



**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***ARUM RUPİCOLA* BOİSS. VAR. *RUPİCOLA*'NIN
ANTHELMİNTİK POTANSİYELİNİN İN VİTRO
BELİRLENMESİ**

**TUĞRUL ATALAY
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Kader YILDIZ**

KIRIKKALE-2023



**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***ARUM RUPİCOLA* BOİSS. VAR. *RUPİCOLA*'NIN
ANTHELMİNTİK POTANSİYELİNİN İN VİTRO
BELİRLENMESİ**

**TUĞRUL ATALAY
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Kader YILDIZ**

KIRIKKALE-2023

ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

(İmza)

Tuğrul ATALAY

05/01/2023

ÖZET

ARUM RUPICOLA BOİSS. VAR. RUPICOLA 'NİN ANTHELMİNTİK POTANSİYELİNİN İN VİTRO BELİRLENMESİ

Kırıkkale Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Parazitoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi
Danışman: Prof. Dr. Kader YILDIZ
Ocak 2023, 64 sayfa

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola* hem Türkiye’de hem de diğer ülkelerde halk arasında bilinen, iyileştirici etkisi olduğu düşünülen bitkilerden birisidir. Bu bitkinin antiparaziter etkisinin belirlenmesi amacıyla *Toxocara canis*’e ait yumurta ve larva dönemi in vitro araştırma modeli olarak seçilmiştir. Farklı dozda yaprak ekstraktları (10 mg/ml, 20 mg/ml ve 40 mg/ml) ile 6, 12 ve 24 saat süreyle inkübe edilen *T. canis* yumurtalarında larva gelişiminin olduğu tespit edilmiştir. Bitkinin rizom ekstraktının direkt uygulandığı, 1:2 ve 1:4 sulandırması ile inkübe edilen (6, 12 ve 24 saat) yumurtalarda larva gelişiminin olduğu tespit edilmiştir. Farklı konsantrasyondaki ekstraktlar arasında ve inkübasyon sürelerinde larva gelişimi bakımından farklılık bulunmamıştır.

10 mg/ml dozda yaprak ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan *T. canis* larvalarının tamamının hareketli olduğu, 12 saatlik inkübasyonda %9’unun, 24 saatlik inkübasyonda ise %15’inin hareketsiz olduğu tespit edilmiştir. 20 mg/ml dozda yaprak ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan larvaların %20’sinin, 12 saat inkübasyonda tutulan larvaların %22’sinin, 24 saat inkübasyon sonucunda ise %32’sinin hareketsiz olduğu görülmüştür. 40 mg/ml dozda yaprak ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan larvaların %30’unun, 12 saat inkübasyon sonucunda %37’sinin, 24 saat inkübasyon sonucunda ise %42’sinin hareketsiz olduğu tespit edilmiştir.

Direkt rizom ekstraktı eklenen ve altı saat inkübe edilen *T. canis* larvalarının %10’unun hareketsiz ve düz biçimde olduğu, 12 saat inkübe edilen larvaların %12’sinin, 24 saat inkübe edilen larvaların ise %17’sinin hareketsiz ve düz şekilde olduğu görülmüştür. Altı saatlik inkübasyon süresi sonunda 1:2 konsantrasyonda uygulanan larvaların %5’i, 12 saat süre sonunda %7’si, 24 saatlik inkübasyon sonunda %9’unun hareketsiz ve düz olduğu gözlenmiştir. Rizom ekstraktının 1:4 konsantrasyonda altı saat inkübe edildiği grupta larvaların %5’i, 12 saat inkübe edildiği grupta %13’ü, 24 saat inkübe edildiği grupta ise %11’inin hareketsiz ve düz olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*, *Toxocara canis*, yumurta, larva, in vitro, antiparazitik etki

ABSTRACT

IN VITRO DETERMINATION OF ANTHELMINTIC POTENTIAL OF *ARUM RUPICOLA* BOISS. VAR. *RUPICOLA*

Kırıkkale University
Health Sciences Institute
Department of Parasitology, PhD Thesis
Supervisor: Prof. Dr. Kader YILDIZ
January 2023, 64 pages

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola* is one of the plants thought to have a healing effect among people both in Turkey and in other countries. In the present study, the egg and larval stages of *Toxocara canis* were selected as an in vitro research model in order to determine the antiparasitic effect of the plant. Larvae development occurred in the eggs of *T. canis* after incubation with different doses of leaf extracts (10 mg/ml, 20 mg/ml and 40 mg/ml) for 6, 12 and 24 hours. The larval development was observed in the eggs (6, 12 and 24 hours) after incubation with the rhizome extracts which were applied directly, and 1:2 and 1:4 dilutions. There was no difference in larval development between the leaf and rhizome extracts at different concentrations and incubation times.

After incubating for six hours with leaf extract at a dose of 10 mg/ml, all of the *T. canis* larvae were motile, 9% of them were non-motile in 12 hours of incubation and 15% in 24 hours of incubation. After incubated for six hours with leaf extract at a dose of 20 mg/ml, 20% of the larvae were observed as non-motile, 22% of the larvae were non-motile after 12 hours of incubation, and 32% of them did not move after 24 hours incubation. After incubating for six hours with leaf extract at a dose of 40 mg/ml, 30% of the larvae were immobile, 37% of them after 12 hours of incubation, and 42% of them after 24 hours incubation.

After incubated for six hours with the rhizome extract which was directly added to the larvae, 10% of the *T. canis* larvae were immobile, 12% of the larvae did not move after incubated 12 hours, 17% of the larvae were immobile after incubated for 24 hours. At the end of the six-hour incubation period, 5% of the larvae were observed as immobile at 1:2 concentration, 7% of them at the end of 12 hours, and 9% of them at the end of the 24-hour incubation period. It was observed that 5% of the larvae were inactive after incubating with rhizome extract at 1:4 concentration for six hours, 13% of the larvae incubated for 12 hours, and 11% of them incubated for 24 hours.

Key Words: *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*, *Toxocara canis*, egg, larvae, in vitro, antiparasitic effect

TEŞEKKÜR

Bu doktora çalışmamın yeni fikirlere, yeni çalışmalara, ülkemize ve dünya literatürüne katkılar sağlamasını temenni ediyorum.

Doktora çalışmamın her aşamasında bilgisini, emeğini ve desteğini esirgemeyen ayrıca bana olan güvenini her zaman hissettiren değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Kader YILDIZ’a,

Bitkinin kimliklendirilmesi konusunda yardımını esirgemeyen Erciyes Üniversitesi Botanik Bahçesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü sayın Prof. Dr. Cem VURAL’a,

Laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarını esirgemeyen Veteriner Hekim Gözde Nur AKKUŞ ve Veteriner Hekim Sinem AKDENİZ’e,

Sitotoksiste ve Hemoliz Deneylerinin yapılmasında yardımcı olan “Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü” personeli Dr. Esra ARAT’a,

Bitki ekstraksiyonu aşamasında desteklerini esirgemeyen “Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü” personelleri Dr. Ogün BOZKAYA ve Dr. Yaşar ALUÇ’a,

Tez çalışmalarını maddi olarak destekleyen Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi’ne (Proje no: 2021/052),

Tez İzleme Komitesi üyeleri hocalarım Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ ve Doç.Dr. Sami GÖKPINAR’a,

Tez çalışmalarım süresince manevi desteklerini esirgemeyen aileme, eşim Yazgı Cihan ATALAY’a ve oğlum Baturalp ATALAY’a,

çok teşekkür eder, saygı ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	III
ABSTRACT	IV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i>	1
1.1.1. Sistematikteki Yeri	1
1.1.2. <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i> 'nın Uluslararası ve Yöresel İsimleri	2
1.1.3. <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i> 'nın Yaygınlığı	2
1.1.4. <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i> 'nın Morfolojik Özellikleri	4
1.1.5. Fitokimyasal Özellikleri	4
1.1.6. <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i> 'nın Halk Arasında Kullanımı	7
1.1.6.1. Türkiye'de <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i>	7
1.1.6.2. Diğer Ülkelerde <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i>	8
1.2. <i>Toxocara canis</i>	8
1.2.1. Morfoloji	8
1.2.1.1. Erişkin	8
1.2.1.2. Yumurta	9
1.2.1.3. Üçüncü Dönem Larva	10
1.2.2. Konakları	11
1.2.3. Gelişimi	11
1.2.3.1. Doğada Gelişim	11
1.2.3.2. Konakta Gelişim	12
1.2.4. Klinik Belirtiler	13
1.2.5. Teşhis	13
1.2.6. Tedavi	14
1.2.7. Bitki Ekstraktları ile İlgili Çalışmalar	14
2. MATERYAL VE YÖNTEM	18
2.1. Bitkinin Tür Teşhisi	18
2.2. <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i> Örneklerinin Toplanması	19
2.3. Bitki Örneği Toplama Döneminde Bölgedeki Meteorolojik Veriler	21
2.4. Ekstraksiyon İşlemi	21
2.4.1. Yaprakların Ekstraksiyonu	21
2.4.2. Rizom Kısımının Ekstraksiyonu	23
2.5. Rizom ve Yaprak Ekstraktlarının Sitotoksitesinin Belirlenmesi	23
2.6. Rizom ve Yaprak Ekstraktlarının Hemolitik Özelliklerinin Belirlenmesi	25
2.7. Rizom Ekstraktının Protein İçeriğinin Tayini	25
2.8. İn Vitro Anthelmintik Etkinliğin Belirlenmesi	27
2.8.1. Parazitlerin Toplanması	27
2.8.2. <i>T. canis</i> Yumurtalarının Elde Edilmesi	27

2.8.3. Bitki Ekstraktlarının <i>T. canis</i> Yumurtalarında Larva Gelişimine Etkisi	27
2.8.4. Bitki Ekstraktlarının <i>T. canis</i> Larvalarına Etkisi.....	29
2.8.4.1. <i>T. canis</i> Larvalarının Elde Edilmesi	29
2.8.4.2. Bitki Ekstraktlarının <i>T. canis</i> Larvalarının Canlılığına Etkisi	30
3. BULGULAR	32
3.1. Bitkinin Tür Teşhisi	32
3.2. Bitkinin Toplanması.....	33
3.3. Örnek Bölgesine Ait Meteorolojik Veriler	33
3.4. Sitotoksiste Deneyi Sonuçları.....	34
3.5. Hemoliz Testi Sonuçları.....	36
3.6. Rizom Ekstraktının Protein İçeriğinin Tayini.....	37
3.7. Bitki Ekstratlarının <i>T. canis</i> Yumurtalarında Larva Gelişimine Etkisi	37
3.7.1. Yaprak Ekstraktının Larva Gelişimine Etkisi	37
3.7.2. Rizom Ekstraktının Larva Gelişimine Etkisi	41
3.8. Bitki Ekstratlarının <i>T. canis</i> Larvalarının Canlılığına Etkisi.....	43
3.8.1. Yaprak Ekstraktının <i>T. canis</i> Larvalarının Canlılığına Etkisi.....	43
3.8.2. Rizom Ekstraktının <i>T. canis</i> Larvalarının Canlılığına Etkisi.....	45
4. TARTIŞMA.....	48
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Sayfa

1.1. <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i> 'nın görüldüğü bölge	3
1.2. <i>Arum rupicola</i> Boiss. var. <i>rupicola</i> bitkisinin Türkiye'deki coğrafi dağılımı.....	4
1.3. Erişkin dişi ve erkek <i>T. canis</i>	9
1.4. <i>Toxocara canis</i> yumurtası	10
1.5. Larva gelişmiş <i>T. canis</i> yumurtası.	10
1.6. Enfektif dönem <i>T. canis</i> larvası	11
1.7. <i>Toxocara canis</i> 'in yaşam çemberi.	13
2.1. Topraktan çıkarılmış bitki örneği.....	18
2.2. Bitki örneğinin herbaryum için hazırlık işlemleri.....	19
2.3. Bitki örneklerinin toplandığı konum	20
2.4. Çalılık arazide bitki örneklerinin toplanması	20
2.5. Bitki örneklerinin taşlar arasından toplanması.	21
2.6. Bitki örneklerinin tartım aşaması.....	22
2.7. Bitkinin yaprak kısmının ekstraksiyon aşamaları.....	22
2.8. Sıvı kısmı uzaklaştırılan yaprak ekstraktının tartım ve porsiyonlama işlemi.....	23
2.9. Rizom kısmının homejenizasyon aşamaları	23
2.10. Standartların ve rizom ekstraktlarının olduğu küvetler	26
2.11. <i>Toxocara canis</i> yumurtalarının elde edilmesi.....	27
2.12. İnkübatöre konulan deney grupları	29
2.13. Hücre kültürü plağına alınan deney grupları	29
3.1. Bitkinin mevsime göre doğadaki görünümü	32
3.2. Bitkinin kök kısımlarının domuzlar tarafından tüketildiğine dair bulgular.	33
3.3. Yaprak ekstraktı eklenen fibroblast kültürü	35
3.4. Pozitif kontrol eklenen fibroblast kültürü	36
3.5. Negatif kontrol.....	36
3.6. Yaprak ekstraktı (40 mg/ml) ile 6 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurtalar içinde larva gelişimi (x10).....	38
3.7. Pozitif kontrol grubunda yer alan yumurtaların 28.günde görünümü (x10)	38
3.8. Yaprak ekstraktı (10 mg/ml) ile 12 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x10).....	39
3.9. Yaprak ekstraktı (20 mg/ml) ile 12 saat inkübe grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x20).....	40
3.10. Yaprak ekstraktı (40 mg/ml) ile 12 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x10).....	40
3.11. Yaprak ekstraktı (40 mg/ml) ile 24 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x10).....	41
3.12. Rizom ekstraktının direkt uygulandığı ve 24 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x10)	42
3.13. Rizom ekstraktının direkt uygulandığı ve 24 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x40).	42
3.14. Negatif kontrol grubunda 28. günde larva gelişimi (x40).	43
3.15. Deneyde 10 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde sulandıran bitki ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan grupta izlenen hareketli larva (x10).	43

3.16. Deneyde 40 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde sulandıran bitki ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan larva (x10)	44
3.17. Deneyde 40 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde sulandıran bitki ekstraktı ile 24 saat inkübasyonda tutulan larva (x20)	44
3.18. Direkt uygulanan rizom ekstraktı ile 6 saat inkübasyonda tutulan larva (x20). 45	
3.19. Direkt uygulanan rizom ekstraktı ile 24 saat inkübasyon sonrasında hareketsiz izlenen larvalar (x10).	46
3.20. Direkt uygulanan rizom ekstraktı ile 24 saat inkübasyonda tutulan larva (x20).	46
3.21. Pozitif kontrol grubunda 24 saat inkübasyon sonucunda izlenen larva (x20) ...	47
3.22. Negatif kontrol grubunda 24 saat inkübasyon sonucunda izlenen <i>T. canis</i> larvası (x40).....	47



TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO

Sayfa

3.1. Gdl Yöresi’nde 2021-2022 yılları arasında görülen aylara göre toplam yağış oranı	34
3.2. Farklı dozda yaprak ekstraktı uygulanan L929 fibroblast hücrelerindeki canlılık değerleri.....	34
3.3. Farklı sulandırma dozunda rizom ekstraktının uygulandığı L929 fibroblast hücrelerinin canlılık değerleri	35
3.4. Rizom ekstraktında protein oranı.....	37



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ASTM	American Society for Testing and Materials
ATCC 6538	<i>Staphylococcus aureus</i>
ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i>
β	Beta
BSA	Bovine Serum Albumin
/	Bölu
:	Bölu
÷	Bölu
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
cm	Santimetre
CO₂	Karbondioksit
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DPPH	Diphenyl-1-picrylhydrazyl
DSM-347	<i>Bacillus subtilis</i>
FHL	Fitohemaglutinin lektin
FRAP	Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter
γ	Gama
g	Gram
HH	Hekzan-Hekzan
HPLC-TOF/MS	High Performance Liquid Chromatography Time of Flight Mass Spectrometry
ISO	International Organization for Standardization
kg	Kilogram
KSÜ	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
KUBTUAM	Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü
L1	Birinci dönem larva
L2	İkinci dönem larva
L3	Üçüncü dönem larva
m	Metre
MB	Metanol-Butanol
MC	Metanol-Kloroform
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
MDA-MB-231	İnsan meme kanseri hücre hattı
m²	Metrekare
MEVBİS	Meteorolojik Veri Bilgi Satış ve Sunum Sistemi
mg	Miligram
MH	Metanol-Hekzan
ml	Mililitre
mm	Milimetre
μ	Mikro
μg	Mikrogram
μm	Mikrometre

µl	Mikrolitre
nm	Nanometre
OD_{570b}	Optical density of the 100% extracts of the blank
OMGİ	Otomatik Meteorolojik Gözlem İstasyonları
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDR	Physician's Desk Reference
RNA	Ribonükleik asid
rpm	Revolution per minute (devir / dakika)
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
°C	Santigrad derece
SK-HEP-1	İnsan karaciğer adenokarsinom hücre hattı
spp.	Türler
TM	Ticari
T479	İnsan meme kanseri hücre hattı
vd.	Ve diğerleri
WCVM	Western College of Veterinary Medicine
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
x	Çarpı
xg	Rölatif yer çekimi kuvveti değeri
%	Yüzde
ZDEC	Zinc diethyl dithiocarbamate

1. GİRİŞ

Tropikal bölgelerde hayvancılıkta üretimi olumsuz etkileyen helmintlerle mücadelede kimyasal anthelmintiklerin kullanımı en etkili araç olarak görülmektedir. Uzun süreli anthelmintik kullanımının bazı olumsuzlukların gelişimine sebep olduğu iyi bilinmektedir. Bunlar arasında; uygun olmayan dozda ya da sürede kullanımı sonucunda parazitlerde ilaç direncinin gelişmesi, gıda olarak tüketilen hayvansal dokularda ilaç kalıntılarının insan sağlığını tehdit etmesi ve hayvan dışkıyla atılan ilaç metabolitlerinin doğada yaşayan canlılar üzerine olumsuz etkileri yer almaktadır. Ayrıca antiparaziter ilaçların parazitler üzerindeki etkinliğinin zamanla azalabileceğine dair bir takım öngörüler de mevcuttur (Hanser, Mehlhorn, Hoebe ve Vlaminck, 2002). Bu kısıtlayıcı faktörler sebebiyle son zamanlarda kimyasal bileşiklere alternatif arama çalışmaları hızlanmıştır. Bu alternatiflerden birisi bitki ekstraktlarıdır (Hammond, Fielding ve Bishop, 1997).

Bitkilerin hastalıklarla mücadelede kullanımı neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir. İnsanoğlunun doğadaki bitkilerden faydalanarak hastalıklara çözüm araması sonucunda bazı geleneksel tedavi yöntemleri ortaya çıkmıştır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından geleneksel tıp tanımı “hem bedensel hem de fiziksel ve ruhsal hastalıkların engellenmesi, teşhis ve tedavisinde farklı insan topluluklarında geçmişten bugüne gelen deneyime dayanan bilgi ve uygulamalar” şeklinde yapılmıştır (WHO, 2002). Geleneksel olarak uygulanan tedaviler “halk hekimliği” olarak da adlandırılmaktadır. Dünya üzerinde pekçok ülkede hem geleneksel ve modern tıpta çok sayıda bitki türü kullanılmaktadır (Schippmann, Leaman ve Cunnigham, 2006).

1.1. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*

1.1.1. Sistematikteki Yeri

Alem: Plantae

Sınıf: Magnollophyta

Familya: Araceae

Cins: *Arum*

Tür: *Arum rupicola* Boiss. (Alpınar, 2012)

Araceae (Yılanyastığıgiller) familyasında 105 cins içinde toplam 3300 tür yer almaktadır (Balos, Akan, Durmaz ve İlgez, 2021).

1.1.2. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'nın Uluslararası ve Yöresel İsimleri

Çiçekli bitkilerden olan *Arum* cinsinde yer alan bitkiler Afrika'nın kuzeyi, Akdeniz Havzası, Asya'nın batı kısmı ve Avrupa'da görülmektedir (Tofighi vd., 2021). *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'ya dünya üzerinde geniş bir coğrafyada rastlanmaktadır. Bu sebeple bitki pekçok sinonim isme sahiptir. *Arum cilicicum* Kotschy ex Engl., *Arum conophalloides* Kotschy ex Schott, *Arum detruncatum* C.A.Mey. ex Schott, *Arum detruncatum* var. *caudatum* (Engl.), *Arum ehrenbergii* Schott, *Arum engleri* Hausskn., *Arum giganteum* Ghahr., *Arum guellekense* Kotschy ex Engl., *Arum kotschyi*, *Arum rupicola* var. *detruncatum*, *Arum conophalloides* var. *caudatum*, *Arum detruncatum* var. *conophalloides*, *Arum elongatum* subsp. *detruncatum*, *Arum elongatum* subsp. *engleri*, *Arum guellekense*, *Arum hygrophilum* var. *rupicola* (Boiss.) Boiss., *Arum rupicola* var. *conophalloides* (Kotschy ex Schott) Engl. bu isimlerden bir kısmıdır. Bitki ayrıca kaynaklarda khari, kari, navic ve *Arum Lily* olarak da isimlendirilmektedir (Altundağ ve Öztürk, 2011; Alpınar, 2012; Çalışkan vd., 2017; Demir, 2020; Alaca vd., 2021; Plants of the world online, 2021).

Türkiye'de pekçok coğrafi bölgede doğal olarak bulunan *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* yöresel olarak değişik isimlerle anılmaktadır. Bitkiye bazı yörelerde "dağsorsalı" adı verilmektedir (Behçet ve Yapar, 2020). Tokat ve Samsun yöresinde gavur pancarı, yılan pancarı, yılanyastığı, domuz marulu, nevik ya da nivik olarak bilinmektedir. Doğu Anadolu Bölgesi'nde bu bitkiye kari, Tekirdağ'da ise sarmalık veya yaldıran adı verilmektedir (Üçer, 2010). Bunun dışında kardeh, domuz otu, kahri, yılan boncuğu, ilhan bıçağı, ilhan burçağı, yılan bıçağı, yılan burçağı, yılan ekmeği ve yılanyastığı bitkiye verilen diğer yöresel isimlerdir (Tuzlacı ve Erol, 1999; Kaval, 2011; Mosaddegh vd., 2012; Doğan, 2014; Özdemir ve Alpınar, 2015; Erbay ve Sarı, 2018).

1.1.3. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'nın Yaygınlığı

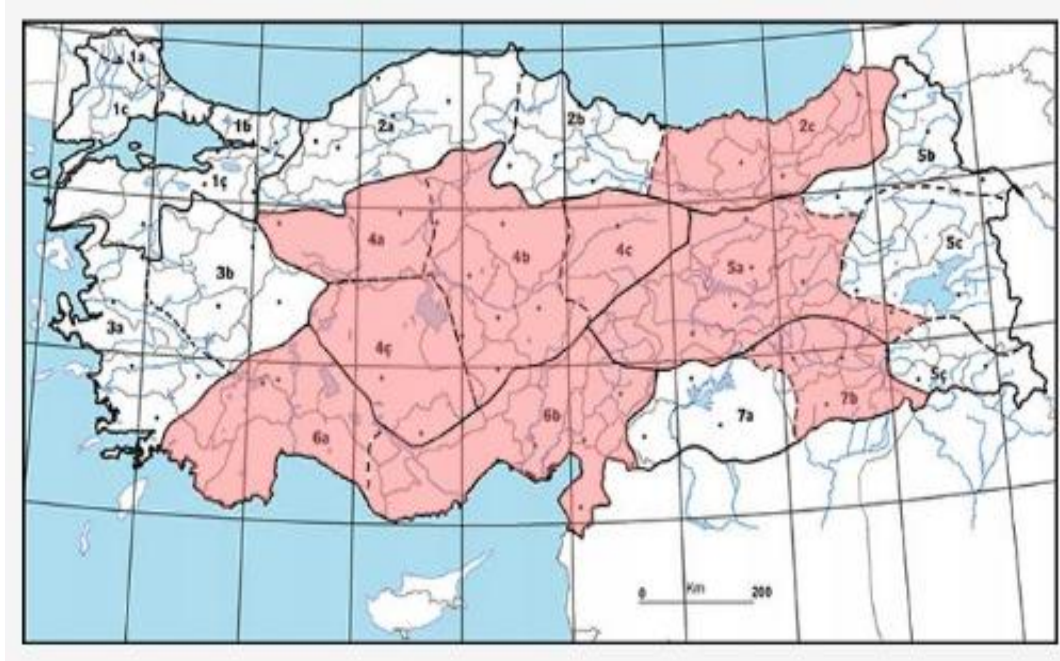
Türkiye'de 3035'i endemik, 12000 civarında bitki türü bulunmaktadır (Ugulu vd., 2008; Güner vd., 2012). Türkiye'de *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'nın da içinde

olduğu 18 takson, 14 tür ve 4 varyete olduğu belirlenmiştir (Kunter vd., 2019; Kıvanç, 2022). Bitkiye yaklaşık 700-1500 m rakımlı yerlerde yıkılmış kayalık alanlar ve taşlık yamaçlarda rastlanır (Çeçen, Akan ve Balos, 2020). *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*, Anadolu, Kıbrıs, Gürcistan, Azerbeycan. Ermenistan, İran, Irak, Suriye, Ürdün, Lübnan ve İsrail'i kapsayan coğrafyada doğal olarak bulunmaktadır (Şekil 1.1.) (Plants of the world online, 2021).



Şekil 1.1. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* 'nın görüldüğü bölge (Plants of the world online, 2021).

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola*, Türkiye'de İç Anadolu Bölgesi, Akdeniz Bölgesi, Doğu Karadeniz Bölgesi, Doğu Anadolu Bölgesinin Yukarı Fırat Bölümü ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinin Dicle Bölümü'nde bulunmuştur (Şekil 1.2.) (Alpınar, 2012; Çeçen vd., 2020; Kılıç vd., 2020; Kocabaş, 2020).



Şekil 1.2. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* bitkisinin Türkiye'deki coğrafi dağılımı.

(4a) Yukarı Sakarya Bölümü, (4b) Orta Kızılırmak Bölümü, (4c) Yukarı Kızılırmak Bölümü, (4d) Konya Bölümü, (2c) Doğu Karadeniz Bölümü, (5a) Yukarı Fırat Bölümü, (7b) Dicle Bölümü, (6a) Antalya Bölümü, (6b) Adana Bölümü (Alpınar, 2012).

1.1.4. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'nın Morfolojik Özellikleri

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola* mor renkte çiçeğe sahip olup bitkinin çiçeklenme dönemi mart-nisan aylarıdır. Bitkinin toprak altındaki rizomları yaklaşık 3-9 cm çapındadır. Yaklaşık 10-42 cm boyunda ve 3-6 mm civarında kalınlığa sahip yaprak sapı olmakla birlikte dikdörtgen şeklinde, 6-32 cm boyunda ve yaklaşık 3,5-22 cm genişliğinde yaprak ayası mevcuttur. Yaprak ucu yuvarlağımsı veya sivri, meyve koçanı 3-6 cm uzunluğunda dikdörtgen silindirik, olgunlaştığı zaman 1,5-2,5 cm genişliğinde; meyve taneleri ilk olarak açık yeşil olgunlaşınca ise turuncu-kırmızı renkte küre biçiminde, 5-11x2-5 mm ebatındadır (Çeçen vd., 2020).

1.1.5. Fitokimyasal Özellikleri

Arum türleri oldukça toksik özellikte bazı kimyasalları taşır. Bunlar arasında en önemlisi iğne şeklindeki kristal yapıda olan aronindir (Kocabaş, 2020). Bu kimyasallar deri, ağız, dil ve boğazda tahrişe sebep olur (Töngel ve Ayan, 2005; Kocabaş, 2020; Qasem, 2020). *Arum* türlerinin rizom kısmı nişastadan zengindir. Bazı türleri okzalot, glikozitik saponinler (aronin), lignan ve neo-lignan içerir (Töngel ve Ayan, 2005).

Arum türlerinin taze yaprak ve rizomları zamk, müsilaaj ve bazı alkaloidler (saponin, konisin) içermektedir. Bu yaprak ve rizomları kurutulduğunda içerdiği saponin ve alkaloid oranı önemsenmeyecek derecede azalmaktadır. Bitkinin taze yapraklarının ve rizomunun çiğ tüketilmesinin hayvan ve insan için zararlı olduğu ifade edilmektedir. Bitkinin yapraklarını hayvanların yemediği bilinmektedir. Ancak yapraklar kurutulduktan ve pişirildikten sonra, rizomların ise suda kaynatıldıktan sonra zehirli etkisi kaybolur (Üçer, 2010).

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola*'nın sap ve yaprak kısımlarında; *n*-Heptanal, 2-pentyl furan, nonanal, 3, 5-dimethyl, 1, 2, 4-trithiolane, safranal, β -cyclocitral, cuminaldehyde, β -damascenone, Geranyl acetone, β -Ionone, Citral, *n*-hexadecane, *T*-cadinol, *T*-muurolol, Fitone, Neophytadiene, Methyl palmitoleate ve Methyl palmitate belirlenmiştir (Haghighi, 2016).

Farklı *Arum* türlerinde çeşitli flavonoidler ve fenolik bileşiklerin olduğu bildirilmiştir (Cole vd., 2015; Afifi vd., 2017). *Arum rupicola*'nın orobol, genistein ve genistein 8-C-glucoside adlı üç izoflavonoid bileşiği sebebiyle güçlü antioksidan etkisinin olduğu ifade edilmiştir (Tofighi vd., 2021). İzoflavonlar, kumestanlar, stilbenler ve lignanlar fitoöstrojenlerin önemli alt sınıflarıdır. İzoflavonlar memelilerde östrojen benzeri özellik gösterir (Mackova, Koblovská ve Lapčík, 2006). İzoflavonların kalbi koruyucu, osteoporozu önleme ve antioksidan etkileri bilinmektedir. *Arum rupicola*'da izoflavonların varlığı belirlenmiş ve bu bitkinin iyi bir fitoöstrojen ve antioksidan kaynağı olduğu ileri sürülmüştür (Tofighi vd., 2021).

Pekçok flavonoid ve fenol bileşiği içerdiği bilinen *Arum rupicola* Boiss. yapraklarının metanol ekstraktı ile *n*-hekzan, kloroform, etil asetat fraksiyonlarının antioksidan etkisi FRAP ve DPPH metotları ile, MCF-7, MDA-MB-231, ve T47D meme kanseri hücre hatlarına sitotoksik etkisi MTT testi ile araştırılmıştır. Metanol ekstraktının en güçlü antioksidan özeliğe, hekzan fraksiyonunun ise MCF-7 hücre hattı üzerinde en yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Fitokimyasal analiz sonucunda orobol, genistein and genistein 8-C-glucoside adlı üç isoflavonoid içerdiği belirtilmiştir (Tofighi vd., 2021).

Flavonoidler önemli fenolik gruplardan olup bitkide büyüme hormonları ve enerji dönüşümünde, solunum ve fotosentez işlemlerinde rol oynar (Işık, 2005). İzoflavonlar yaşlanmış ve hasara uğramış olan hücrelere etkili olduğu, ateroskleroz

ve kanseri önlemek ya da tedavi etmek amacıyla kullanıldığı bildirilmiştir (Dündar, 2001; Ignat vd., 2011). Flavonoid içeren bazı bitkisel nitelikteki ilaçlar Çin başta olmak üzere pekçok ülkede kullanılmaktadır (Ren, Qiao, Wang, Zhu ve Zhang, 2003).

Arum rupicola Bois. var. *rupicola*'nın hekzan, etil asetat, %70 metanol ve distile su ekstraktının SK-HEP-1 adenokarsinom hücre hattına sitotoksik etkinliği MTT testi ile araştırılmış, distile su ekstraktının bu hücre hattına maksimum etki gösterdiği bildirilmiştir (Kunter vd., 2019).

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola*'nın hekzan-hekzan (HH), hekzan-kloroform (HC), metanol-hekzan (MH), metanol-kloroform (MC) ve metanol-butanol (MB) ekstraksiyonlarının 1 mg/ml dozda Gram negatif *Escherichia coli* (ATCC 8739), Gram pozitif *Bacillus subtilis* (DSM-347) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) üzerine antibakteriyel etkinliği disk difüzyon testi ve mikrodilüsyon assay kullanılarak araştırılmış, farklı ekstraktların bakterilerin canlılığı üzerine değişik oranlarda etki gösterdiği belirlenmiştir. Bitkide 11 tipte fenolik bileşik HPLC-TOF/MS analizi ile tespit edilmiş, bunlar arasında en yüksek oranda fumarik asit bulunmuş, bunu scutellarin ve diosminin izlediği bildirilmiştir (Kıvanç, 2022).

Arum rupicola'nın gövde ve yaprak kısımlarından distile su ile hazırlanan ekstraktlarının deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda oksidatif stres üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; 100-400 mg/kg dozda uygulanan bitki ekstraktının doza bağlı antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiş, bu duruma muhtemelen bitki içinde bulunan alkaloidler, tanenler ve flavonoidler, glikozit bileşenlerinin sebep olduğu ileri sürülmüştür (Özok ve Güneş, 2019).

Arum türü bitkilerin tedavi edici özellikte ya da gıda olarak kullanımı dışında Balos vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada bitkiye ait rizom ve yaprakları kullanılarak sütü mayalandırma kapasitesi araştırılmıştır. Süt genelde enzimatik yolla pıhtılaştırılmaktadır. Bazı bitkilerin sütü pıhtılaşma özelliği bilinmekte ve bazı yörelerde bitkiler ile bu işlem yapılmaktadır. Bitkilerin kimozine benzer etki gösteren enzimleri serbest bırakarak peynire dönüşümü sağladığı ifade edilmektedir. *Arum* rizom ve yaprakları ile mayalanan süttten yoğurt benzeri tatlı süt pıhtısı elde edilmiş ve bu pıhtının çocuklar tarafından beğenildiği kaydedilmiştir (Balos vd., 2021).

Arum maculatum'un rizomunda lektin adı verilen bir protein mevcuttur (Van Damme vd., 1995). Lektinlerin antihelmintik özellikte olduğu bilinmektedir (Soares, Wanderley ve Costa, 2019). Lektinler karbonhidratlar ile bağlanabilmekte, eritrositlerle reaksiyona girdiklerinde çökmelerine neden olmaktadır (aglutinasyon) (Lis ve Sharon, 1998).

1.1.6. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'nın Halk Arasında Kullanımı

1.1.6.1. Türkiye'de *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*

Türk Geleneksel Tıbbında bitkisel ilaç olarak *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'nın da dahil olduğu 11 *Arum*, *Biarum* ve bir *Dracunculus* taksonu kullanılmaktadır (Bozyel vd., 2020).

Yaprak ve rizomlarının zehirli etkisinden dolayı *Arum* türleri rizomlar kaynatıldıktan, yaprak kısmı ise kurutulduktan veya kaynatıldıktan sonra kullanılır. Halk arasında her derde deva olduğuna inanılmaktadır (Üçer, 2010). Bazı bölgelerde kaynatma suyunun bağırsak parazitlerini düşürmek için içildiği bilinmektedir. Kurutulmuş yapraklar haşlandıktan sonra yenilmektedir (Kunter vd., 2019). Gıda zehirlenmelerine karşı bitkinin rizomundan hazırlanan dekoksasyon kusturucu olarak kullanılmaktadır. Başta mantar hastalığı olmak üzere cilt hastalıklarının tedavisinde taze yaprak ve rizomdan hazırlanan dekoksasyonun haricen kullanıldığı ifade edilmektedir (Doğan, 2014). Ağrı giderici ve bronşitis tedavisi amacıyla bitkiye ait yapraklar çay şeklinde tüketilmektedir (Özüdoğru, Akaydın, Erik ve Yeşilada, 2011). Bitki ayrıca idrar taşlarının tedavisi için de kullanılmaktadır (Altundağ ve Öztürk, 2011). Bitkinin yaprakları kaynatıldıktan sonra suyu kalp hastaları tarafından içilmektedir (Nadiroğlu, 2017). *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'nın yaprakları pişirilerek tüketildiğinde çocuklarda tenya düşürdüğüne dair bilgiler mevcuttur (Demir, 2020). *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*, Gündül İlçesi'nde geleneksel olarak kabızlık problemlerine karşı sürgüt amaçlı kullanılmaktadır. Bitkinin halk arasında şeker hastalığı ve kolesterole de iyi geldiği söylenmektedir.

Bitkinin yaprakları karın ağrısı, hipertansiyon, diyabet, guatr, romatizma, antiürolitik, bademcik iltihabı, boğaz ağrısı, mide ağrısı ve ishal tedavisinde, rizomları ülser, bronşitis, hemoroid, siğil tedavisinde, romatizma tedavisinde kullanım alanı bulmuştur (Tuzlacı ve Eryaşar Aymaz, 2001; Dalar, 2018; Güneş vd., 2018; Bozyel vd., 2020).

Doğu Anadolu’da Solhan Bölgesi’nde ve Malatya’da *A. rupicola* Boiss. karın ağrısı, arteriyel hipertansiyon, diabetes mellitus, guatr ve romatizmaya karşı kompres olarak ya da “sabah boş mideye bitki çayı olarak içme” şeklinde uygulanmaktadır (Yeşil ve Akalın, 2009; Polat vd., 2013; Tetik vd., 2013). Geleneksel tıpta bitkinin meyvelerinin öksürük tedavisinde kullanıldığına ilişkin bazı bilgiler mevcuttur (Bozyel vd., 2020).

1.1.6.2. Diğer Ülkelerde *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*

Bitki, İran’da da yerel halk tarafından bilinmekte ve kullanılmaktadır. İran’ın güneyinde *Arum rupicola* Boiss. kullanılarak yapılan "kardeh soup" diye adlandırılan çorba tüketilmektedir (Tofighi vd., 2021). Bitkinin yaprak kısmı mide ve bağırsak kuvvetlendirici, hayvanlarda ise meme yangısı için ağızdan ya da lokal uygulanmaktadır (Mosaddegh vd., 2012).

Filistin geleneksel tıbbında kanser, öksürük, solucan, kabızlık, hemoroid ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde *Arum* cinsi bitki yaprakları kullanılmaktadır (Kimmerling ve Migdal, 2003; Agoston ve Masters, 2009; Al-Ramahi vd., 2014).

Arum türlerinin halk arasında kullanımına dair Ürdün’den de bazı kayıtlar mevcuttur (Qasem, 2020). Bu bitkiler solunum sistemi hastalıklarında, soğuk algınlığında, romatizmada, tümörlerde ve insekt uzaklaştırıcı olarak kullanılmaktadır. Meyveleri siğil tedavisinde, rizomu sindirime yardımcı, yaprak kısmı ise ekspektoran olarak kullanılmaktadır (Qasem, 2020).

1.2. *Toxocara canis*

1.2.1. Morfoloji

1.2.1.1. Erişkin

Yuvarlak gövdeye sahip olan *T.canis*’in erişkinleri beyaz-krem rengindedir (Pinelli vd., 2008; Kocademir ve Yıldız, 2022). Dişiler 18 cm civarında iken, erkekler 10 cm’ye yakın uzunluktadır (Şekil 1.3) (Taylor, Coop ve Wall, 2007; CDC, 2022). Parazitin ön kısmı ventrale doğru kıvrılmıştır. Ön uçta servikal kanatlara sahiptir, bu kütikuler oluşumlar posteriora doğru daralarak parazitin anterior kısmının “lanset” biçiminde görünmesini sağlamaktadır (Güralp 1981; Öge, 2018).

Dişi parazitte vulva vücudun ön 1/3 lük kısmında bulunur. Erkek parazitin arka ucunda parmak şeklinde uzantı mevcuttur (Güralp 1981; Öge, 2018).

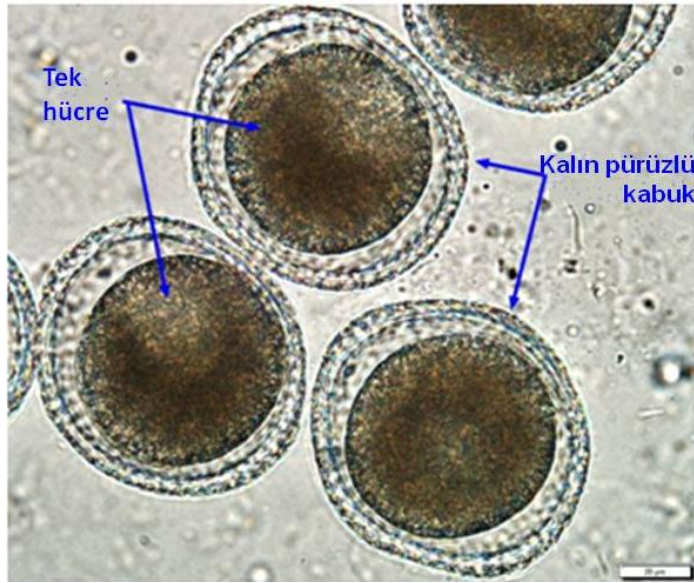


Şekil 1.3. Erişkin dişi ve erkek *T. canis* (CDC, 2022).

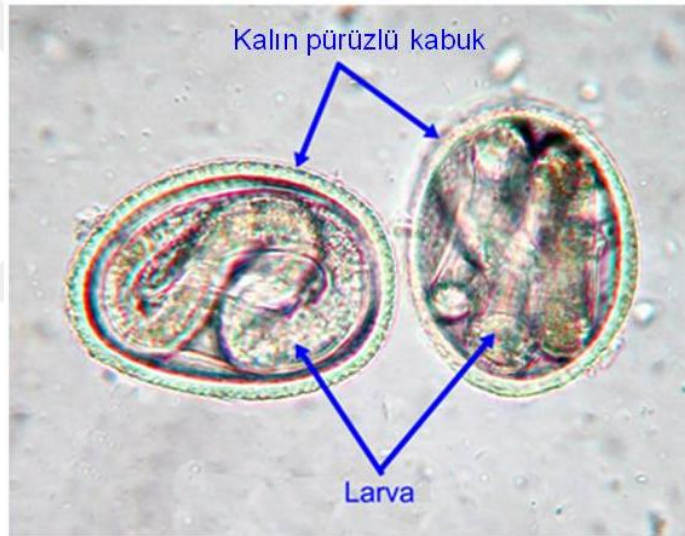
1.2.1.2. Yumurta

Toxocara canis yumurtaları koyu kahverenkli, yaklaşık olarak 85 µm büyüklüğündedir (Taylor vd., 2007; Magaña-López vd., 2016). Konağın dışkısıyla atıldığında içinde henüz larva gelişmemiştir (Şekil 1.4). Doğada uygun koşullarda yumurta içinde enfektif dönem larva gelişir (Şekil 1.5) (Güralp, 1981; Öge, 2018; Western College of Veterinary Medicine, 2021).

Yumurta güçlü bir kabuk yapısına sahiptir, bu yapı aracılığıyla çevresel koşullara ve kimyasallara karşı dayanıklıdır. Yumurta kabuğu beş tabakadan oluşmuştur: en içte ortalama 0,6 µm çapta 4-5 fibröz tabakanın üst üste binmesiyle oluşturulan lamellar tabaka, bunu saran yaklaşık 0,35 µm çapında granüler tabaka, üçüncü sırada 6,3 µm çapında kalın ve homojen bir kitin tabaka, bunu kuşatan vitellin tabaka, en dışta ise ince bir uterin membran bulunmaktadır (Bouchet, Boullard, Baccam ve Leger, 1986).



Şekil 1.4. *Toxocara canis* yumurtası (Western College of Veterinary Medicine, 2021).



Şekil 1.5. Larva gelişmiş *T. canis* yumurtası (Western College of Veterinary Medicine, 2021).

1.2.1.3. Üçüncü Dönem Larva

Toxocara canis yumurtası içindeki gelişen ve enfektif dönem olarak kabul edilen larva formu önceki çalışmalarda ikinci dönem larva olarak kabul edilmiş olsa da günümüzde bu formun üçüncü dönem larva (L3) olduğu ifade edilmektedir (Schnieder, Laabs ve Welz, 2011). Parazitin biyolojisinde paratenik konak olarak görev alan canlıların çeşitli dokularında da bulunan larva formu yumurtadan çıktıktan sonra esansiyel tuz, aminoasitler, vitaminler, D-glukoz ve glutatyondan zengin RPMI-1640 gibi kültür sıvılarında neredeyse bir yıl gibi bir süre yaşamaya devam eder. Larva yumurtanın içinde uzun süre yaşadığından ve hareketli olduğundan ilk gömleğin larva yumurtadan çıkmadan önce parçalandığı

düşünülmektedir. *Toxocara canis*'in yumurtasından çıkan larvanın uzunluğu yaklaşık 410 μm 'dir (Şekil 1.6). Larvanın özeğagusu vücut uzunluğunun yaklaşık üçte biri kadardır. Ağz kapsülü fincan şeklindedir. Bağırsak kısmı hücrelidir ve lümen bulunmaz (Bowman, 2020).



Şekil 1.6. Enfektif dönem *T. canis* larvası (Bowman, 2020).

1.2.2. Konakları

Toxocara canis köpek, kurt ve tilki gibi karnivorların parazitidir (Güralp, 1981). Erişkin parazitler bu karnivorların ince bağırsağında yaşar (Öge, 2018). Parazitin biyolojisinde bazı canlılar paratenik konak olarak yer alır (fare, koyun, domuz ve bazı kanatlı hayvanlar ile toprak solucanı). İnsan da bu parazitin biyolojisinde paratenik konak olarak bulunur (Saari, Nareaho ve Nikander, 2018). Parazitin enfektif dönem larvaları bu konakların çeşitli paranzimatöz dokularında ve kaslarında bulunur (Öge, 2018; Bowman, 2020).

1.2.3. Gelişimi

1.2.3.1. Doğada Gelişim

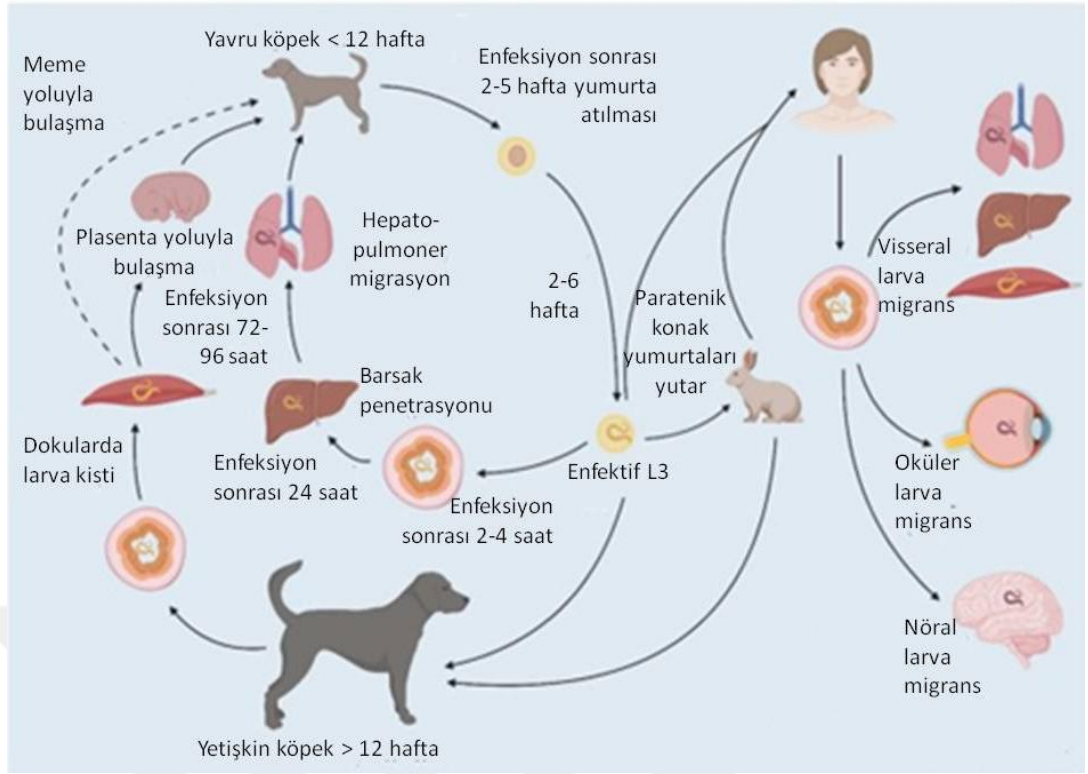
Konağın bağırsağında dişi parazit tarafından üretilen yumurtalar dışkıyla doğaya atılır. Yumurtada larva gelişimi için ortam sıcaklığının 10°C'den yüksek olması gerekir. Yumurta içindeki gelişim 15-25°C'de yaklaşık dört-altı hafta sürer ve enfektif dönem olarak da adlandırılan üçüncü dönem larva gelişir. Bu gelişme dönemindeki larva uygun doğa koşullarında yaklaşık 6-12 ay civarında yumurta içinde canlılığını koruyabilir (Epe, 2009; Pozio, 2015).

Toxocara canis yumurtasının in vitro gelişimi 12 farklı dönemde gerçekleşmektedir. Bu safhalar: tek hücreli, iki hücreli, üç hücreli, dört hücreli blastomer, erken morula safhası, geç morula safhası, blastula, gastrula, pre-larva, L1, L2 and L3 dönemleridir. İn vitro ortamda uygun koşullarda 24 saat içinde iki blastomerli form yumurta içinde gelişir, 2-6 günde larva gelişimi gastrula safhasına ulaşır. Yaklaşık yedi günde toplam yumurta popülasyonunun %22,5'inde L1 gelişir (Zhang, Zhang, Gu, Yang ve Yue, 2019).

1.2.3.2. Konakta Gelişim

Köpekler farklı yollarla enfekte olabilir. Enfektif dönem larva gelişmiş *T. canis* yumurtalarının ya da paratenik konakların çeşitli dokularında bulunan enfektif dönem larvaların ağızdan alınması, anneden gebelik esnasında fötüse transplental yolla geçiş ve doğumdan sonra anneden galaktojen yolla yavrulara geçişi ile enfeksiyon şekillenebilmektedir (Shields, 1984; Kocademir ve Yıldız 2022).

Konakta yumurtayı terk eden enfektif dönem larva bağırsak mukozasına girer ve lenf kanalları ile mezenterik lenf düğümlerine ulaşır. Bu düğümlerde venöz kapillar damar sistemine girer ve enfeksiyonun ilk 24 saatinde konağın karaciğerine gelir. Larva göçü esnasında kalp ve akciğere ulaşır (Schnieder vd., 2011; Öge, 2018). Enfeksiyondan bir-iki hafta sonra sindirim kanalına gelen larva son gömlek değişimini gerçekleştirerek erişkin hale geçer, prepatent sürenin 4-5 hafta olduğu bilinmektedir. Erişkin parazitin konakta yaşam süresi ortalama dört ay civarındır (Şekil 1.7) (Schnieder vd., 2011; Öge, 2018; Kocademir ve Yıldız, 2022; Wu ve Bowman, 2022).



Şekil 1.7. *Toxocara canis*'in yaşam çemberi (Wu ve Bowman, 2022).

1.2.4. Klinik Belirtiler

Toxocara canis ile enfekte köpekler genelde asemptomatiktir. Ancak zaman zaman klinik olarak bazı belirtiler izlenebilir. Özellikle vücuttaki karaciğer-akciğer göçü esnasında bu parazite ait larvalar konak dokularında hasar oluşturur. Akciğerdeki larva öksürük ve dispne, bağırsağa ulaştığında ise enteritis şekillendirebilir (Kocademir ve Yıldız, 2022).

Köpeklerde erişkin parazitler fazla sayıda olduğunda bağırsakta tıkanmaya neden olur. Yoğun enfekte yavru köpeklerde parazite bağlı olarak karın bölgesinin davul gibi genişlediği dikkati çeker. Yavru köpeklerde ayrıca zayıflama, büyümenin durması ve raşitizm gibi bazı bozukluklar da oluşabilir (Toparlak ve Tüzer, 2000; Schnieder vd., 2011; Öge, 2018).

1.2.5. Teşhis

Prepatent dönemde zayıflama, karın şişkinliği gibi belirtilerin yanı sıra ishal ya da kusma sonrası vücut dışına atılan parazitlerin görülmesi tanı açısından yol göstericidir (Öge, 2018). Şüphelenilen durumlarda dışkı muayenesi yapılır, bu amaçla flotasyon yönteminin kullanılması tercih edilir. Dışkı bakışı ile *T. canis* yumurtalarının teşhisi bağırsakta erişkin parazitin geliştiği dönemde yapılır. Ayrıca

köpek dışkısında parazit antijenini saptamaya yönelik bazı testler geliştirilmiştir (Kocademir ve Yıldız, 2022).

Ölen hayvanlara yapılan nekropside bağırsakta görülen erişkin parazitler tipik görünüşleri ile kolayca teşhis edilir. Dokularda göç halinde olan larvalar ise histopatolojik olarak izlenir (Saari vd., 2018; Toparlak ve Tüzer, 2000).

1.2.6. Tedavi

Günümüzde köpeklerde *T. canis* enfeksiyonunun tedavisi amacıyla geliştirilen çok sayıda ilaç bulunmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi (CDC) “*Askaridlerin yaygın olduğu bölgelerde yaşayan yavru köpek ve annelerin yaşlarına uygun ilaçlarla tedavi edilmesi*”ni tavsiye etmektedir. Bunun için genel uygulama: yavru köpekler 15 günlük olduğunda iki hafta ara ile üç kez tedavi ve yavru köpek altı aylık olana dek her ay bir kez tedaviye devam edilmesi şeklindedir (Bowman, 2014; Öge, 2018; Saari vd., 2018).

İki haftalık köpek yavrusunda bu parazitin tedavisi için ruhsatlandırılmış anthelmintik pirantel pamoat’dır. Pirantel köpek ve kediler için pamoat (US Pharmacopeia) ya da embonat (European Pharmacopoeia) tuzu olarak formüle edilmiştir. Her ikisinde de %34,7 pirantel bazı bulunmaktadır (Marchiondo, 2016). Piperazin bileşiklerinin altı haftalıktan küçük köpeklerde kullanımı tavsiye edilmemektedir. Febantel, prazikuantel ve pirantel pamoat içeren bileşikler üç haftadan büyük ve bir kg’dan ağır yavrular, milbemis oksim içerenler ise dört haftadan büyük ve bir kg’dan ağır yavrular için ruhsatlandırılmıştır (Bowman, 2014).

Altı haftadan büyük yavrular fenbendazol veya pirantel pamoat ile tedavi edilebilir. Yedi haftadan büyük yavrular; moksidektin ve imidakloprid ile topikal yolla tedavi edilebilir (Bowman, 2014).

1.2.7. Bitki Ekstraktları ile İlgili Çalışmalar

Toxocara spp.’ye karşı kullanılan *Chenopodium* bitkisi ile *Artemisia cina* ve diğer *Artemisia* türleri İngiliz Veteriner Kodeksinde (1953, 1965) listelenmiş olan bitkilerdendir (Hammond vd., 1997).

Nijerya’da *Euphorbia hirta* Linn adlı bitkinin distile su ile elde edilmiş ve ml’de 500 mg bitki ekstraktı bulunan sıvı intramuskuler ve oral yolla (dozu belirtilmemiş) üç gün süreyle *T. canis* ile doğal enfekte köpeklere uygulanmış, bu

uygulama iki hafta ara ile iki kez tekrarlanmıştır. Oral uygulanan grupta dışkı muayenesinde yumurta görülmezken, intramuskuler uygulamada dışkıyla çıkan yumurta sayısında azalma bildirilmiştir (Adedapo, Shabi ve Adedokun, 2005).

Nijerya’da *Vernonia amygdalina* bitkisinin yapraklarından sıcak su kullanılarak elde edilen ve ml’de 500 mg bitki ekstraktı bulunduğu ifade edilen sıvı ekstrakt oral yolla *T. canis* ile doğal enfekte köpeklerle uygulanmış ve iki hafta sonra dışkıyla çıkan yumurta sayısında azalma olduğu kaydedilmiştir (Adedapo, Otesile ve Soetan, 2007).

Sri Lanka’da geleneksel tıpta ve veteriner alanda kullanılan *Vernonia cinerea* bitkisinden alınan 120 g, 1920 ml suda kaynatılarak hazırlanan dekoksasyon 1:30 oranında PBS ile sulandırılmıştır. İn vitro ortamda 30-40 gün tutulan *T. canis* yumurtlarından elde edilen larvalar üzerine 800 µl dekoksasyon eklenerek 18 saat tutulmuş, larvalardaki hareketlilik ve canlılık ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda bitki ekstraktının larva canlılığı üzerine etkisinin %89,4 olduğu belirtilmiştir (Ediriweera, Rajapakse ve Ratnasooriya, 2020).

Mısır’da *Citrus aurantifolia* (Mısır limonu) çekirdeklerinin etanol ekstraktları (0,1 mg/ml) tek başına veya mebendazol ile birlikte oral yolla *T. canis* ile doğal enfekte köpeklerle bir gün ara ile iki hafta süreyle verilmiş, haftalık olarak dışkı ile çıkan yumurta sayıları incelenmiştir. Çalışma sonunda tek başına *C. aurantifolia* çekirdek ekstraktı uygulanan köpeklerde dışkıyla çıkan *T. canis* yumurtasındaki azalma %91,08, mebendazol ile birlikte uygulanan köpeklerde ise azalmanın %98,2 olduğu rapor edilmiştir (Hassanain, Shaapan ve Abou-El-Dobal, 2015).

Mısır’da *Zingiber officinale*’den hazırlanan etanol ekstraktı (25, 50 ve 100 mg/ml dozda) 6, 12, 24 saat süreyle in vitro ortamda *T. canis* yumurtaları ile inkübe edilmiş, 24 saat süreyle 100 mg/ml ekstrakt ile inkübe edilen yumurtalarda ovisidal aktivite %98,2, 50 mg/ml ve 25 mg/ml dozda ise bu etki %82,5 ve %59,22 olmuştur. Larva gelişmiş yumurtalar 24 saat süreyle 25, 50 ve 100 mg/ml dozda ekstrakt ile inkübe edildikten sonra fareler enfekte edilmiş, enfeksiyon sonrası 14. günde nekropsi yapılarak fare karaciğerlerindeki larvalar araştırılmıştır. Bu deney aşamasında fare karaciğerlerinde bulunan larva sayısı 100 mg/ml, 50 mg/ml ve 25 mg/ml ekstrakt uygulanan gruplarda sırasıyla %89,5, %62,8 ve %35,9 oranında azalmıştır (El-Sayed, 2017).

Kenya’da *Allium sativum* ve *Allium cepa*’nın baş kısmından, *Jatropha curcas*’ın ise yapraklarından hazırlanan su ve etanol ekstraktlarının ayrı ayrı *T. canis* yumurtaları üzerinde etkinliğinin denendiği in vitro çalışmada, *A. cepa*’nın etanol ekstraktı 10.000 ve 1.250 µg/ml dozda larva gelişimini %100 engellemiş, bu etki *A. sativum*’a ait etanol ekstraktında gözlenmemiştir. *Allium sativum* ve *J. curcas*’ın sulu ekstraktının yumurtalar üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (Orengo, Maitho, Mbaria, Maingi ve Kitaa, 2016).

Mısır’da *Cassia nodosa*’dan elde edilen etanol ekstraktının *T. canis* ile deneysel enfekte farelerde oral yolla denendiği bir deneyde ise, faredeki larva miktarını azaltması açısından *Cassia nodosa* ekstraktının albendazole göre daha iyi etkiler gösterdiği, yine albendazole ile miks kullanıldığında oldukça başarılı sonuçlar gösterdiği bildirilmiştir (El-Nahas vd., 2020).

Euterpe edulis Martius, *Mikania glomerata* Spreng ve *Mikania laevigata* Schultz Bip.’nin adlı bitkilerin etanol ekstraktlarının *T. canis* yumurtaları üzerinde in vitro olarak denendiği bir çalışmada her üç ekstraktın da ovisidal ve larvisidal etkilerinin olduğu ancak bu ekstraktlar arasında etki bakımından önemli derecede farklılıklar olmadığı bildirilmiştir (Zamprogno vd., 2015).

Aştı ve Öge (2022), çörekotu yağı ile albendazol etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında kombine uygulamanın yapıldığı grupta tedavi etkinliğini %72,46 bulurken sadece çörekotu yağı uygulanan grupta etkinlik %36,25 olarak tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında; gerek Türkiye’de gerekse diğer ülkelerde *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* halk arasında bilinen, iyileştirici etkisi olduğu düşünülen ve “her derde deva” olarak kabul edilen bitkilerden birisidir. Bitki kaynatıldıktan sonra suyu bağırsak parazitlerini düşürmek için içilmektedir. Yaprakları pişirildikten sonra yenilmesi çocuklarda şerit düşürülmesine etkili olduğuna inanılmaktadır. Doğada bu bitkinin domuzlar tarafından da tüketildiğine dair kişisel bazı gözlemlerimiz bulunmaktadır. Bu sebeple *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*’nın antiparaziter etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için *T. canis*’e ait yumurta ve larva dönemi in vitro araştırma modeli olarak seçilmiştir. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*’nın etanol ekstraktının *T. canis* yumurtalarında larva gelişimine etkisi ve

yumurtadan çıkan üçüncü dönem larvaların canlılığına etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



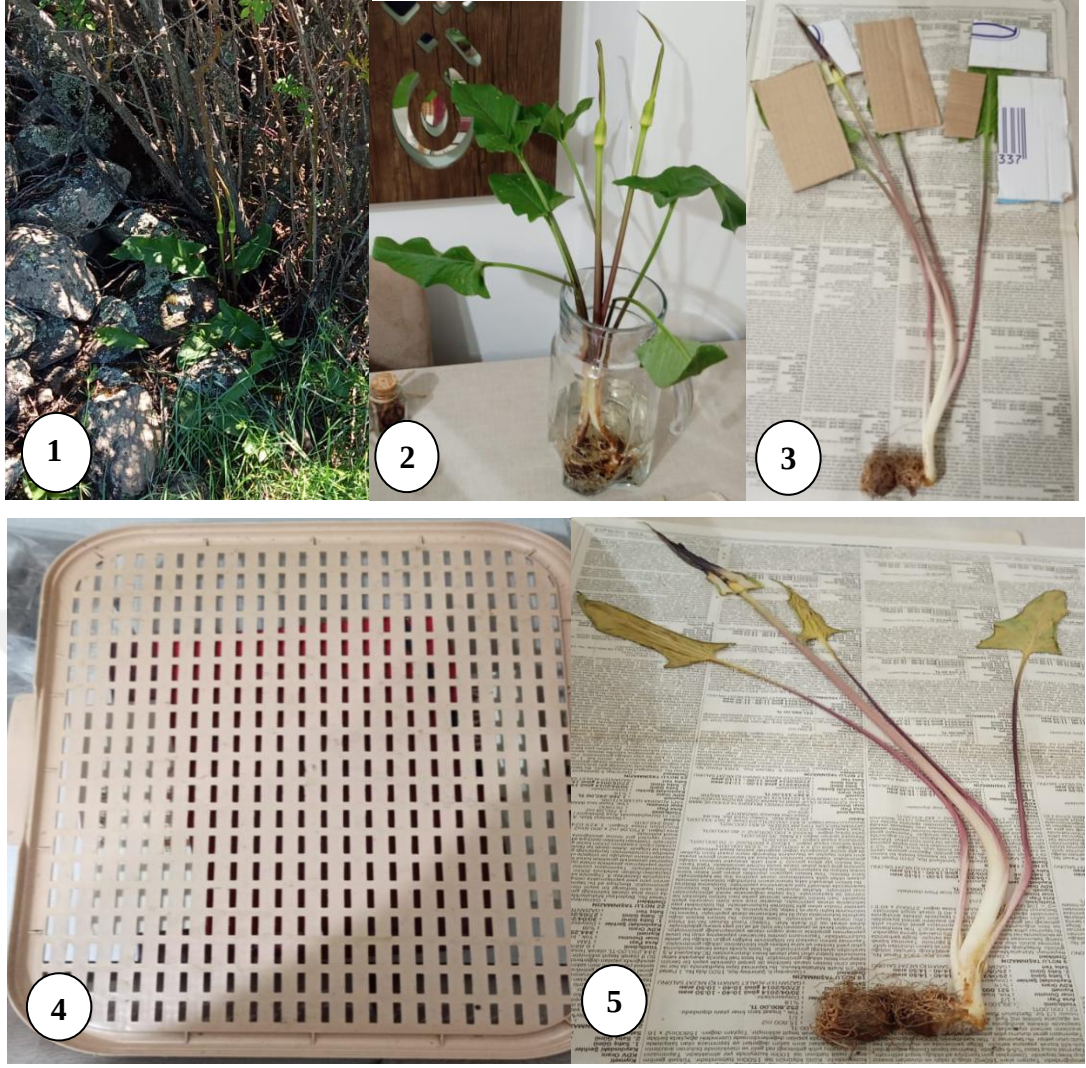
2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitkinin Tür Teşhisi

Güdül İlçesi’nde doğal olarak yetişen, yörede halk arasında “mancar” olarak bilinen ve geleneksel olarak tüketilen bitkinin teşhisi için bitki örneği topraktan çıkarılmış (Şekil 2.1), bitki gazete kağıdı arasına düzgün bir şekilde yerleştirilmiş, yaprakların formunu kaybetmemesi için ağırlık yerleştirilmiştir (Şekil 2.2). Bu örnek Erciyes Üniversitesi Uluslararası Botanik Bahçesi Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde yer alan Herbaryum’a gönderilmiştir.



Şekil 2.1. Topraktan çıkarılmış bitki örneği.



Şekil 2.2. Örnek bitkinin herbaryum için hazırlanması işlemleri (1-5).

2.2. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* Örneklerinin Toplanması

Bu tez çalışması kapsamında *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* örneklerinin toplanması için Tarım ve Orman Bakanlığı Milli Parklar Genel Müdürlüğü'ne başvurulmuş ve kurumdan E-21264211-288.04-4138321 sayılı resmi izin alındıktan sonra örnekler toplanmıştır. Bitki Ankara İli Güdül İlçesi Akbaş Mahallesi Karaçakıl Mevki'nde (konum: 40, 2360380, 32, 2874410) (Şekil 2.3) Mayıs ayında çalılık-ekseriyetle taşlık alandan yaprak ve kökleri ile birlikte toplanmıştır (Şekil 2.4 ve Şekil 2.5). Bitkiyi toplama işlemi için materyal olarak naylon poşet, iş eldiveni, kazma ve düz tornavida kullanılmıştır.



Şekil 2.3. Bitki örneklerinin toplandığı konum.



Şekil 2.4. Çalılık arazide bitki örneklerinin toplanması.



Şekil 2.5. Bitki örneklerinin taşlar arasından toplanması.

2.3. Bitki Örneği Toplama Döneminde Bölgedeki Meteorolojik Veriler

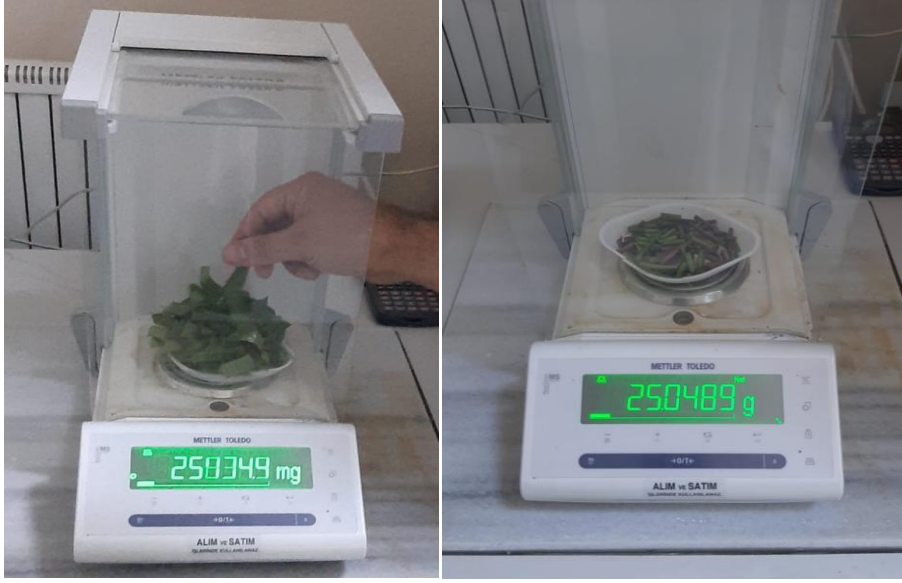
Bitki örneği toplama döneminde Gündül Yöresi'ne ait meteorolojik veriler Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nün on-line olarak sunmuş olduğu Meteorolojik Veri Bilgi Satış ve Sunum Sistemi (MEVBİS)'nden hizmet satın almak yoluyla elde edilmiştir (<https://mevbis.mgm.gov.tr/mevbis/ui/index.html#/Workspace>).

2.4. Ekstraksiyon İşlemi

Toplanan bitki örneklerinin rizom ve yapraklarının ekstraksiyonu ayrı ayrı yapılmıştır.

2.4.1. Yaprakların Ekstraksiyonu

Bitkinin yaprak kısımlarının ekstraksiyonu için Farahmandfar, Kenari, Asnaashari, Shahrampour ve Bakhshandeh (2019)'in bildirdiği protokol modifiye edilerek uygulanmıştır. Bitkinin yaprak ve sap kısımları eşit miktarda olacak şekilde makas ile kesilmiş ve hassas terazide (Mettler Toledo MS) tartılmıştır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Bitki örneklerinin tartım aşaması.

Yaprak örnekleri cam balon içerisine yerleştirilmiş, üzerine etil alkol-distile su karışımı (50:50) eklenmiştir. Balon, evaporator cihazına takılarak ekstraksiyon işlemi başlatılmıştır. Ekstraksiyon işlemi 50 °C’de, 150-200 milibar basınçta bir saat süreyle yapılmıştır (Şekil 2.7). Takibinde ekstrakt süzülerek yaprak ve sap kısımları uzaklaştırılmıştır. Süzüntü evaporatöre alınmış ve 60 °C’lik sıcaklıkta içindeki alkol kısmı uzaklaştırılmıştır. Ekstraktın su kısmını uzaklaştırmak için ise vakumlu evaporatör kullanılmıştır.



Şekil 2.7. Bitkinin yaprak kısmının ekstraksiyon aşamaları.

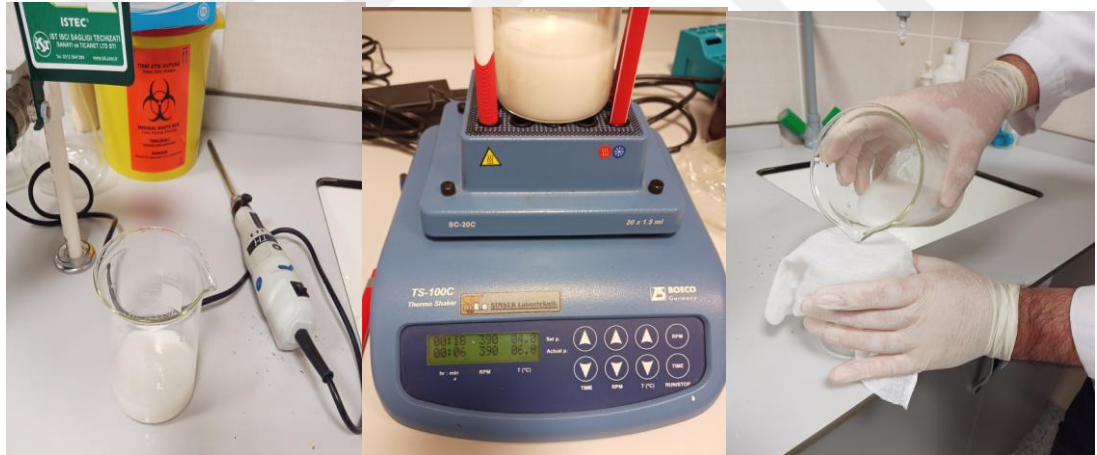
Sıvı kısmı tamamen uzaklaştırılan ekstrakt steril ependorf tüplerine alınarak tartılmış ve kullanılabilecek -80 °C’de saklanmıştır (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Sıvı kısmı uzaklaştırılan yaprak ekstraktının tartım ve porsiyonlama işlemi.

2.4.2. Rizom Kısımının Ekstraksiyonu

Bitki örneklerinin rizom kısmı yıkanarak üzerine yapışmış toprak uzaklaştırılmıştır. Rizomun dışında bulunan zar benzeri kabuğu dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Tartılan rizom bir rende kullanılarak rendelendikten sonra üzerine steril distile su eklenmiştir. Doku homojenizatörü (OMNI Tips) yardımı ile iyice parçalanmıştır. Çalkalayıcıda (Boeco TS-100C) 4 °C'de 390 rpm'de 60 dakika süreyle tutulan rizom ekstraktı tülbent kullanılarak süzölmüş, süzöntü steril kriyotüplere porsiyonlanarak kullanılıncaya dek -80 °C'de saklanmıştır (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Rizom kısmının homejenizasyon aşamaları.

2.5. Rizom ve Yaprak Ekstraktlarının Sitotoksitesinin Belirlenmesi

Bu aşama için Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar ve Uygulama Merkezi (KUBTUAM)'nden destek alınmıştır. Rizom ve yaprak ekstraktlarının sitotoksitesinin belirlenmesi amacıyla MTT testi uygulanmıştır. MTT testinde in vitro ortamda 3,[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium

bromide tetrazolyum tuzu kullanılmaktadır. Testte; test edilen ekstrakta ait farklı dilüsyonlar hazırlanarak hücre kültürüne eklenmekte ve hücrelerde canlılık oranının %70'in altında düştüğü dilüsyonların sitotoksik potansiyele sahip olduğu ifade edilmektedir. Bu çalışmada MTT testi için fibroblast hücreleri (L929) kullanılmıştır. Bu hücreler 96 kuyucuklu steril pleytlere, her bir kuyucuğa 1×10^4 hücre olacak şekilde eklenmiş ve 24 saat süreyle 37 °C'de %5 CO₂ ortamında inkübe edilmiştir. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* yaprak ekstraktı en yüksek konsantrasyonu 10 mg/ml olacak şekilde yedi farklı konsantrasyonda (10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,62 mg/ml, 0,31 mg/ml ve 0,15 mg/ml) DMEM içinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Tüm konsantrasyondaki yaprak ekstraktları hücreler üzerine uygulanmış ve 24 saat süreyle aynı koşulda (37 °C, %5 CO₂) inkübasyona devam edilmiştir.

Bitkinin rizomundan hazırlanan ekstrakt da en yüksek konsantrasyonu 1:1 olacak şekilde yedi farklı konsantrasyonda (1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64) DMEM ile sulandırılarak hazırlanmıştır. Bu ekstraktlar da fibroblast hücreler üzerine uygulanmış, pleytler 24 saat süreyle 37 °C %5 CO₂'de inkübe edilmiştir.

Her iki test için pozitif kontrol olarak: ZDEC (Polyurethane film containing 0,1% zinc diethyldithiocarbamate), negatif kontrol olarak ise high density polyethylene kullanılmıştır. Testte blank olarak da besiyeri (DMEM) eklenmiştir. Yirmi dört saatlik inkübasyon süresi sonunda kuyucuklardaki sıvılar uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğa mg/ml MTT çözeltisinden 50 µl eklenmiş ve takibinde 37 °C'de 2 saat süreyle inkübe edilmiştir. Takibinde kuyucuklara izopropanol (100 µl/kuyucuk) eklenmiş ve hücre canlılığının tespiti için pleyt mikropleyt okuyucuda okutulmuştur (570 nm dalga boyu). Kontrol grupları okuma değerleri temel alınarak hücrelerde canlılık yüzdesi aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{Canlılık \%} = 100 \times \frac{\text{Numunenin optik yoğunluğunun değeri}}{\text{Kontrol (DMEM) grubunun optik yoğunluğu OD}_{570b}}$$

2.6. Rizom ve Yaprak Ekstraktlarının Hemolitik Özelliklerinin Belirlenmesi

Bu aşama için KUBTUAM'dan destek alınmıştır. Üç tavşana ait venöz kan örneği (3 ml) 800xg'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra üst kısımdaki süpernatanttan alınan plazma örneği Drabkin's hemoglobin reagent ile karıştırılarak oda sıcaklığında inkübe edilmiş, hazırlanan hemoglobin standartlarıyla birlikte 540 nm dalga boyu olan spektrofotometrede okutulmuştur. Plazma hemoglobin düzeyi 2 mg/ml'den düşük bulunan tavşan venöz kan örneklerinde hemoglobin miktarı Drabkin's hemoglobin reagent ile karıştırılarak 540 nm dalga boyu olan spektrofotometrede okutulmuş, kan örneği kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile içerdiği hemoglobin miktarı 10 mg/ml olacak şekilde sulandırılmıştır.

Bitkiye ait rizom ekstraktı yedi farklı konsantrasyonda (1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 ve 1:64 oranında) PBS ile sulandırılarak 1 ml kan örneğine eklenmiş, üç saat süreyle 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi sonunda 15 dakika süreyle 800xg'de santrifüj yapılmış, süpernatanta Drabkin's hemoglobin reagent eklenmiş, 540 nm dalga boyu olan spektrofotometrede okutulmuştur.

Bitkiye ait yaprak ekstraktı yedi farklı konsantrasyonda (10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,62 mg/ml, 0,31 mg/ml ve 0,15 mg/ml) PBS ile sulandırılarak 1 ml kan örneğine eklenmiştir, üç saat süreyle 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi sonunda 15 dakika süreyle 800xg'de santrifüj yapılmış, süpernatanta Drabkin's hemoglobin reagent eklenmiş, 540 nm dalga boyu olan spektrofotometrede okutulmuştur. Elde edilen sonuçlar ASTM F56-00 standardına göre değerlendirilmiştir. Hemoliz oranı aşağıdaki formül ile elde edilmiştir:

$$\text{Hemoliz (\%)} = \frac{\text{ABS (örnek)} - \text{ABS (kan)}}{(0.844) \text{ ABS (dilüe kan)} - \text{ABS (blank)}} \times 100$$

2.7. Rizom Ekstraktının Protein İçeriğinin Tayini

Bitki ekstrakt örneklerinin protein içeriği, Bradford yöntemi ile belirlenmektedir. Bu yöntemde Coomassie 1 Brilliant Blue G-250 boyası proteinlere bağlanarak renk oluşumu şekillendirir. Boya içinde katyonik (kırmızı), nötral (yeşil) ve anyonik

(mavi) olmak üzere üç form bulunur. Asidik şartlar altında boya kırmızı formda, protein bağlandığında mavi formda izlenir (595 nm dalga boyunda). Çalışmanın bu aşamasında rizom ekstraktındaki protein içeriğinin belirlenmesinde Bradford Protein Test Kiti kullanılmıştır (BOVINE γ - içeren QuickStart™ Bradford Protein Test Kiti) (Şekil 2.10). Bu testte boya rengi gelişimi BSA standardında daha fazla şekillendiğinden bu tez çalışması kapsamında bitki rizomlarındaki protein içeriğinin tayininde BSA standardı içeren test tercih edilmiştir.

BOVINE γ - içeren QuickStart™ Bradford Protein Test Kiti firmanın belirlediği protokole göre yapılmıştır. Test yapılmadan önce 1x boya reaktifi 4 °C'den çıkarılarak oda sıcaklığına gelmesi için beklenmiş ve kullanılmadan önce reaktifin bulunduğu şişe birkaç kez ters çevirerek karışması sağlanmıştır. Ayrı steril ependorf tüpleri içerisine 1 ml 1x boya reaktifinden konulmuştur. Bu tüplere test içindeki standartlar ve rizom ekstraktı eklenmiştir, takibinde vortekslenerek tüp içerikleri homojen hale getirilmiştir. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilen tüplerdeki içerik otomatik pipet aracılığıyla tek kullanımlık küvetler içerisine alınmıştır. Spektrofotometre 595 nm dalga boyuna ayarlanmış ve blank numune ile sıfırlanmıştır. Daha sonra en düşük dilüsyondan başlayarak standartların ve rizom ekstraktının absorbansı ölçülmüştür.



Şekil 2.10. Standartların ve rizom ekstraktlarının olduğu küvetler.

2.8. İn Vitro Anthelmintik Etkinliğin Belirlenmesi

Bitki ekstraktlarının (yaprak ve rizom) anthelmintik etkinliği in vitro ortamda ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

2.8.1. Parazitlerin Toplanması

Erişkin dişi *T. canis*'ler Yozgat ili Şefaatli ilçesinde bulunan veteriner kliniklerine hayvan sahipleri tarafından getirilen askaritler arasından temin edilmiştir. Parazitler çeşme suyu içine alınarak bekletilmeden Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na getirilmiştir.

2.8.2. *T. canis* Yumurtalarının Elde Edilmesi

Parazitler ışık mikroskobu altında morfolojik özellikleri dikkate alınarak incelenmiş ve dişi *T. canis*'ler üç kez steril distile su ile yıkanmış daha sonra pens ve bistüri yardımıyla açılarak uterus kısmı parçalanmıştır. Steril distile su eklenerek alt kısmı konik polistren tüpe süzülüş, 2000 devirde üç dakika süreyle steril distile su ile santrifüj edilmiştir (NF 2000). Yıkama işlemi bittiğinde tüpteki yumurta stoğundan otomatik pipet aracılığıyla 50 µl'lık beş örnek alınarak ışık mikroskobu (Leica DM200) altında sayılmış, yumurta süspansiyonunun bir ml'sinde 1000 yumurta olacak şekilde RPMI-1640 ile sulandırılmıştır (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. *Toxocara canis* yumurtalarının elde edilmesi.

2.8.3. Bitki Ekstraktlarının *T. canis* Yumurtalarında Larva Gelişimine Etkisi

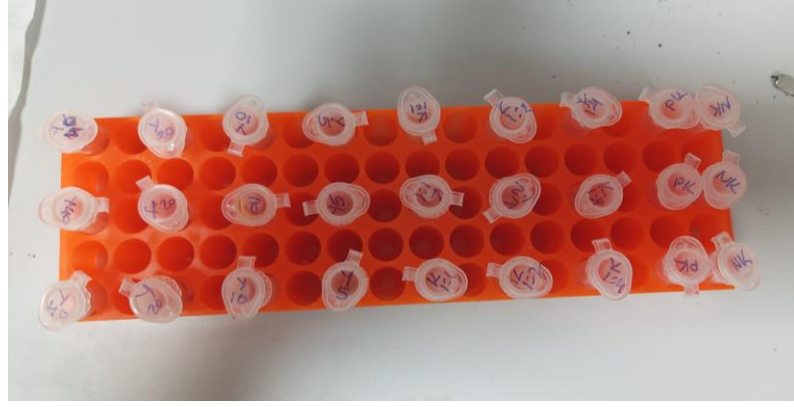
Çalışmanın bu aşamasında bitki ekstraktlarının *T. canis* yumurtasında larva gelişimine etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla yaprak ve rizom

ekstraktlarının oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Çalışmadan hemen önce yaprak ekstraktından 40 mg/ml, 20 mg/ml ve 10 mg/ml dozda dilüsyonlar RPMI-1640 içinde hazırlanmıştır. Rizom ekstraktından ise RPMI-1640 içinde 1:2 ve 1:4 oranda dilüsyonları yapılmıştır. Deneyin bu aşamasında üç farklı inkübasyon süresi (6, 12 ve 24 saat) belirlenmiştir.

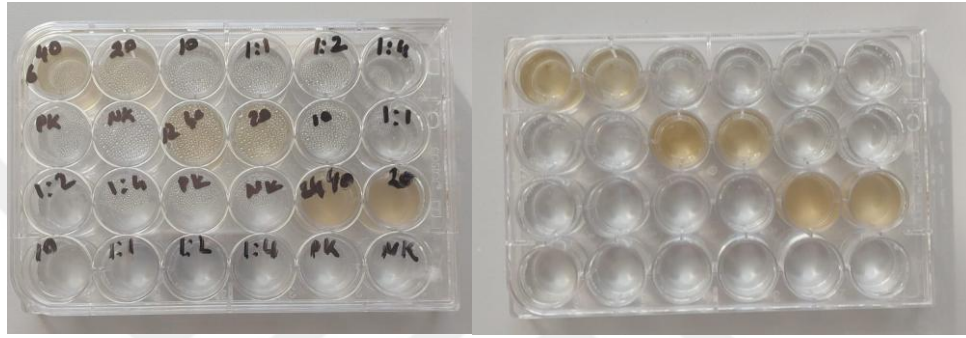
Her bir inkübasyon süresi için aşağıdaki şekilde sekiz grup oluşturulmuştur:

- Grup 1: 40 mg/kg dilüsyonda yaprak ekstraktı
- Grup 2: 20 mg/kg dilüsyonda yaprak ekstraktı
- Grup 3: 10 mg/kg dilüsyonda yaprak ekstraktı
- Grup 4: Dilüye edilmeden uygulanan rizom ekstraktı
- Grup 5: 1:2 dilüsyonda rizom ekstraktı
- Grup 6: 1:4 dilüsyonda rizom ekstraktı
- Grup 7: Pozitif kontrol
- Grup 8: Negatif kontrol

Deney için öncelikle steril ependorf tüplerine hazırlanmış olan yumurta süspansiyonundan 100 µl konulmuş, üzerine her bir grup için belirlenen ekstrakt dozundan 100 µl eklenmiştir. Nazikçe pipetaj yapılarak ekstraktın tüpler içerisine homojen yayılması sağlanmıştır. Takibinde tüpler 32 °C'lik inkübatöre alınarak üç farklı inkübasyon süresinde tutulmuştur (Şekil 2.12). Bu sürenin ardından tüpler steril distile su ile beş dakika süreyle üç kez santrifüj edilmiştir (300xg). Daha sonra %0,5 formalin solüsyonu eklenerek aynı koşullarda yeniden santrifüj yapılmış, yumurtalar steril polistren hücre kültürü plaklarına alınmıştır (Costar 24 well plate). Üzerine %0,5 formalin solüsyonu eklenen plakalar 32 °C'lik inkübatöre yerleştirilmiş,. Yumurtaların olduğu pleyt çukurları ayrı pipet ucu kullanılarak günlük olarak karıştırılmış, larva gelişimi yönünden 28 gün süreyle ışık mikroskopunda x10 ve x40'lık objektif kullanılarak takip edilmiştir. Deneyde pozitif kontrol için köpekte *T. canis* tedavisinde kullanılan ve içerisinde 35 mg pirantel pamoat içeren ticari bir preparattan steril distile su ile süspansiyon hazırlanmış ve bu süspansiyondan 100 µl eklenmiş yumurtalar, negatif kontrol olarak da RPMI-1640 içindeki yumurtalar kullanılmıştır (Şekil 2.13).



Şekil 2.12. İnkübatöre konulan deney grupları.



Şekil 2.13. Hücre kültürü plağına alınan deney grupları.

İnkübasyon süresi sonunda içinde larva gelişen ve gelişmeyen yumurta sayısı ışık mikroskopik olarak değerlendirilmiş ve bitki ekstraktlarının *T. canis* yumurtası içinde larva gelişimine etkisi belirlenmiştir. Sonuçların hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{Bitki ekstraktının larva gelişimine etkinliği (\%)} = 100 \times \frac{\text{larvalı yumurta sayısı}}{\text{toplam yumurta sayısı}}$$

2.8.4. Bitki Ekstraktlarının *T. canis* Larvalarına Etkisi

2.8.4.1. *T. canis* Larvalarının Elde Edilmesi

Dişi parazitlerden elde edilen *T. canis* yumurtaları steril distile su ile yıkanarak doku parçalarından uzaklaştırılmıştır. Yumurtalar %0,5'lik formalin solusyonu içinde alınarak 32 °C'lik inkübatöre yerleştirilmiş ve günlük karıştırılarak havalandırılmıştır. Yumurtalardaki larva gelişimi ışık mikroskobu ile incelenmiştir. İnkübasyonun 28. gününde larva gelişmiş yumurtalar üç kez steril distile su ile yıkanarak (300xg'de 5 dakika) formalin solusyonu uzaklaştırılmıştır. Larvalı

yumurtalar, protein örtüsünün uzaklaştırılması amacıyla %5'lik sodyum hipoklorid solüsyonu içine alınarak oda sıcaklığında 20 dakika tutulmuştur (Sena-Lopes vd., 2020). Takibinde steril distile su ile üç kez santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant uzaklaştırılmış, dipteki sedimentten otomatik pipetle alınan 50 µl'lik beş örnekte bulunan larva sayısının ortalaması alınarak 100 µl larva süspansiyonunda 50 larva olacak şekilde RPMI-1640 ile sulandırılmıştır.

2.8.4.2. Bitki Ekstratlarının *T. canis* Larvalarının Canlılığına Etkisi

Çalışmanın bu aşamasında bitki ekstraktlarının yumurtadan çıkan *T. canis* larvalarının canlılığına etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla yaprak ve rizom ekstraktlarının oda sıcaklığına gelmesi beklenmiş, takibinde yaprak ekstraktından 40 mg/ml, 20 mg/ml ve 10 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde dilüsyonları hazırlanmıştır. Rizom ekstraktından ise RPMI-1640 içinde 1:2 ve 1:4 oranda dilüsyonları yapılmıştır. Deneyin bu aşamasında da üç farklı inkübasyon süresi (6, 12 ve 24 saat) belirlenmiştir.

Her bir inkübasyon süresi için aşağıdaki şekilde sekiz grup oluşturulmuştur:

- Grup 1: 40 mg/kg dilüsyonda yaprak ekstraktı
- Grup 2: 20 mg/kg dilüsyonda yaprak ekstraktı
- Grup 3: 10 mg/kg dilüsyonda yaprak ekstraktı
- Grup 4: Dilüye edilmeden uygulanan rizom ekstraktı
- Grup 5: 1:2 dilüsyonda rizom ekstraktı
- Grup 6: 1:4 dilüsyonda rizom ekstraktı
- Grup 7: Pozitif kontrol
- Grup 8: Negatif kontrol

Steril ependorf tüplerine 100 µl larva süspansiyonu konulmuştur. Üzerine ekstrakt sulandırılmalarından 100'er µl eklenmiş, otomatik pipetle nazıkçe karıştırılarak homojen dağılması sağlanmıştır. Tüpler 32 °C'lik inkübatöre alınarak belirlenen sürelerde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sürelerinin tamamlanmasını takiben deney sonlandırılmıştır. Deneyde pozitif kontrol olarak 35 mg pirantel pamoat içeren ticari preparat eklenen larvalar, negatif kontrol olarak da RPMI-1640 içindeki larvalar kullanılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda bitki ekstraktlarının larvanın canlılığına etkisi trypan blue boya testi ile (1:1 oranında) yapılmıştır (Sena-Lopes vd., 2020). Bu

boyama sonrasında ışık mikroskobu altında larvalar hareketlilik ve boya alıp almadığına göre değerlendirilmiş ve larvalarda canlılık değerlendirilmesinde Reis, Trinca, Ferreira, Monsalve-Puello ve Grácio (2010) tarafından bildirilen kriterler kullanılmıştır. Tüm gövdesi ile hareket eden larvalar ile sadece bir kısmında hareket görülen larvalar canlı olarak değerlendirilmiş, vücudu düz olarak izlenen larvalar ise ölü olarak değerlendirilmiştir.

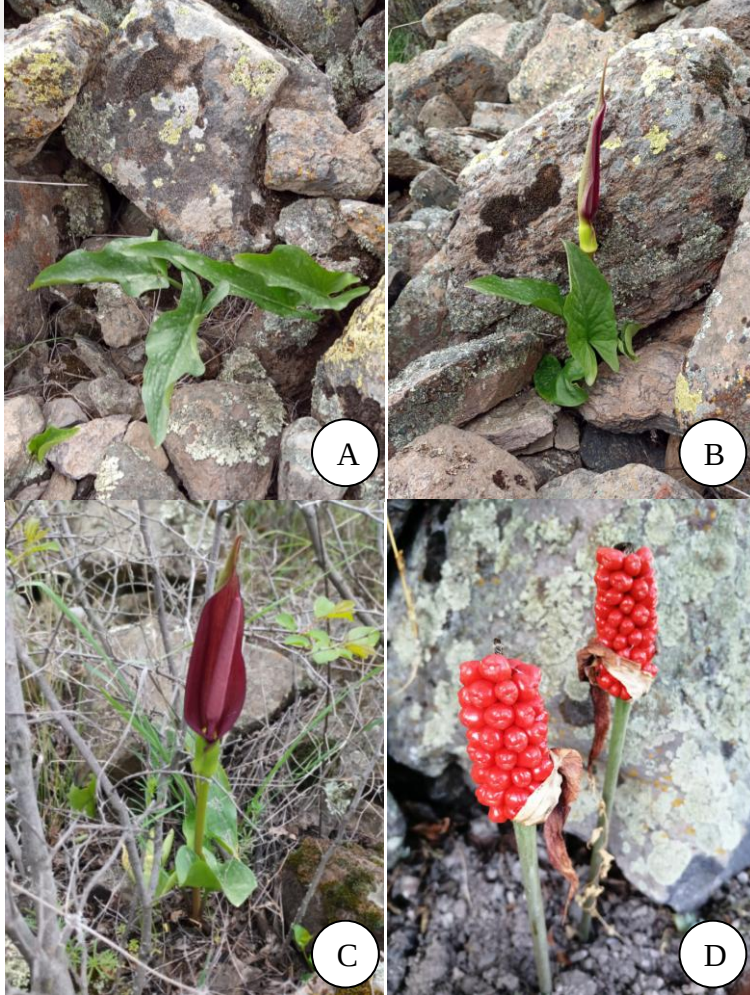
Sonuçların hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{Bitki ekstraktının larva canlılığına etkisi (\%)} = 100 \times \frac{\text{ölü larva sayısı}}{\text{toplam larva sayısı}}$$

3. BULGULAR

3.1. Bitkinin Tür Teşhisi

Güdül İlçesi Akbaş Mahallesi Karaçakıl Mevki’nde (konum: 40, 2360380, 32, 2874410) doğal olarak bulunan ve yörede halk arasında “mancar” olarak bilinen ve tüketilen *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* önce yaprak çıkartmış (Şekil 3.1. A), nisan ayında ise mor renkli çiçek açmıştır (Şekil 3.1. B-C). Çiçeklenmenin takibinde, turuncu-kırmızı renkte küremsi (Şekil 3.1. D) meyve koçanı dikkati çekmiştir.



Şekil 3.1. Bitkinin mevsime göre doğadaki görünümü. A. İlkbaharda yapraklanma dönemi. B. Çiçeklenme başlangıcı. C. Çiçeklenme dönemi. D. Olgunlaşmış meyveleri.

Karaçakıl Mevki'nden (konum: 40, 2360380, 32, 2874410) rizomuyla birlikte çıkarılan bitki örneği Erciyes Üniversitesi Uluslararası Botanik Bahçesi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yer alan Herbaryum'da *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* olarak teşhis edilmiş ve CV6015 numarasıyla kaydedilmiştir.

3.2. Bitkinin Toplanması

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola* örnekleri toplanırken bitki köklerinin domuzlar tarafından tüketildiğine ilişkin bazı bulgulara rastlanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Bitkinin kök kısımlarının domuzlar tarafından tüketildiğine dair bulgular.

3.3. Örnek Bölgesine Ait Meteorolojik Veriler

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola* örneklerinin toplandığı Gündül Yöresi'nde 2021-2022 yılları arasında görülen, aylara göre toplam yağış verileri Tablo 3.1'de sunulmuştur. Bu tabloya göre bitki örneklerinin toplandığı 2022-Mayıs ayında bir önceki yıla göre aylık toplam yağış oranının daha yüksek olduğu görülmüştür.

Tablo 3.1. Gdl Yöresi’nde 2021-2022 yılları arasında görülen aylara göre toplam yağış oranı (www.mevbis.mgm.gov.tr).

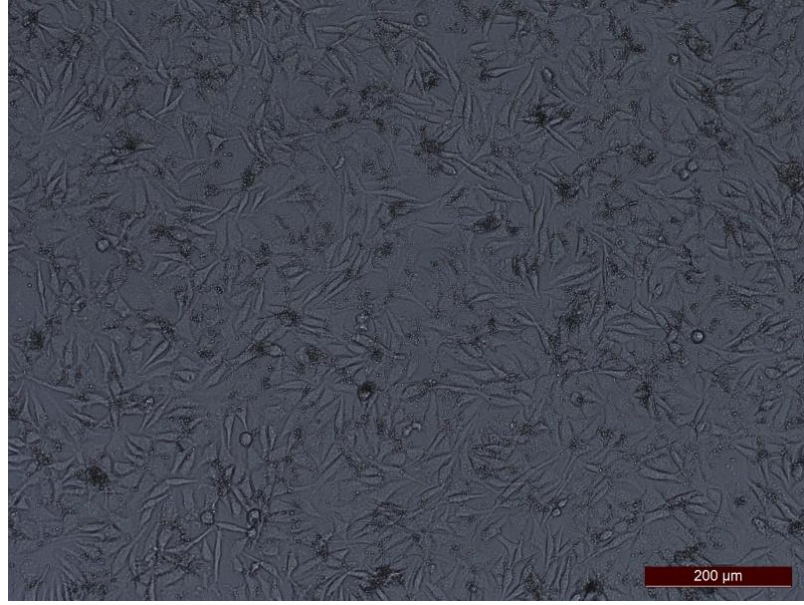
	Aylık Toplam Yağış (mm=kg÷m²) OMGİ											
	(İstasyon Adı/No: GÜDÜL/18077)											
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2021	64,3	8,9	38,4	45,1	4,4	118,8	0,5	4,4	10,4	25,5	60,0	59,4
2022	41,5	77,6	33,0	11,8	12,7	94,5	23,1	25,9	4,6	0,4		

3.4. Sitotoksisite Deneyi Sonuçları

International Organization for Standardization (ISO) 10993-5 standardına göre; vücut dışı ortamda uygulanan sitotoksisite testlerinde şüpheli bileşiğin uygulandığı hücre kültüründe canlılık oranı %70’ten düşük ise kullanılan bileşiğin sitotoksik potansiyelinin olduğu değerlendirilmektedir. Bu alışma esnasında 10 mg/ml yaprak ekstraktının uygulandığı L929 fibroblast hücrelerinde canlılık oranı %32,3 olarak hesaplanmış, yaprak ekstraktı bu dozda sitotoksik potansiyel gösterdiği tespit edilmiştir (şekil 3.3). Yaprak ekstraktının konsantrasyonuna bağlı olarak fibroblast hücrelerde canlılık oranı Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Farklı dozda yaprak ekstraktı uygulanan L929 fibroblast hücrelerindeki canlılık değerleri.

	Yaprak ekstraktı sulandırma basamakları (mg/ml)							Pozitif kontrol	Negatif kontrol
	10	5	2,5	1,25	0,62	0,31	0,15		
Hücrelerde canlılık (%)	32,3	54,2	68,6	85,2	87,9	78,4	71,5	20,7	87,4

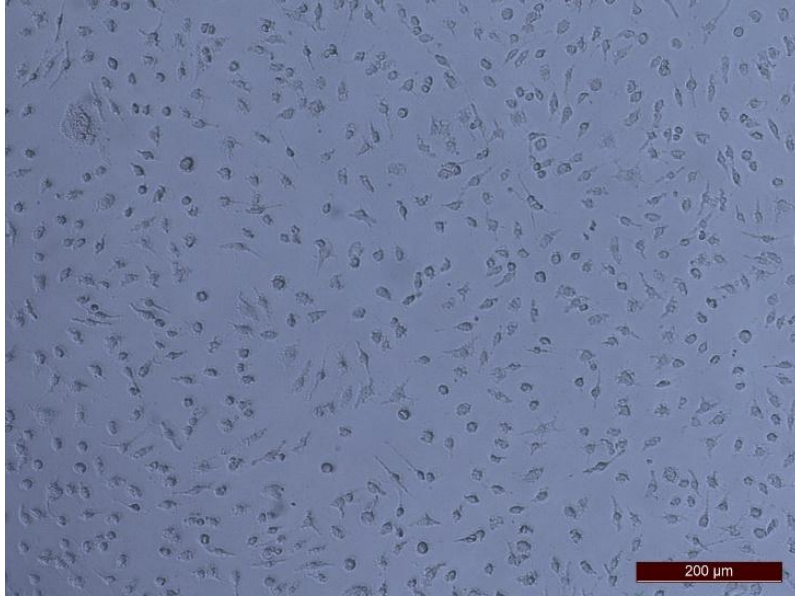


Şekil 3.3. Yaprak ekstraktı eklenen fibroblast kültürü.

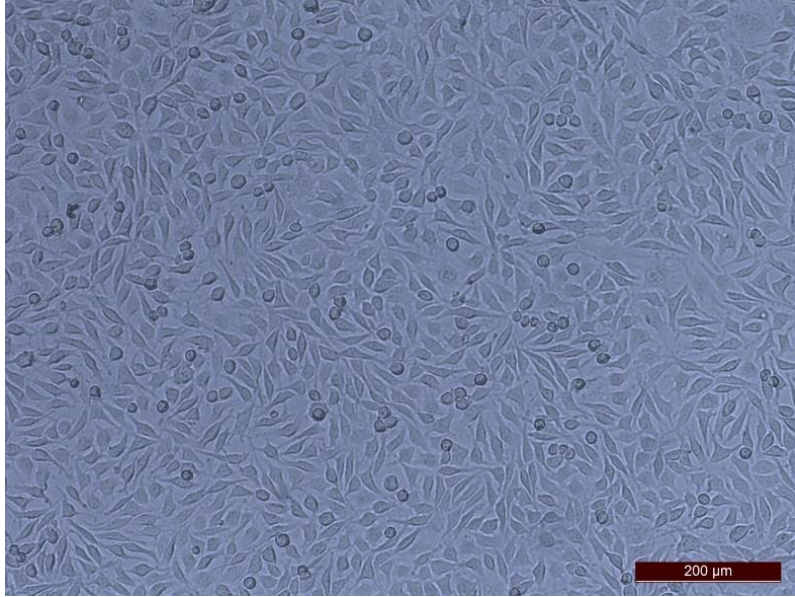
Arum rupicola Boiss. var. *rupicola* rizomundan hazırlanan ekstraktının uygulandığı fibroblast hücre kültüründe hücrelerin canlılığı %91,7 olarak hesaplanmış, rizom ekstraktının sitotoksik potansiyelinin olmadığı belirlenmiştir. Pozitif ve negatif kontrollere ait sonuçlar Şekil 3.4 ve 3.5’te sunulmuştur. Rizom konsantrasyonuna bağlı hücrelerdeki % canlılık değerleri Tablo 3.3. de verilmiştir.

Tablo 3.3. Farklı sulandırma dozunda rizom ekstraktının uygulandığı L929 fibroblast hücrelerinin canlılık değerleri.

	Rizom sulandırma basamakları							Pozitif kontrol	Negatif kontrol
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64		
Hücrelerde canlılık (%)	91,7	95,2	107,1	89,7	88,9	94,3	107,4	28,1	96,9



Şekil 3.4. Pozitif kontrol eklenen fibroblast kültürü.



Şekil 3.5. Negatif kontrol.

3.5. Hemoliz Testi Sonuçları

ASTM F576-00 standardına göre uygulanmış olan hemoliz testi sonucunda;

- %0-2 arasında hemolitik indekse sahip olan bileşikler, hemolitik özellikte olmayan,
- %2-5 arasında hemolitik indekse sahip olan bileşikler, hafif hemolitik
- %5'ten büyük hemolitik indekse sahip olan bileşikler ise hemolitik olarak değerlendirilmektedir.

Bu çalışmada 10 mg/ml konsantrasyondaki yaprak ekstraktında hemolitik indeksi %25,1, 2,5 mg/ml konsantrasyondaki yaprak ekstraktının hemolitik indeksi ise %6,3 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar dikkate alındığında yaprak ekstraktının hemolitik etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Bitkinin rizomundan elde edilen ekstraktın en yoğun dozda kullanımında (1:1 oranda) saptanan hemolitik indeksi %1,9 olarak belirlendiğinden rizom ekstraktının hemolitik etkisinin olmadığı saptanmıştır.

3.6. Rizom Ekstraktının Protein İçeriğinin Tayini

Bitki rizomundan 25 g tartılarak 100 ml steril distile su içinde homojenize edilmiştir. Böylelikle 1 ml steril distile su içindeki rizom miktarı 0,25 g olmuştur (=250 mg/ml). Rizom ekstraktındaki protein içeriği BOVINE γ - QuickStart TM Bradford Protein Test Kiti ile ölçülmüştür. Spektrofotometrik analiz sonuçları Tablo 3.4'te sunulmuştur. Bu sonuca göre bitkinin rizomunda bulunan protein miktarı 2,53 mg/ml olarak bulunmuştur.

Tablo 3.4. Rizom ekstraktında protein oranı.

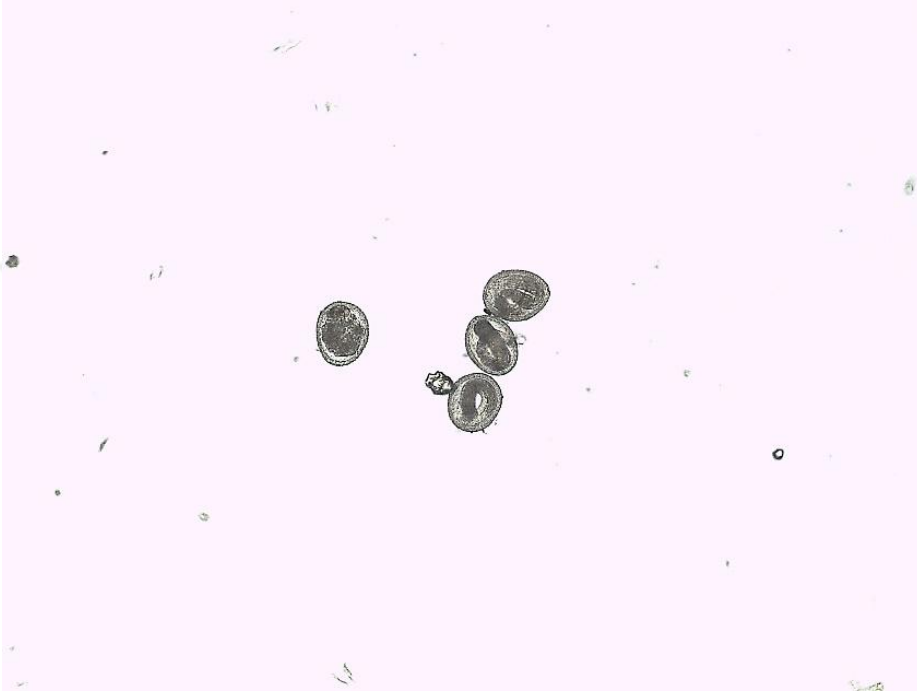
	Standartlar (mg/ml)							Rizom ekstraktı (250 mg/ml)
	0,125	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	
Spektrofotometrik analiz sonucu	0,356	0,848	0,959	1,172	1,351	1,678	1,816	2,533

3.7. Bitki Ekstratlarının *T. canis* Yumurtalarında Larva Gelişimine Etkisi

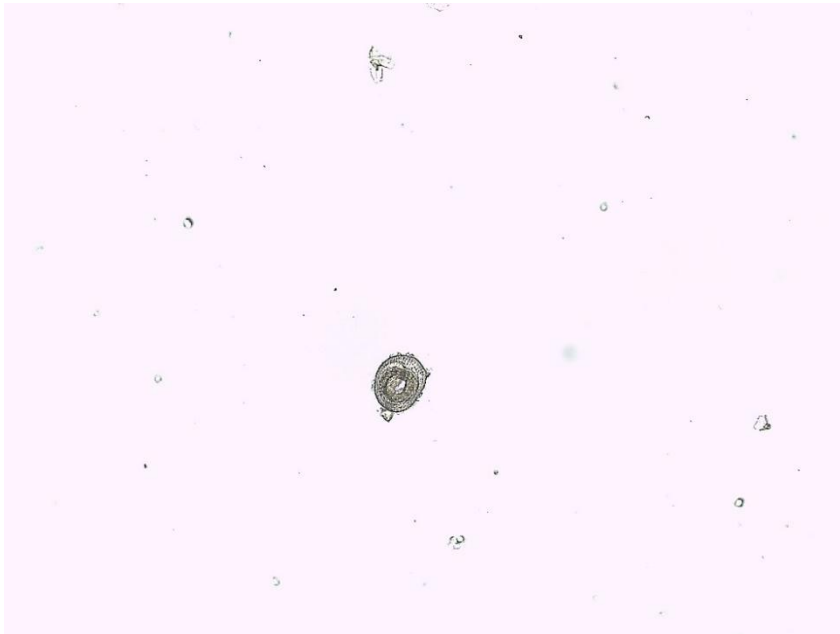
3.7.1. Yaprak Ekstraktının Larva Gelişimine Etkisi

Yaprak ekstraktlardan RPMI-1640 içinde, 40 mg/ml, 20 mg/ml ve 10 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan solüsyonlarla 6, 12 ve 24 saat süreyle inkübe edilen yumurtalar %0,5'lik formalin solüsyonu içinde 28 gün inkübe edildikten sonra larva gelişimi ışık mikroskopik olarak değerlendirilmiştir.

Altı saat süreyle yaprak ekstraktları ile inkübe edilen *T. canis* yumurtalarında tüm konsantrasyonlarda (10 mg/ml, 20 mg/ml ve 40 mg/ml) larva gelişiminin olduğu tespit edilmiştir. Farklı konsantrasyondaki ekstraktlar arasında larva gelişimi bakımından farklılık bulunmamıştır (Şekil 3.6). Pozitif kontrol olarak kullanılan pirantel pamoat bileşiği ile inkübe edilen yumurtalarda da larva gelişimi olmuştur (Şekil 3.7).

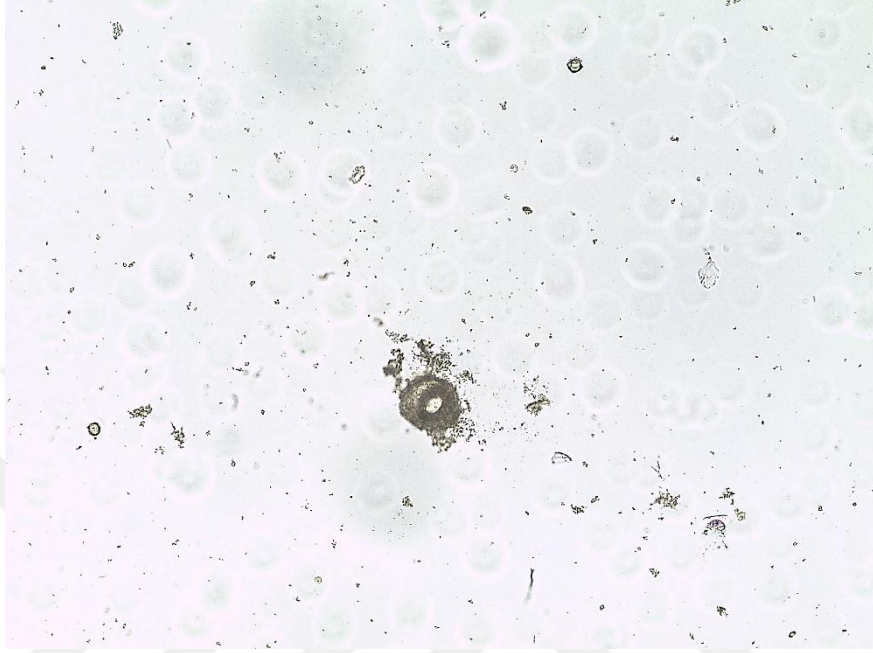


Şekil 3.6. Yaprak ekstraktı (40 mg/ml) ile 6 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurtalar içinde larva gelişimi (x10).



Şekil 3.7. Pozitif kontrol grubunda yer alan yumurtaların 28. günde görünümü (x10).

Deneyin 12 saatlik inkübasyonu sonrasında 10 mg/ml dozda bitki ekstraktı uygulanan yumurtalarda larva gelişiminin olduğu, yumurtaların renklerinde koyulaşma dikkati çekmiş ancak içindeki larvaların hareket ettiği gözlenmiştir (Şekil 3.8).

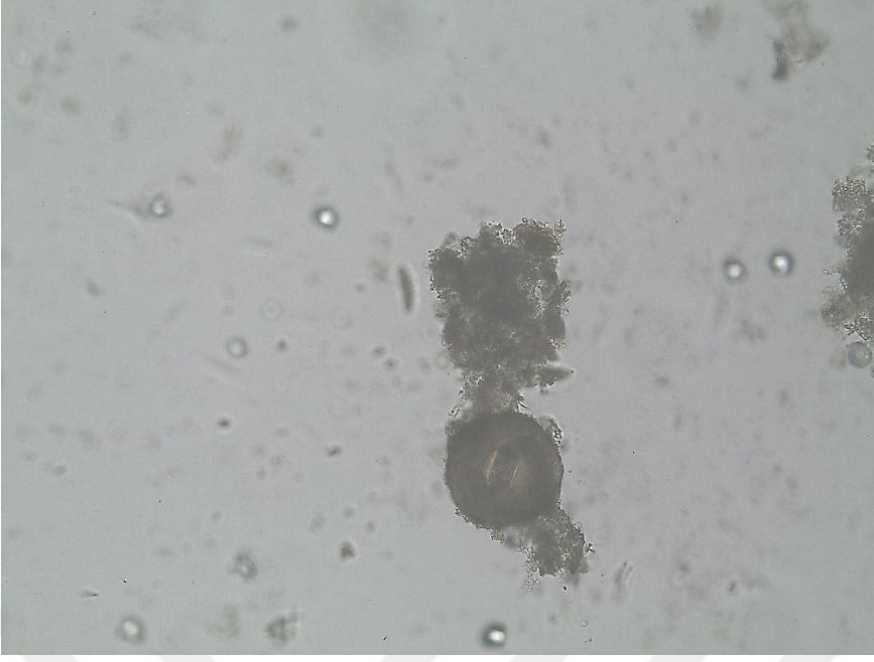


Şekil 3.8. Yaprak ekstraktı (10 mg/ml) ile 12 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x10).

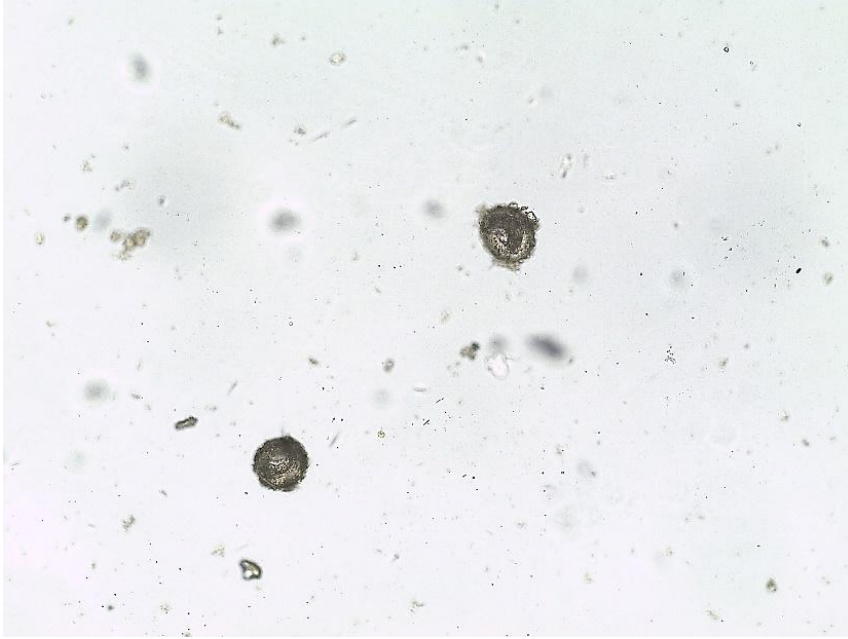
Deneyde 20 mg/ml dozda bitki ekstraktı uygulanan yumurtalarda 12 saatlik inkübasyonu sonrasında larva gelişiminin olduğu belirlenmiş ve yumurtaların renklerinde koyulaşmanın 10 mg/ml konsantrasyondaki ekstrakt grubuna göre daha belirgin olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 3.9).

Deneyde 40 mg/ml dozda bitki ekstraktı uygulanan yumurtalarda 12 saatlik inkübasyonu sonrasında larva gelişiminin olduğu belirlenmiş ve yumurtaların renklerinde koyulaşmanın diğer konsantrasyondaki ekstraktlara göre daha belirgin olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 3.10). 12 saatlik inkübasyonda gruplar arasında larva gelişimi bakımından farklılık bulunmamıştır.

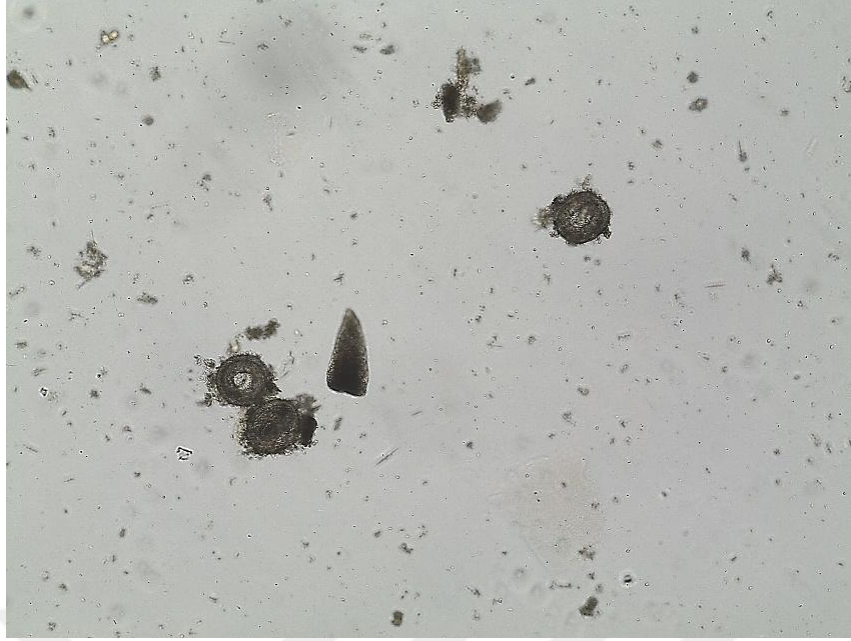
Deneyin 24 saatlik inkübasyonunda tüm yaprak konsantrasyonlarında larva gelişimi görülmüş ve yumurta renginde koyulaşma izlenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.9. Yaprak ekstraktı (20 mg/ml) ile 12 saat inkübe grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x20).



Şekil 3.10. Yaprak ekstraktı (40 mg/ml) ile 12 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x10).



Şekil 3.11. Yaprak ekstraktı (40 mg/ml) ile 24 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x10).

3.7.2. Rizom Ekstraktının Larva Gelişimine Etkisi

Çalışmanın bu aşamasında rizom ekstraktından direkt uygulama ve RPMI-1640 içinde 1:2 ve 1:4 sulandırmalar *T. canis* yumurtalarında larva gelişimine etkisini belirlemek amacıyla inkübe edilmiştir (6, 12 ve 24 saat). İnkübasyonun 28. gününde larva gelişimi bakımından değerlendirilen yumurtaların tüm rizom konsantrasyonlarında ve inkübasyon sürelerinde larva gelişiminin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.12 ve 3.13). Gruplar arasında larva gelişimi bakımından farklılık görülmemiştir. Yaprak konsantrasyonları uygulanan yumurtalarda izlenen renkteki koyulaşma bu gruptaki yumurtalarda tespit edilmemiştir. Negatif kontrol grubunda 28. günde larva gelişimi Şekil 3.14’de görülmektedir.



Şekil 3.12. Rizom ekstraktının direkt uygulandığı ve 24 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x10).



Şekil 3.13. Rizom ekstraktının direkt uygulandığı ve 24 saat inkübe edilen grupta 28. günde yumurta içinde larva gelişimi (x40).



Şekil 3.14. Negatif kontrol grubunda 28. günde larva gelişimi (x40).

3.8. Bitki Ekstratlarının *T. canis* Larvalarının Canlılığına Etkisi

3.8.1. Yaprak Ekstraktının *T. canis* Larvalarının Canlılığına Etkisi

Farklı dozda yaprak ekstraktının yumurtadan çıkan *T. canis* larvalarının canlılığına etkisinin belirlenmesinin amaçlandığı bu aşamada 10 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde sulandıran yaprak ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan larvaların tamamının hareketli olduğu tespit edilmiştir. On iki saatlik inkübasyonda %9'unun 24 saatlik inkübasyonda ise %15'inin hareketsiz, bir kısmı düz, bir kısmı kıvrık biçimde olduğu görülmüştür. Canlı larvalar ise oldukça hareketli izlenmiştir (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. Deneyde 10 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde sulandıran bitki ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan grupta izlenen hareketli larva (x10).

Deneyde 20 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde sulandıran yaprak ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan larvaların %20'sinin, 12 saat inkübasyonda tutulan larvaların %22'sinin, 24 saat inkübasyon sonucunda ise %32'sinin hareketsiz olduğu görülmüştür. Hareketsiz larvaların düz biçimde olduğu ve bazılarının trypan blue boya solüsyonu ile boyandığı mikroskopik olarak izlenmiştir.

Deneyde 40 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde sulandıran yaprak ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan larvaların %30'unun, 12 saat inkübasyon sonucunda %37'sinin, %24 saat inkübasyon sonucunda ise %42'sinin hareketsiz olduğu görülmüştür (Şekil 3.16). Larvaların düz biçimde olduğu (Şekil 3.16) ve bazılarının trypan blue boya solüsyonu ile boyandığı dikkati çekmiştir (Şekil 3.17).



Şekil 3.16. Deneyde 40 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde sulandıran bitki ekstraktı ile altı saat inkübasyonda tutulan larva (x10). Hareketsiz ve düz biçimde izlenen larva.



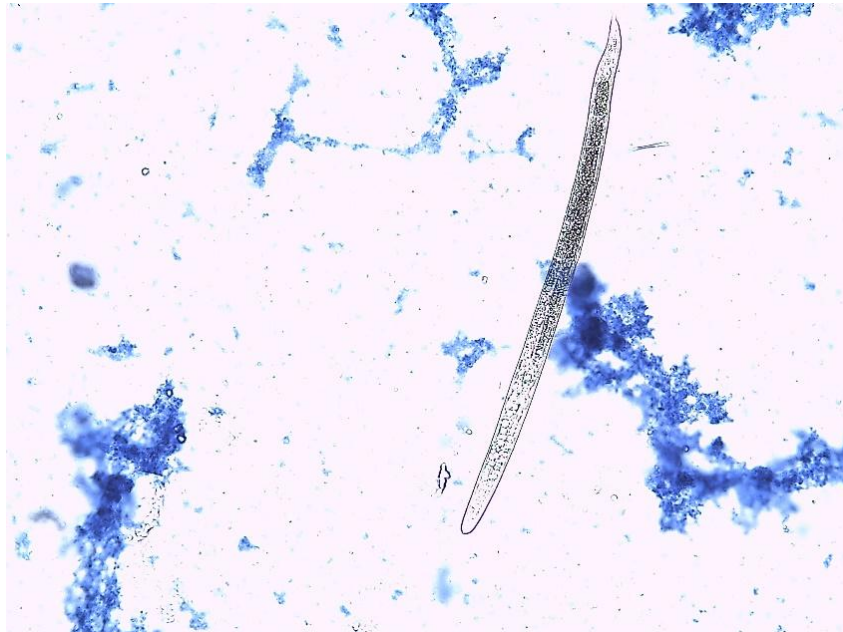
Şekil 3.17. Deneyde 40 mg/ml dozda RPMI-1640 içinde sulandıran bitki ekstraktı ile 24 saat inkübasyonda tutulan larva (x20).

3.8.2. Rizom Ekstraktının *T. canis* Larvalarının Canlılığına Etkisi

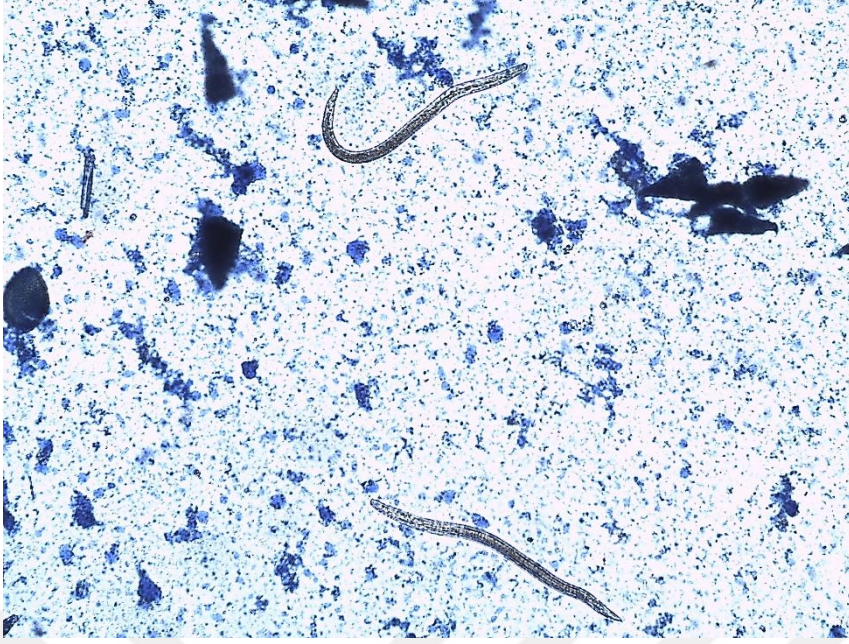
Rizom ekstraktının *T. canis* larvası üzerine etkisini belirlemek için ekstraktan direkt ve RPMI-1640 içinde 1:2 ve 1:4 sulandırmalar yapılarak denemiştir. Deneyde üç farklı sürede (6, 12 ve 24 saat) inkübe edilmiştir. İnkübasyon sürelerini takiben deney sonlandırılmış, larvalar trypan blue boya solüsyonu ile boyanarak canlılık yönünden lam-lamel arasında ışık mikroskopik olarak değerlendirilmiştir.

Direkt rizom ekstraktı eklenen ve altı saat inkübe edilen *T. canis* larvalarının %10'unun hareketsiz ve düz biçimde olduğu izlenmiştir (Şekil 3.18). Aynı konsantrasyonda 12 saat inkübe edilen larvaların %12'sinin, 24 saat inkübe edilen larvaların ise %17'sinin hareketsiz ve düz şekilde olduğu görülmüştür (Şekil 3.19 ve Şekil 3.20).

Altı saatlik inkübasyon süresi sonunda 1:2 konsantrasyonda uygulanan larvaların %5'i, 12 saat süre sonunda %7'si, 24 saatlik inkübasyon sonunda %9'unun hareketsiz ve düz olduğu gözlenmiştir. Rizom ekstraktının 1:4 konsantrasyonda altı saat inkübe edildiği grupta larvaların %5'i, 12 saat inkübe edildiği grupta %13'ü, 24 saat inkübe edildiği grupta ise %11'inin hareketsiz ve düz olduğu gözlenmiştir. Geri kalan larvaların aktif ve hareketli olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 3.18. Direkt uygulanan rizom ekstraktı ile 6 saat inkübasyonda tutulan larva (x20). Larva hareketsiz ve düz biçimde izlenmiş, boya almıştır.

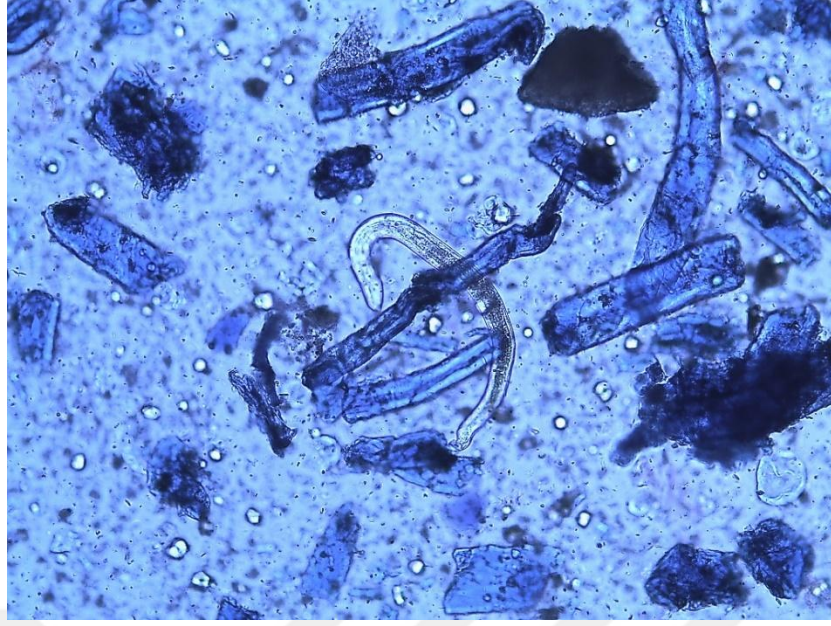


Şekil 3.19. Direkt uygulanan rizom ekstraktı ile 24 saat inkübasyon sonrasında hareketsiz izlenen larvalar (x10).



Şekil 3.20. Direkt uygulanan rizom ekstraktı ile 24 saat inkübasyonda tutulan larva (x20).

Deneyde pozitif kontrol olarak 35 mg pirantel pamoat içeren ticari preparat kullanılmıştır. İnkübasyon süreleri sonunda pozitif kontrol grubundaki tüm larvaların hareketsiz olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. Pozitif kontrol grubunda 24 saat inkübasyon sonucunda izlenen larva (x20). Tamamı hareketsiz ve düz biçimde izlenmiş, boya almıştır.

Deneyde negatif kontrol olarak da hiçbir kimyasal eklenmemiş larvalar aynı koşullarda 24 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda larvaların tümünün canlı ve aktif hareketli olduğu belirlenmiştir (x40) (Şekil 3.22).



Şekil 3.22. Negatif kontrol grubunda 24 saat inkübasyon sonucunda izlenen *T. canis* larvası (x40).

4. TARTIŞMA

Geleneksel ve tamamlayıcı tıbbı ilgi günümüzde gittikçe artmaktadır. *Arum* cinsinde yer alan bitkiler pek çok ülkede bilinmekte ve geleneksel olarak tüketilmektedir. Bu cins içindeki türlerden bazıları araştırmacıların dikkatini çekmiştir. *A. maculatum*, *A. cyrenaicum*, *A. dioscorides*, *A. elongatum*, *A. palaestinum*, *A. euxinum* ve *A. hygrophilum* türleri antimikrobiyal, antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antitümöral, antikanser, antienflamatuvar, antidiyare, antidiyabetik, analjezik ve insektisidal etkileri açısından araştırılmıştır. Bu bitkilerin antiparaziter etkileri üzerine literatür bilgisinin oldukça sınırlı olduğu görülmektedir (Majumder vd., 2005; Al-Mustafa ve Al-Thunibat, 2008; Khalil vd., 2009; Dayısoylu, 2010; Ali-Shtayeh vd., 2011; Ahmed vd., 2012; Ben Ramadan vd., 2012; Obeidat vd., 2012; Uguzlar vd., 2012; Mohammed vd., 2013; Türker ve Yıldırım, 2013; Ahmad vd., 2014; Husein vd., 2014; Naser vd., 2014; Safari vd., 2014; Cole vd., 2015; Ereifej vd., 2015; Karahan vd., 2015; Khalaf vd., 2015; Mansour vd., 2015; Jaradat ve Abualhasan, 2016; Kianinia ve Farjam, 2018). Majumder vd. (2005), *Arum maculatum* rizomunun, bitkilerin yapraklarında parazitlenen ve ekonomik öneme sahip bit türleri olan *Lipaphis erysimi* ve *Aphis craccivora* üzerine insektisidal etkisi olduğunu bildirmiş, bu etkiyi bitkinin içerdiği lektinin bitlerin bağırsak epitellerine bağlanarak gösterdiğini ifade etmiştir. Bitkisel kaynaklı diğer bazı lektinlerin ruminant mide-bağırsak nematodları üzerine larvisidal ve ovisidal etkileri rapor edilmiştir (Rios de Alvares vd., 2012a, 2012b; Salles vd., 2014; De Medeiros vd., 2018; Silva vd., 2019).

Farklı mantar türlerinden elde edilen lektinlerin (AAL, CCL2, MOA ve CGL2) *Haemonchus contortus*'un larva safhasına etki gösterdiği, larvaların bağırsaklarına bağlanarak gelişimini engellediği ve ölümüne sebep olduğu bildirilmiştir (Heim vd., 2015). Fasülyede elde edilen fitohemaglutinin lektinin (FHL) in vitro ve in vivo *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus colubriformis* ve *H. contortus*'a etkileri araştırılmış, FHL mide-bağırsak nematodlarına ait birinci dönem larvalarının in vitro beslenmelerini engellemiş (Rios de Alvarez vd., 2012a),

takibinde yapılan in vivo denemelerde; deneysel enfekte kuzularda parazit yükünde herhangi bir değişiklik oluşturmadığı ancak dışkıyla çıkan parazit yumurtasında azalmaya sebep olduğu rapor edilmiştir (Rios de Alvarez vd., 2012a). FHL aynı zamanda bu kuzuların hem ince bağırsak hem de abomasumunda eozinofil düzeyini arttırarak immun sistemlerini uyarıcı etki göstermiştir (Rios de Alvarez vd., 2012b). Lektinleri izolasyonunda afinite kromatografisi ya da rekombinant DNA yöntemleri kullanılmaktadır (Perçin, 2006). Bu tez çalışmasında *A. rupicola* Boiss. var. *rupicola*'nın rizom kısmında lektin varlığı analiz edilmemiştir. Rizom kısmındaki protein miktarı 2,53 mg/ml olarak belirlenmiştir.

Bitkilerin insanlar tarafından kullanılmasında temel hedef onların tedavi edici özelliklerinden faydalanmak olsa da bazı bitki türlerinin kullanımında olumsuz etkiler gözlenmektedir. Bitkiler protein, yağ ve karbonhidrat sentezlerken aristoloik asit, oksalatlar, pirolizidin alkaloitleri, safrol, salisilatlar, siyanogenetik glikozitler, tanenler, tüyon, atropin, β – asaron, berberin, kalp glikozitleri, iyot ve lektin gibi bazı metabolitleri üretir, bu metabolitler insan ve hayvanlar üzerinde toksikasyona sebep olur (Baytop, 1989; Gruenwald vd., 2007). Toksikasyona sebep olan metabolitler bitkinin farklı kısımlarında bulunabilir. Bu çalışmanın konusunu oluşturan bitkinin de içinde olduğu *Arum* türleri deri, ağız, dil ve boğazda tahrişe sebep olan bazı kimyasallar taşımaktadır (Töngel ve Ayan, 2005; Kocabaş, 2020; Qasem, 2020). Bu bitkiler okzalit, glikozitik saponinler, lignan ve neo-lignan içerir (Töngel ve Ayan, 2005). Bu bitkilerin yaprak ve rizomlarının pişirildikten sonra zehirli etkisinin kaybolduğu belirtilmiştir. *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*, GÜDÜL Yöresi'nde yaşayan vatandaşlar tarafından iyi bilinmekte, ilkbahar aylarında doğadan toplanarak yabani erik pestili ile pişirilmektedir. Zehirli etkisinden dolayı bitkiye ait yaprakların hayvanların yemediği ifade edilse de (Üçer, 2010), bitki örneği toplarken; domuzların bu bitkiyi dişlerini kullanarak topraktan çıkarıp rizom kısmını yediği yönünde bazı gözlemlerimiz olmuştur. Bu çalışmada elde edilen sitotoksikite sonuçları dikkate alındığında bitki rizomunun distile su ile yapılan ekstraksiyonunun uygulanan tüm sulandırmalarda in vitro sitotoksik etkisinin olmadığı, bu etki yapraklarından hazırlanan ekstraksiyonda in vitro gözlenmiştir.

Ekstraksiyon; karışım içerisindeki bir maddenin ayırma işlemi olup ayrılan maddeye ekstrakt denilmektedir. Ekstraksiyon işlemi; mekanik ve mekanik olmayan yöntemle yapılabilir. Sıkma ya da çizme ile yapılan ekstraksiyon mekanik, uygun bir

çözücü kullanılarak yapılan ekstraksiyon ise mekanik olmayan yöntem olarak adlandırılır (Başer, 2010). Ekstraksiyon işleminde sıcaklık, basınç, çözücü ve parçacık büyüklüğü istenilen kalitede ekstrakt alınmasını belirler (Başer, 2010). Farahmandfar vd. (2019) çözücü olarak etanol:distile su (50:50) kullanarak *Arum maculatum* yapraklarından hazırladıkları ekstraksiyonunda total flavonoid miktarının diğer çözücülere (distile su ve sadece etanol) göre daha yüksek bulunduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada *A. rupicola* Boiss. var. *rupicola* ekstraksiyon işlemi Farahmandfar vd. (2019) bildirildiği şekilde çözücü olarak etanol:distile su karışımı (50:50) kullanılarak yapılmıştır.

Bitkilerin içerdiği bazı kimyasal bileşikler antiparaziter etki göstermektedir. *Zingiber officinale*'nin *T. canis* üzerine olumsuz etkisinin flavonoidler, alkaloidler, tanenler, saponinler, glikozidleri içeren fitokimyasal bileşimi ile ilgili olabileceği ifade edilmiştir (Riaz vd., 2015). Flavonoidlerin DNA ve RNA inhibisyonu ile ya da enfeksiyöz etkenlerin çoğalma aşamalarını inhibe ederek etki gösterdiği bilinmektedir (Jassim ve Naji, 2003). Bu çalışmada *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'nın yapraklarından hazırlanan etanol ekstraktı ile farklı sürelerde inkübe edilen *T. canis* larvalarının hareketlerinin azaldığı, bazılarının Trypan blue boya solüsyonu ile boyandığı gözlenmiştir. Altı saat süreyle 10 mg/ml dilüsyon ile inkübasyonda tutulan tüm larvalar hareketli iken 12 saat sonrasında %9'u, 24 saat sonrasında ise %15'i hareketsiz, larvaların bazısı düz, bazısı kıvrık biçimde izlenmiştir. Yirmi mg/ml dilüsyonda ekstrakt ile altı saat inkübe edilen larvaların %20'si, 12 saat inkübasyonda %22'si, 24 saat inkübasyonda ise %32'si hareketsiz, 40 mg/ml dilüsyonda ekstrakt ile altı saat inkübe edilen larvaların %30'u, 12 saat inkübasyonda %37'si, 24 saat inkübasyonda ise %42'sinin hareketsiz olduğu görülmüştür. Inkübasyon süresi ve ekstrakt dozu arttıkça larvalarda hareketsizlik oranının arttığı gözlenmiştir.

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola*'nın rizom kısmı saponin bakımından zengindir (Üçer, 2010). Saponinler; steroid veya triterpenoid karakterde olup güçlü antimikrobiyal özellikleri sayesinde bitkiyi toprak altında mikroorganizmalardan, toprak üstünde ise böceklerden korur. Saponin miktarının yükselmesi bitkiyi zararlı hale getirir (Küçükkurt ve Fidan, 2008). Saponinler ayrıca parazitlerde hücre geçirgenliğini etkilemekte, tegümentte vakuolizasyon ve parçalanmaya sebep olmaktadır (Wang vd., 2010). Bu çalışmada bitkiye ait rizom kısmından hazırlanmış

ekstrakt ile inkube edilen *T. canis* larvalarının hareketlerinin azaldığı görülmüştür. Bu çalışmada bitkiye ait rizom kısmından hazırlanmış ekstraktın diluye edilmeden (direkt) uygulandığı grupta altı saat sonrası larvaların %10'u, 12 saat sonrası %12'si, 24 saat sonrası %17'si hareketsiz ve düz şekilde izlenmiştir. Rizom ekstraktı 1:2 oranında diluye edilerek uygulanan grupta 6 saat sonrası larvaların %5'i, 12 saat sonunda %7'si, 24 saat sonunda %9'u hareketsiz biçimde izlenmiştir. Ekstrakt 1:4 oranında diluye edilerek uygulanan grupta 6 saat sonununda larvaların %5'i, 12 saat sonunda %13'ü, 24 saat sonunda ise %11'i hareketsiz biçimde izlenmiştir. Aynı sürelerde inkube edilen yaprak ekstraktı sonuçları ile kıyaslandığında rizom ekstraktının larva üzerine etkisi daha düşük kalmıştır.

Bazı saponinlerin eritrosit üzerine olumsuz etkisi bilinmektedir (Gemede ve Ratta, 2018). Bu çalışmada bitkinin rizom kısmından hazırlanan ekstrakt diluye edilmeden (direkt) uygulandığında bile hemolitik etki göstermemiştir. Bu sonuç bitki örneklerinin doğadan toplanması esnasında domuzlar tarafından tüketildiğine dair gözlemlerimizi destekler niteliktedir. Buna karşılık yaprak ekstraktının hemolitik etkiye sahip olduğu in vitro tespit edilmiştir.

Toxocara canis yumurtalarının oldukça güçlü bir kabuk yapısına sahip olduğu ve bu özelliği sebebiyle doğa koşullarına ve dezenfektanlara karşı dayanıklı olduğu bilinmektedir (Bouchet vd., 1986). *Toxocara canis* yumurtaları üzerine çeşitli dezenfektanların etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada %2,5-10'luk iyodin, %2'lik glutaraldehit, %10'luk benzalkonyum klorid, %7'lik sodyum hipoklorid, %1'lik potasyum permanganat, %70'lik etil alkol, %10'luk potasyum hidroksit ve %3'lük fenol solüsyonları uygulanan yumurtalarda larva hareketliliği mikroskopik olarak incelenmiş, sadece iyodin solüsyonlarında larvaların hareketsiz olduğu, diğer dezenfektanlarda ise larvaların hareketli olduğu bildirilmiştir (Ayçiçek vd., 2001). Bu dezenfektanlarla inkübe edilen yumurtalar ile fareler deneysel olarak enfekte edilmiş, sadece iyodin solüsyonu ile muamele edilen yumurtalarla enfekte edilen farelere ait beyin dokusunda larvaya rastlanmadığı rapor edilmiştir (Ayçiçek vd., 2001). Bu çalışmada farklı sulandırma oranlarında (10-40 mg/ml) *A. rupicola* Boiss. var. *rupicola* yaprak ekstraktı ile farklı sürelerde (6, 12 ve 24 saat) inkübe edilen *T. canis* yumurta gruplarının tamamında larva gelişimi olmuştur. Yaprak ekstraktının rengine (koyu yeşil) bağlı olarak inkübasyon esnasında yumurta

renklerinde koyulaşma görülse de bu durum içindeki larva gelişimini etkilememiştir. Benzer durum rizom ekstraktı ile inkübe edilen yumurtalarda da grlmştir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Arum rupicola Boiss. var. *rupicola* Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinde bilinen bir bitkidir. Halk arasında bu bitki her derde deva olarak kabul edilmektedir. Özellikle ilaçlara karşı dirençliliğin artması geleneksel tıbbı yönelimi arttırmaktadır. Bu tez çalışmasında *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*'dan hazırlanan yaprak ve rizom ekstraktının in vitro ortamda *T. canis* yumurtalarında larva gelişimine etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ancak yumurtadan çıkan larva formuna karşı bitki ekstraktlarının bazı larvisidal etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alınarak bitkinin visceral larva migransa etkisinin belirlenmesi amacıyla in vivo deneylerle araştırılması, ayrıca bu bitkinin diğer parazitler üzerine etkinliğinin de belirlenmesi hususundaki çalışmaların planlanması önerilir.

KAYNAKLAR

- Adedapo, A. A., Otesile, A. T. ve Soetan, K. O. (2007). Assessment of the anthelmintic efficacy of an aqueous crude extract of *Vernonia amygdalina*. *Pharmaceutical Biology*, 45(7), 564-568.
- Adedapo, A. A., Shabi, O. O. ve Adedokun, O. A. (2005). Anthelmintic efficacy of the aqueous crude extract of *Euphorbia hirta* Linn in Nigerian dogs. *Veterinarski arhiv*, 75(1), 39-47.
- Afifi, F. U., Kasabri, V., Litescu, S., Abaza, I. F. ve Tawaha, K. (2017). Phytochemical and biological evaluations of *Arum hygrophilum* Boiss. (Araceae). *Pharmacognosy Magazine*, 13(50), 275-280.
- Ahmad, I. H., Mohammed, S. A. S., Rana, M. J., Salam, Y. A. Z., Waheed, J. J., ve Nidal, A. A. Z. (2014). Antimicrobial activities of six plants used in Traditional Arabic Palestinian Herbal Medicine. *African journal of microbiology research*, 8(38), 3501-3507.
- Ahmed, M. A. E., Faten, A. E. E., Emad, A. S. ve Hany, A. E. S. (2012). Traditional medicinal plants research in Egypt: Studies of antioxidant and anticancer activities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(5), 689-703.
- Alaca, K., Okumuş, E., Bakkalbaşı, E. ve Javidipour, I. (2021). Phytochemicals and antioxidant activities of twelve edible wild plants from Eastern Anatolia. *Turkey Food Science and Technology*, 42, e18021.
- Ali-Shtayeh, M. S., Jamous, R. M. ve Jamous, R. M. (2011). Herbal preparation use by patients suffering from cancer in Palestine. *Complementary therapies in clinical practice*, 17(4), 235-240.
- Al-Mustafa, A. H. ve Al-Thunibat, O. Y. (2008). Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11, 351-8.
- Alpınar, K. (2012). *Arum*. Bizimbitkiler. <http://www.bizimbitkiler.org.tr/> Erişim tarihi: 19.11.2021.
- Al-Ramahi, R., Jaradat, N., Zaid, A. N., Vincieri, F. F. ve Asmaa, M. (2014). Medicinal herbs and methodologies for their pharmaceutical compounding in The West Bank/Palestine. *Complementary therapies in clinical practice*, 20(4), 280-284.
- Altundağ, E. ve Öztürk, M. (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia Social and Behavioral Sciences*, 19, 756-777.
- Aştı, C. ve Öge, H. (2022). Evaluation of effect of albendazole and *Nigella sativa* combination in Visceral Larvae Migrants (*Toxocara canis*) in mice. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, (Basımda), doi: 10.33988/auvfd.877478.
- Atalay, T. ve Yıldız, K. (2020). *Arum maculatum* (yılanyastığı) bitkisi ve antiparaziter özellikleri. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 11 (3), 126-133.

- Atalay, T. ve Yıldız, K. (2022). Public and medical use of *Arum rupicola* Boiss var. *rupicola*. 7th International Congress on Veterinary and Animal Science (ICVAS), 20-22 October 2022.
- Atalay, T., Aslan, Ö. ve Karaca Bekdik, İ. (2015). Kedilerde pcr ile *Mycoplasma Haemofelis* ve *Candidatus Mycoplasma Haemominutum*'un tanısı. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 24(1), 1-6.
- Ayçiçek, H., Yarsan, E., Sarimehmetoğlu, H., Tanyüksel, M., Girinkardeşler, N. ve Özyurt, M. (2001). Efficacy of some disinfectants on embryonated eggs of *Toxocara canis*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 31(1), 35-39.
- Balos, M. M., Akan, H., Durmaz, E. N. ve İlğaz, F. Z. (2021). Araceae familyasına ait bazı taksonların süt pıhtılaştırma özelliklerinin araştırılması. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 4(3), 412-419.
- Başer, K. H. C. (2010). *Tıbbi ve Aromatik Bitkisel Ürünlerin Üretimi ve Kalite Kontrolü*. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Yayınları.
- Baytop, T. (1989). *Türkiye’de Zehirli Bitkiler, Bitki Zehirlenmeleri ve Tedavi Yöntemleri*. İstanbul: İstanbul üniversitesi Yayınları.
- Behçet, L. ve Yapar, Y. (2020). Çapakçur Vadisi (Bingöl-Türkiye)’nin Monokotil Petaloitleri. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9(özel sayı), 11-22.
- Ben Ramadan, L., Zwawi, A., Almaghour, H., Saad, M., Alfalah, A., Ben Amer, L. ve Auzi, A. (2012). Toxicity and antioxidant of *Arum cyrenaicum* Hurby. *The Egyptian Journal of Forensic Sciences and Applied Toxicology*, 12(2), 1-17.
- Bouchet, F., Boulard, Y., Baccain, D. ve Leger, N. (1986). Ultrastructural studies of alterations induced by microwaves in *Toxocara canis* eggs: prophylactic interest. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 72(6), 755-764.
- Bowman, D. D. (2014). *Georgis’ Parasitology for Veterinarians* (10. baskı). Elsevier Saunders, St Louis Missouri.
- Bowman, D. D. (2020). The anatomy of the third-stage larva of *Toxocara canis* and *Toxocara cati*. *Advances in Parasitology*, 109, 39-61.
- Bozyel, M. E., Merdamert Bozyel, E., Benek, A., Turu, D., Yakan, M. A. ve Canlı, K. (2020) Ethnomedicinal uses of Araceae taxa in Turkish Traditional Medicine. *International Journal of Academic and Applied Research*, 4(5), 78-87.
- CDC, (2022). Toxocariasis. <https://www.cdc.gov/dpdx/toxocariasis/index.html/> Erişim tarihi: 20.09.2022.
- Cole, C., Burgoyne, T., Lee, A., Stehno-Bittel, L. ve Zaid, G. (2015). *Arum Palaestinum* with isovanillin, linolenic acid and β -sitosterol inhibits prostate cancer spheroids and reduces the growth rate of prostate tumors in mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 1-8.
- Çalışkan, U. K., Aka, C. ve Öz, M. G. (2017). Plants used in Anatolian Traditional Medicine for the treatment of hemorrhoid. *Records of Natural Products*, 11(3), 235-250.
- Çeçen, C., Akan, H. ve Balos, M. M. (2020). Şanlıurfa yöresinde doğal yayılış gösteren *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* ve *Arum dioscoridis* Sm.

- taksonlarının anatomik ve morfolojik yönden incelenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(1), 135-147.
- Dalar, A. (2018). Plant taxa used in the treatment of diabetes in Van Province, Turkey. *International Journal of Secondary Metabolite*, 5 (3), 171-185.
- Dayısoylu, K. S. (2010). Changes of antioxidant activity in different forms and meal of *Arum maculatum* in Kahramanmaraş province from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 22(8), 6595.
- De Medeiros, M. L. S., de Moura, M. C., Napoleão, T. H., Paiva, P. M. G., Coelho, L. C. B. B., Bezerra, A. C. D. S. ve Da Silva, M. D. C. (2018). Nematicidal activity of a water soluble lectin from seeds of *Moringa oleifera*. *International journal of biological macromolecules*, 108, 782-789.
- Demir, İ. (2020). An ethnobotanical study of medicinal plants used in Hizan District (Bitlis-Turkey). *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Science*, 30(4), 732-741.
- Doğan, A. (2014). Pertek (Tunceli) yöresinde etnobotanik araştırmalar. Doktora Tezi. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.
- Dündar, Y., (2001). Fitokimyasallar ve Sağlıklı Yaşam. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 2, 131- 138.
- Ediriweera, E. R. H. S. S., Rajapakse, R. P. V. J. ve Ratnasooriya, W. D. (2020). Appraisal and in-vitro study on anthelmintic effect of *Vernonia cinerea* (Monerakudumbiya) against larvae of *Haemonchus contortus* and *Toxocara canis*. *Sri Lanka Journal of Indigenous Medicine*, 05(01), 319 – 328.
- El-Nahas, N. S., Abd-Elatty, A. F., Rady, A. A., El-Aswad, B. E. D. W., Attallah, A. M. ve Hemida, A. S. (2020). Anti-Toxocara effects of *Cassia nodosa* plant extract in experimentally infected mice. *Menoufia Medical Journal*, 33(1), 191-195.
- El-Sayed, N. M. (2017). Efficacy of *Zingiber officinale* ethanol extract on the viability, embryogenesis and infectivity of *Toxocara canis* eggs. *Journal of Parasitic Diseases*, 41(4), 1020-1027.
- Epe, C. (2009). Intestinal nematodes: biology and control. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 39(6), 1091-1107.
- Erbay, M. Ş. ve Sarı, A. (2018). Plants used in traditional treatment against hemorrhoids in Turkey. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 22(2), 110-132.
- Ereifej, K. I., Feng, H., Rababah, T., Almajwal, A., Alu'datt, M., Gammoh, S. I. ve Oweis, L. I. (2015). Chemical composition, phenolics, anthocyanins concentration and antioxidant activity of ten wild edible plants. *Food and Nutrition Sciences*, 6(7), 581.
- Farahmandfar, R., Kenari, R. E., Asnaashari, M., Shahrapour, D. ve Bakhshandeh, T. (2019). Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of *Arum maculatum* leaves extracts as affected by various solvents and extraction methods. *Food science & nutrition*, 7, 465-475.
- Gemedé, H. F. ve Ratta, N. (2018). Anti dietary factors in plant foods: potential health benefits and adverse effects. *Advanced Research Journal of Microbiology*, 5, 100-113.

- Gruenwald, J., Brendler, T. ve Jaenicke, C. (2007). *PDR for herbal medicines*. Thomson, Reuters.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M. T., (Edt.) (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını.
- Güneş S., Savran A., Paksoy M.Y. ve Çakılciöğlü U. (2018). Survey of wild food plants for human consumption in Karaisalı (Adana-Turkey). *Indian Journal of Traditional Knowlledge*, 17 (2), 290-298.
- Güralp, N. (1981). *Helmintoloji* (2. baskı). Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Haghighi, H. (2016). Essential oil of the leaves of *Arum conophalloides* (Araceae) from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12 (3), 11-16.
- Hammond, J. A., Fielding, D. ve Bishop, S. C. (1997). Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. *Veterinary research communications*, 21(3), 213-228.
- Hanser, E., Mehlhorn, H., Hoeben, D. ve Vlaminck, K. (2002). In vitro studies on the effects of flubendazole against *Toxocara canis* and *Ascaris suum*. *Parasitology research*, 89(1), 63-74.
- Hassanain, M. A., Shaapan, R. M. ve Abou-El-Dobal, S. K. (2015). Synergistic anthelmintic effect of citrus aurantifolia swingle seeds and mebendazole in Egyptian dogs infected with *Ancylostoma caninum* and *Toxocara canis*: trial to solve drug resistance problem. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 3(9), 104-111.
- Heim, C., Hertzberg, H., Butschi, A., Bleuler-Martinez, S., Aebi, M., Deplazes, P., Künzler, M. ve Štefanić, S. (2015). Inhibition of *Haemonchus contortus* larval development by fungal lectins. *Parasites & vectors*, 8(1), 1-10.
- Husein, A. I., Ali-Shtayeh, M. S., Jondi, W. J., Zatar, N. A. A., Abu-Reidah, I. M. ve Jamous, R. M. (2014). In vitro antioxidant and antitumor activities of six selected plants used in the Traditional Arabic Palestinian herbal medicine. *Pharmaceutical biology*, 52(10), 1249-1255.
- Ignat, I., Volf, I. ve Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- Işık, F. E. (2005). Edirne bölgesinde yetişen *Trifolium resupinatum* L. var. *microcephalum* bitkisinin fitokimyasal incelenmesi. Doktora Tezi. *Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Edirne.
- Jaradat, N. ve Abualhasan, M. (2016). Comparison of phytoconstituents, total phenol contents and free radical scavenging capacities between four *Arum* species from Jerusalem and Bethlehem. *Pharmaceutical Sciences*, 22(2), 120-125.
- Jassim, S. A. ve Naji, M. A. (2003). Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective. *Journal of applied microbiology*, 95(3), 412-427.
- Karahan, F., Kulak, M., Urlu, E., Gözüacık, H. G., Böyümez, T., Şekeroğlu, N. ve Doganturk, I. H. (2015). Total phenolic content, ferric reducing and DPPH scavenging activity of *Arum dioscoridis*. *Natural product research*, 29(17), 1678-1683.

- Kaval, İ. (2011). Geçitli (Hakkari) ve çevresinin etnobotanik özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van.
- Khalaf, N. A., Naik, R. R., Shakya, A. K., Shalan, N. ve Al-Othman, A. (2015). Antioxidant, anti-inflammatory and anti-diarrheal activity of ethanolic extract of medicinal plants grown in Jordan and Palestine. *Oriental Journal Of Chemistry*, 31, 1923-1928.
- Khalil, A., Dababneh, B. F. ve Al-Gabbiesh, A. H. (2009). Antimicrobial activity against pathogenic microorganisms by extracts from herbal Jordanian plants. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7, 103-106.
- Kılıç, M., Yıldız, K. ve Kılıç, F. M. (2020). Traditional uses of medicinal plants in Artuklu, Turkey. *Human Ecology*, 48(5), 619-632.
- Kıvanç, M. R. (2022). Investigation of biological and chemical effects of extracts from *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola*. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11(2), 574-585.
- Kianinia, S. ve Farjam, M. H. (2018). Chemical and biological evolution of essential oil of *Arum maculatum*. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 42(2), 395-399.
- Kimmerling, B. ve Migdal, J. S. (2003). *The Palestinian people: A history*. Cambridge: Harvard University Press.
- Kocabaş, Y. Z. (2020). Türkoğlu (Kahramanmaraş) ilçe florasında bulunan zehirli bitkiler. *Turkish Journal of Science and Health*, 1(1), 42-51
- Kocademir, S. ve Yıldız, K. (2022). *Toxocara canis* ve visceral larva migrans. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 13(1), 47-54.
- Kunter, İ., Ak, E., Atlı, B., Öztinen, N., Babri, A. ve Koşar, M. (2019) Anticarcinogenic activities of different extracts of *Arum rupicola* Boiss. var. *rupicola* from Turkey. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings*, 40(1), 31.
- Küçük Kurt, İ. ve Fidan, A. F. (2008). Saponinler ve bazı biyolojik etkileri. *Kocatepe Veterinary Journal*, 1, 89-96.
- Lis, H. ve Sharon, N. (1998). Lectins: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. *Chemical reviews*, 98(2), 637-674.
- Mackova, Z., Koblovská, R. ve Lapčík, O. (2006). Distribution of isoflavonoids in non-leguminous taxa—an update. *Phytochemistry*, 67(9), 849-855.
- Magaña-López, R., Luna-Pabello, V. M., Barrera-Godínez, J. A., de Velásquez, M. O. ve Fernández-Villagómez, G. (2016). Effect of mineral aggregates on the morphology and viability of *Toxocara canis* eggs. *Ecological Engineering*, 90, 125-134.
- Majumder, P., Mondal, H. A. ve Das, S. (2005). Insecticidal activity of *Arum maculatum* tuber lectin and its binding to the glycosylated insect gut receptors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(17), 6725-6729.
- Mansour, O., Salamma, R. ve Abbas, L. (2015). Screening of antibacterial activity in vitro of *Arum maculatum* L. leaves extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 31(2), 231-234.

- Marchiondo, A. A. (Edt.) (2016). *Pyrantel parasiticide therapy in humans and domestic animals*. London: Academic Press.
- Mohammed, S. A. S., Anhar, A. A. A. ve Rana, M. J. (2013). Antimicrobial activity of Palestinian medicinal plants against acne-inducing bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 7(21), 2560-2573.
- Mosaddegh, M., Naghibi, F., Moazzeni H., Pirani A. ve Esmaeili S. (2012). Ethnobotanical survey of herbal remedies traditionally used in Kohgiluyeh va Boyer Ahmad province of Iran. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1), 80-95.
- Nadiroğlu, M. (2017). Karlıova (Bingöl) ilçesinin etnobotanik özellikleri. Yüksek lisans tezi. *Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Bingöl.
- Naser, A., Vahid, R. K., Khairollah, A., Masoumeh, T., Abangah, G., Morovat, T. ve Asadollahi, P. (2014). Analgesic effects of *Arum maculatum* plant extract in rats compared to other routine analgesics. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(31), 1025-1030.
- Obeidat, M., Shatnawi, M., AL-Alawi M., ALZu'bi, E., AL-Dmoor, H., AL-Qudah, M., ELQudah, J. ve Otri, I. (2012). Antimicrobial activity of crude extracts of some plant leaves. *Research Journal of Microbiology*, 7(1), 59-67.
- Orengo, K. O., Maitho, T., Mbaria, J. M., Maingi, N. ve Kitaa, J. M. (2016). In vitro anthelmintic activity of *Allium sativum*, *Allium cepa* and *Jatropha curcas* against *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 10(21), 465-471.
- Öge, S. (2018). Ascaridoidea. In: Doğanay, A. (Edt). *Helmintoloji* (ss. 248-274). Ankara: Ankara Nobel Tıp Kitapevleri.
- Özdemir, E. ve Alpmar, K. (2015) An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladağlar (Nigde – Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 53-65.
- Özok, N. ve Güneş, İ. (2019). Streptozotosin kaynaklı diyabetik sıçanlarda *Arum rupicola*'nın in vivo antioksidan potansiyeli. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(3), 866-874.
- Özüdoğru, B., Akaydın, G., Erik, S. ve Yeşilada E. (2011). Inferences from an ethnobotanical field expedition in the selected locations of Sivas and Yozgat Provinces (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 85-98.
- Perçin, I. (2006). Soya fasulyesinden (Glycine Max) lektin izolasyonu, saflaştırılması ve elektroforetik karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Pinelli, E., Brandes, S., Dormans, J., Gremmer, E. ve Van Loveren, H. (2008). Infection with the roundworm *Toxocara canis* leads to exacerbation of experimental allergic airway inflammation. *Clinical & Experimental Allergy*, 38(4), 649-658.
- Plants of the world online, (2021). *Arum rupicola* var. *rupicola*. <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:77167580-1/> Erişim tarihi: 17.11.2021.

- Polat, R., Cakilcioglu, U. ve Satıl, F. (2013) Traditional uses of medicinal plants in Solhan (Bingöl-Turkey). *Journal of ethnopharmacology*, 148(3), 951–963.
- Pozio, E. (2015). Foodborne nematodes (1. baskı). In: Gajadhar, A. (Edt.), *Foodborne Parasites in the Food Supply Web*. Amsterdam: Woodhead Publishing, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-332-4.00008-4>.
- Qasem, J. R. G. (2020). *The coloured atlas of medicinal and aromatic plants of jordan and their uses* (3. baskı). Newcastle: Cambridge Scholars Publishing.
- Reis, M., Trinca, A., Ferreira, M. J. U., Monsalve-Puello, A. R. ve Grácio, M. A. A. (2010). Toxocara canis: potential activity of natural products against second-stage larvae in vitro and in vivo. *Experimental Parasitology*, 126(2), 191-197.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L. ve Zhang, L., (2003). Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal Research Reviews*, 23(4), 519-534.
- Riaz, H., Begum, A., Raza, S. A., Khan, Z. M., Yousaf, H. ve Tariq, A. (2015). Antimicrobial property and phytochemical study of ginger found in local area of Punjab, Pakistan. *International Current Pharmaceutical Journal*, 4(7), 405-409.
- Ríos-de Álvarez, L., Jackson, F., Greer, A., Bartley, Y., Bartley, D. J., Grant, G. ve Huntley, J. F. (2012a). In vitro screening of plant lectins and tropical plant extracts for anthelmintic properties. *Veterinary Parasitology*, 186(3-4), 390-398.
- Ríos-de Álvarez, L., Jackson, F., Greer, A. W., Grant, G., Jackson, E., Morrison, A. A. ve Huntley, J. F. (2012b). Direct anthelmintic and immunostimulatory effects of oral dosing semi-purified phytohaemagglutinin lectin in sheep infected with *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary parasitology*, 187(1-2), 267-274.
- Saari, S., Nareaho, A. ve Nikander, S. (2018). *Canine parasites and parasitic diseases*. Cambridge: Academic Press.
- Safari, E., Amiri, M., Bahador, A., Amiri, M. ve Esmaeili, D. (2014). The study of antibacterial effects of alcoholic extracts of *Arum maculatum*, *Allium hirtifolium* and *Teucrium polium* against nosocomial resistance bacteria. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), 301- 605.
- Salles, H. O., Braga, A. C. L., do Nascimento, M. T. D. S. C., Sousa, A. M. P., Lima, A. R., Vieira, L. D. S., Cavalcante, A. C., Egito, A. S. ve Andrade, L. B. D. S. (2014). Lectin, hemolysin and protease inhibitors in seed fractions with ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23, 136-143.
- Schippmann, U., Leaman, D. ve Cunnigham, A. B. (2006). Cultivation and wild collection of Medicinal and aromatic plants under sustainability aspects. R.J. Bogers, L.E. Craker and D. Lange (eds.), *Medicinal and Aromatic Plants*, (pp. 75-95). Dordrecht: Springer.
- Schnieder, T., Laabs, E. M. ve Welz, C. (2011). Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Veterinary parasitology*, 175(3-4), 193-206.

- Sena-Lopes, Â., Remião, M. H., Alves, M. S. D., da Rocha Fonseca, B., Seixas, F. K., Collares, T. ve Borsuk, S. (2020). Cell viability analysis of *Toxocara cati* larvae with live/dead® viability/cytotoxicity kit. *Experimental parasitology*, 212, 107871.
- Shields, J. A. (1984). Ocular toxocariasis. A review. *Survey of ophthalmology*, 28(5), 361-381.
- Silva, R. R., Silva, C. R., Santos, V. F., Barbosa, C. R., Muniz, D. F., Santos, A. L. E., Santos, M. H. C., Rocha, B. A. M., Batista, K. L. R., Costa-Júnior, L. M., Coutinho, H. D. M., Teixeira, C. S. ve Teixeira, C. S. (2019). Parkia platycephala lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of *Haemonchus contortus*. *Microbial pathogenesis*, 135, 103629.
- Soares, A. M. D. S., Wanderley, L. F. ve Costa, L. M. (2019). The potential of plant and fungal proteins in the control of gastrointestinal nematodes from animals. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 28, 339-345.
- Taylor, M. A., Coop, R. L. ve Wall, R. L. (2007). *Veterinary Parasitology* (3. Baskı). Malatya: Medipress.
- Tetik, F., Civelek, S. ve Cakilcioglu, U. (2013). Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1), 331-346.
- Tofighi, Z., Shahpar, Y., Taheri, A., Tavakoli, S., Asatouri, R., Eftekhari, M., Vazirian, M., Ardekani, M. R. S., Nargess, S. ve Iamardi, S. (2021). Identification of isoflavonoids in antioxidant effective fraction of *Arum rupicola* Boiss. leaves. *Journal of Medicinal Plants*, 20(79), 14-23.
- Toparlak, M. ve Tüzer, E. (2000). *Veteriner Helmintoloji*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları.
- Töngel, M. Ö. ve Ayan, İ. (2005) Samsun İli Çayır ve Meralarında Yetişen Bazı Zararlı Bitkiler ve Hayvanlar Üzerindeki Etkileri. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 20(1), 84-93.
- Tuzlacı, E. ve Erol M. K. (1999). Turkish folk medicinal plants. Part II: Eğirdir (Isparta). *Fitoterapia*, 70, 593-610.
- Tuzlacı, E. ve Eryaşar Aymaz, P. (2001). Turkish folk medicinal plants, part IV: Gönen (Balıkesir). *Fitoterapia*, 72(4), 323-343.
- Türker, A. U. ve Yıldırım, A. B. (2013). Evaluation of antibacterial and antitumor activities of some Turkish endemic plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(6), 1003-1010.
- Ugulu, I., Aydın, H., Yorek, N. ve Dogan, Y. (2008). The impact of endemism concept on environmental attitudes of secondary school students. *Natura Montenegrina*, 7, 165-173.
- Uguzlar, H., Maltas, E. ve Yıldız, S. (2012). Screening of phytochemicals and antioxidant activity of *Arum dioscoridis* seeds. *Journal of Food Biochemistry*, 36(3), 285-291.
- Üçer, M. (2010) Sivas Yöresinde Yerel Bitkilerden Yapılan İlaçlar. *Bitkilerle Tedavi Sempozyumu*. İstanbul, Türkiye, 5-6 Haziran.

- Van Damme, E. J., Goossens, K., Smeets, K., Van Leuven, F., Verhaert, P. ve Peumans, W. J. (1995). The major tuber storage protein of araceae species is a lectin (characterization and molecular cloning of the lectin from *Arum maculatum* L.). *Plant physiology*, 107(4), 1147-1158.
- Wang, G. X., Han, J., Zhao, L. W., Jiang, D. X., Liu, Y. T. ve Liu, X. L. (2010). Anthelmintic activity of steroidal saponins from *Paris polyphylla*. *Phytomedicine*, 17(14), 1102-1105.
- Western College of Veterinary Medicine (2021). *Toxocara canis*. <https://wcv.m.usask.ca/learnaboutparasites/parasites/toxocara-canis.php/> Erişim tarihi: 08.10.2022.
- WHO (2002). Traditional Medicine Strategy 2002-2005, World Health Organization, Geneva.http://www.wpro.who.int/health_technology/book_who_traditional_medicine_strategy_2002_2005.pdf
- Wu, T. K. ve Bowman, D. D. (2022) *Toxocara canis*. *Trends in Parasitology*, 38(8), 709-710.
- Yeşil, Y. ve Akalın, E. (2009) Folk medicinal plants in K recik area (Ak adağ/Malatya Turkey). *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(3), 207–220.
- Zamprogno, T. T., Lopes, A. D. C. G., Lacerda, T., Hiura, E., da Fonseca, L. A., Senna, T., ... ve Braga, F. R. (2015). Activity of *Euterpe edulis* martius, *Mikania glomerata* spreng, and *Mikania laevigata* schultz bip. extracts on gastrointestinal nematodes *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, 10(3), e27495.
- Zhang, Y., Zhang, S., Gu, X., Yang, G. ve Yue, X. (2019). Morphological observations of *Toxocara canis* egg development in vitro. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 37(4), 486-489.