, M., Fidan, A.F. & Terzi, H. (2009). Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere*, 75, 934-938.

Assessment of Na⁺/K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase, and Total-ATPase Activities in Gills of Freshwater Mussels Exposed to Penconazole

Ertan YOLOĞLU

Department of Mathematics and Science Education, Faculty of Education, Adıyaman University, Adıyaman, Turkey

ORCID ID: Ertan YOLOĞLU: <https://orcid.org/0000-0002-9730-9471>

Received: 11.10.2019

Accepted: 18.11.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: Penconazole, a triazole fungicide, is widely used worldwide to increase agricultural production and to control fungus. Bivalves, especially mussels, are specific biomonitor organisms of pollution in aquatic ecosystems. This study deals with the possible toxic effects of exposure to penconazole on Na⁺/K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase, and Total-ATPase activities in the gills of freshwater mussels (*Unio mancus*). In this context, freshwater mussels were exposed to different concentrations of penconazole (1, 10, 100, and 1000 µg AI L⁻¹) in 96 hours static-renewal test system. The commercial form of penconazole (TOPAS® 100 EC, Syngenta, Germany) was used in toxicity tests. The actual penconazole concentrations in the exposure media were determined by LC-MS/MS analysis. According to the LC-MS/MS analysis results, the actual penconazole concentrations in the exposure media were determined to be approximately 25% lower than the nominal penconazole concentrations. After 96 hours of exposure, the highest concentration of penconazole caused significant inhibition of ATPase activities except Mg²⁺-ATPase activity (P < 0.05). The observed data indicated that acute penconazole exposure may be a potential risk for freshwater mussels and that ATPase enzymes are important and useful biochemical markers for aquatic toxicology studies.

Keywords: Penconazole toxicity, freshwater mussel, ATPases, LC-MS/MS.

Penkonazole Maruz Bırakılan Tatlı Su Midyelerinin Solungaç Na⁺/K⁺-ATPaz, Mg²⁺-ATPaz, Ca²⁺-ATPaz ve Total-ATPaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Öz: Triazol bir fungusit olan penkonazol, tarımsal üretimi arttırmak ve fungusları kontrol etmek için dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çift kabuklu yumuşakçalar, özellikle midyeler, sucul ekosistemlerde kirliliğin spesifik biyomonitor organizmalarıdır. Bu çalışmada tatlı su midyelerinin (*Unio mancus*) solungaç Na⁺/K⁺-ATPaz, Mg²⁺-ATPaz, Ca²⁺-ATPaz ve Total-ATPaz aktiviteleri üzerine penkonazol maruziyetinin olası toksik etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla, 96 saatlik statik yenileme test sisteminde tatlı su midyeleri farklı konsantrasyonlarda penkonazole (1, 10, 100 ve 1000 µg AI L⁻¹) maruz bırakılmıştır. Toksikite testlerinde penkonazolün ticari formu (TOPAS® 100 EC, Syngenta, Almanya) kullanılmıştır. Maruziyet ortamındaki gerçek penkonazol konsantrasyonları LC-MS/MS analizi ile belirlenmiştir. LC-MS/MS analizi sonuçlarına göre, maruziyet ortamındaki gerçek penkonazol konsantrasyonlarının, nominal penkonazol konsantrasyonlarından yaklaşık % 25 oranında daha düşük olduğu belirlenmiştir. 96 saatlik maruziyetten sonra, en yüksek penkonazol konsantrasyonu Mg²⁺-ATPaz hariç diğer ATPaz aktivitelerinin önemli düzeyde inhibisyonuna neden olmuştur (P < 0.05). Elde edilen veriler, akut penkonazol maruziyetinin tatlı su midyeleri için potansiyel bir risk olabileceğini ve ATPaz enzimlerinin akut toksikoloji çalışmaları için önemli ve faydalı biyokimyasal belirteçler olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Penkonazol toksisitesi, tatlı su midyesi, ATPazlar, LC-MS/MS.

1. Introduction

Pesticides significantly threaten both environment and human health due to their excessive use in agriculture (Chaabane et al., 2018). Penconazole, a triazole fungicide, is widely used worldwide to increase agricultural production and to control fungus (Lv et al., 2017; Aksakal & Ciltaş, 2018). Penconazole [1-(2,4-dichloro-b-propylphenethyl)-1H-1,2,4-triazole] acts by inhibiting the ergosterol biosynthesis of fungi (Zhang et al., 2019). This fungicide is normally applied by spraying directly to the plant (Chaabane et al., 2016). However, penconazole residues can reach to the soil, groundwater, and surface waters due to drifting, rain washing, and falling out. Therefore, it may adversely affect non-target organisms in both aquatic and terrestrial ecosystems (Husak, Mosiichuk, Storey, & Lushchak, 2017). In addition, high concentrations of triazole fungicides cause various toxic effects such as carcinogenicity, reproductive toxicity, and hepatotoxicity in mammals (Juberg, Mudra, Hazelton, & Parkinson, 2006; Peffer et al., 2007).

Bivalves which are commonly used as biomonitor organisms in ecotoxicological studies, play significant roles in organic matter recycling and control of phytoplankton levels (Iummato et al., 2018). Bivalves, especially mussels, have various characteristics such as a wide geographic distribution, sessile life, deep burrowing, accumulation of many types of pollutants, and a high tolerance for chemical pollution (Okay et al., 2016; Burgos-Aceves, & Faggio, 2017; Guidi et al., 2017; Savorelli et al., 2017; Sureda, Capó, Busquets-Cortés, & Tejada, 2018). They accumulate pollutants in the surrounding water due to their filter-feeding characteristics (Parisi et al., 2019). In the present study, the *Unio mancus* Lamarck, 1819 commonly found in the Atatürk Dam Lake was chosen as a biomonitor species.

Adenosine triphosphatases (ATPases) are potentially useful biochemical markers of pollution stress in aquatic organisms, as they are sensitive to the toxicity of organic pollutants such as pesticides and drugs (Pham, Miranda, Allinson, & Nugegoda, 2017). ATPases, which are

membrane-bound enzymes, have important roles in regulating membrane permeability and osmotic balance because they are responsible for ion transport (Kulac, Atli, & Canli, 2013). Alterations in ATPase levels are significant evidence for detecting the harmful effects of environmental pollutants. Furthermore, ATPase levels reflect disturbances in physiological processes that require these membrane-bound enzymes (Vijayavel, Gopalakrishnan, & Balasubramanian, 2007).

There are limited numbers of studies evaluating the effects of penconazole on aquatic organisms. In particular, there are no studies evaluating the effects of penconazole on ATPase activities in freshwater mussels. In this context, the main objective of this study is to evaluate ATPase activities in the gills of freshwater mussels exposed to commercial form of penconazole.

2. Material and Methods

2.1. Mussel collection

In March 2019, the freshwater mussel *U. mancus* samples were collected by a fisherman from Atatürk Dam Lake. The collected mussels were transferred to the laboratory within 1-2 hours in plastic containers filled with dam lake water. After the mussels were transferred to the laboratory, they were adapted to the laboratory for 14 days in a 50 L tank filled with bottled water. The mussels were fed ad libitum twice a week with a commercial concentrate phytoplankton (Roti-Rich™) during adaptation period. Both during the adaptation period and during the toxicity test, the tanks were continuously aerated and the mussels were kept at 14 ± 10 hours of light / dark cycle and 21 ± 1 °C.

2.2. Toxicity tests

After 14 days, mussels were divided into five test groups (one control group and four exposure groups) for toxicity testing. All test groups were set in three replicates and twelve mussels were used in each test group. Mussels were exposed to four nominal concentrations of penconazole (1, 10, 100, and 1000 $\mu\text{g AI L}^{-1}$) in the 96 h static renewal test system. The commercial form of penconazole (TOPAS® 100 EC, Syngenta, Germany) was used in toxicity tests. The active ingredient (AI) of this commercial form is labeled as 100 g L^{-1} . The legal limit value of penconazole in drinking and ground waters is 0.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (EU, 2006; EU, 2013; Nikolaou et al., 2017; IUPAC, 2019). In addition, the 96-hour LC50 value of penconazole for *Oncorhynchus mykiss* was determined as 1.13 mg L^{-1} by the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC, 2019). The nominal penconazole concentrations used in toxicity tests were determined based on these values. The gills were dissected at the end of toxicity tests and stored at -80 °C until the biochemical assays.

The conductivity, dissolved oxygen, temperature, and pH of the test waters were measured using a multi parameter instrument (YSI Pro Plus Multi-Parameter) at the beginning of the toxicity tests (0. hour). The mean values of the dissolved oxygen, conductivity, temperature, and pH were determined as 7.11 mg L^{-1} , 22.65 $\mu\text{S cm}^{-1}$, 16.9 °C, and 7.55, respectively.

2.3. Penconazole analysis

The actual penconazole concentrations in the exposure media were determined using a liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS, Shimadzu

Quadropole 8040) at Adiyaman University Central Research Laboratory. Each test water sample was analyzed in triplicate. The conditions of LC-MS/MS were presented in Table 1. The calibration curve constructed from the standards (Dr. Ehrenstorfer GmbH with 99.8% purity) for the calculation of actual penconazole concentrations was in the range of 1-50 $\mu\text{g L}^{-1}$. The limit of detection (LOD), the limit of quantification (LOQ), and the coefficient of determination (r^2) for penconazole were 0.05 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0.16 $\mu\text{g L}^{-1}$, and 0.998, respectively.

Table 1. LC-MS/MS conditions

Mobil phase A	1 mM ammonium formate in 100% water
Mobil phase B	100% methanol
Column	Inertsil ODS-4 (2.1 mm I.D. × 50 mm L., 3 μm)
Column oven temperature	40 °C
Flow rate	0.4 mL min^{-1}
Interface voltage	4.5 kV
Nebulizing gas flow rate	3 L min^{-1}
Drying gas flow rate	15 L min^{-1}
DL temperature	250 °C
Heat Block temperature	450 °C

2.4. Determination of ATPase Activities

The tissues were weighed and homogenized in 1:4 (w/v) ratio of 0.1 M K-phosphate buffer (pH 7.4) containing 0.15 M KCl, 1 mM EDTA, 1 mM DTT) using a Teflon-glass homogenizer (Heidolph RZR 2021). The homogenates were centrifuged at 16,000 × g for 20 min at 4°C (Hettich 460 R) and then, the supernatants were transferred to eppendorf tubes for measurements of ATPase activity and total protein concentration. All biochemical assays were performed using a microplate reader spectrophotometer (Thermo, Varioscans Flash 2000). Assays were run at 25°C in triplicate. The total protein concentrations of tissue samples were measured by Bradford (1976) method using bovine serum albumin as the standard.

The ATPase activities were determined according to a modified procedure of Atli and Canli (2011) for a microplate reader system. Incubation media (pH 7.7) containing 100 mM NaCl, 20 mM KCl, 4 mM MgCl_2 , 40 mM Tris-HCl, and 1 mM ouabain was used to measure Mg^{2+} -ATPase and Na^+/K^+ -ATPase activities. For Ca^{2+} -ATPase activity, incubation media (pH 7.7) containing 1 mM CaCl_2 , 4 mM MgCl_2 , 40 mM Tris-HCl, and 1 mM EGTA was used. To measure enzyme activities, 5 μL of supernatant and 60 μL of incubation medium were pipetted into the microplate wells and incubated at 37 °C for 5 minutes. After preincubation, the reaction was initiated by adding 10 μL of 3 mM Na_2ATP and incubated for 30 min at 37 °C. After incubation, the reaction was stopped by adding 35 μL of ice-cold distilled water (dH_2O). In addition, the ouabain-free media, supernatant and dH_2O were added to microplate wells to be used as ATP blank. The ouabain-free media, Na_2ATP and dH_2O were added to the microplate wells to be used as sample blank. These blanks were used to correct non-enzymatic hydrolysis of ATP. The inorganic phosphate (Pi) released from 3 mM ATP added as a substrate to the media during incubation was measured spectrophotometrically according to the method proposed by Atkinson et al.

(Atkinson, Gatenby, & Lowe, 1973). At the end of the reaction, 190 μL of the main reagent containing 5% polyoxyethylene 10 lauryl ether and 2% ammonium molybdate were pipetted into microplate wells. After 10 min incubation at room temperature, the absorbance was read at 390 nm. KH_2PO_4 (100–1000 μM) was used as the Pi standard.

Na^+/K^+ -ATPase activity was calculated using the difference between total-ATPase activity (ouabain-containing media) and Mg^{2+} -ATPase activity (ouabain-free media). The Ca^{2+} -ATPase and the Mg^{2+} -ATPase activity was calculated using the difference between the enzyme activities measured in the presence and absence of CaCl_2 and MgCl_2 , respectively. Enzyme activities were expressed as $\mu\text{mol Pi}/\text{mg protein}/\text{hour}$.

2.5. Data Analysis

All statistical tests performed with the software package SPSS 22 (USA). All data were presented as mean values \pm standard errors calculated on 12 samples. Using the Shapiro-Wilk and the Levene tests, all variables were analysed for normality and homogeneity, respectively. Kruskal-Wallis test was used to test the difference between the groups. If any significant differences were detected between the groups, Mann Whitney-U test was used to test the differences within the groups. $P < 0.05$ was considered statistically significant for all analysis.

3. Results and Discussion

3.1. Actual concentrations of penconazole

The actual penconazole concentrations in the exposure media obtained from LC-MS/MS analysis were depicted in Table 2. The actual concentrations were determined to be approximately 25% lower than the nominal concentrations. These differences between the nominal and actual concentrations may be due to other compounds such as surfactants, solvents, and preservatives used in commercial formulations of pesticides. In addition, insufficient water dissolution of pesticides could cause a difference between nominal and actual concentrations (Korkmaz, Güngördü, & Özmen, 2018). Furthermore, changes in pH, liquid formulations, and photolytic degradation of the active ingredient may also be related to these differences between nominal and actual concentrations (Vieira, Pérez, Acayaba, Raimundo, & dos Reis Martinez, 2018).

3.2. ATPase activities

As a result of the short-term exposure to penconazole, various fluctuations have been observed in the gill ATPase activities of freshwater mussels. The highest concentration of penconazole caused significant inhibition of ATPase activities except Mg^{2+} -ATPase activity ($P < 0.05$). The lowest Na^+/K^+ -ATPase, Mg^{2+} -ATPase, Ca^{2+} -ATPase, and Total-ATPase activities were determined at 1000 $\mu\text{g AI L}^{-1}$ as $15.15 \pm 1.26 \mu\text{mol Pi}/\text{mg protein}/\text{h}$, $31.80 \pm 1.90 \mu\text{mol Pi}/\text{mg protein}/\text{h}$, $41.95 \pm 3.85 \mu\text{mol Pi}/\text{mg protein}/\text{h}$, and $23.10 \pm 2.53 \mu\text{mol Pi}/\text{mg protein}/\text{h}$, respectively (Figures 1–4). In general, these inhibitions in ATPase activities may be the result of entering the energy economy during the hypometabolic state in order to maintain the viability of freshwater mussels (Balasundaram, Ramalingam, & Selvarajan, 1995). However, these alterations in ATPase activities may be considered as early warning signals of damage caused by environmental pollutants in the

osmoregulatory and acid-base regulatory system in the gills (Atli & Canli, 2011).

Table 2. Actual penconazole concentrations measured by LC-MS/MS in the exposure media (n=3)

Nominal concentrations ($\mu\text{g AI L}^{-1}$)	Actual concentrations ($\mu\text{g L}^{-1} \pm \text{SE}$)		
Control (0)	0	\pm	0
1	0.74	\pm	0.005
10	7.18	\pm	0.124
100	75.89	\pm	0.299
1000	785.30	\pm	16.994

According to the data of the present study, Na^+/K^+ -ATPase activity was inhibited by approximately 47% and 72% at 100 and 1000 $\mu\text{g AI L}^{-1}$ penconazole concentrations compared to the control group, respectively ($P_p < 0.05$) (Figure 1). Na^+/K^+ -ATPase is an ionic pump which is mainly involved in the maintenance of cell membrane potential and osmotic balance. It is well known that environmental chemicals usually affect the Na^+/K^+ -ATPase enzyme (Begum, 2011). In bivalve molluscs, Na^+/K^+ -ATPase has a significant role in regulating intracellular Na^+ concentration in response to different environmental conditions (Parisi et al. 2019). Because membrane fluidity allows membrane-bound proteins such as Na^+/K^+ -ATPase to function, changes in the lipid composition and structure of the membrane may cause a decrease in Na^+/K^+ -ATPase activity (Pałecz, Komuński, & Gabryelak, 2005). In addition, Yang et al. have suggested that increases or decreases in Na^+/K^+ -ATPase activity caused by xenobiotics may lead to adverse effects on organisms (Yang, Lu, Zhang, & He, 2002). These studies support the present findings.

Although penconazole exposure caused various fluctuations in Mg^{2+} -ATPase activity, these changes were not statistically significant ($P_p > 0.05$) (Figure 2). Mg^{2+} -ATPase provides the homeostasis of Mg^{2+} which is critical in various toxicological processes (David, Sangeetha, Harish, Shrinivas, & Naik, 2014). Mg^{2+} -ATPase is the most important factor associated with energy metabolism and inhibition of this enzyme results in degradation of oxidative phosphorylation. However, Mg^{2+} -ATPase has lower sensitivity to environmental chemicals than other ATPases (Dogan, Atli, & Canli, 2015). The observed decrease in Mg^{2+} -ATPase activity in pesticide exposure may lead to reduction of ATP production due to the enzyme's role in oxidative phosphorylation (Parvez, Sayeed, & Raisuddin, 2006). In addition, Begum (2009) suggested that non-significant inductions in renal Mg^{2+} -ATPase activity in *Clarias batrachus* species exposed to cypermethrine may be due to increased ATP production to cope with pesticide stress.

Gill Ca^{2+} -ATPase activity of freshwater mussels exposed to penconazole was observed to be suppressed by approximately 42% at the highest penconazole concentration compared to the control group (Figure 3) ($P < 0.05$). Ca^{2+} -ATPase, which is localized in sarcoplasmic reticulum tubules, is activated by Ca^{2+} ion which is necessary for the stabilization of cell membrane. This enzyme allows the removal of Ca^{2+} from the cytoplasm using energy released from ATP hydrolysis and thus, plays a role in the maintenance of low intracellular Ca^{2+} levels (Saxena, Zachariassen, & Jorgensen, 2000; Dogan et al., 2015). Ca^{2+} -ATPase is very important for the environmental pollution studies due to its importance in Ca^{2+} metabolism and its functional sulfhydryl groups

(Wong & Wong, 2000). Inhibition of Ca²⁺-ATPase may be associated with increased intracellular cytosolic Ca²⁺ due to oxygen radicals or tissue damage as a result of pesticide toxicity (Balasundaram et al., 1995). Free oxygen radicals cause disruption of Ca²⁺ homeostasis resulting in oxidative cell damage (Vijayavel et al., 2007).

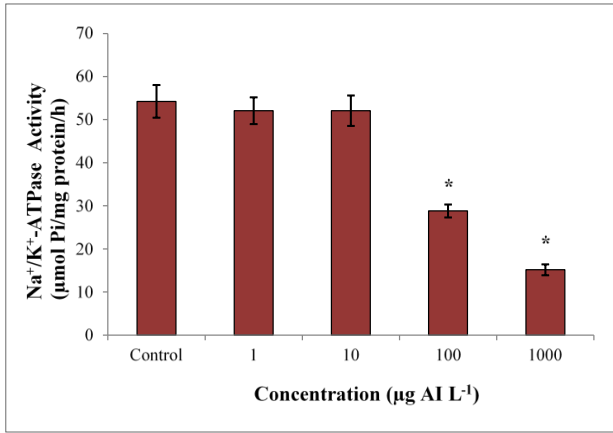


Figure 1. Alterations in Na⁺/K⁺-ATPase activity levels in gills of freshwater mussels after 96 h penconazole exposure (Na⁺/K⁺-ATPase activity expressed as µmol Pi/mg protein/h, n=12). *: P < 0.05 showed statistical importance compared with control group.

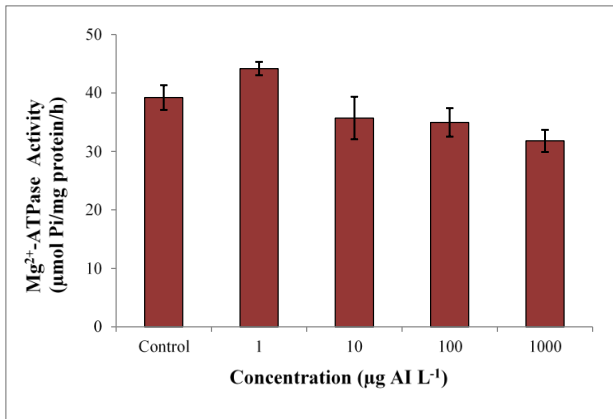


Figure 2. Alterations in Mg²⁺-ATPase activity levels in gills of freshwater mussels after 96 h penconazole exposure (Mg²⁺-ATPase activity expressed as µmol Pi/mg protein/h, n=12). *: P < 0.05 showed statistical importance compared with control group.

Data for total-ATPase activities in the gills analysed in the present study were displayed in Figure 4. According to the results, gill total-ATPase activities at 100 µg AI L⁻¹ and 1000 µg AI L⁻¹ penconazole concentrations were inhibited by approximately 45% and 55% compared to the control group, respectively (P < 0.05). Pesticides affect membrane-bound enzymes such as total-ATPase as they disrupt the structural and functional integrity of the cell membrane. The decrease in ATPase activity may be due to an allosteric change resulting from partitioning in the enzyme complex caused by aquatic pollutants (Pham et al., 2017). Furthermore, the decrease in enzyme activity may be related to the high affinity of pollutants such as pesticides and metals to the -SH groups (Atli & Canli, 2011). Previous studies with aquatic organisms also reported that pesticides cause suppression of total-ATPase activity. Comoglio et al. reported that methyl parathion inhibited total-ATPase activity in white leg shrimps (Comoglio et al., 2005). Similarly, another study reported that thiobencarb inhibits total-ATPase activity in some tissues of *Anguilla anguilla* (Sancho et al., 2003).

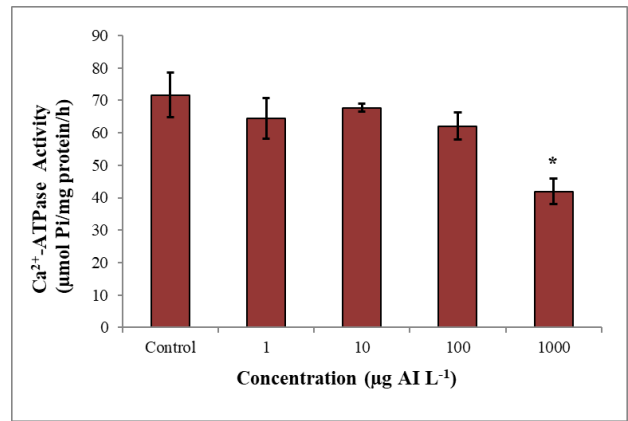


Figure 3. Alterations in Ca²⁺-ATPase activity levels in gills of freshwater mussels after 96 h penconazole exposure (Ca²⁺-ATPase activity expressed as µmol Pi/mg protein/h, n=12). *: P < 0.05 showed statistical importance compared with control group.

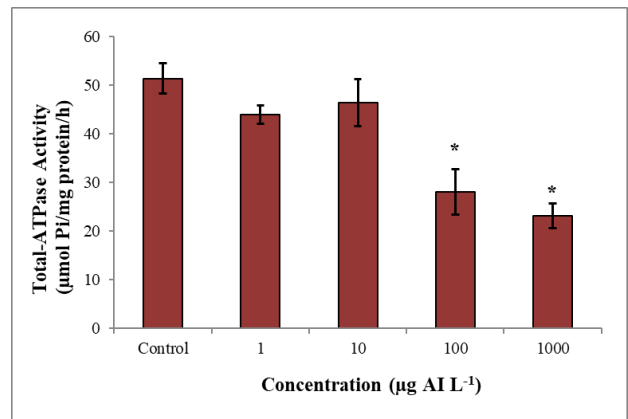


Figure 4. Alterations in total-ATPase activity levels in gills of freshwater mussels after 96 h penconazole exposure (Total-ATPase activity expressed as µmol Pi/mg protein/h, n=12). *: P < 0.05 showed statistical importance compared with control group.

4. Conclusion

In this study, toxic effects of acute penconazole exposure on gill ATPase activities in freshwater mussels were evaluated and it was clearly observed that the highest penconazole concentration caused significant suppression of ATPase activities. In addition, this study is more realistic in terms of environmental effects of penconazole, since the effects of the commercial form of penconazole, which are widely used in agricultural activities, were evaluated. In addition, the data obtained from this study is considered to be a basis for further studies, since there are no studies in the literature on the effects of penconazole on freshwater mussel ATPase activities. However, more detailed laboratory studies are needed to better understand the effects of penconazole on ATPase activities.

References

- Aksakal, F. I., & Ciltas, A. (2018). Developmental toxicity of penconazole in Zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Chemosphere*, 200, 8-15.
- Atkinson, A., Gatenby, A. D., & Lowe, A. G. (1973). The determination of inorganic orthophosphate in biological systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 320(1), 195-204.
- Atli, G., & Canli, M. (2011). Essential metal (Cu, Zn) exposures alter the activity of ATPases in gill, kidney and muscle of tilapia *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology*, 20(8), 1861-1869.
- Balasundaram, K., Ramalingam, K., & Selvarajan, V. R. (1995). Phosalone poisoning on the cation-linked ATPases of central nervous system of *Rana tigrina* (Daudin). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 111(3), 451-455.

- Begum, G. (2009). Enzymes as biomarkers of cypermethrin toxicity: response of *Clarias batrachus* tissues ATPase and glycogen phosphorylase as a function of exposure and recovery at sublethal level. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 19(1), 29-39.
- Begum, G. (2011). Organ-specific ATPase and phosphorylase enzyme activities in a food fish exposed to a carbamate insecticide and recovery response. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(1), 61-69.
- Bradford, M., M. (1976). A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Burgos-Aceves, M. A., & Faggio, C. (2017). An approach to the study of the immunity functions of bivalve haemocytes: physiology and molecular aspects. *Fish & Shellfish Immunology*, 67, 513-517.
- Chaabane, M., Elweji, A., Ghorbel, L., Chelly, S., Mnif, H., Boudawara, T., Chaabouni, E. S., Zeghal, N., & Soudani, N. (2018). Penconazole alters redox status, cholinergic function and lung's histoarchitecture of adult rats: Reversal effect of vitamin E. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, 645-652.
- Chaabane, M., Tir, M., Hamdi, S., Boudawara, O., Jamoussi, K., Boudawara, T., Ghorbel, R.E., Zeghal, N., & Soudani, N. (2016). Improvement of heart redox states contributes to the beneficial effects of selenium against penconazole-induced cardiotoxicity in adult rats. *Biological Trace Element Research*, 169, 261-270.
- Comoglio, L., Amin, O., Roque, A., Betancourt-Lozano, M., Anguas, D., & Haro, B. M. (2005). Evaluation of sublethal biomarkers in *Litopenaeus vannamei* on foodborne exposure to methyl parathion. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(1), 66-74.
- David, M., Sangeetha, J., Harish, E., Shrinivas, J., & Naik, V. (2014). Deltamethrin induced alteration in Na⁺-K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ associated ATPases activity in the freshwater fish *Cirrhinus mrigala*. *International Journal of Pure and Applied Zoology*, 2(2), 175-181.
- Dogan, Z., Atli, G., & Canli, M. (2015). Effects of lead on ATPases in tissues of freshwater fish (*Oreochromis niloticus*) in differing calcium levels. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15(2), 223-233.
- European Union (2006) Directive 2006/118/EC of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on the protection of groundwater against pollution and deterioration. Official Journal of the European Union, 27/12/2006, L372/19.
- European Union (2013). Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 Amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as Regards Priority Substances in the Field of Water Policy. Official Journal of the European Union, 24/8/2013, L226/1.
- Guidi, P., Bernardeschi, M., Scarcelli, V., Cantafora, E., Benedetti, M., Falleni, A., & Frenzilli, G. (2017). Lysosomal, genetic and chromosomal damage in haemocytes of the freshwater bivalve (*Unio pictorum*) exposed to polluted sediments from the River Cecina (Italy). *Chemistry and Ecology*, 33(6), 516-527.
- Husak, V.V., Mosiichuk, N.M., Storey, J.M., Storey, K.B., & Lushchak, V.I. (2017). Acute exposure to the penconazole-containing fungicide Topas partially augments antioxidant potential in goldfish tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 193, 1-8.
- Iummato, M. M., Sabatini, S. E., Cacciatore, L. C., Cochón, A. C., Cataldo, D., de Molina, M. D. C. R., & Juárez, Á. B. (2018). Biochemical responses of the golden mussel *Limnoperna fortunei* under dietary glyphosate exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163, 69-75.
- IUPAC, 2019. Environmental Fate - Ecotoxicology - Human Health - A to Z Index. Retrieved from <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/509.htm>.
- Juberg, D.R., Mudra, D.R., Hazelton, G.A., & Parkinson, A. (2006). The effect of fenbuconazole on cell proliferation and enzyme induction in the liver of female CD1 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 214, 178-187.
- Korkmaz, V., Güngördü, A., & Ozmen, M. (2018). Comparative evaluation of toxicological effects and recovery patterns in zebrafish (*Danio rerio*) after exposure to phosalone-based and cypermethrin-based pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 160, 265-272.
- Kulac, B., Atli, G., & Canli, M. (2013). Response of ATPases in the osmoregulatory tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus* exposed to copper in increased salinity. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39(2), 391-401.
- Lv, X., Pan, L.M., Wang, J.Y., Lu, L.P., Yan, W.L., Zhu, Y.Y., Xu, Y.W., Guo, M., & Zhuang, S.L. (2017). Effects of triazole fungicides on androgenic disruption and CYP3A4 enzyme activity. *Environmental Pollution*, 222, 504-512.
- Nikolaou, S., Efstathiou, P., Tiggiridou, M., Arabatzis, N., Piera, Y., & Aletrari, M. (2017). Monitoring of Pesticides in Drinking, Surface and Ground Water of Cyprus by Liquid-Liquid and Solid Phase Extraction in Combination with GC/MS and UPLC/MS/MS. *Journal of Water Resource and Protection*, 9(10), 1184-1198.
- Okay, O. S., Ozmen, M., Güngördü, A., Yılmaz, A., Yakan, S. D., Karacık, B., Tutak, B., & Schramm, K. W. (2016). Heavy metal pollution in sediments and mussels: assessment by using pollution indices and metallothionein levels. *Environmental Monitoring Assessment*, 188, 352.
- Palecz, D., Komuński, R., & Gabryelak, T. (2005). Na⁺/K⁺-ATPase activity as a biomarker of toxaphene toxicity in *Unio tumidus*. *Toxicology in Vitro*, 19(5), 707-712.
- Parisi, M. G., Maisano, M., Cappello, T., Oliva, S., Mauceri, A., Toubiana, M., & Cammarata, M. (2019). Responses of marine mussel *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae) after infection with the pathogen *Vibrio splendidus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 221, 1-9.
- Parvez, S., Sayeed, I. and Raisuddin, S. (2006). Decreased Gill ATPase Activities in the Freshwater Fish *Channa punctata* (Bloch) Exposed to a Diluted Paper Mill Effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65, 62-66.
- Peffer, R.C., Moggs, J.G., Pastoor, T., Currie, R.A., Wright, J., Milburn, G., Waechter, F., & Rusyn, I. (2007). Mouse liver effects of cyproconazole, a triazole fungicide: role of the constitutive androstane receptor. *Toxicological Sciences*, 99, 315-325.
- Pham, B., Miranda, A., Allinson, G., & Nugegoda, D. (2017). Evaluating the non-lethal effects of organophosphorous and carbamate insecticides on the yabby (*Cherax destructor*) using cholinesterase (AChE, BChE), Glutathione S-Transferase and ATPase as biomarkers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 143, 283-288.
- Sancho, E., Fernandez-Vega, C., Ferrando, M. D., & Andreu-Moliner, E. (2003). Eel ATPase activity as biomarker of thiobencarb exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56(3), 434-441.
- Savorelli, F., Manfra, L., Croppo, M., Tornambè, A., Palazzi, D., Canepa, S., Trentini, P. L., Cicero, A. M., & Faggio, C. (2017). Fitness evaluation of *Ruditapes philippinarum* exposed to Ni. *Biological Trace Element Research*, 177(2), 384-393.
- Saxena, T.B., Zachariassen, K.E., & Jorgensen, L. (2000). Effects of Ethoxyquin on the Blood Composition of Turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 127,1-9.
- Sureda, A., Capó, X., Busquets-Cortés, C., & Tejada, S. (2018). Acute exposure to sunscreen containing titanium induces an adaptive response and oxidative stress in *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 149, 58-63.
- Vieira, C. E. D., Pérez, M. R., Acayaba, R. D. A., Raimundo, C. C. M., & dos Reis Martinez, C. B. (2018). DNA damage and oxidative stress induced by imidacloprid exposure in different tissues of the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere*, 195, 125-134.
- Vijayavel, K., Gopalakrishnan, S., & Balasubramanian, M. P. (2007). Sublethal effect of silver and chromium in the green mussel *Perna viridis* with reference to alterations in oxygen uptake, filtration rate and membrane bound ATPase system as biomarkers. *Chemosphere*, 69(6), 979-986.
- Wong, C.K.C., & Wong, M.H. (2000). Morphological and Biochemical Changes in the Gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to Ambient Cadmium Exposure. *Aquatic Toxicology*, 48, 517-527.
- Yang, D., Lu, X., Zhang, W., & He, F. (2002). Biochemical changes in primary culture of skeletal muscle cells following dimethoate exposure. *Toxicology*, 174, 79.
- Zhang, X., Wang, X., Luo, F., Sheng, H., Zhou, L., Zhong, Q., Lou, Z., Sun, H., Yang, M., Cui, X., & Chen, Z. (2019). Application and enantioselective residue determination of chiral pesticide penconazole in grape, tea, aquatic vegetables and soil by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 172, 530-537.

Anatomy and Essential Oil Composition of *Salvia marashica* A. İlçim, F. Celep & Doğan

Ahmet İLÇİM^{1*}, İLHAN KAR², Şengül KARAMAN², Ahmet Zafer TEL^{3, 4}

¹Department of Biology, Faculty of Science and Letters, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey.

²Department of Biology, Faculty of Science and Letters, Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Kahramanmaraş, Turkey.

³Department of Biology, Faculty of Science and Letters, Adıyaman University, Adıyaman, Turkey.

⁴Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Iğdır University, Iğdır, Turkey.

ORCID ID: Ahmet İLÇİM: <http://orcid.org/0000-0001-8169-2472>; İlhan KAR: <http://orcid.org/0000-0003-4762-2109>; Şengül KARAMAN: <http://orcid.org/0000-0001-7617-9957>; Ahmet Zafer TEL: <http://orcid.org/0000-0002-1204-3839>

Received: 06.11.2019

Accepted: 28.11.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: The morphology, anatomy and essential oil components of the aerial parts of *Salvia marashica* an endemic species in Turkey, were studied. Some anatomical characters such as rectangular stem anatomy, exodermal structure, unifacial leaves, one large obvious vascular bundle in the center, and anatomic characteristics without small lateral bundles were observed. The chemical composition of essential oils obtained by hydrodistillation of *Salvia marashica* was investigated by GC and GC-MS. Seventy constituents, *a*-pinene (27.01%), β -Pinene (5.72%), Sabinene (5.26%), Limonene (17.09%), β -Caryophyllene (15.08), Terpinene (2.04) and 1, 8 cineole (7.87%) were obtained the essential oil extracted from the *Salvia marashica*.

Keywords: *Salvia*, GC \ MS, essential oil composition, morphology, anatomy.

Salvia marashica A. İlçim, F. Celep & Doğan Türünün Anatomisi ve Uçucu Yağ Bileşenleri

Öz: Türkiye'ye endemik bir tür olan *Salvia marashica*'nın morfolojisi, anatomisi ve uçucu yağ bileşenleri incelenmiştir. Dikdörtgen gövde anatomisi, ekzodermal yapı, unifasiyal yapraklar, belirgin büyük bir iletim demetinin varlığı ve küçük yanıl demetlerin olmadığı anatomik karakterler gözlenmiştir. *Salvia marashica*'nın hidrodistillenmesiyle elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi GC ve GC-MS ile araştırılmıştır. Yetmiş bileşen, *a*-pinen (%27.01), β -Pinen (%5.72), Sabinen (%5.26), Limonen (%17.09), β -Karyofillen (15.08), Terpinen (2.04) ve 1,8 sineol (%7.87) si *Salvia marashica*'nın esansiyel yağlarından elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Salvia*, GC \ MS, uçucu yağ bileşenleri, morfoloji, anatomi.

1. Giriş

Dünya çapında 900'ün üzerinde tür ile temsil edilen *Salvia* cinsi Lamiaceae familyasının en zengin üyesi olup dünyanın tropikal ve ılıman bölgelerinde yayılış göstermektedir (Özdemir & Şenel, 1999). *Salvia* cinsi için Asya kıtası önemli yayılış alanlarından biridir. Son çalışmalar neticesinde cinsin Türkiye'de sahip olduğu tür sayısı 97'ye ulaşmıştır. Bunlardan 51 tanesi endemiktir. Türkiye *Salvia* türleri bakımından oldukça zengin olup, deniz seviyesi ile 3350 m yükseklikler arasında yayılış gösterir (Vural & Adıgüzel, 1996). *Salvia* türlerinin ülkemize komşu ülkelerdeki dağılımı şöyledir; Rusya florasında 75, İran florasında 70, Avrupa florasında 36, Filistin florasında 21 ve İtalya florasında 18 tür bulunur.

Salvia cinsinin tıbbi özelliklerine ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığına ilişkin ilk kayıtlara eski çağlardan kalma mezar ve anıtların süslü yazı ve resimlerinde rastlanmaktadır (Nakipoğlu & Oğuz, 1990). Antik çağlardan bu yana tıbbi özellikleri ile bilinen *Salvia* bitkisinin toprak üstü kısımlarının infüzyonu ya da uçucu yağı soğuk algınlığı, öksürük, gingivitis, diş ağrısı, boğaz ağrısı, mide ve karın ağrıları, diyare, diyabet, yüksek tansiyon, romatizma ve cilt hastalıklarına karşı kullanılmaktadır. Aynı zamanda damar büzücü, balgam söktürücü ve teskin edici olarak da kullanılmaktadır (Nakipoğlu & Oğuz, 1990, Skoula, El-Hilali, & Makris, 1999, Özdemir & Şenel, 2001).

Salvia cinsine ait türler halk hekimliğinde yaygın bir şekilde kullanılmakta olup farmakognostik araştırmalar bu bitkilerin aktif bileşenlerini tanımlamayı amaçlamaktadır (Bayrak & Akgül, 1987). Bazı *Salvia* türleri gıda katkısı ve çay olarak da kullanılmaktadır (Chalcat, Michet, & Pasquier, 1998).

Literatürde *Salvia* türlerine ait birçok biyo-aktif maddeler rapor edilmiştir. *Salvia officinalis* L., antiseptik, astringent, spazm giderici gibi pek çok tıbbi kullanım alanını içeren uzun bir listeye sahiptir (Newall, Anderson, & Philipson, 1996). Ayrıca bazı *Salvia* türlerinin antikanser, anti-inflamatuar ve antibakteriyel özelliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (Ulubelen, Oksuz, Topcu, Goren, & Voelter, 2001; Perry, Houghton, Jenner, Keith, & Perry, 2002). *Salvia miltiorrhiza* Bunge kardiovasküler hastalıkların tedavisi için kullanılan iyi bilinen geleneksel bir Çin tıp bitkisidir (Chen, Yang, Shiao, Chen, & Lin, 2001; Zhou, Liu, Miao, & Wang, 2005).

Bazı *Salvia* türlerinin (*S. officinalis*, *S. lavandulifolia* Vahl., *S. miltiorrhiza*) depresyon, uykusuzluk ve hafıza düzensizlikleri üzerine yararlı etkileri bilinmektedir (Perry, Howes, Houghton, & Perry, 2000a; Perry, Houghton, Theobald, Jenner, & Perry, 2000b; Howes, Perry, & Houghton, 2003). Bazı çalışmalar Alzheimer hastalığının tedavisi ile ilgili olarak *Salvia lavandulifolia* kullanımını bilimsel olarak kanıtlamışlardır. Bu tedavilerin merkezinde bu bitkilerin uçucu yağlarının aktif maddeleri rol oynamaktadır (Perry et al., 2000a, 2000b;

*Corresponding author: ailcim@mku.edu.tr

Savelev, Okello, Perry, Wilkins, & Perry, 2003). Antibiyotiklerin keşfinden önce, *Salvia* türleri veremli hastalara bitkisel çaylar olarak veriliyordu ve kronik bronşidin tedavisi için bitkisel karışımlarda *Salvia* türleri önemli bir rol oynuyordu. *Salvia* türleri zihinsel tedavi, sinir bozuklukları, cinsel zayıflık, romatizma, ateşli hastalıklar, terleme gibi hastalıklarda tedavi edici ajanlar olarak kullanılmıştır (Watt & Breyer-Brandwijk, 1962; Baricevic & Bartol, 2000).

Bu çalışmada da Kahramanmaraş iline endemik, kolay elde edilebilen doğal bir antioksidan kaynağı olma, ayrıca eczacılık ve gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak kullanılabilme potansiyeline sahip *Salvia marashica* türünün morfoloji, anatomi ve uçucu yağ bileşenleri incelenerek bu konudaki çalışmalara katkı sağlamak amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Araştırmada kullanılan *Salvia marashica* türüne ait örnekler Nisan ayında Kahramanmaraş Ahırdağı'ndan toplanmıştır. Toplanan örneklerin bir kısmı anatomik ve morfolojik incelemeler için kullanılmış, bir kısmı ise güneş ışığı almayan alanda kurutularak uçucu yağ elde edilmesi için kullanılmıştır.

Anatomik çalışmalar için gövde ve yapraklardan örnekler 2-3 cm'lik küçük parçalar %70'lik alkolde tespit edilmiştir. Mikroskopik gözlemler için bitkinin belirtilen kısımlarından Parafin metodu (Algan, 1981) uygulanarak mikrotom yardımı ile alınan kesitler incelenmiş ve mikroskopta fotoğrafları çekilmiştir.

Uçucu yağ elde etmek için su distilasyon yöntemi (su buharı ile sürüklenme) kullanılmıştır. Elde edilen analizleri GC-MS kullanılarak yapılmıştır.

3. Bulgular

Türün morfolojik karakterleri türün ilk betiminin yayınlandığı makale ile uyum içerisinde (İlçim, Celep, & Doğan, 2009). Bitkiye zarar vermemek amacıyla kök anatomisi çalışılmamıştır. Yapılan anatomik çalışmalarda odunlaşmış gövdenin enine kesiti az çok dört köşeli olarak görülmektedir. En dışta çok tabakalı çeperleri kısmen süberleşmiş ekzodermis tabakası bulunur. Ekzodermis hücreleri kare, dikdörtgen ve ovale yakın olan hücrelerden oluşur. Ekzodermis üzerinde salgı ve basit tüyler bulunmaktadır. Gövde enine kollenkima destek dokusu çok belirgin bir şekilde gözlenmemesine rağmen köşelerden ara kısımlara doğru incelenerek uzanmaktadır. Kollenkima hücrelerinin şekilleri yuvarlağa yakın veya ovaldir. Korteks parankima hücreleri hemen hemen eşit büyüklüktedir. Hücre şekilleri köşeliden yuvarlağa ve ovale kadar değişmektedir. Sklerankima hücrelerinin oluşturduğu kümeler floem bölgesinde dağınık olarak gözlenmektedir. Floem tabakası hemen hemen kesintisiz bir şekilde ksilemi dış kısımdan sarar. İletim demeti konsantrik şeklinde gözlenmektedir. İletim elemanlarının altında çok geniş bir öz bölgesi yer alır. Öz bölgesi çeperleri ince çeperli merkezde parçalanmış hücrelerden oluşur (Şekil 1).

Yaprak enine kesitinde en dış kısmında kutikula tabakası belirgin şekilde gözlenmez. Mezofil palizat ve sünger parankimasi şeklinde farklılaşmıştır. Mezofil tipi unifasiyaldir. Bunlar dikdörtgen, yuvarlak ve ovale yakın şekillerdedirler. Üst epidermis hücreleri, alt epidermis hücrelerine nazaran daha büyüktür. Yaprığın hem üst

hem de alt epidermisinde çok sayıda salgı ve örtü tüyleri yer almaktadır (Şekil 2). Yaprığın her iki yüzeyinde (amfistomatik) stomalar yer alır.

3.1. Uçucu Yağ Bileşen Bulguları

Uçucu yağ çalışmaları yaprak ve çiçek eksenini olmak üzere ayrı ayrı çalışılmıştır. İki farklı numunenin toplam yüzde yağ miktarları sırasıyla: yaprak %0.28 Çiçek %0.54'tür. Toplanan *Salvia marashica*'nın uçucu yağı içerisinde 70 bileşen tespit edilmiş olup, bunların sadece %0.1'den yüksek olan bileşenler tabloya eklenmiştir.

Yağın içerisinde α -Pinen, β -Pinen, Sabinen, Limonen, E-karyofillen, Karyofillen okside, 1.8-Sineol, α -Terpineol'un yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır. Bileşenler numunelere göre farklılık göstermiş olup yaprakta en yüksek görülen bileşenler α -Pinen (%15.78), Limonen (%17.09) ve Karyofillen epoksid (%12.43)'dür. En düşük bileşenler Oktanol Asetat (%0.10), Germakren D (%0.12) ve β -Kopaen (%0.12)'dir.

Çiçekte görülen en yüksek bileşenler α -Pinen (%27.01) ve Karyofillen (%15.08)'dir. En düşük bileşenler α -Kubeben (%0.15) ve γ -Muuroolen (%0.15)'dir. Uçucu yağ analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

4. Tartışma

Türkiye gerek farklı iklim yapısına sahip olması, gerekse üç farklı gen merkezinin kesişim noktasında bulunmasından dolayı zengin bir floraya sahiptir. Bu zenginlik içerisinde tıbbi ve aromatik bitkilerin ayrı bir yeri vardır. Türkiye florasında bulunan türlerin yarısından fazlası endemiktir. *Salvia marashica*'da endemik türlerden biridir.

Metcalf ve Chalk (1972), familyanın tipik özelliğinin gövdenin dört köşeli olması ve köşelerde iyi gelişmiş bir kollenkima destek dokusunun bulunması olduğu vurgulanmıştır. Çalıştığımız örneklerde de gövdeler dört köşeli olup anatomik çalışmalarda kollenkima varlığı gözlenmiştir. Çobanoğlu (1988), *Salvia palaestina* gövdesinde primer ve skonder korteks sınırında sklerankima kümelerinin bulunduğunu belirtmiştir. Çobanoğlu, Özel ve Evren (1992), *Salvia trichoclada* türünün otsu gövdesinde trakeal elemanları çevreleyen sklerankima hücrelerinin varlığından bahsetmiştir. Özdemir ve Şenel (1999), *Salvia sclarea* gövdesinde floem bölgesi üzerinde belirgin sklerankima kümelerinin bulunduğunu belirtmiştir. Benzer oluşumlar *S. marashica* türünde de tespit edilmiştir.

Çobanoğlu (1988), *Salvia palaestina* gövdesinde kambiyum 2-3 sıra hücreden oluştuğunu belirtmiştir. Özdemir ve Şenel (1999), *Salvia sclarea* gövdesinde kambiyumun belirsiz olduğunu ifade etmişlerdir. Özdemir ve Şenel (2001), *Salvia forskahlei*'nin otsu gövdesinde kambiyumun 2-3 sıra hücreden, odunsu gövdesinde ise 2 sıra hücreden oluştuğunu belirtmişlerdir. Bizim örneğimizde ise kambiyum çok belirgin değildir (Şekil 1).

Yaprak enine kesitinde en dış kısmında kutikula tabakası belirgin şekilde gözlenmemiştir. Yaprak mezofil unifasiyal tipte olup, palizat ve sünger parankimasi tam olarak ayrılmamaktadır (Şekil 2).

Salvia marashica'nın toprak üstü kısımları kurutulduktan sonra su destilasyon yöntemiyle uçucu yağları elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ miktarı

yaprakta %0.28, çiçekten alınan örnekte %0.54 olarak saptanmıştır.

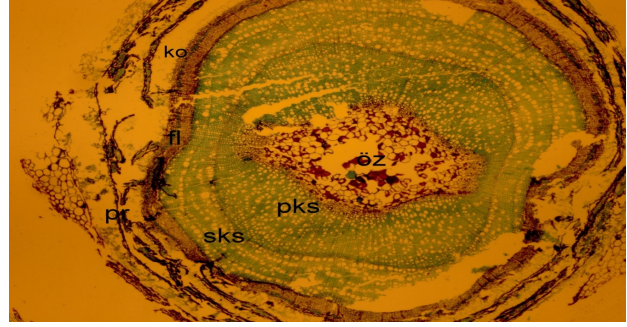
Tablo1. *Salvia marashica* türünün GC-MS sonuçları

No	Bileşik ismi	Yaprak		Çiçek	
		Çıkış zamanı	Oran	Çıkış zamanı	Oran
1	<i>a</i> -Pinen	11.25	15.78	11.26	27.01
2	Camphen	11.81	0.86	11.81	0.37
3	<i>β</i> -Pinen	12.20	3.59	12.20	5.72
4	Sabinen	12.36	3.88	12.36	5.26
5	Limonen	12.89	17.09	12.88	4.18
6	<i>β</i> -Osimen	-	-	13.14	0.79
7	Karen	13.14	0.68	-	-
8	<i>γ</i> -Terpinen	13.43	2.04	13.42	1.65
9	Terpinolen	13.81	0.37	13.81	0.33
10	1,8 sineol	13.92	7.87	13.98	2.56
11	Parasimen	14.40	0.64	14.39	0.50
12	Okten-3-ol	16.30	0.46	-	-
13	Osimen	-	-	15.39	0.07
14	<i>a</i> -Kubeben	-	-	15.65	0.15
15	<i>a</i> -Kopaen	-	-	16.28	0.35
16	<i>β</i> -Bourbenen	16.93	0.27	16.92	0.18
17	Octanol Asetat	17.04	0.10	-	-
18	Trans Sabinen Hidrat	17.42	0.63	17.42	0.73
19	Linalool	17.75	2.57	17.74	0.75
20	<i>γ</i> - Muurolen	-	-	18.11	0.15
21	Germakren D	18.10	0.12	20.17	1.04
22	Z- <i>β</i> -farnesen	-	-	18.31	1.23
23	<i>β</i> - Kopaene	18.10	0.12	-	-
24	Sesquisabinen	18.30	0.33	-	-
25	<i>β</i> -Karyofillen	18.76	2.90	18.79	15.08
26	Karen	18.88	0.81	-	-
27	Kamfolenal	19.11	0.51	-	-
28	Terpinen	19.45	3.11	19.45	2.62
29	Kadinen	-	-	19.60	0.58
30	İzopulegol	19.67	0.25	-	-
31	Humulen	19.80	0.86	19.80	2.14
32	Pinokarveol	20.20	0.50	-	-
33	Kamfor	20.46	2.47	20.45	0.87
34	Siklohekzen-1-metanol	20.57	9.27	-	-
35	Cis -Kalamen	-	-	21.55	0.32
36	Heksadekan	-	-	21.91	0.06
37	Kubebol	-	-	23.56	0.52
38	<i>a</i> -Sedren	-	-	23.88	0.19
39	Sklaren	-	-	25.32	0.15
40	Abietadien	-	-	-	-
41	<i>a</i> -Terpineol	-	-	-	-
42	Mirtenal	21.57	0.10	21.79	0.22
43	6,6 Dimetil	21.79	0.31	-	-
44	Trans-Karveol	22.11	0.38	22.11	0.27
45	Cis- Karveol	22.41	0.09	-	-
46	Karvone	22.57	0.08	-	-
47	Trans-p-mentha-2,8-dien-1-ol	22.90	0.20	-	-
48	Metilenebornan	23.76	0.04	-	-
49	Apriton	24.69	0.29	-	-
50	<i>a</i> -Kadinol	25.56	0.29	-	-
51	Karyofillen epoksidi II	25.82	12.43	-	-
52	Humulen epoksidi II	26.49	1.55	-	-
53	<i>β</i> -Ödesmol	27.38	0.66	-	-
54	Ent- kaurene	27.94	0.41	-	-
55	Dimetil	28.09	0.65	-	-
56	Akoradienol	28.32	0.19	-	-
57	Karyopillen okside	28.82	1.25	25.84	11.51
58	Simenol	-	-	26.27	0.34
59	Kriptomeridiol	-	-	27.39	0.83
60	Kauren	35.96	0.01	-	-
Toplam %			97.01		88.64

Eser ≤ 0.1; (-): Bileşen bu örnekte rastlanmadı

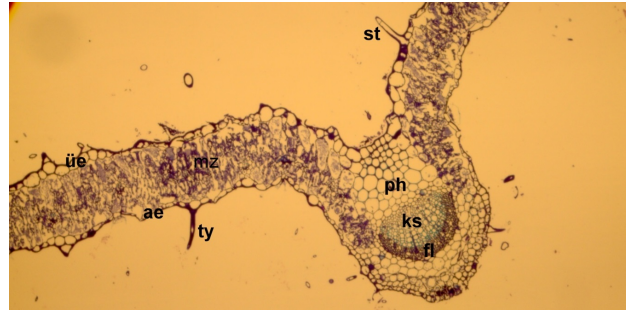
Uçucu yağ bileşenleri GC/MS cihazıyla tespit edilmiştir. 70 tane bileşen tespit edilmiştir. *α*-Pinen, *β*-Pinen, Sabinene, Limonen, E-Karyofillen, Karyofillen oksit, 1,8-Sineol, *α*-Terpineol'un yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır. Yapraklarda en yüksek görülen bileşenler *α*-Pinen (%15.78), Limonen (%17.09) ve Karyofillen epoksidi (%12.43)'dir. En düşük bileşenler Oktanol Asetat (%0.10), Germakren D (%0.12) ve *β*-Kopaen (%0.12)'dir. Çiçekte görülen en yüksek bileşenler

α-Pinen (%27.01) ve Karyofillen (%15.08)'dir. En düşük bileşenler *α*-Kubeben (%0.15) ve *γ*- Muurolen (%0.15)'dir.



Şekil 1. Gövde enine kesiti: pr: Periderma ko: korteks fl: floem pks: primer ksilem sks: sekonder ksilem öz: öz bölgesi

Bağcı ve Koçak (2007a), Elazığ ve civarında yetişen *Salvia ceratophylla* ve *Salvia aethiopsis*'in toprak üstü kısımlarının uçucu yağlarının analizini yapmışlardır. Elde edilen yağ verimi %0.4 ve %0.3 oranındadır. Yağların GC/MS cihazıyla yapılan kimyasal analizinde *Salvia ceratophylla*'da 84 ve *Salvia aethiopsis*'te 40 bileşen saptanmıştır. *Salvia ceratophylla*'da ana bileşenler olarak germakren D (%27.4), bisiklogermakren (%11.3) spatulenol (%10) saptanmışlardır. *Salvia aethiopsis*'te ise *a*-kopaen (%21.1), *β*-kubeben (%8.1) germakren D (%26.3), bisiklogermakren (%24.1) tespit etmişlerdir. Yaptığımız *Salvia marashica* uçucu yağ analizinde yağ verimimiz *Salvia ceratophylla* ve *Salvia aethiopsis* ile benzerdir ve 70 bileşen tespit edilmiştir. Uçucu yağ bileşenleri *Salvia marashica*'da monoterpenler bakımından zengin, *Salvia ceratophylla* ve *Salvia aethiopsis* ise seskiterpenler bakımından daha zengindir. *Salvia marashica*'nın uçucu yağında en yüksek tespit edilen bileşenleri *Salvia ceratophylla* ve *Salvia aethiopsis* ile karşılaştırdığımızda, *a*-Pinen (%27.01), Caryophyllen (%15.08), Limonen (%17.09) ve 1,8-cineol (%7.87)'dir. *Salvia ceratophylla* *α*-Pinen (%2), Caryophyllen (%1.1), Limonen (%0.6), ve 1,8-Sineol (%2.0)'dır.



Şekil 2. Yaprak enine kesiti: üe: üst epidermis ae: alt epidermis mz: mezofil dokusu st: salgı tüyü ty: basit tüy ks: ksilem fl: floem ph: parankima hücresi

Bağcı ve Koçak (2007b), Elazığ'dan toplanan iki *Salvia* L. (*Salvia palaestina* Bentham ve *S. tomentosa* Miller)'dan su destilasyonu ile elde edilen uçucu yağları GC ve GC-MS ile analiz edilmiştir. *Salvia palaestina*'da 60 ve *S. tomentosa*'da 71 bileşen tanımlanmıştır. *S. palaestina*'da ana bileşenler, *β*-karyofillen (%18), germakren D (%16.5), linalool L (%9.2), karyofillen oksit (%7.3), linalil asetat (%6), *a*-kopaen (%4.3), sklaerol (%6.6) ve spatulenol (%4.1), oysa *S. tomentosa*'da ise *a*-pinen (%33.7), germakren D (%7.5), *β*-pinen (%6.8), *a*-humulen (%6), veridiflorol (%3.8) ve *β*-pinen (%6.8) olduğu tespit edildi. Çalışma, incelenen *S. palaestina*'nın seskiterpen, *S. tomentosa*'nın ise hem monoterpen hem de seskiterpen bakımından zengin

olduğunu ortaya koymuştur. *S. marashica* ile yaptığımız çalışmada ise β -karyofillen (%15.08), germakren D (%1.04), karyofillen oksit (%11.51), linalool (%2.57), α -kopaen (%0.35), α -pinen (%27.01), β -pinen (%5.72), β -pinen (%17.09), Humulen (%2.14)'dür. Bizim çalışmamızda linalil asetat, viridiflorol ve tujen'e rastlanmamıştır.

Kelen ve Tepe (2008), endemik olan *Salvia aucheri* var. *aucheri*, *Salvia aramiensis* ve *Salvia pilifera*'nın uçucu yağ bileşenlerinin antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini incelemişlerdir. Toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın GC/MS cihazıyla bileşenleri tanımlanmıştır. *Salvia aucheri* var. *aucheri*'de 41, *Salvia aramiensis* 51, *Salvia pilifera*'da 83 bileşen tespit edilmiştir. *Salvia aucheri* var. *aucheri*'de 1.8-Sineol (%30.5), Kamfor (%21.3), Borneol (8.30) ve α -Pinen (%7.6), *Salvia aramiensis*'te 1.8-Sineol (%46), β -Pinen (%10.3), Kamfor (%8.7), *Salvia pilifera*'da ise α -Tujen (%36.1), α -Pinen (%13.8) ve Mircen (%4.7) en yüksek tespit edilen bileşenler olarak bildirmişlerdir. *S. marashica* uçucu yağı ile karşılaştırdığımızda, α -Thujen (%36.1) bileşeni yüksek oranda görülürken, bu çalışmada ise Borneol ve α -Thujen'e rastlanmamıştır. α -Pinen en az (%15.78) ile yaprakta en fazla (%27.01) ile çiçekte görülmüştür. Kamfor (%2.47), 1.8-Sineol (%7.56), β -Pinen (%15.72)'dir. Kelen ve Tepe yapmış oldukları *Salvia pilifera* çalışmalarında Mircen (%4.7) oranında görülmüştür. Kendi çalışmamızda ise Mircen tespit edilmemiştir.

Karaman, İlçim ve Çömlekçiöğlü (2007), *Salvia cyanescens* ve *Salvia aramiensis* uçucu yağlarını GC-MS ile analiz etmişlerdir. *Salvia aramiensis*'in uçucu yağ analizinde α -Pinen (%3.4), β -Pinen (%9.0), Mircen (%3.7), 1.3-sineol (%60.0)'dur. *Salvia cyanescens* α -Pinen (%6.9), β -Pinen (%6.9), Para-simen (%5.70), 1.8-sineol (%4.60), Trans-pinocarveol (%5.60), Pinocarvon (%3.90), Mirtenol (%7.8), Terpinen-4-ol (%3.9), Staphulenol (%32.50)'dir. Bizim yaptığımız analiz sonuçlarında α -Pinen (%27.01) ile en yüksek çiçekte, β -Pinen (%5.72) ile en yüksek çiçekte, 1.8- sineol (%7.87) ile en yüksek yaprak da, Parasimen (%0.64) ile yaprak da en yüksek, Mirtenol (%0.22)'dir. Staphulenol *S. cyanescens*'de yüksek değerdedir ancak bizim çalışmamızda rastlanmamıştır.

Teşekkür: Uçucu yağ analizlerini yapan Dr. Öğr. Üyesi Emel DIRAZ'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Algan, G. (1981). Bitkisel Dokular İçin Mikroteknik. *Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları*, Bot. No:1, İstanbul.
- Bağcı, E., & Koçak, A. (2007a). İki *Salvia* (*S. ceratophylla* L., *S. aethiopsis* L.) Türü Uçucu Yağların Analizi ve Değerlendirilmesi Üzerine Çalışma. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 19(4), 435-442.
- Bağcı, E., & Koçak, A. (2007b). *Salvia palaestina* Betham ve *Salvia tomentosa* Miller Türlerinin Uçucu Yağ Kompozisyonu, Kemotaksonomik Bir Yaklaşım. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 20(1), 35-41.
- Baricevic, D., & Bartol, T. (2000). The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. In: E.S. Kintzios (Ed.), Sage: the Genus *Salvia* (pp. 143-184) The Netherlands. Harwood Academic Publishers.
- Bayrak, A., & Akgül, A. (1987). Composition of essential oils from Turkish *Salvia* species. *Phytochemistry*, 26, 846-847.
- Chalchat, J.C., Michet, A., & Pasquier, B. (1998). Study of clones of *Salvia officinalis* L. yields and chemical composition of essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 13, 68-70.
- Chen, Y.L., Yang, S.P., Shiao, M.S., Chen, J.W. & Lin, S. J. (2001). *Salvia miltiorrhiza* inhibits intimal hyperplasia and monocyte chemotactic protein-1 expression after balloon injury in cholesterol-fed rabbits. *Journal of Cellular Biochemistry*, 83, 484-493.
- Çobanoğlu, D. (1988). *Salvia palaesthina* Bentham'ın (Lamiaceae) Morfolojik ve Sitolojik Özellikleri. *Doğa Bilim Dergisi*, 12: 215-223.

- Çobanoğlu, D., Özel, S., & Evren, H. (1992). *Salvia trichoclada* Bentham (Lamiaceae)'nin Morfolojik Özellikleri (pp. 83-89). XI Biyoloji Kongresi, 24-27 Haziran Elazığ, Türkiye.
- Howes, M.J.R., Perry, N.S.L. & Houghton, P. J. (2003). Plants with traditional uses and activities relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Phytotherapy Research*, 17(1), 1-18.
- İlçim, A., Celep, F., Doğan, M. (2009). *Salvia marashica* (Lamiaceae) a new species from Turkey. *Annales Botanici Fennici* 46: 75-79.
- Karaman, Ş., İlçim, A., & Çömlekçiöğlü N. (2007). Composition of the Essential Oils of *Salvia aramiensis* Rech. Fil. and *Salvia cyanescens* Boiss&Bal. *Pakistan Journal of Botany*, 39(1), 169-172.
- Kelen, M., & Tepe, B. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99, 4096-4104.
- Metcalfe, J.R., & Chalk, L. (1972). Anatomy of the Dicotyledons. Oxford, England. Clarendon Press., 1041-1053.
- Nakipoğlu, M., & Oğuz, G. (1990). İzmir Çevresinde Yayılış gösteren Bazı *Salvia* (Adaçayı) Türlerinin Biyosistematiği Üzerine Araştırmalar. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(2), 23-29.
- Newall, C.A., Anderson, L.A., & Philipson, J.D. (1996). Herbal medicines. A guide for health-care professionals. London, England, The Pharmaceutical Press, pp. 231.
- Özdemir, C., & Şenel, G. (1999). The Morphological, Anatomical and Karyological Properties of *Salvia sclarea* L. *Turkish Journal of Botany*, 23, 7-18.
- Özdemir, C., & Şenel, G. (2001). The Morphological, Anatomical and Karyological Properties of *Salvia forskahlei* L. (Lamiaceae) in Turkey. *Journal of Economic and Taxonomic Botany*, 19, 297-313.
- Perry, N., Howes, M-J., Houghton, P., & Perry, E. (2000a). Why sage may be a wise remedy: effects of *Salvia* on the nervous system. In: SE Kintzios, (ed). Sage, the genus *Salvia* (p. 207-223.) Harwood, Netherlands, Taylor Franchis.
- Perry, N.S.L., Houghton, P.J., Theobald, A.E., Jenner, P. & Perry, E.K. (2000b). In-vitro inhibition of erythrocyte acetylcholinesterase by *Salvia lavandulifolia* essential oil and constituent terpenes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52, 895-902.
- Perry, N.S.L, Houghton, P. J., Sampson, J., Theobald, A. E., Hart, S., Lis-Balchin, M., and et al. (2001). In-vitro activity of *S. lavandulifolia* (Spanish sage) relevant to treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 1347-1356.
- Perry, N.S., Houghton, P.J., Jenner, P., Keith, A. & Perry, E.K. (2002). *Salvia lavandulaefolia* essential oil inhibits cholinesterase in vivo. *Phytomedicine*, 9(1), 48-51.
- Savelev, S., Okello, E., Perry, N.S.L., Wilkins, R.M. & Perry, E.K. (2003). Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulifolia* essential oil. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75, 661- 668.
- Skoula, M., El-Hilali, I., & Makris, A.M. (1999). Evaluation of the Genetic Diversity of *Salvia frutescens* Mill. Clones Using RAPD Markers and Comparison with the Essential Oil Profiles. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27(6), 559-568.
- Ulubelen, A., Oksuz, S., Topcu, G., Goren, A.C., & Voelter, W. (2001). Antibacterial diterpenes from the roots of *Salvia blepharochlaena*. *Journal of Natural Products*, 64, 549-551.
- Vural, A., & Adıgüzel, N. (1996). A New Species from Central Anatolia: *Salvia aytachii* M. Vural et N. Adıgüzel (Labiatae). *Turkish Journal of Botany*, 20(6), 531-534.
- Watt, J.M., & Breyer-Brandwijk, M.G. (1962). The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa, second ed. Edinburgh, pp. 525.
- Zhou, Z., Liu, Y., Miao, A. D. & Wang, S. Q. (2005). Salvianolic acid B attenuates plasminogen activator inhibitor type 1 production in TNF- α treated human umbilical vein endothelial cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 96, 109-116.

The First Record of Zebra Mussel in Sarıme Mehmet Dam (VAN) and its Possible Effects on Regional Fisheries

Mustafa AKKUŞ^{1*}, Mustafa SARI², Muhammed ARABACI¹

¹Department of Fisheries and Aquaculture, Fisheries Faculty, Van Yüzüncü Yıl University, 65080, Van, Turkey.

²Department of Maritime Business Administration, Maritime Faculty, Bandırma Onyedi Eylül University, 10200, Balıkesir, Turkey.

ORCID ID: Mustafa AKKUŞ: <https://orcid.org/0000-0002-8900-9495>; Mustafa SARI: <https://orcid.org/0000-0003-1457-0023>; Muhammed ARABACI: <https://orcid.org/0000-0002-2462-6441>

Received: 03.11.2019

Accepted: 09.12.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: The present research was conducted between October 2018 and October 2019 at Sarıme Mehmet Dam which is on Karasu Stream. Sarıme Mehmet Dam is a dam that is 60 kilometers away from Van city center and it has approximately 10 km² of surface area. It was first opened in 1991 for agricultural irrigation and electricity production. The zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas, 1771) captured in Sarıme Mehmet Dam is a kind of invasive species and this is its first record in Van Province. In this study, the length-weight relationships of 733 zebra mussels from four stations were determined and the temperature, pH, salinity, and dissolved oxygen values of the stations were measured. The length-weight relationship was calculated according to the stations as $W=0.0003 \times L^{2.976}$, $W=0.0002 \times L^{2.971}$, $W=0.0002 \times L^{2.962}$ and $W=0.0002 \times L^{2.963}$. The measured maximum-minimum water quality values were noted for temperature as 1.5-22 °C, pH 8.2-8.9, salinity as ‰0.21-0.39 and dissolved oxygen as 6.44-11.45 mg/L. Based on the data, if zebra mussels in Sarıme Mehmet Dam are moved to other water resources in the region, it was determined that invasion of pearl mullet breeding areas will cause great damage for fishery in the region. In the light of the gathered data, it was found out that if the zebra mussels in Sarıme Mehmet Dam were transported to other water resources in the region, they would invade pearl mullet breeding areas and cause great damages for the fishery of the region.

Keywords: Invasive species, *Dreissena polymorpha*, fisheries management, breeding habitat.

Sarıme Mehmet Barajı'nda (VAN) İlk Zebra Midye Kaydı ve Zebra Midye Popülasyonunun Bölge Balıkçılığına Olası Etkileri

Öz: Bu çalışma 2018 Ekim-2019 Ekim tarihleri arasında Karasu Çayı üzerinde bulunan Sarıme Mehmet Barajı'nda gerçekleştirilmiştir. Sarıme Mehmet Barajı, Van il merkezine 60 km uzaklıkta, yaklaşık 10 km² yüzey alanına sahip, tarımsal sulama ve elektrik üretimi amacıyla 1991 yılında işletmeye açılmıştır. Sarıme Mehmet Barajı'nda tespit edilen zebra midye (*Dreissena polymorpha* Pallas, 1771) istilacı bir tür olup Van il sınırlarında ilk kayıttır. Çalışmada, dört istasyondan alınan toplam 733 zebra midyenin boy-ağırlık ilişkileri belirlenmiş ve istasyonlarda sıcaklık, pH, tuzluluk ve çözülmüş oksijen değerleri ölçülmüştür. Boy-ağırlık ilişkisi istasyonlara göre sırasıyla, $W=0.0003 \times L^{2.976}$, $W=0.0002 \times L^{2.971}$, $W=0.0002 \times L^{2.962}$, $W=0.0002 \times L^{2.963}$ olarak hesaplanmıştır. Su kalitesi değerlerinden, sıcaklık 1.5-22 °C, pH 8.2-8.9, tuzluluk ‰0.21-0.39 ve çözülmüş oksijen 6.44-11.45 mg/L olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler ışığında Sarıme Mehmet Barajı'ndaki zebra midyelerin bölgedeki başka su kaynaklarına taşınması durumunda inci kefalı üreme alanlarını istila ederek bölge balıkçılığı için büyük zararlara neden olacağı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: İstilacı tür, *Dreissena polymorpha*, balıkçılık yönetimi, üreme habitatu.

1. Giriş

Doğal olarak Aral Gölü ve Hazar Denizi'nde dağılım gösteren zebra midyeler (*Dreissena polymorpha*), 19. yüzyılın başlarında Avrupa'da, 20. yüzyılın başlarında ise Amerika'da görülmeye başlanmıştır. Dünyadaki iç sularda en büyük ekolojik ve ekonomik zararlara yol açan istilacı türlerin başında gelen zebra midyenin ülkemizdeki ilk kayıtları 1987 yılına kadar uzanmaktadır (Aksu & Yıldız, 2017). Ülkemizde özellikle barajlarda iletim hatlarını tıkaması nedeniyle büyük mekanik sorunlara yol açan zebra midyeler ile ilgili DSİ (2005), tarafından yapılan çalışmada ülkemiz genelinde 1500'den fazla sulama sisteminde zebra midyenin varlığı bildirilmiştir. Van Gölü havzasında yaşayan tek midye türü *Unio stevenianus* Krynicki 1837 isimli tatlı su midyesidir (Yarsan, Bilgili, & Türel, 2000). Ülkemizdeki zebra midye çalışmaları barajlarda meydana gelen mekanik sorunlar odaklı gelişmiştir. Ülkemizde zebra midyelerin, sucul ekosistemlerde yaşayan diğer canlılar üzerindeki etkileri konusundaki veriler yok denecek düzeydedir (Yıldırım,

Kara, & Becer, 1996). Ülkemizde zebra midyelerle ilgili yapılan bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir. Altınayar, Ertem ve Aydoğan (2001), Zebra midyelerin HES'lerde önemli ekonomik sorunlar oluşturduğunu bildirmişlerdir. Fırat Havzasındaki baraj ve hidroelektrik santrallerinde zebra midyelerin iletim hatlarını tıkaması ve aşırı çoğalmasına bağlı olarak büyük zararlar meydana geldiği belirtilmektedir (Bobat, Hengirmen, & Zapletal, 2004). HES ve barajlardaki mekanik kısımlara tutunan zebra midyeler nedeniyle işletmelerin çalışmalarında aksamalar meydana gelmektedir (Aksu et al., 2007). Sapanca Gölü'nde zararlı olarak kabul edilen göldeki kaya balıklarının baskın besin maddesini oluşturmaktadır (Gaygusuz, Gaygusuz, Tarkan, Acıpinar, & Türer, 2007). Çıldır ve Eğirdir Göllerinde yaşayan kısıklı kerevitlerin karapaks bölgesine tutunan zebra midyelerin; kerevitlerin çiftleşme, predatörlerden kaçınma, hareket etme ve beslenmeleri üzerine olumsuz etkiler oluşturmalarını bildirmişlerdir (Berber, Ateş, & Acar, 2018). HES'lerde ve su iletim sistemlerindeki hızlı bir şekilde çoğalan zebra midyeler sistemlerin tıkanmasına neden olmaktadır (Aksu

*Corresponding author: makkus1932@gmail.com

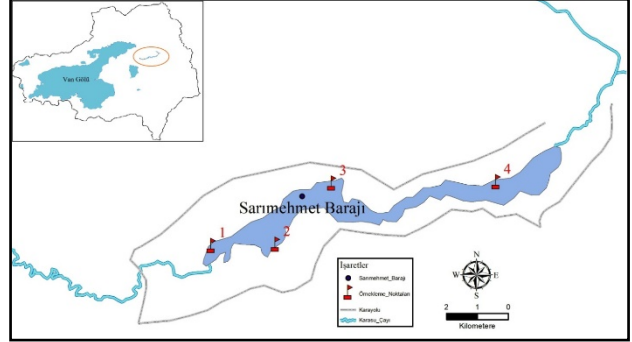
& Yıldız, 2017). Sucul ekosistemlerdeki zebra midyeler hızlı çoğalmaları ve besin zincirinin temelini oluşturan planktonları tüketmeleri nedeniyle sucul ekosistemlerdeki biyoçeşitliliği tehdit etmektedirler (Hamburger, Dall, & Jonasson, 1990; Bially & MacIsaac, 2000; Minchin, Lucy, & Sullivan, 2002; Zaiko, Daunys, & Olenin, 2008). Sucul ekosistemlere kerevit aşılması zebra midye ile mücadelede olası yöntemler arasındadır (Kutluyar, Aksu, & Aksu, 2013). Aban et al. (2017) tarafından Bolina körfezinde *Perna viridis* bireylerinin populasyon parametrelerini hesaplamak için yapılan çalışmada büyüme tipinin negatif allometri olduğunu ve b değerinin 2.30-2.71 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Balcıoğlu ve Gönülal (2017), Marmara Denizi'nin kıyasal alanlarından topladıkları kara midye (*Mytilus galloprovincialis*) bireyleri üzerinde yaptıkları çalışmada uzunluk değerlerinin 8.28-3.28 cm, ağırlık değerlerinin ise 42.59-3.49 g arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Çangal, (1991) tarafından Karadeniz *Mytilus galloprovincialis* bireyleri üzerinde yapılan çalışmada, boy değerlerinin 26-41 mm arasında yoğunlaştığı, 4 istasyonda gerçekleştirilen çalışmada en yüksek b değerini 2.724 olarak bildirmiştir. Görüldüğü gibi Türkiye'de yapılan çalışmalar ağırlıklı olarak zebra midyelerin barajlarda yol açtığı ekonomik sorunlar ile ilgilidir. Sucul ekosistem ve balıklar üzerinde meydana getirdiği etkileri değerlendiren çalışmalar sınırlı sayıdadır. Fakat birçok araştırmacı zebra midyelerin, sucul ekosistem ve balıklar üzerindeki olumsuz etkilerini belirtmektedir. Danimarka'da bulunan Esrum Gölü'nde yapılan çalışmada, gölde yaşayan planktonların %18'lik bölümünün zebra midyeler tarafından tüketildiği ve bu durumun göldeki bazı balık türlerinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Hamburger et al., 1990). Zebra midyeler, sucul ekosistemlerde bentik yapıyı bozarak pelajik bölgedeki besin zincirini bozmakta ve biyoçeşitliliği azaltmaktadır (Mackie, 1991). Zebra midyeler ve istilacı türler, sucul ortamda bulunan diğer canlıların yaşam alanlarını kısıtlamaktadır (Bobat et al., 2002; Darrigran, 2002). Ülkemizin önemli balıkçılık kaynaklarına sahip olan Van ilinde zebra midyenin sucul ekosistemlere yayılması balıkçılık yönetimi açısından büyük sorunlara neden olacaktır. Bu nedenle, Sarımeşmet Barajı'nda görülen zebra midyelerin, bölgedeki sucul ekosistemler ve balık stokları üzerinde oluşturduğu muhtemel sorunlar değerlendirilerek önceden önlemlerin alınması gerekmektedir. Yapılan bu çalışmada Van il sınırları içerisinde bulunan Sarımeşmet Barajı'nda ilk kez görülen zebra midyelerin populasyon yapısı, bazı ekolojik ve biyolojik özellikleri incelenmiş, barajda neden olduğu sorunlar, ilerleyen süreçte bölge balıkçılığına etkileri ele alınmış ve alınması gerekli önlemler üzerinde durulmuştur.

2. Materyal ve Metod

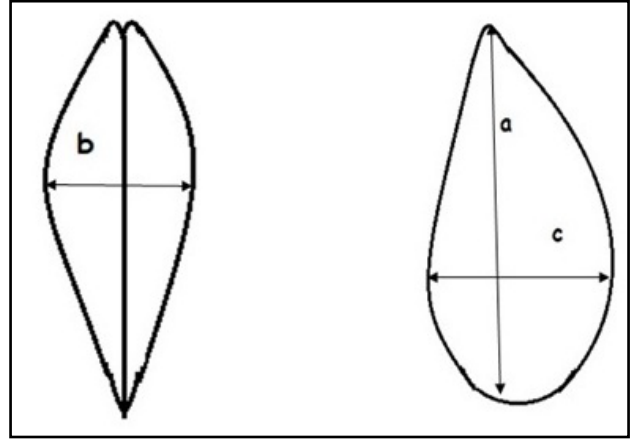
Bu çalışma 2018 Ekim-2019 Ekim tarihleri arasında Van ili Muradiye ilçesi sınırlarında, Karasu Çayı üzerine kurulu olan, Sarımeşmet Barajı ve Karasu Çayı'nın barajdan sonraki 4 km'lik bölümünde yürütülmüştür. Sarımeşmet Barajı Van il merkezine 60 km uzaklıkta, yaklaşık 10 km² yüzey alanına sahip, tarımsal sulama ve elektrik üretimi amacıyla 1991 yılında işletmeye açılmıştır (Şekil 1).

Barajda, Sazan (*Cyprinus carpio*), Siraz (*Capoeta kosswigi*), Çöpcü balığı (*Oxyzomacheilus ercisanus*), Dere inci kefalı (*Alburnus tarichi*) ve barajdaki yetiştiricilik çiftliğinden kaçan Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) bulunmaktadır. Çalışmada barajda 4 ayrı

istasyondan toplam 733 zebra midye örneği alınmıştır. Midyelerin boyları Çangal (1991)'a göre 0.05 mm hassasiyete sahip elektronik kumpas ile ölçülmüştür (Şekil 2). Ağırlıkları ise, 0.1 g hassasiyete sahip hassas terazi ile tartılmıştır. Midyelerin boy ve ağırlıkları arasındaki ilişki $W = a \cdot L^b$ eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır (Avşar, 2005). Eşitliğin kullanılması ile belirlenen R (korelasyon katsayısı) değeri ile midyelerin boy ve ağırlıkları arasındaki ilişki, "b" değeri ile göldeki midyelerin büyüme tipi tespit edilmiştir.



Şekil 1. Sarımeşmet Barajı ve örnekleme noktaları



Şekil 2. a) Boy b) Kalınlık c) Genişlik

Zebra midyenin, bölgedeki balıkçılık üzerinde oluşturduğu muhtemel etkilerde su kalitesi belirleyici olacaktır. Bu yüzden, diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda (Claudi & Mackie, 1994; ZMIS, 2001) zebra için önemli su kalite kriterleri ve gelişimine uygun aralıklar belirlenerek her bir istasyonda aylık olarak sıcaklık (°C), pH, çözülmüş oksijen (ÇO) (mg/L) ve tuzluluk (‰) değerleri ölçülmüştür. Ayrıca, baraj bendinden sonra Karasu Çayı'nın 4 km'lik kısmının tabanı ve kenarları incelenerek zebra midyelerin barajdan aşağı kesimlere doğru yayılıp yayılmadığı incelenmiştir.

3. Sonuçlar

Çalışmada, 4 ayrı istasyondan 733 adet zebra midye toplanarak, midyelerin boy-ağırlıkları ölçülmüş baraj çevresindeki dağılım alanının büyüklüğü belirlenmiştir. Midyelere ilişkin boy ve ağırlık ölçümleri ile boy-ağırlık ilişkisini belirlemek amacıyla yapılan regrasyon analizi sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Örnekleme istasyonlarına göre sırasıyla ortalama boy değerleri 33.41±5.6 mm, 26.50±7.02 mm, 26.80±3.2 mm ve 19.95±1.25 mm olarak tespit edilmiştir. İstasyonlara göre ortalama ağırlık değerleri ise, sırasıyla 5.76±1.28 g, 3.71±1.88 g, 3.57±1.21 g ve 2.15±1.12 g olarak belirlenmiştir. Çalışmadaki en büyük boy ve ağırlık değeri 43.74 mm ve 9.85 g ile birinci

istasyonda ölçülmüştür. Yapılan regresyon analizi sonucu midyelerin boy ve ağırlıkları arasında üssel bir ilişki olduğu belirlenmiş ve elde edilen b değerleri incelendiğinde midyelerin negatif allometrik ($b < 3$) büyüme gösterdikleri tespit edilmiştir (Tablo 1). Sarımeşmet Barajı'nda görülen zebra midyelerin baraja nasıl ve ne zaman taşındığı ile ilgili, elde kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Fakat gölde gökkuşuğu alabalığı yetiştiren işletmenin ağ temizlik kayıtlarına bakıldığında

son iki yıldır ağlarda zebra midye görülmeye başlandığı belirlenmiştir. Ayrıca barajda elektrik üretimi yapan santralin son on yıllık kayıtları incelendiğinde, santralin filtre ya da mekanik aksamalarında zebra midye kaynaklı bir sorun olmadığı, yalnızca 14.08.2019 tarihinde santrale ait akım gözlem istasyonu (AGİ) sensörünün zebra midyelerce kapatılmasına bağlı olarak arızalandığı belirlenmiştir.

Tablo 1. İstasyonlara göre boy-ağırlık değerleri ve regresyon analiz sonuçları.

İst.	Konum	Birey Sayısı	Boy-Ağırlık Değerleri			R ²	b	a
1	Enlem 38°47'39.95"K	180	Ort. (SD)	Boy (mm)		0.975	2.976	0.0003
	33.41±5.6		Maks.	Min.				
	Boylam 43°44'30.18"D		Ort. (SD)	Ağırlık (g)				
			5.76±1.28	Maks.	Min.			
2	Enlem 38°47'40.17"K	195	Ort. (SD)	Boy (mm)		0.966	2.971	0.0002
	26.50±7.02		Maks.	Min.				
	Boylam 43°46'0.24"D		Ort. (SD)	Ağırlık (g)				
			3.71±1.88	Maks.	Min.			
3	Enlem 38°48'45.89"K	175	Ort. (SD)	Boy (mm)		0.958	2.962	0.0002
	26.80±3.2		Maks.	Min.				
	Boylam 43°47'40.74"D		Ort. (SD)	Ağırlık (g)				
			3.57±1.21	Maks.	Min.			
4	Enlem 38°48'27.71"K	183	Ort. (SD)	Boy (mm)		0.963	2.963	0.0002
	19.95±1.25		Maks.	Min.				
	Boylam 43°51'15.77"D		Ort. (SD)	Ağırlık (g)				
			2.15±1.12	Maks.	Min.			

Alanda yapılan incelemede, barajın bent alanına yakın kısımlarında midyelerin yoğun olarak kümeleştiği, yukarı kısımlara doğru ise yoğunluğun azaldığı gözlemlenmiştir. Midyelerin özellikle, barajda bulunan plastik şişelerin, kumların ve kayaların üzerinde koloniler oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 3-4).

Zebra midyelerin yumurtaları plankton gibi suda serbest olarak yüzerek, akıntılar yoluyla sucul ekosistemlerde yayılmaktadırlar. Barajın her tarafına yayılmış olan zebra midyelerin, baraj bendinden akarsuyun aşağı taraflarına doğru yayılımının olup olmadığını belirlemek amacıyla akarsuyun 4 km'lik kısmının, taban ve kıyı kesimleri incelenmiştir. Yapılan incelemede baraj bendinden itibaren akarsuyun 4 km'lik bölümünde zebra midyeye rastlanmamıştır.

İstasyonlarda yapılan ölçümler ile elde edilen sıcaklık ve pH değerleri Tablo 2, çözünmüş oksijen ve tuzluluk değerleri ise Tablo 3'de verilmiştir.

İstasyonlarda ölçülen en yüksek sıcaklık değeri 19.5 °C ile Temmuz ayında 1. istasyonda, en düşük sıcaklık ise 1.4 °C ile Ocak ayında 4. istasyonda ölçülmüştür. İstasyonlara göre ortalama sıcaklık değerleri sırasıyla, 11.35±6.5 °C, 11.40±6.3 °C, 10.69±6.3 °C ve 10.43±6.2 °C olarak belirlenmiştir. Çalışmada pH değerinin 8.5 ile 8.1 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. İstasyonlardaki ortalama pH değerinin tüm istasyonlarda 8.2±0.1 olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada, istasyonlardaki tuzluluk değerlerinin ‰0.39 ile ‰0.21 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. İstasyonlara göre ortalama tuzluluk değeri en yüksek

‰0.28±0.05 ile birinci istasyonda ölçülmüştür. Diğer istasyonlardaki ortalama tuzluluk ‰0.27±0.04 olarak belirlenmiştir. İstasyonlardaki çözünmüş oksijen değeri en yüksek 11.45 mg/L ile 4. istasyonda, en düşük 6.44 mg/L ile birinci istasyonda ölçülmüştür. İstasyonlara göre ortalama çözünmüş oksijen değerlerinin 9.81±1.01 mg/L ile 7.97±0.77 aralığında değiştiği tespit edilmiştir.



Şekil 3. Üzeri zebra midyelerce kaplanmış plastik şişeler



Şekil 4. Kumlar ve kayaların üzerinde koloni oluşturmuş zebra midyeler

Tablo 2. İstasyonlardaki sıcaklık (°C) ve pH değerleri.

Aylar 2018 / 2019 Ekim	Parametreler							
	Sıcaklık (°C)				pH			
	1. İst.	2. İst.	3. İst.	4. İst.	1. İst.	2. İst.	3. İst.	4. İst.
Ekim	8	8.1	7.9	7.5	8.1	8.2	8.3	8.2
Kasım	7.3	7.2	6.9	7.2	8.2	8.2	8.1	8.4
Aralık	3.1	3.3	2.5	2.6	8.4	8.1	8.2	8.5
Ocak	2.2	2.5	2.1	1.4	8.3	8.4	8.4	8.4
Şubat	3.3	3.5	2.8	2.7	8.1	8.5	8.3	8.4
Mart	10.4	10.5	9.6	9.4	8.2	8.4	8.1	8.1
Nisan	16.4	16.8	15.6	15.8	8.1	8.4	8.2	8.2
Mayıs	17.5	17.0	17.3	17.1	8.4	8.1	8.1	8.1
Haziran	17.6	17.9	17.1	17.2	8.5	8.2	8.1	8.4
Temmuz	19.4	18.5	18.1	17.1	8.4	8.1	8.2	8.4
Ağustos	18.5	18.6	17.9	17.1	8.4	8.4	8.4	8.5
Eylül	12.5	12.3	10.5	10.1	8.1	8.5	8.3	8.4
Ort. (±)	11.35±6.5	11.40±6.3	10.69±6.3	10.43±6.2	8.2±0.1	8.2±0.1	8.2±0.1	8.2±0.1

Tablo 3. İstasyonlardaki tuzluluk (‰) ve çözülmüş oksijen (mg/L) değerleri.

Aylar 2018 / 2019 Ekim	Parametreler							
	Tuzluluk (‰)				Çözülmüş oksijen (mg/L)			
	1. İst.	2. İst.	3. İst.	4. İst.	1. İst.	2. İst.	3. İst.	4. İst.
Ekim	0.22	0.24	0.21	0.25	6.75	7.28	7.81	8.58
Kasım	0.24	0.22	0.23	0.21	6.44	8.70	8.98	9.32
Aralık	0.20	0.28	0.29	0.27	8.55	8.32	8.32	10.12
Ocak	0.25	0.21	0.25	0.26	9.12	7.55	8.58	11.35
Şubat	0.22	0.23	0.22	0.24	8.90	7.58	9.52	10.48
Mart	0.28	0.29	0.25	0.29	8.12	7.44	8.95	11.45
Nisan	0.30	0.25	0.27	0.25	7.95	8.42	8.32	10.25
Mayıs	0.35	0.32	0.32	0.33	7.98	8.25	8.93	10.25
Haziran	0.33	0.31	0.31	0.30	7.94	7.34	7.88	9.15
Temmuz	0.30	0.35	0.35	0.36	8.12	8.99	8.94	9.18
Ağustos	0.39	0.34	0.33	0.31	8.15	8.56	7.22	9.55
Eylül	0.33	0.29	0.24	0.22	7.64	7.55	8.35	8.14
Ort. (±)	0.28±0.05	0.27±0.04	0.27±0.04	0.27±0.04	7.97±0.77	7.99±0.60	8.48±0.63	9.81±1.01

4. Tartışma

Sarımehmet Baraj Gölü'nde tespit edilen istilacı zebra midye havzada ilk kayıttır. İstasyonlardan hesaplanan ortalama boy ve ağırlık değerlerinin 1. istasyondan barajın yukarı bölümünde olan 4. istasyona doğru azaldığı görülmektedir. Yaz aylarında suların azalması, barajdaki suyun sulama ve elektrik üretimi için kullanılmasına bağlı olarak 2-3 ve 4. istasyonlar karada kalmaktadırlar. Bu yüzden bu alanlardaki midyelerin fazla gelişmediği ve boylarının daha küçük kalmasından dolayı 1. istasyondan 4. istasyona doğru ortalama boy değerlerinin azaldığı düşünülmektedir. Çalışmada, maksimum ortalama boy ve ağırlık değerleri 33.41±5.6 mm ile 5.76± 1.28 g olarak hesaplanmıştır. Balcıoğlu ve Gönülal (2017), tarafından Marmara Denizi'nde yapılan benzer çalışmada bu değerler 51.90±0.98 mm ve 12.12±7.62 g olarak hesaplanmıştır. Bu değerlerin çalışmamızda elde edilen değerlerden fazla olduğu görülmektedir. Zebra midyeler için 18-20 °C su sıcaklığı en ideal büyüme sıcaklığıdır (ZMIS, 2001). Sarımehmet Barajı 1920 m rakımda ve su sıcaklığının maksimum 19.4 °C'ye ulaştığı, kış aylarının sert ve uzun geçtiği bir coğrafyada bulunmaktadır. Bu durum dikkate alındığında Marmara Denizi midyelerinin gelişmesi daha ideal ortam sunmaktadır. Bu yüzden çalışmamızda elde edilen boy ve ağırlık değerlerinin daha küçük çıkması beklenen bir durumdur. Regrasyon analizinden elde

edilen "b" değerinin 2.976 ile 2.962 arasında değiştiği görülmektedir. Elde edilen bu değer diğer çalışmalardan elde edilen "b" değerleri ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir (Aban et al., 2017; Balcıoğlu & Gönülal, 2017). Regrasyon analizinden elde edilen ve ortamın beslilik derecesinin bir göstergesi olan "a" değeri Karadeniz ve Marmara Denizi'nde yapılan çalışmalar ile kıyaslandığında bizim çalışmamızda elde edilen değerler daha düşük olduğu görülmektedir (Aban et al., 2017; Balcıoğlu & Gönülal, 2017; Çangal, 1991). Zebra midyeler ortamda bulunan suyu filtre ederek su içerisindeki besin maddeleri ile beslenmektedirler. Çalışmamızda elde edilen "a" değerinin diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında düşük çıkmasının, Karadeniz ve Marmara Denizinin besin çeşidi ve bolluğunun Sarımehmet Barajından daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Van Gölü havzası kapalı bir havzadır, havzada bulunan göller ve akarsuların havza dışındaki hiç bir su kaynağı ile bağlantısı yoktur, bu nedenle zebra midyeler Sarımehmet Barajı'na insan eliyle taşınmıştır. Zebra midyelerin, Sarımehmet Barajına nasıl ve ne zaman taşındığına ilişkin kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Sucul ekosistemler için büyük sorunlar oluşturan istilacı türlerin yayılmasında kültür balıkçılığında gerçekleştirilen balıkların başka bir su kaynağına taşınması işlemleri *Dreissena polymorpha* ve *Corbicula fluminea* türü midyelerin taşınmasında taşıyıcı

görevi görür (Schall, 2019). Atatürk ve Birecik Barajı ve HES'lerinde midye sorunları oluşması üzerine, midyelerin Atatürk Baraj Gölüne su sporları amacıyla getirilen tekneler aracılığıyla bulaşmış olabileceği düşünülmüştür (Bobat et al., 2002). Zebra midyenin Kuzey Amerika'nın tatlı su ekosistemine girişinin, bir transatlantiğin balast suyu aracılığıyla olduğu tahmin edilmektedir (Bobat, Hengirmen, & Zapletal, 2004). Ayrıca, midyelerin su dışında nemli ortamlarda uzun süre hayatta kalabildikleri bilinmektedir (Bobat et al., 2002; Bobat et al., 2004; DSİ, 2005). Yukarıdaki bilgiler ve midyelerin yayılım yolları dikkate alındığında, Sarımeşmet Barajı'nda kafeslerde Gökkuşluğu alabalığı üretimi yapan tesisin yakın illerden yavru balık ve kullanılmış malzeme olarak barajda kullanması, resmi kurumlar tarafından diğer illerden getirilen sazan yavrularının baraja aşılması, barajda amatör balıkçılık yapan kişilerin yakın illerde kullandığı av araçlarını barajda kullanması, zebra midyenin baraja taşınmasında olası ihtimaller olarak düşünülmektedir. Zebra midyelerin gelişmesine en uygun su kalite değerleri; sıcaklık 18-20 °C, pH>8, ÇO₂>8 ve tuzluluk %0-1 aralığında bildirilmiştir (Claudi & Mackie, 1994; DSİ, 2012). Bu değerler dikkate alındığında Sarımeşmet Barajı'ndaki çözünmüş oksijen ve pH değerlerinin zebra midyenin gelişmesi için uygun olduğu görülmektedir. Barajda ölçülen sıcaklık ve tuzluluk değerleri midyelerin ideal gelişme kriterlerine sahip olmasa da hayatta kalmalarını engelleyecek sınırların dışında olmadıkları görülmektedir. Zebra midyelerin barajın her tarafına yayılmış olmaları ortama uyum sağladıklarının en belirgin göstergesidir. Dişi zebra midyeler, bir defada 40000 adet yumurta bırakabilir ve hayatı boyunca bıraktığı yumurta sayısı 1 milyona ulaşabilir. Yumurtaların kuluçka süresi 3-5 gün olup yumurtadan çıkan larvalar 1 aya kadar akıntılar yoluyla suda özgürce yüzerler. Bu dönem planktonik dönem olarak da adlandırılır (Bobat et al., 2002). Bu yüzden, şu an için sadece barajın içinde görülen zebra midyelerin akıntı yoluyla barajın aşağı kesimlerine doğru yayılarak Van Gölü'ne kadar ulaşacağı düşünülmektedir. Balıkçılık yönetimi açısından bölge balıkçılığı üzerine etkileri göz önüne alındığında öncelikle Karasu Çayı ve Van Gölü'ne dökülen diğer akarsular, gölde yaşayan ve Nisan-Temmuz ayları arasında üremek için gölden akarsulara üreme göçü gerçekleştiren inci kefallerin üreme habitatlarını oluşturmaktadır. İnci kefalleri Van Gölü'ne dökülen derelerin taşlık ve kumluk olan taban ve kıyı kesimlerine yumurtalarını bırakmaktadır. Bu alanların zebra midyeler tarafından işgal edilmesi inci kefalli üreme göçü için büyük bir sorun oluşturacaktır. Bu yüzden, alınacak tedbirler ile zebra midyenin Sarımeşmet Barajı'ndan diğer akarsu ve göllere taşınmasının engellenmesi gerekmektedir. Van Gölü su kalitesi bakımından ekstrem özelliklerde olan bir göldür. Göldeki tuzluluk %19, pH 9.5'tir (Sari, 2008). ZMIS (2001), tarafından zebra midyelerin tuzluluğu %3'den fazla olan ortamlarda sorun oluşturma ihtimalinin çok düşük olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden tuzluluğu %19 olan Van Gölü'nde Zebra midyelerin yaşama ihtimalinin az olduğu düşünülmektedir. Ricciardi, Neves, ve Rasmussen (1998) tarafından zebra midyenin Amerika'daki büyük göller bölgesine girmesinden sonra göllerdeki tatlı su midyelerinin %12'sinin yok olduğu ve zebra midyelerin suyu aktif filtre etme kabiliyetleri nedeniyle sucul ekosistemlerdeki biyoçeşitliliğin azalması yönünde büyük bir tehdit oluşturduklarını bildirmişlerdir. Diğer midyeleri yok ettiği bilinen zebra midyelerden Karasu Çayı'nda bulunan tatlı su midyelerinin olumsuz etkileneneği

düşünülmektedir. Sucul ekosistemlerdeki besin ilişkileri karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu nedenle besin zincirinde meydana gelecek olan bozulmaların ekosistem genelinde nasıl bir etki oluşturacağını kesin olarak tahmin etmek zordur. Yetişkin zebra midye bireyleri bir günde bir litre suyu süzmekte ve ortamdaki plankton yoğunluğunu azaltmaktadır. Bu durum sucul ekosistemdeki trofik düzeyler arasındaki ilişkinin bozulmasına neden olmaktadır (Karatayev & Burlakova, 1995). Bu yüzden, besin pramidinin temelini oluşturan planktonlar üzerinde baskı oluşturan zebra midyelerin, Sarımeşmet Barajı ve Karasu Çayı'ndaki canlılar arasındaki trofik ilişkileri olumsuz etkileyeceği düşünülmektedir. Zebra midyelerin zararlarının yanı sıra, balıkçılık açısından bazı yararlarının da olduğu bildirilmiştir. Molloy, Karatayev, Burlakova, Kurandino ve Laruelle, (1997) tarafından sazan balıklarının (*Cyprinus carpio*) zebra midyeler ile beslendiği bildirilmiştir. Karasu Çayı ve Sarımeşmet Barajı'nda yaşayan diğer balık türleri ile ilgili zebra midyeler üzerinden beslenmelerine ilişkin bir kayıt bulunmamaktadır. Bu yüzden, zebra midyelerin Sarımeşmet Barajı'nda bulunan sazan popülasyonunu için yeni bir besin kaynağı olacağı düşünülmektedir. Paolucci, Thuesen, Cataldo, ve Boltovskoy (2010) tarafından midye yumurtalarının balık larvaları için avlanması kolay, enerjisi yüksek besinler olduğu ve bu durumun larvaların büyümesini hızlandırdığı bildirilmiştir. Yukarıdaki bilgiler ışığında zebra midyelerin sucul ekosistemlerdeki balıkçılığa zararları ve faydaları olduğu görülmektedir. Zebra midye varlığını Van ili balıkçılığı açısından düşündüğümüzde öncelikli olarak Karasu Çayı ve bulaşması muhtemel diğer derelerde inci kefalli üreme habitatlarını işgal edecektir. Van Gölü inci kefalli stokunun sürdürülebilirliği derelere yapılan üreme göçünün başarısına bağlıdır. Bu alanların midyeler tarafından istila edilmesi üreme göçü başarısını düşürecektir. İnci kefalli ülkemizde avcılık yolu ile elde edilen iç su balıkları üretimimizin her yıl yaklaşık 1/3'lük bölümünü karşılamakta ve bölgede 14000 insanın geçim kaynağını oluşturmaktadır. Bu yüzden inci kefalli üreme habitatlarını tehdit eden zebra midyelerin başka derelere yayılmasının önüne geçilmesi Van Gölü inci kefalli stoku için yararlı olacaktır. Sarımeşmet Baraj Gölü'nün her türlü avcılığa kapatılmasında, ağ kafeslerde gökkuşluğu balığı üretimi yapan işletmedeki malzemelerin ve balıkların ildeki başka su kaynaklarına taşınmasının engellenmesi midyelerin yayılmasını önleme açısından yararlı olacaktır düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Aban, S.M., Argente, F.T., Raguindin, R.S., Garcia, A.C., Ibarra, C.E., & Vera, R.B.D. (2017). Length-Weight Relationships of the Asian Green Mussel, *Perna viridis* (Linnaeus 1758) (Bivalvia: Mytilidae) Population in Bolinao Bay, Pangasinan, Northern Philippines. *PSU Journal of Natural and Allied Science*, 1(1), 6-7.
- Aksu, S., & Yıldız, D. (2017). Dünyada ve Türkiye'de HES'lerde ve Su İletim Sistemlerindeki Zebra Midye Sorunu. *World Water Diplomacy & Science News*, 2017(1), 1-4.
- Aksu, S., Baran, E.A., Çevlik, H. Erşan, H., Üstündağ, S., Şahin, İ.M., İpek, S., & Ağan, Y. (2007). Kapalı Sulama Sistemlerinde Zebra Midye İle Savaşım Yöntemlerinden Mekaniksel Süzme Deneme Raporu (Rapor No: 2007-1). Ankara, Türkiye, DSİ Genel Müdürlüğü Yayınları, 3 pp.
- Altınayar, G., Ertem, B., & Aydoğan, F. (2001). Hidroelektrik Santraller ve Su Arıtma Tesislerinde Sorun Yaratan Zebra Midye (*Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771))'nin Yaşamı ve Savaşımı. *DSİ Teknik Bülteni*, 98, 33-39.
- Avşar, D. (2005). Balıkçılık Biyolojisi ve Popülasyon Dinamiği. Adana, Türkiye, Nobel Kitapevi, 332 pp.
- Balcioglu, E.B., & Gönülal, O. (2017). Marmara Denizi'nin Farklı Bölgelerinden Toplanan Midyelerin (*Mytilus galloprovincialis*,

- Lamarck,1819) Biyometrisi Üzerine Bir Araştırma. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(2), 397-400.
- Berber, S., Ateş, A.S., & Acar, S. (2018). Zebra Midyesinin (*Dreissena polymorpha*'nın (Pallas, 1771)) Türkiye'nin Bazı Su Kaynaklarında Yaşayan Dar Kıskaçlı Kerevitler Üzerinde İlk Olarak Gözlenmesi. *Su Ürünleri Dergisi*, 35(1), 55-61.
- Bially, A., & MacIsaac, H.J. (2000). Fouling mussels (*Dreissena* spp.) colonize soft Sediments in Lake Erie and Facilitate Benthic invertebrates. *Freshwater Biology*, 43(1), 85-97.
- Bobat, A., Hengirme M.O., & Zapletal, W. (2002). Zebra Mussel Research Project in Birecik Hydro Power Plant Final Report (Report No. 2002-1). Ankara, Turkey, General Directorate of State Hydraulic Works Press., 133 pp.
- Bobat, A., Hengirmen, M.O., & Zapletal, W. (2004). Zebra Mussel and Fouling Problems in the Euphrates Basin. *Turkish Journal of Zoology*, 28(2), 161-177.
- Claudi, R., & Mackie, G.L. (1994). Practical Manual for Zebra Mussel Monitoring and Control. Florida, U.S., CRC Press., 221 pp.
- Çangal, H. (1991). *Trabzon sahil şeridindeki midyelerde Mytillus galloprovincialis Lam. Büyüme, gelişme özellikleri ve kondisyon değişimleri üzerine bir araştırma* (Yüksek Lisans Tezi). Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, Türkiye.
- Darrigran, G. (2002). Potential Impact of Filter-Feeding Invaders on Temperate Inland Freshwater Environments. *Biological Invasions*, 4(1-2), 145-156.
- DSİ (2005). Hidroelektrik Santrallarda Sorun Yaratan Zebra Midye Araştırmaları Raporu (Rapor No: 2005-1). Ankara, Türkiye, DSİ Genel Müdürlüğü Yayınları., 128 pp.
- DSİ, (2012). Zebra Midye İle Mücadelede Filtrasyon ve Boya Denemeleri Sonuç Raporu (Rapor No: 2011-1). Ankara, Türkiye, DSİ Genel Müdürlüğü Yayınları., 49 pp.
- Gaygusuz, Ö., Gaygusuz Ç.G., Tarkan, A.S., Acıpinar, H., & Türer, Z. (2007). Preference of Zebra Mussel, *Dreissena polymorpha* in the Diet and Effect on Growth of Gobiids: A Comparative Study Between Two Different Ecosystems. *Ekoloji*, 65, 1-6.
- Hamburger, K., Dall, P.C., & Jonasson, P.M. (1990). The role of *Dreissena polymorpha* Pallas (Mollusca) in the Energy Budget of Lake Esrom, Denmark. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 24(1),621-625.
- Karatayev A.Y., & Burlakova L.E. (1995). The Role of *Dreissena* in Lake Ecosystems. *Russian Journal of Ecology*, 26, 207-211.
- Kutluyar, F., Aksu, Ö., & Aksu, Ö. (2013). Kerevitlerin beslenmesinde (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) alternatif besin olarak Zebra midyesinin (*Dreissena polymorpha* Pallas, 1771) Kullanılması. *Bilim ve Gençlik Dergisi*, 1(2), 63-70.
- Mackie, G.L. (1991). Biology of the exotic zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in relation to native bivalves and its potential impact in Lake St. Clair. *Hydrobiologia*, 219(1), 251-268.
- Minchin, D., Lucy, F., & Sullivan, M. (2002). Zebra mussel: Impacts and spread. In: Leppäkoski, E., Gollasch, S. & Olenin, S. (Eds), *Invasive Aquatic Species of Europe. Distribution, Impacts and Management* (pp 135-146). Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Press., 146 pp.
- Molloy, D.P., Karatayev, A.Y., Burlakova, L.E., Kurandino, D.P., & Laruelle, F. (1997). Natural Enemies of Zebra Mussels: Predators, Parasites, and Ecological Competitors. *Reviews in Fisheries Science*, 5(1), 27-97.
- Paolucci, E.M., Thuesen, E.V., Cataldo, D.H., & Boltovskoy, D. (2010). Veligers of An Introduced Bivalve, *Limnoperna fortunei*, are A New Food Resource that Enhances Growth of Larval Fish in the Parana River (South America). *Freshwater Biology*, 55, 1831-1844.
- Ricciardi, A., Neves, R.J. & Rasmussen, J.B., (1998). Impending Extinctions of North American Freshwater Mussels (Unionoida) Following the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) Invasion, *Journal of Animal Ecology*, 67(4), 613–619.
- Sari, M. (2008). Threatened Fishes of the World: *Chalcalburnus tarichi* (Pallas 1811) (Cyprinidae) Living in the Highly Alkaline Lake Van, Turkey. *Environmental biology of fishes*, 81(1), 21-23.
- Schall, B.J. (2019). Evaluation of Portable Water Filtration Systems to Reduce the Transport Risk of Zebra Mussels and Asian Clams during Fish Spawning and Trap-and-Transfer Operations. *North American Journal of Aquaculture*, 81(3), 253-257.
- Yarsan, E., Bilgili, A., & Türel, İ. (2000). Heavy Metal Levels in Mussels (*Unio stevenianus krynicki*) obtained from Van Lake. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24(1), 93-96.
- Yıldırım, M.Z., Kara, D., & Becer, Z.A. (1996). Eğirdir Gölü Sudak Balıklarında (*Stizostedion lucioperca* L. 1758) Tespit Edilen *Bucephalus polymorphus* Baer, 1827 (Trematoidea: Gasterostomata) Üzerinde Araştırmalar. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 20(1), 105-112.
- Zaiko, A., Daunys, D., & Olenin, S. (2008). Habitat Engineering by the Invasive Zebra Mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas) in a Boreal Coastal Lagoon: Impact on Biodiversity. *Helgoland Marine Research*, 63(1), 85-94.
- ZMIS, (2001). Zebra Mussel Information System. Retrieved from: <http://https://www.erdc.usace.army.mil/>

A Floristic Research on Karatepe-Aslantaş National Park and Some Protected Natural/Cultural Areas (Osmaniye, Türkiye)

Ahmet Zafer TEL^{1,2}, İshak ORTAÇ^{3*}, Ahmet İLÇİM⁴

¹Department of Biology, Faculty of Science and Letters, Adıyaman University, Adıyaman, Turkey

²Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Iğdır University, Iğdır, Turkey

³Department of Biology, Institute of Science, Adıyaman University, Adıyaman, Turkey

⁴Department of Biology, Faculty of Arts and Science, Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

ORCID ID: Ahmet Zafer TEL: <https://orcid.org/0000-0002-1204-3839>; İshak ORTAÇ: <https://orcid.org/0000-0002-5880-8438>; Ahmet İLÇİM: <https://orcid.org/0000-0001-8169-2472>

Received: 01.11.2019

Accepted: 18.12.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: Research areas are the National Park of Karatepe-Aslantaş, Harun Reşit Castle, Haruniye Springs, and Şarлак Falls located in Osmaniye, Turkey. This study was conducted between 2015 and 2016. As a result of this study, 164 taxa belonging to 59 families, 139 genera, 135 species, 23 subspecies, and 6 varieties were determined. Fifteen taxa identified in the study area were endemic and the rate of endemism was 9.1%. The distribution of taxa in phytogeographic regions in the research area is as follows: Mediterranean (including the Eastern Mediterranean) 63 taxa (38.4%), Euro-Siberian 10 taxa (6.1%), Irano-Turanian 7 taxa (4.3%), 39 widespread taxa (23.8%) and 45 unknown taxa (27.4%). Fabaceae (26), Asteraceae (13), Lamiaceae (13), Brassicaceae (7), and Rosaceae (7) are the largest families in terms of the number of taxa in the research area. *Securigera* DC. (3), *Centaurea* L. (3), *Quercus* L. (3), and *Salvia* L. (3) are the largest genera in terms of the number of taxa in the research area.

Keywords: Protected environments, plant diversity, taxonomic records, Mediterranean, Anatolia.

Karatepe-Aslantaş Milli Parkı ve Bazı Doğal/Kültürel Koruma Alanları Üzerine Floristik Bir Araştırma (Osmaniye, Türkiye)

Öz: Araştırma alanları Osmaniye (Türkiye) ilinde bulunan Karatepe-Aslantaş Milli Parkı, Harun Reşit Kalesi, Haruniye Kaplıcaları ve Şarлак Şelalesidir. Bu çalışma 2015-2016 yılları arasında yapılmıştır. Çalışma sonucunda 59 familyaya ait 139 cins, 135 tür, 23 alttür ve 6 varyete olmak üzere toplam 164 takson tespit edilmiştir. Çalışma alanında tespit edilen taksonlardan 15 tanesi endemik olup, endemizm oranı %9.1'dir. Araştırma alanında taksonların fitocoğrafik bölgelere dağılımı şöyledir: Akdeniz (Doğu Akdeniz dâhil) 63 takson (%38.4), Avrupa-Sibirya 10 takson (%6.1), İran-Turan 7 takson (%4.3), Geniş yayılışlı 39 takson (%23.8) ve bilinmeyen 45 (%27.4) taksondur. Araştırma alanında takson sayısı bakımından en büyük familyalar Fabaceae (26), Asteraceae (13), Lamiaceae (13), Brassicaceae (7) ve Rosaceae (7)'dir. Araştırma alanında takson sayısı bakımından en büyük cinsler *Securigera* DC. (3), *Centaurea* L. (3), *Quercus* L. (3) ve *Salvia* L. (3)'dür.

Anahtar kelimeler: Korunan ortamlar, bitki çeşitliliği, taksonomik kayıtlar, Akdeniz, Anadolu.

1. Giriş

Türkiye, bitki çeşitliliği konusunda oldukça zengin ve özel bir konuma sahiptir. Coğrafik konumu, fitocoğrafik özellikleri, iklimatik ve edafik çeşitliliği nedeniyle, barındırdığı endemik türler bakımından dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır (Davis & Hedge, 1975).

Çalışma alanlarımızın içerisinde yer aldığı Osmaniye ili, bitki coğrafyası açısından holoarktik flora alemi içerisinde olup, Doğu Akdeniz bölümünde bulunmaktadır. Jeobotanik açıdan bölgemiz Akdeniz sert yapraklı ormanları olarak tanımlanmıştır. Bölgemizde dikey yönde üç farklı vejetasyon kuşağı yer almaktadır. Bunlar; maki, orman ve orman üstü kuşaklarından oluşmaktadır (Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2016; Ortaç, 2017).

Araştırma alanına yakın bölgelerde benzer floristik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar; Altınözlü (2004) Adana Yumurtalık Lagünü'nden 65 familyaya ait 186 cins, 234 takson tespit etmiştir. Tespit edilen taksonlardan 3 tanesi endemik olup endemizm oranı %3.1'dir. Kavak (2006) Burnaz Kumulları'ndan 45 familyaya ait 147 cins, 229 takson tespit etmiştir. Tespit edilen taksonlardan 7 tanesi endemik olup endemizm oranı %3.05'dir. Akıncı

(2010), Akdağ ve Çevresi'nden 88 familyaya ait, 362 cins ve 739 takson tespit etmiştir. Tespit edilen taksonlardan 100 tanesi endemik olup endemizm oranı %13.6'dır. Paksoy ve Savran (2011), Sarımsak dağı ve Korkun Vadisi'nden 78 familyaya ait 315 cins ve 652 takson tespit etmiştir. Tespit edilen taksonlardan 135 tanesi endemik olup endemizm oranı %20.7'dir. Tatarlı Höyük'ünden, 38 familyaya ait 110 cins ve 149 takson tespit edilmiştir. Tespit edilen taksonlardan 3 tanesi endemik olup endemizm oranı %2'dir (Kavak, Talip, Aslan, Çakan, & Umut, 2012). Keskin (2014), Kızıldağ Yayla ve Çevresi'nden 75 familyaya ait 285 cins ve 574 takson tespit etmiştir. Tespit edilen taksonlardan 97 tanesi endemik olup endemizm oranı %16.8'dir. Tübives (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) verilerine göre Osmaniye ilinin tamamında toplam 443 takson tespit edilmiştir (Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2013). Tespit edilen bu taksonlardan 108 tanesi endemik olup endemizm oranı %24.3'dür.

Bu çalışmada Osmaniye ilinde bulunan Karatepe-Aslantaş Milli Parkı, Harun Reşit Kalesi, Haruniye Kaplıcaları ve Şarлак Şelalesi florası üzerine bir envanter çalışması yapmak, bu alanlarda ve Osmaniye ilinde yapılacak diğer araştırmalara katkı sağlamak amaçlanmıştır.

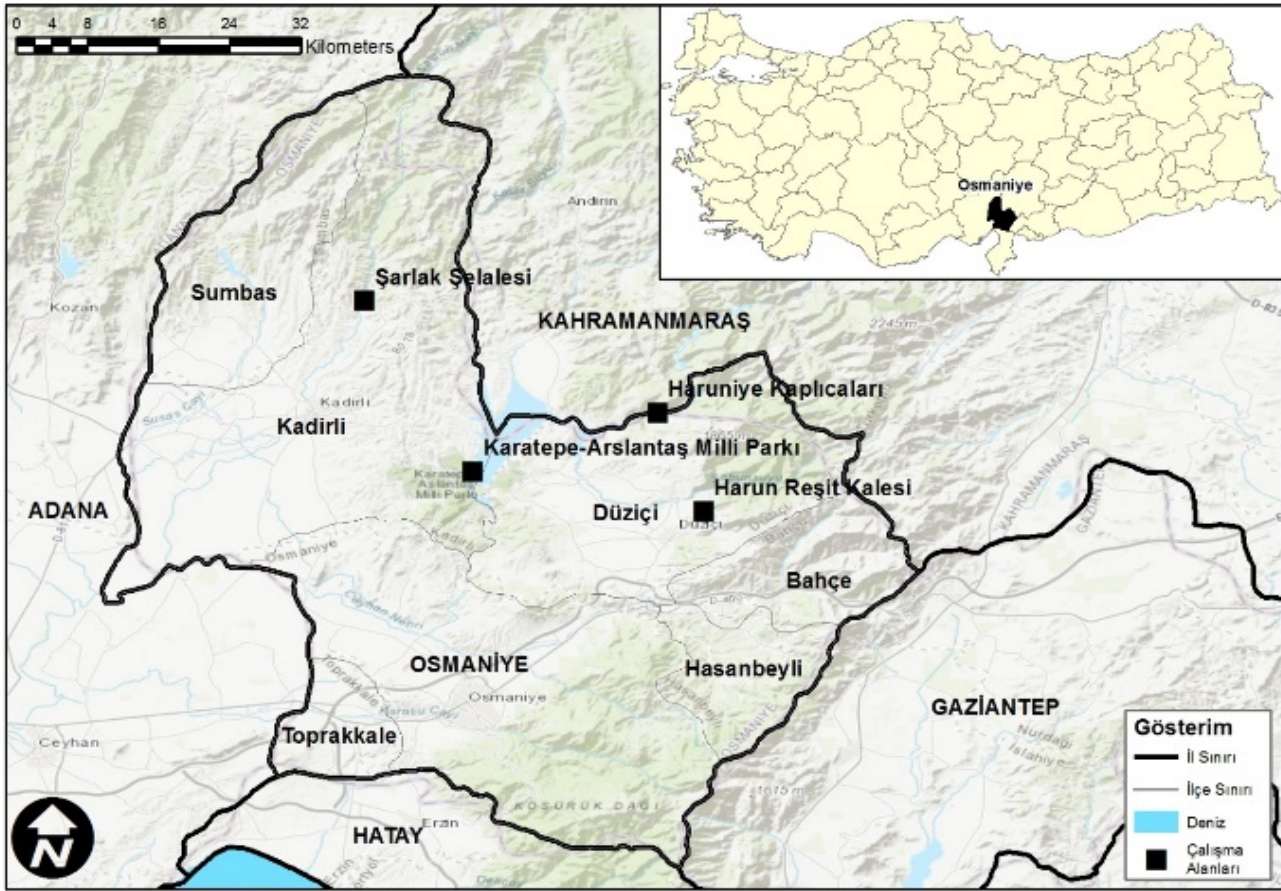
*Corresponding author: orto_19891989@yahoo.com.tr

2. Materyal ve Yöntem

Çalışma alanının materyalini 2015-2016 yılları arasında Osmaniye ilinde bulunan Karatepe-Aslantaş Milli Parkı, Harun Reşit Kalesi, Haruniye Kaplıcaları ve Şarлак Şelalesi çevresinden toplanan bitki örnekleri oluşturmaktadır. Çalışma alanlarına farklı vejetasyon dönemlerinde gidilmiş, toplanan bitki örnekleri herbaryum materyali olarak muhafaza edilmeye uygun olacak biçimde kurutulmuş ve preslenmiştir. Etiket bilgisi için gerekli notlar (adres, habitat, tarih vs.) alınmış ve toplanan bitki örnekleri herbaryum materyali haline getirilmiştir. Toplanan bitki örneklerinin teşhisi temel kaynaklardan (Davis, 1965-1985; Davis, Mill, & Tan, 1988; Güner, Özhatay, Ekim, & Başer, 2000) yararlanılarak yapılmıştır. Bitki örnekleri Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Herbaryumunda saklanmaktadır. Tespit edilen bitki

örneklerinin tehlike kategorileri ve Türkçe isimleri yazılmıştır (Vural, 2006; Güner, Aslan, Ekim, Vural, & Babaç, 2012).

Araştırma alanlarının florasını meydana getiren taksonlar ile Tübvices (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) verilerinde yer alan taksonlardan aynı olanları (*) işareti ile işaretlenmiştir. Taksonların ait oldukları güncel familyalar, alfabetik sıraya göre listelenmiştir. Tespit edilen taksonlar; listede sırasıyla; familya ismi, güncel bilimsel adı, fitocoğrafik bölgesi, endemizm durumu/tehlike kategorisi ve Türkçe adı şeklinde verilmiştir. Örnek toplanan adresler numaralarla gösterilmiştir. Bu adresler: 1: Harun Reşit Kalesi, 2: Haruniye Kaplıcaları, 3: Karatepe-Aslantaş Milli Parkı, 4: Şarлак Şelalesi'dir (Tablo 1).



Şekil 1. Araştırma alanlarının konumu.

3. Bulgular

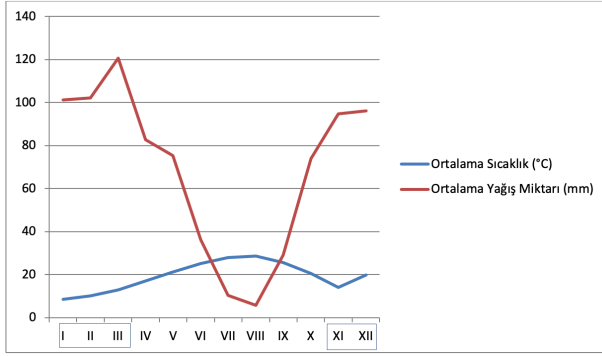
Çalışma alanlarının tamamı Osmaniye ilinde ve Davis (1965-1985)'in kullandığı grid sistemine göre "C6" karesinde yer almaktadır. Harun Reşit Kalesi ve Haruniye kaplıcaları Düziçi İlçesinde, Karatepe-Aslantaş Milli Parkı Düziçi-Kadırlı ve Şarлак Şelalesi Sumbas-Kadırlı İlçeleri arasında bulunur (Şekil 1).

Harun Reşit Kalesi kalker kayalıklardan oluşan bir tepe üzerine kurulmuştur. Alandaki bitki örtüsü tipik maki elemanlarından oluşmaktadır. Haruniye Kaplıcaları Ceyhan nehir yatağı kıyısında bulunmaktadır. Alanın bir kenarı dere vejetasyonu özelliği göstermektedir. Diğer kısımlar konifer orman ve maki elemanlarından oluşmaktadır. Karatepe-Aslantaş Milli Parkı baraj kenarında olup, sucül ve konifer orman habitatının hâkim

olduğu peyzaj değeri yüksek bir alandır. Şarлак şelalesi ise, Kesiksuyu çayı üzerinde bulunmaktadır. Araştırma kapsamına giren bu alanlarda genel olarak kaya, sucül ve konifer orman vejetasyonu gözlenir (Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2016).

Osmaniye ili yıllık sıcaklık ortalaması 18.4°C'dir. Ortalama sıcaklıklar bakımından en soğuk ay 8.6°C ile ocak, en sıcak ay ise 28.5°C ile ağustostur. En sıcak ve en soğuk ay arasında 19.9°C'lik fark vardır. Araştırma alanlarında ortalama yıllık yağış miktarı 827.6 mm'dir. En fazla yağış 120.5 mm ile mart ayında, en az yağış ise 5.7 mm ile ağustos ayında ölçülmüştür. En fazla ve en az yağış arasında 114.8 mm fark vardır. Mevsimsel olarak yıllık toplam yağışın %36.2'sinin kışın, %33.6'sının ilkbahar, %23.9'unun sonbahar ve %6.3'ünün de yazın düştüğü rapor edilmiştir (Meteoroloji Genel Müdürlüğü, 2019).

Araştırma alanının iklim diyagramı Meteoroloji Genel Müdürlüğü (2019)'nden elde edilen 1981-2010 yılları arasındaki verilere göre hazırlanmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Osmaniye ilinin iklim diyagramı (Meteoroloji Genel Müdürlüğü, 2019).

4. Tartışma

Araştırma alanlarından toplanan bitkilerin teşhisi sonucu; 59 familya ve 139 cinse ait toplam 135 tür, 23 alttür ve 6 varyete olmak üzere toplam 164 takson tespit edilmiştir.

Tespit edilen bu taksonlardan 15'i endemik olup, araştırılan alanların endemizm oranı %9.1'dir. Araştırma alanında tanımlanan taksonlardan 30 tanesi Tübes verilerinde yer alan taksonlarla aynı olup 134 tanesi farklıdır. Çakışan 30 taksondan 7 tanesi endemik olup 8 tanesi ise farklıdır. Tespit edilen taksonların fitocoğrafik bölgelere dağılımı şöyledir: Akdeniz (Doğu Akdeniz dahil) 63 takson (%38.4), Avrupa-Sibirya 10 takson (%6.1), İran-Turan 7 takson (%4.3), Geniş yayılışlı 39 takson (%23.8) ve bilinmeyen 45 (%27.4) takson (Tablo 2). Akdeniz fitocoğrafik bölge elementi olan taksonların fazlalığı, araştırma alanlarının tamamının bu bölgede olmasının doğal bir sonucu olarak değerlendirilmiştir (Tablo 2).

Araştırma alanında tespit edilen 15 endemik taksondan 11'i Akdeniz ve 2'si İran-Turan fitocoğrafik bölge elementidir. 2 taksonun ise fitocoğrafik bölgesi belli değildir. Tespit edilen endemik taksonlar, dâhil edildikleri tehlike kategorileri bakımından gruplandırıldığında; 1 taksonun CR (kritik), 1 taksonun VU (zarar görülebilir), 6 taksonun NT (tehdit altına girebilir) ve 7 taksonun LC (en az endişe verici) kategorisinde olduğu tespit edilmiştir (Vural, 2006).

Tablo 1. Araştırma alanında tespit edilen bitki listesi

Familya	Bilimsel Ad	Fitocoğrafik Bölge	Endemizm /Tehlike kategorisi	Türkçe Ad	Adres
Adoxaceae	<i>Sambucus ebulus</i> L.	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Mürver otu	1, 2
Amaryllidaceae	<i>Allium neapolitanum</i> Cirillo	Akdeniz Elementi	- /	Sarımsak çiçeği	3
Anacardiaceae	<i>Cotinus coggygia</i> Scop.	-	- /	Boyacı somağı (Sarı kök, Sarı odun)	2, 3
	<i>Pistacia palaestina</i> Boiss.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Menengiç	1, 2, 3, 4
	<i>Rhus coriaria</i> L.	-	- /	Somak	1
Apiaceae	<i>Eryngium campestre</i> L. var. <i>virens</i> (Link) Weins	Geniş Yayılışlı	- /	Yerkestanesi	3
	<i>E. falcatum</i> F.Delaroche	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Çatal boğadikeni	3, 4
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Zakkum	2, 4
Araliaceae	<i>Hedera helix</i> L.	-	- /	Duvar sarmaşığı	1, 2, 3
Asparagaceae	<i>Asparagus acutifolius</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Tilkişen	1, 2, 3, 4
	* <i>Muscari parviflorum</i> Desf.	Akdeniz Elementi	- /	Güz müşkürümü	3
	<i>M. babachii</i> Eker & Koyuncu	Akdeniz Elementi	+ / CR	Tekin Sümbülü	1, 2
	<i>Prospera autumnale</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Güz Sümbülü	1, 3
	* <i>Ruscus aculeatus</i> L.	-	- /	Tavşanmemesi	1, 2, 3, 4
Astereceae	<i>Bellis perennis</i> L.	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Koyungözüotu	1, 3, 4
	<i>Carduus pycnocephalus</i> L. subsp. <i>albidus</i> (M.Bieb.) Kazmi	Geniş Yayılışlı	- /	Eşek soymacı	1, 4
	<i>Centaurea iberica</i> Trevir. ex Spreng.	Geniş Yayılışlı	- /	Deligözdikeni	4
	* <i>C. lycopifolia</i> Boiss. & Kotschy	Doğu Akdeniz Elementi	+ / NT	Cerrah Otu	1, 2, 4
	<i>C. solstitialis</i> L. subsp. <i>solstitialis</i>	Geniş Yayılışlı	- /	Çakırdikeni	2, 4
	<i>Cichorium intybus</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Hindiba	4
	* <i>Doronicum orientale</i> Hoffm.	Geniş Yayılışlı	- /	Kaplan otu	1, 3
	<i>Echinops ritro</i> L.	-	- /	Topuz	3
	<i>Inula viscosa</i> (L.) Aiton	Akdeniz Elementi	- /	Andizotu	1, 2, 3
	<i>Notobasis syriaca</i> (L.) Cass	Akdeniz Elementi	- /	Yavan kenger	4
	<i>Picnoman acarna</i> (L.) Cass.	Akdeniz Elementi	- /	Kılıç diken	1
	<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	Akdeniz Elementi	- /	Devedikeni	1
	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	-	- /	Eşek gevreği	2
Boraginaceae	* <i>Alkanna kotschyana</i> DC.	Doğu Akdeniz Elementi	+ / LC	Meşe havacıvası	3
	<i>Cynoglossum creticum</i> Mill.	-	- /	Pisik tetiği	1, 3
	<i>C. montanum</i> L.	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Dağ köpek dilisi	1
	<i>Heliotropium europaeum</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Akrep otu	1
Brassicaceae	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	Geniş Yayılışlı	- /	Çobançantası	1
	<i>Fibigia clypeata</i> (L.) Medik. subsp. <i>clypeata</i> var. <i>ericarpa</i> (DC.) Post	-	- /	Sikkeotu	1
	<i>Nasturtium officinale</i> R.Br.	Geniş Yayılışlı	- /	Su teresi	4
	<i>Neslia paniculata</i> (L.) Desv. subsp. <i>thracica</i> (Velen.) Bornm	Geniş Yayılışlı	- /	Göçmenhardalı	1, 4
	<i>Raphanus raphanistrum</i> L. subsp. <i>raphanistrum</i> .	Geniş Yayılışlı	- /	Eşek turpu	1
	<i>Sinapis arvensis</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Hardal	1
	<i>Thlaspi cilicicum</i> (Boiss.) Hayek	-	+ / NT	Şeytan dağarcığı	1

Familya	Bilimsel Ad	Fitocoğrafik Bölge	Endemizm /Tehlike kategorisi	Türkçe Ad	Adres
Campanulaceae	<i>*Campanula rapunculoides</i> Ls	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Elmacık	4
	<i>*C. strigosa</i> Banks & Sol.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Kıraç çanı	4
	<i>*Michauxia campanuloides</i> L'Herit ex Aiton	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Keşir	1
Cannabaceae	<i>Celtis planchoniana</i> K.L.Chr.	Geniş Yayılışlı	- /	Dahum	2, 3
	<i>Humulus lupulus</i> L.	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Şerbetçiotu	1
Capparaceae	<i>Capparis spinosa</i> L.a	-	- /	Kebere	2
Caprifoliaceae	<i>Cephalaria taurica</i> Szabo	-	+ / VU	Kırım pelemiri	1, 2
	<i>Scabiosa rotata</i> M.Bieb.	İran-Turan Elementi	- /	Top uyuzotu	1
Caryophyllaceae	<i>*Dianthus zonatus</i> Fenzl var. <i>zonatus</i>	-	- /	Kaya karanfili	1
	<i>Silene colorata</i> Poir.	-	- /	Kum nakılı	1
	<i>S. viscosa</i> (L.) Pers.	-	- /	Konya gıvışkanı	2
Cistaceae	<i>Cistus creticus</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Laden	1, 2, 3
	<i>C. salvifolius</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Kartli	2, 3
	<i>Helianthemum nummularium</i> (L.) Mill. subsp. <i>nummularium</i>	-	- /	Güngülü	1
Colchicaceae	<i>*Colchicum cilicicum</i> (Boiss.) Dammer	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Ayıçığıdemi	3
Corylaceae	<i>Corylus avellana</i> L. var. <i>avellana</i>	Avrupa Sibirya Elementi	- /	Fındık	1
	<i>Ostrya carpinifolia</i> Scop.	Akdeniz Elementi	- /	Firek	1, 4
Crassulaceae	<i>Umbilicus luteus</i> (Huds.) Webb & Berthel.	-	- /	Dik Göbek Otu	2
Cupressaceae	<i>Juniperus oxycedrus</i> L. subsp. <i>oxycedrus</i>	Geniş Yayılışlı	- /	KatranArdıcı	1
Datisceae	<i>Datisca cannabina</i> L.	-	- /	Renk otu	2, 3, 4
Demnstaedtiaceae	<i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.	-	- /	Eğrelti	2
Elaeagnaceae	<i>Elaeagnus angustifolia</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	İğde	3
Ericaceae	<i>*Arbutus andrachne</i> L.	-	- /	Sandal ağacı	2
	<i>A. unedo</i> L.	-	- /	Kocayemiş	3, 4
	<i>Erica manipuliflora</i> Salisb.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Püren	3
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia helioscopia</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Feriban otu	1
	<i>E. aleppica</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Haşul	2
Fabaceae	<i>Astragalus hamosus</i> L.	-	- /	Koçboynuzu	3
	<i>*A. schizopterus</i> Boiss.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Kedi çomağı	1, 4
	<i>*Calicitome villosa</i> (Poir.) Link	Akdeniz Elementi	- /	Keçi boğan	3
	<i>*Cercis sliquastrum</i> L. subsp. <i>hebecarpa</i> (Bornm.) Yalt.	-	- /	Zazalak	3, 4
	<i>Colutea cilicica</i> Boiss. & Balansa	Geniş Yayılışlı	- /	Patlangaç	1, 2
	<i>Cytisus drepanolobus</i> Boiss.	Doğu Akdeniz Elementi	+ / NT	Has kuşçubuğu	3
	<i>Dorycnium hirsutum</i> (L.) Ser.	Akdeniz Elementi	- /	Kıllı kaplanotu	3
	<i>*D. pentaphyllum</i> Scop. subsp. <i>haussknechtii</i> (Boiss.) Gams	İran-Turan Elementi	+ / LC	Gervenük	2, 3
	<i>Genista januensis</i> Boiss. subsp. <i>lydia</i> (Boiss.) Kit Tan & Ziel.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Katırtırnağı	3
	<i>*Glycyrrhiza flavescens</i> Boiss.	Doğu Akdeniz Elementi	+ / NT	Sarı meyan	3
	<i>Hammatolobium lotoides</i> Fenzl	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Alagazal boynuzu	3
	<i>Hippocrepis emerus</i> L. subsp. <i>emeroides</i> (Boiss. & Spruner) Lassen	-	- /	Yalancı burçak	1, 2, 3
	<i>Lathyrus aphaca</i> L. var. <i>biflorus</i> Post	Geniş Yayılışlı	- /	Mürdümük	1, 2
	<i>*Lathyrus variabilis</i> (Boiss. & Kotschy) Celak.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Bayır burçağı	3
	<i>Lotus cytisoides</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Sepik tırfılı	3
	<i>Onobrychis gracilis</i> Besser	-	- /	Zarif korunga	3
	<i>Pisum sativum</i> L. subsp. <i>elatius</i> (M.Bieb.) Aschers. & Graebn var. <i>elatius</i>	Akdeniz Elementi	- /	Boylu bezelye	2
	<i>Bituminaria bituminosa</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Asfaltotu	1, 2
	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	-	- /	Yalancı akasya	1
	<i>Securigera cretica</i> (L.) Lassen	Akdeniz Elementi	- /	Yalancı otu	1, 3
	<i>S. grandiflora</i> Lassen	Doğu Akdeniz Elementi	+ / LC	Yalancı manolya	1, 2
	<i>S. varia</i> (L.) Lassen	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Taş Yoncası	1
	<i>Spartium junceum</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Katır Tırnağı	3, 4
<i>Trifolium repens</i> L. var. <i>repens</i>	-	- /	Ak Üçgül	3	
<i>Vicia cracca</i> L. subsp. <i>stenophylla</i> Vel.	Geniş Yayılışlı	- /	Meşe fiği	3	
<i>V. hybrida</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Melez bakla	1	
Fagaceae	<i>Quercus brantii</i> Lindley	İran-Turan Elementi	- /	Kara meşe	3
	<i>Q. cerris</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Saçlı meşesi	1, 3, 4
	<i>Q. coccifera</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Kermes meşesi	1, 2, 3
Gentianaceae	<i>Centaurium pulchellum</i> (Sw.) Druce	Geniş yayılışlı	- /	Pembe Tukul	2
Geraniaceae	<i>Erodium gruinum</i> L.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Kargadıdağı	4
	<i>Geranium lucidum</i> L.	-	- /	Dakka otu	1, 4
Hypericaceae	<i>Hypericum perforatum</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Binbirdelikotu	2, 3, 4
	<i>*H. thymifolium</i> Banks & Sol.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Çam kantaronu	1
Iridaceae	<i>Gladiolus italicus</i> Mill.	-	- /	Kılıç otu	3
Juglandaceae	<i>Juglans regia</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Ceviz	1
Juncaceae	<i>*Juncus inflexus</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Sazak	4
Lamiaceae	<i>Ajuga orientalis</i> L.	-	- /	Dağ mayasılı	1, 4

Familya	Bilimsel Ad	Fitocoğrafik Bölge	Endemizm /Tehlike kategorisi	Türkçe Ad	Adres
	<i>*Lamium maculatum</i> L.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Benlibalcak	1
	<i>Mentha longifolia</i> (L.)Huds. subsp. <i>typhoides</i> (Briq.) Harley	Geniş Yayılışlı	- /	Dere nanesi	4
	<i>Micromeria myrtifolia</i> Boiss. & Hohen.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Boğumluçay	3, 4
	<i>*Origanum laevigatum</i> Boiss.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Kır mercanı	1
	<i>O. onites</i> L.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Bilyalı kekik	1, 2, 3
	<i>*Prunella vulgaris</i> L.	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Gelincikleme otu	3, 4
	<i>Salvia fruticosa</i> Mill.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Adaçayı	1
	<i>S. verbenaca</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Elma kekiği	3
	<i>*S. viridis</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Zarifşalba	2, 3, 4
	<i>*Stachys amanica</i> P.H.Davis	Doğu Akdeniz Elementi	+ / NT	Kalın karabaş	1
	<i>S. rupestris</i> Montbret & Aucher ex Benth.	Doğu Akdeniz Elementi	+ / LC	Bodur deliçay	2, 4
	<i>Vitex agnus-castus</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Hayıt	3, 4
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Defne	2, 3, 4
Linaceae	<i>Linum hirsutum</i> L. subsp. <i>pseudoanatolicum</i> P.H.Davis	İran-Turan Elementi	+ / LC	Bozkır keteni	1, 2
Lythraceae	<i>Punica granatum</i> L.	-	- /	Nar	1, 2, 4
Malvaceae	<i>Alcea digitata</i> (Boiss.) Alef.	İran-Turan Elementi	- /	Boylu hatmi	1
	<i>Malva sylvestris</i> L.	-	- /	Ebegümece	1, 4
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L. subsp. <i>carica</i>	Geniş Yayılışlı	- /	İncir	1, 2, 3, 4
	<i>Morus alba</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Akdut	1
Myrtaceae	<i>Myrtus communis</i> L. subsp. <i>communis</i>	-	- /	Mersin	2, 3
Oleaceae	<i>Fontanesia phylliraeoides</i> Labill.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Cilbirtı	2, 3, 4
	<i>Fraxinus ornus</i> L. subsp. <i>cilicica</i>	Doğu Akdeniz Elementi	+ / LC	Toros dişbuduğu	1, 3
	<i>Jasminum fruticans</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Boruk	1, 2, 3
	<i>Olea europaea</i> L.	-	- /	Zeytin	2
	<i>O. europaea</i> L. subsp. <i>europaea</i>	Akdeniz Elementi	- /	Zeytin	3
	<i>*Phillyrea latifolia</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Akçakesme	2, 3, 4
Orchidaceae	<i>Ophrys speculum</i> Link subsp. <i>speculum</i>	Akdeniz Elementi	- /	Ayna salebi	3
Papaveraceae	<i>Papaver rhoeas</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Gelincik	1, 2
	<i>P. syriacum</i> Boiss. & Blanche	-	- /	Kellinar	2
Pinaceae	<i>Pinus brutia</i> Ten.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Kızılçam	2, 3
	<i>P. pinea</i> L.	GenişYayıllı	- /	Fıstık çamı	2
Plantaginaceae	<i>Anarrhinum orientale</i> Benth.	İran-Turan Elementi	- /	Süpürge otu	1
	<i>Plantago lanceolata</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Damarlıca	3
	<i>P. major</i> L. subsp. <i>major</i>	-	- /	Sinir otu	4
	<i>Veronica kotschyana</i> Benth.	Doğu Akdeniz Elementi	+ / NT	Kaya mavişi	1
Platanaceae	<i>Platanus orientalis</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Çınar	2, 3, 4
Poaceae	<i>Arundo donax</i> L.	-	- /	Kargı	3
	<i>Avena sterilis</i> L. subsp. <i>ludoviciana</i> (Durieu) Gillet et Magne	-	- /	Horazotu	1
	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>glomerata</i>	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Domuzayrığı	1, 2, 3
	<i>Hordeum bulbosum</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Boncuk arpa	1
	<i>Pennisetum orientale</i> Rich.	İran-Turan Elementi	- /	Fiskiye otu	3
	<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Kamış	3
Polygonaceae	<i>Rumex crispus</i> L.	-	- /	Labada	4
Pteridaceae	<i>Adiantum capillus-veneris</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Baldırıkara	2, 4
Ranunculaceae	<i>*Thalictrum orientale</i> Boiss.	Doğu Akdeniz Elementi	- /	Zarif kaytaran	2
	<i>*Clematis cirrhosa</i> L.	Akdeniz Elementi	- /	Bahar sarmaşığı	3
Rhamnaceae	<i>Paliurus spina-christi</i> Mill.	-	- /	Karaçalı	1, 3, 4
Rosaceae	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq. var. <i>monogyna</i>	Geniş Yayılışlı	- /	Yemişen	3, 4
	<i>Geum urbanum</i> L.	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Meryem otu	1
	<i>*Potentilla calycina</i> Boiss. and Balansa	DoğuAkdeniz Elementi	+ / LC	İçel parmakotu	1
	<i>Pyracantha coccinea</i> M.Roem.	-	- /	Ateş dikeni	4
	<i>Rosa canina</i> L.	-	- /	Kuşburnu	1
	<i>Rubus sanctus</i> Schreb.	Geniş Yayılışlı	- /	Böğürtlen	1, 2, 3, 4
	<i>Sanguisorba minor</i> Scop. subsp. <i>minor</i>	Geniş Yayılışlı	- /	Çayır düğmesi	1
Smilacaceae	<i>*Smilax aspera</i> L.	-	- /	Gıcır Dikeni	1, 2, 3, 4
Styracaceae	<i>Styrax officinalis</i> L.	-	- /	Ayıfındığı	1, 3, 4
Tamaricaceae	<i>Tamarix smyrnensis</i> Bunge	-	- /	İlgün	3
Ulmaceae	<i>Ulmus glabra</i> Huds.	Avrupa-Sibirya Elementi	- /	Dağ karağacı	1
Urticaceae	<i>*Parietaria judaica</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Duvar fesleğeni	2, 4
Verbenaceae	<i>Verbena officinalis</i> L.	Geniş Yayılışlı	- /	Mineçiçeği	2
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i> L.	-	- /	Asma	1, 2

Araştırma alanı ve yakın bölgelerde yapılan floristik çalışmalarda tespit edilen endemizm oranları bakımından bir karşılaştırma yapıldığında, en yüksek endemizm oranının %24.38 ile Osmaniye Doğa Turizmi Master Planı çalışmasında, en düşük oranının ise %1.3 ile Adana

Yumurtalık Lagününde sında olduğu görülmüştür (Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2013; Altınözlü, 2004). Osmaniye Doğa Turizmi Master Planı adlı çalışmada endemizm oranının yüksek çıkması, bölgenin yükselti ve habitat bakımından çok çeşitliliğe sahip olmasıyla açıklanabilir (Tablo 3).

Araştırma alanları ile yakın bölgelerde yapılan floristik çalışmalarda tespit edilen taksonlar, fitocoğrafik bölgelere göre dağılımı bakımından kıyaslandığında Sarımsak Dağı ve Korkun Vadisi adlı çalışma hariç diğer çalışmalarda Akdeniz fitocoğrafik bölge elementinin yüksek olduğu görülmüştür (Altınözlü, 2004; Kavak, 2006; Akıncı, 2010; Paksoy, & Savran, 2011; Kavak et al., 2012; Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2013; Keskin, 2014). Bu durum, söz konusu alanların Akdeniz bölgesinde yer alması şeklinde açıklanabilir (Tablo 4).

Araştırma alanları ile yakın bölgelerinde yapılan floristik çalışmalar, en çok takson içeren familyalar bakımından kıyaslandığında Adana Yumurtalık Lagünü, Burnaz Kumulları ve Osmaniye Doğa Turizmi Master Planı adlı çalışmalarda Fabaceae familyasının ilk sırada, diğer tüm çalışmalarda ise Asteraceae familyasının ilk sırada yer aldığı görülmüştür (Altınözlü, 2004; Kavak, 2006; Akıncı, 2010; Paksoy & Savran, 2011; Kavak et al., 2012; Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2013; Keskin, 2014). İlk iki sırada çıkan Fabaceae ve Asteraceae familyaları Davis (1965-1985)'e göre içerdikleri takson sayıları bakımından yine ilk iki sırada bulunmaktadır (Tablo 5).

Araştırma alanları ile yakın bölgelerde yapılan floristik çalışmalar en çok takson içeren cinsler bakımından kıyaslandığında, araştırma alanında ilk dört sırada 3 taksonla *Securigera* DC., *Centaurea* L., *Quercus* L. ve *Salvia* L. cinsleri yer almaktadır. Bu cinslere ait takson sayıları, yakın bölgelerde yapılan floristik çalışmalarda tespit edilen cinslere ait takson sayısına göre nispeten benzerlik göstermektedir (Altınözlü, 2004; Kavak, 2006; Akıncı, 2010; Paksoy & Savran, 2011; Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2013; Keskin, 2014). Tatarlı Höyük (Kavak et al., 2012) çalışmasında ilk 4 sırada yer alan cinslerin herhangi bir benzerlik göstermemesi habitat farklılığı ve Höyük etrafında bulunan yerleşim alanlarının fazlalığı ile açıklanabilir (Tablo 6). Araştırma alanlarımız korunan

alan statüsünde (Sit Alanları) olduğundan floristik kompozisyonu tehdit eden herhangi bir olguya rastlanmamıştır.

Tablo 2. Araştırma alanında tespit edilen taksonların fitocoğrafik bölgelere göre dağılımları

Fitocoğrafik Elementi	Takson Sayısı	Oranı
Akdeniz	63	%38.4
Avrupa-Sibirya	10	%6.1
İran-Turan	7	%4.3
Geniş Yayılışlı	39	%23.8
Bilinmeyenler	45	%27.4
Toplam	164	%100

Tablo 3. Araştırma alanı ve yakın bölgelerinde yapılan çalışmaların endemizm oranları

No	Araştırma Alanı	Endemizm Oranı
1	Araştırma alanımız	%9.1
2	Adana Yumurtalık Lagünü (Altınözlü, 2004)	%1.3
3	Burnaz Kumulları (Kavak, 2006)	%3.05
4	Akdağ ve Çevresi (Akıncı, 2010)	%13.6
5	Sarımsak dağı ve Korkun Vadisi (Paksoy & Savran, 2011)	%20.7
6	Tatarlı Höyük (Kavak et al., 2012)	%2
7	Osmaniye Doğa Turizmi Master Planı (Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2013)	%24.38
8	Kızıldağ Yayla ve Çevresi (Keskin, 2014)	%16.8

Teşekkür: Bu çalışmanın bir kısmı ikinci yazar olan İshak ORTAÇ'ın yüksek lisans çalışmasından ve Adıyaman Üniversitesine ait FEFYL-2016-0010nolu BAP projesi sonuç raporundan alınmıştır. Diğer kısmı ise T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığının 2014/151078 nolu Ekolojik Temelli Bilimsel Araştırma Projesinden üretilmiştir. Maddi destekte bulunan her iki kuruma teşekkür ederiz.

Tablo 4. Araştırma alanı ve yakın bölgelerinde yapılan çalışmalardaki taksonların fitocoğrafik bölgelere dağılım oranları

No	Araştırma Alanı	Akdeniz elementi	Avrupa-Sibirya elementi	İran-Turan elementi	Geniş Yayılışlı ve bilinmeyenler
1	Araştırma alanımız	%38.4	%6.1	%4.3	%51.2
2	Adana Yumurtalık Lagünü (Altınözlü, 2004)	%17.4	%2.6	%2.6	%77.1
3	Burnaz Kumulları (Kavak, 2006)	%29.26	%5.24	%3.06	%62.45
4	Akdağ ve Çevresi (Akıncı, 2010)	%19.4	%5.1	%16.9	%58.6
5	Sarımsak dağı ve Korkun Vadisi (Paksoy & Savran, 2011)	%18.9	%3.45	%24.6	%53.05
6	Tatarlı Höyük (Kavak et al., 2012)	%33	%5	%3	%59
7	Osmaniye Doğa Turizmi Master Planı (Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2013)	-	-	-	-
8	Kızıldağ Yayla ve Çevresi (Keskin, 2014)	%18.8	%4.1	%17.2	%59.9

Tablo 5. Araştırma alanı ve yakın bölgelerinde yapılan çalışmalarda en çok takson içeren familyalar

No	Araştırma Alanı	Fabaceae	Asteraceae	Lamiaceae	Brassicaceae	Rosaceae
1	Araştırma alanımız	26	13	13	7	7
2	Adana Yumurtalık Lagünü (Altınözlü, 2004)	41	26	7	6	3
3	Burnaz Kumulları (Kavak, 2006)	48	27	5	7	2
4	Akdağ ve Çevresi (Akıncı, 2010)	72	97	53	61	19
5	Sarımsak dağı ve Korkun Vadisi (Paksoy & Savran, 2011)	70	82	46	51	17
6	Tatarlı Höyük (Kavak et al., 2012)	13	23	-	-	-
7	Osmaniye Doğa Turizmi Master Planı (Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2013-2023)	20	15	13	2	3
8	Kızıldağ Yayla ve Çevresi (Keskin, 2014)	55	67	44	54	28

Tablo 6. Araştırma alanı ve yakın bölgelerinde yapılan çalışmalarda en çok takson içeren cinsler

No	Araştırma Alanı	<i>Securigera</i>	<i>Centaurea</i>	<i>Quercus</i>	<i>Salvia</i>
1	Araştırma alanımız	3	3	3	3
2	Adana Yumurtalık Lagünü (Altınözlü, 2004)	1	1	1	2
3	Burnaz Kumulları (Kavak, 2006)	-	1	-	1
4	Akdağ ve Çevresi (Akıncı, 2010)	3	9	5	13
5	Sarımsak dağı ve Korkun Vadisi (Paksoy & Savran, 2011)	2	12	4	14
6	Tatarlı Höyük (Kavak et al., 2012)	-	-	-	-
7	Osmaniye Doğa Turizmi Master Planı (Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2013-2023)	1	6	2	2
8	Kızıldağ Yayla ve Çevresi (Keskin, 2014)	3	7	1	10

References

- Akıncı, H. (2010). *Akdağ (Pozantı-Adana) ve Çevresinin Florası* (Yüksek Lisans Tezi), Niğde Üniversitesi, Niğde, Türkiye.
- Altınözlü, H. (2004). Flora of the Natural Conservation Area in Adana-Yumurtalık Lagoon (Turkey). *Tubitak*, 28, 491-506.
- Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (2016). Adana, Hatay, Mersin, Kahramanmaraş, Osmaniye, Gaziantep ve Kilis İlleri Doğal Sit Alanlarının Ekolojik Temelli Bilimsel Araştırma Projesi (BAP), Yayınlanmamış Rapor (Proje No: 2014/151078), Ankara, Türkiye.
- Davis, P.H., & Hedge, I.C. (1975). *Flora of Turkey Past, Present and Future*, Candollea, Edinburgh, UK.
- Davis, P.H. (1965-1985). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol.1-9, Edinburgh, Edinburgh University Press., UK.
- Davis, P.H., Mill, R.R., & Tan, K., (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol.10, Edinburgh, Edinburgh University Press., 590 pp.
- Güner A., Özhatay N., Ekim T., & Başer K.H.C. (2000). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 11, Edinburgh, Edinburgh University Press., 656 pp.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, İstanbul, 1290 pp.
- Kavak, S. (2006). *Burnaz Kumullarının (Adana) Flora ve Vegetasyonu* (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Kavak, S., Talip, Ö., Aslan, F., Çakan, H., & Umut, Ş. (2012). Tatarlı Höyük (Ceyhan, Adana) Yüzeysel Florasının Etnobotaniksel Açısından Değerlendirilmesi. 21. *Ulusal Biyoloji Kongresi* (pp. 142-143). İzmir, Türkiye, Ankamat matbaacılık, 1454 pp.
- Keskin, A. (2014). *Kızıldağ Yayla (Adana) ve Çevresinin Florası* (Yüksek Lisans Tezi), Niğde Üniversitesi, Niğde, Türkiye.
- Meteoroloji Genel Müdürlüğü (2019). İllere ait Mevsim normalleri (1981-2010) [https://www.mgm.gov.tr/ veri degerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?m=OSMANIYE](https://www.mgm.gov.tr/veri-degerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?m=OSMANIYE).
- Orman ve Su İşleri Bakanlığı (2013). *Osmaniye Doğa Turizmi Master Planı (2013-2023)*, Doğa Koruma ve Milli Parklar VII. Bölge Müdürlüğü, Osmaniye, Türkiye.
- Ortaç, İ. (2017). *Doğu Akdeniz Bölgesinde Bulunan Bazı Doğal ve Kültürel Sit Alanlarının Bitki Örtüsü Üzerine Araştırmalar* (Yüksek Lisans Tezi), Adıyaman Üniversitesi, Adıyaman, Türkiye.
- Paksoy, M.Y., & Savran, A. (2011). The Flora of Sarımsak Mountain and Korkun Valley (Pozantı, Adana/Turkey), *Biological Diversity and Conservation*, 4(2), 155-171.
- Vural M. (2006) Türkiye'nin Kırmızı Liste Taslağı, Retrieved from: <http://portal.milliparklar.gov.tr>.

Cytotoxic Activities of the Crude Venoms of *Macrovipera lebetina lebetina* from Cyprus and *M. l. obtusa* from Turkey (Serpentes: Viperidae) on Human Umbilical Vein Endothelial Cells

Naşit İGÇİ^{1,2*}, F. Duygu ÖZEL DEMİRALP³ Mehmet Zülfü YILDIZ⁴

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts and Science, Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, 50300 Merkez, Nevşehir, Turkey

²Science and Technology Application and Research Center, Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, 50300 Merkez, Nevşehir, Turkey

³Department of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering, Ankara University, 06830 Gölbaşı, Ankara, Turkey

⁴Zoology Section, Department of Biology, Faculty of Arts and Science, Adıyaman University, 02040 Merkez, Adıyaman, Turkey

ORCID ID: Naşit İGÇİ: <https://orcid.org/0000-0001-6151-808X>; Duygu ÖZEL DEMİRALP: <https://orcid.org/0000-0002-1798-7951>; Mehmet Zülfü YILDIZ: <https://orcid.org/0000-0002-0091-6567>

Received: 06.12.2019

Accepted: 19.12.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: In this study, we used human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) as an in vitro model to compare the cytotoxic activities of the venoms of two *Macrovipera lebetina* subspecies, *M. l. obtusa* from southern Anatolia and *M. l. lebetina* from northern Cyprus. Well-established 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay was preferred to assess the cytotoxicity. Our results showed that venom reduced cell viability both in a time and dose-dependent manner. The cytotoxic effect of *M. l. lebetina* venom on HUVEC is reported for the first time in the present study.

Keywords: hemorrhage, HUVEC, levantine viper, toxinology.

Kıbrıs'tan *Macrovipera lebetina lebetina* ve Türkiye'den *M. l. obtusa* (Serpentes: Viperidae) Ham Zehirlerinin İnsan Kordon Veni Endotel Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri

Öz: Bu çalışmada, Kuzey Kıbrıs'tan *Macrovipera lebetina lebetina* ve güneydoğu Anadolu'dan *M. l. obtusa* olmak üzere iki *M. lebetina* alt türünün zehirlerinin (venomlarının) sitotoksik aktivitelerini karşılaştırmak için in vitro bir model olarak insan kordon veni endotel hücreleri (HUVEC) kullandık. Sitotoksik etkinin değerlendirilmesinde iyi bilinen bir yöntem olan 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromür (MTT) testi tercih edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları her iki zehirin de hücre canlılığını zamana ve doza bağlı olarak azalttığını göstermiştir. *M. l. lebetina* zehrinin HUVEC üzerindeki sitotoksik etkisi ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir.

Anahtar kelimeler: hemoraji, HUVEC, koca engerek, toksinoloji.

1. Introduction

Snake venom is a molecular cocktail stored in venom glands and consists mainly of proteins and peptides that are secreted from the specialized cells of the venom gland. Enzymes such as serine proteinase, metalloproteinase, phospholipase A₂ (PLA₂), L-amino acid oxidase (LAO), hyaluronidase, acetylcholinesterase, nucleotidase and other proteins/peptides such as disintegrin, C-type lectin (CLP), neurotoxins, cysteine-rich secretory protein (CRISP), bradykinin potentiating peptide (BPP), vascular endothelial growth factor (VEGF) and nerve growth factor (NGF) are prominent molecules found in snake venoms. Snake venoms have various biological activities including cytotoxic/anticancer, antimicrobial, anticoagulant, procoagulant, antiplatelet activities and neurotoxic effects (Chippaux, 2006; Mackessy, 2010; Igci & Demiralp, 2012).

Macrovipera lebetina (Linnaeus, 1758), blunt-nosed viper is the largest venomous viper species in Turkey and Cyprus. Its distribution ranges from northern Africa to Pakistan and from the Gulf of Oman to the Caspian Sea and Dagestan (Russia) with different subspecies. According to the latest accepted systematics, *M. l. obtusa* (Dwigubski, 1832) subspecies has a distribution in Anatolia whereas nominate taxon, *M. l. lebetina* (Linnaeus, 1758) occurs in Cyprus (Mallow, Ludwig, & Nilson, 2003). This species is distributed in southern, southeastern,

eastern, and northeastern Anatolia in Turkey, (Mallow et al., 2003; Budak & Göçmen, 2008; Sarıkaya, Yıldız, & Sezen, 2017).

Venomous snakebite is a neglected but important public health problem (Williams et al., 2010). Viperid venoms have proteins that interfere with the coagulation cascade and generally cause tissue damage resulting in hemorrhage (Chippaux, 2006). *M. lebetina* is one of the medicinally important vipers (Stümpel & Joger, 2009) in Anatolia and its venom affects the human hemostatic system, causes bleeding, edema, and necrosis (Göçmen, Arıkan, Özbel, Mermer, & Çiçek, 2006). Understanding the pathology of venomous snakebites will help develop more effective treatments. Vessel endothelial cells are one of the main targets of snake venoms (Baldo, Janora, Yamanouye, Zorn, & Moura-da-Silva, 2010). In this study, we aimed to assess the cytotoxic activity of the crude venom of *M. l. lebetina* from Cyprus against human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) as an in vitro model in comparison to *M. l. obtusa* venom from southeast Turkey.

2. Materials and Methods

2.1. Snake Venoms

Crude venom was extracted by letting vipers bite paraffin-covered laboratory beaker from two adult *M. l. obtusa*

*Corresponding author: igcinasit@yahoo.com.tr

(both male from Şanlıurfa and Diyarbakır provinces, southeastern Turkey) and two adult *M. l. lebetina* (one male, one female) from Turkish Republic of Northern Cyprus). Vipers were collected during the field trips between 2004 and 2009 and fed in terrariums. *M. l. obtusa* individuals were collected in April and May whereas *M. l. lebetina* individuals were collected in April and July. After extraction, venom samples were centrifuged at $2.000 \times g$ for 10 min at 4°C , supernatants were immediately frozen and lyophilized using a benchtop freeze-dryer (Millrock Technology).

2.2. Determination of the protein concentration

Protein concentrations of the reconstituted venom samples (3.8 mg/ml for each subspecies) were determined by the Bradford's Coomassie blue-based method using 96-well microtiter plate. Bovine serum albumin (BSA) was used as calibration standard and all standards and samples were measured at 595 nm wavelength using a multi-plate reader spectrophotometer (SpectraMax, Molecular Devices). All the samples and standards were measured in triplicate and mean values were used.

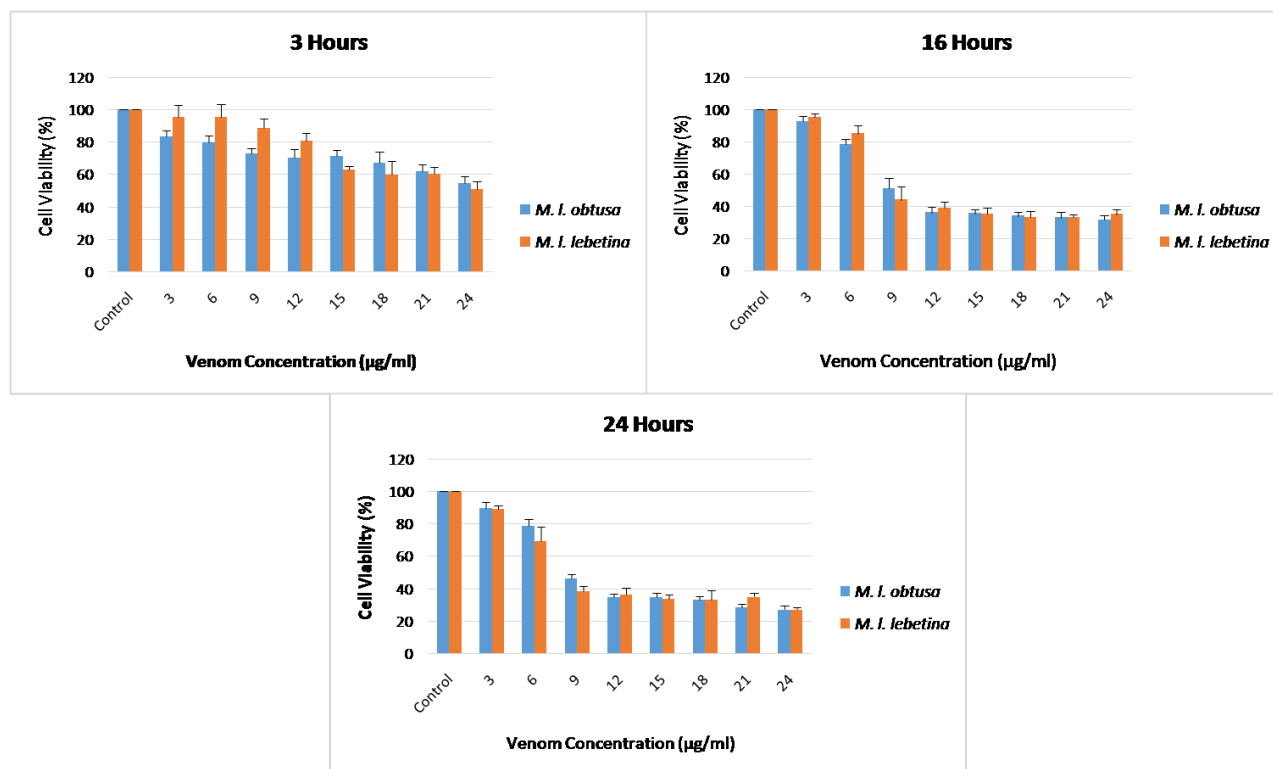


Figure 1. The cytotoxic effect of *M. l. lebetina* and *M. l. obtusa* crude venoms on HUVEC at different times.

2.3. Cell Culture Conditions

Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) (provided by Dr. Erkan YILMAZ, Ankara University Biotechnology Institute) were grown in M-199 medium (Lonza) supplemented with 10% fetal calf serum (HyClone), 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin (Sigma) and 2 mM L-glutamine at 37°C in a humidified incubator with 5% CO_2 . After initial culturing, 2×10^4 cells were seeded in 96-well cell culture plates in 100 µl of growth medium and incubated for 24 h to adhere. Lyophilized venom samples were reconstituted in deionized water and diluted using medium. 100 µl of venom samples were added to wells at a final concentration between 3–24 µg crude venom/ml and incubated for 3, 16 and 24 h. Only deionized water was added to negative control wells.

2.4. Cytotoxicity Assay

Assessment of the cytotoxicity was done using 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay, which measures mitochondrial reductase activity (Mosmann, 1983). For this purpose, MTT dye (Sigma) was reconstituted at 5 mg/ml concentration and added to wells. The plates were

incubated in the cell culture incubator for 3 h and 1 N HCl-20% isopropanol solution was added to dissolve formazan crystals. Measurement was done using a spectrophotometer at 570 nm wavelength. Six replicate wells were used for negative control and each venom concentrations and mean values were used for calculations. The viability percentages of the cells were calculated according to the following formula:

$$\% \text{ Viable cells} = \frac{[(\text{The absorbance of the treated cells}) - (\text{the absorbance of the blank})]}{[(\text{The absorbance of the control}) - (\text{the absorbance of the blank})]} \times 100$$

Inhibition of the growth by 50% (IC_{50}) was calculated using % viability values by plotting the data as sigmoidal curve and using a four parameter logistic model. The viability of negative control wells were set to 100%.

3. Results

Protein concentrations of stock venom solutions were found similar, which were 2.5 µg/µl for *M. l. lebetina* and 2.4 µg/µl for *M. l. obtusa*. Dose and time-dependent cytotoxic activity was observed for both venom samples with similar reduction rates. The highest venom dose (24 µg/ml) of *M. l. lebetina* and *M. l. obtusa* was reduced the cell viability by 49.0% and 45.7%, respectively after 3 h

treatment (Fig. 1). The results of 16 and 24 h treatments were similar but the % inhibition values were much higher than 3 h treatment. The highest venom dose (24 µg/ml) of *M. l. lebetina* and *M. l. obtusa* was reduced the cell viability by 65.0% and 68.3%, respectively after 16 h; whereas this value is 72.7% for both venoms after 24 h treatment (Fig. 1). The IC₅₀ values for 24 h were calculated as 7.32 and 6.28 µg/ml for *M. l. obtusa* and *M. l. lebetina* venoms, respectively (Table 1). The IC₅₀ value of *M. l. lebetina* venom at 24 h was slightly decreased compared to 16 h, while the value of *M. l. obtusa* venom did not change significantly between 16 and 24 h.

Table 1. Calculated IC₅₀ values of *M. l. lebetina* and *M. l. obtusa* crude venoms for their cytotoxic activities on HUVEC.

Taxa	Hours	
	16 hours	24 hours
<i>M. l. obtusa</i>	7.30	7.32
<i>M. l. lebetina</i>	7.19	6.28

4. Discussion

Snake venoms contain various proteins interacting with vessel endothelium and as a result of this interaction, persistent bleeding can be seen after a viper bite (Baldo et al. 2010). Edema, hemorrhage, and necrosis are the typical symptoms of a venomous bite of *M. lebetina* in humans (Göçmen et al., 2006). *M. lebetina* venom causes intracellular hemorrhage, mononuclear cell infiltration, and cellular degeneration in liver, kidney, and heart tissues of mice (Yücel, Ağan, & Hayretdağ, 2019). Histological investigations on mouse capillary blood vessels after injection of *Bothrops asper* venom also showed that Viperid venoms cause endothelial cell degeneration leading gaps in capillaries and hemorrhage (Moreira, Gutiérrez, Borkow, & Ovadia, 1992). The results of the present study showed that the venoms of two subspecies of *M. lebetina* have similar time and dose-dependent cytotoxic effect against HUVEC. The aforementioned activity of *M. l. lebetina* (subspecies of *M. lebetina* occurring in Cyprus) was reported for the first time with this study. Islands are isolated ecosystems and geographical variation can lead significant difference in the activity and toxicity of the venoms (Glenn, Straight, Wolfe, & Hardy, 1983). Therefore, it is important to compare the activities of venoms from different geographical origins. Although some viperid venoms do not possess strong cytotoxic activity against endothelial cells (Borkow, Lomonte, Gutiérrez, & Ovadia, 1994), our results showed that *M. l. lebetina* and *M. l. obtusa* venom could damage vessel endothelium in bite cases, corroborating previous studies (Borkow et al., 1994; Kakanj, Ghazi-Khansari, Mirakabadi, Daraei, & Vatanpour, 2015).

Macrovipera lebetina venom contains many bioactive proteins and peptides that interfere with blood coagulation cascade and cause tissue damage. Main protein/peptide families identified in the venoms of different subspecies of *M. lebetina* are as follows: metalloproteinase, serine proteinase, PLA₂, LAO, hyaluronidase, nucleotidase, disintegrin, CLP, CRISP, VEGF, NGF and BPP. Most abundant proteins in *M. lebetina* venom are serine and metalloproteinases and PLA₂s (Sanz, Ayvazyan, & Calvete, 2008; İğci & Demiralp, 2012; Siigur, Aaspöllu, & Siigur, 2019). The observed

cytotoxicity in the present study is a result of the combined activities of these proteins.

In addition to their role on the pathology of a venomous snakebite, bioactive proteins of *M. lebetina* venom interfere with various molecular pathways. Their specific activities make these proteins interesting tools which may have therapeutic and diagnostic potential. Metalloproteinases purified from *M. lebetina* venom have fibrin(ogen)olytic and factor X activating properties (Siigur et al., 2019). Additionally, a heterodimeric metalloproteinase purified from the venom of *M. lebetina* is known to induce apoptosis in HUVEC (Trummal et al., 2005). This protein inhibits the endothelial cell adhesion to extracellular matrix proteins such as fibrinogen, fibronectin, vitronectin, and collagen I and IV. Snake venom metalloproteinases also cause local tissue damage and hemorrhage (Gutiérrez & Rucavado, 2000). Serine proteinases purified from the venom of *M. lebetina* show fibrin(ogen)olytic, factor V activating and bradykinin-releasing activities. PLA₂s in snake venoms can possess neurotoxic, myotoxic, hemotoxic, anticoagulant, antiplatelet, and antibacterial activities. Disintegrins are another important protein family which is found especially in Viperid venoms. They are antagonists of various integrin receptors. Both monomeric and dimeric disintegrins have been purified and identified in *M. lebetina* venom (Siigur et al., 2019). Due to their antiplatelet and anticancer activities, disintegrins found in snake venoms have therapeutic value (Calderon et al., 2014). Additionally, metalloproteinases, LAOs, PLA₂s and CLPs in snake venoms show anti-cancer activities by interacting with various pathways (e.g. apoptosis induction) (Calderon et al., 2014).

Venom proteins of *M. l. lebetina* and *M. l. obtusa* were compared previously by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-PAGE) and significant differences were found. Protein spots of *M. l. obtusa* venom were identified by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry and the most prominent differences were seen in PLA₂ region (İğci & Demiralp, 2012). However, we did not observe remarkable difference between two subspecies regarding the cytotoxic activities on HUVEC cells. The main protein family responsible for the hemorrhage, endothelium, and local tissue damage in viper venoms is metalloproteinases (Gutiérrez & Rucavado, 2000; Baldo et al. 2010; Panfoli, Calzia, Ravera, & Morelli, 2010). Therefore, further studies should be performed especially focusing on the proteinases of *M. l. lebetina* and *M. l. obtusa* venoms.

Crude venom of *M. l. obtusa* showed dose-dependent cytotoxicity against some cancer cell lines, kidney epithelial cells from African green monkey (Vero), and human embryonic kidney 293 cells (HEK-293) in previous studies (Samel, Trummal, Siigur, & Siigur, 2012; Ozen, İğci, Yalçın, Göçmen, & Nalbantsoy, 2015; Jahromi, Mirakabadi, & Kamalzadeh, 2016; Süzergöz et al. 2016; Oghalaie, Kazemi-Lomedasht, Zareinejad, & Shahbazzadeh, 2017). Moreover, dose-dependent cytotoxic activity of *M. l. lebetina* venom against L929 mouse fibroblast cell line was also reported previously (Nalbantsoy et al., 2012). Kakanj et al. (2015) studied the cytotoxic effect of Iranian *M. lebetina* on HUVEC cells and determined the IC₅₀ value as 11.77 µg/ml after 24 h incubation using MTT assay. Venoms of Anatolian and Cypriot *M. lebetina* were found to be more potent with

lower IC₅₀ values (6.28 and 7.32 µg/ml) in the present study. Such intra-specific variation in snake venom composition and activity can be seen depending on the geographical origin of the samples (Glenn et al., 1983; Alape-Girón et al. 2008). Our study showed that endothelial cell disruption can contribute to the pathology of venomous bites caused by both Anatolian and Cypriot *M. lebetina*.

Acknowledgements: We greatly acknowledge and dedicate this article to late Prof. Dr. Bayram GÖÇMEN who passed away tragically on 22 March 2019, for his great contributions to the field herpetology and his invaluable support to the studies related to snake venoms in Turkey by providing venom samples. We also thank Ankara University Biotechnology Institute for providing laboratory access and to Dr. Erkan YILMAZ, Ankara University Biotechnology Institute for providing Human umbilical vein endothelial cells.

References

- Alape-Girón, A., Sanz, L., Escolano, J., Flores-Díaz, M., Madrigal, M., Sasa, M., & Calvete, J.J. (2008). Snake venomomics of the Lancehead Pitviper *Bothrops asper*: Geographic, individual and ontogenetic variations. *Journal of Proteome Research*, 7(8), 3556-3571.
- Baldo, C., Jamora, C., Yamanouye, N., Zorn, T.M., & Moura-da-Silva, A.M. (2010). Mechanisms of vascular damage by hemorrhagic snake venom metalloproteinases: Tissue distribution and in situ hydrolysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(6), e727. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000727>
- Borkow, G., Lomonte, B., Gutiérrez, J.M., & Ovadia, M. (1994). Effect of various Viperidae and Crotalidae Snake Venoms on Endothelial Cells In Vitro. *Toxicon*, 32, 12, 1689-1695. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(94\)90330-1](https://doi.org/10.1016/0041-0101(94)90330-1)
- Budak, A., & Göçmen, B. (2008). Herpetoloji. İzmir, Türkiye, Ege Üniversitesi Yayınları, Fen Fakültesi Yayın No: 194, 226 pp.
- Calderon, L.A., Sobrinho, J.C., Zaqueo, K.D., de Moura, A.A., Grabner, A.N., Mazzi, M.V., Marcussi, S., ... Soares, A.M. (2014). Antitumoral activity of snake venom proteins: New trends in cancer therapy. *BioMed Reserach International*, 2014, 203639, 1-19. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/203639>
- Chippaux J-P. (2006). Snake Venoms and Envenomations. Florida, USA, Krieger Publishing Company, 287 pp.
- Glenn, J.L., Straight, R.C., Wolfe, M.C., & Hardy, D.L. (1983). Geographical variation in *Crotalus scutulatus scutulatus* (Mojave rattlesnake) venom properties. *Toxicon*, 21(1), 119-130. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(83\)90055-7](https://doi.org/10.1016/0041-0101(83)90055-7)
- Göçmen, B., Arkan, H., Özbel, Y., Mermer, A., & Çiçek, K. (2006). Clinical, Physiological and Serological Observations of a Human Following a Venomous Bite by *Macrovipera lebetina lebetina* (Reptilia: Serpentes). *Acta Parasitologica Turcica*, 30(2), 158-162.
- Gutiérrez, J.M., & Rucavado, A. (2000). Snake venom metalloproteinases: Their role in the pathogenesis of local tissue damage. *Biochimie*, 82, 841-850. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(00\)01163-9](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(00)01163-9)
- Igci, N., & Demiralp, D.O. (2012). A preliminary investigation into the venom proteome of *Macrovipera lebetina obtusa* (Dwiguibsky, 1832) from Southeastern Anatolia by MALDI-TOF mass spectrometry and comparison of venom protein profiles with *Macrovipera lebetina lebetina* (Linnaeus, 1758) from Cyprus by 2DPAGE. *Archives of Toxicology*, 86, 441-451. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0763-5>
- Jahromi, H.E., Mirakabadi, A.Z., & Kamalzadeh, M. (2016). Evaluation of Iranian snake "*Macrovipera lebetina*" venom cytotoxicity in kidney cell line HEK-293. *Asia Pacific Journal of Medical Toxicology*, 5(2), 49-54.
- Kakanj, M., Ghazi-Khansari, M., Mirakabadi, A.Z., Daraei, B., & Vatanpour, H. (2015). Cytotoxic effect of Iranian *Vipera lebetina* snake venom on HUVEC cells. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14, 109-114.
- Mackessy, S.P. (2010). The field of reptile toxinology: Snakes, lizards, and their venoms. In S.P. Mackessy (Ed.), (pp. 3-23). *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles*. Florida, USA, CRC Press Taylor & Francis Group, 528 pp.
- Mallow, D., Ludwig, D., & Nilson, G. (2003). True Vipers: Natural History and Toxinology of Old World Vipers. Florida, USA, Krieger Publishing Company, 359 pp.
- Moreira, L., Gutiérrez, J.M., Borkow, G., & Ovadia, M. (1992). Ultrastructural alterations in mouse capillary blood vessels after experimental injection of venom from the snake *Bothrops asper* (Terciopelo). *Experimental and Molecular Pathology*, 57, 124-133. [https://doi.org/10.1016/0014-4800\(92\)90004-U](https://doi.org/10.1016/0014-4800(92)90004-U)
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Nalbantsoy, A., Karabay-Yavasoglu, N.U., Sayim, F., Deliloglu-Gurhan, I., Gocmen, B., Arkan, H., & Yildiz, M.Z. (2012). Determination of in vivo toxicity and in vitro cytotoxicity of venom from the Cypriot blunt-nosed viper *Macrovipera lebetina lebetina* and antivenom production. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 18(2), 208-216. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992012000200011>
- Oghalaie, A., Kazemi-Lomedasht, F., Zareinejad, M.R., & Shahbazzadeh, D. (2017). Antiadhesive and cytotoxic effect of Iranian *Vipera lebetina* snake venom on lung epithelial cancer cells. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 6, 780-783. <https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc.208.17>
- Ozen, M.O., İgci, N., Yalçın, H.T., Gocmen, B., & Nalbantsoy, A. (2015). Screening of cytotoxic and antimicrobial activity potential of Anatolian *Macrovipera lebetina obtusa* (Ophidia: Viperidae) crude venom. *Frontiers in Life Science*, 8(4), 363-370. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1055862>
- Panfoli, I., Calzia, D., Ravera, S., & Morelli, A. (2010). Inhibition of Hemorrhagic Snake Venom Components: Old and New Approaches. *Toxins*, 2, 417-427. <https://doi.org/10.3390/toxins2040417>
- Samel, M., Trummal, K., Siigur, E., & Siigur, J. (2012). Effect of HUVEC apoptosis inducing proteinase from *Vipera lebetina* venom (VLAIP) on viability of cancer cells and on platelet aggregation. *Toxicon*, 60, 648-655. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.03.023>
- Sanz, L., Ayvazyan, N., & Calvete, J.J. (2008). Snake venomomics of the Armenian mountain vipers *Macrovipera lebetina obtusa* and *Vipera raddei*. *Journal of Proteomics*, 71, 198-209. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2008.05.003>
- Sarıkaya, B., Yıldız, M.Z., & Sezen, G. (2017). The herpetofauna of Adana province (Turkey). *Commagene Journal of Biology*, 1(1), 1-11. <https://doi.org/10.31594/commagene.391784>
- Siigur, J., Aaspõllu, A., & Siigur E. (2019). Biochemistry and pharmacology of proteins and peptides purified from the venoms of the snakes *Macrovipera lebetina* subspecies. *Toxicon*, 158, 16-32. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.11.294>
- Stümpel, N., & Joger, U. (2009). Recent advances in phylogeny and taxonomy of near and Middle Eastern Vipers—an update. *ZooKeys*, 39, 179-191. <https://doi.org/10.3897/zookeys.31.261>
- Süzergöz, F., İgci, N., Çavuş, C., Yıldız, M.Z., Coşkun, M.B., & Göçmen, B. (2016). In vitro cytotoxic and proapoptotic activities of Anatolian *Macrovipera lebetina obtusa* (Dwigubski, 1832) crude venom on cultured K562 human chronic myelogenous leukemia cells. *UHOD International Journal of Hematology and Oncology*, 26(1), 37-46. <https://doi.org/10.4999/uhod.161104>
- Trummal, K., Tönismagi, K., Siigur, E., Aaspõllu, A., Lopp, A., Sillat, T., Saat, R., ... Siigur, J. (2005). A novel metalloprotease from *Vipera lebetina* venom induces human endothelial cell apoptosis. *Toxicon*, 46(1), 46-61. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.03.008>
- Yücel Ağan, A.F., & Hayrettaş, S. (2019). The effects of *Macrovipera lebetina* venom on mice. *Toxin Reviews*, 38(2), 87-92. <https://doi.org/10.1080/15569543.2017.1419266>
- Williams, D., Gutiérrez J.M., Harrison, R., Warrell, D.A., White, J., Winkel, K.D., & Gopalakrishnakone, P. (2010). The Global Snakebite Initiative: an antidote for snake bite. *Lancet*, 375, 89-91. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)61159-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)61159-4)

Report of Stranding of Striped Dolphin *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833) in Mersin Bay (Northeastern Mediterranean Sea, Turkey)

Deniz AYAS¹, Hasan Deniz AKBORA^{1,2}, Nuray ÇİFTÇİ¹, Deniz ERGÜDEN^{3,*}

¹Faculty of Fisheries, Mersin University Yenişehir Campus, 33160, Mersin, Turkey

²Department of Biological Sciences, Faculty of Arts and Sciences, Eastern Mediterranean University, Famagusta 99628, North Cyprus via Mersin 10, Turkey

³Department of Marine Sciences, Faculty of Marine Sciences and Technology, Iskenderun Technical University, TR 31220 Iskenderun, Hatay, Turkey

ORCID ID: Deniz AYAS: <https://orcid.org/0000-0001-6762-6284>; Hasan Deniz AKBORA: <https://orcid.org/0000-0002-6647-866X>; Nuray ÇİFTÇİ: <https://orcid.org/0000-0002-2925-0332>; Deniz ERGÜDEN: <http://orcid.org/0000-0002-2597-2151>

Received: 06.11.2019

Accepted: 08.12.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: On 08 April 2019, a mature female striped dolphin *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833), 185 cm in length (TL), was found dead across the shores of the Mersin Naval Museum, Mersin on the northeastern Mediterranean coast of Turkey. Striped dolphins may accidentally enter the fishing nets, which may be one of the reasons for their death. Although this species has been classified as Vulnerable in the IUCN list, considering the frequency of deaths among this species, the necessity to develop species conservation strategies for the Mediterranean was once again proven by the death of this individual.

Keywords: Dolphin, Delphinidae, Record, Turkish Mediterranean coast.

Mersin Körfezi'ndeki (Kuzeydoğu Akdeniz, Türkiye) Çizgili Yunus *Stenella coeruleoalba*'nın (Meyen, 1833) Boğulma Raporu

Öz: 08 Nisan 2019 tarihinde Türkiye'nin Doğu Akdeniz kıyısında Mersin Deniz Müzesi açıklarında 185 cm uzunluğa sahip bir adet çizgili yunus *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833) ölü olarak bulunmuştur. Çizgili yunuslar, balıkçı ağlarına tesadüfen girebilirler bu durum da onların ölüm nedenleri arasında gösterilebilir. Tür IUCN listesinde hassas olarak sınıflandırılmış olsa da bu türün ölüm vakalarının sıklığı düşünüldüğünde, Akdeniz için türe ait koruma stratejileri geliştirilmesi gerekliliği, bu bireyin ölümü ile de bir kez daha ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Yunus, Delphinidae, Kayıt, Türkiye Akdeniz sahili.

Stenella coeruleoalba (Meyen, 1833) is a dolphin species belonging to order Cetacea and family Delphinidae (Rice, 1998). This species was first described as *Delphinus coeruleoalbus* in 1833 by the German zoologist Franz Julius Meyen from the southwest Atlantic (Kinzelbach, 1997; Van Waerebeek et al., 1998). The striped dolphin *S. coeruleoalba* is widely distributed in tropical, subtropical, and temperate waters (Van Waerebeek et al., 1998).

Striped dolphin is the common name of this species. They have a smooth body, with a thin waist, and a beak. The upper part of the body is dark-gray. There is a light-gray pattern specific to the species extending from the head area to the base of the dorsal fin. They have a thin dark band located between the upper jaw and the eyes extending towards the flippers to the bottom of the tail. The upper part of the beak is entirely darker in color and sometimes, the tip part is pale (Still, Harrop, Stenton, & Dias, 2019).

Although they can be found in groups of 1 to 500 individuals, they often live in groups of 20-30 in tropical, subtropical, and warm seas. They mostly prefer deep waters beyond the continental shelf regions and rarely coastal areas (Still et al., 2019).

In the literature, the length of *S. coeruleoalba* is given as 100 cm at the time of birth. The first reproductive age in males is 6.7-8.7 and the length is 210-219 cm. The early reproductive age in females is 7.1-8.8, and the equivalent length is 209-216 cm. They enter the breeding season 3 times a year with 4-5 month intervals (Miyazaki, 1977).

The first published record of the striped dolphin *S. coeruleoalba* in the Mediterranean coast of Turkey (Göksu Delta, Silifke) was documented by Kinzelbach (1997) and reported as an incidental capture of one individual in July 1996. Although Öztürk, Salman, Öztürk, & Tonay (2007) states that the dolphin fishery in Turkish waters is banned, this species had been incidentally caught in the swordfish driftnet fisheries in the Aegean and Mediterranean parts of Turkey (Öztürk, 1996; Öztürk & Öztürk, 1998; Öztürk, Öztürk, & Dede, 2001).

In the Mediterranean, dolphins are under continuous pressure due to whaling, drowning in fishing net, and marine pollution. *S. coeruleoalba* are mainly fed with species which have commercial value and targeted by fishermen (Pulcini, Angradi, & Sanna, 1993; Blanco, Anzar, & Raga, 1995). Thus, while fishers and dolphins try to hunt the same species, they involuntarily reside in the same environment. For this reason, *S. coeruleoalba* is often caught as by-catch (Aguilar, 2000).

The striped dolphin has limited records, although it is common in the Mediterranean Sea coasts of Turkey. Up to date, three individuals of striped dolphins were recorded in the eastern Mediterranean, Turkey (Okuş et al., 2006; Dede, Saad, Fakhri, & Öztürk, 2012).

Although the occurrence of the striped dolphin species in the Mediterranean was reported before, this species is infrequent in the northern part of the Mediterranean, Turkey. The present study reports the occurrence of a dead striped dolphin, which represents the

*Corresponding author: deniz.erguden@iste.edu.tr

second confirmed record in the Mersin Bay coast of Turkey.

On 08 April 2019, a mature female striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*, 185 cm in total length (TL), was found dead across the shores of the Mersin Naval Museum (36°46'45.6" N; 34°36'06.4" E) in the northeastern Mediterranean coast of Turkey. The sampling point of the species in the northeastern Mediterranean Sea was presented in Figure 1. With the help of information provided in a study from Silifke, identification of the species was performed and necessary measurements taken (Kinzelbach, 1997). Its weight is 114 kg (The weight was measured with a hook scale (SF-912 300 Kg) with a sensitivity of 100 g). The specimen is buried to obtain the skeleton of the individual. After obtaining the skeleton of the sample, it will be deposited in the Museum of the Systematic, Faculty of Fisheries, Mersin University, (Catalogue no: MEUMC-19-11-002).

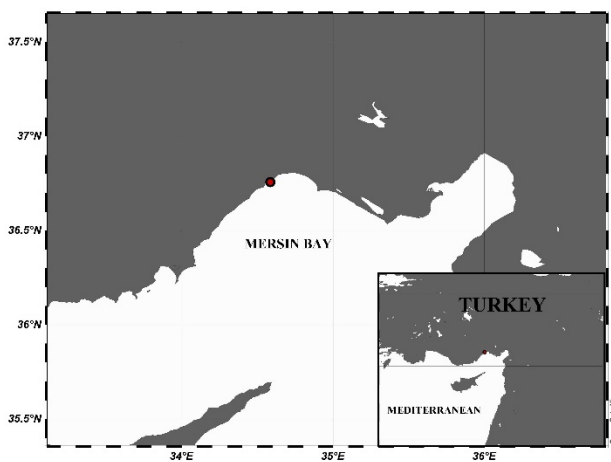


Figure 1. The red mark indicates the location where the sample found

Due to the wounds on the skin, it is thought that she was caught in a fishing net and drowned. According to the information given about the maturity stages of *S. coeruleoalba* in Miyazaki (1977), our sample was a mature female. The female specimen was measured as 185 cm total length, from the snout tip to the anterior base of the dorsal fin was 77 cm, and length of the flipper was 20 cm. Necessary measurements (body and skull) agree with the descriptions of Kinzelbach (1997). However, Kinzelbach (1997) reported as the total actual length of the female *S. coeruleoalba* was approximately 191 cm, from the snout tip to the anterior base of the dorsal fin as 81 cm; length of the (shrunk) flipper 23 cm for *S. coeruleoalba* from Goksu Delta (Silifke Turkey). The most critical parameters of the skull and body measurements of a female striped dolphin *S. coeruleoalba* specimen was obtained and the measurements compared with the other previous records in Mersin Bay (Kinzelbach, 1997). Values are shown in Table 1.

In this study, the skull measurements of our specimen and other previous record in the Mersin Bay are almost similar. These values are shown in Table 1. Our specimen is found somewhat smaller than the previous reported striped dolphins in the Silifke, Turkey (N.E. Mediterranean).

Every year a lot of dolphins are dying because of by-catch. Marsili, Casini, Marini, Regoli, & Focardi, (1997) reported the stranding of cetaceans along the

Mediterranean coasts as a regular event. These dolphins are dying because of natural causes such as old age or as a result of accidents such as strike by boats, ingestion of foreign objects (including plastic bags), or drowning in fishing nets.

Table 1. The crucial measurements of *S. coeruleoalba* compared with the previous Mediterranean record

Measurements (cm)	Values	
	1	1
Specimen No	1	1
References	Present Study N.E. Mediterranean (Mersin, Turkey)	Kinzelbach (1997) N. E. Mediterranean Silifke, Turkey
Total length	185	191
The snout tip to the anterior base of the dorsal fin	77	81
Length of the flipper	20	23*
Condylbasal length	35.2	>35.8
Rostrum length	19.1	>19.4
Breadth of rostrum near base	10.1	10.4
Preorbital breadth	18.4	19.0
Postorbital breadth	20.6	21.2
Mandible length	31.5	>32.3
Mandible height	6.4	6.6

*This value was reported as shrunk

Mediterranean population of *S. coeruleoalba* is categorized as Vulnerable on the IUCN Red List (IUCN, 2019) and Least Concern global Red List of Threatened Species category (Braulik, 2019). The number of mature individuals for this species is unknown (Aguilar & Gaspari, 2012). Besides, this species listed in Appendix II of the Convention on International Trade in Endangered Species (CITES) (IUCN, 2019). However, there is still a need for conservation strategy for *S. coeruleoalba* and other dolphins in the Mediterranean Sea.

The striped dolphins may be taken incidentally in fishing nets. As a result, human interactions can be a cause or contributing factor in the deaths of striped dolphins in the Mediterranean Sea. Thus, conservation measures should be enforced at the local and national level more intensively for this species.

In this study, we aimed to report a *S. coeruleoalba* who drowned as a result of by-catch in Mersin Bay (Northeastern Mediterranean Sea, Turkey).

For preventing non-target fishing, it is recommended to design perceptible nets in water considering the biological characteristics of by-catch species.

Acknowledgments: This study was supported by the Research Fund of Mersin University in Turkey with Project Number: 2017-2-AP2-2353.

References

Aguilar, A. (2000). Population biology, conservation threats and status of Mediterranean striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Journal of Cetacean Research and Management*, 2, 17-26.

Aguilar, A., & Gaspari, S. (2012). *Stenella coeruleoalba*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T20731A2773889. Retrieved from <https://www.iucnredlist.org/species/16674437/16674052>

Blanco, C., Anzar, J., & Raga, J.A. (1995). Cephalopods in the diet of the striped dolphin *Stenella coeruleoalba* from the western Mediterranean during an epizootic in 1990. *Journal of Zoology*, 237, 151-158. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1995.tb02753.x>

Braulik, G. (2019). *Stenella coeruleoalba*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T20731A50374282. Retrieved from <https://www.iucnredlist.org/species/20731/50374282>

- Dede, A., Saad, A., Fakhri, M., & Öztürk, B. (2012). Cetacean sightings in the eastern Mediterranean Sea during the cruise in summer 2008. *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment*, 18(1), 49-57.
- IUCN. (2019). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019-2. Retrieved from <http://www.iucnredlist.org>.
- Kinzelbach, R. (1997). A record of striped dolphin *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833) from the Turkish Mediterranean Sea coast. *Zoology in the Middle East*, 15, 15-18. <https://doi.org/10.1080/09397140.1997.10637733>
- Marsili, L., Casini, C., Marini, L., Regoli, A., & Focardi, S. (1997). Age, growth and organochlorines (HCB, DDTs and PCBs) in Mediterranean striped dolphins *Stenella coeruleoalba* stranded in 1988-1994 on the coasts of Italy. *Marine Ecology Progress Series*, 151, 273-282. <https://doi.org/10.3354/meps151273>
- Miyazaki, N. (1977). Growth and reproduction of *Stenella coeruleoalba* off the Pacific Coast of Japan. *Science Report Whales Research Institute*, 2, 1-48.
- Okuş, E., Yüksek, A., Yokeş, M.B., Yılmaz, I.N., Aslan-Yılmaz, A., Karhan, S.Ü., Demirel, N., ... & Gazioglu, C. (2006). Determination of biodiversity of coastal and marine areas of Gökova special environmental protection area (Report No. 2006-1). Ankara, Turkey, Ministry of Environment and Forestry of Turkey Press., 504 pp.
- Öztürk, B. (1996). Yunuslar ve Balinalar (Whales and Dolphins). Istanbul, Türkiye, Anahtar Yayınları, 119 pp.
- Öztürk, B., & Öztürk, A.A. (1998). Cetacean strandings in the Aegean and Mediterranean coasts of Turkey. *Rapport de la Commission Internationale de la Mer Méditerranée*, 35, 476-477.
- Öztürk, B., Öztürk, A.A., & Dede, A. (2001). Dolphin bycatch in the driftnet fishery in the Aegean Sea. *Rapport de la Commission Internationale de la Mer Méditerranée*, 36, 308.
- Öztürk, B., Salman, A., Öztürk, A.A., & Tonay, A. (2007). Cephalopod remains in the diet of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) and Risso's dolphins (*Grampus griseus*) in the eastern Mediterranean Sea. *Vie et Milieu*, 57(1/2), 53-59.
- Pulcini, M., Angradi, A.M., & Sanna, A. (1993). Stomach contents of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the south-central Tyrrhenian coast. *European Research on Cetaceans*, 6, 37-39.
- Rice, D.W. (1998). Marine mammals of the world: systematics and distribution. *The Society for Marine Mammalogy Special Publication*, 4, 1-231.
- Still, R., Harrop, H., Stenton, T., & Dias, L. (2019). Europe's Sea Mammals Including the Azores, Madeira, the Canary Islands and Cape Verde. New Jersey, USA, Princeton University Press, 208 pp.
- Van Waerebeek, K., Felix, F., Haase, B., Palacios, D.M., Mora-Pinto, D.M., & Munoz Hincapie, M. (1998). Inshore records of the striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*, from the Pacific coast of South America. *Report of the Meeting of the International Whaling Commission*, 48, 525-532.

Cyanobacteria that Promote Plant Growth and Metabolites

Çiğdem KÜÇÜK*, Göksal SEZEN

Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Harran University, 63000, Şanlıurfa, Turkey

ORCID ID: Çiğdem KÜÇÜK: <https://orcid.org/0000-0001-5688-5440>; Göksal SEZEN: <https://orcid.org/0000-0001-9054-851X>

Received: 26.06.2019

Accepted: 02.07.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: Cyanobacteria help to dissolve phosphate and minerals to increase plant production and soil fertility, and contribute to the biological nitrogen fixation. In addition, many cyanobacteria secrete elicitor molecules such as amino acids, proteins, polysaccharides, phytohormones, vitamins and carbohydrates to promote plant growth. Thus, they protect plants against biotic and abiotic stress. Cyanobacteria have antagonistic activity against many plant pathogen fungi. With the application of cyanobacteria as the biocontrol agent, the severity of the disease has decreased in many plants. In this review, the effects of metabolites secreted by cyanobacteria on plant growth and their effects on their use in agriculture are discussed.

Keywords: Cyanobacteria, elicitor molecules, biofertilizer, plant growth promotion.

Bitki Gelişimini Teşvik Eden Siyanobakteriler ve Metabolitleri

Öz: Siyanobakteriler, bitkisel üretimi ve toprak verimliliğini artırmak için fosfat ve mineral çözünmesine yardımcı olurlar, biyolojik azot fiksasyonuna katkıda bulunurlar. Ayrıca, birçok siyanobakteri, bitki gelişimini teşvik için aminoasit, protein, polisakkarit, fitohormon, vitamin, karbonhidrat gibi elisitör molekülleri salgırlar. Böylece bitkileri biyotik ve abiyotik strese karşı korurlar. Siyanobakteriler birçok bitki patojeni fungusu karşı antagonistik aktivite göstermektedir. Biyokontrol etmeni olarak siyanobakterilerin uygulanması birçok bitkide hastalık şiddetini azaltmıştır. Bu derlemede, siyanobakteriler tarafından salgılanan metabolitlerin bitki gelişimi ve büyümesindeki rolleri, tarımda kullanımı üzerine etkilerine değinilmiştir.

Anahtar kelimeler: Siyanobakteri, elisitör moleküller, biyogübre, bitki gelişimini teşvik.

1. Giriş

Bitkilerle ilişkili olan farklı mikroorganizma gruplarının, bitkiler üzerinde yararlı etkilere sahip, metabolitler ürettiği açıklanmıştır (Berendsen, Pieterse, & Bakker, 2012; Mendes, Garbeva, & Raaijmakers, 2013). Patojenlerin bitkilerle olan zararlı etkileşimleri uzun yıllar boyunca bilinmekte olup; bitki büyümesini teşvik eden (PGPR) mikroorganizmalar ve bitki iletişimleri ile ilgili sinyalleri ortaya çıkarmak için çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. PGPR mikroorganizmalarının, plazma zarı üzerindeki reseptör bölgelerine bağlanabilen ve genlerin aktivasyonuna neden olabilen, proteinlerin ve enzimlerin veya sekonder metabolitlerin sentezine yol açan sinyalleşme bileşiklerini serbest bıraktıkları bildirilmiştir (Hussain, Hamayun, & Shah, 2013). Karbonhidrat, lipid, glikolipid veya glikoprotein grubuna ait olan fitokimyasal tepkiye dahil olan elisitörlerin ve sinyalleme bileşiklerinin birçoğu tanımlanmıştır (Yamaguchi & Huffaker, 2011). Bu bileşiklerin bazıları, sprey şeklinde veya kök muamelesi olarak bitkilere uygulandığında glikosinolatlar, alkaloidler, polifenoller, flavonoidler, flavonoid glikozitler, saponinler terpenler, fitoaleksinler gibi bir dizi bitki fitokimyasalının birikiminde artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Hussain et al., 2013; Mısra & Kaushik, 1989a; Rodriguez, Stella, Storni, Zulpa & Zaccaro, 2006). Bu fitokimyasalların bitkileri biyotik ve abiyotik strese karşı koruma sağlamakta olup, direnç geliştirmelerine yardımcı oldukları belirlenmiştir (Shan, Yan, & Xie, 2012; Sokolova, Akimova, & Vaishlya, 2011). Bitkilerde fitokimyasal bileşimini artırmak için elisitörlerin kullanımı ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Örneğin; Briceno et al. (2012) ve Pan ve Liu (2011) çalışmalarında

elmada antosiyanin, fenolik ve askorbik asit üretimi, mango ve patateslerde fitosterol ve taraksasterol ve ahudududaki flavonoidlerin arttığını tespit etmişlerdir. Elisitörlerle muamele edildiğinde karotenoidlerin, özellikle likopen ve β -karoten seviyesinin, domateslerde arttığı (Singh, 2014), havuçlarda ise terpenler, özellikle terenler, limonen ve kariyofil içeriklerinde artış meydana geldiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Singh, 2014; Takaichi, Maoka, & Mochimaru, 2009). Bu fitokimyasalların bitkilere uygulanan yararlı etkilerinin yanı sıra, terapötik olarak yüksek değere sahip oldukları açıklanmış; antioksidanlar, antikanserijen, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitrombotik, antienflamatuar, kan basıncını ve kan şekeri ile bağışıklığı destekleyici ve kolesterol düşürücü özelliklerinden dolayı sağlık üzerinde de etkili olabildikleri Yadav et al. (2017) tarafından açıklanmıştır. Böylece, fitokimyasalların geliştirilmesi, tarım endüstrisi için önemli ekonomik faydalara sahip olabilecek yeni bir araştırma alanı açmıştır. Bitki hastalıklarının laboratuvar, sera ve tarla koşullarında kontrol altına alınması için uyarılan direnç ile ilgili çalışmalar, AR-GE ürünlerinin ticarileştirilmesini sağlamış ve böylece üreticilere yeni nesil mikrobiyal gübreler veya ürün koruyucuları kazandırılmıştır.

Bitki gelişimini destekleyen mikroorganizmalar ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde üzerinde en çok araştırma yapılanların rizobakteriler, mikorizal mantarlar ve simbiyotik rhizobia olduğu tespit edilmiştir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda ise bitki gelişmesini teşvik eden bir başka mikroorganizma grubunun da siyanobakteriler olduğu görülmektedir (Mendes et al., 2013; Willis, Rodrigues, & Harris, 2013). Son yıllarda

*Corresponding author: ckucuk@harran.edu.tr

yapılan araştırmalarda siyanobakteriler tarafından üretilen sinyaller ile konak bitkilerin gen ifadesini etkileyen veriler elde edilmiş, böylece bitkilerin fitokimyasal bileşimlerinde kalitatif ve kantitatif değişiklikler meydana geldiği tespit edilmiştir (Manjunath et al., 2010; Sing, Kumar, Rai, & Singh, 2016; Yadav et al., 2017). Bu derlemede, siyanobakterilerin olası elisitör molekülleri ve siyanobakteriler tarafından bitkilerin gelişimleri üzerindeki rollerine değinilmiştir.

2. Siyanobakteriler ve Önemleri

Mavi-yeşil algler olarak da bilinen siyanobakteriler, oksijenli solunum yapan, fotosentetik prokaryotik organizmalar olarak tanımlanmıştır (Yadav et al., 2017). Bunlar, morfolojik ve gelişimsel olarak, değişik hücre tiplerine sahip olan, iplikli formlara kadar ikili füzyon ile çoğalan, basit tek hücreli formlardan oluşan prokaryot canlı gruplarından biridir (Yadav et al., 2017). Siyanobakterilerin habitat olarak tatlı su, deniz ve karasal ortamları kullandıkları bilinmektedir. Bu yaşam ortamlarına ilave olarak kaplıca suları ve buzulları da habitat olarak kullanabildikleri çeşitli araştırmalar ile tespit edilmiştir (Nagarajan, Maruthanayagam, & Sundararaman, 2011). Bitkilerle birlikteliklerinin yanı sıra, ağaç kabuğu üzerinde, yapraklar, kökler ve su altındaki alanların batık kökleri ve sapları üzerinde epifitik olarak gelişebilmektedirler (Aguiar et al., 2008; Boopathi, Balamurugan, Gopinath, & Sundararaman, 2013). Siyanobakteriler, bitki partnerinin büyümesi için azot sağlarlar. Siyanobakterilerin, atmosferik azotu nitrogenaz enzimi ile amonyum formuna dönüştürebildikleri ($N_2 + 8 H^+ + 8 e^- + 16 MgATP \rightarrow 2 NH_3 + H_2 + 16 MgADP + 16 Pi$) ve bu olayda ATP'nin kullanıldığı açıklanmıştır (Magnuson, 2019).

Simbiyotik birliktelikteki bitki partneri ise, siyanobakteriye koruma ve beslenmeyi sağlayan özgün fiziko-kimyasal faktörlere sahip eşsiz bir yaşam alanı sunmaktadır. Başarılı simbiyozun başlatılmasının ve koordine edilmesi ortaklar arasındaki bir dizi düzenli sinyal alışverişine bağlıdır (Long, 2001; Mendes et al., 2013; Stam & Kumar, 2010). Yapılan çalışmalar, siyanobakterilerin, konakçılarda gen ifadesini etkileyen sinyaller ürettiği ve konakçılardan gelen sinyalleri algılayarak, bunlara cevap verip ortaklığın oluşumunda çok önemli rol oynadığını göstermiştir (Yadav et al., 2017). Bitkilerde, çevresel değişiklikleri algılayan, patojen ve simbiyotik mikroorganizmaların ayırt edilmesinden sorumlu mekanizmalar bulunmaktadır (Mendes et al., 2013). Bu sinyallerin rhizobia tarafından salınan nodül indükleyici faktörler (Nod faktörleri) ile fonksiyonel olarak benzer olduğu düşünülmektedir. Nod faktörleri kök korteksinde hücre bölünmesini uyararak yeni bir organ olan kök nodülü oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir (Long, 2001).

Siyanobakterilerin likenlerde tallus morfojenizini etkilediği bilinmektedir (Singh et al., 2016). Likenler üzerinde yapılan çalışmalarda, belirli bir mantarın farklı siyanobakteriyel ortaklarla farklı morfolojiler ürettiğini ve farklı siyanobakteriyel suşlar tarafından farklı sinyaller salgılandığını göstermiştir (Singh, 2014).

Siyanobakterilerin ve özellikle bitkilerle simbiyotik ilişkiler oluşturanların karbonhidrat açısından zengin arabinogalaktan proteinleri salgıladıkları keşfedilmiştir. Bu proteinlerin sinyal molekülleri olarak hareket etmeleri, bitki büyümesi ve gelişiminin düzenlenmesinde önemli

bir rol oynamadığı tespit edilmiştir (Abdel-Raouf, Al-Homaidan, & Ibraheem, 2012). Siyanobakteriler tarafından fitohormonların salgılanması, simbiyotik birlikteliğin oluşumu ile başlamaktadır (Sing et al., 2016). Yapılan çalışmalarda *Anabaena-Azollae*'nin azot bağlanması sırasında ürettikleri fitohormonlar tespit edilmiştir (Sokolova et al., 2011; Yadav et al., 2017). Üretilen fitohormonun sadece simbiyozu uyarmakla kalmadığı, aynı zamanda konakçı bitkide bir dizi metabolik aktivitenin tetiklenmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir (Sokolova et al., 2011; Yadav et al., 2017).

3. Bitkilerde Siyanobakteriyel Sinyaller

Siyanobakteriler, biyolojik azot fiksasyonuna potansiyel katkıda bulunan, toprak verimliliğini ve ürün verimliliğini arttırmak için fosfatın çözünmesine ve mineral salınımına katkıda bulunan birçok tarım topraklarının önemli sakinleri olarak tanımlanmıştır (Singh, 2014). Siyanobakterin, bitki büyümesini desteklemek için sinyal molekülleri olarak işlev gören proteinler, vitaminler, karbonhidratlar, amino asitler, polisakaritler ve fitohormonlar gibi çeşitli biyolojik olarak aktif maddeleri serbest bıraktığı bilinmektedir. İlgili bakterilerin ekili tarlalarda da buldukları saptanmıştır. Bitki büyümesinde etkili baskın suşların saptanması bitkisel üretim açısından önemli bulunmuştur (Osman, El-Sheekh, El-Naggar, & Gheda, 2010; Prasanna et al., 2009b).

Rizosfer için mikroorganizmaların bolluğu ve çeşitliliği önemlidir. Çoğu mikroorganizma için uygun bir niş sunmaktadır ve bu mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri bitki gelişimi ile yakından ilişkilidir (Singh, 2014). Prasanna, Jaiswal, Nayak, Sood ve Kaushik (2009a), Hindistan'ın çeşitli bölgelerinden izole edilen pirinç rizosferindeki siyanobakterilerin bolluğunu ve cins olarak çeşitliliğini karakterize etmek için bir araştırma yapmışlardır. Araştırma sonucunda *Nostoc sp.* Vaucher ex Bornet & Flahault ve *Anabaena sp.* Bory ex Bornet & Flahault cinslerine ait siyanobakteriyel suşların, rizosfer izolatlarının % 80'ini oluşturduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca *Hapalosiphon intricatus* West & G.S. West, *Westiellopsis sp.* Janet, ve *Calothrix ghosei* Bharadwaja, rizosferden izole edilen diğer türler olarak kaydedilmiştir (Prasanna et al., 2009a). *Oscillatoria* Vaucher ex Gomont ve *Phormidium* Kützing ex Gomont'un rizosferde bulunduğu, *Scytonema C.* Agardh ex É. Bornet & C. Flahault'nun ise tuzlu toprak örneklerinde baskın olduğu belirlenmiştir. Song, Martensson, Eriksson, Zheng ve Rasmussen, (2005) Çin'deki pirinç tarlalarında siyanobakterilerin çeşitliliğini değerlendirmişler, *Nostoc* ve *Phormidium* dahil olmak üzere 24 tip tespit etmişlerdir. Benzer bir dağılım İran'ın pirinç ekili bölgelerinden elde edilmiş (Shariatmadari, Riahi, Hastroudi, Ghassempour, & Aghashariatmadar, 2013) ve 20 lokasyondan 49 farklı tür izole edilmiştir. Bu taksonlar arasında, *Anabaena* ve *Nostoc* çoğu istasyonda baskın olarak bulunmuştur (Shariatmadari et al., 2013).

Calothrix ghosei Bharadwaja, *Hapalosiphon intricatus* West & G.S. West, *Nostoc sp.* Vaucher ex Bornet & Flahault, *Hapalosiphon sp.* Nägeli ex É. Bornet & C. Flahault, *Calothrix sp.* C. Agardh ex Bornet & Flahault, *Desmonostoc muscorum* (C. Agardh ex Bornet & Flahault) Hrouzek & Ventura, *Westiellopsis prolifica* Janet, *Calothrix membranacea* Schmidle, olarak tanımlanan sekiz farklı cinsine ait sekiz siyanobakteri türü izole edilmiştir. Pirinç tarlalarının siyanobakteriyel çeşitliliği ile ilgili yapılan çalışmada, *Phormidium* ile birlikte, *Nostoc* ve *Anabaena*'nın baskın olduğu saptanmış

ve bu türler oldukça rekabetçi olarak tanımlanmıştır (Yadav et al., 2017). *Nostoc*'un, serbest yaşayan ve çok çeşitli bitki türleriyle simbiyotik ortaklık kuran çok yönlü diazotofik siyanobakteriyel cinslerden biri olduğu bilinmektedir. Bu cinsin üyelerinin, çeşitli ekolojik habitatlara uyum sağlayan özellik gösterdiği saptanmıştır (Prasanna et al., 2009b).

Siyanobakterilerin çevrelerine çok sayıda metabolit salgıladıkları bilinmektedir; bu da yakın çevrelerinde bulunan diğer organizmaların büyümesini ve gelişmesini etkileyebilir. Pirinç fideleri algal filtratla muamele edilmiş, gelişme sonunda köklerde algler tarafından salgılanan gibberalik asit benzeri bir bileşik tespit edilmiştir (Singh, Prabha, Yandigeri, & Arora, 2011). Çeltik tarlalarından izole edilen *D. muscorum*'dan üretilen bir maddenin kromatografi tanımlaması yapılmış, bu madde indol asetik aside benzer özelliklere göstermiştir (Prasanna et al., 2009a). Daha sonra Misra & Kaushik (1989a; 1989b) tarafından yapılan çalışmalarda; *Hapalosiphon pumilus* Kirchner ex Bornet & Flahault ve *D. muscorum*'un hücre ve hücre dışı bileşiklerinin çeltik fidelerinin uzunluğu ve gelişiminin kontrol fidelerine göre önemli oranda arttırdığını saptamışlardır. Çimlenme oranı, sürgün ve kök uzunluğu, biyokütle gibi gelişme özelliklerindeki artışın, bitkinin çeşitli fitokimyasal bileşenlerindeki artış ile pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Nostoc oryzae (F. E. Fritsch) J. Komárek & K. Anagnostidis, *Trichormus doliolum* (Bharadwaja) Komárek & Anagnostidis, *Phormidium sp.*, *Calothrix geitonos* Skuja, *Hapalosiphon intricatus*, *Trichormus fertilissimus* (C. B. Rao) Komárek & Anagnostidis, *Tolypothrix tenuis* Kützing ex Bornet & Flahault, *Oscillatoria acula* Brühl & Biswas ve *Leptolyngbya boryana* (Gomont) Anagnostidis & Komárek gibi siyanobakteriyel suşlar ile aşılana çeltikte; fenolik asitlerin (gallik, gentisic, caffeic, chlorogenic) flavonoidler (rutin ve quercetin) fitohormonların (indol asetik asit ve indol bütirik asit), yapraklarda ise protein ve klorofil içeriğinde artış olduğu yapılan çalışmada belirtilmiştir (Singh et al., 2011). *L. boryana* ve *O. acula* ile aşılana çeltik yapraklarında peroksidaz ve fenilalanin amonyak liyaz enzim aktivitesi ve toplam fenolik içeriğinin yükseldiği rapor edilmiştir (Singh et al., 2011).

Siyanobakteriler tarafından üretilen biyoaktif bileşiklerin, bitkinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının gelişimini tetiklemekten sorumlu olan fitohormon düzeylerini arttırdığı saptanmıştır. Fitohormonların ayrıca, enzimatik aktiviteleri ve bitki büyümesi sırasında meydana gelen metabolik değişiklikleri düzenlediği bilinmektedir (Tvorogova, Osipora, Doduyeva, & Lutova, 2013) ve bu nedenle, savunma enzimlerinden peroksidaz ve fenilalanin amonyak ligaz enzimlerinin aktivitesindeki artış da fitohormon düzeylerine bağlanmıştır (Tvorogova et al., 2013). Flavonoidler ve fitohormonların bitki-mikroorganizma etkileşimlerine yardımcı oldukları rapor edilmiştir (Jaiswal, Das, Koli, & Pabbi, 2018), bu bileşikler mikroorganizmaların kök kolonizasyonunu arttırmış (Kehr, Picchi, & Dittmann, 2011), diğer organizmaların popülasyonu üzerinde allelokimyasal etkiyi sağlamıştır (Khan, Syeed, Nazar, R., & Anjum, 2012). Bunlar aynı zamanda sinyal molekülleri olarak görev yapmıştır (Kehr et al., 2011; Khan et al., 2012).

4. Siyanobakterilerin Biyotik ve Abiyotik Stresle Mücadeledeki Rollerinin Önemi

4.1. Siyanobakterilerin Tuza Toleransı

Siyanobakteriler, tuzdan etkilenen topraklarda doğal olarak koloni oluşturduklarından genellikle tuz stresine karşı toleranslı kabul edilmiştir. Siyanobakterilerin tuzlu topraklarda oluşturduğu kolonilerin rizosfer tarafından toprağa çeşitli metabolitlerin salınımını sağladığı ve bu metabolitlerin de bitki büyüme-gelişmesini teşvik ettiği yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir. (Sing & Dhar, 2010). *Scytonema hofmannii* C. Agardh ex Bornet & Flahault 'nin tuz stresine maruz alanlarda yetiştirilen pirinç fidelerinin gelişimi üzerinde olumlu bir etkisi olduğu bulunmuştur (Rodriguez et al., 2006). Tamoi, Kurotaki, & Fukamizo (2007) tarafından *Synechocystis*'ten Ssglc olarak adlandırılan ve β -1,4-glukonaz benzeri bir proteini (SsGlc) kodlayan bir gen izole edilmiştir. Bu genin tuz stres toleransında işlev gördüğü ve dolayısıyla bitkilerde tuz toleransını arttırmak için kullanılabilceği tespit edilmiştir.

4.2. Siyanobakterilerin Hastalıklara Karşı Direnci

Toprak kaynaklı bitki patojenlerine karşı kullanılacak biyokontrol etmenleri olarak bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin kullanımı, sürdürülebilir bir tarım için son yıllarda oldukça cazip hale gelmiştir. Bu mikroorganizmalar, hücre duvarının fiziksel ve mekanik gücünü güçlendiren ve patojenlere karşı savunma için metabolitlerin sentezi ile konakçının fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonunu değiştiren indüklenmiş sistemik direncini (ISR) ortaya çıkarmaktadır (Chaudhary et al., 2012).

Bazı siyanobakterilerin, bitki patojenlerinin hastalık oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir (Tablo 1). Örneğin; *Calothrix elenkinii* Kossinskaja'nin kültür filtratı ve etil asetat ekstresinin; saksı denemelerinde, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp ile enfekteli soya fasulyesi, domates, biber tohumları üzerinde hastalık şiddetini azalttığı bulunmuştur (Manjunath et al., 2010). *Pythium debaryanum* R. Hesse, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* W.C. Snyder & H.N. Hansen, *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw, ve *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn'yi içeren bir grup fungal patojenler ile inokule edilmiş domates fidelerinde çökerten hastalığının *Trichormus variabilis* (Kützing ex Bornet & Flahault) Komarek & Anagnostidis ve *Anabaena oscillarioides* Bory ex Bornet & Flahault uygulamaları ile azaldığı incelenmiştir (Chaudhary et al., 2012). *Trichormus variabilis* ve *A. laxa* A.Braun 'nun, *Fusarium sp.* solgunluğuyla mücadele edilen domates bitkilerinde sistemik savunma yanıtı oluşturduğu bulunmuştur. Fenilalanin amonyak liyaz (PAL), polifenol oksidaz (PPO), kitosanaz ve β -1,3 glukonaz gibi enzim aktiviteleri, siyanobakteriyel formülasyonlarla muamele edilen domates fidelerinin köklerinde yüksek bulunmuştur. Bu durum domates fideleri ile siyanobakteriyel etkileşimin önemini ortaya koymuştur (Prasanna et al., 2013).

4.3. Siyanobakterilerin Sinyal Molekülleri

Fitohormonlar; rizosferik, epifitik ve simbiyotik mikroorganizmalar tarafından salgılanmaktadır (Shan et al., 2012). Bitkilerle ilişkili mikroorganizmalar tarafından üretilen fitohormonlar, bitki büyümesinin uyarılmasında, bitki patojenezinde ve bitki-mikroorganizma simbiyotik etkileşimlerinde belirleyiciler olarak anahtar rol oynamaktadır (Singh, 2014). Bu hormonlar, konakçının endojen fitohormon dengesini değiştirebilir ve tepkilerini tetikleyebilir, bu durumun üretilen fitohormon konsantrasyonuna, konakçının tipine ve hormonlara olan duyarlılığına bağlı olduğu açıklanmıştır (Sokolova et al.,

2011). Fitohormonlar, bitkilerde çeşitli fizyolojik süreçlerin koordine edilmesine katkıda bulunurlar. Bunların tohum çimlenmesinin düzenlenmesi, kök oluşumu, çiçeklenme, dal oluşumu ve meyve olgunlaşmasında önemli etkileri belirlenmiştir (McAtee, Karim, Schaffer, & David, 2013). Ayrıca çevresel faktörlere karşı bitki direncini arttırmışlar, genlerin ekspresyonu, enzimlerin, pigmentlerin ve metabolitlerin sentezini indüklemişlerdir (Shan et al.,

2012). Yapılan çalışmalar, siyanobakterilerin, IAA (indol-3-asetik asit), sitokinin, gibberellin, etilen, jasmonik asit veya absisik asitlere benzer büyüme arttırıcı düzenleyiciler üreterek bitkilere yararlı olabildiğini göstermiştir (Kher et al., 2011; Moreno, Blanch, & del Castillo, 2010; Osman et al., 2010). Tablo 2'de bazı siyanobakter tarafından üretilen bitki gelişimini destekleyen hormonlar verilmiştir.

Tablo 1. Farklı siyanobakterilerin bazı bitki patojenlerine karşı biyokontrolü

Siyanobakteri	Hedef organizma	Bitki	Hastalık	Kaynak
Anabaena sp.	<i>Pythium debaryanum</i> R. Hesse	Domates	Çökerten	Chaudhary et al. (2012)
	<i>Fusarium verticillioides</i> (Sacc.) Nirenberg <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> W.C. Snyder & H.N. Hansen	Domates	Kök ve kök boğazı çürüklüğü	
<i>Nostoc commune</i> Vaucher ex Bornet & Flahault FA 103 <i>Oscillatoria</i> spp. Anabaena spp., <i>Nostoc</i> sp., <i>Nodularia</i> sp. Mertens ex Bornet & Flahault, <i>Calothrix</i> sp. <i>Nostoc commune</i> FK-103 <i>Oscillatoria tenuis</i> C.Agardh ex Gomont FK109	<i>F.oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> W.C. Snyder & H.N. Hansen	Domates	Solgunluk	Kim & Kim (2008)
	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	Pirinç	Yaprak leke hastalığı	Kim (2006)
	<i>Phytophthora capsici</i> Leonian	Pirinç	Kök boğazı yanıklığı	Kim (2006)

Tablo 2. Farklı siyanobakteri tarafından üretilen bazı bitki gelişimini teşvik eden hormonlar

Siyanobakteri	Grup	Hormon	Kaynak
<i>Calothrix</i> spp., <i>Kamptomonema animale</i> (C.Agardh ex Gomont) Strunecký, Komárek & J.Smarda	Cyanophyta	Oksin, sitokinin, kinetin benzeri aktivite	Osman et al. (2010)
<i>Nostoc</i> spp. <i>Aphanothece</i> sp. C.Nägeli MBDU515	Cyanophyta	İndol-3-asetik asit	Shariatmadari et al. (2013)
<i>Wolleea vaginicola</i> (F.E.Fritsch & Rich) R.N.Singh, <i>Nostoc calcicola</i> Brébisson ex Bornet & Flahault	Cyanophyta	İndol-3-asetik asit	Rodriguez et al. (2006)
<i>Tetrademus obliquus</i> (Turpin) M.J.Wynne	Cyanophyta	İndol-3-asetik asit, indol-3-asetik asit, indol-3-propionik asit	Khan et al. (2012)
<i>Chroococcus</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Phormidium</i>	Cyanophyta	İndol-3-asetik asit	Khan et al. (2012)
	Cyanophyta	Sitokinin	Zizkova et al. (2017)

Misra ve Kaushik, (1989a), siyanobakterilerin fitohormona benzer özellikte hormonal bileşikler ürettikleri belirlemişlerdir. Yaptıkları araştırmada *Nostoc* and *Haplosiphon*'un ekstraktlarının oksin benzeri özellikte olup, ekstraktların saflaştırılması sonucunda indol 3 asetik asit, indol-3-propionik asit ve 3-metil indol özelliğinde olduğu tespit edilmiştir (Misra & Kaushik, 1989a). Shariatmadari et al. (2013) *Anabaena*, *Anabaenopsis* V. V. Miller, *Calothrix*, *Chlorogloeopsis* A. K. Mitra & D.C. Pandey, *Cylindrospermum* Kützing ex É. Bornet & C. Flahault, *Gloeotheca* C. Nægeli, *Nostoc*, *Plectonema* Thuret ex Gomont, *Haplosiphon* ve *Synechocystis*'in IAA ürettiği saptamışlardır. IAA biyosentezinde önemli bir gen olan ipdC geninin homologları ise siyanobakterilerin bazı suşlarında tanımlanmışlardır.

Karhikeyan et al. (2009) tarafından yapılan araştırmada; karanlık ve ışık alan koşullar altında *Calothrix* sp., *Calothrix ghosei*, *Calothrix membranacea* Schmidle, *Haplosiphon intricatus*, *Nostoc* sp., *D. muscorum*, *Westiellopsis prolifica* gibi siyanobakteriyel suşlar tarafından üretilen IAA miktarı araştırılmış; karanlıkta inkübe edilen kültür ekstraktlarında IAA miktarı 0.6–3.37 µg/ml arasında, ışıkta ise IAA miktarını 0.5–1.39 µg/ml olarak bulmuşlardır. Bitki büyümesini hızlandıran sitokinin ve indol-3-asetik asit (IAA), *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Chroococcidiopsis* Geitler, *Synechocystis* gibi siyanobakteriyel suşlarda Hussain et al. (2013) tarafından saptanmıştır. Yapılan araştırmada Siyanobakteriyel suşlar kültür ortamında transzeatin,

ciszeatin, zeatin ribosid, dihidrozeatin ribosid ve zeatin-oglukozit olmak üzere beş farklı sitokinin salgılayabildiği belirlenmiştir (Hussain et al., 2013). *Chroococcidiopsis* sp. diğer siyanobakteriler ile karşılaştırıldığında en yüksek sitokinin üreticisi olarak kabul edilmiş, *Nostoc paludosum* Kützing ex Bornet & Flahault, *Lyngbya*, *Chlorogloeopsis* ve *Calothrix*'in de sitokin ürettiği tespit edilmiştir (Osman et al., 2010).

Hussain et al. (2013) tarafından pirinç köklerinden izole edilen endofitik *Nostoc* kültüründe sitokinin ve IAA belirlenmiştir. Sera koşullarında bu *Nostoc* suşunun, buğday ve pirinç fideleri ile muamelesi sonunda buğday ve pirinç sürgün uzunluğu, kök uzunluğu ve tane ağırlığında artış olduğu saptanmıştır. Siyanobakteriyel suşların lateral kök oluşumunu tetiklediği, siyanobakterilerle aşıli bitki köklerinin, yüzey alanlarının artmasına neden olduğu ve siyanobakteriler tarafından salınan fitohormonların, bitki kökleri ile siyanobakteri birlikteliğinde çok önemli bir rol oynadığı açıklanmıştır (Hussain et al., 2013). Gibberellin benzeri maddeler de *Jaaginema angustissimum* (West & G.S.West) Anagnostidis & Komárek, *Cylindrospermum* sp., *Anabaenopsis* sp.'den de izole edilmiştir (Osman et al., 2010).

Siyanobakterilerde jasmonik asit (JA) varlığı tespit edilmiştir (Singh, 2014). Bu bakterilerin solgunluk, su stresi, ozmotik stres ve tuz stresi gibi stres koşullarında bitkinin hayatta kalmasını sağlayan absisik asit birikimini tetiklediği bildirilmiştir (Khan et al., 2012). Jasmonik asit ve çeşitli metabolitlerinin bitki gelişiminin yanı sıra

abiyotik ve biyotik strese karşı bitki reaksiyonlarını düzenlemekten sorumlu olduğu bilinmektedir (Khan et al., 2012). Siyanobakterilerde jasmonik asit (JA) tespit edilmiştir (Singh, 2014). Ayrıca *Synechococcus*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix*, *Scytonema* ve *Cylindrospermum* üyelerinin etilen ürettikleri bildirilmiştir (Singh et al., 2016).

4.4. Siyanobakteriyel Polisakkaritler

Polisakkaritler, bitki bağışıklığı indükleyicilerinin en önemlilerinden biridir (Singh, 2014). β -glukanlar, kitin, lipopolisakkaritler gibi polisakkaritlerin çoğu, bakteriyel ve fungal türlerden salınırken, konakçı bitkilerle etkileşimlidir. Bununla birlikte, algler tarafından üretilen polisakkaritlerin, bitkileri patojenlere karşı koruyabileceği ve böylece biyolojik olarak aktif moleküllerin salgılanacağı ucuz bir kaynak olarak açıklanmıştır (Singh, 2014).

Siyanobakteriyel polisakkaritlerin polisakkarit kaynağı olarak kullanımı ile ilgili çalışmalar oldukça azdır. Siyanobakteriyel polisakkaritler, hücre etrafında musilaj bir dış tabaka olarak bulunmaktadırlar. Bir kılıf veya hücre yüzeyi ile yakından ilişkili olan bir kapsül ya da sadece hücre yüzeyi veya çözünür polisakkaritler ile gevşek bir şekilde ilişkili olan bir yapı olarak bulunurlar. Hücre büyümesi sırasında çevreye salınırlar. Bu ekzopolisakkaritlerin, bir sınır tabakası olarak hücrenin korunmasında önemli rol oynadıkları bildirilmiştir (Singh et al., 2016), topraktaki sodyum iyonlarını (Öztürk & Aslim, 2010) ve ağır metalleri (De Philippis, Colica, & Micheletti, 2011) bağladıkları, yapışma özelliklerinden dolayı toprak agregasyonuna katkı sağladıkları saptanmıştır (de Caire, de Cano, de Mule, Palma, & Colombo, 1997).

Xu et al. (2013) tarafından *Leptolyngbya tenuis* (Gomont) Anagnostidis & Komárek'den salınan bir polisakkarit, çalı bitkisi olan *Caragana korshinskii* Kom.'nin bitki büyümesini arttırdığı belirlenmiştir. Polisakkaridin ortama eklenmesi, tohum çimlenme oranını, iyon alımını, fotosentez aktivitesini ve karbonhidrat içeriğini de önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür. Ayrıca, süperoksit dismutaz üreterek, stres sırasında organizmalarda reaktif oksijen türü oluşumunu ortadan kaldırmaktan sorumlu olarak oksidatif hasarın azaltılmasını sağlamıştır. Bu polisakkaritler galaktoz, fruktoz, ksiloz ve birkaç tanımlanmamış şekerlerden oluşmaktadır. Polisakkarit içeren *Desmonostoc muscorum* ve *Hapalosiphon pumilus* Kirchner ex Bornet & Flahault ekstraktlarının, çeltik fidelerinin çimlenmesini uyardığı ve böylece fide büyümesini geliştirdiği belirlenmiştir (Misra & Kaushik, 1989a). Siyanobakteriler tarafından salınan polisakkaritlerin, 6-10 farklı monosakkaritten oluşan karmaşık heteropolimerler olduğu, çoğunun piruvil veya sülfat gibi üronik asitlerin veya değişik grupların varlığından dolayı anyonik bir yapı gösterdiği bildirilmiştir. Siyanobakteriyel EPS'lerdeki 10 monosakkarit ise; heksozlardan glukoz, galaktoz ve manoz, pentozlardan riboz, arabinoz ve ksiloz, deoksiheksozlardan fukoz ve ramnoz ile asidik heksoz olan glukuronik ve galakturonik asit olarak saptanmıştır (Pereira et al., 2009). Bitkilerde patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMP) olarak işlev gören, bağışıklık indükleyicileri olduğu bilinen bir diğer polisakkarit grubu lipopolisakkaritler (LPS)'dir (Singh, 2014). Siyanobakteriyel LPS'ler ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır.

4.5. Siyanobakteriyel Vitaminler ve Pigmentler

Vitaminlerin, bitkilerin büyümelerine ve gelişmelerine yardımcı oldukları kanıtlanmıştır. Vitaminler, genel stresin azaltılmasına ve bitkilerin çeşitli enzimatik yollarını aktive ederek, hastalığa ve ekstrem koşullara karşı bağışıklıklarının artmasına yardımcı olurlar (Goyer, 2010). Tiamin (B1 vitamini); arpa ve bezelyede yaprak biti enfeksiyonlarını azaltmış (Hamada & Jonsson, 2013), pirinç (*Oryza sativa* L.), tütün (*Nicotiana tabacum* L.), domates (*Solanum lycopersicum* L.), salatalıkta (*Cucumis sativus* L.) SAR (sistemik kazanılmış direnç) ile ilişkili genleri aktive ederek mantar, bakteri ve viral enfeksiyonların neden olduğu çeşitli hastalıklara karşı bitkileri koruduğu Lugtenberg & Kamilova (2009) tarafından belirlenmiştir. Büyümeyi hızlandıran özelliği nedeniyle; tiamin, doku kültürü ortamının önemli bir bileşenidir (George, Hall, & De Klerk, 2008). Bitki büyümesini önemli ölçüde uyarabilen toprak mikroorganizmalarının, çevrelerindeki vitaminleri serbest bıraktığı bildirilmiştir (Lugtenberg & Kamilova, 2009).

Suda çözünen vitaminler, bitkilerin ve toprak mikroorganizmalarının gelişiminin uyarılmasında diğer biyolojik olarak aktif maddelerle sinerjik olarak etki edebilirler (Singh, 2014). Toprak mikroorganizmalarının çoğunun, biyotin, tiamin, kobalamin, pantotenik asit ve niasin gibi B-grubu vitaminleri ürettiği ve üretilen vitaminlerin bitki gelişimi için yararlı olduğu açıklanmıştır (Gupta, Ratha, Sood, Chaudhary, & Prasanna, 2013).

Siyanobakterilerin de vitamin bakımından zengin oldukları bilinmektedir. *Spirulina* Turpin ex Gomont, *Anabaena* sp., *Dolichospermum flosaquae* (Brébisson ex Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & J.Komárek, *Dolichospermum circinale* (Rabenhorst ex Bornet & Flahault) P. Wacklin, L. Hoffmann & J. Komárek, *Microcystis pulvereae* (H. C. Wood) Forti, *Nostoc* sp., *Nostoc punctiforme* Hariot, *Nodosilinea bijugata* (Kongisser) Perkerson & Kováčik, *Kamptonema jasroense* (Vouk) Strunecký, Komárek & J. Smarda ve *Chroococcus minutus* (Kützing) Nägeli gibi siyanobakteriyel türlerin; thiamine (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), folik asit, askorbik asit, nikotinik asit (vitamin B3), siyanokobalamin (vitamin B12) ve pentoten içerdiği rapor edilmiştir (Singh et al., 2016). *Spirulina*'nın B12 vitaminine ilave olarak B1, B2, B3 ve E vitaminlerini de içerdiği açıklanmıştır (Gupta et al., 2013). Vitamin B₁₂ (siyanokobalamin) siyanobakteriler tarafından üretilen en önemli vitamindir. Vitamin B12 (siyanokobalamin) *Anabaena cylindrica* Lemmermann, *Nostoc cycaadae* Maruyama & Fukushima, nom. inval., *Cyanobium waterburyi* Komárek ve *Synechococcus* suşlarında da tespit edilmiştir (Singh et al., 2016). *D. muscorum* and *Hapalosiphon*'dan elde edilen ekstraktların çeltiğin çimlenmesi ve bitki boyunu ticari vitaminlerle benzer oranda arttırdığı belirlenmiştir. *D. muscorum* ve *Hapalosiphon*'dan elde edilen ekstraktların kimyasal karakterizasyonu yapılmış ve bu iki suşun ekstraktlarında suda çözünen B-kompleksi grubu niasin, pantotenik asit, folik asit ve siyanokobalamin vitaminlerinin varlığını ortaya konulmuştur (Misra & Kaushik, 1989b). Bu nedenle, ekim alanlarında bulunan siyanobakteriyel suşların bitkilere başlıca vitamin kaynağı olarak kullanılabilceği sonucuna ulaşılmıştır.

Polipeptitler ve peptitler, bitki savunmasını tetikleyen önemli sinyal moleküllerin bir grubudur (Yamaguchi & Huffaker, 2011). Siyanobakteriyel sekonder

metabolitlerin önemli bir kısmı, yüksek düzeyde yapısal varyasyona sahip peptitlerdir veya peptidik alt yapılara sahiptir. Bu peptitlerin çoğunun NRPS (nonribosomal peptid sentetaz) veya NRPS/PKS (poliketid sintaz) hibrid yolları ile sentezlendiği varsayılmakta ve bugüne kadar 600 siyanobakteriyel peptid tanımlanmıştır (Kehr et al., 2011). Bu peptitlerin veya bunları oluşturan aminoasitlerinin birçoğu bitki büyümesini ve gelişimini desteklemekten sorumlu olarak belirlenmiştir. Kehr et al. (2011), *D.muscorum*'ün kültür filtratındaki amino asitler ve peptitlerin bitkilerin gelişmesini desteklediği sonucuna varmıştır. Benzer olarak *D. muscorum*, *H. pumilus* ve *Cylindrospermum muscicola* Kützing ex Bornet & Flahault'nun aminoasitlerce zengin olan kültür filtratlarının pirinç fidesinin gelişiminde uyarıcı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Misra & Kaushik, 1989a). *D.muscorum* için kaydedilen aminoasitler treonin, glutamik asit, prolin, valin, glisin/aspartik asit ve serin/arjinin olarak ve *H.pumilus*'da ise sistin, arjinin, serin, aspartik asit, glisin histidin, izolösin, lisin ve ornitin/sistin olarak rapor edilmiştir (Misra & Kaushik, 1989a). *C. muscicola* ekstraktında bulunan amino asitler, sistin, tirosin ve fenilalanin olarak belirlenmiş, pirinçte büyüme stimülasyonu için işlev gördüğü tespit edilmiştir (Misra & Kaushik, 1989a). Karthikeyan et al. (2009) ise bitki büyümesini hızlandırabilen birkaç siyanobakteriyel türün (*Nostoc* sp., *Hapalosiphon* sp., *Calothrix* sp., *W. prolifica*) kültür ekstraktlarında hücre dışı proteinlerin varlığını saptamışlardır.

Siyanobakteriler klorofil a, karotenoidler ve fikobiliproteinler gibi zengin bir pigment kaynağıdır (Takaichi et al., 2009). Fikobiliproteinler (fikosiyenin, allosiyenin ve fikoeritrin) sadece siyanobakteriler ve kırmızı alglerde görülmüştür ve fikobiliproteinlerin toplam kuru ağırlığın yaklaşık % 20'sini oluşturduğu belirlenmiştir (Singh, 2014). *Arthrospira platensis* Gomont'ten izole edilen mavi pigment olan fikosiyenin, sırasıyla *Capsicum frutescens* L. (kırmızı biber) ve *Daucus carota* L. (havuç) hücre kültürlerinde kapsaisin ve antosiyenin birikimini arttırmak için kullanılmıştır (Sing, 2014).

5. Sonuç

Günümüzde tarımsal ürünler için kullanılan kimyasalların azaltılması, kimyasalların yerine kullanılacak daha ekonomik bir ürün ve çevre dostu tarımın yapılmasına yardımcı olabilecek stratejiler talep edilmektedir. Ürün verimini arttırmak için çeşitli metodlar denenmektedir. Siyanobakteriler tarım alanlarında ve özellikle de çeltik yetiştirilen topraklarda bol miktarda bulunmakta olup, mikroalg ile birlikte toprağın mikrobiyal fotosentetik ajanları olarak kabul edilmektedir. Azot fiksasyonundaki önemli rolleri nedeniyle, siyanobakterilerin bitkisel üretimi arttırmak için tarımda kullanımı kaçınılmazdır. Azot fiksasyonu yetenekleri ile ilgili çeşitli araştırmalar olmasına rağmen, ekolojik rolleri tam olarak tanımlanmamıştır. Topraklardaki varlıkları, birçok sürecin işleyişi için büyük önem taşımaktadır. Tarım alanlarında siyanobakteriyel inokülasyonun, yüksek dozda azotlu gübrelerin varlığında bile verim artışı sağladığı belirlenmiştir. Bitkilerin azot içeriklerinin arttırmasının yanı sıra, siyanobakteriler bitki büyümesini teşvik için bir araç olarak kullanılabilirler. Bu nedenle birçok ülkede siyanobakteriyel içerikli biyogübrelerin geliştirilmesi ve uygulanmasında son yıllarda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir.

Fitohormonların, polisakaritlerin, vitaminlerin, aminoasitlerin ve peptitlerin biyosentezi, bitki büyümesi ve gelişimi için çok önemli olarak kabul edilmektedir. Bu aktif bileşikler mikroorganizmalar rizosferde bitki köklerinin emebileceği yerlere serbest bırakırlar.

Siyanobakteriyel suşların bitkinin büyümesini destekleyici aktivitesi yapılan çalışmalarda genellikle sera ve kontrollü koşullar altındagerçekleştirilen saksı denemeleri ile tespit edilmiştir. Siyanobakteriyel suşların tarla koşullarında da denenmesi için yeni çalışmalara gereksinim vardır. Derlememizin bu popülasyon dinamiklerinin daha detaylı araştırılması ve bu mikroorganizmaların tarım alanlarına uygulanması yönünde yapılacak çalışmalara ışık tutması beklenmektedir.

Kaynaklar

- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A.A., & Ibraheem, I.B.M. (2012). Agricultural importance of algae. *African Journal of Biotechnology*, 11, 11648-11658.
- Aguiar, R., Fiore, M.F., Franco, M.W., Ventrella, M.C., Lorenzi, A.S., Vanetti, C. A., & Alfenas, A.C. (2008). A novel epiphytic cyanobacterial species from the genus *Brasilonema* causing damage to *Eucalyptus* leaves. *Journal of Phycology*, 44, 1322-1334.
- Berendsen, R.L., Pieterse, C.M.J., & Bakker, P. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Science*, 17, 478-486.
- Boopathi, T., Balamurugan, V., Gopinath, S., & Sundararaman, M. (2013). Characterization of IAA production by the mangrove cyanobacterium *Phormidium* sp. M1405019 and its influence on tobacco seed germination and organogenesis. *Journal of Plant Growth*, 32, 758-766.
- Briceno, Z., Almagro, L., Sabater-Jara, A.B., Calderon, A.A., Pedreno, M.A., & Ferrer, M.A. (2012). Enhancement of phytosterols, taraxasterol and induction of extracellular pathogenesis-related proteins in cell cultures of *Solanum lycopersicum* cv. MicroTom elicited with cyclodextrins and methyl jasmonate. *Journal of Plant Physiology*, 169, 1050-1058.
- Chaudhary, V., Prasanna, R., Nain, L., Dubey, S.C., Gupta, V., Singh, R., ... Bhatnagar, A.K. (2012). Bioefficacy of novel cyanobacteria-amended formulations in suppressing damping off disease in tomato seedlings. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 28, 3301-3310.
- de Caire, G., de Cano, S.M., de Mule, M.C.Z., Palma, R.M., & Colombo, K. (1997). Exopolysaccharides of *Desmonostoc muscorum* Ag. (Cyanobacteria) in the aggregation of soil particles. *Journal of Applied Phycology*, 9, 249-253.
- De Philippis, R., Colica, G., & Micheletti, E. (2011). Exopolysaccharide-producing cyanobacteria in heavy metal removal from water: molecular basis and practical applicability of the biosorption process. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 92, 697-708.
- George, E.F., Hall, M.A., & De Klerk, G.J. (2008). The components of plant tissue culture media II: organic additions, osmotic and pH effects, and support systems. In *Plant Propagation by Tissue Culture* (eds: George, E.F., Hall, M.A., De Klerk, G.) Dordrecht: Springer Press. 119 pp.
- Goyer, A. (2010). Thiamine in plants: aspects of its metabolism and functions. *Phytochemistry*, 71, 1615-1624.
- Gupta, V., Ratha, S.K., Sood, A., Chaudhary, V., & Prasanna, R. (2013). New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae)-Prospects and challenges. *Algal Research*, 2, 79-97.
- Hamada, A.M. & Jonsson, L.M.V. (2013). Thiamine treatments alleviate aphid infestations in barley and pea. *Phytochemistry*, 94, 135-141.
- Hussain, A., Hamayun, M., & Shah, S.T. (2013). Root colonization and phyto-stimulation by phytohormones producing entophytic *Nostoc* sp. AH-12. *Current Microbiology*, 67, 624-630.
- Jaiswal, A., Das, K., Koli, D.K., & Pabbi, S. (2018). Characterization of cyanobacteria for IAA and siderophore production and their effect on rice seed germination. *International Journal of Current Microbiology Applied Science*, 7, 5212-5222.
- Karthikeyan, N., Prasanna, R., Sood, A., Jaiswal, P., Nayak, S., & Kaushik, B.D. (2009). Physiological characterization and electron microscopic investigations of cyanobacteria associated with wheat rhizosphere. *Folia Microbiologica*, 54, 43-51.
- Kehr, J., Picchi, D.G., & Dittmann, E. (2011). Natural product biosyntheses in cyanobacteria: a treasure trove of unique enzymes. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 7, 1622-1635.

- Khan, M.I.R., Syeed, S., Nazar, R., & Anjum, N.A. (2012). An insight into the role of salicylic acid and jasmonic acid in salt stress tolerance. In *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants* (eds: Khan NA, Nazar R, Iqbal N, Anjum NA), Berlin, Heidelberg: Springer. 300 pp.
- Kim, J.D. (2006). Screening of cyanobacteria (blue-green algae) from rice paddy soil for antifungal activity against plant pathogenic fungi. *Mycobiology*, 34, 138-142.
- Kim, J., & Kim, J.D. (2008). Inhibitory effect of algal extracts on mycelial growth of the tomato-wilt pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Mycobiology*, 36, 242-248.
- Long, S.R. (2001). Genes and signals in the *Rhizobium*-legume symbiosis. *Plant Physiology*, 125, 69-72.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review Microbiology*, 63, 541-556.
- Magnuson, A. (2019). Heterocyst Thylakoid Bioenergetics. *Life*, 9, 13.
- Manjunath, M., Prasanna, R., Nain, L., Dureja, P., Singh, R., Kumar, A., ..., & Kaushik, B.D. (2010). Biocontrol potential of cyanobacterial metabolites against damping off disease caused by *Pythium aphanidermatum* in solanaceous vegetables. *Archieve Phytopathology and Plant Protection*, 43, 666-677.
- McAtee, P., Karim, S., Schaffer, R., & David, K. (2013). A dynamic interplay between phytohormones is required for fruit development, maturation, and ripening. *Front Plant Sciences*, 4, 1-7.
- Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J.M. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37, 634-663.
- Misra, S., & Kaushik, B.D. (1989a). Growth promoting substances of Cyanobacteria. II. Detection of amino acids, sugars and auxins. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B*, 55, 499-504.
- Misra, S., & Kaushik, B.D. (1989b). Growth promoting substances of Cyanobacteria. I. Vitamin and their influence on rice plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B*, 55, 295-300.
- Moreno, F.D., Blanch, G.P., & del Castillo, M.L.R. (2010). Methyl jasmonate-induced bioformation of myricetin, quercetin and kaempferol in red raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 11639-11644.
- Nagarajan, M., Maruthanayagam, V., & Sundararaman, M. (2011). A review of pharmacological and toxicological potentials of marine cyanobacterial metabolites. *Journal of Applied Toxicology*, 32, 153-185.
- Osman, M.E.H., El-Sheekh, M.M., El-Naggar, A.H., & Gheda, S.F. (2010). Effect of two species of cyanobacteria as biofertilizers on some metabolic activities, growth, and yield of pea plant. *Biology and Fertility of Soils*, 46, 861-875.
- Öztürk, S., & Aslim, B. (2010). Modification of exopolysaccharide composition and production by three cyanobacterial isolates under salt stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 17, 595-602.
- Pan, Y.G., & Liu, X.H. (2011). Effect of benzo-thiadiazole-7- carbothioic acid *S*-methyl ester (BTH) treatment on the resistant substance in postharvest mango fruits of different varieties. *African Journal of Biotechnology*, 10, 15521-15528.
- Prasanna, R., Jaiswal, P., Nayak, S., Sood, A., & Kaushik, B.D. (2009a). Cyanobacterial diversity in the rhizosphere of rice and its ecological significance. *Indian Journal of Microbiology*, 49, 89- 97.
- Prasanna, R., Nain, L., Ancha, R., Srikrishna, J., Joshi, M., & Kaushik, B.D. (2009b). Rhizosphere dynamics of inoculated cyanobacteria and their growth-promoting role in rice crop. *Egypt Journal of Biology*, 11, 26-36.
- Prasanna, R., Sharma, E., Sharma, P., Kumar, A., Kumar, R., Gupta, V., ..., & Shivay, Y.S. (2013). Soil fertility and establishment potential of inoculated cyanobacteria in rice crop grown under non-flooded conditions. *Paddy Water Environmental*, 11, 175-183.
- Pereira, S., Zille, A., Micheletti, E., Moradas-Ferreira, P., De Philippis, R., & Tamagnini, P. (2009). Complexity of cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structures, inducing factors and putative genes involved in their biosynthesis and assembly. *FEMS Microbiological Reviews*, 33, 917- 941.
- Rodriguez, A.A., Stella, A.M., Storni, M.M., Zulpa, G., & Zaccaro, M.C. (2006). Effects of cyanobacterial extracellular products and gibberellic acid on salinity tolerance in *Oryza sativa* L. *Saline Systems*, 2, 7-10.
- Shan, X., Yan, J., & Xie, D. (2012). Comparison of phytohormone signaling mechanisms. *Current Opinion Plant Biology*, 15, 84-91.
- Shariatmadari, Z., Riahi, H., Hastroudi, M.S., Ghassempour, A., & Aghashariatmadary, Z. (2013). Plant growth promoting cyanobacteria and their distribution in terrestrial habitats of Iran. *Soil Science Plant Nutrition*, 59, 535-547.
- Singh, J.S., Kumar, A., Rai, A.N., & Singh, D.P. (2016). Cyanobacteria: A precious bioresource in agriculture, ecosystem and environmental sustainability. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1-19.
- Singh, S. (2014). A review on possible elicitor molecules of cyanobacteria: their role in improving plant growth and providing tolerance against biotic and abiotic stress. *Journal of Applied Microbiology*, 117, 1221-1244.
- Singh, D.P., Prabha, R., Yandigeri, M.S., & Arora, D.K. (2011). Cyanobacteria-mediated phenylpropanoids and phytohormones in rice (*Oryza sativa*) enhance plant growth and stress tolerance. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 100, 557-568.
- Singh, N.K., & Dhar, D.W. (2010). Cyanobacterial reclamation of salt-affected soil. In *Genetic Engineering, Biofertilisation, Soil Quality and Organic Farming Sustainable Agriculture Reviews*. Vol: 4. Netherlands, Springer Publisher, 275 pp.
- Sokolova, M.G., Akimova, G.P., & Vaishlya, O.B. (2011). Effect of phytohormones synthesized by rhizosphere bacteria on plants. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47, 274-278.
- Song, T., Martensson, L., Eriksson, T., Zheng, W., & Rasmussen, U. (2005). Biodiversity and seasonal variation of the cyanobacterial assemblage in a rice paddy field in Fujian, China. *FEMS Microbiol Ecology*, 54, 131-140.
- Stamm, P., & Kumar, P.P. (2010). The phytohormone signal network regulating elongation growth during shade avoidance. *Journal of Experimental Botany*, 61, 2889-2903.
- Takaichi, S., Maoka, T., & Mochimaru, M. (2009). Unique Carotenoids in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune* NIES-24: 2-hydroxymyxol 20-fucoside, nostoxanthin and canthaxanthin. *Current Microbiology*, 59, 413- 419.
- Tamoi, M., Kurotaki, H., & Fukamizo, T. (2007). b-1,4- Glucanase-like protein from the cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803 is a b-1,3-1,4-glucanase and functions in salt stress tolerance. *Biochemistry Journal*, 405, 139-146.
- Tvorogova, V.Y., Osipova, M.A., Doduyeva, I.Y., & Lutova, L.A. (2013). Interactions between transcription factors and phytohormones in the regulation of plant meristem activity. *Russian Journal of Genetics*, 3, 325-337.
- Willis, B.F., Rodrigues, B.F., & Harris, P.J.C. (2013). The Ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32, 1-20.
- Xu, Y., Rossi, F., Colica, G., Deng, S., De Philippis, R., & Chen, L. (2013). Use of cyanobacterial polysaccharides to promote shrub performances in desert soils: a potential approach for the restoration of desertified areas. *Biology and Fertility Soils*, 49, 143-152.
- Yadav, S., Rai, S., Rai, R., Shankar, A., Singh, S., & Rai, L.C.R. (2017). Cyanobacteria: Role in Agriculture, Environmental Sustainability, Biotechnological Potential and Agroecological Impact. *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives*, (Ed: Singh DP, Singh HB, Prabha R.) *Microbial Interactions and Agro-Ecological Impacts*, Vol. 2. Springer, 277 pp.
- Yamaguchi, Y., & Huffaker, A. (2011). Endogenous peptide elicitors in higher plants. *Current Opinion Plant Biology*, 14, 351-357.
- Zizkova, E., Kubes, M., Dobrev, P.I., Příbyl, P., Simura, J., Zahajská, L., ..., & Motyka, V. (2016). Control of cytokinin and auxin homeostasis in cyanobacteria and algae. *Annals of Botany*, 119, 151-166.

Propagation of Some Medicinal and Aromatic Plants in Turkey by Biotechnological Methods

Mehmet SEZGİN^{1,*}, Emine KAPDAN²

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Çankırı Karatekin University, Uluşayzı Campus, Çankırı, Turkey

² Graduate School of Natural and Applied Sciences, Çankırı Karatekin University, Çankırı, Turkey

ORCID ID: Mehmet SEZGİN: <https://orcid.org/0000-0001-7053-0371>; Emine KAPDAN: <https://orcid.org/0000-0003-4530-4860>

Received: 07.10.2019

Accepted: 09.10.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: In this study, the reports covering the years 1984-2019 for propagation, reproduction, and breeding of *Sideritis perfoliata* L., *S. stricta* Boiss. & Heldr., *S. erythrantha* Boiss. & Heldr., *Leucojum aestivum* L., *Borago officinalis* L., *Cuminum cyminum* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Rosa damascena* Mill., *R. canina* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C. pres l., *Tussilago farfara* L., *Digitalis lanata* Ehrh., *D. lamarckii* Ivan., *Crocus sativus* L., *Capsicum annuum* L., *Origanum syriacum* subsp. *bevanii* (Holmes) Greuter & Burdet, *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich., *Sinapis arvensis* L., *Papaver somniferum* L., *P. bracteatum* Lindl., *Capparis spinosa* L., *Coriandrum sativum* L., *Petroselinum crispum* (Mill.) A. W. Hill., *Silybum marianum* (L.) Gaertn., *Ziziphus jujuba* Mill., *Peganum harmala* L., *Carthamus tinctorius* L., *Rumex acetosella* L., *Dianthus caryophyllus* L., *Ocimum basilicum* L., *Mentha spicata* subsp. *spicata* L. taxa, used for medicinal purposes in Turkey with biotechnological methods, have been reviewed. Biotechnological methods such as *in vitro* organogenesis and somatic embryogenesis can be used in plants for a sufficient amount of production and desired yield in medicinal and aromatic plants. Moreover, various breeding practices can be carried out by using biotechnological methods. In addition to the traditional methods of propagation in medicinal and aromatic plants, the provision of mass and clonal propagation via *in vitro* propagation techniques has a significant potential.

Keywords: Organogenesis, somatic embryogenesis, medicinal and aromatic plant.

Türkiye’de Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Biyoteknolojik Yöntemlerle Çoğaltılma Çalışmaları

Öz: Bu çalışmada, Türkiye’de tıbbi amaçlı olarak kullanılan *Sideritis perfoliata* L., *S. stricta* Boiss. & Heldr., *S. erythrantha* Boiss. & Heldr., *Leucojum aestivum* L., *Borago officinalis* L., *Cuminum cyminum* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Rosa damascena* Mill., *R. canina* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C. pres l., *Tussilago farfara* L., *Digitalis lanata* Ehrh., *D. lamarckii* Ivan., *Crocus sativus* L., *Capsicum annuum* L., *Origanum syriacum* subsp. *bevanii* (Holmes) Greuter & Burdet, *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich., *Sinapis arvensis* L., *Papaver somniferum* L., *P. bracteatum* Lindl., *Capparis spinosa* L., *Coriandrum sativum* L., *Petroselinum crispum* (Mill.) A. W. Hill., *Silybum marianum* (L.) Gaertn., *Ziziphus jujuba* Mill., *Peganum harmala* L., *Carthamus tinctorius* L., *Rumex acetosella* L., *Dianthus caryophyllus* L., *Ocimum basilicum* L., *Mentha spicata* subsp. *spicata* L. taksonlarının biyoteknolojik yöntemlerle üretimi, çoğaltımı ve ıslah çalışmalarına yönelik 1984-2019 yılları arasında yapılan araştırmalar derlenmiştir. Tıbbi ve aromatik bitkilere olan ihtiyacı karşılamaya yönelik üretimin yapılabilmesi ve istenen verimin alınabilmesi için, bitkilerde *in vitro* şartlarda organogenesis, somatik embriyogenesis gibi biyoteknolojik yöntemler kullanılabilir. Aynı zamanda biyoteknolojik yöntemlerle çeşitli ıslah çalışmaları da gerçekleştirilebilmektedir. Tıbbi ve aromatik bitkilerde klasik çoğaltım yöntemlerinin dışında *in vitro* çoğaltım teknikleri ile yoğun ve klonal bir çoğaltımın sağlanması, büyük bir potansiyel olarak ortaya çıkmaktadır.

Anahtar kelimeler: Organogenesis, somatik embriyogenesis, tıbbi ve aromatik bitki.

1. Giriş

İnsanlık tarihi boyunca bitkilerin, sağlığı korumak ya da geri kazanmak amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Mezopotamya bölgesinde yaşamış Asurlular, Akatlar ve Sümerler gibi medeniyetlerde, bitkilerden ve hayvansal ürünlerden tedavi amaçlı ilaçların üretilerek kullanıldığı M.Ö. 3000 yıllarına ait ilk yazılı belge niteliğinde olan Ninova tabletlerinde belirtilmiştir (Genç & Kaçar, 2012). M.Ö. 2500 yıllarında da Çin’de uygulanan tıbbi yöntemlerle büyük benzerlik gösteren ve Hint bölgesinde uygulanan tıbbın en önde gelen isimlerinden olan Rig Veda, eserlerinde birçok şifalı bitki ve bitkisel üründen söz etmiştir. Eski Yunan medeniyetinde Eskulap ve modern tıbbın da atası sayılan Hipokrat da, kitaplarında 400 civarında bitki ve bitkisel ürünün tedavi amaçlı kullanımından bahsetmişlerdir. Tıbbi ve aromatik bitkiler, insanlık tarihi boyunca deneme yanılma yöntemleri ile birlikte ve günümüzde de modern eczacılık ve tıp aracılığı

ile insan, hayvan ve bitki sağlığı için kullanılmaktadır (Faydaoğlu & Sürücüoğlu, 2011; Genç & Kaçar, 2012; Mert & Dağıstan, 2016).

İnsanoğlu, bitkilerin kök, yaprak, çiçek, meyve gibi kısımlarının hangilerininin tedavi edici etkileri olduğunu deneme/yanılma, tesadüflerle veya hayvanların tükettiği bitkileri gözlemleyerek öğrenmiştir. Bitkiler o dönemlerde de gelişi güzel değil, dönemin filozoflarının önerilerine göre kullanılmıştır. İlerleyen zamanlarda bitkilerin kimyasal yapıları aydınlatılmış ve içerdikleri etkili maddeler saf olarak izole edilmiştir. Böylece “saf ve standart ilaç” kavramının temelleri atılmıştır (Tanrıseven, 2013). Bunun en güzel örneği, söğüt ağacından salisilikasitin izole edilmesi ve yapısının aydınlatılmasıdır. 1890 yılında bu bileşikten basit bir kimyasal işlemle sentetik olarak elde edilen “Aspirin” (asetil salisilik asit) insanlığın yararına sunulmuştur. Günümüzde aslında modern tıbbın yanında alternatif tıp olarak da

*Corresponding author: sezgin@karatekin.edu.tr

isimlendirilen tedavi yöntemlerinin birçoğu, bilimsel olarak araştırılıp değerlendirildikten ve tabii ki etkinlikleri ispatlandıktan sonra insan hayatına girmeye başlamışlardır (Genç & Kaçar, 2012).

Günümüz modern tıbbında kullanılan pek çok ilaç hammadde kaynağının bitkiler olduğu bilinmektedir. Avrupa'nın güneyi ile Güneybatı Asya floraları arasında bir köprü oluşturan Anadolu aynı zamanda üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bir bölgedir. Birçok cins ve seksiyonun orijini ve farklılaşım merkezidir (Akman, 1995). Anadolu'nun zengin florası, birçok tıbbi ve aromatik bitkiye ev sahipliği yapmakla kalmayıp bununla birlikte pek çok bitkinin de gen merkezidir (Arslan, Baydar, Kızık, Arık, Şekeroğlu, & Gümüştü, 2015). Ancak tüm bu zenginliğe rağmen bitki popülasyonlarından ne tam manasıyla yararlanılmakta ne de kültürel olarak üretimi yapılmaktadır.

Anadolu'da florada doğal olarak bulunan bitkilerden; hem insan hem de hayvan hastalıklarının tedavisinde (Fitoterapi), çay, gıda, baharat, boya, reçine, insektisit, zambak, uçucu yağlarından faydalanma, ip ve sepet yapımı, meşrubat, kozmetik sanayinde kullanımı gibi halk arasında yaygın bir şekilde faydalanılmaktadır. Türkiye, Dünya'da tıbbi ve aromatik bitki ticaretinde önemli bir yere sahiptir. Ülkemizden, hem nihai ürün hem de bitkisel ilaç ve kimyasal sanayi için hammadde, gıda sektöründe kullanılan bitkisel kökenli katkı maddeleri, kozmetik ve parfüm sanayi için nihai ürün ve hammadde ile boya sanayi gibi önemli sektörlerle de hammadde sağlanmaktadır (Arslan, Javani, & Taher, 2016; Genç & Kaçar, 2012;).

Bitki doku kültürü: Genel anlamda steril şartlar altında bitki hücre ya da organlarını elde etmek ve büyütme için kullanılan teknikleri açıklayan bir kavramdır (Chawla, 2002; Özcan, Babaoğlu, & Sancak, 2001;). Bitki biyoteknolojisinin önemli bir parçası olan *in vitro* çoğaltım yöntemleri, klasik yöntemlerle ıslahı zor veya tamamen imkânsız olan durumlarda çözüm sunmaktadır. Bu sayede hastalıktan, virüsten ve diğer zararlılardan arındırılmış sağlıklı bitkiler yetiştirebilmek, yoğun ve klonal çoğaltım yapabilmek, sekonder ve diğer değerli metabolitleri üretmek ve aynı zamanda miktarını artırılabilir, verimsiz, yetiştirme olasılığı düşük olan bitkilerin yetiştirilebilmesi ve genetik çeşitliliğin sağlanması mümkündür. Tüm bunlar düşük maliyetli daha az iş gücüne gereksinim duyularak klasik yöntemlere göre daha hızlı bir üretim olanağı sağlamaktadır (Acar, İşkil, & Bürün, 2017; Bayraktar, Öztürk, & Arslan, 2017; Carimi, Tortorici, Pasquale, & Crescimanno, 1998; Dilmen & Göktürk, 2016; Güven & Gürsul, 2014).

Biyoteknoloji Türkiye'de ormancılık alanında yeni sayılabilecek bir bilim dalıdır ve ormancılıkta klasik yöntemlerle birlikte ülkemiz ekonomisine önemli katkılar sağlayacağı beklenmektedir. Ayrıca orman kaynaklarının korunması ve daha fazla yararlanılması hususunda, hem bölgesel hem de uluslararası süreçler biyoteknoloji uygulamalarını gündeme getirmiştir. Bunun bir yansıması olarak Avrupa Birliği kapsamında yürütülen "Eurosilva" şebekesinin hayata geçirilmesi kapsamında, biyoteknoloji araştırmalarının önemine vurgu yapılmış, asli ve tali orman ürünlerinin çoğaltımı, ıslahı ve korunması hususunda biyoteknolojiden daha fazla yararlanılması gerektiği vurgulanmıştır.

Türkiye ekonomisine katkı sağlayabilecek olan bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin biyoteknolojik yöntemlerle üretim yöntemleri, çoğaltımı ve ıslah çalışmalarına yönelik araştırmalar derlenmiştir. *In vitro* ortamda kültüre alınmış ve çoğaltımı yapılmış bitkilerin listesi Türkçe isimleriyle birlikte Tablo 1'de verilmiştir (Güner, Aslan, Ekim, Vural, & Babaç, 2012).

Tablo 1. *In vitro* kültürü yapılan bazı tıbbi aromatik bitkilerin Latince ve Türkçe isimleri

Bitkinin Latince İsmi	Bitkinin İsmi	Türkçe İsmi
1- <i>Sideritis perfoliata</i> L.	Fincan çayı	
2- <i>Sideritis stricta</i> Boiss. & Heldr.	Tilkikuyruğu çayı	
3- <i>Sideritis erythrantha</i> Boiss. & Heldr.	Morçay	
4- <i>Digitalis lamarckii</i> Ivan.	Yüksükotu	
5- <i>Digitalis lanata</i> Ehrh. subsp. <i>lanata</i> .	Yünlü yüksükotu	
6- <i>Leucium aestivum</i> L.	Gölsoğanı	
7- <i>Papaver somniferum</i> L. var. <i>somniferum</i>	Afyonçeği	
8- <i>Papaver somniferum</i> L.	Haşhaş	
9- <i>Papaver bracteatum</i> Lindl.	Adamağusu	
10- <i>Borago officinalis</i> L.	Hodan	
11- <i>Cuminum cyminum</i> L.	Acem kimyonu	
12- <i>Coriandrum sativum</i> L.	Kişiş	
13- <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Lavanta	
14- <i>Lavandula officinalis</i> Chaix. (synonym)	Lavanta	
15- <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	Devedikeni	
16- <i>Rosa damascena</i> Mill.	Isparta gülü	
17- <i>Thymus longicaulis</i> C.Presl. subsp. <i>longicaulis</i>	Aş kekiği	
18- <i>Thymus vulgaris</i> L.	Kekik	
19- <i>Tussilago farfara</i> L.	Öksürtükotu	
20- <i>Rumex acetosella</i> L.	Kuzukulağı	
21- <i>Mentha spicata</i> L. subsp. <i>spicata</i>	Eşek nanesi	
22- <i>Cyclamen persicum</i> Mill.	Alayaprak	
23- <i>Ecballium elaterium</i> (L.) A.Rich.	Eşek hıyarı	
24- <i>Sinapis arvensis</i> L.	Hardal	
25- <i>Capparis spinosa</i> L.	Kebere	
26- <i>Capsicum annuum</i> L.	Biber	
27- <i>Rosa canina</i> L.	Kuşburnu	
28- <i>Petroselinum crispum</i> Mill. A.W.Hill.	Maydanoz	
29- <i>Crocus sativus</i> L.	Safran	
30- <i>Ziziphus jujuba</i> Mill.	Hünnap	
31- <i>Peganum harmala</i> L.	Üzerlik	
32- <i>Carthamus tinctorius</i> L.	Aspir	
33- <i>Dianthus caryophyllus</i> L.	Karanfil	
34- <i>Ocimum basilicum</i> L.	Fesleğen	
35- <i>Origanum syriacum</i> L. subsp. <i>bevanii</i> (Holmes) Greuter & Burdet.	Hababa	

2. Bitkilerin Çoğaltımında Kullanılan *in vitro* Teknikler

Türkiye'de yetişen bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin çoğaltımında kullanılan somatik embriyogenesis, sürgün ucu kültürü, boğum kültürü, haploid bitki üretimi (androgenesis), biyoreaktör aracılığıyla üretim, somatik melezleme ve protoplast füzyonu gibi biyoteknolojik tekniklerle yapılan çoğaltım çalışmalarının; ne amaçla yapıldığı, hangi yöntemlerin uygulandığı ve elde edilen bulgular ile ilgili bilgiler sunulmuştur. Bitki çoğaltımında kullanılan embriyo kültürü, kallus kültürü hücre kültürü gibi diğer *in vitro* teknikler de, tıbbi ve aromatik bitkilerin çoğaltım çalışmalarında kullanılabilecek birer yöntem olarak ele alınabilmektedir.

2.1 Somatik Embriyogenesis

Bitkinin somatik dokularından kapalı iletim sistemine sahip bipolar bir embriyonun üretilmesini sağlayan aseksüel gelişme süreci, somatik embriyogenesis olarak adlandırılır (Cardoza, 2008; Özcan, Babaoğlu et al., 2001). Somatik embriyogenesis, *in vitro* çoğaltım teknikleri

arasında oldukça önemli bir yöntemdir. Yoğun ve klonal bir çoğaltım için uygulanan bu teknikte embriyolar ya direkt olarak eksplant dokusundan ya da kallustan indirekt olarak oluşabilir. Genetik materyalin muhafazası, sentetik tohum üretimi, genetiği değiştirilmiş organizma üretimi, *in vitro* koşullarda çeşitli test ve çalışmalarda büyük bir potansiyel sağlayan bu teknikte başarı, genotipe, eksplant kaynağına, büyüme düzenleyici maddelere, azot kaynaklarına ve inkübasyon koşullarına bağlıdır. Somatik embriyolar aynı zamanda tohum olarak da kullanılabilir. Biyoreaktörler aracılığıyla

somatik embriyoların bol miktarda üretimi ve bunlardan sentetik tohum üretimi başarılı sonuçlar vermiştir (Fang, Wetten, & Hadley, 2004). Bu tohumların genetik materyalin muhafazası amacıyla farklı tekniklerle (sıvı azot içerisinde dondurularak, kurutma, yavaş büyüme vb.) uzun süre saklanması ve ihtiyaç duyulduğunda çimlendirilmesi mümkündür. Bu aslında, doğal çimlenme işlemini taklit eden bir olaydır. Türkiye’de bazı tıbbi aromatik bitkilerde yapılan somatik embriyogenesis çalışmalarının materyal metot ve sonuç kısımları Tablo 2’de açıklanarak ifade edilmiştir.

Tablo 2. Tıbbi aromatik bitkilerde uygulanan somatik embriyogenesis çalışmaları

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
- (Koçak et al., 2014) - <i>Cyclamen persicum</i> Mill. (Domuz Turpu) - Boğum arası	MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: Fe-EDTA, pepton (250 mg/L), myo-inositol (100 mg/L), glycine (2.0 mg/L), NAA (0.5 mg/L), thiamine HCl (0.1 mg/L), pyridoxine-HCl (0.5 mg/L), sukroz (30 g/L), glukoz (2 g/L), gelrite (3.7 g/L), 2,4-D (2.0 mg/L) ve 2iP (0.8 mg/L) ekleyerek hazırlanmıştır. 22-25°C’de karanlıkta inkübe etmişlerdir.	%80-95 oranında somatik embriyo elde etmişler, sürgün gelişimi, bitki oluşumu gözlemişlerdir.
-(Ovecka, Bobak, Blehova, & Kristin, 1997). - <i>Papaver somniferum</i> L. (Haşhaş) -Somatik embriyogenesis	Farklı dozlarda NAA ve KIN’ nin eklendiği MS (Murashige & Skoog, 1962) ortamında kültüre alma çalışması yapmışlardır. Tüm kültüre alma ve çoğaltım aşamasında 16 saatlik fotoperiyot ve 25 ± 2 °C sıcaklık uygulamışlardır. Elde edilen kallusları 0.1mg/L NAA, 0.1mg/L KIN, 0.1mg/L IAA ve 0.5mg/L BAP içeren MS ortamında alt kültüre almışlardır.	Çalışmada <i>P. Somniferum</i> L. bitkisinde 0.1mg/L NAA, 0.1mg/L KIN içeren MS besin ortamında kallus elde etmişlerdir. Sürgün oluşumundan önce kallus üzerinde küçük beyaz preembriyonik yapıları gözlemişlerdir.
-(Başalma, Uranbey, Mirici, & Özer, 2008). - <i>Carthamus tinctorius</i> L. (Aspir) - Somatik embriyogenesis	<i>In vitro</i> ortamda çimlendirilerek elde edilen filizlerdeki 1-2 mm çapındaki kotiledonlar, boğum kısımlarında ki sürgünler ve kalluslar %3 sukroz ve %0.8 agar içeren MS (Murashige & Skoog, 1962) ortamına, farklı konsantrasyonlarda TDZ; 0.05, 0.1 ve 0.5 mg/L ve IBA; 0.25 ve 0.5 mg/L hormonlarını içeren (100 x 10 mm)’lik petri kaplarında kültüre almışlardır. Meristem kültürü kotiledon dan 14 gün sonrasında direk organogenesis ile elde etmişlerdir. Kotiledon boğumları 2 - 3 cm uzunluğunda ve meristem tiptekileri 1 - 2 mm uzunluğunda MS ortamında çeşitli konsantrasyonlar da BAP (0.5 ve 1.0 mg/L) tek başına veya NAA (0.02 ve 0.2 mg/L) Magenta kaplarında (GA-7) kültüre almışlardır.	En yüksek sürgün rejenerasyonu (%33.33) ve en yüksek sayıda sürgün adedi (6.5) MS ortamına eklenen 0.5 mg/L TDZ ve 0.25 mg/L IBA ile gözlemişlerdir. Meristem ve kalluslardan direk organogenesis ile 14-21 gün sonrası MS ortamında bulunan farklı dozlardaki BAP ve NAA’de gözlemişlerdir.
- (Ljubinka, Snezana, Radmila, & Mirjana, 1987). - <i>Rumex acetosella</i> L. (Kuzukulağı) - Somatik embriyogenesis	3-4 mm uzunluğunda steril edilen eksplantları kullanmışlardır. MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına; thiamine (1.0 mg/L), pyridoxine HCl (1.0 mg/L), NAA (5.0 mg/L) ve %0.7 agar eklemişlerdir. 3 farklı besin ortamı hazırlayıp: sürgünler %2 sukroz, BAP (2.2 mg/L) ve IAA (0.17 mg/L) ile muamele etmişlerdir; alt kültürlerde sadece %6 sukroz, mannitol veya sorbitol eklenerek ya da %6’lık sukroz tek başına eklenerek ortam hazırlanıp kültüre almışlardır. Olgunlaşmış embriyolar %6 sukroz BAP ve IAA olmaksızın sadece GA ₃ (10 mg/L) eklenerek kültüre almışlardır. pH 7.2 ile 7.3 arasında ayarlamışlardır.	En yüksek embriyo gelişimi GA ₃ eklenen ortamda olmuştur.
- (Ebrahimie et al., 2007). - <i>Cuminum cyminum</i> L. (Kimyon) - Somatik embriyogenesis	MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: IAA (0.4 mg/L), NAA (0.4 mg/L) eklenerek pH 5.7 de 21-22°C’de inkübasyon yapmışlardır.	Üç farklı tipte eksplant oluşmuş ve embriyo gelişimi gözlemişlerdir.

2.2. Haploid Bitki Üretimi

Somatik hücrelerde bulunan kromozom sayısı ile gamet hücrelerindeki kromozom sayısı birbirine eşit olan bitkiler haploid bitkiler olarak adlandırılır. Bu bitkiler, her lokustaki alellerden yalnızca bir seriyi bünyesinde bulundurmakta ve bu özellikleri nedeniyle ıslah ile ilgili çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Chupeau, Caboche, & Henry, 1998; Ellialtıoğlu, Sarı, & Abak, 2001; Palmer & Keller, 1997). Anter kültüründe (androgenesis) en uygun başlangıç materyali, henüz tam olgunlaşmaya erişmemiş ve içerisinde tek çekirdekli mikro sporları bulunan, ilk polen mitozu aşamasındaki anterlerdir. Çiçek tomurcukları içerisinde bu aşamada bulunan anterler, yüzeysel sterilizasyonundan sonra aseptik koşullarda, önceden hazırlanmış steril besin ortamına dikilir (Çağlar, Aras & Bayram, 2004; Ellialtıoğlu et al., 2001). Anter kültüründe, eksplantlar dikimlerinden yaklaşık 40 gün

sonra gelişerek embriyo halinde anterlerin içerisinde görülebilir aşamaya ulaşmaktadır. Bu olay direkt androgenesis olarak adlandırılmaktadır. Bundan farklı olarak, bazı bitki türlerinde önce kallus meydana gelmekte ve akabinde kallustan organogenesis veya embriyogenesis vasıtasıyla haploid bitkiler oluşmaktadır. Bu ikinci oluşum yoluna da indirekt androgenesis denilmektedir. Haploid bitki üretimi amacıyla yapılan çalışmaların materyal metot ve sonuç kısımları Tablo 3’de belirtilmiştir.

2.3. Somatik Hücre Melezlemesi, Protoplast Kültürü

Somatik melezleme, prezigotik eşeyssel uyumsuzluk gibi nedenlerden dolayı klasik yöntemlerle melezlemesi yapılamayan hibritlerin üretilmesinde gerek fiziksel gerekse kimyasal yöntemlerden faydalanılarak uygulanan bir kültür tekniğidir (Babaoğlu & Özcan, 2001). Üretilen somatik melez hücreden, kallus uyarımı ve bundan bitkiye

dönüşüm, sistemin en önemli parçasıdır. Genel anlamda bu işleme genetik kopyalama denilebilir ve bitkilerde yaklaşık 60 yıldan beri yapılagelmektedir (Ochatt & Power, 1992). Protoplast yönteminde ise çok hücreli bitkilerde bitki hücreleri birbirlerine hücre duvarı yapısı ile bağlanmaktadır. Bir bitki hücresinin hücre duvarı uzaklaştırıldığında geriye kalan yapıya protoplast denilmektedir. Oluşturulan bu protoplastlar izotonik ortamda canlılığını sürdürerek, kendisine yeni bir hücre duvarı sentezlerler. Mitozla çoğalarak yeni hücre birliktelikleri oluşturan hücreler (mikrokallus), daha sonra bu yapıdan da yeni bitkiler meydana getirebilmektedir.

İşte bu yöntem bitkilerin totipotensi özelliğini ortaya açıkça koymaktadır. Yani her bir bitki hücresi kendisinden yeni bir bitki oluşturabilme kapasitesine sahiptir (Babaoğlu & Özcan, 2001). Bu yöntemle yapılan çalışmaların materyal, metot ve sonuç kısımları Tablo 4’de açıklanarak ifade edilmiştir.

2.4. Sürgün Ucu Kültüründe Biyoreaktör Kullanımı

Biyoreaktörler, canlı organizma, hücre veya dokuların sıvı besi yeri içerisinde kültür ortamına zarar vermeden pH, sıcaklık, hava temini, karıştırma ve taze besi yeri ekleme işlemlerinin yapılabildiği elektronik kontrole imkân sağlayan metal, cam veya plastikten üretilmiş tanktır. Biyoreaktör içerisindeki besin ortamının şartlarını

yakından takip etmeye olanak tanıdığı gibi fiziksel ve kimyasal müdahaleye de elverişli bir sistemdir (Topçu & Çölgeçen, 2015). Tablo 5’de biyoreaktör ile çoğaltımı sağlanan tıbbi aromatik bitkilerin, çoğaltım aşamasının materyal metot ve sonuç kısımları gösterilmiştir.

2.5. Sürgün Ucu ve Boğum Kültürleri

Totipotensi özelliğine sahip bitki kısımlarından alınan (tek hücre, polen tanesi, embriyo, tohum, gövde, sürgün, kök, kallus vb.) eksplantların, besin ortamları üzerinde ve steril koşullarda yeni bitkilerin elde edilmesi amacıyla kültüre alınmasına mikroçoğaltım denir. Bitkilerin yetiştirilmesine uygun besin ortamı, bitki büyüme düzenleyici madde ve kültür ihtiyaçları yeteri kadar biliniyorsa mikroçoğaltım tekniği aracılığı ile her tür bitkinin üretimi ve çoğaltımı mümkündür (Ayabe & Sumi, 2001; Hartman & Kester, 1975; Uçar & Turgut, 2009; Wang et al., 2006). Bitkilerin *in vitro* şartlarda üretiminde tekniğin adlandırılması, kullanılan eksplantın (embriyo, meristem, anter, boğum, hücre vb.) özelliğine göre olmaktadır. Ancak çoğunlukla üretimde kallus, boğum, boğum arası yöntemi, sürgün ucu, adventif sürgün ya da tomurcuklardan rejenerasyon gibi teknikler kullanılmaktadır (Mansuroğlu & Gürel, 2001). Tablo 6’da sürgün, boğum, boğum arası, kök çimlendirme yöntemleri ile üretilen bitkilerin materyal metot ve sonuç kısımları açıklanarak anlatılmıştır.

Tablo 3. *Capsicum annuum* L.’ da anter kültürü

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
- (Çağlar et al., 2004). - <i>Capsicum annuum</i> L. (Kırmızıbiber) - Kırmızı pul biber olarak kullanılan biberin anterleri	Eksplantlar MS (Murashige & Skoog, 1962) temel besin ortamında kültüre alınmışlardır. Ayrıca MS ortamına: myo-inositol (100 mg/L), sukroz (30 g/L) ve agar (8 g/L) ilave edilip. Büyüme düzenleyici madde olarak ise: NAA (2.0, 4.0, 6.0 mg/L) ve 2,4-D (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/L) ile BAP (0.1, 1.0, 2.0, 3.0 mg/L) ve KIN (0.1, 1.0, 5.0 mg/L) eklenmişlerdir.	<i>In vitro</i> şartlarda üç binden fazla anter kültüre alınmışlardır. Bunlardan 284 tanesi kallus meydana getirirken, doğrudan embriyogenesis de başarı sağlayamamışlardır. Kırmızı biberlerden Kahramanmaraş çeşidinde doğrudan embriyogenesis yalnızca BAP (0.1 mg/L) + NAA (4 mg/L) + aktif karbon (%0.2) + AgNO ₃ (10 mg/L) içeren MS besin ortamına dikilmiş olan anter eksplantlar da oluşmuş ve embriyo meydana getirme oranı ise %2.8 olarak belirlenmişlerdir.

Tablo 4. Protoplast kültürü ile çoğaltılan tıbbi aromatik bitkiler

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
- (Primard, Vedel, Mathieu, Pelletier & Chavre, 1988). - <i>Sinapis arvensis</i> L. (Hardal) - Hibritleme, protoplast	<i>Brassica hirta</i> ve <i>Brassica napus</i> arasında <i>Sinapis arvensis</i> L. kullanılarak hibritleme ile protoplast yöntemi çalışılmışlardır. MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: B _s besin ortamın mineral tuzları agar (2.0 g/L), gelrite (3.0 g/L), sakkaroz (30 g/L), mannitol (10 g/L), BAP (0.5 mg/L), IBA (0.5 mg/L) eklenerek hazırlanmışlardır. pH 7.2 olarak ayarlanıp, 25°C’de 16 /8 saat aydınlık/ karanlık şartlarda inkübe etmişlerdir.	2-4 hafta sonunda sürgün gelişimi gözlemlenmiştir.

Tablo 5. Biyoreaktör aracılığıyla çoğaltılan tıbbi aromatik bitkiler

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
- (Georgiev et al., 2012). - <i>Leucojum aestivum</i> L. (Göl soğanı) - Boğum, boğum arası ve sürgünler	Biyoreaktör tankları içine 80 adet sürgün olacak şekilde 18°C, 22°C ve 26°C’de dikim yapmışlardır. MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: sakkaroz (30 g/L), agar (5.5 g/L), NAA (1.15 mg/L) ve BAP (2 mg/L) eklenmişlerdir. Sürgünler 26°C’de 16:8 h (ışık: karanlık) aydınlık koşullarda, 110 µmol (m ² ·SYLVANIA Gro-Lux) floresan ışığında büyümeye bırakılmışlardır. (F18W/GRO-LUX).	80 adet sürgünün başarılı bir şekilde gelişme gösterdiğini tespit etmişlerdir.
- (Panizza & Tognoni, 1992). - <i>Lavandula officinalis</i> Mill. (Lavanta) - Sürgün arası	Biyoreaktör tankları 25°C de 16:8 h (ışık: karanlık) aydınlık koşullarda ayarlanmışlardır. MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: sakkaroz (30 g/L), agar (6 g/L), ve büyüme düzenleyici olarak NAA, IBA, ve IAA’nın farklı dozları eklenip inkübe etmişlerdir.	En yüksek köklendirme MS besin ortamına IAA (1 mg/L) ve IBA (1 mg/L) eklendiğinde gözlenmişken, NAA (0.5 mg/L)’nin tek başına eklenmesiyle en yüksek sürgün gelişimi gözlemlenmiştir.

Tablo 6. Sürgün, boğum ve boğum arası yöntemleri ile üretilen yapılan tıbbi aromatik bitkiler

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
<p>-(Uçar & Turgut, 2009). - <i>Sideritis perfoliata</i> L., <i>Sideritis stricta</i> Boiss. & Heldr., <i>Sideritis erythrantha</i> Boiss. & Heldr. (Dağ çayı) -Yaprak, yaprak sapı, boğum, boğum arası tohum</p>	<p>Çimlendirme için MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: sakkaroz (30 g/L), agar (7 g/L) ve GA₃'ün farklı dozları eklenerek ortamı hazırlanmıştır (MS0- BBD (0 mg/L), MS1- GA₃ (5.0 mg/L), MS2- GA₃ (10 mg/L) ve MS3- GA₃ (15 mg/L) olmak üzere 4 farklı ortam hazırlanmıştır). <i>S. stricta</i> ve <i>S. perfoliata</i> türlerinde farklı eksplant kaynakları (yaprak, yaprak sapı, boğum ve boğum arası) için hazırlanan MS besin ortamına; NAA (0.5 mg/L) ile BAP'ın 1, 2, 4 mg/L dozları (MS1, MS2, MS3) ilave edilmiştir. Sonrasında yeni sürgünler, MS besin ortamına TDZ'nin farklı konsantrasyonları eklenerek rejenere edilmiştir. Kontrol olarak büyüme düzenleyici madde içermeyen temel besin ortamı (MS0) kullanılmışlardır.</p>	<p>TDZ'nin yüksek konsantrasyonunu (1.5 mg/L) içeren besin ortamlarında gelişim oranı az olurken, rejenerasyonu ve gelişim en fazla MS0 (0 (BBD))'da olduğunu gözlemlemiştir.</p>
<p>-(Yücesan et al., 2018). -<i>Digitalis lanata</i> Ehrh. subsp. <i>lanata</i> (Yünlü yüksük otu) -Sürgün rejenerasyonu</p>	<p>Steril edilen <i>Digitalis lanata</i> Ehrh. subsp. <i>lanata</i> (yüksük otu) tohumları 25 ml MS (Murashige and Skoog 1962) 30 g/L sukroz, 8 g/L Plant agar ihtiva eden ortamda petri kaplarına <i>in vitro</i> ekmişlerdir. * 6 hafta sonra gelişen yeni filizlerden 0.5 cm uzunluğunda eksplantlar alarak (0.25, 0.50, 1.0, 2.0 mg/L) IAA, NAA, IBA büyüme düzenleyicilerini ihtiva eden 330 ml'lik MS ortamında kültüre almışlardır.</p>	<p>8 hafta sonunda sürgün gelişimi gözlemiştir. 12 hafta sonunda kök üretimini MS besin ortamında 0.25 mg/L IAA içeren besin ortamında gerçekleştirmişlerdir. En yüksek 0.25 mg/L IAA, 0.50 mg/L IAA ve 0.50 mg/L IBA hormonlarını içeren ortamlarda iklimizasyona aldıklarında %95 oranında hayatta kalma oranlarını gözlemiştir.</p>
<p>-(Karaoğlu, 2004) -<i>Leucojum aestivum</i> L. (Göl soğanı) -Yapraklardan ve olgunlaşmış embriyolardan doku kültürü yolu ile çoğaltım</p>	<p>Besin ortamı olarak MS (Murashige ve Skoog 1962) ve N6 (Chu vd. 1975) mineral tuzları ve vitaminleri kullanılmıştır. İki farklı eksplant tipi (soğan pul yaprakları ve olgunlaşmamış embriyolar) kullanılmış olup, her iki eksplant tipi için de farklı ortamlar kullanılmışlardır. Olgunlaşmamış embriyolardan soğancık oluşumu 4 farklı ortam üzerinde ve 4 ayrı aşamada yürütülmüştür. Bu ortamlar; a) Kallus teşvik ortamı (KTO): N6 mineralleri ve vitaminleri, 2.3 g/L L-prolin, 200 mg/L kazein hidrolizat, 20 g/L sukroz, BAP (1, 2 ve 4 mg/L dozlarında), NAA (0.5, 1 ve 2 mg/L dozlarında), 2.5 g/L gelrite b) Embriyo geliştirme ortamı (EGO): Kallus teşvik ortamı ve 30 g/L mannitol c) Embriyo olgunlaştırma ortamı (EOO): MS mineralleri ve vitaminleri, 60 g/L sukroz, 7 g/L agar d) Sürgün oluşturma ortamı (SOO): MS, 20 g/L sukroz, 7 g/L agar</p>	<p>Soğan pul yapraklarından en yüksek eksplant başına sürgün sayısı; 11.02 adetle 1mg/L BAP ve 1mg/L NAA içeren ortamdan elde edilirken ortamların genel ortalaması 5.16 adet olmuştur. Eksplant başına en yüksek soğancık oluşumu 6.17 adetle yine 1 mg/L BAP ve 1 mg/L NAA içeren ortamda gerçekleştirmişlerdir. Gelişen soğancıklar farklı NAA içeren ortamlar da köklendirmeye alıp ve en iyi köklendirme ortamı olarak 1 mg/L NAA içeren ortam tespit edilmiştir.</p>
<p>-(Daneshvar Royandazag, 2005) -<i>Papaver bracteatum</i> Lindl. (Haşhaş) -Adventif sürgün rejenerasyonu, Hipokotil, kotiledon ve hipokotil - kotiledon kısımları kullanılmışlardır</p>	<p>Denemelerde MS mineral, tuz ve vitaminleri (Murashige & Skoog 1962) ile %3 sukroz içeren ve %0.75'lik agar (type A, Sigma) ile katıştırılan temel besin ortamı (MS) kullanılmışlardır. Steril edilen tohumlar yine steril petri kapları içerisinde %3 sukroz içeren ve %0.8 agar ile katıştırılan MS besin ortamında 19 ±1°C' de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık foto periyodunda çimlendirmişlerdir. Her biri 4-5 mm uzunluğunda parçalara ayrılarak rejenerasyon ortamına konulmuş, çalışmada uygulanan forcing metodunda eksplantlar yüksek oranda 2,4-D, NAA ve IBA 15 mg/L içeren MS ortamlarında 3 gün süresinde bekletildikten sonra 0.24 mg/L 2,4-D ve 0.19 mg/L NAA ve vitaminler (2 mg/L glisine, 0.5 mg/L nikotinik asit, 0.5mg/L pyridoxine, 200 mg/L miyoinositol ve 0.5mg/L thiamine) içeren MS ortamına aktarmışlardır. 120 gün sonra 2,4-D, NAA ve değişik vitaminler içeren MS ortamında gelişen bitkiler aynı ortama alt kültüre almışlardır. Köklenmeyi sağlamak için, rejenere olan sürgünler 0.25, 0.50 ve 1.0 mg/L IBA içeren MS besin ortamına almışlardır.</p>	<p>Adventif sürgün rejenerasyonu amacıyla <i>Papaver bracteatum</i>' un 7 ve 18 nolu hatlarından alınan, hipokotil-kotiledon eksplantlarda sırasıyla 7. hatta en iyi sonuç 1 mg/L Kinetin, 0.5 mg/L NAA ve 0.1 mg/L GA₃ içeren MS ortamda ve 18. hattında Kinetin, 2.00 mg/L NAA ve 0.1 mg/L GA₃, 2.00 mg/L Kinetin, 2.00 mg/L NAA ve 0.1 mg/L GA₃ içeren ortamlardan elde edilmiştir. Köklenme de en iyi sonucu 0.5 mg/L IBA içeren ortamlardan elde edilmiştir.</p>
<p>-(Meriç, Tuman, Ayan, & Atak, 2019). - <i>Lavandula angustifolia</i> Mill. (Lavanta) - Sürgünlerden doku kültürü ile <i>in vitro</i> çoğaltım</p>	<p>Bitkinin sürgün kısımlarından aldıkları eksplantları kallus, sürgün ve kök oluşumu için <i>in vitro</i> ortamda doku kültürü yöntemi ile kültüre almış. Bunun için MS ortamına farklı dozlarda (1 mg/L, 1.25 mg/L, 2 mg/L) 2,4-D, BAP, IBA, NAA ekleyerek farklı ortamlar hazırlamıştır.</p>	<p>En yüksek çoğaltım %64.7 oranında MS ortamına eklenen 2 mg/L BAP ile gözlemiştir. En iyi sürgün gelişimi ise %95.6 oranında MS ortamına NAA ve IBA 'nın çeşitli dozlarda birlikte eklenmesi ile elde edilmiştir. En yüksek köklenme ise %60 oranında MS ortamında 1.25 mg/L IBA eklenmesi ile elde edilmiştir. En iyi kallus gelişimi ise %66 oranında MS besin ortamına 2 mg/L 2,4-D ve 2 mg/L BAP eklenmesi ile elde edilmiştir.</p>
<p>-(Saker, Gengaihi, Kamel, & Farid, 2010). - <i>Echallium elaterium</i> (L.) A. Rich. (Eşek hıyarı) - Doku kültürü</p>	<p>Mısır da El-Arish kentinde yetişmekte olan <i>Echallium</i> bitkisinden eksplantlar almışlardır. Steril edilen tohumları MS ortamına %3 sukroz ve 7 gr/L agar eklenen besin ortamında büyütülmüşlerdir. Üç hafta sonra gelişen filizlerden 5mm kotiledon örneklerini alıp MS ortamına farklı dozlarda büyüme düzenleyicileri NAA ve BA eklenerek kültüre almışlardır. Kallusları geliştirmek için de MS ortamına 0.2 mg/L NAA ve 2 mg/L BA eklemiştir.</p>	<p>En iyi kallus, Hipokotil ve kotiledon oluşumu MS besin ortamında 0.1-0.5 mg/L NAA ile birlikte 2 mg/L BA eklendiğinde elde edilmiştir.</p>
<p>-(Aawad, Khateeb, & Al-Ekbal, 2006). - <i>Digitalis lamarckii</i> Ivan. (Yünlü yüksük otu) - Çimlendirme için tohum, boğum arası boğum, kök, gövdeden 1 cm uzunluğunda eksplant -(Whipkey, James, & Janick, 1988). - <i>Borago officinalis</i> L. (Hodan) - Sürgün, yaprak, yaprak sapı, boğum -(Gopi & Pomurugan, 2006). - <i>Ocimum basilicum</i> L. (Fesleğen) - Boğum arası ve boğum</p>	<p>MS besin ortamına bir oksin (BBD), farklı dozlarda IAA, IBA, NAA (0.05, 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L) ilave edilmiş, pH 5.7'ye ayarlanarak hazırlanan ortamlardaki bitkiler 25°C'de inkübe edilmişlerdir.</p>	<p>En iyi sürgün gelişimi IBA (0.5 mg/L) eklenmiş ortamda kaydetmişlerdir.</p>
	<p>MS besin ortamına: B₅ besin ortamının vitamin tuzları ile birlikte thiamine (0.3 mg/L), 2,4 -D pyridoxine-HCl, myo-inositol (100 mg/L), NAA (0.5 mg/L), glisin (2 mg/L), kazein hidrolizat (1 g/L), sakaroz (30 g/L) ve agar (6g/L) eklenip pH 5.7'ye ayarlanarak, ortama almışlardır.</p>	<p>En yüksek verim: NAA (0.5 mg/L) ve thiamine (0.3 mg/L) eklenen ortamda gözlemlemiştir.</p>
	<p>MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına BAP (1.0 mg/L), NAA (1.0 mg/L), KIN (0.5 mg/L) eklemiştir. İnkübasyon koşulları ise 25°C sıcaklık ta ve karanlığa maruz bırakarak yapmışlardır.</p>	<p>Maksimum büyüme BAP (1.0 mg/L) NAA (1.0 mg/L) ve KIN (0.5 mg/L) eklenmiş ortamda gözlemiştir.</p>

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
-(Stephen & Jayabalan, 1998). - <i>Coriandrum sativum</i> L. (Kişniş) - Çimlendirme için tohum ve sürgün, boğum, boğum arası	SH besin ortamına farklı dozlarda NAA ve GA ₃ eklemiştirler. Dozlar: *NAA (0.05 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L) *NAA (0.1 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L) NAA (0.1 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L) NAA (0.15 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L) NAA (0.2 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L)	En iyi çiçeklendirme ve sürgün rejenerasyonu: SH besin ortamına: NAA (0.15 mg/L) ve GA ₃ (0.5 mg/L) eklenerek hazırlanan ortamda gözlemlenmiştir.
-(Moallem, Behbahani, Mousavi, & Karimi, 2012). - <i>Rosa canina</i> L. (Kuşburnu) -Kök, tohum, sürgün, boğum, boğum arası	MS besin ortamına aktif kömür (3 mg/L) ve BAP (0.25 mg/L), GA ₃ (1 mg/L), GA ₃ (0.5 mg/L)+ BAP (0.25 mg/L), GA ₃ (1 mg/L) + BAP (0.25 mg/L), ve GA ₃ (1.5 mg/L) + BAP (0.25 mg/L). Köklendirme için; aktif kömür (3 mg/L) ve BAP (0.25 mg/L), NAA (1 mg/L), NAA (0.5 mg/L) + BAP (0.25mg/L), NAA (1 mg/L) + BAP (0.25 mg/L) ve NAA (1.5 mg/L) + BAP (0.25 mg/L) eklenerek hazırlanmıştır.	En yüksek sürgün rejenerasyonu (1.5 mg/L) GA ₃ + (0.25 mg/L) BAP eklenen ortamda gözlemlenmiştir. En iyi köklenme ise: NAA (1 mg/L) ile BAP (0.25 mg/L) eklenmesiyle elde etmişlerdir.
- (Vandermoortele, Billard, Boucaud, & Gaspar, 1996). - <i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) A. W. Hill. (Maydanoz) - Boğum, boğum arası, kök -(Abbasi, Khan, Mahmood, Mushtaq, Chaudhary, & Khan, 2010). - <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn. (Devedikeni) -Boğum, boğum arası sürgün -(Ünal, 2007; Acar et al., 2017). - <i>Crocus sativus</i> L. (Safran) -Yaprak, yaprak sapı, sürgün	MS ortamına farklı 9 (BBD) kombinasyonu denemiştirler. BAP 'den (0 - 0.562-1.125 mg/L ile) NAA: 0, 0.465 veya 0.93 mg/L tek başına eklenerek ortamlar hazırlanmıştır.	En iyi sürgün rejenerasyonu BAP (0.562 mg/L) ve NAA (0.465 mg/L) eklenen ortamda gözlemlenmiştir.
-(Arıcı, Şan, & Kazaz, 2017). - <i>Rosa damascena</i> Mill. (Isparta Güllü) -Sürgün, boğum, boğum arası	MS besin ortamına BAP (0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, ve 10 mg/L) veya GA ₃ ile NAA (1.0 mg/L) eklenerek hazırlanmıştır.	BAP (1 mg/L) ve NAA' da %80 oranında büyüme; BAP 'de (5 mg/L) %90 oranında büyüme gözlemlenmiştir.
-(Özüdoğru, Kaya, Kırdok, İşsever, & Öztürk, 2011). - <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C. presl. (Aşkekikliği) - Kök, boğum ve boğum arası	MS besin ortamına farklı dozlarda NAA ve BAP eklenerek ortamlar hazırlanmıştır.	Sürgün rejenerasyonunda en iyi sonuç: BAP (0.04 mg/L) ve NAA (0.01 mg/L) eklenmesiyle elde etmişlerdir.
-(Soliman & Hegazi, 2013). - <i>Ziziphus jujuba</i> Mill. (Hünnap) - Boğum ve boğum arası	Besin ortamı olarak MS kullanılmışlardır. Besin ortamına: agar (7.5 g/L) ve sakaroz (30 g/L) ilave etmişlerdir. Ortamın pH'sı 5.8 olarak ayarlanmış ve agar ilavesinin ardından ısıtılarak eritilen besin ortamları 5'er ml olacak şekilde tüplere dağıtılmıştır. 32 farklı BBD kombinasyonu denemiştirler.	En fazla sürgün gelişimi eksplant başına 4 sürgün ile MS ortamına: BAP (1.0 mg/L) + GA ₃ (0.5 mg/L) (BBD) konsantrasyonu eklendiğinde gözlemlenmiştir. En iyi kök oluşumunu MS besin ortamına: IBA (0.5 mg/L) eklenmesiyle elde etmişlerdir.
-(Ren, Rei, & Li, 2017). - <i>Tussilago farfara</i> L. (Öksürük otu) - Çimlendirme, boğum ve boğum arası	MS besin ortamına IAA, IBA, NAA ile birlikte 2,4-D (BBD) (0.01, 0.05, 0.1 veya 1.0 mg/L) dozlarında eklemiştirler. Köklendirme için; MS Ortamına: KIN (1.0 mg/L) ve GA ₃ (0.3 mg/L) eklemiştirler.	%97 oranında gerçekleşen sürgün rejenerasyonu, MS besin ortamına KIN (1 mg/L) ve GA ₃ (0.3 mg/L) BBD eklenen ortamda gözlemlenmiştir.
-(Harshan & Nag, 1984; Saini & Jaiwal, 2000). - <i>Peganum harmala</i> L. (Üzerlik) - <i>In vitro</i> ortamda çimlendirilen tohumların hipokotil kısımları	MS besin ortamına: %3 (w/v) sakaroz ve bitkisel gelrite (2.5 g/L) ve farklı oranlarda (BBD) kullanılmışlardır. Bunlar; sitokininlerden: BAP, 2iP ve TDZ ile oksinlerden: NAA, IAA ve IBA' dir.	En iyi büyüme MS besin ortamına NAA (0.05 mg/L) + 2iP (2 mg/L) eklendiğinde gözlemlenmiştir.
-(Ren, Rei, & Li, 2017). - <i>Tussilago farfara</i> L. (Öksürük otu) - Çimlendirme, boğum ve boğum arası	MS besin ortamında 6 farklı (BBD) kombinasyonu eklenerek kültüre alma çalışması denemiştirler. Bu 6 farklı ortama farklı dozlarda KIN, IBA, 2,4-D, BAP (BBD) eklemiştirler.	En iyi gelişim %96.2 oranında 6 numaralı MS besin ortamında: BAP (3.0 mg/L) + 2,4-D (2.0 mg/L) (BBD) eklendiğinde gözlemlenmiştir. Tohumların çimlenmesi ise KIN (1.0 mg/L) ve IBA (0.3 mg/L) eklenmesiyle %91 oranında olurken, en iyi kök gelişimi %95.22 oranında MS besin ortamına IBA (0.2 mg/L) (BBD) eklendiğinde gözlemlenmiştir.
-(Harshan & Nag, 1984; Saini & Jaiwal, 2000). - <i>Peganum harmala</i> L. (Üzerlik) - <i>In vitro</i> ortamda çimlendirilen tohumların hipokotil kısımları	İlk önce %0.8 agar ve %3 sakaroz ile hazırlanan ortama tohumlar ekilmiş. Çimlenen tohumlar MS besin ortamına BAP olmadan yalnızca 0.04 ve 0.09 mg/L oranlarında NAA eklenerek kültüre almışlardır. Farklı dozlarda BAP, NAA ve GA ₃ eklenerek hazırlanan ortamlar da kültür çalışması denemiştirler.	En iyi sürgün gelişimi MS ortamına 1.125 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA eklenmesiyle %75 oranında gözlemlenmiştir.
-(Özdemir, Uğur, Yıldırım & Kahrizb, 2015). - <i>Mentha spicata</i> subsp. <i>spicata</i> L. (Bahçe nanesi) - Boğum ve boğum arası	Tohumların çimlendirilmesinde büyüme düzenleyici madde içermeyen MS besin ortamı kullanılmışlardır. Hipokotil kısımdan alınan eksplantlar BAP (0.25, 0.50, 1.0, 2.0 mg/L) ve NAA' nın (0, 0.25, 0.50 mg/L) 16 farklı kombinasyonunu içeren MS besin ortamına dikmişlerdir. Köklendirme aşamasında ise MS besin ortamına IBA (0.5 mg/L) ilave edilerek dikip, pH 5.8 olarak ayarlanmışlardır.	GA ₃ hormonu eklenen ortamda hiç büyüme gözlemlenmiştir. Kallusun meydana gelme oranları %1.67 ile %87.67 arasındadır. Bu oluşum yüzdesinin BAP (2 mg/L) içeren MS besin ortamında en düşük miktarda ve BAP (0.25 mg/L) + NAA (0.50 mg/L) içeren MS besin ortamında en yüksek miktarda olduğu ifade etmişlerdir. %26.13 ile %97.33 oranlarında sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Sürgün rejenerasyonu BAP (0.50 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında en az miktarda meydana gelirken, BAP (2.0 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında ise en fazla miktarda meydana geldiğini açıklamışlardır.
-(Çetin, Kazaz & Göktürk, 2007). - <i>Dianthus caryophyllus</i> L. (Karanfil) - Sürgün ucu (0.5 - 1 cm)	Sürgün oluşumu için MS besin ortamına ilave edilen KIN, BAP ve NAA' in farklı dozları denemiştirler. Köklendirme için iki farklı ortam hazırlanmıştır. MS besin ortamına IBA (2.0 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek ilk ortam, IBA (0.05 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek diğer ortam hazırlanmıştır.	En iyi sürgün gelişimi MS ortamına 1.125 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA eklenmesiyle %75 oranında gözlemlenmiştir.
-(Türker & Hatipoğlu, 2018). - <i>Origanum syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> (Holmes) Greuter & Burdet (Dağ kekikği, hababa) - Yaprak diski, boğum, tomurcuk	MS besin ortamına 2,4-D veya NAA' in (0; 0,25; 0,5; 0,75 ve 1,0 mg/L) dozları ile BAP veya KIN 'in (0; 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 mg/L) dozları eklemiştirler.	GA ₃ hormonu eklenen ortamda hiç büyüme gözlemlenmiştir. Kallusun meydana gelme oranları %1.67 ile %87.67 arasındadır. Bu oluşum yüzdesinin BAP (2 mg/L) içeren MS besin ortamında en düşük miktarda ve BAP (0.25 mg/L) + NAA (0.50 mg/L) içeren MS besin ortamında en yüksek miktarda olduğu ifade etmişlerdir. %26.13 ile %97.33 oranlarında sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Sürgün rejenerasyonu BAP (0.50 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında en az miktarda meydana gelirken, BAP (2.0 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında ise en fazla miktarda meydana geldiğini açıklamışlardır.
-(Çetin, Kazaz & Göktürk, 2007). - <i>Dianthus caryophyllus</i> L. (Karanfil) - Sürgün ucu (0.5 - 1 cm)	Sürgün oluşumu için MS besin ortamına ilave edilen KIN, BAP ve NAA' in farklı dozları denemiştirler. Köklendirme için iki farklı ortam hazırlanmıştır. MS besin ortamına IBA (2.0 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek ilk ortam, IBA (0.05 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek diğer ortam hazırlanmıştır.	En iyi sürgün gelişimi MS ortamına 1.125 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA eklenmesiyle %75 oranında gözlemlenmiştir.
-(Türker & Hatipoğlu, 2018). - <i>Origanum syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> (Holmes) Greuter & Burdet (Dağ kekikği, hababa) - Yaprak diski, boğum, tomurcuk	MS besin ortamına 2,4-D veya NAA' in (0; 0,25; 0,5; 0,75 ve 1,0 mg/L) dozları ile BAP veya KIN 'in (0; 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 mg/L) dozları eklemiştirler.	En iyi büyüme MS besin ortamına NAA (0.05 mg/L) + 2iP (2 mg/L) eklendiğinde gözlemlenmiştir.
-(Ren, Rei, & Li, 2017). - <i>Tussilago farfara</i> L. (Öksürük otu) - Çimlendirme, boğum ve boğum arası	MS besin ortamında 6 farklı (BBD) kombinasyonu eklenerek kültüre alma çalışması denemiştirler. Bu 6 farklı ortama farklı dozlarda KIN, IBA, 2,4-D, BAP (BBD) eklemiştirler.	En iyi gelişim %96.2 oranında 6 numaralı MS besin ortamında: BAP (3.0 mg/L) + 2,4-D (2.0 mg/L) (BBD) eklendiğinde gözlemlenmiştir. Tohumların çimlenmesi ise KIN (1.0 mg/L) ve IBA (0.3 mg/L) eklenmesiyle %91 oranında olurken, en iyi kök gelişimi %95.22 oranında MS besin ortamına IBA (0.2 mg/L) (BBD) eklendiğinde gözlemlenmiştir.
-(Harshan & Nag, 1984; Saini & Jaiwal, 2000). - <i>Peganum harmala</i> L. (Üzerlik) - <i>In vitro</i> ortamda çimlendirilen tohumların hipokotil kısımları	İlk önce %0.8 agar ve %3 sakaroz ile hazırlanan ortama tohumlar ekilmiş. Çimlenen tohumlar MS besin ortamına BAP olmadan yalnızca 0.04 ve 0.09 mg/L oranlarında NAA eklenerek kültüre almışlardır. Farklı dozlarda BAP, NAA ve GA ₃ eklenerek hazırlanan ortamlar da kültür çalışması denemiştirler.	En iyi sürgün gelişimi MS ortamına 1.125 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA eklenmesiyle %75 oranında gözlemlenmiştir.
-(Özdemir, Uğur, Yıldırım & Kahrizb, 2015). - <i>Mentha spicata</i> subsp. <i>spicata</i> L. (Bahçe nanesi) - Boğum ve boğum arası	Tohumların çimlendirilmesinde büyüme düzenleyici madde içermeyen MS besin ortamı kullanılmışlardır. Hipokotil kısımdan alınan eksplantlar BAP (0.25, 0.50, 1.0, 2.0 mg/L) ve NAA' nın (0, 0.25, 0.50 mg/L) 16 farklı kombinasyonunu içeren MS besin ortamına dikmişlerdir. Köklendirme aşamasında ise MS besin ortamına IBA (0.5 mg/L) ilave edilerek dikip, pH 5.8 olarak ayarlanmışlardır.	GA ₃ hormonu eklenen ortamda hiç büyüme gözlemlenmiştir. Kallusun meydana gelme oranları %1.67 ile %87.67 arasındadır. Bu oluşum yüzdesinin BAP (2 mg/L) içeren MS besin ortamında en düşük miktarda ve BAP (0.25 mg/L) + NAA (0.50 mg/L) içeren MS besin ortamında en yüksek miktarda olduğu ifade etmişlerdir. %26.13 ile %97.33 oranlarında sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Sürgün rejenerasyonu BAP (0.50 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında en az miktarda meydana gelirken, BAP (2.0 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında ise en fazla miktarda meydana geldiğini açıklamışlardır.
-(Çetin, Kazaz & Göktürk, 2007). - <i>Dianthus caryophyllus</i> L. (Karanfil) - Sürgün ucu (0.5 - 1 cm)	Sürgün oluşumu için MS besin ortamına ilave edilen KIN, BAP ve NAA' in farklı dozları denemiştirler. Köklendirme için iki farklı ortam hazırlanmıştır. MS besin ortamına IBA (2.0 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek ilk ortam, IBA (0.05 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek diğer ortam hazırlanmıştır.	En iyi sürgün gelişimi MS ortamına 1.125 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA eklenmesiyle %75 oranında gözlemlenmiştir.
-(Türker & Hatipoğlu, 2018). - <i>Origanum syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> (Holmes) Greuter & Burdet (Dağ kekikği, hababa) - Yaprak diski, boğum, tomurcuk	MS besin ortamına 2,4-D veya NAA' in (0; 0,25; 0,5; 0,75 ve 1,0 mg/L) dozları ile BAP veya KIN 'in (0; 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 mg/L) dozları eklemiştirler.	En iyi büyüme MS besin ortamına NAA (0.05 mg/L) + 2iP (2 mg/L) eklendiğinde gözlemlenmiştir.

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
-(Chalak, Elbitar, Cordahi, Hage & Chehade, 2003). - <i>Capparis spinosa</i> L. (Kapari) - Tomurcuk, nodul, apikal kısımlar, tohum	<i>In vitro</i> çoğaltım için Lübnan ekotipinin tohumları ve nodal tomurcukları eksplant olarak kullanılmışlardır. Tohumlar hormonsuz MS ortamına (%71) ve steril su (%64) vererek çimlendirmişlerdir. Oluşan filizler MS ortamına BAP (1.5 mg/L) , IBA (0.05 mg/L) ± GA ₃ (0.1 mg/L), eklenerek kültüre almışlardır. Her altı haftada bir 2-3 düğümlü sürgün bölümlerinin alt kültürlenmesi ile aynı ortamda sürgün çoğaltımı yapmışlardır. Bitkinin apikal ve nodul kısımlarından aldıkları 1-2 cm uzunluğundaki eksplantlar 3 farklı MS ortamında inkübe etmişlerdir.	Sürgünlerin yüksek köklenme tepkisi (%87), IAA çözeltisi (100 mg/L) ile karanlıkta 4 saatlik süre ile muamele dildikten sonra elde etmişlerdir.
-(Rodriguez, Rey, Cuozzo, & Ancora, 1990). - <i>Capparis spinosa</i> L. (Kapari) - Tomurcuk, nodul, apikal kısımlar, tohum	- MS1 (MS mineral tuzlardan 0.5 0.327 mg/L myo-inositol ve 0.265 mg/L thiamine eklemiştir), -MS2 (mineral tuzlardan modifiye dilmiş MS ortamı nitrattan az miktarda, CaCl ₂ , MgSO ₄ eklemiştir ve 0.325 mg/L m-inositol, 0.795 mg/L thiamine, 32.5 6.04 mg/L NAA, 0.102 mg/L pyridoxine-HCl and 3.036 mg/L C ₆ H ₈ O ₆ (askorbik asit) - MS3 MS2 ile aynı şartları eklemiştir sadece CaCl ₂ MS1'e göre beş kat artırmışlardır.	Yüksek oranda köklenme (%70) ekim yapıldıktan 20 gün sonra MS1: 5.25 mg/L IAA içeren ortamda kaydetmişlerdir. Sürgün gelişimi MS2' ye eklenen BAP (0.45 mg/L) ve IAA (0.05 mg/L) lı ortamda 20 gün sonunda gözlemiştir.

3. Sonuçlar ve Tartışma

Moleküler yöntemlerle birlikte bitki biyoteknolojisini oluşturan *in vitro* çoğaltım teknikleri, kısa zamanda, yüksek kalitede ve bol miktarda ürün elde etmek amacıyla Dünya'da birçok ülkenin kullandığı bir üretim ve ıslah şeklidir. Pestisit ve herbisitlere karşı dayanıklı, yüksek besin kalitesine sahip, meyvelerde olgunlaşma zamanının aromanın artırılması gibi konular, üzerinde çalışılan başlıca konulardır. Bu anlamda, Türkiye'nin tıbbi ve aromatik bitki çeşitliliği bakımından yüksek bir potansiyele sahip olması, *in vitro* yöntemlerle çoğaltım ve kültüre alma, bu potansiyelin değerlendirilmesi bakımından oldukça önemlidir. Ancak bu yöntemlerin yeterince kullanılmaması, doğadan klasik usullerle ve tahribata neden olacak kadar bilinçsiz bir şekilde tıbbi ve aromatik özelliğe sahip bitkilerin toplanması, geleceğimiz için büyük bir kaygı yaratmaktadır. Bitkilerin bilinçsiz bir şekilde toplanması ekolojinin tahribatına ve bazı türlerin yok olmasına sebep olmaktadır. Ülkemizde hem çeşitlilik hem de miktar bakımından oldukça yoğun bir şekilde bulunan tıbbi aromatik bitkiler en kısa zamanda kültüre alınarak koruma altına alınmalıdır. Bu korumanın kapsamı yok olma tehlikesi altında bulunan ve bulunmayan aynı zamanda ticari olarak kıymetli olan tüm türler için mümkün mertebe geniş tutulmalıdır. *In vitro* koşullar altındaki üretimde istatistiksel anlamda bir standartın sağlanması, optimizasyonun gerçekleştirilmesi ile mümkün olacak ve başarı seviyesini belirlemede yardımcı olacaktır. Tıbbi ve aromatik bitkilerin kültüre alınmasında ve çoğaltılmasında *in vitro* tekniklerin araştırmacı ve üreticiye sunduğu imkanlar, günümüze kadar bu konuda yapılmış olan çalışmaların büyük bir kısmının toparlandığı bu çalışmadan kolaylıkla anlaşılabilir.

Sonuç olarak, sürdürülebilir ormancılık yaklaşımı çerçevesinde odun hammaddesi, yan ürün ve rekreasyonel amaçlı ormanların kullanımı oldukça önemlidir. Türkiye'de tıbbi ve aromatik bitkilerinin sürdürülebilir bir şekilde yönetimi, biyoteknoloji bilimi sayesinde ve çağın gerisinde kalmadan teknik bakımdan ve teknoloji bakımından gelişerek, bu alandaki sorunlara karşı yeni çözüm yolları bularak, donanımlı personel yetiştirerek ve tabii alt yapıyı hazırlayarak mümkündür. Bu anlamda planlanmış olan yeni üretim, yoğun ve klonal çoğaltım ile birlikte ıslah çalışmaları, yer ve zamanın verimli kullanılması, fizyolojik ve biyolojik sorunların çözümünde *in vitro* çoğaltım tekniklerinden yararlanılması, flora çeşitliliği bakımından eşsiz orman ve meralarımız için gerçek bir fırsattır.

Kaynaklar

- Aawad, Z., Khateeb, J., & Al-Ekbal, H. (2006). Using tissue culture technique for the production of cardiac glycosides from roots of *Digitalis lamarkii* Ivan plantlets (var excelsior mixed). *Iraqi Journal of Pharmaceutical Science*, 15(1), 92-98.
- Abbasi, B.H., Khan, M.A., Mahmood, T., Mushtaq, A., Chaudhary, M.F., & Khan, M.A. (2010). Shoot regeneration and free-radical scavenging activity in *Silybum marianum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101(3), 371-376.
- Acar, S.Y., İşkil, R., & Bürün, B. (2017). Safran (*Crocus sativus* L.) bitkinde biyoteknolojik çalışmalar. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(2), 259-269.
- Akman, Y., & Ketenoglu, O. (1992). *Vejetasyon Ekolojisi ve Araştırma Metodları*. Ankara, Turkey, Ankara Üniversitesi Döner Sermaye İşletmesi Yayınları, 341 pp.
- Ancı, Ş.E., Şan, B., & Kazaz, S. (2017). Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill)'in *in vitro* koşullarda klonal çoğaltımı. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(2), 239-252.
- Arslan, N., Baydar, H., Kızıl, S., Karık, Ü., Şekeroğlu, N., & Gümüşcü, A. (2015). *Türkiye Ziraat Mühendisliği 8. Teknik Kongresi* (pp. 483-507) Ankara, Turkey, 600pp.
- Arslan, N., Javani, M., & Taher, M. (2016). Tıbbi bitkilerin yetiştiriciliğinde iyi tarım uygulamaları. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 16(1), 32-38.
- Ayabe, M., & Sumi, S. (2001). A novel and efficient tissue culture method- "stem-disc dome culture"- for producing virus free garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Growth Regulators*, 20, 503-507-30.
- Babaoğlu, M., & Özcan, S. (2001). *Protoplast kültürü ve somatik melezleme*. In M. Babaoğlu, E. Gürel & S. Özcan (Eds.) *Bitki Biyoteknolojisi I* (pp. 89-136). Konya, Turkey, 374 pp.
- Başalma, D., Uranbey, S., Mirici, S., & Özer, K. (2008). TDZ x IBA induced shoot regeneration from cotyledonary leaves and *in vitro* multiplication in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *African Journal of Biotechnology*, 7(8), 960-966.
- Bayraktar, K.Ö.V., Öztürk, G., & Arslan, D. (2017). Türkiye'de bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin üretimi ve pazarlamasındaki gelişmelerin değerlendirilmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26, 216-229.
- Cardoza, V. (2008). *Tissue Culture: The manipulation of plant development*. In C.N., Stewart (Ed.), *Plant Biotechnology and Genetics: Principles, Techniques, and Applications* (pp. 113-134). New York, USA, 413 pp.
- Carimi, F., Tortorici, M.C., Pasquale, F., & Crescimanno, F.G. (1998). Somatic embryogenesis and plant regeneration from undeveloped ovules and stigma/style explants of sweet orange navel group [*Citrus sinensis* (L.) Osb.]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 54, 183-189.
- Chalak, L., & Elbitar, A. (2006). Micropropagation of *Capparis spinosa* L. subsp. *Rubestris* Sibth. & Sm. by nodal cuttings. *Indian Journal of Biotechnology*, 5(4), 555-558.
- Chawla, H.S. (2002). *Introduction to plant biotechnology*. Boca Raton, USA, Science Publishers, 760 pp.
- Chupeau, Y., Caboche, M., & Henry, Y. (1998). The very first androgenetic plants. In Y. Chupeau, M. Caboche, & Y. Henry (Eds.), *Androgenesis and Haploid Plants* (pp.1-7). Paris, France, Springer, 122 pp.
- Çağlar, G., Aras, V., & Bayram, A. (2004). Kurutmalık kırmızıbiberlerde androgenesis yoluyla *in vitro* haploid embriyo uyartımı. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(1), 87-94.
- Çetin, E.S., Kazaz, S., & Göktürk, B.N. (2007). Farklı besin ortamlarının karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.) sürgün ucu kültürü üzerine etkileri. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 24(2), 1-8.

- Daneshvar Royandazag, S. (2005). *Papaver Bracteatum* Lindl. Ve *Papaver Pseudo-Orientalis* (Fedde) Medw.' De Adventif Sürgün Rejenerasyonu (Master Thesis). Ankara Üniversitesi, Ankara, Turkey.
- Dilmen, R., & Göktürk, B.N. (2016). Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.)'nde doku kültürü uygulamaları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(2), 134-141.
- Ebrahimie, E., Naghavi, M.R., Hosseinzadeh, A., Behamta, M.R., Manijeh, M., Sarrafi, D.A., & Spangenberg, G. (2007). Induction and comparison of different *in vitro* morphogenesis path ways using embryo of cumin (*Cuminum cyminum* L.) as a model material. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 90, 293-311.
- Ellialtıoğlu, Ş., Sarı, N., & Abak, K. (2000). Haploid bitki üretimi. In M. Babaoğlu, E. Gürel, & S. Özcan (Eds.), *Bitki Biyoteknolojisi I* (pp.137-189). Konya, Turkey, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 pp.
- Fang, J., Wetten, A., & Hadley, P. (2004). Cryopreservation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) somatic embryos for long term germplasm storage. *Plant Science*, 166(3), 669-675.
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M.S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1), 52-67.
- Genç, L., & Kaçar, O. (2012). Tıbbi ve aromatik bitkilerin tarım ve hayvancılık alanlarında kullanımı. In A. Kınay, & B. Özyılmaz (Eds.). *Birinci Tıbbi aromatik bitkiler sempozyumu Bildirileri Kitabı* (pp 7-28). Tokat, Turkey, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Press., 537 pp.
- Georgiev, V., Ivanov, I., Berkov, S., Ilieva, M., Georgiev, M., Gocheva, T., & Pavlov, A. (2012). Galanthamine production by *Leucojum aestivum* L. shoots culture in a modified bubble column bioreactor with internal sections. *English Life Sciences*, 12(5), 534-543.
- Gopi, C., & Ponnuragan, P. (2006). Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf callus of *Ocimum basilicum* L. *Journal of Biotechnology*, 126(2), 260-264.
- Güven, A., & Gürsul, I. (2014). Bitki doku kültürlerinde sekonder metabolit sentezi. *Gıda Dergisi*, 39(5), 299-306.
- Harshan, M.L., & Nag, T.N. (1984). Antimicrobial principles from *in vitro* tissue culture of *Peganum harmala* L. *Journal of Natural Production*, 47(2), 365-367.
- Hartman, H.T., & Kester, D.E. (1975). *Plant propagation principles and practices*. New Jersey, USA, Pearson, 662 pp.
- Karaoğlu, C. (2004). *Göl soğanı (Leucojum aestivum L.) 'nın in vitro koşullarında hızlı çoğaltımı* (Master Thesis) Ankara Üniversitesi, Ankara, Turkey.
- Koçak, M., Izzüç, T., Sevidik, B., Tütüncü, M., Curuk, P., Şimşek, Ö., Kaçar, A.Y., Jaime, A., Silvac, T., & Yalçın, Y. (2014). Somatic embryogenesis of Turkish *Cyclamen persicum* Mill. *Scientia Horticulturae*, 172(9), 26-33.
- Ljubinka, U., Snezana, B., Radmila, V., & Mirjana, N.K. (1987). Induction of somatic embryogenesis and embryo development in *Rumex acetosella* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 11(2), 133-139.
- M.W. Fowler, G.S. Warren, & M. Moo-Young (Eds.), *Plant Biotechnology: Comprehensive Biotechnology* (pp.99-127). New York, USA, pp.81.
- Mansuroğlu, S., & Gürel, M. (2001). Mikroçoğaltım. In M. Babaoğlu, E. Gürel, & S. Özcan (Eds.) *Bitki biyoteknolojisi I* (pp.262-281). Konya, Turkey, 374 pp.
- Meriç, S., Tuman, C. B., Ayan, A., & Atak, Ç. (2019). Optimization of tissue culture media-inducing essential oil production of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(1), 85-99.
- Mert, A., & Dağistan, E. (2016). Tıbbi ve aromatik bitkilerin ekonomik önemi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü Yayınları*, 1, 1-8.
- Moallem, S., Behbahani, M., Mousavi, E., & Karimi, N. (2012). Direct regeneration of *Rosa canina* L. through tissue culture. *Annual Edition Trakia Journal of Science*, 10(3), 23-25.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologie Plant*, 15,473-497.
- Ochatt, S.J., & Power, J.B. (1992). Plant regeneration from cultured protoplasts of higher. In M.W. Fowler, G.S. Warren, & M. Moo-Young (Eds.), *Plant Biotechnology: Comprehensive Biotechnology* (pp.99-127). New York, USA, Oxford Pergamon Press., 367 pp.
- Ovecka, M., Bobak, M., Blehova, A., & Kristin, J. (1997). *Papaver somniferum* regeneration by somatic embryogenesis and shoot organogenesis. *Biologia Plant Journal*, 40(3), 321-328.
- Özcan, S., Babaoğlu, M., & Sancak, C. (2001). Somatik embriyogenesis In M. Babaoğlu, E. Gürel, & S. Özcan (Eds.), *Bitki Biyoteknolojisi I* (pp.71-88). Konya, Turkey, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 pp.
- Özdemir, F.A., Uğur, M., Yıldırım, B., & Kahrizb, M.P. (2015). *Mentha spicata* L. subsp. *spicata* L. ve *M. spicata* hipokotilinden *in vitro* çoklu sürgün rejenerasyonu. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(2), 126-129.
- Özüdoğru, E.A., Kaya, E., Kırdok, E., İşsever, A., & Öztürk, S. (2011). *In vitro* propagation from young and mature explants of Thyme (*Thymus vulgaris* and *T. longicaulis*) resulting in genetically stable shoots. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 47(2), 309-320.
- Palmer, C.E., & Keller, W.A. (1997). Pollen embryos. In K.R. Shivanna, & V.K Sawhney (Eds.), *Pollen Biotechnology for Crop Production and Improvement* (pp.392-422). Cambridge, UK, Cambridge University Press., 500 pp.
- Panizza, M., & Tognoni, F. (1992). Micropropagation of lavender (*Lavandula officinalis* Chaix x *Lavandula latifolia* Villars cv. Grosso). In Y.P.S. Bajaj (Eds.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry Journal* (pp.295-305) Pisa, Italy, Springer, 593 pp.
- Primard, C., Vedel, F., Mathieu, C., Pelletier, G., & Chavre, A.M. (1988). Interspecific somatic hybridization between *Brassica napus* and *Brassica hirta* (*Sinapis alba* L.). *Theoretical Apple Genetic*, 75, 546-552.
- Ren, J.W., Rei, L.Y., & Li, X.L. (2017). Tissue culture of callus and establishment of regeneration system of *Tussilago farfara* petiole. *Europepmc.org*. 42(20), 3895-3900.
- Rodriguez, R., Rey, M., Cuzzo, L., & Ancora, G. (1990). *In vitro* propagation of Caper (*Capparis spinosa* L.). *In vitro Cellular & Developmental Biology*, 26, 531-536.
- Saini, R. & Jaiwal, P.K. (2000). *In vitro* multiplication of *Peganum harmala*-an important medicinal plant. *Indian Journal of Experimental Biology*, 38(5), 499-503.
- Saker, M., Gengaihi, S.E., Kamel, A., & Farid, M. (2010). Influence of differentiation state, salt stress and methyl jasmonate on *in vitro* production of cucurbitacins from tissue cultures of *Ecballium elaterium* and *Cucumis prophetarum* endemic to Egypt. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 4(1), 28-32.
- Soliman, H.I., & Hegazi, G.A.M. (2013). *In vitro* clonal propagation and molecular characterization of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Life Science Journal*, 10(2)-573-582.
- Stephen, R., & Jayabalan, N. (1998). *In vitro* flowering and seed setting formation of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Current Science Association Journal*, 74(3), 195-197.
- Tanrıseven, A. (2013). Tıbbi aromatik bitkiler biyo sağlık ve ekonomi. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 3, 44-58.
- Topçu, Ş., & Çölgeçen, H. (2015). Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8(2), 9-29.
- Türker, A., & Hatipoğlu, R. (2018). Dağ kekigi (*Origanum syriacum* L. var. *bevanii* (Holmes) Ietswaart)'nin mikroçoğaltımı. *Ormanlık Araştırma Dergisi*, 5(2), 97-111.
- Uçar, E., & Turgut, K. (2009). Bazı dağ çayı (*Sideritis*) türlerinin *in vitro* çoğaltımı. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(1), 51-57.
- Ünalı, E.Ü. (2007). A plant exposed to danger: saffron (*Crocus sativus* L.). *Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi* 17(2), 53-69.
- Vandermoortele, J.L., Billard, J.P., Boucaud, J., & Gaspar, T.H. (1996). Micropropagation of parsley through axillary shoot proliferation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 44(1), 25-30.
- Wang, L., Wang, G., Hong, N., Tang, R., Deng, X., & Zhang, H. (2006). Effect of thermotherapy on the elimination of Apple stem grooving virus and apple chlorotic leaf spot virus for *in vitro*-cultured pear shoot tips. *Horticultural Sciences*, 41(3), 729-732.
- Whipkey, A., James, E., & Janick, S.J. (1988). *In vivo* and *in vitro* lipid accumulation in *Borago officinalis* L. *JAOCs*, 65(6), 979-985.
- Yücesan, B.B., Eker, İ., Lazzarini, L.E.S., Aslam, N., Mohammed, A., Pinto, J.E.B.P., Kreis, W., & Gürel, E. (2018). Shoot-tip cultivation and cardenolide content analysis of natural populations of *Digitalis lanata* Ehrh. subsp. *lanata* (wooly foxglove) in the Thrace region. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 4(1), 55-62.

Genotoxic and Mutagenic Effects of Mycotoxins: A Review

Muhsin AYDIN*, Eyyüp RENCÜZOĞULLARI

Department of Biology, Faculty of Science and Letters, Adıyaman University, 02040, Adıyaman, Turkey

ORCID ID: Muhsin AYDIN: <https://orcid.org/0000-0002-1204-1163>; Eyyüp RENCÜZOĞULLARI: <https://orcid.org/0000-0001-5206-6421>

Received: 15.10.2019

Accepted: 11.12.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: In this article, genotoxic and mutagenic effects of mycotoxins that are produced by various fungus species have been reviewed. A total of 259 mycotoxins were found in the literature. Genotoxic effects of 109 of these were investigated. Among the studied mycotoxins, only actinomycin D, aflatoxin, alternariol, chrysazin (dantron), citrinin, fumonisin, mytomycin C, nivalenol, ochratoxin A, patulin, sterigmatocystin, versicolorin A and B, vomitoxin, and zearalenone have sufficient number of studies that present or prove their genotoxic effects. Additional studies are required in order to determine whether other mycotoxins have any genotoxic effects. The current study provides valuable information regarding studied mycotoxins. Therefore, it may lead researchers for designing future mycotoxin-related studies that have never been studied.

Keywords: Genotoxicity, mutagenicity, secondary metabolites, possible drugs.

Mikotoksinlerin Genotoksik ve Mutajenik Etkileri: Derleme

Öz: Bu makalede, çeşitli mantar türleri tarafından üretilen mikotoksinlerin genotoksik ve mutajenik etkileri derlenmiştir. Literatürde toplam 259 mikotoksin bulundu. Bunların 109'unun genotoksik etkileri daha önce araştırıldı. Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda, çalışılan mikotoksinler arasında sadece aktinomisin D, aflatoksin, alternariol, chrysazin (dantron), sitrinin, fumonisin, mitomisin C, nivalenol, okratoksin A, patulin, sterigmatosistin, versicolorin A ve B, vomitoksin ve zearalenon genotoksik etki göstermiş veya genotoksik etkileri kanıtlanmıştır. Diğer mikotoksinlerin herhangi bir genotoksik etkisi olup olmadığını belirlemek için ek çalışmalar gereklidir. Bu çalışma, daha önce çalışılan mikotoksinler hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Dolayısıyla bu derleme, araştırmacılara, daha önce hiç çalışılmamış olan mikotoksinlerle ilgili gelecekteki çalışmalarını tasarlama konusunda katkı sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: Genotoksisite, mutajenisite, ikincil metabolitler, muhtemel ilaçlar.

1. Introduction

The term "mycotoxin" is derived from the combination of two words: Myco- meaning "fungus" and Toxin meaning "naturally produced poison". Mycotoxins are secondary metabolites produced by fungi such as *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Claviceps*, and many others. They are natural toxins that have low molecular weight with a wide variety of chemical structures. Mycotoxins produce potent and various toxic effects on humans, animals, and plants (Zain, 2011).

Species belonging to *Aspergillus* and *Penicillium* produce the most diverse types of mycotoxins. Among these, the most widely known mycotoxins are Aflatoxins. Aflatoxins cause carcinogenicity, teratogenicity, and mutagenicity in animals. The mode of action of Aflatoxin can be listed as inhibition of DNA, RNA, and protein synthesis, reduction in various enzyme activities, depression of glucose metabolism, inhibition of lipid synthesis including phospholipids, free fatty acids, triglycerides, cholesterol and their esters, and inhibition of the coagulation factors (Hussein & Brasel, 2001).

In 1970, some tests were developed to quickly determine whether a chemical substance has any mutagenic and/or carcinogenic effects. Since then, a wide variety of investigation systems have been developed for genotoxicity studies. These are mutagenicity tests that detect gene, chromosome or genomic mutations and indicator tests that show other effects that are induced in parallel to the mutation. Most of the recent genotoxicity

studies have been done by using cytogenetic methods (CA: Chromosome Aberration, FISH: Fluorescent *in situ* Hybridization, MN: Micronucleus, and SCE: Sister Chromatid Exchange tests). The cytogenetic methods are capable of determining the structural and numerical chromosome aberrations by using biochemical and electrophoretic methods by detection of DNA damage (adducts, double-strand breaks, cross-linking, alkaline-labile regions, and HGPRT: Hypoxanthine Guanine Phosphoribosyl Transferase gene mutation) (Albertini et al., 2000).

Methods of genotoxicity studies have been continuously evolving. Changes such as large deletions, insertions, inversions, rearrangements, and recombination can be determined at the chromosomal level within the microscopic methods used in routine genotoxicity studies (Noel & Rath, 2006).

Cytogenetic methods known today as short-term genotoxicity tests and used to determine whether a chemical substance is genotoxic are SCE (Tucker et al., 1993), CA (Carrano & Natarajan, 1988; Hagmar et al., 1994) and MN (Fenech, 2002; Heddle et al., 1991). These tests can be performed both *in vitro* in human peripheral lymphocytes and in bone marrow cells of *in vivo* test animals.

Sister chromatid exchange is an exchange in the DNA replication products between the homologous loci of sister chromatids that repair DNA double chain breaks by homologous recombination (Helleday, 2003; Sonoda et al.,

*Corresponding author: m.aydin@adiyaman.edu.tr

1999). In humans and animals exposed to substances known to be mutagenic and carcinogenic, it was found out that there is a linear relationship between the increase in the frequency of SCE and the increase in single-gene mutations (Albertini et al., 2000; Carrano & Natarajan, 1988; Perry & Evans, 1975). A similar relationship was found between the increase in SCE and the formation of *in vivo* tumors (Norppa et al., 2006). In contrast to CA, SCE alone is insufficient to determine genotoxic risk. However, in experimental studies, SCE is continued to be used as a suitable indicator method for determining genotoxic effects in humans (Norppa et al., 2006).

Since the development of CA mechanism is similar in different tissues, it is thought that the level of abnormality in lymphocytes is an indicative of the degree of abnormality in cancer-prone tissues and; thus, is indicative of the cancer risk (Albertini et al., 2000; Bonassi et al., 2000; Bonassi, Znaor, Norppa, & Hagmar, 2004; Bonassi et al., 2005). High CA frequency may be an indicator of high cancer risk, regardless of the reason for initiating CA increase because it has been reported that CA formation may also result from incorrect repairment of chain fractures in DNA (Savage, 1993).

MNs are small nuclei parts that can be found out of the nucleus. The MNs are formed on the telophase due to the acentric chromosome or chromatid fractures that occur when nucleoplasmic bridges (NPB) are formed, stretched, and broken during telophase. Micronuclei formation may also result from chromosome (laggard chromosome) malsegregation during anaphase (Surrallés, Xamena, Creus, & Marcos, 1995). In addition, multipolar anaphase and telophase cause MN formation (Topaktas & Rencuzogullari, 2010). The loss of chromosomes that can lead to MN formation or non-disjunction of the chromosomes are among the major events observed in cancer and aging. This is probably the result of distortion in spindle fibers and centromere or condensation of chromosome structure before metaphase (Dellarco, Mavournin, & Tice, 1985). Thus, both the clastogenic and aneugenic effects can be determined by the MN test (Kirsch-Volders, Elhajouji, Cundari, & Van Hummelen, 1997; Norppa & Falck, 2003). In previous studies, the increase in MN frequency in peripheral blood lymphocytes from cancer patients was found to be as much as MN frequency in the cancerous target tissue (Bonassi et al., 2007; Cheng et al., 1996; Duffaud et al., 1997). In addition, Fenech, Holland, Chang, Zeiger, and Bonassi (1999) clearly showed the relationship between MN and cancer in humans.

Recently, molecular geneticists have developed several new, rapid, and reliable methods for measuring genotoxicity (Swaleh, Hussein, & Ezzughayyar, 2008; Zhiyi & Haowen, 2004). One of them is RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) technology (Ferrero, Castaño, Gonzalez, Sanz, & Becerril, 1998; Swaleh et al., 2008). RAPD analysis was developed by Williams, Kubelik, Livak, Rafalski, & Tingey (1990). This method is simple, sensitive, and very effective in determining genetic damage (Zhiyi & Haowen, 2004). Also, it gives information about a large number of loci along the genome. The randomly amplified band profiles can be obtained without the need of any information about the target genome or used primers. When electrophoretically observed, changes in band profiles were reported resulted from changes in damage-prone binding sites of genetic material (Becerril,

Ferrero, Sanz, & Castaño, 1999; Savva, 2000). In addition to changes in the number of bands, changes in band density have also been associated with genetic changes (Atienzar et al., 2000; De Wolf, Blust, & Backeljau, 2004). This technique is widely used in phylogenetic, taxonomy, ecotoxicology, epidemiological, and genotoxicity studies (Marillia & Scoles, 1996). Additionally, the bacterial reversion test method using *Salmonella typhimurium* LT2 strains known as Ames test is also used as mutagenicity test (Maron & Ames, 1983). Although the above described tests give false positive and false negative results, they are still recommended by some authorities (such as European Food Safety Authority (EFSA) Scientific Committee). In 2011, the EFSA Scientific Committee published an opinion about genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment (EFSA Scientific Committee "Opinion on genotoxicity testing strategies," 2011). As described by the EFSA Scientific Committee, the most commonly used methods for assessing the genotoxic potential of substances are listed as follows together with the relevant Organisation for Economic Co-operation and Development Test Guideline (OECD TG) on the basis of their principal genetic end-point. Bacterial reverse mutation test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* (OECD TG 471) and *in vitro* mammalian cell gene mutation test (OECD TG 476) are used for investigation of point (gene) mutation. *In vitro* mammalian CA test (OECD 473) and *in vitro* mammalian cell MN test (OECD TG 487) are used for investigation of CA. On the other hand, the most commonly used *in vivo* tests can be listed as follows: Mammalian erythrocyte MN test (Test No: 474) and mammalian bone marrow CA test (Test No: 475) are used for investigation of gene mutations, while transgenic rodent somatic and germ cell gene mutation assays (OECD TG 488) are used for CA investigations. Additionally, most common *in vivo* tests used for primary DNA damage investigations are Comet Assay and Unscheduled DNA synthesis (UDS) test with mammalian liver cells *in vivo* (OECD TG 486) as described by EFSA Scientific Committee (2011).

Currently, mycotoxins are still one of the most important food contaminant compounds. Along with their carcinogenic effects, mycotoxins can cause to mutations in our genetic structure by showing genotoxic effects. Too many types of mycotoxins have been detected so far. Numerous studies have been done on determining their genotoxic effects. Therefore, the aim of this study is to guide researchers in order to design better experiments by bringing all of the previous results together. In this study, both *in vitro* and *in vivo* genotoxic effects of mycotoxins are described in table 1.

2. Materials and Methods

A total of 259 mycotoxins were found as a result of the literature review (Atherton & Betb, 2019; Blanc et al., 1995; Bosio, Siciliano, Gilardi, Gullino, & Garibaldi, 2017; Chagas, Dias, & Pupo, 2013; Escrivá, Font, & Manyes, 2015; Hradil, Hallock, Clardy, Kenfield, & Strobel, 1989; Kokkonen, Ojala, Parikka, & Jestoi, 2010; Limón, Rodríguez-Ortiz, & Avalos, 2010; Lin, Zhang, Wang, Wang, & Chen, 1998; Mikami et al., 1984; Ostry, 2008). Undoubtedly, this number has been increasing day by day and new mycotoxins are being defined. Genotoxic and mutagenic effects of these mycotoxins have been reviewed by checking previous studies.

Genotoxicity or mutagenicity tests can be classified as *in vitro* tests, *in vivo* tests, bacterial tests (Ames test, also among *in vitro* tests), and molecular genotoxicity tests. These tests are also referred to as short-term genotoxicity tests. Previously published articles provided information on the advantages and disadvantages, the methodology, and the conditions to be considered of the *in vitro* testing system (Albertini et al., 2000; Atienzar & Jha, 2006; Kirsch-Volders et al., 1997; Maron & Ames, 1983; Norppa & Falck, 2003; Perry & Evans, 1975). More detailed information can be obtained from articles published in different years by the OECD (OECD 1986, 1997a, b) and EFSA Scientific Committee (EFSA, 2011, 2017).

More than 341 articles on investigation of genotoxic effects of mycotoxins were found by searching "Mycotoxin names and genotoxicity", "Mycotoxin names and mutagenicity", and "Mycotoxin names and comet assay" key words in PubMed. In these studies, genotoxic effects

of various mycotoxins in different organisms were investigated using both *in vitro* and *in vivo* cytogenetic methods and molecular genotoxicity methods. In addition, the mutagenicity studies of mycotoxins with the Ames test were also reviewed. The obtained results from examining all previous studies are presented in table-formats (Table 1 and 3).

3. Results

A total of 259 mycotoxins were found in the literature. Genotoxic or mutagenic effects of 109 were investigated (Table 1). No studies have been found on the genotoxic or mutagenic effect of the remaining 150 mycotoxins (Table 2). This result shows that we have no knowledge about the genotoxicity or mutagenicity of 57.91% of all mycotoxins. Additionally, the methods used for cell and tissue types used in genotoxic studies are presented in Table 3.

Table 1. Genotoxic and mutagenic effects of mycotoxins that have been studied.

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References	
				CA	SCE	MN	DF	GM		
Acetoxyscirpenol (mo-, di- and tri- derivatives) Trichothecenes	<i>Pa. tenuipe</i> <i>F. semirectum</i> <i>F. equiseti</i> <i>A. chevalieri</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Wehner et al., 1978a)	
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Krivobok, Olivier, Marzin, Seigle-Murandi, & Steiman, 1987)	
		<i>D. melanogaster</i>	Wing SMART				-	-	(Gürbüz, Uysal, & Kızılet, 2015)	
		Mice	Bone marrow	+					(Hassanane, Abdalla, El-Fiky, Amer, & Hamdy, 2000)	
		Mice	Germ	+					(Hassanane et al. 2000)	
Actinomycin D	<i>St. parvullus</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+,-	(Beljanski et al., 1982; Benedict, Baker, Haroun, Choi, & Ames, 1977)	
		<i>E. coli</i>	WP2 UvrA-					-	(Nestmann, Nasim, Haynes, & Kowbel, 1981)	
		<i>Euglena gracilis</i>	Body cells				+		(Aoyama, Iwahori, & Miyata, 2003)	
		<i>S. cerevisiae</i>	Haploid, diploid					-	(Nestmann et al., 1981)	
		<i>N. crassa</i>	Ad-3 mutants					+	(Fisher, Mallings, De Serres, & Snyder, 1975)	
		Rat and Mice	Hepatocyte					+	(Mori et al., 1984)	
		Chicken	DT40					+	(Yamamoto et al., 2011)	
		Mice	Lymphoma tk+/-					+	+	(DeMarini, Brock, Doerr, & Moore, 1987; Wangenheim & Bolcsfoldi, 1988)
		Mice	Blastocysts					+		(Fabian et al., 2003)
		Chinese hamster	CHO 5 genetic loci						+	(Gupta & Singh, 1982)
Chinese hamster	Lung CHL,V79				+	+		(Hashimoto et al., 2010; Olive & Banáth, 1997; Wilson, Harris, & Ferguson, 1984)		
Human	Fibroblast			+	+			(Parkes & Scott, 1982)		

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References	
				CA	SCE	MN	DF	GM		
Aflatoxins (B1,B2,G1,G2,M1,Q1, Aflatoxicol) Anthraquinones	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains,					+	(Mori et al., 1986; Wehner, Marasas, et al., 1978; Wehner, Thiel, et al., 1978; Wong et al., 1977; Xu, Whong, & Ong, 1984; Yourtee & Kirk-Yourtee, 1986)	
		<i>S. typhimurium</i>	SV50 ara					+	(Xu et al., 1984) (Auffray & Boutibonnes, 1987; Krivobok et al., 1987; Sakai et al., 1992)	
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					+	(Corcuera et al., 2015; Madle et al., 1986)	
		Rat and Mice	Bone marrow		+	+			(Corcuera et al., 2015; Mirsalis, Tyson, & Butterworth, 1982; Mori et al., 1984)	
		Rat and Mice	Hepatocyte, Liver					+	+	(Matthiaschk & Korte, 1986)
		Mice	Embryo						-	(Umeda, Tsutsui, & Saito, 1977)
		Mice	C3H,FM3A		+				+	(Bayram et al., 2016)
		Human	Lymphocytes				+			(Jakšić et al., 2012)
		Human	A549				+	+		(Le Hegarat et al., 2010; Liu et al., 2019; Uhl, Helma, & Knasmüller, 2000)
		Human	Hepatocytes, Hep2, HepaRG cells				+	+		(Zhang et al., 2015)
		Human	Colon caco-2 cells					+		(Ghaderi, Allameh, Soleimani, Rastegar, & Ahmadi-Ashtiani, 2011)
		Human	Umbilical cord blood cells						+	(Madle et al., 1986; Matthiaschk & Korte, 1986)
		Chinese hamster	Bone marrow			-,+	-			(Williams, Deschl, & Williams, 2011)
		Turkey and Chicken	Fetal liver cells						+	(Miranda et al., 2007; Shin, Guo, Niu, & Cui, 2018)
Pig	Blastocysts, Liver and blood cells						+	(Abd-Allah, el-Fayoumi, Smith, Heckmann, & O'Neill, 1999)		
Fish	blood, liver, kidney						+	(Golli-Bennour et al., 2010)		
Monkey	Kidney Vero						+			
Agroclavine 1-propyl and 1-pentyl Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Glatt, Jung, & Oesch, 1983; Glatt, Pertz, Kasper, & Eich, 1992)	
		<i>E. coli</i>	WP2 uvrA					+	(Glatt, Eich, Pertz, Becker, & Oesch, 1987)	
1-allylelymoclavine Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Glatt et al. 1992)	
6-allyl-1-propyl-6-norfestuclavine Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Glatt et al. 1992)	
Alternariol Myccestrogens	<i>Al. altyernata</i> <i>Al. tenuissima</i> <i>Ni. sphaerica</i>	Human	H-29, HT29					+,-	(Aichinger, Beisl, & Marko, 2017; Tiessen et al., 2013)	

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References	
				CA	SCE	MN	DF	GM		
Alternariol Mycoestrogens	<i>Al. altyernata</i> <i>Al. tenuissima</i> <i>Ni. sphaerica</i>	Human	KYSE510, Colon cacao-2 cells				+		(Fernández-Blanco, Font, & Ruiz, 2015; Tiessen et al., 2017)	
		Chinese hamster	V79				+		(Brugger et al., 2006; Fleck et al., 2016)	
		Mice	L5178Y			+			(Brugger et al. 2006)	
		Mice	Mcrophage RAW, fibroblast NIH/3T3				+		(Solhaug et al., 2012)	
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+,?	(Schrader et al., 2006, 2001; Scott & Stoltz, 1980)	
Altenuene Dibenzopyrone derivatives	<i>Alternaria</i> sp.	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-,+	(Schrader et al. 2006)	
Altertoxin Polyketides stemphyperyleneol	<i>Al. tenuissima</i> <i>Ni. sphaerica</i>	Human	HT29				-		(Schwarz et al., 2012)	
		Chinese hamster	V79				- ,+,?		(Fleck, Burkhardt, Pfeiffer, & Metzler, 2012; Fleck et al., 2016; Schrader et al., 2006)	
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Schrader et al., 2001, 2006)	
Asperlin	<i>A. nidulans</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Glatt et al., 1983)	
Aurosporin Quinone chemicals	<i>Ep. floccosum</i> <i>Mi. cookei</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+,?	(Mori, Kawai, Ohbayashi, Kitamura, & Nozawa, 1983)	
Austdiol	<i>A. ustus</i> <i>Penicillium</i> sp.	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Wehner et al., 1978b)	
Austocystins A, D	<i>A. puniceus</i> <i>A. ustus</i> <i>Penicillium</i> sp.	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Wehner et al., 1978b)	
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Krivobok et al., 1987)	
Averufin (dehydroaverufin) Anthraquinones	<i>A. versicolor</i> <i>A. multicolor</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+,?	(Wong et al., 1977)	
		Rat and Mice	Hepatocyte					+	(Mori et al., 1984)	
		Rat and Mice	Hepatocyte				+	+	(Mori et al., 1984; Mirsalis et al. 1982)	
Azaserine***	Natural	Rat	Pancreas					+	(Shepherd, Tsao, & Duguid, 1990; Zurlo, Roebuck, Rutkowski, Curphey, & Longnecker, 1984)	
		Rat	Kidney					-	(Tyson & Mirsalis, 1985)	
		Chinese hamster	V79					+	(Schaeffer, Curphey, & Longnecker, 1987)	
Baccharin B3,B4,B5***	Natural	<i>E. coli</i>	PQ37 strains						-	(Sakai et al., 1992)
Beauvericin Emerging mycotoxins	<i>B. bassiana</i> <i>Fusarium</i> sp. <i>Co. coronatus</i>	Human	Lymphocyte	+	+	+	+		(Celik, Aksoy, & Yilmaz, 2010; Klarić, Darabos, Rozgaj, Kasuba, & Pepeljnjak, 2010)	
		Pig	Kidney PK15					+	(Klarić et al., 2010)	
Bikaverin Polyketides stemphyperyleneol	<i>Fusarium</i> sp. <i>My. jaapii</i> <i>V. agaricinum</i>	Rat	Hepatocyte					-	(Norred, Plattner, Vesonder, Bacon, & Voss, 1992)	
17-bromofestuclavine Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Yen, Chang, Sheu, & Chiang, 2001; Glatt et al., 1992)	

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References
				CA	SCE	MN	DF	GM	
13-bromo-1-cyclopropylmethylfestuclavine Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Glatt et al., 1992)
Candidusin B	<i>A. candidus</i>	Human	intestine 407					-	(Yen, Chang, Sheu, & Chiang, 2001)
		<i>Salmonella</i>	LT2 strains					-	(Yen et al., 2001)
Chaetoglobosin B (Penochalasin)	<i>Ch. globosum</i> <i>P. chrysogenum</i>	Mice	C3H,FM3A	-				-	(Umeda et al., 1977)
Chevalone	<i>N. siamensis</i>	Human	Colon HCT116 Liver HepG2 Melanoma A375					-	(Prata-Sena et al., 2016)
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Sakai et al., 1992)
Chrysazin (Dantron) Anthraquinones	<i>Paraconiothyrium</i> sp.	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Krivobok, Seigle-Murandi, Steiman, Marzin, & Betina, 1992; Tikkanen, Matsushima, & Natori, 1983; Zhang et al., 2011)
		Human	Brain GBM8401					+	(Lu et al., 2010)
		Mice	Balb/c 3T3			+	+		(Zhang et al., 2011)
		Mice	Lymphoma L5178Y			+	+	+	(Müller, Eckert, Lutz, & Stopper, 1996)
		Rat and Mice	Hepatocyte					+	(Mori et al., 1984)
Chrysophanol Anthraquinones	<i>P. rugulosum</i> <i>P. islandicum</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Sakai et al., 1992)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Lieberman et al., 1980; Tikkanen et al., 1983)
		<i>S. typhimurium</i>	TM677,LT2 strains					-	(Stark et al., 1978)
		Human	Lung A549					+	(Ni et al., 2014)
		Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984)
		Mice	Lymphoma L5178Y			-	-	-	(Mueller et al., 1999)
		Chinese hamster	Ovary	-					(Mengs et al., 2001)
<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Auffray & Boutibonnes, 1987)		
Citrinin Benzopyran compounds	<i>P. expansum</i> <i>P. viridicatum</i> <i>P. citrinum</i> <i>P. camemberti</i> <i>A. niveus</i> , <i>A. terreus</i> <i>A. oryzae</i> <i>A. candidus</i> <i>A. carneus</i> <i>A. flavipes</i> <i>M. ruber</i> <i>M. purpureus</i>	Human	Lymphocyte			-	+	-	(Dönmez-Altuntas, Dumlupinar, Imamoglu, Hamurcu, & Liman, 2007)
		Human	Hep3B			+			(Anninou, Chatzaki, Papachristou, Pitiakoudis, & Simopoulos, 2014)
		Human	Lymphocytes, HEK293			-		-	(Liu et al., 2003)
		Pig	Kidney PK15				+		(Klarić et al., 2012)
		Monkey	Renal					+	(Bouslimi et al., 2008)
		Mice	Bone marrow	+					(Bouslimi et al., 2008)
		Rat	F344 and gpt delta	-				-	(Kuroda et al., 2013)
		Chinese hamster	Ovary and HEK293	-	-			-	(Flajs & Peraica, 2009; Liu et al., 2003)
		Chinese hamster	V79	+	+				(Thust & Kneist, 1979)
		Mice	Bone marrow	+					(Jeswal, 1996)

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References
				CA	SCE	MN	DF	GM	
Citrinin Benzopyran compounds	<i>P. expansum</i> <i>P. viridicatum</i> <i>P. citrinum</i> <i>P. camemberti</i> <i>A. niveus</i> , <i>A. terreus</i> <i>A. oryzae</i> <i>A. candidus</i> <i>A. carneus</i> <i>A. flavipes</i> <i>M. ruber</i> <i>M. purpureus</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Auffray & Boutibonnes, 1987; Krivobok et al., 1987; Malaveille, Brun, & Bartsch, 1991, 1994; Sakai et al., 1992)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+,-	(Flajs & Peraica, 2009; Wehner, Thiel, et al., 1978; Würgler, Friederich, & Schlatter, 1991)
6-cyano-1-propyl-6-norfestuclavine Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Glatt et al., 1992)
Cyclochlorotine Chlorinated pentapeptide	<i>P. rugulosum</i> <i>P. islandicum</i>	<i>S. typhimurium</i>	TM677, LT2 strains					-	(Stark et al., 1978)
1-cyclopentylfes-tuclavine Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Glatt et al., 1992)
Cyclopiazonic acid Ergoline alkaloids	<i>A. flavus</i> <i>A. versicolor</i> <i>P. aurantiogriseum</i> <i>P. griseofulvum</i> <i>P. roqueforti</i> <i>P. camembertii</i> <i>P. cyclopium</i> <i>P. commune</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Wehner et al., 1978b)
Cyclosporin A Non-ribosomal peptide	<i>T. inflatum</i>	Human	Lymphocytes	-	+	+			(Shah, Prasanth Kumar, Rao, & Pandya, 2018; Yuzawa, Kondo, Fukao, Iwasaki, & Hamaguchi, 1986; Zwanenburg & Cordier, 1994)
		Human	MRC-5			+	+		(Cilião et al., 2015)
		Mice	Bone marrow	-		-			(Matter, Donatsch, Racine, Schmid, & Suter, 1982)
		Chinese hamster	Bone marrow	-		-			(Matter et al., 1982)
Cytochalasin B, E Polyketide-amino acid hybrid	<i>Phoma</i> sp. <i>A. clavatus</i>	Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984)
		Human	Lymphocytes	+		-,+			(Fenech & Morley, 1985; Lindholm, Norppa, Hayashi, & Sorsa, 1991)
2,4-dihydroxy-3-methylacetophenon	<i>N. siamensis</i>	Human	Colon HCT116 Liver HepG2 Melanoma A375					-	(Prata-Sena et al., 2016)
Duclauxin, Xenoclauxin and desacetylduclauxin	<i>P. duclauxii</i>	Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984; Kawai et al. 1985)
Echinuline Diketopiperazines	<i>A. amstelodami</i> <i>A. chevalieri</i> <i>A. herbariorum</i> <i>Eu. chevalieri</i>	Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984)
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Sakai et al., 1992)
Emodin, Archin, Emodol, Frangulic Acid Anthraquinones	<i>P. rugulosum</i> <i>P. islandicum</i> <i>A. glaucus</i> <i>A. aureus</i> <i>A. sclerotiorum</i> <i>A. terreus</i> <i>A. wentii</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+,-	(Krivobok et al., 1992; Li et al., 2010; Nesslany et al., 2009; Tikkanen et al., 1983)
		<i>S. typhimurium</i>	TM677, LT2 strains					-	(Stark et al., 1978)
	Human	Lymphocytes, MCF-7, SCC-4, H460 cells			+	+	+		(Brkanac et al. 2015; Li et al., 2013; Li et al., 2010; Chen et al., 2010; Lee et al., 2006)

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References	
				CA	SCE	MN	DF	GM		
Emodin, Archin, Emodol, Frandulic Acid, Anthraquinones	<i>P. rugulosum</i>	Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984)	
	<i>P. islandicum</i>								(Müller et al., 1996; Mueller et al. 1999)	
	<i>A. glaucus</i>	Mice	Lymphoma L5178Y			+	-,+	+		
	<i>A. aureus</i>								(Nesslany et al., 2009)	
	<i>A. sclerotiorum</i>									
	<i>A. terreus</i>	Mice	Liver, Kidney			+	+			
	<i>A. wentii</i>									
Enniatin B Emerging mycotoxins	<i>Fusarium</i> sp. <i>Co. coronatus</i>	Chinese hamster	V79	-		-	-	-	(Föllmann et al., 2009; Behm et al., 2009)	
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Föllmann et al., 2009; Behm et al., 2009)	
		Human	HeLa	-	+	-	+		(Mamur et al., 2018a)	
Festoclavine Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Glatt et al., 1992)	
Fiscalin A (epi-neofiscalin A, epi-fiscalin A, C)	<i>N. siamensis</i>	Human	Colon HCT116 Liver HepG2 Melanoma A375					-	(Prata-Sena et al., 2016)	
Flavoglucanin	<i>A. ruber</i>	Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984; Kawai et al., 1983)	
Floccosin Quinone chemicals	<i>Ep. floccosum</i> <i>Mi. cookei</i>	Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1983; 1984)	
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Mori et al., 1983)	
Fumagillin	<i>A. fumigatus</i>	Mice	Bone marrow	+		+			(Stanimirovic et al., 2007)	
		Human	Lymphocytes	+	+	+			(Stevanovic et al., 2008)	
Fumitremorgen B Tremorgenic mycotoxins	<i>A. caespitosus</i> <i>A. egyptiacus</i> <i>A. fumigatus</i> <i>N. fischeri</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Wehner et al., 1978b; Sabater-Vilar et al., 2003)	
		Human	Lymphocytes					+	(Sabater-Vilar et al., 2003)	
Fumonisin B(1), B(2)yB(3), FB(1), FB(2)yFB(3) Trichothecenes	<i>F. verticillioides</i> <i>F. moniliforme</i> <i>F. proliferatum</i> <i>F. nygamai</i> <i>Al. alternata</i> <i>A. niger</i> <i>Co. coronatus</i>	Rats, Mice	Bone marrow			+, -	+		(Theumer et al., 2010; Aranda et al., 2000; Karuna & Rao, 2013)	
		Rat	Hepatocyte	+		+	-		(Knasmüller et al., 1997; Norred et al., 1992)	
		Rat	Kidney, Astrocytes					+		(Domijan et al., 2007; Domijan et al., 2006; Galvano et al., 2002a)
		Human	Lymphocytes, HepG2 cells, Fibroblasts	+	+	+	+			(Lerda et al., 2005; Domijan et al., 2015; Ehrlich et al., 2002a; Galvano et al., 2002b)
		<i>Allium cepa</i>	Root tip cells	+						(Lerda et al., 2005)
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains						-	(Knasmüller et al., 1997)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains						-	(Aranda et al., 2000; Knasmüller et al., 1997; Ehrlich et al., 2002a)
Fusarenon X Trichothecenes	<i>F. graminearum</i>	Chinese hamster	V79 cells	+	+				(Thust et al., 1983; Bony et al., 2007)	
		Human	Enterocyte-like Caco-2					+	(Bony et al., 2007)	
		Mice	C3H, FM3A	-				-	(Umeda et al., 1977)	
Fusaric acid	<i>F. heterosporium</i>	Human	Lymphocytes	-	-	-	+		(Mamur et al., 2018b)	
		Human	Oesophageal SNO, HepG2					+	(Ghazi et al., 2017; Devnarain et al., 2017)	
Fusarin Mycoestrogens	<i>F. moniliforme</i>	Rat	Hepatocyte					?	(Norred et al., 1992)	

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References
				CA	SCE	MN	DF	GM	
Gliotoxin Epipolythiodioxo piperazine	<i>A. fumigatus</i> <i>A. terreus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. niger</i> <i>Eu. chevalieri</i> , <i>N. pseudofischeri</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Auffray & Boutibonnes, 1987; Nieminen et al., 2002)
		<i>E. coli</i>	WP2, CM871				+		(Nieminen et al., 2002)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Nieminen et al., 2002)
		Chinese hamster	Ovary					-	(Nieminen et al., 2002)
		Mice	Macrophage RAW264.7					+	(Nieminen et al., 2002)
Griseofulvin	<i>P. griseofulvum</i> <i>P. janczewskii</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Venier et al., 1989)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Wehner et al., 1978b)
		Mice	Bone marrow			+			(Curry et al., 1984)
		Mice	Lymphoma L5178Y				+		(Oliver et al., 2006)
		Mice	Spermatocyte, Oocyte		+				(Fahmy & Hassan, 1996; Mailhes et al., 1993)
		Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984)
		<i>D.melanogaster</i>	Wing SMART					+	+
3-hydroxyterphenyllin	<i>A. candidus</i>	Human	intestine 407					-	(Yen et al., 2001)
		<i>Salmonella</i>	LT2 strains					-	(Yen et al., 2001)
		Rat	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1988)
Iridoskyrin Anthraquinones	<i>P. rugulosum</i> <i>P. islandicum</i>	<i>S. typhimurium</i>	TM677,LT2 strains					-	(Stark et al., 1978)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Lieberman et al., 1980; Tikkanen et al., 1983)
Islandicin Anthraquinones	<i>P. rugulosum</i> <i>P. islandicum</i>	<i>S. typhimurium</i>	TM677,LT2 strains					-	(Stark et al., 1978)
		Rat	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1988)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+,+?	(Bjeldanes & Chew, 1979; Higa et al., 2007; Nohynek et al., 2004; Shibuya, Murota, Sakamoto, Iwahara, & Ikeno, 1982; Wehner, Thiel, et al., 1978; Wei, Huang, Fernando, & Chung, 1991)
Kojic acid	<i>A. arachidicola</i> <i>A. candidus</i> <i>A. minisclerotigenes</i> <i>A. oryzae</i> <i>Penicillium</i> sp.	<i>E. coli</i>	WP2uvrA					+	(Nohynek et al., 2004)
		Rat	Liver, bone marrow				-	-	(Higa et al., 2007; Ogiwara et al., 2015; Suzuki et al., 2005)
		Rat	Lymphocyte				+,+	-	(Ogiwara et al., 2015; Suzuki et al., 2005)
		Mice	Epiderma, Bone marrow				-	-	(Higa et al., 2007; Nohynek et al., 2004)
		Mice	Lymphoma					-	(Nohynek et al., 2004)
		Mice	Embryo					-	(Shibuya et al., 1982)

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References
				CA	SCE	MN	DF	GM	
Kojic acid	<i>A. arachidicola</i> <i>A. candidus</i> <i>A. minisclerotigenes</i> <i>A. oryzae</i> <i>Penicillium</i> sp.	Chinese hamster	V79	+			-	-	(Nohynek et al., 2004; Shibuya et al., 1982)
		Chinese hamster	Lung	-					(Higa et al., 2007)
		Chinese hamster	Ovary	+	+				(Wei et al., 1991)
		Human	Keratinocyte, hepatocyte				-		(Nohynek et al., 2004)
Leucinostatins Peptide mycotoxins	<i>Pa. lilacinus</i> <i>Pa. marquandii</i>	<i>A. nidulans</i>	Fungus cells					-	(Crebelli et al., 1988)
Luteoskyrin Lumiluteoskyrin Anthraquinones	<i>P. islandicum</i> <i>P. rugulosum</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strain					-	(Wehner et al., 1978b; Stark et al., 1978; Tikkanen et al., 1983)
		<i>S. typhimurium</i>	TM677					+	(Stark et al., 1978)
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Sakai et al., 1992)
		Mice	C3H, FM3A	-				-	(Umeda et al., 1977)
Luteosporin Quinone chemicals	<i>P. chermesinum</i> <i>Mi. cookei</i> <i>Ep. floccosum</i>	Rat and Mice	Hepatocyte					+	(Mori et al., 1983; 1984)
		Drosophila	Recessive lethal					+	(Browning, 1968)
			Mice and rats	Spermatocytes	+				
Lysergic acid, -diethylamide Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	Mice	Bone marrow				-		(Van Went, 1978)
		Mice	Dominant lethal					+	(Šrám, Zudová, & Goetz, 1974)
		Human	Lymphocyte	+					(Cohen, Marinello, & Back, 1967; Li & Lin, 1998; Muneer, 1978; Nielsen, Friedrich, Jacobsen, & Tsuboi, 1968)
		Human	Sperm	+					(Estop, Cieply, Vankirk, Munne, & Garver, 1991)
		1-methyllysergol methyl ether Clavine alkaloids	<i>C. purpurea</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains				
Mevinolin (lovastatin) (dihydromevinolin)	<i>A. terreus</i>	Chicken	DT40					+	(Yamamoto et al., 2011)
		Human	Colon HT29 cells					+	(Jafari, Rezaei, Kalantari, & Hashemitabar, 2013)
Mitomycin C	<i>St. caespitosus</i>	Human	Lymphocyte	+	+			+	(Frenzilli et al., 2000; Muehlbauer & Schuler, 2005; Rosefort et al., 2004)
		Human, Mice	Lymphocytes					-	(Wang & Qian, 1997)
		Mice	L5178Y, Multiple organs					+	(Miyamae et al., 1997; Sasaki, Nishidate, Izumiyama, Matsusaka, & Tsuda, 1997)
		Mice	Erythroblasts				+		(Cole, Taylor, Cole, & Arlett, 1981)
		Mice	Bone marrow, L929				+		(Salamone et al., 1980; Nito et al., 1988)
		Rat	Lymphocytes					+	(Wang & Qian, 1997)
		Rat	HTC				+		(Dean, Bynum, Kram, & Schneider, 1980)
Chinese hamster CHO 5 genetic loci	Rat and Mice	Hepatocyte					+	(Mori et al., 1984)	
	Chinese hamster						+	(Gupta & Singh, 1982)	

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References				
				CA	SCE	MN	DF	GM					
Mitomycin C	<i>St. caespitosus</i>	Chinese hamster	V79				+		(Krishna, Kropko, & Theiss, 1989)				
		<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Gonad RTG-2	+	+				(Kocan, Landolt, & Sabo, 1982)				
		<i>Vicia faba</i>	Ceeds					+	(Koppen & Verschaeve, 1996)				
		<i>Euglena gracilis</i>	Body cells					+	(Aoyama et al., 2003)				
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains						+	(Beljanski et al., 1982)			
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains						+	(Venier et al., 1989)			
Moniliformin Emerging mycotoxins	<i>Fusarium</i> sp.	<i>E. coli</i>	PQ37 strains						-	(Auffray & Boutibonnes, 1987; Knasmüller et al., 1997)			
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains							-	(Wehner et al., 1978a; Knasmüller et al., 1997)		
		Rat	Hepatocyte	+		+		-		(Knasmüller et al., 1997; Norred et al., 1992)			
		Human	Lymphocyte	+	+	+				(Celik et al., 2009)			
Mycophenolic acid Meroterpenoids	<i>Penicillium</i> sp.	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains							-	(Wehner et al., 1978b)		
		Mice	C3H,FM3A	+							+	(Umeda et al., 1977)	
Nidurufin	<i>A. versicolor</i> <i>P. flavidorsum</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains								+	(Mori et al., 1985)	
		Rat	Hepatocyte									+	(Mori et al., 1985)
3-Nitropropionic acid	<i>A. flavus</i> <i>A. oryzae</i> <i>A. wentii</i>	Mice	Blood				+					(Alarcón-Herrera et al., 2017; Norberto et al., 2017)	
		Mice	lymphoma tk+/-									+	(Oshiro, Piper, Balwierz, & Soelter, 1991)
		Chinese hamster	CHO/HPGRT					-					(Oshiro et al., 1991)
		<i>Drosophila melanogaster</i>	Wing SMART									+	(Batiste-Alentorn, Xamena, Creus, & Marcos, 1995)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains									+,+?	(Oshiro et al., 1991; Hansen, 1984)
Nivalenol, 3- and 15-acetyldeoxy derivatives Trichothecenes	<i>A. flavus</i> , <i>P. aurantiogriseum</i> <i>F. nivale</i> <i>F. graminearum</i>	Human	Enterocyte-like Caco-2								+	(Bony et al., 2006; 2007)	
		Human	Lymphocyte	+								+	(Yang et al., 2014)
		Human	TK6,HepaRG					+				-	(Takakura, Nesslany, Fessard, & Le Hegarat, 2014)
		Boar	Lymphocytes	+									(Lusky, Wagner, Stähr, Doberschütz, & Peter, 1991)
		Chinese hamster	Ovary cells									+	(Tsuda et al., 1998)
		Mice	Organs and tissues									±	(Tsuda et al., 1998)
		Mice	Hepatocyte, bone marrow					+				+	(Singh, Banerjee, Chattopadhyay, Borthakur, & Veer, 2015)
		Chinese hamster	V79 cells	+	+								(Hsia, Wu, Lu, & Li, 1988; Thust, Kneist, & Hühne, 1983)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains									-	(Wehner et al., 1978a; Takakura et al., 2014)
Norsolorinic acid Trichothecenes Anthraquinones	<i>A. versicolor</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains								-	(Krivobok et al., 1987)	
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains									+	(Wong et al., 1977; Mori et al., 1985)
		Rat	Hepatocyte									+	(Mori et al., 1985)

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References
				CA	SCE	MN	DF	GM	
Ochratoxin A Ochratoxin mycotoxins	<i>A. ochraceus</i> <i>A. alliaceus</i> <i>A. auricomus</i> <i>A. carbonarius</i> <i>A. glaucus</i> <i>A. melleus</i> <i>A. niger</i> <i>A. affinis</i> <i>A. albertensis</i> <i>A. citricus</i> <i>A. fonsecaeus</i> <i>A. lanosus</i> <i>A. ochraceopetaliformis</i> <i>A. ostianus</i> <i>A. petrakii</i> <i>A. sclerotiorum</i> <i>A. sulphureus</i> <i>P. verrucosum</i>	Human	Hep3B, HepG2		+		+		(Anninou et al., 2014; Ehrlich et al., 2002b) (Domijan, Gajski, Novak Jovanović, Gerić, & Garaj-Vrhovac, 2015; Dönmez-Altuntaş, Hamurcu, Imamoglu, & Liman, 2003; González-Arias et al., 2014; Hennig, Fink-Gremmels, & Leistner, 1991; Klarić et al., 2010; J. Liu et al., 2012) (Ali et al., 2011; Degen, Lebrun, Lektarau, & Föllmann, 2005; Dörrenhaus et al., 2000; Lebrun, Golka, Schulze, & Föllmann, 2006; Robbiano, Baroni, Carrozzino, Mereto, & Brambilla, 2004; Russo et al., 2005) (Arbillaga, Azqueta, Ezpeleta, & López de Cerain, 2007; Bhat et al., 2016; Šegvić Klarić et al., 2015; Simarro Doorten, Nijmeijer, de Nijs-Tjon, & Fink-Gremmels, 2006) (Bouslimi et al., 2008; Costa et al., 2016; Golli-Bennour et al., 2010) (Lebrun & Föllmann, 2002) (Lioi, Santoro, Barbieri, Salzano, & Ursini, 2004) (Creppy et al., 1985) (Bouslimi et al., 2008; Corcuera et al., 2015) (Ali et al., 2014; Bendele et al., 1985) (Umeda et al., 1977) (Bendele et al., 1985; Corcuera et al., 2015; Domijan, Zeljezić, Kopjar, & Peraica, 2006; Mori et al., 1984; Robbiano et al., 2004; Zeljezić, Domijan, & Peraica, 2006) (Kamp et al., 2005; Kuroda et al., 2014; Mally et al., 2005)
		Human	Lymphocytes		+	+	+,+?		
		Human	Urothelial, Fibroblast, kidney				+	+	
		Human	A549, HK-2, CYP2C9-hOR, CYP3A4-hOR, Neuro-2a,					+	
		Monkey	Renal, kidney vero					+,+	
		Canine	Kidney					+	
		Bovine	Lymphocytes		+	+			
		Mice	Liver, kidney					+	
		Mice	Bone marrow		+		-		
		Mice	L5178Y tk(+/-)					+, -	+
		Mice	C3H,FM3A		-				-
		Rat and Mice	Hepatocyte, kidney				+	+, -	+
		Rat	F344 and gpt delta, Liver, kidney						+

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References	
				CA	SCE	MN	DF	GM		
Ochratoxin A Ochratoxin mycotoxins		Pig	Kidney PK15, bladder epithelial		+	+	+		(Föllmann, Hillebrand, Creppy, & Bolt, 1995; Föllmann & Lebrun, 2003; Klarić et al., 2010, 2012)	
	<i>A. ochraceus</i> <i>A. alliaceus</i> <i>A. auricomus</i> <i>A. carbonarius</i> <i>A. glaucus</i> <i>A. melleus</i> <i>A. niger</i> <i>A. affinis</i> <i>A. albertensis</i> <i>A. citricus</i> <i>A. fonsecaeus</i> <i>A. lanosus</i> <i>A. ochraceopetaliformis</i> <i>A. ostianus</i> <i>A. petrakii</i> <i>A. sclerotiorum</i> <i>A. sulphureus</i> <i>P. verrucosum</i>	Chinese hamster	V79, CHO-K1-BH4 bladder epithelial		-	+	+		(Ali et al., 2011; Bendele et al., 1985; Föllmann, Behm, & Degen, 2007)	
		<i>Allium cepa</i>	Root tip cells	+					(Lerda, Biagi Bistoni, Pelliccioni, & Litterio, 2010)	
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-,+	(Auffray & Boutibonnes, 1987; Krivobok et al., 1987; Malaveille et al., 1991, 1994; Sakai et al., 1992)	
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-,+	(Bendele et al., 1985; Ehrlich et al., 2002b; Hennig et al., 1991; Obrecht-Pflumio, Chassat, Dirheimer, & Marzin, 1999; Wehner, Thiel, et al., 1978b; Würgler, Friederich, & Schlatter, 1991)	
		Rat	F344, Liver, Kidney				+		(Mally et al., 2005)	
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Malaveille et al., 1991; 1994)	
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Würgler et al., 1991)	
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Malaveille et al., 1991; 1994)	
		Pig	Bladder epithelial		+				(Föllmann et al., 1995)	
Ochratoxin B Ochratoxin mycotoxins	<i>A. acanthosporus</i> <i>A. albertensis</i> <i>A. alliaceus</i> <i>A. auricomus</i> <i>A. carbonarius</i> <i>A. ochraceopetaliformis</i> <i>A. ochraceus</i> <i>A. sclerotiorum</i> <i>A. sulphureus</i> <i>A. wentii</i>									
Ochratoxin alpha Ochratoxin mycotoxins	<i>Aspergillus</i> sp.									
Oosporein Quinone chemicals	<i>Cc. kusanoi</i> .	Canine and Mice	Kidney, Spleen, RAW 264,7 cells,				+		(Ramesha et al., 2015)	
Oxalic acid	<i>A. niger</i>	Human	Buccal cells				+		(Unlu & Saglar, 2015)	
Patulin Benzopyran compound		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Würgler et al., 1991)	
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Auffray and Boutibonnes, 1987; Krivobok et al., 1987; Sakai et al., 1992)	
		<i>P. patulum</i> <i>P. expansum</i> <i>P. expansum</i> <i>Byssochlamy</i> sp. <i>A. clavatonanicus</i> <i>A. clavatus</i> <i>A. longivesica</i> <i>A. terreus</i>	Chinese hamster	V79, bone marrow, CHO	+	+		+	+	(Alves, Oliveira, Lares, Rodrigues, & Rueff, 2000; Liu et al., 2003; Matthiaschk & Korte, 1986; Schumacher, Metzler, & Lehmann, 2005)
		Mice	Embrio						-	(Matthiaschk and Korte, 1986)
		Mice	Bone marrow		+		+			(Song et al., 2014)
		Mice	Brain, kidney, skin					+		(de Melo et al., 2012; Saxena et al., 2009)

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References		
				CA	SCE	MN	DF	GM			
Patulin Benzopyran compound	<i>P. patulum</i> <i>P. expansum</i> <i>P. expansum</i> <i>Byssoschlamy</i> sp. <i>A. clavatonanicus</i> <i>A. clavatus</i> <i>A. longivesica</i> <i>A. terreus</i>	Mice	C3H,FM3A	+				+	(Umeda et al., 1977)		
		Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984)		
		Human	Lymphocytes, HEK293		+		+		(Liu et al., 2003)		
		Human	Lymphocytes				+		(Alves et al., 2000; Donmez-Altuntas, Gokalp-Yildiz, Bitgen, & Hamurcu, 2013)		
		Human	HepG2				+	+	(Zhou, Jiang, Geng, Cao, & Zhong, 2009, 2010)		
										(Sabater-Vilar, Nijmeijer, & Fink-Gremmels, 2003)	
Paxilline Tremorgenic mycotoxins	<i>Aspergillus</i> sp. <i>Penicillium</i> sp. <i>Claviceps</i> sp	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Sabater-Vilar et al., 2003)		
		Human	Lymphocytes					+	(Sabater-Vilar et al., 2003)		
Penicillic acid Isopropylidene tetronic acid	<i>P. roqueforti</i> <i>P. camemberti</i> <i>Aspergillus</i> sp.	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains						-	(Wehner et al., 1978b)	
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains						-	(Krivobok et al., 1987; Auffray & Boutibonnes, 1987)	
		Mice	C3H,FM3A	+				+	(Umeda et al., 1977)		
		Rat and Mice	Hepatocyte						-	(Mori et al., 1984)	
Penitrem A Tremorgenic mycotoxins	<i>P. crustosum</i>	Human	Lymphocytes						-	(Sabater-Vilar et al., 2003)	
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains							-	(Sabater-Vilar et al., 2003)
Physcion Anthraquinones	<i>Microsporium</i> sp. <i>A. glaucus</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains						+	(Krivobok et al., 1992)	
		Mice	Lymphoma L5178Y			-	-			-	(Mueller et al., 1999)
Pibasterol	<i>P. rugulosum</i> <i>P. islandicum</i>	<i>S. typhimurium</i> .	TM677,LT2 strains							-	(Stark et al., 1978)
PR toxins	<i>P. roqueforti</i> <i>P. camemberti</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains							-	(Auffray & Boutibonnes, 1987; Sakai et al., 1992)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains							-	(Moulé, Hermann, & Renault, 1981; Xu et al., 1984)
		<i>S. typhimurium</i> Chinese hamster	SV50 ara V79						+	(Xu et al., 1984)	
									-	(Moulé et al., 1981)	
Radixinin	<i>Al. alternata</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains						-,+	(Schrader et al., 2001; 2006)	
Roquefortine Diketopiperazines	<i>P. roqueforti</i> <i>P. camemberti</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains							-	(Schoch, Lüthy, & Schlatter, 1984)
Roridin A Trichothecenes	<i>Mr. roridum</i> <i>Cylindocarpon</i> sp.	<i>E. coli</i>	PQ37 strains							-	(Sakai et al., 1992)
Rubratoin B Alpha, beta unsatu-rated lactone	<i>P. rubrum</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains							-	(Sakai et al., 1992)
Rubroskyrin Anthraquinones	<i>P. rugulosum</i> <i>P. islandicum</i>	<i>S. typhimurium</i>	TM677s						+	(Stark et al., 1978)	
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains							-	(Stark et al., 1978)
		Rat	Hepatocyte							-	(Mori et al., 1988)
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains							-	(Sakai et al., 1992)
Rugulosin Anthraquinones	<i>P. rugulosum</i> <i>P. islandicum</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains							-,+?	(Tikkanen et al., 1983; Stark et al., 1978; Krivobok et al., 1992; Mori et al., 1983)
		<i>S. typhimurium</i>	TM677						+	(Stark et al., 1978)	
		Rat and Mice	Hepatocyte							-	(Mori et al., 1983; 1984)
Satratoxin H Trichothecenes	<i>S. chartarum</i> <i>S. atra</i>	Rat	P12	+		+	-	+		(Nusuetrong et al., 2012)	

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References	
				CA	SCE	MN	DF	GM		
Secalonic acid D	<i>A. aculeatus</i> <i>A. ochraceus</i> <i>A. uvarum</i> <i>A. japonicus</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Wehner et al., 1978b)	
		Mice	Male germ					-	(Reddy, Reddy, Chan, & Hayes, 1980)	
		Mice	Bone marrow				+		(Reddy et al., 1980)	
		Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984)	
Simatoxin	<i>P. rugulosum</i> , <i>P. islandicum</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Stark et al., 1978)	
		<i>S. typhimurium</i>	TM677					+	(Stark et al., 1978)	
Skyrin Anthraquinones	<i>P. rugulosum</i> <i>P. islandicum</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Tikkanen et al., 1983; Krivobok et al., 1992)	
		<i>S. typhimurium</i>	TM677					+	(Stark et al., 1978)	
		Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984)	
Sporidesmin Epidithiodioxopi-perazine mycotoxins	<i>Pi. chartarum</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Ferguson et al., 1992)	
		Mice	Bone marrow				+		(Munday, Pearson, & Ferguson, 1993)	
		Chinese hamster	AA48	+					(Ferguson et al., 1992)	
Stemphylltoxin Perylenequinone metabolites	<i>Al. alternata</i> <i>Al. cassiae</i> <i>Se. botryosum</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains						(Davis & Stack, 1991)	
		Chinese hamster	V79					+	(Fleck et al., 2016)	
Stemphyperyleneol	<i>Al. alternata</i> <i>Al. cassiae</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Davis & Stack, 1991)	
Sterigmatin	<i>A. nidulans</i> <i>A. versicolor</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Mori et al., 1986)	
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					+	(Krivobok et al., 1987; Sakai et al., 1992)	
Sterigmatocystin, (5,6-Dimethoxy-,O-methyl-,5-methoxy-, 5-Methoxydihydro-,Dihydro-, Demethyl-, Demethylhydro-, O-Acetyl-, Hydroxymethyl-) derivatives Anthraquinones	<i>A. versicolor</i> <i>A. parasiticus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. rambellii</i> <i>A. discophorus</i> <i>A. multicolor</i> <i>A. nidulans</i> <i>A. olivicola</i> <i>A. ustus</i> <i>Emericella nidulans</i> , <i>Emericella venezuelensis</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+,-	(Wehner et al., 1978a; 1978b, 1979; Mori et al., 1986; Wong et al., 1977)	
		Human	Hep3B,A549, Liver cells, GES-1		+	+	+			(Anninou et al., 2014; Gao et al., 2015; Jakić et al., 2012; Zhang et al., 2013)
		Chinese hamster	V79						-	(Fleck et al., 2016)
		Mice	C3H,FM3A	+					+	(Umeda et al., 1977)
		Mice	Bone marrow			+				(Curry, Reed, Martino, & Kitchin, 1984)
		Rat and Mice	Hepatocyte						+	(Mori et al., 1984)
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains						-	(Wehner et al., 1978a; 1978b)
T-2 toxins Trichothecenes	<i>F. sporotrichioides</i> <i>F. sulphureum</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Krivobok et al., 1987)	
		Chinese hamster	V79 cells	+	+	+			(Hsia et al., 1988; Li & Lin, 1998; Thust et al., 1983)	
		Chiken	Blood, liver, spleen leukocytes						+	(Frankic, Pajk, Rezar, Levart, & Salobir, 2006; Rezar, Frankić, Narat, Levart, & Salobir, 2007; Sokolovic, Garaj-Vrhovac, Ramic, & Simpraga, 2007)
		Pig	Mononuclear cells						+	(Horvatovich et al., 2013)
		Mice	Leydig cells						+	(Zhang, Yang, Li, & Zhou, 2017)
		Rat	Hepatocyte, esophageal epithelial			+				(Li & Lin, 1988)

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References
				CA	SCE	MN	DF	GM	
T-2 toxins Trichothecenes	<i>F. sporotrichioides</i> <i>F. sulphureum</i>	<i>D. melanogaster</i>	Wing SMART				-	-	(Gürbüz et al., 2015)
Tentoxin	<i>Al. alternata</i> <i>Al. tenuis</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Schrader et al., 2006, 2001)
Tenuazonic Acid Tetramic acid derivatives	<i>Al. tenuis</i> <i>Al. alternata</i>	<i>S. typhimurium</i> Human	LT2 strains HT29					-	(Parkes & Scott, 1982; Schrader et al., 2006, 2001) (Schwarz et al., 2012)
Tryptoquivaline (Iso-,Nor-derivatives)	<i>A. fumigatus</i> <i>A. clavatus</i> <i>N. fischeri</i> <i>N. siamensis</i>	Human	Colon HCT116 Liver HepG2 Melanoma A375					-	(Prata-Sena et al., 2016)
Verrucosidin Tremorgenic mycotoxins	<i>P. aurantiogriseum</i> <i>P. melanoconidium</i> <i>P. polonicum</i>	Human <i>S. typhimurium</i>	Lymphocytes Lt2 strains				+		(Sabater-Vilar et al., 2003) (Sabater-Vilar et al., 2003)
Verruculogen Tremorgenic mycotoxins	<i>A. egyptiacus</i> <i>A. fumigatus</i> <i>P. estinogenum</i> <i>N. fischeri</i>	Human <i>S. typhimurium</i>	Lymphocytes Lt2 strains				-		(Sabater-Vilar et al., 2003) (Sabater-Vilar et al., 2003)
Versicolorin A, B (6,8-O-Dimethyl- and 6-deoxy-versicolorin) Anthraquinones	<i>A. flavus</i> <i>A. versicolor</i> <i>Penicillium sp</i>	<i>E. coli</i> <i>S. typhimurium</i> Rat and Mice Human	PQ37 strains LT2 strains Hepatocyte A549					+	(Krivobok et al., 1987; Sakai et al., 1992) (Wehner et al., 1978b; Wong et al., 1977; Mori et al., 1985) (Mori et al., 1984, 1985, 1988) (Jakšić et al., 2012)
Versiconal (hemiacetal acetate) Anthraquinones	<i>A. parasiticus</i> <i>A. versicolor</i>	<i>S. typhimurium</i> .	LT2 strains					+	(Wong et al., 1977)
Violaceol (Aspermutarubrol, Ethericin A)	<i>A. funiculosus</i> <i>A. sydowii</i> <i>Em. Violaeca</i>	Rat and Mice	Hepatocyte					-	(Mori et al., 1984)
Viomellein Benzopyran compounds	<i>A. melleus</i> <i>A. ochraceus</i> <i>Penicillium sp.</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains					+	(Auffray & Boutibonnes, 1987)
Viridicatumtoxin	<i>Aspergillus sp.</i> <i>Penicillium sp.</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+	(Wehner et al., 1978b)
Vomitoxin (4-deoxynivalenol) Tricothecenes	<i>F. graminearum</i>	<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	(Knasmüller et al., 1997) (Wehner et al., 1978a;
		<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	Knasmüller et al., 1997; Takakura et al., 2014)
		Chinese hamster	V79	+				-	(Hsia et al., 1988; Rogers & Héroux-Metcalf, 1983)
		Mice	Bone marrow				+		(Singh et al., 2015)
		Rat	Blood, tissue	+				+	(Abdel-Wahhab et al., 2018)
		Rat	Hepatocyte	+				+	(Knasmüller et al., 1997)
		Chicken	Lymphocytes, Spleen leukocytes					+	(Awad et al., 2012; Awad, Ghareeb, Dadak, Hess, & Böhm, 2014; Frankic et al., 2006)
		Boar	Lymphocytes	+					(Lusky et al., 1991)
		Human	Lymphocytes	+					(Yang et al., 2014)
		Human	Caco-2, intestinal					+	(Bony et al., 2006)
Human	TK6, HepaRG					-	-	(Takakura et al., 2014)	
Human	HT29, HepG2						+	(Bensassi et al., 2009; Zhang et al., 2009)	
Wortmannin	<i>A. janus</i>	Chinese hamster	V79				+		(Oliveira et al., 2002)

Mycotoxins and mycotoxin group	Fungus produced*	Test materials	Tissue and cells	Abnormalities**					References
				CA	SCE	MN	DF	GM	
Xanthomegnin Quinone chemicals	<i>A. melleus</i> <i>A. ochraceus</i> <i>A. sulphureus</i>	Rat and Mice	Hepatocyte					+	(Mori et al., 1983, 1984)
	<i>Tr. megninii</i> <i>Mi. cookei</i> <i>Ep. floccosum</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					+?	(Mori et al., 1983)
Zearalenone (F2-Toxin) α -, β -zearalenol, Zeranol Mycöestrogens Trichothecenes	<i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. equiseti</i> <i>F. crookwellense</i>	<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains					-	(Wehner et al., 1978a; Bartholomew and Ryan, 1980) (Krivobok et al., 1987; Auffray & Boutibonnes, 1987; Sakai et al., 1992)
		<i>E. coli</i>	PQ37 strains					-	Ghédira-Chékir et al. 1998 (Thust et al., 1983; Hsia et al., 1988; Scheutwinkel et al., 1986; Tatay et al., 2016)
		<i>E. coli</i>	C600					+	(Lusky et al., 1991)
		Chinese hamster	V79, CHO-K1	-	-		-,+	+	(Lioi et al., 2004) (Ayed, Ayed-Boussema, Ouanes, & Bacha, 2011; Ouanes et al., 2003)
		Boar	Lymphocytes	+					(Pfohl-Leszkowicz et al., 1995)
		Bovine	Lymphocytes	+	+				(Pyllkänen et al., 1991)
		Mice	Bone marrow	+		+			(McGregor et al., 1988)
		Mice	Liver, kidney					+	(Pfohl-Leszkowicz et al., 1995)
		Mice	Spermatids				-		(Ayed-Boussema et al., 2007; Abid-Essefi et al., 2003; Ouanes et al., 2003)
		Mice	L5178Y tk(+/-)					-	(Ayed-Boussema et al., 2007; Abid-Essefi et al., 2003; Ouanes et al., 2003)
		Rat	Liver, kidney					-	(Ayed-Boussema et al., 2007; Abid-Essefi et al., 2003; Ouanes et al., 2003)
		Monkey	Kidney vero	+		+		+	(Ayed et al., 2011)
		Human	HeLa	+					(Abid-Essefi et al., 2003; Gao et al., 2013; Hassen, Ayed-Boussema, Oscoz, Lopez, & Bacha, 2007; Tatay, Espin, García-Fernández, & Ruiz, 2017)
Human	Enterocyte-like Caco-2, DOK, HepG2, HEK293					+	(Muthulakshmi, Maharajan, Habibi, Kadirvelu, & Venkataramana, 2018)		
Zebrafish	Embrios					+			

***A:**Aspergillus sp.; **Al:**Alternaria sp.; **B:**Beauveria sp.; **C:**Claviceps sp.; **Ch:**Chaetomium sp.; **Co:**Conidiobolus sp.; **Cc:** Cochliobolus sp.; **E:**Eupenicillium sp.; **Em:**Emericella sp.; **Ep:**Epidermophyton sp.; **Eu:**Eurotium sp.; **F:**Fusarium sp.; **M:**Monascus sp.; **Mr:**Myrothecium sp.; **Mi:**Microsporium sp.; **My:**Mycogone sp.; **N:**Neosartorya sp.; **Ni:**Nigrospora sp.; **P:**Penicillium sp.; **Pa:**Paecilomyces sp.; **Pi:**Pithomyces sp.; **Po:**Podostroma sp.; **S:**Stachybotrys sp.; **Se:**Stemphylium sp.; **St:**Streptomyces sp.; **T:**Tolypocladium sp.; **Tr:**Trichophyton sp.; **V:**Verticillium sp.

****CA:**Structural and numerical chromosome abnormalities; **SCE:**Sister chromatid exchanges; **MN:**Micronucleus; **DF:**DNA fragmentations, Unsheduled DNA synthesis, Comet assay; **GM:**Gene mutation, Nucleotide substitution, Dominant lethal mutation. **(+):**genotoxic or mutagenic; **(-):**non-genotoxic or non-mutagenic; **(+?):**weakly or moderately genotoxic or mutagenic; **(?):**inconclusive (questionable) results; **(±):** in some tissues of animals are genotoxic or mutagenic and in other tissues are non-genotoxic or non-mutagenic

*** **Baccharin**, a component of Brazilian propolis, isolated from natural plant *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). It was evaluated as a mycotoxin.^{92,143} **Azaserine** (9-diazoacetyl-L-serine) is a natural diazoazetyl amino acids (dipeptide). It was evaluated as a mycotoxin (Mori et al. 1984).

Table 2. List of mycotoxins that have not been investigated in terms of genotoxic and mutagenic effects

13-O-Methylviriditin	Dihydrogeodin	Astellolide B	Kotantin
2-hydroxy-3-methyl-1,4-benzoquinone	Dihydroxyaflavinine	Astepyronone metabolite 3, 4, 6	Lolitrem
2-Methyl-1,4-benzoquinone 5,6-epoxide	Dioxopiperazine	Asterric acid	Malformins
2'-oxoasterriquinol D Me ether 1	Dithiosilvatin	Asterriquinone (Demethyl) B1, B3, D, A4,C2	Maltoryzine
3'-hydroxy HT-2 toxin	Ditryptophenoline	Auranthine	Mellein (Ochracin)
3'-Hydroxy T-2 triol	Emestrin	Auroglaucine	Methoxyhydroxyheptadienylbenzyl
3-Furanacetic acid	Emethacin	Austamide	Mevalonate
3-Methylorsellinic acid	Equisetin	Austin (Deacetylaustin)	Monascidin A
Aflatrem	Erdin	Azaphilon	Naphthalic anhydride
Aflavinine	Erythroglaucin	Benzylbismethylthiopiperazinedione	Naphthazarin epoxide
Alanyltryptophan anhydride	Ethanedioic acid	Bianthrone	N-benzoyl-L-phenylalaninol
Alpha-sarcin	Flavipin	b-Resorcylaldehyde-a-14C	Neoechinuline
Alteichin	Flavoglaucin	b-Resorcyclic-carboxy-14C	Neosartorin
Alterperyleneol	Frequentin	Brevianamide	Neosolaniol
Andibenin C	Fumigaclavine	Butanedioic acid	Nidulin
Andilesin	Fumitoxin	Butenolide	Nidulol
Anditomin	Fusaproliferin	Butyrolactone	Norisotryptoquivaline
Aranotin bisdethiobismethylthioacetyl	Fusarochromanone	Canescin	O-ethylparvulenone
Asparvenone	Geodin 1 (Dihydrogeodin)	Carboxydiphenylbutenoic anhydride	Rubrocristin
Asperfuran	O-Methylasparvenone	Catenarin	Scleramide
Asperfuranone	O-methylparvulenone	Chlorflavonin	Sclerin
Aspergillilic acid	Orlandin	Chloromethyresorcylolhydroxyanisinate	Siderine
Aspermutarubrol	Pachybasin	Chrysogine	Silvaticamide
Asperphenamate	Palitantin	Cichorine	Silvaticol
Asperthecin	Paraherquamide	cis-4-Hydroxymellein	Sphingofungin
Aspertoxin	Paspalicine	Citraconic anhydride	Spinulosin
Aspochalasin A,B,D	Paspaline (Paspalinine)	Cladosporin	Sulochrin
Aspulvinone	Paspalitrem	Gregatin	Sydonic acid
Compactin	Pergillin	Helvolic acid	Sydonol
Crotocin	Phenprocoumon	Hexanoic	Terphenyllin
Cryptoechinuline	Phomopsin	HT-2 toxin	Terreic acid
Cyclopaldic acid	Phthalide (Chromanol)	Hydrazinecarboxamide	Terrein
D-Altritol Species	Phycionanthrone	Hydroxysydonic acid	Terremutin
Deacetylaustin	Preechinulin	Indole Species	Terretonin
Dechloronidulin	Questin	Isodihydroauroglaucin	Territrem
Desmethylkotanin	Regulin	Isoflumigaclavines	Parasiticol
Destruxin	Roridin A, D, E, H (Diepoxyroridin)	Itaconic acid	
Dihydroalterperyleneol	Aspyrone	Janthitrem	

Table 3. Test protocol for cell and tissue types used in genotoxic studies

Test Materials	Tissue and cells	Test Protocols	References
<i>S. typhimurium</i>	LT2 strains	Ames Test	(Maron & Ames, 1983)
<i>S. typhimurium</i>	SV50 ara	Forward Mutation Assay	(Xu et al., 1984)
<i>E. coli</i>	PQ37 strains	SOS Chromotest	(Quillardet et al., 1982)
<i>E. coli</i>	WP1 and WP2 UvrA	UvrA reverse Mutation Assay	(Nestmann et al., 1981)
<i>S. cerevisiae</i>	Haploid, diploid strains	Gene Conversion and Mitotic Recombination Tests	(Nestmann et al., 1981)
<i>D. melanogaster</i>	Wing	SMART Test	(Graf et al., 1984)

Test Materials	Tissue and cells	Test Protocols	References
Rodents and other animals	Bone marrow cells	<i>In vivo</i> CA, SCE and MN Methods	(DeMarini et al., 1987; Wangenheim & Bolcsfoldi, 1988) (OECD, 1996; Rencuzogullari & Aydin, 2018)
Rodents and other animals	Erythrocytes	Mammalian Erythrocyte Micronucleus Tests	(OECD, 2013; Rencuzogullari & Aydin, 2018)
Rodents and other animals	DT40 or other tissue cells	Comet Assay	(Yamamoto et al., 2011)
Rodents and other animals	Hepatocytes and other tissues cells	DNA Repair Test	(Mori et al., 1984)
Rodents and other animals	Germ cells	Germ Cells Mutation Test	(Hassanane et al., 2000; Marchetti et al., 2018)
Rodents and other animals	Lymphoma TK 4/-	Forward Mutation Assay	(Wangenheim and Bolcsfoldi, 1988; DeMarini et al., 1987)
Human and Rodents	Peripheral blood cells or other tissues cells	<i>In vitro</i> CA, SCE and MN Methods	(Evans, 1984; Perry and Thompson, 1984; Kirsch-Volders et al., 1997; Albertini et al., 2000; Rencuzogullari & Aydin, 2018)
Human	Cancer cells	MTT Test or Comet Assay	(Prata-Sena et al., 2016)

When Table 1 is examined, it can be seen that the genotoxic or mutagenic effect of many mycotoxins is investigated with only one test (46 mycotoxin) or two tests (24 mycotoxin) system. These mycotoxins may also be considered among mycotoxins that have not been determined genotoxic or mutagenic toxins because the genotoxic effect of any mycotoxin or a chemical is only tested with a test battery in order to say that the results are reliable. The test group, called the test battery, should contain an *in vitro* or *in vivo* test and should consist of a bacterial test system such as the Ames test. The results will be more reliable when molecular tests such as RAPD-PCR included in the system. Therefore, the number of mycotoxins that we do not know about their genotoxic effects increases when we take these mycotoxins among the unexplained ones.

Cytochalasin and fumagillin are the two mycotoxins effects of which were studied *in vivo* in rodents and *in vitro* human lymphocytes without any bacterial test system. Cytochalasin has genotoxic effect only in human lymphocytes, while fumagillin has genotoxic and mutagenic effects in all tests (Banerjee & Paruthy, 2016). In particular, *in vivo* tests are extremely important in terms of presenting mycotoxin metabolism. Floccosin, iridoskyrin, islandicin, mycophenolic acid, nidurufin, norsolorinic acid, rubroskyrine, and skyrin are the mycotoxins genotoxic effects of which were investigated by both *in vivo* and bacterial test (Aleksic et al., 2017). It can be said that there is a non-genotoxic or suspected genotoxic effect in all of the mentioned mycotoxins.

It is important to study candudisin B, fumitremorgen B, fusaric acid, 3-hydroxyterphenyllin, ochratoxin alpha, oosporein, penitrem A, physcion, stemphltoxin, verrucosidin, and verruculogen, which were studied with only one *in vitro* and one bacterial test, and beauvericin and fusarenon X mycotoxins that were studied using only two different *in vitro* tests by *in vivo* testing system for demonstrating genotoxic or mutagenic activity. Among these mycotoxins only oosporein, stemphltoxin, verrucosidin, and beauvericin showed positive results in terms of genotoxic effects, but other mycotoxins showed either negative or unclear/suspicious results (González-Peñas, Vettorazzi, Lizarraga, Azqueta, & López de Cerain, 2019).

Among the studied mycotoxins, actinomycin D, aflatoxin, alternariol, chrysazin (dantron), citrinin, fumonisin, mytomycin C, nivalenol, ochratoxin A, patulin, sterigmatocystin, versicolorin A and B, vomitoxin, and

zearalenone can be evaluated as genotoxic or mutagenic (Kaynarca, Hecer, & Ulusoy, 2019).

Acetoscripenol appears to be genotoxic in mouse bone marrow and germ cells, but not in *Drosophila* wing spot test and bacterial tests. It may have a genotoxic risk due to its effect in *in vivo* studies in mice. Although averufin, azaserine, cyclosporin A, emodin, girseofulvin, kojic acid, lysergic acid, moniliformin, 3-nitropropionic acid, and T-2 toxins give genotoxically positive results in most tests, additional further tests are required to determine whether they are genotoxic or mutagenic (Bennett & Klich, 2003). The same matter is applied for chrysophanol, gliotoxin, luteoskyrin, penicillic acid, PR toxins, rugulosin, secalonic acid D, and sporidesmin, which are negative in most tests because some of the tests that are supposed to be in the test battery are not used in the studies.

4. Discussion

Genotoxicity and mutagenicity are terms that are used to describe damage caused by chemicals on chromosome and DNA structure and lead to gene mutations, chromosome abnormalities, and DNA chain breaks. Such mutations can cause foremost congenital defects and many other diseases such as cancer, aging, and infertility. Identification of such effects of chemicals is extremely important in terms of minimizing the frequency of abnormality and disease (Phillips & Arlt, 2009).

Mutagenicity refers to a chemical or physical agent's capacity to cause mutations (genetic alterations). Agents that damage DNA causing lesions that result in cell death or mutations are genotoxins. All mutagens are genotoxic but not all genotoxins are mutagens as they may not cause retained alterations in DNA sequence (Beldowski, Been, & Turmus, 2017).

Of the 109 genotoxically and mutagenically studied mycotoxins, only 14 (actinomycin D, aflatoxin, alternariol, chrysazin (dantron), citrinin, fumonisin, mytomycin C, nivalenol, ochratoxin A, patulin, sterigmatocystin, versicolorin A and B, vomitoxin, and zearalenone) were found to be genotoxic. Of the mentioned mycotoxins, aflatoxin, sterigmatocystin and fumonisin are complete animal carcinogens and only aflatoxin is a human carcinogen. There is no sufficient information on the genotoxic and mutagenic effects of the remaining 95 mycotoxins. In particular, additional tests should be performed to detect the genotoxic effects of mycotoxins that are investigated by using only two test systems in case

of genotoxicity in one of the test systems but non-genotoxicity in the other test system.

When genotoxic studies are performed, application of *in vivo* tests is especially important because many mycotoxins may show genotoxic effects in *in vivo* or by being metabolized in the presence of metabolic activators in *in vitro*. These mycotoxins must undergo biotransformation processes in order to be able to show genotoxicity (Aydın et al., 2017; Bayram, Rencüzoğulları, Almas, & Genç, 2016; Flajs & Peraica, 2009; Yourtee & Kirk-Yourtee, 1986). Wehner, Marasas, & Thiel (1978a) found out that toxins such as austdiol, austocystins A and D, kojic acid, and viridicatum toxin had mutagenic effects after biotransformation. The same can be said for many other mycotoxins (Wehner, Thiel, van Rensburg, & Demasius, 1978b).

In some cases, oxidation reactions can expose genotoxicity. Arbillaga Azqueta, Ezpeleta, & López de Cerain (2007) reported that ochratoxin A is not directly genotoxic; however, oxidative stress in human renal cells affects genotoxicity. It was also found that ochratoxin A enhances radical oxygen production by Russo and colleagues (Russo et al., 2005).

Sometimes *in vivo* nitrosylation can lead to more severe genotoxic activity. Some studies reported that some alternaria metabolites such as altenuene, alterotoxin I, alternarol, alternarol monomethyl ether, and radicinin mycotoxins have very strong genotoxic effects after nitrosation (Schrader, Cherry, Soper, & Langlois, 2006; Schrader, Cherry, Soper, Langlois, & Vijay, 2001).

The chemical structure of mycotoxins or some groups they contain may affect its genotoxic effect. For example, norsoloronic acid, averufin, and versiconal acetate contain anthraquinone. Therefore, their mutagenic effects are weak. However, versicolorin, which is another anthraquinone and contains the bisfuran ring, has high mutagenic activity. Sterigmatocystin also has an anthraquinone and xanthone content that contains 2 times more mutagenic effect compared to versicolorin. Aflatoxin B1 contains an anthraquinone and xanthone but the xanthone has been transferred onto a coumarin. This makes aflatoxin B1 10 times more genotoxic (Wong, Singh, & Hsieh, 1977).

Perhaps the greatest risk for mycotoxins is the combined synergistic effect of multiple mycotoxins. Because many *Fusaria* can produce more than one mycotoxin at the same time (Scott & Stoltz, 1980). Aupanun, Poapolathep, Giorgi, Imsilp, & Poapolathep (2017) showed that some mycotoxins could be present together. It was reported that ochratoxin A and citrinin mycotoxins (Bousslimi, Bouaziz, Ayed-Boussema, Hassen, & Bacha, 2008) and also cyclopiazonic acid and aflatoxin mycotoxins (Sorenson, Tucker, & Simpson, 1984) show strong synergistic effects.

One of the greatest risks of mycotoxins is causing cancer. Hsia, Wu, Lu, & Li (1988) found out that humans eating corn that is contaminated with the trichothecenes group mycotoxins and nivalenol and deoxy-, 3-acetyldeoxy, 15-acetyldeoxy derivatives developed esophageal cancers. Brugger et al. (2006) reported that alternariol also causes esophageal cancer. It was also reported that aflatoxin A1 and B1, sterigmatocystin, and luteoskyrin are hepatocarcinogen (Müller, 1987).

Fuminisin was reported to be associated with esophageal cancer as well as with liver cancer in rats (Aranda, Pérez-Alzola, Ellahueñe, & Sepúlveda, 2000). Mirsalis, Tyson, & Butterworth (1982) found out that azaserin is a pancreatic carcinogen.

Some carcinogenic mycotoxins are known to cause cancer through genetic damage. In previous studies, it was reported that mycotoxins that are likely to be genotoxic carcinogens are aflatoxin B1, sterigmatocystin, luteoskyrin, ochratoxin A, azaserine, mitomycin C, and actinomycin D (Beljanski, Le Goff, & Beljanski, 1982; Hashimoto, Nakajima, Matsumura, & Chatani, 2010; Mori et al., 1984) and non-genotoxic carcinogens were reported to be penicillic acid, patulin, griseofulvin, and rugulosin (Mori et al., 1984).

Although mitomycin C and actinomycin D are known to be genotoxic carcinogens, these two mycotoxins also have anti-cancer effects due to their direct-acting alkylating agents (Gupta & Singh, 1982; Parkes & Scott, 1982) and they have also been used as anti-cancer drugs. Similarly, cytochalasin is also a mycotoxin and has anti-tumor effect (Chang et al., 2016; Chen et al., 2015) because it is a cytokine-blocking agent (Fenech & Morley, 1985). These chemicals are used as positive mutagens in genotoxicity studies due to their high genotoxic effects. Duclauxin and danthron have also been reported to be important anticancer compounds (Anisha, Sachidanandan, & Radhakrishnan, 2018; Fuska, Kuhr, Nemeč, & Fusková, 1974; Kuhr et al., 1973). Therefore, it is also understood that some mycotoxins may be used as anticancer drugs, antibiotics, antibacterials or as medicines for other purposes. Many mycotoxins, such as penicillin, griseofulvin, danthron, emodin, luteoskyrin, cyclochlorotene, rugulosin, rubroskyrin, lumiluteoskyrin, pibasterol, skyrin, cyclosporine, chrysophanol, islandicin, iridoskyrin, fumagillin, and mevinolin (lovastatin) are used as antibiotics or other therapeutic agents (Anisha et al., 2018; Flint, Forsey, & Usher, 1959; Henninger et al., 2012; Liberman et al., 1980; Mengs, Schuler, & Marshall, 2001; Mok & Tey, 2018; Nesslany, Simar-Meintières, Ficheux, & Marzin, 2009; Sakai et al., 1992; Schaffhauser et al., 2016; Stark et al., 1978; Stevanovic, Stanimirovic, Radakovic, & Stojic, 2008; van den Heever, Thompson, Curtis, & Pernal, 2015; Yang et al., 2018). Nevertheless, it should not be forgotten that mycotoxins may cause adverse effects in humans such as high blood pressure, headache, kidney problems, increased hair growth, vomiting, liver problems, and increased risk of lymphoma (Cho, Davis, Wetter, Bartley, & Brewer, 2018; Geller et al., 2018; Ivandić & Bašić-Jukić, 2014). When mycotoxin is used as a medicine, it will be beneficial for the health of the patient to be under special care.

Mycotoxins, such as alternariol, fusarin, and zearalenone are defined as mycoestrogens. They may cause a number of physiological events in the reproductive tract by exhibiting high estrogenic activity (Ayed-Boussema, Ouanes, Bacha, & Abid, 2007). Although some articles state that zearalenone is non-steroidal estrogenic (Pfohl-Leszkowicz, Chekir-Ghedira, & Bacha, 1995), Abid-Essefi et al. (2003) reported that zearalenone increased estrogenic and anabolic properties by binding to human estrogen receptors. It was reported that some mycotoxins may have different effects depending on sexual difference although they are not mycoestrogens. In a genotoxicity study that has been done in male and female mice, it was

shown that aflatoxin B1 causes higher genotoxic effects in males than females (Madle, Korte, & Beek, 1986).

5. Conclusions

Mycotoxins are toxins that are naturally produced as secondary metabolic products of *Fusarium* and constitute the greatest risk to humans by causing contaminations in food. Mycotoxins are a large group of toxins that cause various abnormalities in living things, especially cancer, infertility, and congenital defects during pregnancy. Very few of them are known to have genotoxic effects (El Khoury, Fayjaloun, Nassar, Sahakian, & Aad, 2019). However, the mutation-formation effects of a large part of the remaining mycotoxins have not been investigated. Knowing the genotoxic effects of a mycotoxin ensures the explanation of the disease molecular levels. This is extremely important in terms of reducing the abnormality of the chemistry and the frequency of the disease.

There are also mycotoxins that are used as therapeutics for many diseases, especially antibiotics, and even as anti-cancer drugs. Mycotoxins, which are used as drugs, are biotechnologically produced and purified chemicals. These drugs naturally may give adverse effects and cause some unwanted effects in the living system (Loi, Fanelli, Liuzzi, Logrieco, & Mulè, 2017).

As a result, since mycotoxins are produced at specific temperature and humidity grades, storage of food in appropriate conditions from the time of production to consumption can reduce mycotoxin contamination. This is extremely important for the protection of human health.

References

- Abd-Allah, G.A., el-Fayoumi, R.I., Smith, M.J., Heckmann, R.A., & O'Neill, K.L. (1999). A comparative evaluation of aflatoxin B1 genotoxicity in fish models using the Comet assay. *Mutation Research*, 446(2), 181–188. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(99\)00181-3](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(99)00181-3)
- Abdel-Wahhab, M.A., El-Nekeety, A.A., Salman, A.S., Abdel-Aziem, S.H., Mehaya, F.M., & Hassan, N.S. (2018). Protective capabilities of silymarin and inulin nanoparticles against hepatic oxidative stress, genotoxicity and cytotoxicity of Deoxynivalenol in rats. *Toxicol*, 142, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2017.12.045>
- Abid-Essefi, S., Baudrimont, I., Hassen, W., Ouanes, Z., Mobio, T.A., Anane, R., ... Bacha, H. (2003). DNA fragmentation, apoptosis and cell cycle arrest induced by zearalenone in cultured DOK, Vero and Caco-2 cells: Prevention by Vitamin E. *Toxicology*, 192(2–3), 237–248. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(03\)00329-9](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(03)00329-9)
- Aichinger, G., Beisl, J., & Marko, D. (2017). Genistein and delphinidin antagonize the genotoxic effects of the mycotoxin alternariol in human colon carcinoma cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(2). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600462>
- Alarcón-Herrera, N., Flores-Maya, S., Bellido, B., García-Bores, A. M., Mendoza, E., Ávila-Acevedo, G., & Hernández-Echeagaray, E. (2017). Protective effects of chlorogenic acid in 3-nitropropionic acid induced toxicity and genotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 109(2), 1018–1025. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.048>
- Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., ... Aitio, A. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety. *Mutation Research*, 463(2), 111–172. [https://doi.org/10.1016/s1383-5742\(00\)00049-1](https://doi.org/10.1016/s1383-5742(00)00049-1)
- Aleksic, B., Draghi, M., Ritoux, S., Bailly, S., Lacroix, M., Oswald, I.P., ... Robine, E. (2017). Aerosolization of mycotoxins after growth of toxinogenic fungi on wallpaper. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(16). <https://doi.org/10.1128/AEM.01001-17>
- Ali, R., Guo, X., Lin, H., Khan, Q.M., Ismail, M., Waheed, U., ... Bhalli, J.A. (2014). Mutant frequency in comparison to oxidative DNA damage induced by ochratoxin A in L5178Y tk+/- (3.7.2C) mouse lymphoma cells. *Drug and Chemical Toxicology*, 37(2), 227–232. <https://doi.org/10.3109/01480545.2013.838775>
- Ali, R., Mittelstaedt, R.A., Shaddock, J.G., Ding, W., Bhalli, J.A., Khan, Q.M., & Heflich, R.H. (2011). Comparative analysis of micronuclei and DNA damage induced by Ochratoxin A in two mammalian cell lines. *Mutation Research*, 723(1), 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.04.002>
- Alves, I., Oliveira, N.G., Laires, A., Rodrigues, A.S., & Rueff, J. (2000). Induction of micronuclei and chromosomal aberrations by the mycotoxin patulin in mammalian cells: Role of ascorbic acid as a modulator of patulin clastogenicity. *Mutagenesis*, 15(3), 229–234. <https://doi.org/10.1093/mutage/15.3.229>
- Anisha, C., Sachidanandan, P., & Radhakrishnan, E.K. (2018). Endophytic *Paraconiothyrium* sp. from zingiber officinale rosc. displays broad-spectrum antimicrobial activity by production of danthron. *Current Microbiology*, 75(3), 343–352. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1387-7>
- Anninou, N., Chatzaki, E., Papachristou, F., Pitiakoudis, M., & Simopoulos, C. (2014). Mycotoxins' activity at toxic and sub-toxic concentrations: Differential cytotoxic and genotoxic effects of single and combined administration of sterigmatocystin, ochratoxin A and citrinin on the hepatocellular cancer cell line Hep3B. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(2), 1855–1872. <https://doi.org/10.3390/ijerph110201855>
- Aoyama, K., Iwahori, K., & Miyata, N. (2003). Application of *Euglena gracilis* cells to comet assay: Evaluation of DNA damage and repair. *Mutation Research*, 538(1–2), 155–162. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(03\)00113-x](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(03)00113-x)
- Aranda, M., Pérez-Alzola, L.P., Ellahueñe, M.F., & Sepúlveda, C. (2000). Assessment of in vitro mutagenicity in *Salmonella* and in vivo genotoxicity in mice of the mycotoxin fumonisin B(1). *Mutagenesis*, 15(6), 469–471. <https://doi.org/10.1093/mutage/15.6.469>
- Arbillaga, L., Azqueta, A., Ezpeleta, O., & López de Cerain, A. (2007). Oxidative DNA damage induced by Ochratoxin A in the HK-2 human kidney cell line: Evidence of the relationship with cytotoxicity. *Mutagenesis*, 22(1), 35–42. <https://doi.org/10.1093/mutage/ogp049>
- Atherton, G., & Beth, B. (2019). Secondary metabolites. Retrieved from <http://www.aspergillus.org.uk/metabolite-images/secondary-metabolites>
- Atienzar, F.A., & Jha, A.N. (2006). The random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: A critical review. *Mutation Research*, 613(2–3), 76–102. <https://doi.org/10.1016/j.mrrrev.2006.06.001>
- Atienzar, F.A., Cordi, B., Donkin, M.E., Evenden, A.J., Jha, A.N., & Depledge, M.H. (2000). Comparison of ultraviolet-induced genotoxicity detected by random amplified polymorphic DNA with chlorophyll fluorescence and growth in a marine macroalgae, *Palmaria palmata*. *Aquatic Toxicology*, 50(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(99\)00100-9](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00100-9)
- Auffray, Y., & Boutibonnes, P. (1987). Genotoxic activity of some mycotoxins using the SOS chromotest. *Mycopathologia*, 100(1), 49–53. <https://doi.org/10.1007/BF00769568>
- Aupanun, S., Poapolathep, S., Giorgi, M., Imsilp, K., & Poapolathep, A. (2017). An overview of the toxicology and toxicokinetics of fusarenon-X, a type B trichothecene mycotoxin. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 79(1), 6–13. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0008>
- Awad, W.A., Ghareeb, K., Dadak, A., Gille, L., Staniek, K., Hess, M., & Böhm, J. (2012). Genotoxic effects of deoxynivalenol in broiler chickens fed low-protein feeds. *Poultry Science*, 91(3), 550–555. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01742>
- Awad, W.A., Ghareeb, K., Dadak, A., Hess, M., & Böhm, J. (2014). Single and combined effects of deoxynivalenol mycotoxin and a microbial feed additive on lymphocyte DNA damage and oxidative stress in broiler chickens. *PLOS ONE*, 9(1), e88028. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088028>
- Aydın, M., Arslan, M., Rencüzoğulları, E., Gözaydın, C., Genç, A., & Bayram, S. (2017). Investigation of XRCC1 Arg399Gln, Arg280His, and Arg194Trp polymorphisms effects on the induction of micronucleus by Aflatoxin B1 in in vitro. *Gene Reports*, 9, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2017.08.002>
- Ayed-Boussema, I., Ouanes, Z., Bacha, H., & Abid, S. (2007). Toxicities induced in cultured cells exposed to zearalenone: Apoptosis or mutagenesis? *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 21(3), 136–144. <https://doi.org/10.1002/jbt.20171>
- Ayed, Y., Ayed-Boussema, I., Ouanes, Z., & Bacha, H. (2011). In vitro and in vivo induction of chromosome aberrations by alpha- and beta-zearalenols: Comparison with zearalenone. *Mutation Research*, 726(1), 42–46. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.08.003>
- Banerjee, S., & Paruthy, S.B. (2016). Preclinical and clinical perspective on fungal metabolites and their analogs as anticancer agents – from bench to bedside. In J.M. Mérillon & K.G. Ramawat (Eds.), *Fungal Metabolites* (pp. 1–32). https://doi.org/10.1007/978-3-319-19456-1_22-1
- Bartholomew, R.M., & Ryan, D.S. (1980). Lack of mutagenicity of some phytoestrogens in the *Salmonella*/mammalian microsome assay.

- Mutation Research*, 78(4), 317–321. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(80\)90036-1](https://doi.org/10.1016/0165-1218(80)90036-1)
- Batiste-Alentorn, M., Xamena, N., Creus, A., & Marcos, R. (1995). Genotoxicity testing of five compounds in three *Drosophila* short-term somatic assays. *Mutation Research*, 341(3), 161–167. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(95\)90006-3](https://doi.org/10.1016/0165-1218(95)90006-3)
- Bayram, S., Rencüzoğulları, E., Almas, A.M., & Genç, A. (2016). Effect of p53 Arg72Pro polymorphism on the induction of micronucleus by aflatoxin B1 in *in vitro* in human blood lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 39(3), 331–337. <https://doi.org/10.3109/01480545.2015.1121275>
- Becerril, C., Ferrero, M., Sanz, F., & Castaño, A. (1999). Detection of mitomycin C-induced genetic damage in fish cells by use of RAPD. *Mutagenesis*, 14(5), 449–456. <https://doi.org/10.1093/mutage/14.5.449>
- Behm, C., Degen, G.H., & Föllmann, W. (2009). The *Fusarium* toxin enniatin B exerts no genotoxic activity, but pronounced cytotoxicity *in vitro*. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(4), 423–430. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800183>
- Beldowski, J., Been, R., & Turmus, E.K. (2017). *Towards the Monitoring of Dumped Munitions Threat (MODUM): A Study of Chemical Munitions Dumpsites in the Baltic Sea*. Dordrecht, The Netherlands, Springer.
- Beljanski, M., Le Goff, L., & Beljanski, M. (1982). *In vitro* screening of carcinogens using DNA of the His- mutant of *Salmonella typhimurium*. *Experimental Cell Biology*, 50(5), 271–280.
- Bendele, A.M., Neal, S.B., Oberly, T.J., Thompson, C.Z., Bewsey, B.J., Hill, L.E., ... Probst, G.S. (1985). Evaluation of ochratoxin A for mutagenicity in a battery of bacterial and mammalian cell assays. *Food and Chemical Toxicology*, 23(10), 911–918. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(85\)90107-3](https://doi.org/10.1016/0278-6915(85)90107-3)
- Benedict, W.F., Baker, M.S., Haroun, L., Choi, E., & Ames, B.N. (1977). Mutagenicity of cancer chemotherapeutic agents in the *Salmonella*/microsome test. *Cancer Research*, 37(7 Pt 1), 2209–2213.
- Bennett, J.W. & Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 497–516.
- Bensassi, F., El Golli-Bennour, E., Abid-Essefi, S., Bouaziz, C., Hajlaoui, M.R., & Bacha, H. (2009). Pathway of deoxynivalenol-induced apoptosis in human colon carcinoma cells. *Toxicology*, 264(1–2), 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.07.020>
- Bhat, P.V., Pandareesh, M.D., Khanum, F., & Tamatam, A. (2016). Cytotoxic Effects of Ochratoxin A in Neuro-2A Cells: Role of Oxidative Stress Evidenced by N-acetylcysteine. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1142. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01142>
- Bjeldanes, L.F., & Chew, H. (1979). Mutagenicity of 1,2-dicarbonyl compounds: Maltol, kojic acid, diacetyl and related substances. *Mutation Research*, 67(4), 367–371. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(79\)90034-X](https://doi.org/10.1016/0165-1218(79)90034-X)
- Blanc, P.J., Laussac, J.P., Le Bars, J., Le Bars, P., Loret, M.O., Pareilleux, A., ... Goma, G. (1995). Characterization of monascidin A from *Monascus* as citrinin. *International Journal of Food Microbiology*, 27(2–3), 201–213. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)00167-5](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)00167-5)
- Bonassi, S., Hagmar, L., Strömberg, U., Montagud, A.H., Tinnerberg, H., Forni, A., ... Norppa, H. (2000). Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Cancer Research*, 60(6), 1619–1625.
- Bonassi, S., Ugolini, D., Kirsch-Volders, M., Strömberg, U., Vermeulen, R., & Tucker, J.D. (2005). Human population studies with cytogenetic biomarkers: Review of the literature and future perspectives. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 45(2–3), 258–270. <https://doi.org/10.1002/em.20115>
- Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, W.P., Holland, N., ... Fenech, M. (2007). An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*, 28(3), 625–631. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgl177>
- Bonassi, S., Znaor, A., Norppa, H., & Hagmar, L. (2004). Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: An epidemiologic perspective. *Cytogenetic and Genome Research*, 104(1–4), 376–382. <https://doi.org/10.1159/000077519>
- Bony, S., Carcelen, M., Olivier, L., & Devaux, A. (2006). Genotoxicity assessment of deoxynivalenol in the Caco-2 cell line model using the Comet assay. *Toxicology Letters*, 166(1), 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.04.010>
- Bony, S., Olivier-Loiseau, L., Carcelen, M., & Devaux, A. (2007). Genotoxic potential associated with low levels of the *Fusarium* mycotoxins nivalenol and fusarenon X in a human intestinal cell line. *Toxicology in vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA*, 21(3), 457–465. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2006.10.014>
- Bosio, P., Siciliano, I., Gilardi, G., Gullino, M., & Garibaldi, A. (2017). Verrucarin A and rotridin E produced on rocket by *Myrothecium roridum* under different temperatures and CO2 levels. *World Mycotoxin Journal*, 10(3), 229–236. <https://doi.org/10.3920/WMJ2017.2198>
- Bouslimi, A., Bouaziz, C., Ayed-Boussema, I., Hassen, W., & Bacha, H. (2008). Individual and combined effects of ochratoxin A and citrinin on viability and DNA fragmentation in cultured Vero cells and on chromosome aberrations in mice bone marrow cells. *Toxicology*, 251(1–3), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.06.008>
- Brkanac, S.R., Gerić, M., Gajski, G., Vujčić, V., Garaj-Vrhovac, V., Kremer, D., & Domijan, A.M. (2015). Toxicity and antioxidant capacity of *Frangula alnus* Mill. Bark and its active component emodin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology: RTP*, 73(3), 923–929. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.025>
- Browning, L.S. (1968). Lysergic acid diethylamine: Mutagenic effects in *Drosophila*. *Science (New York, N.Y.)*, 161(3845), 1022–1023. <https://doi.org/10.1126/science.161.3845.1022>
- Brugger, E.M., Wagner, J., Schumacher, D.M., Koch, K., Podlech, J., Metzler, M., & Lehmann, L. (2006). Mutagenicity of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells. *Toxicology Letters*, 164(3), 221–230. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.01.001>
- Carrano, A.V., & Natarajan, A.T. (1988). Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutation Research*, 204(3), 379–406. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(88\)90036-5](https://doi.org/10.1016/0165-1218(88)90036-5)
- Carrano, A.V., Thompson, L.H., Lindl, P.A., & Minkler, J.L. (1978). Sister chromatid exchange as an indicator of mutagenesis. *Nature*, 271(5645), 551–553. <https://doi.org/10.1038/271551a0>
- Celik, M., Aksoy, H., & Yilmaz, S. (2010). Evaluation of beauvericin genotoxicity with the chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges and micronucleus assays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(7), 1553–1557. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.07.036>
- Celik, M., Yilmaz, S., Aksoy, H., Unal, F., Yüzbaşıoğlu, D., & Dönbak, L. (2009). Evaluation of the genotoxicity of *Fusarium* mycotoxin moniliformin in human peripheral blood lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50(5), 431–434. <https://doi.org/10.1002/em.20459>
- Chagas, F.O., Dias, L.G., & Pupo, M.T. (2013). A mixed culture of endophytic fungi increases production of antifungal polyketides. *Journal of Chemical Ecology*, 39(10), 1335–1342. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0351-7>
- Chang, H.T., Chou, C.T., Chen, I.S., Yu, C.C., Lu, T., Hsu, S.S., ... Liang, W.Z. (2016). Mechanisms underlying effect of the mycotoxin cytochalasin B on induction of cytotoxicity, modulation of cell cycle, Ca²⁺ homeostasis and ROS production in human breast cells. *Toxicology*, 370, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2016.09.006>
- Chen, C., Wang, J., Liu, J., Zhu, H., Sun, B., Wang, J., ... Zhang, Y. (2015). Armochoatoglobins A-J: Cytochalasin Alkaloids from *Chaetomium globosum* TW1-1, a Fungus derived from the terrestrial arthropod *Armadillidium vulgare*. *Journal of Natural Products*, 78(6), 1193–1201. <https://doi.org/10.1021/np500626x>
- Chen, Y.Y., Chiang, S.Y., Lin, J.G., Yang, J.S., Ma, Y.S., Liao, C.L., ... Chung, J.G. (2010). Emodin, aloë-emodin and rhein induced DNA damage and inhibited DNA repair gene expression in SCC-4 human tongue cancer cells. *Anticancer Research*, 30(3), 945–951.
- Cheng, T.J., Christiani, D.C., Xu, X., Wain, J.C., Wiencke, J.K., & Kelsey, K.T. (1996). Increased micronucleus frequency in lymphocytes from smokers with lung cancer. *Mutation Research*, 349(1), 43–50. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(95\)00150-6](https://doi.org/10.1016/0027-5107(95)00150-6)
- Cho, J.M., Davis, D.M.R., Wetter, D.A., Bartley, A.C., & Brewer, J.D. (2018). Association between atopic dermatitis and squamous cell carcinoma: A case-control study. *International Journal of Dermatology*, 57(3), 313–316. <https://doi.org/10.1111/ijd.13857>
- Cilião, H.L., Ribeiro, D.L., Camargo-Godoy, R.B.O., Specian, A.F.L., Serpeloni, J.M., & Cólus, I.M.S. (2015). Cytotoxic and genotoxic effects of high concentrations of the immunosuppressive drugs cyclosporine and tacrolimus in MRC-5 cells. *Experimental and Toxicologic Pathology: Official Journal of the Gesellschaft Für Toxikologische Pathologie*, 67(2), 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2014.11.008>
- Cohen, M.M., Marinello, M.J., & Back, N. (1967). Chromosomal damage in human leukocytes induced by lysergic acid diethylamide. *Science (New York, N.Y.)*, 155(3768), 1417–1419. <https://doi.org/10.1126/science.155.3768.1417>
- Cole, R.J., Taylor, N., Cole, J., & Arlett, C.F. (1981). Short-term tests for transplacentally active carcinogens: I. Micronucleus formation in fetal and maternal mouse erythroblasts. *Mutation Research*, 80(1), 141–157. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(81\)90184-6](https://doi.org/10.1016/0027-5107(81)90184-6)
- Corcuera, L.A., Vettorazzi, A., Arbillaga, L., Pérez, N., Gil, A. G., Azqueta, A., ... López de Cerain, A. (2015). Genotoxicity of Aflatoxin B1 and Ochratoxin A after simultaneous application of the *in vivo* micronucleus and comet assay. *Food and Chemical Toxicology*, 76, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.12.003>

- Costa, J.G., Saraiva, N., Guerreiro, P.S., Louro, H., Silva, M.J., Miranda, J.P., ... Oliveira, N.G. (2016). Ochratoxin A-induced cytotoxicity, genotoxicity and reactive oxygen species in kidney cells: An integrative approach of complementary endpoints. *Food and Chemical Toxicology*, 87, 65–76. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.11.018>
- Crebelli, R., Carere, A., Conti, G., Conti, L., Rossi, C., & Tuttobello, L. (1988). Evaluation of the mutagenic activity of leucinoatins, a novel class of antibiotic peptides produced by *Paecilomyces marquandii*, in the model *Aspergillus nidulans*. *Microbiologica*, 11(4), 299–305.
- Creppy, E.E., Kane, A., Dirheimer, G., Lafarge-Frayssinet, C., Mousset, S., & Frayssinet, C. (1985). Genotoxicity of ochratoxin A in mice: DNA single-strand break evaluation in spleen, liver and kidney. *Toxicology Letters*, 28(1), 29–35. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(85\)90006-2](https://doi.org/10.1016/0378-4274(85)90006-2)
- Curry, P.T., Reed, R.N., Martino, R.M., & Kitchin, R.M. (1984). Induction of sister-chromatid exchanges *in vivo* in mice by the mycotoxins sterigmatocystin and griseofulvin. *Mutation Research*, 137(2–3), 111–115. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(84\)90099-5](https://doi.org/10.1016/0165-1218(84)90099-5)
- Davis, V.M., & Stack, M.E. (1991). Mutagenicity of stemphylytoxin III, a metabolite of *Alternaria alternata*. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(1), 180–182.
- de Melo, F.T., de Oliveira, I.M., Greggio, S., Dacosta, J.C., Guecheva, T.N., Saffi, J., ... Rosa, R.M. (2012). DNA damage in organs of mice treated acutely with patulin, a known mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10), 3548–3555. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.12.022>
- De Wolf, H., Blust, R., & Backeljau, T. (2004). The population genetic structure of *Littorina littorea* (Mollusca: Gastropoda) along a pollution gradient in the Scheldt estuary (The Netherlands) using RAPD analysis. *The Science of the Total Environment*, 325(1–3), 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.11.004>
- Dean, R., Bynum, G., Kram, D., & Schneider, E.L. (1980). Sister-chromatid exchange induction by carcinogens in HTC cells: An *in vitro* system which does not require addition of activating factors. *Mutation Research*, 74(6), 477–483. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(80\)90178-8](https://doi.org/10.1016/0165-1161(80)90178-8)
- Degen, G.H., Lebrun, S., Lektarau, Y., & Föllmann, W. (2005). Modulation of ochratoxin A induced DNA-damage in urothelial cell cultures. *Mycotoxin Research*, 21(1), 57–60. <https://doi.org/10.1007/BF02954819>
- Dellarco, V.L., Mavournin, K.H., & Tice, R.R. (1985). Aneuploidy and health risk assessment: Current status and future directions. *Environmental Mutagenesis*, 7(3), 405–424. <https://doi.org/10.1002/em.2860070314>
- DeMarini, D.M., Brock, K.H., Doerr, C.L., & Moore, M.M. (1987). Mutagenicity of actinomycin D in mammalian cells due to clastogenic effects. *Mutation Research*, 192(2), 151–155. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(87\)90113-8](https://doi.org/10.1016/0165-7992(87)90113-8)
- Devnarain, N., Tiloke, C., Nagiah, S., & Chaturgoon, A.A. (2017). Fusaric acid induces oxidative stress and apoptosis in human cancerous oesophageal SNO cells. *Toxicon*, 126, 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.12.006>
- Domijan, A.M., Gajski, G., Novak Jovanović, I., Geric, M., & Garaj-Vrhovac, V. (2015). *In vitro* genotoxicity of mycotoxins ochratoxin A and fumonisin B(1) could be prevented by sodium copper chlorophyllin—Implication to their genotoxic mechanism. *Food Chemistry*, 170, 455–462. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.036>
- Domijan, A.M., Zeljezić, D., Kopjar, N., & Peraica, M. (2006). Standard and Fpg-modified comet assay in kidney cells of ochratoxin A- and fumonisin B(1)-treated rats. *Toxicology*, 222(1–2), 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.01.024>
- Domijan, A.M., Zeljezić, D., Milić, M., & Peraica, M. (2007). Fumonisin B(1): Oxidative status and DNA damage in rats. *Toxicology*, 232(3), 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.01.007>
- Donmez-Altuntas, H., Gokalp-Yildiz, P., Bitgen, N., & Hamurcu, Z. (2013). Evaluation of genotoxicity, cytotoxicity and cytostasis in human lymphocytes exposed to patulin by using the cytokinesis-block micronucleus cyto (CBMN cyt) assay. *Mycotoxin Research*, 29(2), 63–70. <https://doi.org/10.1007/s12550-012-0153-8>
- Dönmez-Altuntas, H., Dumlupinar, G., Imamoglu, N., Hamurcu, Z., & Liman, B.C. (2007). Effects of the mycotoxin citrinin on micronucleus formation in a cytokinesis-block genotoxicity assay in cultured human lymphocytes. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 27(4), 337–341. <https://doi.org/10.1002/jat.1209>
- Dönmez-Altuntaş, H., Hamurcu, Z., Imamoglu, N., & Liman, B.C. (2003). Effects of ochratoxin A on micronucleus frequency in human lymphocytes. *Die Nahrung*, 47(1), 33–35. <https://doi.org/10.1002/food.200390005>
- Dörrenhaus, A., Flieger, A., Golka, K., Schulze, H., Albrecht, M., Degen, G.H., & Föllmann, W. (2000). Induction of unscheduled DNA synthesis in primary human urothelial cells by the mycotoxin ochratoxin A. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 53(2), 271–277. <https://doi.org/10.1093/toxsci/53.2.271>
- Duffaud, F., Orsière, T., Villani, P., Pelissier, A.L., Volot, F., Favre, R., & Botta, A. (1997). Comparison between micronucleated lymphocyte rates observed in healthy subjects and cancer patients. *Mutagenesis*, 12(4), 227–231. <https://doi.org/10.1093/mutage/12.4.227>
- EFSA (2011). Opinion on genotoxicity testing strategies. Retrieved December 5, 2019, from European Food Safety Authority website: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2379>
- EFSA. (2017). Clarification of some aspects related to genotoxicity assessment. (2017, December 18). Retrieved December 5, 2019, from European Food Safety Authority website: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5113>
- Ehrlich, V., Darroudi, F., Uhl, M., Steinkellner, H., Gann, M., Majer, B.J., ... Knasmüller, S. (2002a). Genotoxic effects of ochratoxin A in human-derived hepatoma (HepG2) cells. *Food and Chemical Toxicology*, 40(8), 1085–1090. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00045-5)
- Ehrlich, V., Darroudi, F., Uhl, M., Steinkellner, H., Zsivkovits, M., & Knasmüller, S. (2002b). Fumonisin B1 is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2) cells. *Mutagenesis*, 17(3), 257–260. <https://doi.org/10.1093/mutage/17.3.257>
- El Khoury, D., Fayjaloun, S., Nassar, M., Sahakian, J., & Aad, P.Y. (2019). Updates on the effect of mycotoxins on male reproductive efficiency in mammals. *Toxins*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/toxins11090515>
- Escrivá, L., Font, G., & Manyes, L. (2015). *In vivo* toxicity studies of fusarium mycotoxins in the last decade: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 185–206. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.02.005>
- Estop, A.M., Cieply, K., Vankirk, V., Munne, S., & Garver, K. (1991). Cytogenetic studies in human sperm. *Human Genetics*, 87(4), 447–451. <https://doi.org/10.1007/BF00197166>
- Evans, H.J. (1984). Human Peripheral Blood Lymphocytes for the Analysis of Chromosome Aberrations in Mutagen Tests. In: Kilbey BJ, Legator M, Nichols W, Ramel C (eds) *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, 2nd ed. Elsevier Sci BV, pp. 405–427.
- Evans, H.J., & O'Riordan, M.L. (1975). Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. *Mutation Research*, 31(3), 135–148. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90082-5](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90082-5)
- Fabian, D., Reháč, P., Czikková, S., Il'ková, G., Baran, V., & Koppel, J. (2003). Induced cell death of preimplantation mouse embryos cultured *in vitro* evaluated by comet assay. *Theriogenology*, 60(4), 691–706. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(03\)00087-6](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(03)00087-6)
- Fahmy, M.A., & Hassan, N.H. (1996). Cytogenetic effect of griseofulvin in mouse spermatocytes. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 16(2), 177–183. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1263\(199603\)16:2<177::AID-JAT330>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1263(199603)16:2<177::AID-JAT330>3.0.CO;2-T)
- Fenech, M., & Morley, A.A. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research*, 147(1–2), 29–36. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(85\)90015-9](https://doi.org/10.1016/0165-1161(85)90015-9)
- Fenech, M., Holland, N., Chang, W.P., Zeiger, E., & Bonassi, S. (1999). The HUMAN MicroNucleus Project—An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutation Research*, 428(1–2), 271–283. [https://doi.org/10.1016/s1383-5742\(99\)00053-8](https://doi.org/10.1016/s1383-5742(99)00053-8)
- Fenech, M. (2002). Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology*, 181–182, 411–416. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(02\)00480-8](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(02)00480-8)
- Ferguson, L.R., Berriman, J., Pearson, A., Munday, R., Fowke, E.A., & Towers, N.R. (1992). *In vitro* and *in vivo* mutagenicity studies on sporidesmin, the toxin associated with facial eczema in ruminants. *Mutation Research*, 268(2), 199–210. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(92\)90225-q](https://doi.org/10.1016/0027-5107(92)90225-q)
- Fernández-Blanco, C., Font, G., & Ruiz, M.J. (2015). Oxidative DNA damage and disturbance of antioxidant capacity by alternariol in Caco-2 cells. *Toxicology Letters*, 235(2), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.03.013>
- Ferrero, M., Castaño, A., Gonzalez, A., Sanz, F., & Becerril, C. (1998). Characterization of RTG-2 fish cell line by random amplified polymorphic DNA. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 40(1–2), 56–64. <https://doi.org/10.1006/eesa.1998.1642>
- Fisher, C.R., Malling, H.V., De Serres, F.J., & Snyder, S. (1975). Mutagenicity of actinomycin D in *Neurospora crassa*. *Mutation Research*, 33(2–3), 187–192. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(75\)90194-3](https://doi.org/10.1016/0027-5107(75)90194-3)
- Flajs, D., & Peraica, M. (2009). Toxicological properties of citrinin. *Arhiv Za Higijenu Rada I Toksikologiju*, 60(4), 457–464. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-60-2009-1992>
- Fleck, S.C., Burkhardt, B., Pfeiffer, E., & Metzler, M. (2012). *Alternaria* toxins: Altertoxin II is a much stronger mutagen and DNA strand breaking mycotoxin than alternariol and its methyl ether in cultured mammalian cells. *Toxicology Letters*, 214(1), 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.08.003>

- Fleck, S.C., Sauter, F., Pfeiffer, E., Metzler, M., Hartwig, A., & Köberle, B. (2016). DNA damage and repair kinetics of the Alternaria mycotoxins alternariol, altertoxin II and stemphyliotoxin III in cultured cells. *Mutation Research*, 798–799, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2016.02.001>
- Flint, A., Forsey, R.R., & Usher, B. (1959). Griseofulvin, a new oral antibiotic for the treatment of fungous infections of the skin. *Canadian Medical Association Journal*, 81(3), 173–175.
- Föllmann, W., & Lebrun, S. (2003). Uptake and genotoxic effects of ochratoxin A in cultured porcine urinary bladder epithelial cells. *Mycotoxin Research*, 19(1), 24–26. <https://doi.org/10.1007/BF02944006>
- Föllmann, W., Behm, C., & Degen, G.H. (2007). Induction of micronuclei by ochratoxin A is a sensitive parameter of its genotoxicity in cultured cells. *Mycotoxin Research*, 23(2), 101. <https://doi.org/10.1007/BF02946034>
- Föllmann, W., Hillebrand, I.E., Creppy, E.E., & Bolt, H.M. (1995). Sister chromatid exchange frequency in cultured isolated porcine urinary bladder epithelial cells (PUBEC) treated with ochratoxin A and alpha. *Archives of Toxicology*, 69(4), 280–286. <https://doi.org/10.1007/s002040050171>
- Föllmann, Wolfram, Behm, C., & Degen, G.H. (2009). The emerging Fusarium toxin enniatin B: *In vitro* studies on its genotoxic potential and cytotoxicity in V79 cells in relation to other mycotoxins. *Mycotoxin Research*, 25(1), 11–19. <https://doi.org/10.1007/s12550-008-0002-y>
- Frankic, T., Pajk, T., Rezar, V., Levart, A., & Salobir, J. (2006). The role of dietary nucleotides in reduction of DNA damage induced by T-2 toxin and deoxynivalenol in chicken leukocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 44(11), 1838–1844. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.06.002>
- Frenzilli, G., Bosco, E., & Barale, R. (2000). Validation of single cell gel assay in human leukocytes with 18 reference compounds. *Mutation Research*, 468(2), 93–108. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(00\)00042-5](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(00)00042-5)
- Fuska, J., Kuhr, I., Nemeč, P., & Fusková, A. (1974). Antitumor antibiotics produced by *Penicillium stipitatum* Thom. *The Journal of Antibiotics*, 27(2), 123–127. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.27.123>
- Galvano, F., Campisi, A., Russo, A., Galvano, G., Palumbo, M., Renis, M., ... Vanella, A. (2002a). DNA damage in astrocytes exposed to fumonisin B1. *Neurochemical Research*, 27(4), 345–351. <https://doi.org/10.1023/a:1014971515377>
- Galvano, F., Russo, A., Cardile, V., Galvano, G., Vanella, A., & Renis, M. (2002b). DNA damage in human fibroblasts exposed to fumonisin B1. *Food and Chemical Toxicology*, 40(1), 25–31. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(01\)00083-7](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(01)00083-7)
- Gao, F., Jiang, L., Chen, M., Geng, C., Yang, G., Ji, F., ... Liu, X. (2013). Genotoxic effects induced by zearalenone in a human embryonic kidney cell line. *Mutation Research*, 755(1), 6–10. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.04.009>
- Gao, W., Jiang, L., Ge, L., Chen, M., Geng, C., Yang, G., ... Liu, X. (2015). Sterigmatocystin-induced oxidative DNA damage in human liver-derived cell line through lysosomal damage. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA*, 29(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.08.007>
- Geller, S., Xu, H., Lebowitz, M., Nardone, B., Lacouture, M.E., & Khetarpal, M. (2018). Malignancy Risk and Recurrence with Psoriasis and its Treatments: A Concise Update. *American Journal of Clinical Dermatology*, 19(3), 363–375. <https://doi.org/10.1007/s40257-017-0337-2>
- Ghaderi, M., Allameh, A., Soleimani, M., Rastegar, H., & Ahmadi-Ashtiani, H.R. (2011). A comparison of DNA damage induced by aflatoxin B1 in hepatocyte-like cells, their progenitor mesenchymal stem cells and CD34(+) cells isolated from umbilical cord blood. *Mutation Research*, 719(1–2), 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.09.005>
- Ghazi, T., Nagiah, S., Tiloke, C., Sheikh Abdul, N., & Chaturgoon, A.A. (2017). Fusaric Acid Induces DNA Damage and Post-Translational Modifications of p53 in Human Hepatocellular Carcinoma (HepG2) Cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 118(11), 3866–3874. <https://doi.org/10.1002/jcb.26037>
- Ghédira-Chékir, L., Maaroufi, K., Zakhama, A., Ellouz, F., Dhoubi, S., Creppy, E.E., & Bacha, H. (1998). Induction of a SOS repair system in lysogenic bacteria by zearalenone and its prevention by vitamin E. *Chemico-Biological Interactions*, 113(1), 15–25. [https://doi.org/10.1016/s0009-2797\(98\)00013-1](https://doi.org/10.1016/s0009-2797(98)00013-1)
- Glatt, H., Eich, E., Pertz, H., Becker, C., & Oesch, F. (1987). Mutagenicity experiments on agroclavines, new natural antineoplastic compounds. *Cancer Research*, 47(7), 1811–1814.
- Glatt, H., Jung, R., & Oesch, F. (1983). Bacterial mutagenicity investigation of epoxides: Drugs, drug metabolites, steroids and pesticides. *Mutation Research*, 111(2), 99–118. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(83\)90056-8](https://doi.org/10.1016/0027-5107(83)90056-8)
- Glatt, H., Pertz, H., Kasper, R., & Eich, E. (1992). Clavine alkaloids and derivatives as mutagens detected in the Ames test. *Anti-Cancer Drugs*, 3(6), 609–614. <https://doi.org/10.1097/00001813-199212000-00008>
- Goetz, P., Srám, R. J., & Zudová, Z. (1974). The mutagenic effect of lysergic acid diethylamide. I. Cytogenetic analysis. *Mutation Research*, 26(6), 513–516. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(74\)80052-7](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(74)80052-7)
- Golli-Bennour, E.E., Kouidhi, B., Bouslimi, A., Abid-Essefi, S., Hassen, W., & Bacha, H. (2010). Cytotoxicity and genotoxicity induced by aflatoxin B1, ochratoxin A, and their combination in cultured Vero cells. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 24(1), 42–50. <https://doi.org/10.1002/jbt.20310>
- González-Arias, C.A., Benitez-Trinidad, A.B., Sordo, M., Robledo-Marengo, L., Medina-Díaz, I.M., Barrón-Vivanco, B.S., ... Rojas-García, A.E. (2014). Low doses of ochratoxin A induce micronucleus formation and delay DNA repair in human lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 74, 249–254. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.10.006>
- González-Peñas, E., Vettorazzi, A., Lizarraga, E., Azqueta, A., & López de Cerain, A. (2019). Report of the IVth Workshop of the Spanish National Network on Mycotoxins and Toxicogenic Fungi and Their Decontamination Processes (MICOFOOD), Held in Pamplona, Spain, 29–31 May 2019. *Toxins*, 11(7), 415. <https://doi.org/10.3390/toxins11070415>
- Graf, U., Würgler, F.E., Katz, A.J., Frei, H., Juon, H., Hall, C.B., & Kale, P.G. (1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental Mutagenesis*, 6(2), 153–188. <https://doi.org/10.1002/em.2860060206>
- Gupta, R.S., & Singh, B. (1982). Mutagenic responses of five independent genetic loci in CHO cells to a variety of mutagens. Development and characteristics of a mutagen screening system based on selection for multiple drug-resistant markers. *Mutation Research*, 94(2), 449–466. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(82\)90307-4](https://doi.org/10.1016/0027-5107(82)90307-4)
- Gürbüzel, M., Uysal, H., & Kızılet, H. (2015). Assessment of genotoxic potential of two mycotoxins in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Toxicology and Industrial Health*, 31(3), 261–267. <https://doi.org/10.1177/0748233712472528>
- Hagmar, L., Brøgger, A., Hansteen, I.L., Heim, S., Högstedt, B., Knudsen, L., ... Nordenson, I. (1994). Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Research*, 54(11), 2919–2922.
- Hansen, T.J. (1984). Ames mutagenicity tests on purified 3-nitropropionic acid. *Food and Chemical Toxicology*, 22(5), 399–401. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(84\)90370-3](https://doi.org/10.1016/0278-6915(84)90370-3)
- Hashimoto, K., Nakajima, Y., Matsumura, S., & Chatani, F. (2010). An *in vitro* micronucleus assay with size-classified micronucleus counting to discriminate aneuploids from clastogens. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA*, 24(1), 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.09.006>
- Hassanane, M., Abdalla, E., El-Fiky, S., Amer, M., & Hamdy, A. (2000). Mutagenicity of the mycotoxin diacetoxyscirpenol on somatic and germ cells of mice. *Mycotoxin Research*, 16(1), 53–64. <https://doi.org/10.1007/BF02946105>
- Hassen, W., Ayed-Boussema, I., Oscoz, A.A., Lopez, A.D.C., & Bacha, H. (2007). The role of oxidative stress in zearalenone-mediated toxicity in Hep G2 cells: Oxidative DNA damage, glutathione depletion and stress proteins induction. *Toxicology*, 232(3), 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.01.015>
- Heddle, J.A., Cimino, M.C., Hayashi, M., Romagna, F., Shelby, M.D., Tucker, J.D., ... MacGregor, J.T. (1991). Micronuclei as an index of cytogenetic damage: Past, present, and future. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 18(4), 277–291. <https://doi.org/10.1002/em.2850180414>
- Helleday, T. (2003). Pathways for mitotic homologous recombination in mammalian cells. *Mutation Research*, 532(1–2), 103–115. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2003.08.013>
- Hennig, A., Fink-Gremmels, J., & Leistner, L. (1991). Mutagenicity and effects of ochratoxin A on the frequency of sister chromatid exchange after metabolic activation. *IARC Scientific Publications*, 115, 255–260.
- Henninger, C., Huelsenbeck, J., Huelsenbeck, S., Grösch, S., Schad, A., Lackner, K.J., ... Fritz, G. (2012). The lipid lowering drug lovastatin protects against doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 261(1), 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.03.012>
- Higa, Y., Kawabe, M., Nabae, K., Toda, Y., Kitamoto, S., Hara, T., ... Takahashi, M. (2007). Kojic acid -absence of tumor-initiating activity in rat liver, and of carcinogenic and photo-genotoxic potential in mouse skin. *The Journal of Toxicological Sciences*, 32(2), 143–159. <https://doi.org/10.2131/jts.32.143>
- Horvatovich, K., Hafner, D., Bodnár, Z., Berta, G., Hancz, C., Dutton, M., & Kovács, M. (2013). Dose-related genotoxic effect of T-2 toxin measured by comet assay using peripheral blood mononuclear cells of healthy pigs. *Acta Veterinaria Hungarica*, 61(2), 175–186. <https://doi.org/10.1556/AVet.2013.010>

- Hradil, C.M., Hallock, Y.F., Clardy, J., Kenfield, D.S., & Strobel, G. (1989). Phytotoxins from *Alternaria cassiae*. *Phytochemistry*, 28(1), 73–75. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)85011-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)85011-3)
- Hsia, C.C., Wu, J.L., Lu, X.Q., & Li, Y.S. (1988). Natural occurrence and clastogenic effects of nivalenol, deoxynivalenol, 3-acetyl-deoxynivalenol, 15-acetyl-deoxynivalenol, and zearalenone in corn from a high-risk area of esophageal cancer. *Cancer Detection and Prevention*, 13(2), 79–86.
- Hussein, H.S., & Brasel, J.M. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167(2), 101–134. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00471-1](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00471-1)
- Inoue, H., Baba, H., Awano, K., & Yoshikawa, K. (1995). Genotoxic effect of griseofulvin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*, 343(4), 229–234. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(95\)90018-Z](https://doi.org/10.1016/0165-1218(95)90018-Z)
- Ivandić, E., & Bašić-Jukić, N. (2014). Liver damage caused by atorvastatin and cyclosporine in patients with renal transplant. *Acta Medica Croatica: Casopis Hrvatske Akademije Medicinskih Znanosti*, 68(2), 175–178.
- Jafari, M., Rezaei, M., Kalantari, H., & Hashemitabar, M. (2013). Determination of cell death induced by lovastatin on human colon cell line ht29 using the comet assay. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 8(4), 187–191.
- Jakšić, D., Puel, O., Canlet, C., Kopjar, N., Kosalec, I., & Klarić, M.Š. (2012). Cytotoxicity and genotoxicity of versicolorins and 5-methoxysterigmatocystin in A549 cells. *Archives of Toxicology*, 86(10), 1583–1591. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0871-x>
- Jeswal, P. (1996). Citrinin-induced chromosomal abnormalities in the bone marrow cells of *Mus musculus*. *Cytobios*, 86(344), 29–33.
- Kamp, H.G., Eisenbrand, G., Janzowski, C., Kiossev, J., Latendresse, J.R., Schlatter, J., & Turesky, R.J. (2005). Ochratoxin A induces oxidative DNA damage in liver and kidney after oral dosing to rats. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(12), 1160–1167. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500124>
- Karuna, R., & Rao, B.S. (2013). Lack of micronuclei induction by fumonisin B1 mycotoxin in BALB/c mice. *Mycotoxin Research*, 29(1), 9–15. <https://doi.org/10.1007/s12550-012-0149-4>
- Kawai, K., Mori, H., & Kitamura, J. (1983). The uncoupling effect of flavoglucan, a quinol pigment from *Aspergillus chevalieri* (Mangin), on mitochondrial respiration. *Toxicology Letters*, 19(3), 321–325. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(83\)90137-6](https://doi.org/10.1016/0378-4274(83)90137-6)
- Kawai, K., Shiojiri, H., Nakamura, T., Nozawa, Y., Sugie, S., Mori, H., ... Ogihara, Y. (1985). Cytotoxicity and genotoxicity of xenoclauxin and desacetyl duclauxin from *Penicillium duclauxii* (delacroix). *Cell Biology and Toxicology*, 1(2), 1–10. <https://doi.org/10.1007/BF00717786>
- Kaynarca, H. doruk, Hecker, C., & Ulusoy, B. (2019). Mycotoxin hazard in meat and meat products. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 14(1), 90–97. <https://doi.org/10.17094/ataunivbd.449705>
- Kirsch-Volders, M., Elhadjouji, A., Cundari, E., & Van Hummelen, P. (1997). The *in vitro* micronucleus test: A multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. *Mutation Research*, 392(1–2), 19–30. [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(97\)00042-6](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(97)00042-6)
- Klarić, M.S., Darabos, D., Rozgaj, R., Kasuba, V., & Pepeljnjak, S. (2010). Beauvericin and ochratoxin A genotoxicity evaluated using the alkaline comet assay: Single and combined genotoxic action. *Archives of Toxicology*, 84(8), 641–650. <https://doi.org/10.1007/s00204-010-0535-7>
- Klarić, M.S., Zelježić, D., Rumora, L., Peraica, M., Pepeljnjak, S., & Domijan, A.M. (2012). A potential role of calcium in apoptosis and aberrant chromatin forms in porcine kidney PK15 cells induced by individual and combined ochratoxin A and citrinin. *Archives of Toxicology*, 86(1), 97–107. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0735-9>
- Knasmüller, S., Bresgen, N., Kassie, F., Mersch-Sundermann, V., Gelderblom, W., Zöhrer, E., & Eckl, P.M. (1997). Genotoxic effects of three Fusarium mycotoxins, fumonisin B1, moniliformin and vomitoxin in bacteria and in primary cultures of rat hepatocytes. *Mutation Research*, 391(1–2), 39–48. [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(97\)00030-X](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(97)00030-X)
- Kocan, R.M., Landolt, M.L., & Sabo, K.M. (1982). Anaphase aberrations: A measure of genotoxicity in mutagen-treated fish cells. *Environmental Mutagenesis*, 4(2), 181–189. <https://doi.org/10.1002/em.2860040208>
- Kokkonen, M., Ojala, L., Parikka, P., & Jestoi, M. (2010). Mycotoxin production of selected Fusarium species at different culture conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 143(1–2), 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.015>
- Koppen, G., & Verschaeve, L. (1996). The alkaline comet test on plant cells: A new genotoxicity test for DNA strand breaks in *Vicia faba* root cells. *Mutation Research*, 360(3), 193–200. [https://doi.org/10.1016/S0165-1161\(96\)90017-5](https://doi.org/10.1016/S0165-1161(96)90017-5)
- Krishna, G., Kropko, M.L., & Theiss, J.C. (1989). Use of the cytokinesis-block method for the analysis of micronuclei in V79 Chinese hamster lung cells: Results with mitomycin C and cyclophosphamide. *Mutation Research*, 222(1), 63–69. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(89\)90036-0](https://doi.org/10.1016/0165-1218(89)90036-0)
- Krivobok, S., Olivier, P., Marzin, D.R., Seigle-Murandi, F., & Steiman, R. (1987). Study of the genotoxic potential of 17 mycotoxins with the SOS Chromotest. *Mutagenesis*, 2(6), 433–439. <https://doi.org/10.1093/mutage/2.6.433>
- Krivobok, S., Seigle-Murandi, F., Steiman, R., Marzin, D.R., & Betina, V. (1992). Mutagenicity of substituted anthraquinones in the Ames/Salmonella microsome system. *Mutation Research*, 279(1), 1–8. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(92\)90259-3](https://doi.org/10.1016/0165-1218(92)90259-3)
- Kuhr, I., Fuska, J., Sedmera, P., Podojil, M., Vokonc, J., & Vaněk, Z. (1973). An antitumor antibiotic produced by *Penicillium stipitatum* Thom; its identity with duclauxin. *The Journal of Antibiotics*, 26(9), 535–536. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.26.535>
- Kuroda, K., Hibi, D., Ishii, Y., Takasu, S., Kijima, A., Matsushita, K., ... Umemura, T. (2014). Ochratoxin A induces DNA double-strand breaks and large deletion mutations in the carcinogenic target site of gpt delta rats. *Mutagenesis*, 29(1), 27–36. <https://doi.org/10.1093/mutage/get054>
- Kuroda, K., Ishii, Y., Takasu, S., Kijima, A., Matsushita, K., Watanabe, M., ... Umemura, T. (2013). Cell cycle progression, but not genotoxic activity, mainly contributes to citrinin-induced renal carcinogenesis. *Toxicology*, 311(3), 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2013.07.003>
- Le Hégat, L., Dumont, J., Josse, R., Huet, S., Lanceleur, R., Mouro, A., ... Fessard, V. (2010). Assessment of the genotoxic potential of indirect chemical mutagens in HepaRG cells by the comet and the cytokinesis-block micronucleus assays. *Mutagenesis*, 25(6), 555–560. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq039>
- Lebrun, S., & Föllmann, W. (2002). Detection of ochratoxin A-induced DNA damage in MDCK cells by alkaline single cell gel electrophoresis (comet assay). *Archives of Toxicology*, 75(11), 734–741. <https://doi.org/10.1007/s00204-001-0291-9>
- Lebrun, S., Golka, K., Schulze, H., & Föllmann, W. (2006). Glutathione S-transferase polymorphisms and ochratoxin A toxicity in primary human urothelial cells. *Toxicology*, 224(1–2), 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.04.034>
- Lee, H.Z., Lin, C.J., Yang, W.H., Leung, W.C., & Chang, S.P. (2006). Alocemodin induced DNA damage through generation of reactive oxygen species in human lung carcinoma cells. *Cancer Letters*, 239(1), 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.07.036>
- Lerda, D., Biaggi Bistoni, M., Peralta, N., Ychari, S., Vazquez, M., & Bosio, G. (2005). Fumonisin in foods from Cordoba (Argentina), presence and genotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 43(5), 691–698. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.12.019>
- Lerda, D., Biagi Bistoni, M., Pelliccioni, P., & Litterio, N. (2010). *Allium cepa* as a biomonitor of ochratoxin A toxicity and genotoxicity. *Plant Biology (Stuttgart, Germany)*, 12(4), 685–688. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2010.00337.x>
- Li, J.H., & Lin, L.F. (1998). Genetic toxicology of abused drugs: A brief review. *Mutagenesis*, 13(6), 557–565. <https://doi.org/10.1093/mutage/13.6.557>
- Li, M.X. (1988). Mutagenicity and carcinogenicity of T-2 toxin, a trichothecene produced by *Fusarium fungi*. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi [Chinese Journal of Oncology]*, 10(5), 326–329.
- Li, W.Y., Chan, R.Y.K., Yu, P.H.F., & Chan, S.W. (2013). Emodin induces cytotoxic effect in human breast carcinoma MCF-7 cell through modulating the expression of apoptosis-related genes. *Pharmaceutical Biology*, 51(9), 1175–1181. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.782322>
- Li, Y., Luan, Y., Qi, X., Li, M., Gong, L., Xue, X., ... Ren, J. (2010). Emodin triggers DNA double-strand breaks by stabilizing topoisomerase II-DNA cleavage complexes and by inhibiting ATP hydrolysis of topoisomerase II. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 118(2), 435–443. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq282>
- Liberman, D.F., Schaefer, F.L., Fink, R.C., Ramgopal, M., Ghosh, A.C., & Mulcahy, R. (1980). Mutagenicity of islandicin and chrysophanol in the *Salmonella*/microsome system. *Applied and Environmental Microbiology*, 40(3), 476–479.
- Limón, M.C., Rodríguez-Ortiz, R., & Avalos, J. (2010). Bikaverin production and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(1), 21–29. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2551-1>
- Lin, L., Zhang, J., Wang, P., Wang, Y., & Chen, J. (1998). Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. *Journal of Chromatography A*, 815(1), 3–20. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00204-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00204-0)
- Lindholm, C., Norppa, H., Hayashi, M., & Sorsa, M. (1991). Induction of micronuclei and anaphase aberrations by cytochalasin B in human lymphocyte cultures. *Mutation Research*, 260(4), 369–375. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(91\)90022-e](https://doi.org/10.1016/0165-1218(91)90022-e)

- Lioi, M.B., Santoro, A., Barbieri, R., Salzano, S., & Ursini, M.V. (2004). Ochratoxin A and zearalenone: A comparative study on genotoxic effects and cell death induced in bovine lymphocytes. *Mutation Research*, 557(1), 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2003.09.009>
- Liu, B.H., Yu, F.Y., Wu, T.S., Li, S.Y., Su, M.C., Wang, M.C., & Shih, S.M. (2003). Evaluation of genotoxic risk and oxidative DNA damage in mammalian cells exposed to mycotoxins, patulin and citrinin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 191(3), 255–263. [https://doi.org/10.1016/s0041-008x\(03\)00254-0](https://doi.org/10.1016/s0041-008x(03)00254-0)
- Liu, J., Wang, Y., Cui, J., Xing, L., Shen, H., Wu, S., ... Zhang, X. (2012). Ochratoxin A induces oxidative DNA damage and G1 phase arrest in human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Toxicology Letters*, 211(2), 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.03.800>
- Liu, W., Xi, J., Cao, Y., You, X., Chen, R., Zhang, X., ... Luan, Y. (2019). An adaptation of human-induced hepatocytes to *in vitro* genetic toxicity Tests. *Mutagenesis*, 34(2), 165–171. <https://doi.org/10.1093/mutage/gey041>
- Loi, M., Fanelli, F., Liuzzi, V.C., Logrieco, A.F., & Mulè, G. (2017). Mycotoxin Biotransformation by Native and Commercial Enzymes: Present and Future Perspectives. *Toxins*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/toxins9040111>
- Lu, H.F., Lai, T.Y., Hsia, T.C., Tang, Y.J., Yang, J.S., Chiang, J.H., ... Chung, J.G. (2010). Danthron induces DNA damage and inhibits DNA repair gene expressions in GBM 8401 human brain glioblastoma multiforms cells. *Neurochemical Research*, 35(7), 1105–1110. <https://doi.org/10.1007/s11064-010-0161-z>
- Lusky, K., Wagner, U., Stähr, B., Doberschütz, K.D., & Peter, W. (1991). Investigations on possible genotoxic effects of Fusarium toxins in boars. *Mycotoxin Research*, 7(1), 29–34. <https://doi.org/10.1007/BF03192161>
- Madle, E., Korte, A., & Beek, B. (1986). Species differences in mutagenicity testing: I. Micronucleus and SCE tests in rats, mice, and Chinese hamsters with aflatoxin B1. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 6(1), 1–13. <https://doi.org/10.1002/tcm.1770060102>
- Mailhes, J.B., Marchetti, F., & Aardema, M.J. (1993). Griseofulvin-induced aneuploidy and meiotic delay in mouse oocytes: Effect of dose and harvest time. *Mutation Research*, 300(3–4), 155–163. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(93\)90047-h](https://doi.org/10.1016/0165-1218(93)90047-h)
- Malaveille, C., Brun, G., & Bartsch, H. (1991). Genotoxicity of ochratoxin A and structurally related compounds in *Escherichia coli* strains: Studies on their mode of action. *IARC Scientific Publications*, 115, 261–266.
- Malaveille, C., Brun, G., & Bartsch, H. (1994). Structure-activity studies in *E. coli* strains on ochratoxin A (OTA) and its analogues implicate a genotoxic free radical and a cytotoxic thiol derivative as reactive metabolites. *Mutation Research*, 307(1), 141–147. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(94\)90286-0](https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90286-0)
- Mally, A., Pepe, G., Ravoori, S., Fiore, M., Gupta, R.C., Dekant, W., & Mosesso, P. (2005). Ochratoxin A causes DNA damage and cytogenetic effects but no DNA adducts in rats. *Chemical Research in Toxicology*, 18(8), 1253–1261. <https://doi.org/10.1021/tx049650x>
- Mamur, S., Ünal, F., Yilmaz, S., Erikel, E., & Yüzbaşıoğlu, D. (2018a). Evaluation of the cytotoxic and genotoxic effects of mycotoxin fusaric acid. *Drug and Chemical Toxicology*, 11, 1–9. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1499772>
- Mamur, S., Yuzbasioglu, D., Yilmaz, S., Erikel, E., & Unal, F. (2018b). Assessment of cytotoxic and genotoxic effects of enniatin-A in vitro. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 35(8), 1633–1644. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1486513>
- Marchetti, F., Aardema, M., Beevers, C., van Benthem, J., Douglas, G.R., Godschalk, R., ... Williams, A. (2018). Simulation of mouse and rat spermatogenesis to inform genotoxicity testing using OECD test guideline 488. *Mutation Research*, 832–833, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.05.020>
- Marillia, E.F., & Scoles, G.J. (1996). The use of RAPD markers in *Hordeum* phylogeny. *Genome*, 39(4), 646–654. <https://doi.org/10.1139/g96-082>
- Maron, D.M., & Ames, B.N. (1983). Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, 113(3–4), 173–215. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(83\)90010-9](https://doi.org/10.1016/0165-1161(83)90010-9)
- Matter, B.E., Donatsch, P., Racine, R.R., Schmid, B., & Suter, W. (1982). Genotoxicity evaluation of cyclosporin A, a new immunosuppressive agent. *Mutation Research*, 105(4), 257–264. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(82\)90039-2](https://doi.org/10.1016/0165-7992(82)90039-2)
- Matthiaschk, G., & Korte, A. (1986). Studies on the embryotoxicity and mutagenicity of mycotoxins. *Mycotoxin Research*, 2(2), 89–97. <https://doi.org/10.1007/BF03191969>
- McGregor, D.B., Brown, A., Cattanach, P., Edwards, I., McBride, D., Riach, C., & Caspary, W.J. (1988). Responses of the L5178Y tk+/tk- mouse lymphoma cell forward mutation assay: III. 72 coded chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 12(1), 85–154. <https://doi.org/10.1002/em.2860120111>
- Mengs, U., Schuler, D., & Marshall, R.R. (2001). No induction of chromosomal aberrations in Chinese hamster ovary cells by chrysophanol. *Mutation Research*, 492(1–2), 69–72. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(01\)00150-4](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(01)00150-4)
- Migliore, L., & Nieri, M. (1991). Evaluation of twelve potential aneuploidogenic chemicals by the *in vitro* human lymphocyte micronucleus assay. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA*, 5(4), 325–336. [https://doi.org/10.1016/0887-2333\(91\)90009-3](https://doi.org/10.1016/0887-2333(91)90009-3)
- Mikami, Y., Fukushima, K., Arai, T., Abe, F., Shibuya, H., & Ommura, Y. (1984). Leucinostatins, peptide mycotoxins produced by *Paecilomyces lilacinus* and their possible roles in fungal infection. *Zentralblatt Fur Bakteriologie, Mikrobiologie, Und Hygiene. Series A, Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology*, 257(2), 275–283.
- Miranda, D.D.C., Arçari, D.P., Ladeira, M.S.P., Calori-Domingues, M.A., Romero, A. C., Salvadori, D. M. F., ... Ribeiro, M. L. (2007). Analysis of DNA damage induced by aflatoxin B1 in Dunkin-Hartley guinea pigs. *Mycopathologia*, 163(5), 275–280. <https://doi.org/10.1007/s11046-007-9014-y>
- Mirsalis, J.C., Tyson, C.K., & Butterworth, B.E. (1982). Detection of genotoxic carcinogens in the *in vivo-in vitro* hepatocyte DNA repair assay. *Environmental Mutagenesis*, 4(5), 553–562. <https://doi.org/10.1002/em.2860040506>
- Miyamae, Y., Iwasaki, K., Kinai, N., Tsuda, S., Murakami, M., Tanaka, M., & Sasaki, Y.F. (1997). Detection of DNA lesions induced by chemical mutagens using the single-cell gel electrophoresis (comet) assay. 2. Relationship between DNA migration and alkaline condition. *Mutation Research*, 393(1–2), 107–113. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(97\)00091-0](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(97)00091-0)
- Mok, Z.R., & Tey, H.L. (2018). Acquired idiopathic generalized anhidrosis: Successful treatment with cyclosporine in two cases. *Dermatologic Therapy*, 31(2), e12579. <https://doi.org/10.1111/dth.12579>
- Mori, H., Kawai, K., Ohbayashi, F., Kitamura, J., & Nozawa, Y. (1983). Genotoxicity of quinone pigments from pathogenic fungi. *Mutation Research*, 122(1), 29–34. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(83\)90138-0](https://doi.org/10.1016/0165-7992(83)90138-0)
- Mori, H., Kawai, K., Ohbayashi, F., Kuniyasu, T., Yamazaki, M., Hamasaki, T., & Williams, G.M. (1984). Genotoxicity of a variety of mycotoxins in the hepatocyte primary culture/DNA repair test using rat and mouse hepatocytes. *Cancer Research*, 44(7), 2918–2923.
- Mori, H., Sugie, S., Yoshimi, N., Kitamura, J., Niwa, M., Hamasaki, T., & Kawai, K. (1986). Genotoxic effects of a variety of sterigmatocystin-related compounds in the hepatocyte/DNA-repair test and the *Salmonella* microsome assay. *Mutation Research*, 173(3), 217–222. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(86\)90039-4](https://doi.org/10.1016/0165-7992(86)90039-4)
- Mori, H., Yoshimi, N., Iwata, H., Tanaka, T., Kawai, K., & Sankawa, U. (1988). Additional survey on genotoxicity of natural anthraquinones in the hepatocyte primary culture/DNA repair assay. *The Journal of Toxicological Sciences*, 13(3), 161–166. <https://doi.org/10.2131/jts.13.161>
- Mori, Hideki, Kitamura, J., Sugie, S., Kawai, K., & Hamasaki, T. (1985). Genotoxicity of fungal metabolites related to aflatoxin B1 biosynthesis. *Mutation Research Letters*, 143(3), 121–125. [https://doi.org/10.1016/S0165-7992\(85\)80021-X](https://doi.org/10.1016/S0165-7992(85)80021-X)
- Moulé, Y., Hermann, M., & Renault, G. (1981). Negative response of PR toxin in the *Salmonella typhimurium*/microsome test and sister-chromatid exchange assay. *Mutation Research*, 89(3), 203–207. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(81\)90238-x](https://doi.org/10.1016/0165-1218(81)90238-x)
- Muehlbauer, P.A., & Schuler, M.J. (2005). Detection of numerical chromosomal aberrations by flow cytometry: A novel process for identifying aneugenic agents. *Mutation Research*, 585(1), 156–169. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.05.002>
- Mueller, S.O., Schmitt, M., Dekant, W., Stopper, H., Schlatter, J., Schreier, P., & Lutz, W.K. (1999). Occurrence of emodin, chrysophanol and physcion in vegetables, herbs and liquors. Genotoxicity and anti-genotoxicity of the anthraquinones and of the whole plants. *Food and Chemical Toxicology*, 37(5), 481–491. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(99\)00027-7](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(99)00027-7)
- Munday, R., Pearson, A., & Ferguson, L.R. (1993). Mouse micronucleus assays of sporidesmin, the toxin associated with facial eczema in ruminants. *Mutation Research*, 302(1), 71–74. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(93\)90092-a](https://doi.org/10.1016/0165-7992(93)90092-a)
- Muneer, R.S. (1978). Effects of LSD on human chromosomes. *Mutation Research*, 51(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(78\)90128-8](https://doi.org/10.1016/0027-5107(78)90128-8)
- Muthulakshmi, S., Maharajan, K., Habibi, H.R., Kadirvelu, K., & Venkataramana, M. (2018). Zearalenone induced embryo and neurotoxicity in zebrafish model (*Danio rerio*): Role of oxidative stress revealed by a multi biomarker study. *Chemosphere*, 198, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.141>

- Müller, S.O., Eckert, I., Lutz, W.K., & Stopper, H. (1996). Genotoxicity of the laxative drug components emodin, aloe-emodin and danthron in mammalian cells: Topoisomerase II mediated? *Mutation Research*, 371(3–4), 165–173. [https://doi.org/10.1016/s0165-1218\(96\)90105-6](https://doi.org/10.1016/s0165-1218(96)90105-6)
- Müller, T. (1987). Carcinogenic and genotoxic effects of mycotoxins. *Die Nahrung*, 31(2), 117–125. <https://doi.org/10.1002/food.19870310205>
- Nesslany, F., Simar-Meintières, S., FICHEUX, H., & Marzin, D. (2009). Aloe-emodin-induced DNA fragmentation in the mouse in vivo comet assay. *Mutation Research*, 678(1), 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.06.004>
- Nestmann, E.R., Nasim, A., Haynes, R.H., & Kowbel, D.J. (1981). Genetic activity of actinomycin D in *Saccharomyces cerevisiae* but not in *Escherichia coli*. *Mutation Research*, 89(3), 229–236.
- Ni, C.H., Yu, C.S., Lu, H.F., Yang, J.S., Huang, H.Y., Chen, P.Y., ... Chung, J.G. (2014). Chrysophanol-induced cell death (necrosis) in human lung cancer A549 cells is mediated through increasing reactive oxygen species and decreasing the level of mitochondrial membrane potential. *Environmental Toxicology*, 29(7), 740–749. <https://doi.org/10.1002/tox.21801>
- Nielsen, J., Friedrich, U., Jacobsen, E., & Tsuboi, T. (1968). Lysergide and chromosome abnormalities. *British Medical Journal*, 2(5608), 801–803.
- Nieminen, S.M., Mäki-Paakkanen, J., Hirvonen, M.R., Roponen, M., & von Wright, A. (2002). Genotoxicity of gliotoxin, a secondary metabolite of *Aspergillus fumigatus*, in a battery of short-term test systems. *Mutation Research*, 520(1–2), 161–170. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00202-4](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00202-4)
- Nito, S., Ariyuki, F., & Okaniwa, A. (1988). Spontaneous expulsion of micronuclei by enucleation in the micronucleus assay. *Mutation Research*, 207(3–4), 185–192. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(88\)90085-1](https://doi.org/10.1016/0165-7992(88)90085-1)
- Noel, S., & Rath, S.K. (2006). Randomly amplified polymorphic DNA as a tool for genotoxicity: An assessment. *Toxicology and Industrial Health*, 22(6), 267–275. <https://doi.org/10.1191/0748233706th267oa>
- Nohynek, G.J., Kirkland, D., Marzin, D., Toutain, H., Leclerc-Ribaud, C., & Jinnai, H. (2004). An assessment of the genotoxicity and human health risk of topical use of kojic acid [5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-4H-pyran-4-one]. *Food and Chemical Toxicology*, 42(1), 93–105. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2003.08.008>
- Norberto, A.H., Saúl, F.M., Belén, B., García-Bores Ana, M., Ernesto, M., Guillermo, Á.A., & Elizabeth, H.E. (2017). Raw data of the effects of Chlorogenic acid in 3-Nitropropionic acid induced toxicity and genotoxicity. *Data in Brief*, 14, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2017.07.004>
- Norppa, H., & Falck, G.C.M. (2003). What do human micronuclei contain? *Mutagenesis*, 18(3), 221–233. <https://doi.org/10.1093/mutage/18.3.221>
- Norppa, H., Bonassi, S., Hansteen, I.L., Hagmar, L., Strömberg, U., Rössner, P., ... Fucic, A. (2006). Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk. *Mutation Research*, 600(1–2), 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.05.030>
- Norred, W.P., Plattner, R.D., Vesonder, R.F., Bacon, C.W., & Voss, K.A. (1992). Effects of selected secondary metabolites of *Fusarium moniliforme* on unscheduled synthesis of DNA by rat primary hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 30(3), 233–237. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(92\)90038-m](https://doi.org/10.1016/0278-6915(92)90038-m)
- Nusuetrong, P., Saito, M., Kikuchi, H., Oshima, Y., Moriya, T., & Nakahata, N. (2012). Apoptotic effects of satratoxin H is mediated through DNA double-stranded break in PC12 cells. *The Journal of Toxicological Sciences*, 37(4), 803–812. <https://doi.org/10.2131/jts.37.803>
- Obrecht-Pflumio, S., Chassat, T., Dirheimer, G., & Marzin, D. (1999). Genotoxicity of ochratoxin A by *Salmonella* mutagenicity test after bioactivation by mouse lymphatic microsomes. *Mutation Research*, 446(1), 95–102. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(99\)00152-7](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(99)00152-7)
- OECD. (1986). Guideline for Testing of Chemicals "Genetic Toxicology: In vitro Sister Chromatid Exchange Assay in Mammalian Cells" Test No: 479.
- OECD. (1997a). Guideline for Testing of Chemicals "In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test" Test No: 473.
- OECD. (1997b). Guideline for Testing of Chemicals "Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test" Test No: 475.
- OECD. (2013). Mammalian erythrocyte micronucleus test. In: [Guideline for the testing of chemicals](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-474-mammalian-erythrocyte-micronucleus-test_9789264264762-en). https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-474-mammalian-erythrocyte-micronucleus-test_9789264264762-en Accessed: 11 May 2018.
- Ogiwara, Y., Sugiura, M., Watanabe, K., Tawara, J., Endo, E., Maruyama, H., ... Kawasako, K. (2015). Evaluation of the repeated-dose liver, bone marrow and peripheral blood micronucleus and comet assays using kojic acid. *Mutation Research*, 780–781, 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2015.01.004>
- Olive, P.L., & Banáth, J.P. (1997). Multicell Spheroid Response to Drugs Predicted with the Comet Assay. *Cancer Research*, 57(24), 5528–5533.
- Oliveira, N.G., Castro, M., Rodrigues, A.S., Gil, O.M., Toscano-Rico, J.M., & Rueff, J. (2002). DNA-PK inhibitor wortmannin enhances DNA damage induced by bleomycin in V79 Chinese hamster cells. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 22(5), 343–351. <https://doi.org/10.1002/tcm.10029>
- Oliver, J., Meunier, J.R., Awogi, T., Elhajouji, A., Ouldeldhkim, M.C., Bichet, N., ... Lorge, E. (2006). SFTG international collaborative study on in vitro micronucleus test V. Using L5178Y cells. *Mutation Research*, 607(1), 125–152. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.04.004>
- Oshiro, Y., Piper, C.E., Balwierz, P.S., & Soelter, S.G. (1991). Chinese hamster ovary cell assays for mutation and chromosome damage: Data from non-carcinogens. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 11(3), 167–177. <https://doi.org/10.1002/jat.2550110304>
- Ostry, V. (2008). *Alternaria* mycotoxins: An overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal*, 1(2), 175–188. <https://doi.org/10.3920/WMJ2008.x013>
- Ouanes, Z., Abid, S., Aayed, I., Anane, R., Mobio, T., Creppy, E.E., & Bacha, H. (2003). Induction of micronuclei by Zearalenone in Vero monkey kidney cells and in bone marrow cells of mice: Protective effect of Vitamin E. *Mutation Research*, 538(1–2), 63–70. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(03\)00093-7](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(03)00093-7)
- Parkes, D.J., & Scott, D. (1982). A quantitative comparison of cytogenetic effects of anti-tumor agents. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 33(1–2), 27–34. <https://doi.org/10.1159/000131722>
- Perry, P., & Evans, H.J. (1975). Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature*, 258(5531), 121–125. <https://doi.org/10.1038/258121a0>
- Pfohl-Leschkowicz, A., Chekir-Ghedira, L., & Bacha, H. (1995). Genotoxicity of zearalenone, an estrogenic mycotoxin: DNA adduct formation in female mouse tissues. *Carcinogenesis*, 16(10), 2315–2320. <https://doi.org/10.1093/carcin/16.10.2315>
- Phillips, D.H., & Arlt, V.M. (2009). Genotoxicity: damage to DNA and its consequences. In: Luch A. (eds) *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. *Experientia Supplementum*, Birkhäuser, Basel, Switzerland, vol. 99, pp. 87–110. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8336-7_4
- Prata-Sena, M., Ramos, A.A., Buttachon, S., Castro-Carvalho, B., Marques, P., Dethoup, T., ... Rocha, E. (2016). Cytotoxic activity of secondary metabolites from marine-derived Fungus *Neosartorya siamensis* in human cancer cells. *Phytotherapy Research: PTR*, 30(11), 1862–1871. <https://doi.org/10.1002/ptr.5696>
- Pytkäinen, L., Jahnukainen, K., Parvinen, M., & Santti, R. (1991). Testicular toxicity and mutagenicity of steroidal and non-steroidal estrogens in the male mouse. *Mutation Research*, 261(3), 181–191. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(91\)90066-u](https://doi.org/10.1016/0165-1218(91)90066-u)
- Quillardet, P., Huisman, O., D'Ari, R., & Hofnung, M. (1982). SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(19), 5971–5975. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.19.5971>
- Ramesha, A., Venkataramana, M., Nirmaladevi, D., Gupta, V.K., Chandranayaka, S., & Srinivas, C. (2015). Cytotoxic effects of oosporein isolated from endophytic fungus *Cochliobolus kusanoi*. *Frontiers in Microbiology*, 6, 870. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00870>
- Reddy, C.S., Reddy, R.V., Chan, P.K., & Hayes, A.W. (1980). Mutagenicity of secalonic acid D in mice. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 4(5–6), 31–37.
- Rencuzogullari, E., & Aydın, M. (2018). Methodology of Genotoxic and Teratogenic Studies in Rats. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1797, 555–575. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7883-0_33
- Rezar, V., Frankič, T., Narat, M., Levart, A., & Salobir, J. (2007). Dose-Dependent Effects of T-2 Toxin on Performance, Lipid Peroxidation, and Genotoxicity in Broiler Chickens. *Poultry Science*, 86(6), 1155–1160. <https://doi.org/10.1093/ps/86.6.1155>
- Robbiano, L., Baroni, D., Carrozzino, R., Mereto, E., & Brambilla, G. (2004). DNA damage and micronuclei induced in rat and human kidney cells by six chemicals carcinogenic to the rat kidney. *Toxicology*, 204(2), 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.06.057>
- Rogers, C.G., & Héroux-Metcalf, C. (1983). Cytotoxicity and absence of mutagenic activity of vomitoxin (4-deoxynivalenol) in a hepatocyte-mediated mutation assay with V79 Chinese hamster lung cells. *Cancer Letters*, 20(1), 29–35. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(83\)90183-0](https://doi.org/10.1016/0304-3835(83)90183-0)
- Rosefort, C., Fauth, E., & Zankl, H. (2004). Micronuclei induced by aeneugens and clastogens in mononucleate and binucleate cells using the cytokinesis block assay. *Mutagenesis*, 19(4), 277–284. <https://doi.org/10.1093/mutage/gh028>

- Russo, A., La Fauci, L., Acquaviva, R., Campisi, A., Raciti, G., Scifo, C., ... Galvano, F. (2005). Ochratoxin A-induced DNA damage in human fibroblast: Protective effect of cyanidin 3-O-beta-d-glucoside. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(1), 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.05.005>
- Sabater-Villar, M., Nijmeijer, S., & Fink-Gremmels, J. (2003). Genotoxicity assessment of five tremorgenic mycotoxins (fumitremorgen B, paxilline, penitrem A, verruculogen, and verrucosidin) produced by molds isolated from fermented meats. *Journal of Food Protection*, 66(11), 2123–2129. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-66.11.2123>
- Sakai, M., Abe, K., Okumura, H., Kawamura, O., Sugiura, Y., Horie, Y., & Ueno, Y. (1992). Genotoxicity of fungi evaluated by SOS microplate assay. *Natural Toxins*, 1(1), 27–34. <https://doi.org/10.1002/nt.2620010107>
- Salamone, M., Heddle, J., Stuart, E., & Katz, M. (1980). Towards an improved micronucleus test: Studies on 3 model agents, mitomycin C, cyclophosphamide and dimethylbenzanthracene. *Mutation Research*, 74(5), 347–356. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(80\)90193-4](https://doi.org/10.1016/0165-1161(80)90193-4)
- Sandhu, S.S., & Acedo, G.N. (1988). Detection of chemically induced aneuploidy by the *Vicia faba* root tip assay. *Toxicology and Industrial Health*, 4(2), 257–267. <https://doi.org/10.1177/074823378800400207>
- Sasaki, Y.F., Nishidate, E., Izumiyama, F., Matsusaka, N., & Tsuda, S. (1997). Simple detection of the anabolic mutagens by the alkaline single-cell gel electrophoresis (Comet) assay in multiple mouse organs (liver, lung, spleen, kidney, and bone marrow). *Mutation Research*, 391(3), 215–231. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(97\)00073-9](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(97)00073-9)
- Savage, J.R. (1993). Update on target theory as applied to chromosomal aberrations. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 22(4), 198–207. <https://doi.org/10.1002/em.2850220404>
- Savva, D. (2000). The Use of Arbitrarily Primed PCR (AP-PCR) Fingerprinting to Detect Exposure to Genotoxic Chemicals. *Ecotoxicology*, 9(5), 341–353. <https://doi.org/10.1023/A:1026577326366>
- Saxena, N., Ansari, K.M., Kumar, R., Dhawan, A., Dwivedi, P.D., & Das, M. (2009). Patulin causes DNA damage leading to cell cycle arrest and apoptosis through modulation of Bax, p(53) and p(21/WAF1) proteins in skin of mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 234(2), 192–201. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2008.09.033>
- Schaeffer, B.K., Curphey, T.J., & Longnecker, D.S. (1987). Mutagenicity of L-azaserine for V79 cells in a pancreatic acinar cell-mediated mutagenesis assay. *Pancreas*, 2(5), 518–522. <https://doi.org/10.1097/00006676-198709000-00005>
- Schafhauser, T., Kirchner, N., Kulik, A., Huijbers, M.M.E., Flor, L., Caradec, T., ... van Pée, K.H. (2016). The cyclochlorotine mycotoxin is produced by the nonribosomal peptide synthetase CctN in *Talaromyces islandicus* (*Penicillium islandicum*). *Environmental Microbiology*, 18(11), 3728–3741. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13294>
- Scheutwinkel, M., v. d. Hude, W., & Basler, A. (1986). Studies on the genotoxicity of the anabolic drugs trenbolone and zeranol. *Archives of Toxicology*, 59(1), 4–6. <https://doi.org/10.1007/BF00263948>
- Schoch, U., Lüthy, J., & Schlatter, C. (1984). Mutagenicity testing of commercially used strains of *P. camemberti* and *P. roqueforti*. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 178(5), 351–355. <https://doi.org/10.1007/bf01042226>
- Schrader, T.J., Cherry, W., Soper, K., & Langlois, I. (2006). Further examination of the effects of nitrosylation on *Alternaria alternata* mycotoxin mutagenicity in vitro. *Mutation Research*, 606(1–2), 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.02.008>
- Schrader, T.J., Cherry, W., Soper, K., Langlois, I., & Vijay, H.M. (2001). Examination of *Alternaria alternata* mutagenicity and effects of nitrosylation using the Ames *Salmonella* test. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 21(4), 261–274. <https://doi.org/10.1002/tcm.1014>
- Schumacher, D.M., Metzler, M., & Lehmann, L. (2005). Mutagenicity of the mycotoxin patulin in cultured Chinese hamster V79 cells, and its modulation by intracellular glutathione. *Archives of Toxicology*, 79(2), 110–121. <https://doi.org/10.1007/s00204-004-0612-x>
- Schwarz, C., Tiessen, C., Kreutzer, M., Stark, T., Hofmann, T., & Marko, D. (2012). Characterization of a genotoxic impact compound in *Alternaria alternata* infested rice as Altertoxin II. *Archives of Toxicology*, 86(12), 1911–1925. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0958-4>
- Scott, P.M., & Stoltz, D.R. (1980). Mutagens produced by *Alternaria alternata*. *Mutation Research*, 78(1), 33–40. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(80\)90023-3](https://doi.org/10.1016/0165-1218(80)90023-3)
- Šegvić Klarić, M., Jakšić Despot, D., Kopjar, N., Rašić, D., Kocsubeć, S., Varga, J., & Peraica, M. (2015). Cytotoxic and genotoxic potencies of single and combined spore extracts of airborne OTA-producing and OTA-non-producing Aspergilli in Human lung A549 cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 120, 206–214. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.06.002>
- Shah, A.J., Prasanth Kumar, S., Rao, M.V., & Pandya, H.A. (2018). Ameliorative effects of curcumin towards cyclosporine-induced genotoxic potential: An *in vitro* and *in silico* study. *Drug and Chemical Toxicology*, 41(3), 259–269. <https://doi.org/10.1080/01480545.2017.1380660>
- Shepherd, J., Tsao, M.S., & Duguid, W.P. (1990). Genotoxicity of pancreatic chemical carcinogens to propagable cultured normal pancreatic epithelial cells. *Experimental and Molecular Pathology*, 53(3), 203–210. [https://doi.org/10.1016/0014-4800\(90\)90044-e](https://doi.org/10.1016/0014-4800(90)90044-e)
- Shibuya, T., Murota, T., Sakamoto, K., Iwahara, S., & Ikeno, M. (1982). Mutagenicity and dominant lethal test of kojic acid—Ames test, forward mutation test in cultured Chinese hamster cells and dominant lethal test in mice. *The Journal of Toxicological Sciences*, 7(4), 255–262. <https://doi.org/10.2131/jts.7.255>
- Shin, K.T., Guo, J., Niu, Y.J., & Cui, X.S. (2018). The toxic effect of aflatoxin B1 on early porcine embryonic development. *Theriogenology*, 118, 157–163. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.06.002>
- Simarro Doorten, Y., Nijmeijer, S., de Nijs-Tjon, L., & Fink-Gremmels, J. (2006). Metabolism-mediated cytotoxicity and genotoxicity in the single-cell gel electrophoresis (Comet) assay. *Food and Chemical Toxicology*, 44(2), 261–270. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2005.07.009>
- Singh, S., Banerjee, S., Chattopadhyay, P., Borthakur, S.K., & Veer, V. (2015). Deoxynivalenol induces cytotoxicity and genotoxicity in animal primary cell culture. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 25(3), 184–191. <https://doi.org/10.3109/15376516.2015.1006743>
- Sokolovic, M., Garaj-Vrhovac, V., Ramic, S., & Simpraga, B. (2007). Chicken nucleated blood cells as a cellular model for genotoxicity testing using the comet assay. *Food and Chemical Toxicology*, 45(11), 2165–2170. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.05.013>
- Solhaug, A., Vines, L.L., Ivanova, L., Spilsberg, B., Holme, J.A., Pestka, J., ... Eriksen, G.S. (2012). Mechanisms involved in alternariol-induced cell cycle arrest. *Mutation Research*, 738–739, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2012.09.001>
- Song, E., Xia, X., Su, C., Dong, W., Xian, Y., Wang, W., & Song, Y. (2014). Hepatotoxicity and genotoxicity of patulin in mice, and its modulation by green tea polyphenols administration. *Food and Chemical Toxicology*, 71, 122–127. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.06.009>
- Sonoda, E., Sasaki, M.S., Morrison, C., Yamaguchi-Iwai, Y., Takata, M., & Takeda, S. (1999). Sister chromatid exchanges are mediated by homologous recombination in vertebrate cells. *Molecular and Cellular Biology*, 19(7), 5166–5169.
- Sorenson, W.G., Tucker, J.D., & Simpson, J.P. (1984). Mutagenicity of tetramic mycotoxin cyclopiazonic acid. *Applied and Environmental Microbiology*, 47(6), 1355–1357.
- Šrám, R.J., Zudová, Z., & Goetz, P. (1974). The mutagenic effect of lysergic acid diethylamide II. Dominant lethal test in mice. *Mutation Research*, 26(6), 517–522. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(74\)80053-9](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(74)80053-9)
- Stanimirovic, Z., Stevanovic, J., Bajic, V., & Radovic, I. (2007). Evaluation of genotoxic effects of fumagillin by cytogenetic tests in vivo. *Mutation Research*, 628(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.09.014>
- Stark, A.A., Townsend, J.M., Wogan, G.N., Demain, A.L., Manmade, A., & Ghosh, A.C. (1978). Mutagenicity and antibacterial activity of mycotoxins produced by *Penicillium islandicum* Sopp and *Penicillium rugulosum*. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 2(2), 313–324.
- Stevanovic, J., Stanimirovic, Z., Radakovic, M., & Stojic, V. (2008). *In vitro* evaluation of the clastogenicity of fumagillin. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 49(8), 594–601. <https://doi.org/10.1002/em.20409>
- Surrallés, J., Xamena, N., Creus, A., & Marcos, R. (1995). The suitability of the micronucleus assay in human lymphocytes as a new biomarker of excision repair. *Mutation Research*, 342(1–2), 43–59. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(95\)90089-6](https://doi.org/10.1016/0165-1218(95)90089-6)
- Suzuki, H., Ikeda, N., Kobayashi, K., Terashima, Y., Shimada, Y., Suzuki, T., ... Hayashi, M. (2005). Evaluation of liver and peripheral blood micronucleus assays with 9 chemicals using young rats. *Mutation Research*, 583(2), 133–145. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.03.012>
- Swaileh, K.M., Hussein, R., & Ezzughayyir, A. (2008). Evaluating wastewater-induced plant genotoxicity using randomly amplified polymorphic DNA. *Environmental Toxicology*, 23(1), 117–122. <https://doi.org/10.1002/tox.20316>
- Takakura, N., Nesslany, F., Fessard, V., & Le Hégat, L. (2014). Absence of *in vitro* genotoxicity potential of the mycotoxin deoxynivalenol in bacteria and in human TK6 and HepaRG cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 66, 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.01.029>
- Tatay, E., Espín, S., García-Fernández, A.J., & Ruiz, M.J. (2017). Oxidative damage and disturbance of antioxidant capacity by zearalenone and its metabolites in human cells. *Toxicology in Vitro: An International Journal*

- Published in Association with BIBRA, 45(3), 334–339. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.04.026>
- Tatay, E., Font, G., & Ruiz, M.J. (2016). Cytotoxic effects of zearalenone and its metabolites and antioxidant cell defense in CHO-K1 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 96, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.07.027>
- Test No. 473: *In vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test. Retrieved December 6, 2019, from https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-473-in-vitro-mammalian-chromosome-aberration-test_9789264071261-en
- Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. Retrieved December 6, 2019, from https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-474-mammalian-erythrocyte-micronucleus-test_9789264264762-en
- Test No. 475: Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test. Retrieved December 6, 2019, from https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-475-mammalian-bone-marrow-chromosomal-aberration-test_9789264224407-en
- Test No. 479: Genetic Toxicology: *In vitro* Sister Chromatid Exchange Assay in Mammalian Cells. Retrieved December 6, 2019, from https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-479-genetic-toxicology-in-vitro-sister-chromatid-exchange-assay-in-mammalian-cells_9789264071384-en
- Theumer, M.G., Cánepa, M.C., López, A.G., Mary, V.S., Dambolena, J.S., & Rubinstein, H.R. (2010). Subchronic mycotoxicoses in Wistar rats: Assessment of the *in vivo* and *in vitro* genotoxicity induced by fumonisins and aflatoxin B(1), and oxidative stress biomarkers status. *Toxicology*, 268(1–2), 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.12.007>
- Thust, R., & Kneist, S. (1979). Activity of citrinin metabolized by rat and human microsome fractions in clastogenicity and SCE assays on Chinese hamster V79-E cells. *Mutation Research*, 67(4), 321–330. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(79\)90028-4](https://doi.org/10.1016/0165-1218(79)90028-4)
- Thust, R., Kneist, S., & Hühne, V. (1983). Genotoxicity of Fusarium mycotoxins (nivalenol, fusarenon-X, T-2 toxin, and zearalenone) in Chinese hamster V79-E cells *in vitro*. *Archiv Fur Geschwulstforschung*, 53(1), 9–15.
- Tiessen, C., Ellmer, D., Mikula, H., Pahlke, G., Warth, B., Gehrke, H., ... Marko, D. (2017). Impact of phase I metabolism on uptake, oxidative stress and genotoxicity of the emerging mycotoxin alternariol and its monomethyl ether in esophageal cells. *Archives of Toxicology*, 91(3), 1213–1226. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1801-0>
- Tiessen, C., Fehr, M., Schwarz, C., Baechler, S., Domnanich, K., Böttler, U., ... Marko, D. (2013). Modulation of the cellular redox status by the Alternaria toxins alternariol and alternariol monomethyl ether. *Toxicology Letters*, 216(1), 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.11.005>
- Tikkanen, L., Matsushima, T., & Natori, S. (1983). Mutagenicity of anthraquinones in the *Salmonella* preincubation test. *Mutation Research*, 116(3–4), 297–304. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(83\)90067-8](https://doi.org/10.1016/0165-1218(83)90067-8)
- Topaktas, M., & Rencüzoğulları, E. (2010). Sitogenetik (Cytogenetic). Ankara, Turkey. Nobel Press.
- Tsuda, S., Kosaka, Y., Murakami, M., Matsuo, H., Matsusaka, N., Taniguchi, K., & Sasaki, Y.F. (1998). Detection of nivalenol genotoxicity in cultured cells and multiple mouse organs by the alkaline single-cell gel electrophoresis assay. *Mutation Research*, 415(3), 191–200. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(98\)00068-0](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(98)00068-0)
- Tucker, J.D., Auletta, A., Cimino, M.C., Dearfield, K.L., Jacobson-Kram, D., Tice, R.R., & Carrano, A.V. (1993). Sister-chromatid exchange: Second report of the Gene-Tox Program. *Mutation Research*, 297(2), 101–180. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(93\)90001-4](https://doi.org/10.1016/0165-1110(93)90001-4)
- Tyson, C.K., & Mirsalis, J.C. (1985). Measurement of unscheduled DNA synthesis in rat kidney cells following *in vivo* treatment with genotoxic agents. *Environmental Mutagenesis*, 7(6), 889–899. <https://doi.org/10.1002/em.2860070610>
- Uhl, M., Helma, C., & Knasmüller, S. (2000). Evaluation of the single cell gel electrophoresis assay with human hepatoma (Hep G2) cells. *Mutation Research*, 468(2), 213–225. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(00\)00051-6](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(00)00051-6)
- Umeda, M., Tsutsui, T., & Saito, M. (1977). Mutagenicity and inducibility of DNA single-strand breaks and chromosome aberrations by various mycotoxins. *Gann Japanese Journal of Cancer Research*, 68(5), 619–625.
- Unlu, S., & Saglar, E. (2015). Evaluation of Cytogenetic and Genotoxic Effects of Oxalic Acid by the Alkaline Comet Assay and QRT PCR in Human Buccal Epithelial Cells. *Analytical and Quantitative Cytopathology and Histopathology*, 37(6), 347–352.
- Van den Heever, J.P., Thompson, T.S., Curtis, J.M., & Pernal, S.F. (2015). Stability of dicyclohexylamine and fumagillin in honey. *Food Chemistry*, 179, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.111>
- Van Went, G.F. (1978). Mutagenicity testing of 3 hallucinogens: LSD, psilocybin and delta 9-THC, using the micronucleus test. *Experientia*, 34(3), 324–325. <https://doi.org/10.1007/bf01923013>
- Venier, P., Montini, R., Zordan, M., Clonfero, E., Paleologo, M., & Levis, A.G. (1989). Induction of SOS response in *Escherichia coli* strain PQ37 by 16 chemical compounds and human urine extracts. *Mutagenesis*, 4(1), 51–57. <https://doi.org/10.1093/mutage/4.1.51>
- Wang, J.C., & Qian, B.L. (1997). Detection of DNA damage in peripheral lymphocytes by 7 compounds using comet assay. *Zhongguo Yao Li Xue Bao = Acta Pharmacologica Sinica*, 18(5), 451–454.
- Wangenheim, J., & Bolcsfoldi, G. (1988). Mouse lymphoma L5178Y thymidine kinase locus assay of 50 compounds. *Mutagenesis*, 3(3), 193–205. <https://doi.org/10.1093/mutage/3.3.193>
- Wehner, F.C., Marasas, W.F., & Thiel, P.G. (1978a). Lack of mutagenicity to *Salmonella typhimurium* of some Fusarium mycotoxins. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(4), 659–662.
- Wehner, F.C., Thiel, P.G., & Vlegaar, R. (1979). Mutagenicity of 5,6-dimethoxytergmatocystin, a metabolite from *Aspergillus multicolor*, in the *Salmonella*/microsome system. *Applied and Environmental Microbiology*, 38(5), 1015–1017.
- Wehner, F.C., Thiel, P.G., van Rensburg, S.J., & Demasius, I.P.C. (1978b). Mutagenicity to *Salmonella typhimurium* of some Aspergillus and Penicillium mycotoxins. *Mutation Research*, 58(2), 193–203. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(78\)90009-5](https://doi.org/10.1016/0165-1218(78)90009-5)
- Wei, C.I., Huang, T.S., Fernando, S.Y., & Chung, K.T. (1991). Mutagenicity studies of kojic acid. *Toxicology Letters*, 59(1–3), 213–220. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(91\)90074-g](https://doi.org/10.1016/0378-4274(91)90074-g)
- Williams, J.G., Deschl, U., & Williams, G.M. (2011). DNA damage in fetal liver cells of turkey and chicken eggs dosed with aflatoxin B1. *Archives of Toxicology*, 85(9), 1167–1172. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0653-x>
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., & Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22), 6531–6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>
- Wilson, W.R., Harris, N.M., & Ferguson, L.R. (1984). Comparison of the mutagenic and clastogenic activity of amacrine and other DNA-intercalating drugs in cultured V79 Chinese hamster cells. *Cancer Research*, 44(10), 4420–4431.
- Wong, J.J., Singh, R., & Hsieh, D.P. (1977). Mutagenicity of fungal metabolites related to aflatoxin biosynthesis. *Mutation Research*, 44(3), 447–450. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(77\)90102-6](https://doi.org/10.1016/0027-5107(77)90102-6)
- Würgler, F.E., Friederich, U., & Schlatter, J. (1991). Lack of mutagenicity of ochratoxin A and B, citrinin, patulin and cneatine in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutation Research*, 261(3), 209–216. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(91\)90069-X](https://doi.org/10.1016/0165-1218(91)90069-X)
- Xu, J., Whong, W.Z., & Ong, T. (1984). Validation of the *Salmonella* (SV50)/arabinose-resistant forward mutation assay system with 26 compounds. *Mutation Research*, 130(2), 79–86. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(84\)90107-9](https://doi.org/10.1016/0165-1161(84)90107-9)
- Yamamoto, K.N., Hirota, K., Kono, K., Takeda, S., Sakamuru, S., Xia, M., ... Tice, R.R. (2011). Characterization of environmental chemicals with potential for DNA damage using isogenic DNA repair-deficient chicken DT40 cell lines. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 52(7), 547–561. <https://doi.org/10.1002/em.20656>
- Yang, T.H., Wu, T.H., Chang, Y.L., Liao, H.T., Hsu, C.C., Tsai, C.Y., & Chou, Y.C. (2018). Cyclosporine for the treatment of lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus. *Clinical Nephrology*, 89(4), 277–285. <https://doi.org/10.5414/CN109325>
- Yang, W., Yu, M., Fu, J., Bao, W., Wang, D., Hao, L., ... Liu, L. (2014). Deoxynivalenol induced oxidative stress and genotoxicity in human peripheral blood lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 64, 383–396. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.012>
- Yen, G.C., Chang, Y.C., Sheu, F., & Chiang, H.C. (2001). Isolation and characterization of antioxidant compounds from *Aspergillus candidus* broth filtrate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1426–1431. <https://doi.org/10.1021/jf001109t>
- Yourtee, D.M., & Kirk-Yourtee, C.L. (1986). The mutagenicity of aflatoxin Q1 to *Salmonella typhimurium* TA 100 with or without rat or human liver microsomal preparations. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 54(1), 101–113.
- Yuzawa, K., Kondo, I., Fukao, K., Iwasaki, Y., & Hamaguchi, H. (1986). Mutagenicity of cyclosporine. Induction of sister chromatid exchange in human cells. *Transplantation*, 42(1), 61–63.
- Zain, M.E. (2011). Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(2), 129–144. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.06.006>

- Zeljezić, D., Domijan, A.M., & Peraica, M. (2006). DNA damage by ochratoxin A in rat kidney assessed by the alkaline comet assay. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39(12), 1563–1568. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2006001200006>
- Zhang, D., Cui, Y., Shen, H., Xing, L., Cui, J., Wang, J., & Zhang, X. (2013). Sterigmatocystin-induced DNA damage triggers G2 arrest via an ATM/p53-related pathway in human gastric epithelium GES-1 cells in vitro. *PloS One*, 8(5), e65044. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065044>
- Zhang, J., Zheng, N., Liu, J., Li, F.D., Li, S.L., & Wang, J.Q. (2015). Aflatoxin B1 and aflatoxin M1 induced cytotoxicity and DNA damage in differentiated and undifferentiated Caco-2 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 83, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.05.020>
- Zhang, X., Jiang, L., Geng, C., Cao, J., & Zhong, L. (2009). The role of oxidative stress in deoxynivalenol-induced DNA damage in HepG2 cells. *Toxicology*, 254(4), 513–518. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2009.05.021>
- Zhang, Y.F., Yang, J.Y., Li, Y.K., & Zhou, W. (2017). Toxicity and oxidative stress induced by T-2 toxin in cultured mouse Leydig cells. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27(2), 100–106. <https://doi.org/10.1080/15376516.2016.1258747>
- Zhang, Z., Fu, J., Yao, B., Zhang, X., Zhao, P., & Zhou, Z. (2011). *In vitro* genotoxicity of danthron and its potential mechanism. *Mutation Research*, 722(1), 39–43. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.02.006>
- Zhiyi, R., & Haowen, Y. (2004). A method for genotoxicity detection using random amplified polymorphism DNA with *Danio rerio*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58(1), 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.09.016>
- Zhou, S., Jiang, L., Geng, C., Cao, J., & Zhong, L. (2010). Patulin-induced oxidative DNA damage and p53 modulation in HepG2 cells. *Toxicology*, 255(2), 390–395. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2009.08.019>
- Zurlo, J., Roebuck, B.D., Rutkowski, J.V., Curphey, T.J., & Longnecker, D.S. (1984). Effect of pyridoxal deficiency on pancreatic DNA damage and nodule induction by azaserine. *Carcinogenesis*, 5(5), 555–558. <https://doi.org/10.1093/carcin/5.5.555>
- Zwanenburg, T.S., & Cordier, A. (1994). No cyclosporin-induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes *in vitro*. *Mutation Research*, 320(3), 217–221. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(94\)90048-5](https://doi.org/10.1016/0165-1218(94)90048-5)