# PORSUK AĞACI BİTKİSİYLE OLASI BİR ZEHİRLENMENİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

**Meliha ÖZTEPE**

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# PORSUK AĞACI BİTKİSİYLE OLASI BİR ZEHİRLENMENİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Meliha ÖZTEPE
0000-0002-1748-2056

Prof. Dr. Özer YILMAZ
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI

BURSA – 2025
**Her Hakkı Saklıdır**
**TEZ ONAYI**

# ÖZET

Yüksek Lisans/Doktora Tezi

PORSUK AĞACI BİTKİSİYLE OLASI BİR ZEHİRLENMENİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

**Meliha ÖZTEPE**

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Adli Bilimler Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Özer YILMAZ

Geçmişten bugüne zehirli bitkiler, intihar ve suikast gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Türkiye, bitki çeşitliliği açısından zengin bir coğrafya olup, zehirli türlerden biri olan porsuk ağacıyı (*Taxus baccata*) da yaygın olarak barındırmaktadır. Dünya genelinde *Taxus baccata* kaynaklı zehirlenme vakaları önemli bir sayıdadır ve çoğu ölümle sonuçlanmaktadır. Bu vakaların aydınlatılmasında morfolojik ve kimyasal çalışmalar bulunsa dahi, zehirlenmeye özgü kesin bir bulgu bulunmamaktadır. *Taxus baccata* zehirlenmelerinde fiziksel incelemenin zorluğu ve toksikolojik analizde özgül bir belirteç olmaması, kesin tanı için moleküler yöntemlerin kullanımını gerekli kılmaktadır. Canlıların kendine özgü DNA dizilerinden yola çıkılarak birçok adli vaka aydınlatılabildiğinden, bu çalışmada *Taxus baccata* zehirlenmesi şüphesi taşıyan vakalarda tür tespiti için moleküler yöntemlerin uygulanabilirliği araştırılmıştır. Bu kapsamda, morfolojik olarak tanımlanamayacak durumdaki *Taxus baccata* yaprak örnekleri, belirli sürelerle sindirim enzimlerine maruz bırakılmış ve her örnekten DNA izolasyonu yapılmıştır. Ardından, Internal Transcribed Spacer (*ITS1* ve *ITS2*) bölgeleri PCR ile çoğaltılarak çift yönlü sekanslama gerçekleştirilmiş ve elde edilen diziler biyoinformatik analizlerle değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, sindirim enzimlerinin *Taxus baccata* DNA'sında anlamlı bir bozulmaya yol açmadığı tespit edilmiş ve tür tayininde moleküler yöntemlerin güvenilirliği bir kez daha doğrulanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** DNA, *Taxus baccata*, zehirlenme
**2025, xvi + 68 sayfa.**

## ABSTRACT

MSc/PhD Thesis

DETERMINATION of POSSIBLE POISONING with YEW PLANT by MOLECULAR METHODs

**Meliha ÖZTEPE**

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Forensic Sciences

**Supervisor:** Prof. Dr. Özer YILMAZ

Throughout history, poisonous plants have been used for purposes such as suicide and assassination. Türkiye, being a country rich in plant diversity, is home to numerous toxic species, including the yew tree (*Taxus baccata*), which is commonly found across the region. Globally, poisoning cases related to *Taxus baccata* are significant in number and often result in fatal outcomes. Although morphological and chemical analyses are utilized in the investigation of such cases, there is still no definitive finding specific to *Taxus baccata* poisoning. The difficulty of physical examination and the lack of specific markers in toxicological analysis make the use of molecular methods essential for a conclusive diagnosis. Given that many forensic cases have been resolved through species-specific DNA sequencing, this study aimed to investigate the applicability of molecular techniques for species identification in cases suspected of *Taxus baccata* poisoning. For this purpose, *Taxus baccata* leaf samples that could not be morphologically identified were exposed to digestive enzymes for defined durations, and DNA was subsequently isolated from each sample. The Internal Transcribed Spacer (*ITS1* and *ITS2*) regions were amplified via PCR, followed by bidirectional sequencing. The resulting sequences were then evaluated through bioinformatics analyses. As a result, it was determined that digestive enzymes did not cause significant degradation of *Taxus baccata* DNA, and the reliability of molecular methods for species identification was once again confirmed.



**Key words:** DNA, *Taxus baccata*, poisoning
**2025, xvi + 68 pages.**

## ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana ışık tutan, zorlandığım noktalarda teşvikleri ve yapıcı eleştirileriyle çözüm yolu bulmamı sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Özer YILMAZ'a,

Tezimle ilgili tüm çalışmalarımda desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ferda ARI, Sayın Prof. Dr. Özgür VATAN, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Elif UZ YILDIRIM, Sayın Doç. Dr. Figen ERSOY, Sayın Prof. Dr. Gamze YILDIZ, Sayın Dr. Sibel ÇINAR ASA hocalarıma,

Tezimin kaynak araştırması kısmında, Türkiye'de görülen vaka ile ilgili bilgilere erişmemde kolaylık sağlayan, tüm sorularıma ilgiyle cevap veren Uzman Dr. Mehmet Ali MALKOÇ'a,

Deney aşamalarında yardımlarını esirgemeyen sevgili Ajsena ÇEKAN'a,

Sadece eğitim hayatımda değil hayatımın her anında yanımda olan canım arkadaşım Ece TUNA'ya,

Her zaman bana güç veren ve tez sürecimde tecrübelerinden yararlandığım sevgili eşim Melih ÖZTEPE'ye,

FHIZ-2024-2066 No'lu Hızlı Destek Projesi (HZP) kapsamında, tez çalışmalarının bir kısmında malzeme desteği sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Meliha ÖZTEPE
14/05/2025

# İÇİNDEKİLER

Sayfa
ÖZET ..... viii
ABSTRACT ..... ix
ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜR ..... x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ ..... xii
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... xvi
1. GİRİŞ ..... 1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI ..... 4
2.1. Adli Bilimler ve Adli Genetik ..... 4
2.2. Zehirli Bitkilerle İlgili Genel Bilgiler ..... 8
2.3. Sekonder Metabolitler ..... 10
2.3.1. Terpenler ..... 11
2.3.2. Alkaloitler ..... 12
2.3.3. Fenolik bileşikler ..... 13
2.4. Porsuk Ağacı (*Taxus baccata*) ile İlgili Genel Bilgiler ..... 14
2.4.1. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*)'nın botanik özellikleri ..... 18
2.4.2. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*)'nın kullanım alanları ..... 19
2.4.3. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*) ile olası zehirlenmenin tespiti ..... 21
2.4.4. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*)'nda bulunan sekonder metabolitlerin belirteç olarak kullanılması ..... 22
2.4.5. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*) zehirlenmesiyle ilgili örnek vakalar ..... 24
2.5. *ITS* bölgesi ve Kullanım Alanları ..... 27
2.6. BLAST ..... 28
3. MATERYAL ve YÖNTEM ..... 30
3.1. Materyal ..... 30
3.1.1. Kimyasal maddeler ..... 30
3.1.2. Sarf malzemeler ..... 30
3.1.3. Cihazlar ..... 31
3.2. Yöntem ..... 31
3.2.1. *Taxus baccata* örneklerinin toplanması ve saklanması ..... 31
3.2.2. *Taxus baccata* yapraklarının sindirim sıvılarıyla muamele edilmesi ..... 32
3.2.3. DNA izolasyonu ..... 34
3.2.4. Nanodrop cihazı ile bitki DNA örneklerinin saflık tayini ..... 36
3.2.5. DNA örneklerinin agaroz jel elektroforez ile görüntülenmesi ..... 37
3.2.6. PCR ile *ITS* bölgelerinin çoğaltılması ..... 38
3.2.7. PCR ürünlerinin agoroz jel elektroforezi ile görüntülemesi ..... 39
3.2.8. DNA dizi analizi ve türün belirlenmesi ..... 39
4. BULGULAR ..... 40
4.1. CTAB yöntemi ile *Taxus baccata* örneklerinden DNA izolasyonu ..... 40
4.2. İzolasyon sonrası bitki DNA'larında miktar ve saflık tayini ..... 40
4.3. İzolasyon sonrası bitki DNA'larının agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi ..... 41
4.4. PCR ile *ITS* bölgelerinin çoğaltılması ..... 42
4.5. PCR ürünlerinin agoroz jel elektroforezi ile görüntülemesi ..... 42
4.6. DNA dizi analizi ve türün belirlenmesi ..... 43
5. TARTIŞMA ve SONUÇ ..... 50
KAYNAKLAR ..... 57
ÖZGEÇMİŞ ..... 68

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| Simgeler | Açıklama |
|---|---|
| % | Yüzde |
| °C | Santigrat derece |
| µl | Mikrolitre |
| A | Absorbans |
| C | Karbon |
| cm | Santimetre |
| $dH_2O$ | Distile (Saf) Su |
| dk | Dakika |
| g | Gram |
| HCl | Hidroklorik Asit |
| M | Molarite |
| m | Metre |
| ml | Mililitre |
| NaCl | Sodyum Klorür |
| pH | Potential of Hydrogen (Hidrojenin Gücü) |
| sa | Saat |
| UV | Ultraviyole |
| V | Volt |
| v/v | Hacim/Hacim |
| w | Weight (Kütle) |

| Kısaltmalar | Açıklama |
|---|---|
| 10-DAB III | 10-Deasetilbakatin III |
| 10-DAT | 10-Deasetiltaxol |
| 3,5-DMP | 3,5-Dimetoksifenol |
| BAC-III | Bakatin-III |
| BLAST | Basic Local Alignment Search Tool (Temel Bölgesel Hizalama Arama Aracı) |
| CAP-3 | Contig Assembly Program version 3 |
| CTAB | Setil Trimetil Amonyum Bromür |
| DNA | Deoksiribo Nükleik Asit |
| EDTA | Etilen Diamin Tetraasetik Asit |
| EKG | Elektrokardiyografi |
| EtBr | Ethidium Bromide (Etidyum Bromür) |
| *ETS* | External Transcribed Spacer |
| GC-MS | Gas Chromatography–Mass Spectrometry (Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometrisi) |
| HPLC | High-Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromotografisi) |
| *ITS* | Internal Transcribed Spacers |

| | |
|---|---|
| LC-MS/MS | Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi) |
| MatK | Maturase K |
| NCBI | National Center for Biotechnology Information (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) |
| PCR | Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) |
| PMC | Publication Medicine Central (Tıp Yayınları Merkezi) |
| PVP | Poly Vinyl Polypyrrolidone |
| RbcL | Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase Large subunit |
| rDNA | Ribozomal DNA |
| RFLP | Restriction Fragment Length Polymorphism (Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluğu Polimorfizmi) |
| RNA | Ribonükleik Asit |
| RPM | Revolutions per Minute (Dakika Başına Devir) |
| SNP | Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmleri) |
| STR | Short Tandem Repeats (Kısa Tandem Tekrarlar) |
| TE | Tris-EDTA |
| *TrnL-F* | Transfer RNA Leucine |
| VNTR | Variable Numbers of Tandem Repeats (Değişken Sayıda Tandem Tekrarlar) |

# ŞEKİLLER DİZİNİ


| | | Sayfa |
|---|---|---|
| Şekil 2.1.1. | Alphonse Bertillon'un kimlik belirlemede kullandığı ölçekler | 5 |
| Şekil 2.1.2. | Francis Galton'un 'Fingerprints' adlı eseri | 6 |
| Şekil 2.1.3. | Locard'ın 'Değişim Prensibi' Şeması | 7 |
| Şekil 2.4.1. | *Taxus* cinsine ait türlerin dünyada yayılış haritası | 15 |
| Şekil 2.4.2. | *Taxus baccata* türünün Türkiye genelinde yayılış haritası | 16 |
| Şekil 2.4.3. | *Taxus baccata* türünün dünya genelinde yayılış haritası | 16 |
| Şekil 2.4.4. | Türkiye'nin en yaşlı ağacı olan 4120 yıllık porsuk bitkisi | 17 |
| Şekil 2.4.1.1. | *Taxus baccata*'nın iğne şeklinde yaprakları ve kırmızı/mor renkli meyvesi | 18 |
| Şekil 2.4.2.1. | Porsukla zehirlenme vakalarında kullanılan yöntemler | 21 |
| Şekil 2.4.4.1. | Belirteç olarak sıklıkla kullanılan Taksin A, Taksin B ve 3,5-DMP bileşiklerinin kimyasal yapısı | 24 |
| Şekil 2.4.5.1. | *Taxus baccata* yapraklarının yenmesi ile meydana gelen zehirlenme vakasına ait deliller | 24 |
| Şekil 2.4.5.2. | Otopsi sonucu midede görülen porsuk ağacı yaprakları | 25 |
| Şekil 2.4.5.3. | Otopsi sırasında tespit edilen yutak ve yemek borusunda kalmış porsuk yaprak parçaları | 25 |
| Şekil 2.4.5.4. | Zehirlenme vakasında ağız ve çevresinde gözlenen yaprak parçaları | 26 |
| Şekil 2.5.1. | *ITS(1-2)* gen kümeleri ve primer çiftlerinin (F-R) bitki rDNA'sındaki temsili lokalizasyonları | 28 |
| Şekil 3.2.1.1. | Örneklerin alındığı porsuk ağacının uzaktan (A) ve yakından (B) görüntüsü. Ön-hazırlık aşaması uygulanan yaprak örnekleri (C) | 32 |
| Şekil 3.2.2.1. | *Taxus baccata* yapraklarıyla hazırlanan örnek grupları | 33 |
| Şekil 3.2.2.2. | Örneklerin belirli zaman periyotları boyunca inkübasyon aşamaları | 34 |
| Şekil 3.2.3.1. | CTAB yöntemi izolasyon aşamaları | 36 |
| Şekil 3.2.5.1. | Agaroz jel elektroforez sistemine ait parçalar | 38 |
| Şekil 4.1.1. | %96'lık etil alkol inkübasyonu aşamasında DNA ipliğinin oluşması | 40 |
| Şekil 4.3.1. | Agaroz jel elektroforezi sonucunda yürütülen DNA'ların UV ışık altındaki görüntüsü | 41 |
| Şekil 4.5.1. | *Taxus baccata ITS*-PCR Sonrası Jel Görüntüsü | 42 |
| Şekil 4.5.2. | Jel görüntüsü kullanılarak bant yoğunluklarının hesaplanma aşaması | 43 |
| Şekil 4.6.1. | A örneğinin *ITS*2-R kullanılarak okunan dizisinden 302 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2) | 44 |
| Şekil 4.6.2. | A örneğinin BLAST veri tabanında yer alan türlere benzerlik oranlarının görüntüsü | 44 |

| | | |
|---|---|---|
| Şekil 4.6.3. | B örneğinin *ITS*2-F kullanılarak okunan dizisinden 283 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2) | 45 |
| Şekil 4.6.4. | B örneğinin *ITS*2-F kullanılarak okunan dizisinden 283 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2) | 45 |
| Şekil 4.6.5. | D örneğinin *ITS*2-R kullanılarak okunan dizisinden 294 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2) | 46 |
| Şekil 4.6.6. | E örneğinin *ITS*2-R kullanılarak okunan dizisinden 364 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2) | 46 |
| Şekil 4.6.7. | F örneğinin *ITS*2-R kullanılarak okunan dizisinden 404 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2) | 47 |
| Şekil 4.6.8. | Örneklerin(A-F) Clustal Omega programında alt alta karşılaştırılması | 48 |
| Şekil 4.6.9. | CAP-3 programı kullanılarak elde edilen devamlı diziler | 49 |
| Şekil 4.6.10. | Devamlı dizilerin BLAST veri tabanında karşılaştırılması sonucunda %100 benzerlik bulunan *Taxus baccata* ve diğer Taxus türleri | 49 |

# ÇİZELGELER DİZİNİ


| | | Sayfa |
|---|---|---|
| Çizelge 2.3.1.1. | Bazı önemli terpenler ve işlevleri | 12 |
| Çizelge 2.3.2.1. | Bazı önemli alkaloitler ve işlevleri | 13 |
| Çizelge 2.3.3.1. | Bazı önemli fenolik bileşikler ve işlevleri | 14 |
| Çizelge 2.4.1. | *Taxus baccata* türünün taksonomik sınıflandırılması | 15 |
| Çizelge 2.4.4.1. | *Taxus baccata* türünün yapısında bulunan önemli sekonder metabolitler | 23 |
| Çizelge 2.6.1. | BLAST programları | 29 |
| Çizelge 3.1.1.1. | Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler | 30 |
| Çizelge 3.1.2.1. | Tez çalışmasında kullanılan sarf malzemeler | 30 |
| Çizelge 3.1.3.1. | Tez çalışmasında kullanılan cihazlar | 31 |
| Çizelge 3.2.2.1. | *Taxus baccata* yapraklarından kontrol ve deney gruplarının hazırlanış şeması | 33 |
| Çizelge 3.2.6.1. | *ITS* bölgesine ait primerlerin baz dizisi | 38 |
| Çizelge 3.2.6.2. | PCR bileşenleri ve döngü koşulları | 39 |
| Çizelge 4.2.1. | Nanodrop okuması sonucunda DNA'ların miktar ve saflık değerleri | 41 |
| Çizelge 4.5.1. | Image J programı ile belirlenen örnekler arasındaki değişim oranları | 43 |

# 1. GİRİŞ

Organizmada hastalığa ya da ölüme sebebiyet verecek düzeyde etkisi olan bitkilere; zehirli bitkiler adı verilmektedir (Aplin, 1976). Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre her yıl 300 bin kişi zehirlenme sebebiyle ölmektedir (Selçuk & Çakar, 2015). Ulusal Zehir Danışma Merkezi (UZEM) 2018 raporuna göre 217 323 zehirlenme vakasının; 15 3623'ü insan sağlığı ürünleri, 19 561'i ev kimyasalları, 8945'i tarım kimyasalları, 8834'ü gıdalar, 8788'i endüstriyel kimyasallar, 6182'si bağımlılık yapan kimyasallar, 4829'u kozmetik kimyasalları, 3254'ü hayvanlar, 1630'u bitkiler, 1026'sı hayvan sağlığı ürünleri, 651'i bilinmeyen ajanlardan kaynaklandığı belirlenmiştir. Vakalarda zehirlenmeye neden olan olay/durumların; 102 531'i intihar, 80 402'si kaza, 10 028'i yanlış kullanım, 9122'si diğer sebepler (yan etki, bağımlılık, tıbbi işlemlerden kaynaklı (iyatrojenik), mesleki, yangın), 7359'u besin zehirlenmesi, 5175'i çevresel, 2706'sı ise bilinmeyen sebepler ile oluştuğu raporlanmıştır. (Halk sağlığı genel müdürlüğü, 2021). UZEM raporuna göre bitki kaynaklı zehirlenmeler (1630 vaka), toplam vaka miktarına (217 323) göre sayısal olarak az olmasına rağmen ölümle sonuçlanan vakaların miktarı yüksek olduğu için önem arz etmektedir (Özcan & İkincioğullari, 2009).

Türkiye'deki 12 000 bitki türünden yaklaşık 250 tanesinin zehirli olduğu bilinmektedir (Kılıç vd., 2020). Zehirli bitkiler toksik etkisini; sekonder metabolitler olarak adlandırılan ve genellikle metabolizmalarının yan ürünü olarak sentezlenen bileşikler aracılığıyla göstermektedir. Toksik bileşikler; bitkinin bulunduğu şartlara ve yer aldığı kısımlara (gövde, yaprak, meyve vb.) göre farklı miktarda sentezlenmektedir (Özay & Pehlivan, 2024). Bu bileşikler, maruz kalınan doza ve bireyin bünyesine bağlı olarak vücutta zararlı yan etkilere sebep olurlar (Kupper & Reichert, 2009).

Porsuk ağacı (*Taxus baccata*), Türkiye'de doğal olarak yetişen zehirli bitki türlerinden biridir. Marmara, Karadeniz ve Akdeniz ormanlarında 2300 m yüksekliklere kadar bulunabilen uzun ömürlü bir ağaçtır (Erdemoğlu, 1999). Dikkat çekici kırmızı meyvelere sahip olan porsuk ağacı halka açık alanlarda süs bitkisi olarak da kullanılmaktadır (Müftüoğlu vd., 2020). Kırmızı renkli meyvesi dışında tüm kısımları toksik etkiye sahiptir. Bu etkiye içerdiği Taksin A ve Taksin B alkaloitleri neden olmaktadır. 70 kg

ağırlığındaki bir yetişkin için yaklaşık 42-91 g porsuk yaprağı ölümcüldür (Reijnen vd., 2017). İnsanda oral yolla alımda mide bulantısı, karın ağrısı, kusma ve kalp çarpıntısı gibi semptomlara yol açar. Bu semptomları taşikardi ve kalbin durması takip eder (Willaert vd., 2002).

Tüm zehirlenme olayları gibi bitki zehirlenmeleri de adli vaka kapsamında değerlendirilmektedir. Adli vakalarda ana hedef; kısa zamanda doğru sonuçlara ulaşabilmektir. Zehirlenmeye neden olan bitki tür(ler)inin hızlı şekilde tespiti, ölüm gerçekleşmemiş vakalarda uygulanacak tedavi prosedürlerinin belirlenmesi bakımından da oldukça önemlidir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2007). Adli olayların aydınlatılmasında birçok bilim dalından faydalanılır. Bunlardan biri adli genetiktir. Adli genetik, biyolojik materyallerde bulunan deoksiribo nükleik asit (DNA) molekülünden faydalanarak olay(lar) ve kişi(ler) arasında bağlantı kurulmasına yardımcı olmaktadır. Özellikle Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yönteminin keşfi ile birlikte genetik temelli analizler, vakaların aydınlatılmasında başvurulan en güvenilir yol olmuştur (Yükseloğlu, 2024).
*Taxus baccata* zehirlenmeleri ile ilgili literatür incelendiğinde, vakaların aydınlatılmasına yönelik kesin bir analiz yöntemi olmadığı görülmektedir (Malkoç & Üzün, 2021). Bazı vakalardaki otopsi sonuçları incelendiğinde, sindirim organlarında bitki parçalarına rastlanılmasına rağmen bitki türünün gözle ayırt edilebilmesinin zor olduğu görülmektedir (Reijnen vd., 2017). Bitkinin çay formunun içilmesi de zehirlenmeye yol açabildiği için otopside benzer şekilde bitki kalıntılarının gözlenemediği vakalar olmuştur (Pietsch vd., 2007). Fiziksel bir iz bulunmadığı takdirde sadece organların incelenmesiyle *Taxus baccata* zehirlenmesi ayırt edilememektedir (Grobosch vd., 2013; Reijnen vd., 2017). Fiziksel incelemedeki zorluklardan dolayı vücut sıvılarında toksikolojik analizlere başvurulur (Grobosch vd., 2013; Özesen vd., 2022).

*Taxus baccata* zehirlenmesi öngörülen vakalarda yapılan toksikolojik analizler incelendiğinde, sıklıkla 3,5-Dimetoksifenol (3,5-DMP) bileşiğinin belirteç olarak kullanıldığı görülmektedir. Fakat bu bileşiğin üzüm gibi bazı bitkilerde de bulunuyor olması, yanlış sonuçlara yol açabileceğini göstermektedir. (Özesen vd., 2022). Karşılaşılan vakalarda; olay yeri bulguları, görgü tanıkları, fiziksel ve kimyasal analizler bir bütün şeklinde değerlendirilerek zehirlenme kaynağı bulunabilmiştir. (Grobosch vd.,

2013; Pietsch vd., 2007; Reijnen vd., 2017). Aynı zamanda Taxus cinsinin *Taxus brevifolia* ve *Taxus canadensis* türleri de zehirlidir (Dela Cruz vd., 2018; Temple & Lopez, 2023). Bu türlerin fiziksel açıdan benzer olduğu bilindiği için moleküler yöntemlerin kullanılması, türün doğru ve hızlı bir şekilde analizi açısından zorunlu hale gelmektedir (Karuppusamy & Pullaiah, 2022). Yayınlanan çalışmalar arasında yol gösterici olabilecek bir çalışma da Gausterer ve ark. yayınladıkları makaledir (2012). Bu makalede otopside bulunan bitki parçalarından DNA izole edilmiş ve incelenen örneklerde nükleotid dizi karşılaştırılması yapılarak *Taxus baccata* türü kesin olarak belirlenebilmiştir.

Türkiye'de *Taxus baccata* zehirlenmesine yönelik literatüre geçen tek olguyu Malkoç ve Üzün sunmuştur. İstanbul'da gerçekleşen zehirlenme vakasında, olay yerinde bulunan kırmızı meyveler yol gösterici olmuştur. Otopside spesifik bir bulgu elde edilememiş, rutin toksikolojik analizde de şüphe uyandıracak bir bulguya rastlanamamıştır. Porsuk ağaçları Türkiye'de oldukça yaygın olmasına rağmen tek bir vaka olması da oldukça düşündürücüdür (Malkoç & Üzün, 2021). Aynı zamanda Porsuk ağacından kaynaklanan zehirlenmelerin belirlenebilmesine yönelik bir çalışmanın olmaması, tez konusunun gerekçelerini oluşturmuştur.

Yapılan bu çalışmada, laboratuvar şartlarında olası bir zehirlenme senaryosu tasarlanıp, buna uygun deney grupları oluşturulmuştur. Sindirim enzimi olarak tükürük sıvısı ve pepsin-HCl çözeltisi kullanılmış, bu sıvıların rotator karıştırıcıda farklı sürelerde yapraklarla teması sağlanmıştır. Sonrasında her bir örnekten Setiltrimetilamonyum-bromür (CTAB) metodu ile genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Örnek DNA'larının kalitesini belirlemek için Nanodrop cihazı ile $A_{260}/A_{280}$ oranı ölçülmüştür. Agaroz jel elektroforezi kullanılarak bant yoğunlukları karşılaştırılmıştır. İkinci aşamada tür tayininde sıklıkla kullanılan Internal Transcribed Spacers *(ITS*) bölgesi Standart PCR yöntemiyle çoğaltılıp, yine agaroz jel elektroforezinde bant yoğunlukları ölçülmüştür. Son olarak çoğaltılan DNA dizileri Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) veri tabanında karşılaştırılmıştır. Nihai olarak, fiziksel yollarla ayrımı mümkün olmayan ve sindirim sisteminde çeşitli enzimlere maruz bırakılmış bitki yapraklarının moleküler yöntemler kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

# 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

## 2.1. Adli Bilimler ve Adli Genetik

Adli bilimler birçok bilim dalını içinde barındıran multidisipliner bir alandır. Adli bilimlerin amacı, deliller üzerinde araştırmalar yaparak suçu ve suçluyu ortaya çıkarmaktır (Meriney & Fanselow, 2019). Vakaları açıklığa kavuşturmak ve hukuki bir boyut kazandırmak için çeşitli bilim dalları ortak çalışırlar. Bu bilim dallarına; adli tıp, adli arkeoloji, adli genetik, adli toksikoloji, adli entomoloji, adli patoloji, adli psikiyatri, adli antropoloji, adli bilişim, balistik, adli palinoloji, adli diş hekimliği, adli foniatri, ve adli kimya örnek verilebilir (Menek & Taşdöven, 2021).

Adli bilimlerin geçmişi Antik Mısır'a kadar uzanır. Antik Mısır'da cesetler mumyalanırken basit bir otopsi yapıldığı bilinmektedir (Aliyeva, 2023). Adli bilimlerin en önemli dönüm noktalarından biri ise 1247 yılında yazılan Song Ci'nin 'Adaletsizlikten Arındırılmış Davaların Kayıtları' adlı eseridir. Bu eserde ölüm sebebi bilinmeyen cesetlerde vücuttaki izlerin nasıl ipucu olarak kullanılabileceği açıklanmıştır (Xia, 2020). Adli bilimlerin gelişmesine katkıda bulunan diğer çalışmalara bakıldığında;

1800'lerin başında Mathieu Orfila adlı doktor, ölümü şüpheli olan bir vaka üzerinde yaptığı kimyasal analizler sonucunda kişinin arsenik ile öldüğünü tespit etmiştir. Bu tespit adli toksikolojinin ilk adımı olmuştur (Michaleas vd., 2022).

1900'lere gelindiğinde, Alphonse Bertillon kendi geliştirdiği kimlik belirleme sistemini kullanarak Antropometri biliminin doğmasını sağlamıştır (Fosdick, 1915). Kişinin fiziksel özelliklerini belirleyecek ölçüm aracını tasarlamıştır (Şekil 2.1.1).

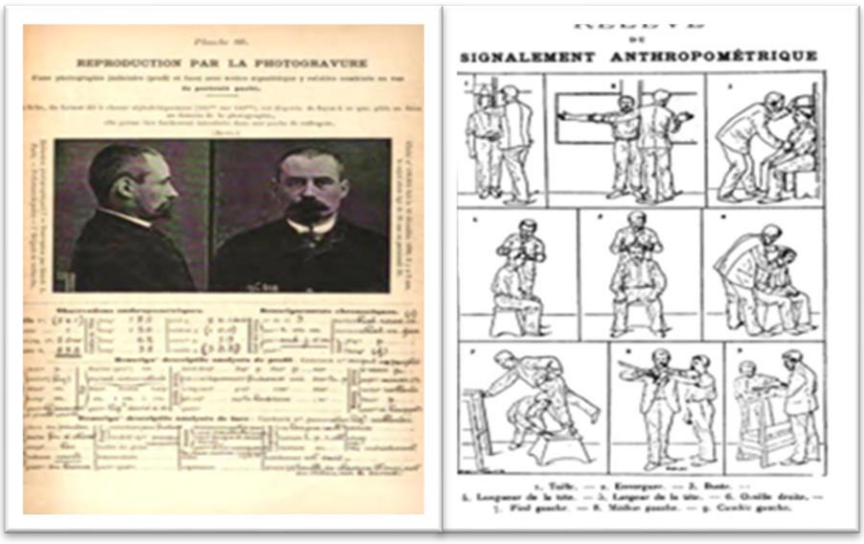
Francis Galton adlı bilim insanı parmak izlerinin kişiye özgü olduğunu ve kanıt olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Parmak izlerindeki hatları (papiller) sınıflandırmıştır. Adli bilimlerin en önemli kaynaklarından biri olan 'Fingerprints' adlı eseri (Şekil 2.1.2) yazmıştır (Parish & Evans, 2015).

Victor Balthazard insan ve hayvan kıllarının karşılaştırılmasıyla ilgili ilk araştırmaları yapan bilim insanıdır (Öztürk, 2005).

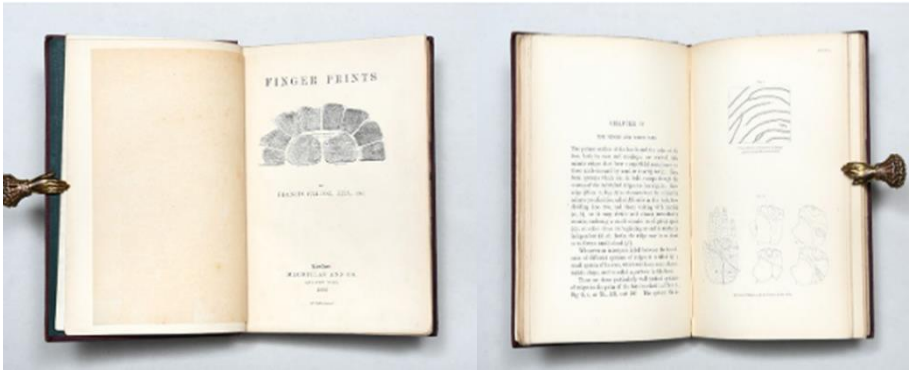
Dr. Karl Landsteiner, A-B-O kan grubu sistemini keşfetmiştir. Kan gruplarının tanımlanması, adli vakaların aydınlatılmasında devrim niteliğinde gelişme olarak kaydedilmiştir (Farhud, 2018). Leone Lattes ise kurumuş kan lekesinde kan grubunu tespit edecek bir yöntem geliştirmiştir (Bukyya vd., 2021).

Amerikan ordusunda albay olan Calvin Goddard mermi karşılaştırması ve silahların belirlenmesi ile ilgili çalışmalar yaparak balistik malzeme bilimin gelişmesini sağlamıştır (Hamlin, 2021).

Albert S. Osborn, 1910 yılında yazdığı ‘Questioned Documents/Sorgulanan Belgeler’ adlı kitabında, sahte belgelerin tespit edilmesi ile ilgili bilgiler vermiştir (Lucas, 2014). Avusturyalı savcı Hans Gross ‘Adli Bilimlerin El Kitabı’ adlı eserinde, delillerin ispatlanmasında kimya ve botanik gibi farklı bilim dallarından yararlanılması gerektiğini yazmıştır (Burney & Pemberton, 2013).



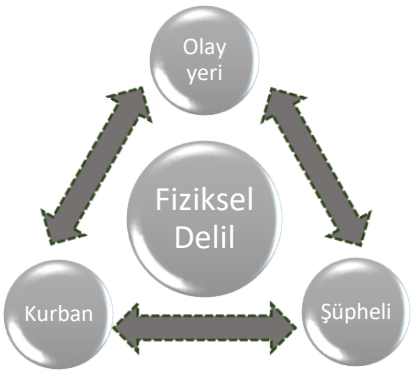

**Şekil 2.1.1.** Alphonse Bertillon’un kimlik belirlemede kullandığı ölçekler




**Şekil 2.1.2.** Francis Galton'un 'Fingerprints' adlı eseri

''Her temas bir iz bırakır'' sözüyle tanınan Fransız doktor ve hukukçu Edmond Locard, Locard İlkesi'ni ortaya atmıştır. Buna göre; her suç arkasında mutlaka delil bırakır ve suçludan olay yerine, olay yerinden de suçluya geçen bir iz kesinlikle olacaktır. Buna Locard'ın Değişim Prensibi (Şekil 2.1.3) denir (Yükseloğlu, 2024).

1950'lerde ise Watson ve Crick'in, Rosalind Franklin öncülüğünde DNA'nın çift sarmallı yapısını keşfetmesiyle bilim dünyasında çok önemli bir adım atılmıştır. Bu önemli gelişmeyle birlikte DNA molekülüyle ilgili çalışmalar artmış ve vakalarda kesin kanıt olarak DNA kullanılmaya başlanmıştır. DNA'nın kesin kanıt olarak kullanılmasının sebebi, tek yumurta ikizleri hariç her canlının kendisine özgü DNA dizilimine sahip olmasıdır (Li, 2018). Alec Jeffries, bu dizilim farklılığından yararlanarak 1984 yılında 'DNA Parmak İzi' adını verdiği yöntem ile; parmak izinden yola çıkılarak DNA kimliklendirmesinin yapılabileceğini keşfetmiştir. Bu gelişme adli genetik biliminin temelini oluşturmuştur (Yükseloğlu, 2024).




**Şekil 2.1.3.** Locard'ın 'Değişim Prensibi' Şeması (Adli Genetik Uygulamaları kitabından (s:15) yeniden düzenlenmiştir)

Adli genetikte DNA'nın nasıl kullanıldığını anlayabilmek için molekülün yapısına daha yakından bakmak gerekir. DNA; 'Gen' olarak adlandırılan ve organizmanın kalıtsal özelliklerinin kodlandığı nükleotid dizilerinden oluşan moleküldür. Gen; DNA'nın işlevsel bir protein kodlayan bölümü olarak da tanımlanabilir (Başaran, 1999). Aynı popülasyon içindeki bireylerin DNA'ları %99'dan fazla aynıdır. Buna rağmen fenotiplerinin birbirinden farklı olmasını sağlayan etken; %1'den az orandaki nükleotid değişimleridir (Alakoç, 2010). Bu nükleotid dizilimindeki farklılıklar popülasyon içerisinde %1'den az görülüyorsa mutasyon, %1'den fazla ise polimorfizm olarak adlandırılır (Bozkaya, 2009).

Polimorfizmler protein kodlayan veya kodlamayan bölgelerde oluşabilirler. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), sınırlayıcı enzim parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP), değişken sayıda tandem tekrarlar/minisatellitler (VNTR) ve kısa tandem tekrarlar (STR) olarak 4 sınıfa ayrılırlar (Aksoy & Soydemir, 2005).

Anne-babalık testlerinde, bazı genetik hastalıkların teşhisinde, bireye özgü tedavi yöntemleri geliştirilmesinde ve adli vakalarda biyolojik deliller belirteç olarak kullanılırlar (Bozkaya, 2009). Adli vakalarda biyolojik delillerden (kan, meni, tükürük ve kıl gibi) DNA elde edilerek nükleotid dizi karşılaştırılması yapılabilmektedir. Bitki materyalleri (polen, yaprak, çiçek gibi), böcekler ya da mikroorganizmalar da vakaların çözümünde yol gösterici olabilir (Filoğlu & Bülbül, 2024). Analiz için dikkat edilmesi gereken nokta; delillerin iyi korunması ve kontaminasyondan uzak tutulmasıdır (Açikgöz

vd., 2002). Çift sarmal yapıdaki DNA, normal şartlarda dayanıklı bir moleküldür fakat sıcaklık, kimyasal madde ve mikroorganizmalara uzun süre maruziyet sonucu yapısı bozulabilir (Altınsoy & Uçar, 2022).

Geçmiş yıllarda genetik analizler için çok miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulsa da gelişen teknoloji ile birlikte iz miktardaki bir DNA molekülünden bile başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir (Alakoç, 2010). Kuşkusuz bu alandaki en önemli gelişme 1985 yılında Kary Mullis'e Nobel ödülü kazandıran PCR yöntemidir. Temel mekanizması; çoğaltılması istenen DNA bölgesine karşılık gelecek nükleotid dizilerini (primerler) kullanarak çok sayıda kopya elde etmektir. Bu sayede; farklı biyolojik deliller arasında, ilgili gen düzeyi karşılaştırılması yapılabilmektedir (Khehra vd., 2023).

### 2.2. Zehirli Bitkilerle İlgili Genel Bilgiler

Canlılarda hastalık veya ölüme sebep olabilecek toksik bileşik içeren bitkiler, zehirli bitkiler olarak tanımlanmaktadır (Aplin, 1976). Zehirli bitki türlerine; boru çiçeği (*Datura stramonium*), güzelavrat otu (*Atropa belladona*), porsuk (*Taxus baccata*), hint yağı bitkisi (*Ricinus communis*), hint keneviri/esrar otu (*Cannabis sativa*), baldıran otu (*Conium maculatum*) ve zakkum (*Nerium oleander*) örnek verilebilir (Anadón vd., 2018).

Yüzyıllardan beri zehirli bitkiler insanlığın ilgi odağı olmuştur. Bu bitkilerin cinayet ve intihar vakalarında kullanımına çok sayıda örnek verilebilir. Eflatun, eseri Phadeoa'da; Sokrates'in yargılandığı mahkemede idam edileceğini öğrenince baldıran otu (*Conium maculatum*) ile intihar ettiğini anlatmıştır (Gümüşçü, 2011). İlgi çekici örneklerden bir diğeri de 1978 yılında Bulgar yazar Georgi İvanov Markov'un hint yağı bitkisi (*Ricinus communis*)'nde bulunan risin maddesi ile öldürülmesidir. Markov bir suikast sonucu öldürüldüğü ve ucunda risin kapsülü bulunan bir şemsiyenin bacağına saplanmasıyla risinin kanına karıştığı yıllar sonra ortaya çıkmıştır (Papaloucas vd., 2008).

Tarih boyunca bazı zehirli bitkilerin tedavi amaçlı kullanıldığı da bilinmektedir. Alman tarihçi Ebers 1862 yılında bir mumyanın bacaklarının arasında bulduğu papirüslerde, safran (*Crocus sativas*), hint keneviri (*Cannabis sativa*) ve keten tohumu (*Linum*

*usitatissimum*) gibi 800 bitkinin şifaları yazmaktadır (Alotaibi vd., 2021). MS 1. yy.da Pedanius Dioskoridas kitaplarında; meyan bitkisi (*Glycyrrhiza glabra*)'nden şurup hazırlamayı, haşhaş (*Papaver somniferum*) kapsülü yapmayı, adam otu (*Mandragora officinarum*)'nun ağrı kesici ve uyuşturucu olarak kullanılabileceğini açıklamıştır (Gümüşçü, 2011). Antik Roma döneminde kadınların güzellik amacıyla, güzelavrat otu *(Atropa belladonna*)ndan elde ettikleri sıvıyı gözlerine sürerek göz bebeklerinin daha büyük gözükmesini sağladıkları bilinmektedir (Meriney & Fanselow, 2019). Zehirli bitkilerin sınıflandırılmasıyla ilgili ilk bilimsel çalışmayı 1905 yılında Bernhard Smith yapmıştır. Bu çalışmada 11 614 bitki türü kullanılmış, %1'inin toksik bileşikler içerdiği tespit edilmiştir (Yılmaz vd., 2006). Zehirli bitki türleri Türkiye'de de oldukça yaygın bulunmaktadır.

Türkiye sahip olduğu coğrafi konumu ve iklimi sayesinde bitki biyoçeşitliliğinin fazla olduğu bir ülkedir (Kilic vd., 2011). 4000'i endemik olmak üzere 12 000 bitki türüne ev sahipliği yapar. Bu türlerden yaklaşık 250 tanesi zehirli bitki sınıfına girmektedir (Kılıç vd., 2020).

Türkiye'de zehirli bitkiler ile ilgili birçok eser mevcuttur. 1953 yılında Güley tarafından yapılan ilk çalışma, Trabzon ve Samsun ilinde bulunan 72 zehirli türün incelenmesiyle gerçekleştirilmiştir (Güley, 1953). Baytop (1963), "Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri" adlı kitabında 161 tane zehirli türden bahsetmiştir.

Orhan Yılmaz (1990), ''Bursa Yöresinde Yetişen Önemli Zehirli Bitkilerin Toksikolojik Özellikleri'' adlı doktora tezinde 24 farklı familyaya ait çok sayıda zehirli tür ile ilgili bilgi vermiştir. Bakırel (2002), "Veteriner Toksikolojisi Yönünden Trakya Bölgesi'nin Zehirli Bitkileri Üzerine Çalışmalar" adlı doktora çalışmasında 30 farklı familyaya ait zehirli bitki üzerinde araştırma yapmıştır. Yılmaz ve ark. (2006) "Peyzaj Mimarlığı Çalışmalarında Kullanılan Bazı Süs Bitkilerinin Toksikolojik Özellikleri" adlı makalesinde 60 adet zehirli süs bitkisiyle ilgili bilgi vermiştir. Öztürk ve ark.nın (2008) "Ethnoecology of Poisonous Plants of Turkey and Northern Cyprus" başlıklı yayınlarında Türkiye ve Kuzey Kıbrıs'ta bulunan 474 zehirli bitki türü ve içerdiği toksik bileşikleri listelemiştir. Adnan Kaplan (2022) ''Hakkâri İlinde Zehirli Bitkiler Üzerine Etnotoksik

Bir Çalışma'' adlı yüksek lisans tezinde 36 familyaya ait 97 adet zehirli bitki türüyle ilgili bilgi vermiştir. Anıl Can Gürgen (2023) ''Türkiye'de yetişen Ephedra l./denizüzümü (ephedraceae/denizüzümügiller) türlerinin mikromorfolojik özelliklerinin adli botanik açısından incelenmesi'' adlı yüksek lisans tezinde zehirli türler olan *Ephedra major, Ephedra distachya* ve *Ephedra foeminea* ile ilgili çalışma yapmıştır.

Zehirli bitki türleri; yutma, temas veya solunum yoluyla canlılara zarar verebilir (Ozturk vd., 2008). Bu bitkiler etkisini, metabolizma sonucu ürettikleri bazı toksik bileşikler aracılığıyla gösterirler. Bu bileşiklerin miktarı ise; bitkinin kısımlarına (yaprak, gövde, tohum, meyve gibi) ve bulunduğu koşullara (yaş, mevsim, toprak yapısı gibi) bağlıdır (Özay & Pehlivan, 2024). Her zehirli madde gibi bitkide bulunan toksik maddeler de maruz kalınan doza ve canlının bünyesine göre vücutta çeşitli değişikliklere sebep olur. Vücuttaki etki mekanizmalarına bağlı olarak; kızarıklık, kaşıntı, kusma, ishal, solunum güçlüğü ve halüsinasyona yol açabilirler (Kupper & Reichert, 2009).

### 2.3. Sekonder Metabolitler

Bitkiler yaşadığı ortama uyum sağlamak ve hayatta kalabilmek için bazı mekanizmalar oluşturmuşlardır. Oluşturdukları mekanizmalar fiziksel ya da kimyasal olabilir. Fiziksel olarak, diken ve tüy oluşumu örnek verilebilir. Kimyasal olarak ise bazı bileşikler üretirler (Molyneux & Ralphs, 1992). Bitkinin hayatta kalabilmesi için gerekli başlıca bileşikler; nükleik asitler, lipitler, proteinler ve karbohidratlardır. Bu temel bileşiklere primer metabolitler denir ve tüm bitkilerde bulunur (Pagare vd., 2015).

Bunlara ek olarak bitkinin gelişimi için hayati olmayan fakat metabolizmalarının yan ürünü olarak ortaya çıkan bileşikler vardır. Yan ürünler; sekonder metabolitler olarak adlandırılır (Özay & Pehlivan, 2024).

Sekonder metabolitler hücre, doku ve organ düzeyinde üretilebilirler. Miktarları ve çeşitleri bitkinin türüne ve kısımlarına göre değişkenlik gösterir. Bu bileşiklerin sentezindeki amacın, çeşitli canlılardan (hayvanlar, mantarlar gibi) korunmak ve sıcaklık, nem, ışık, tuzluluk gibi ekstrem ortam koşullarından en az etkilenebilmek olduğu

düşünülmektedir (Bukyya vd., 2021; Pagare vd., 2015). Sekonder metabolitler; bitkinin adaptasyonunu kolaylaştırmanın yanında koku/feromon yaymasını, zehirli etki göstermesini veya terapötik özellikte olmasını sağlar (Alaca & Arslan, 2012).

Yaklaşık 100 000'e yakın sekonder metabolit tespit edilmiştir. Bu çeşitliliğin sebebi karbon iskelet yapıları ve bağlı oldukları fonksiyonel gruplarıdır (Wink, 2010). Sekonder metabolitler genel olarak terpenler, alkaloitler ve fenolik bileşikler olarak sınıflandırılır (Tiring vd., 2020).

### 2.3.1. Terpenler

Terpenler bitkilerde çoğunlukla serbest halde, bazen de proteinlere bağlanmış veya organik asit esterleri şeklinde bulunur (Tiring vd., 2020). Bu bileşikler bitkilerin koku yaymasında oldukça etkilidirler (Özkaya vd., 2018). Bazı terpenler böcekleri çekerek tozlaşma şansını artırırken bazıları böcek saldırılarından bitkiyi korur. Aynı zamanda bu bileşiklerin antimikrobiyal ve antiinflamatuar etkilerinin olduğu bilinmektedir (Kaya, 2008).

Ballıbabagiller (Lamiaceae) familyasından Mentha (nane), Thymus (kekik), Salvia (adaçayı), Ocimum (fesleğen) ve Lavandula (lavanta) türlerinde çok miktarda bulunurlar (Çatak & Atalay, 2022).

Terpenler 5'li C (karbon) yapılarına göre; Hemiterpenler (C5), Monoterpenler (C10), Seskiterpenler (C15), Diterpenler (C20), Triterpenler (C30), Tetraterpenler/Karotenler (C40) ve kısmen terpenoitten oluşan meroterpenler olmak üzere yedi gruba ayrılırlar (Tiring vd., 2020). Sıklıkla karşılaşılan bazı terpen çeşitleri Çizelge 2.3.1.1'de verilmiştir.

**Çizelge 2.3.1.1.** Bazı önemli terpenler ve işlevleri

| TERPEN ÇEŞİTLERİ | BULUNDUĞU BİTKİLER | İŞLEVLERİ | KAYNAKÇA |
|---|---|---|---|
| Pinenler | Çam, ladin, köknar ağaçları | Parazit mantarlar için zehirli etkiye sahiptir. Balgam söktürücü ilaç yapımında kullanılır. | (Tiring vd., 2020) |
| Limonen | Portakal ve limon | Hoş bir koku yayar ve antiinflamatuar etkisi vardır. | (Chen vd., 2024) |
| Seskiterpenler | Zencefil ve karanfil | Antimikrobiyal ve antifungaldır. Parfüm yapımında kullanılır. | (Bayraktar, 2021) |
| Saponinler | Ispanak, pancar, nohut ve panax | Zihin açıcı özelliğinden dolayı takviye ilaçlarda kullanılır. İltihap gidericidir. | (Okumuş & Temiz, 2022) |
| Karotenoidler | Kuşburnu ve havuç | Bitkilere kırmızı ve sarı renk verirler. | (Medveckiene vd., 2020) |
| Mentol | Nane | Gıda endüstrisinde tatlandırıcı olarak kullanılır. Solunum yollarını rahatlattığı için burun spreyi ve öksürük şurubu gibi ilaçlarda kullanılır. | (H. Cheng & An, 2022) |
| Eugenol | Karanfil, hindistan cevizi, tarçın, reyhan ve defne | Hoş kokusuyla böcekleri cezbeder. Antifungal ve antimikrobiyal etkisi vardır. | (Ulanowska & Olas, 2021) |
| Taxol | Pasifik porsuğu | Kanser tedavisinde kullanılır. | (Kaya, 2008) |

### 2.3.2. Alkaloitler

Alkaloitler bitkilerde malik asit, sitrik asit, tartarik asit gibi asitlerin tuzları şeklinde bulunurlar. Organik çözücülerde çözünür, suda çözünmezler. Yapısında oksijen olmayan türleri (nikotin ve koniin) hariç diğer alkaloidler sıvı formdadır (Kaya, 2008). Alkaloitlerin çoğu zehirli etkisi sayesinde bitkileri çeşitli zararlılardan korumaktadır.

İlaç ve kozmetik ürünlerinin üretilmesi ve pestisit sentezi, alkaloitlerin endüstriyel kullanımlarına örnek olarak verilebilir (Alaca & Arslan, 2012).

Alkaloit içeriği bakımından zengin olan bitkilere; Patlıcangiller (Solanaceae), Haşhaşgiller (Papaveraceae) ve Zakkumgiller (Apocynaceae) örnek verilebilir (Kaya, 2008). Alkaloitler; Gerçek alkaloitler, Protoalkaloitler, Poliamin alkaloitler, Peptit-Klopeptit alkaloitler ve Psödoalkaloitler olmak üzere beş gruba ayrılırlar (Tiring vd., 2020). Çizelge 2.3.2.1'de çeşitli alkaloitler ve işlevleri açıklanmıştır.

**Çizelge 2.3.2.1.** Bazı önemli alkaloitler ve işlevleri

| ALKALOİT ÇEŞİTLERİ | BULUNDUĞU BİTKİLER | İŞLEVLERİ | KAYNAKÇA |
|---|---|---|---|
| Nikotin | Tütün bitkisi, patlıcan, domates | Böcek öldürücü özelliği vardır. Keyif verici madde yapımında kullanılır. | (Ellialtioglu, 2017) |
| Kafein | Kakao, kahve ve çay | Gıda sektöründe kullanımı yaygındır. | (Alaca & Arslan, 2012) |
| Koniin ve konisein | Baldıran otu | İnsanlar ve hayvanlar için zehirlidir. Bitkiyi dış etkilerden korur. | (Hotti & Rischer, 2017) |
| Morfin | Haşhaş | Ağrı kesici olarak kullanılır. | (Arslan vd., 2008) |
| Atropin | Güzelavrat otu | Kalp atış hızını yavaşlatmak için kullanılır. Tükürük salgısını azalttığı için ameliyat öncesinde uygulanır. | (Aldossary, 2022) |
| Efedrin | Efedra | Solunum yollarını açtığı için burun damlalarında ve astım tedavisinde kullanılır. Ameliyatlarda kan basıncının yükseltilmesine yardımcı olur. Uyuşturucu yapımında kullanılır. | (Kleinz & Spence, 2008) |
| Taksinler | İngiliz porsuğu | İnsanlar dahil olmak üzere memeli hayvanlar için zehirlidir. | (Wilson vd., 2001a) |

### 2.3.3. Fenolik bileşikler

Yapısında aromatik benzen halkası ve hidroksil grubu bulunduran bileşiklerdir (Karabulut & Yemiş, 2019). Fenolik bileşikler, bitkiyi ultraviyole (UV) ışıktan koruyarak DNA yapısının zarar görmesini engeller. Patojenlere zarar verir (Alaca & Arslan, 2012). Bitkiye özgü tadın oluşmasında görev alır ve büyümeyi sağlar (Karabulut & Yemiş, 2019).

En çok dikkat çeken fenolik bileşiklerden biri ise grayanotoksindir. *Rhododendron ponticum* ve Rhododendron *luteum* orman gülü türlerinde bulunan grayanotoksin, arılar tarafından bala geçer ve deli bal olarak tanımlanan zehirli bal çeşidinin oluşmasını sağlar. Balı yiyen kişilerde düşük dozlarda kusma, baş dönmesi ve halsizlik gibi belirtiler görülürken yüksek dozlar ölümle sonuçlanabilir (Silici, 2019).

Fenolik bileşikler elektron yönünden zengindir. Bu sayede vücutta oluşan serbest radikalleri zararsız hale getirirler. Bu özelliğinden dolayı insanlar tarafından şifa amaçlı kullanılırlar (Kaya, 2008). İşlevlerine göre; Basit Fenolik Bileşikler, Benzoik Asit Türevleri ve Sinamik asitler, Flavon-Flavonoller, Kumarinler, Furano kumarinler, İzoflavonoidler, Antosiyaninler- Antosiyanidinler, Lignin-Lignanlar ve Tanenler olarak sınıflandırmak mümkündür (Çizelge 2.3.3.1) (Tiring vd., 2020).

**Çizelge 2.3.3.1.** Bazı önemli fenolik bileşikler ve işlevleri

| FENOLİK BİLEŞİKLER | BULUNDUĞU BİTKİLER | İŞLEVLERİ | KAYNAKÇA |
|---|---|---|---|
| Aspirin | Söğüt ağacı | Ağrı kesici olarak kullanılır. | (Fuster & Sweeny, 2011) |
| Flavonoidler | Pancar, çay, vişne ve ıspanak | Bitki hücresini UV ışıktan korur. Renk pigmenti sağlar. Antioksidan ve antikanser etkisi vardır. | (Atinç & Kalkan, 2018) |
| Kumarinler | Tonka fasulyesi ve tarçın | Antifungal ve antiinflamatuardır. Tatlandırıcı ve parfüm yapımında kullanılır. | (Lončar vd., 2020) |
| Antosiyaninler ve antosiyanidinler | Mor havuç, Kırmızı lahana, Üzüm | Antiinflamatuar ve antikanser aktivitesi vardır. Bitkiye renk vererek tozlaşmaya yardımcı olur. | (Khoo vd., 2017) |
| Lignin | Genel olarak odunsu bitkiler | Hücre duvarı oluşumunu sağlar. Bitkiyi patojenlere karşı korur. | (Shah vd., 2023) |
| Tanenler | Çay, kakao, fasulye, üzüm ve çilek | Antimikrobiyal etkisi vardır. Bitkiyi zararlılardan korur. | (Aydin & Üstün, 2007) |
| Tetrahidrokannabinol | Hint keneviri | Uyuşturucu olarak kullanılır. | (Breijyeh vd., 2021) |

## 2.4. Porsuk Ağacı (*Taxus baccata*) ile İlgili Genel Bilgiler

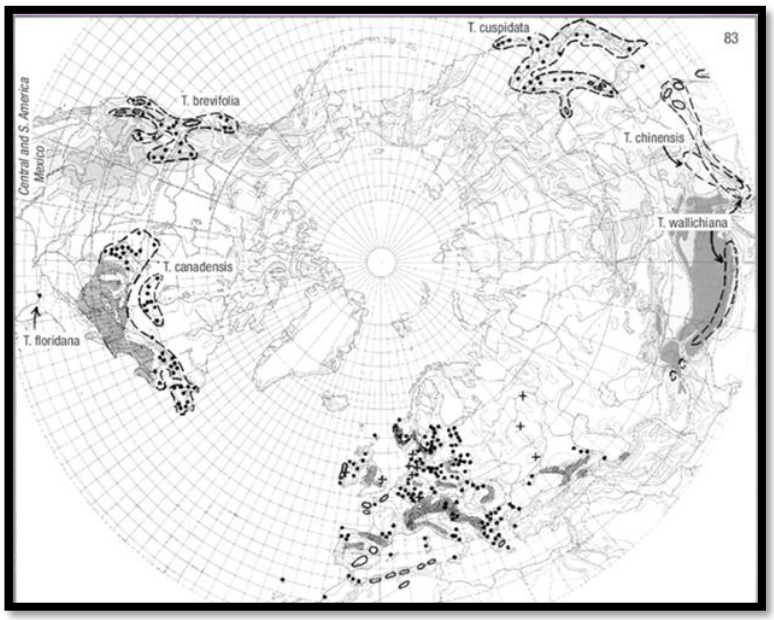
*Taxus baccata* (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) Taxonomi ID: 25629), açık tohumluların Taxaceae (porsukgiller) familyasından Taxus (porsuk) cinsine ait bir türdür

(Schoch vd., 2020). *Taxus baccata* detaylı sınıflandırılması Çizelge 2.4.1'de verilmiştir (Türkiye e-Florası, 2012).

**Çizelge 2.4.1.** *Taxus baccata* türünün taksonomik sınıflandırılması

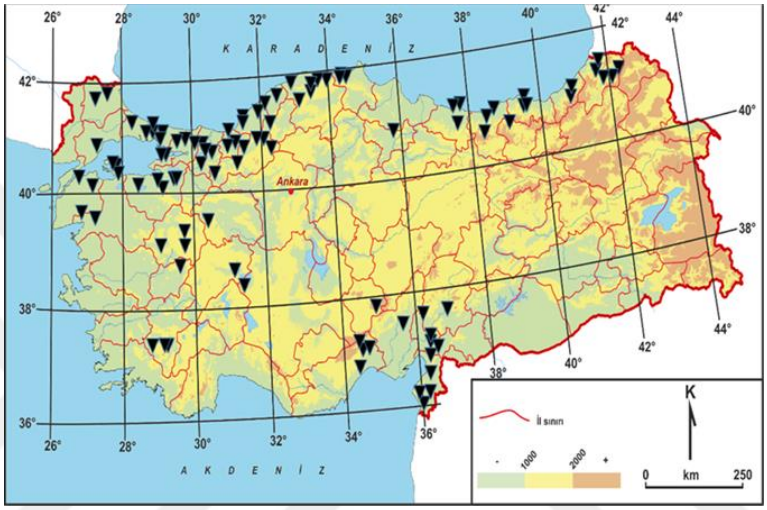
| ***Taxus baccata* Taksonomik Sınıflandırma** | |
|---|---|
| Regnum (Alem) | Plantae (Bitkiler Alemi) |
| Division (Şube) | Magnoliophyta (Tohumlu Bitkiler) |
| Subdivision (Alt şube) | Pinophytina (Açık Tohumlular) |
| Classis (Sınıf) | Pinopsida (Çam Sınıfı) |
| Subclassis (Altsınıf) | Pinidae (Çam Altsınıfı) |
| Ordo (Takım) | Cupressales (Servi Takımı) |
| Family (Familya) | Taxaceae (Porsukgiller) |
| Genus (Cins) | Taxus (Porsuk) |
| Species (Tür) | *Taxus baccata* (Yaygın porsuk) |

Taxus cinsinin bilinen 9 türü vardır. Bunlar; Yaygın porsuk (*Taxus baccata*), Pasifik porsuğu (*Taxus brevifolia*), Kanada porsuğu (*Taxus canadensis*), Çin porsuğu (*Taxus chinensis*), Japon porsuğu (*Taxus cuspidata*), Florida porsuğu (*Taxus floridana*), Meksika porsuğu (*Taxus globosa*), Sumatra porsuğu (*Taxus sumatrana*) ve Himalaya porsuğu (*Taxus wallichiana*)'dur (Erdemoğlu, 1999). Bu türlerin dünyada yayılış alanları Şekil 2.4.1'te verilmiştir.

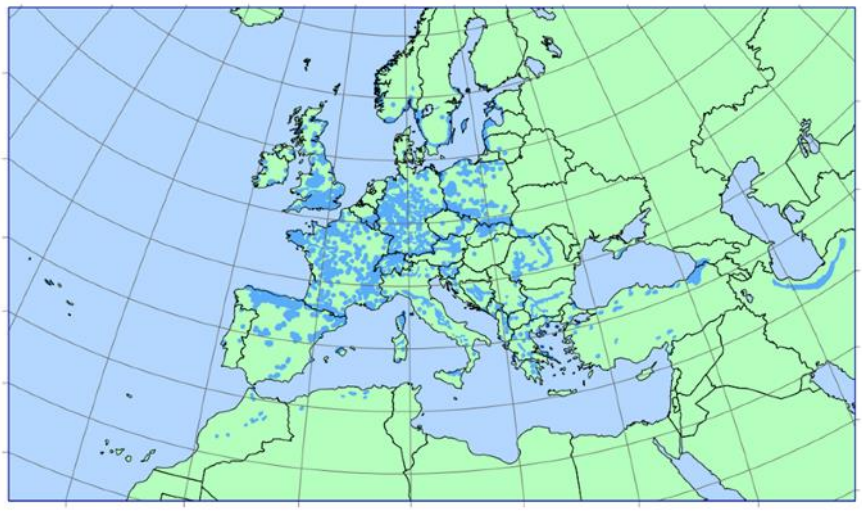



**Şekil 2.4.1.** *Taxus* cinsine ait türlerin dünyada yayılış haritası (Hultén & Fries, 1986)

Taxus cinsinin Türkiye'de bulunan tek türü *Taxus baccata*'dır (Akkemik, 2014). En sık görüldüğü yerler Marmara, Karadeniz ve Akdeniz bölgeleri olsa da diğer bölgelerde de rastlamak mümkündür (Erdemoğlu, 1999). Türkiye'deki dağılış haritası Şekil 2.4.2'de gösterilmiştir. *Taxus baccata* bitkisinin Türkiye dışında doğal olarak yetiştiği yerler; Kafkas ülkeleri, Avrupa ülkeleri, Kuzey İran ve Himalaya'dır (Müftüoğlu vd., 2020). *Taxus baccata'*nın dünya genelinde doğal yayılış alanları Şekil 2.4.3'de verilmiştir.




**Şekil 2.4.2.** *Taxus baccata* türünün Türkiye genelinde yayılış haritası (Türkiye e-Florası, 2012)



**Şekil 2.4.3.** *Taxus baccata* türünün dünya genelinde yayılış haritası (Malliarou vd., 2023)

*Taxus baccata* kaynaklarda; Avrupa porsuğu (*Europan yew*), Yaygın porsuk (*Common yew*) ve İngiliz porsuğu (*English yew*) olarak da adlandırılmıştır (Benham vd., 2016; Brooks-Lim vd., 2022). Türkiye'de halk arasında genelde Kadim ve Andız olarak bilinirken, bazı yörelerde değişik isimlerle anılmıştır. Örneğin Afyon'da Gidirme, Bolu'da Püren olarak bilinmektedir (Dikeş vd., 2021; Efe vd., 2013).

Porsuk ağaçları; Marmara ormanlarında 1200 m, Karadeniz ormanlarında 1350 m ve Toros ormanlarında 2300 m yükseklikliere kadar bulunur (Erdemoğlu, 1999). Kireçli toprakları ve ılıman iklimi sever (Benham vd., 2016). Nemli ve gölgeli yerlerde en iyi gelişimi gösterir (Efe vd., 2013). Yetişmesi için uygun sıcaklıklar en düşük 1 °C ve en yüksek 20 °C (Tandoğan, 2021) olarak ölçülmüştür. Uzun ömürlü ve dayanıklı bir bitkidir. 1000 seneye kadar yaşayan porsuk ağaçları vardır (Efe vd., 2013). Güncel verilere göre Zonguldak ilinin Alaplı ilçesinde bulunan 4120 yıllık porsuk ağacı, Türkiye'nin en yaşlı ağacıdır (Şekil 2.4.4) (Milliyet, 2016). Anıt ağaç kapsamına giren diğer iki ağaç ise Bölüklü Ormanları'nda (Zonguldak) bulunan 1600 ve 1000 yaşındaki porsuk ağaçlarıdır (Yaman & Zaman, 2022).



**Şekil 2.4.4.** Türkiye'nin en yaşlı ağacı olan 4120 yıllık porsuk bitkisi

### 2.4.1. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*)'nın botanik özellikleri

*Taxus baccata;* boyu 20 m'ye kadar ulaşabilen, genellikle ağaç ve nadiren çalı formunda bulunan, yaprak dökmeyen özelliklerle karakterize bir türdür (Efe vd., 2013). Uçları sivri olan yapraklar yaklaşık 3 cm uzunluğunda ve 2 cm enindedir. Yapraklar dallar üzerinde ikişerli sıra halinde düzenli yapıda dizilmiştir ve ağaç yaşlandıkça yaprakları dökülmeye başlar. Gövde çapı 2 metreyi bulur ve kabuğu kahverengi-kırmızı renktedir (Erdemoğlu, 1999).

Porsuk ağacı nisan-mayıs aylarında çiçek açar (Müftüoğlu vd., 2020). Dioiktir; dişi ve erkek çiçekler aynı ağaçta bulunur. Fakat az da olsa monoik olan bireyler de vardır (Benham vd., 2016). Erkek çiçekler yaprakların dibinde, dişi çiçekler ise dalların uçlarına doğru yerleşim göstermektedir (Tandoğan, 2021). Tek bir tohum etrafında '*Arillus*' olarak adlandırılan kırmızı renkli etli bir meyvesi vardır (Şekil 2.4.1.1) (Efe vd., 2013). Meyveler eylül ayından ocak ayına kadar ağaçta kalır. Tatlı lezzete sahip meyvesini kuşlar besin olarak tüketirler ve tohumlar dışkılama yoluyla yayılır. Çimlenmenin gerçekleşmesi ise iki yılı bulmaktadır (Tandoğan, 2021). Kökleri yatay yönlü genişçe yayılım gösterir ve bu sayede eğimli arazide tutunabilir (Dikeş vd., 2021). Kütük sürgünü verme özelliğine sahiptir. Yere değen dallarıyla vejetatif üreme gerçekleştirir (Thomas & Polwart, 2003). Porsuk ağacının meyvesi hariç tüm kısımları insanlar için oldukça zehirlidir (Anadón vd., 2018). At, koyun, keçi ve inek gibi bazı memeli otçullarda zehirlenme vakaları bildirilmiştir (Baytop, 1963; Wilson vd., 2001a).



**Şekil 2.4.1.1.** *Taxus baccata*'nın iğne şeklinde yaprakları ve kırmızı/mor renkli meyvesi (CL, 2020)

### 2.4.2. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*)'nın kullanım alanları

Porsuk ağacının uzun ömürlü olması ve sürgün verip yeniden gelişebilmesi insanların ilgisini çekmiş, bu ağacı ölümsüzlüğün simgesi olarak görmüşlerdir (Lee, 1998). Antik Yunan mitolojisinde Porsuk ağacı tanrıça Hekate'nin kutsal bitkilerinden biridir (Young, 1992). Porsuk ağacı; estetik açıdan da dikkat çekmiş, park ve bahçelerde kullanılmıştır. Günümüzde süs bitkisi olarak kullanılmaya devam edilmektedir (Müftüoğlu vd., 2020).
Porsuk ağacının bu denli önemli olmasının sebeplerinden biri de ilaç ve zehir olarak kullanılıyor olmasıdır (Young, 1992). Eski Hint kaynaklarında mide ağrılarının tedavisinde, İbn-i Sina'nın El-Kanun fi't-Tıb adlı eserinde de kalp ilacı olarak porsuk bitkisinin kullanılabileceği yazılmıştır (Akbar, 2020; Tekol, 2007).

Porsuk ağacın zehirli etkileriyle ilgili kaynaklar MÖ 2. yy.a dayanır. Jül Sezar, Eburones kralı Catuvolcus'ın porsuk ağacından elde ettiği özüt ile intihar ettiğini kayıtlara geçirmiştir (Özesen vd., 2022). Yine bazı kaynaklarda Keltlerin okların ucuna porsuk özütü sürerek savaşlarda düşmanlarını zehirledikleri yazmaktadır. 19. yy. kaynaklarında ise Avrupa ülkeleri ve Hindistan'da kadınların düşük yapmak için porsuk bitkisi çayı içtikleri bildirilmiştir (Wilson vd., 2001).
Başka bir Taxus türü olan Pasifik porsuğu *(Taxus brevifolia*)'ndan elde edilen paklitaksel bileşiğinin, hücredeki mikrotübüllere bağlanarak bölünmeyi durdurduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu prensipten yola çıkarak, ''Taxol'' adlı kanser ilacı üretilmiştir. Taxol'ün meme ve yumurtalık kanserlerinde etkili olduğu bilinmektedir. Çeşitli hastalıklara karşı ilaç çalışmaları *Taxus baccata* üzerinde de devam etmektedir (Malik vd., 2011; Suffness, 1995).

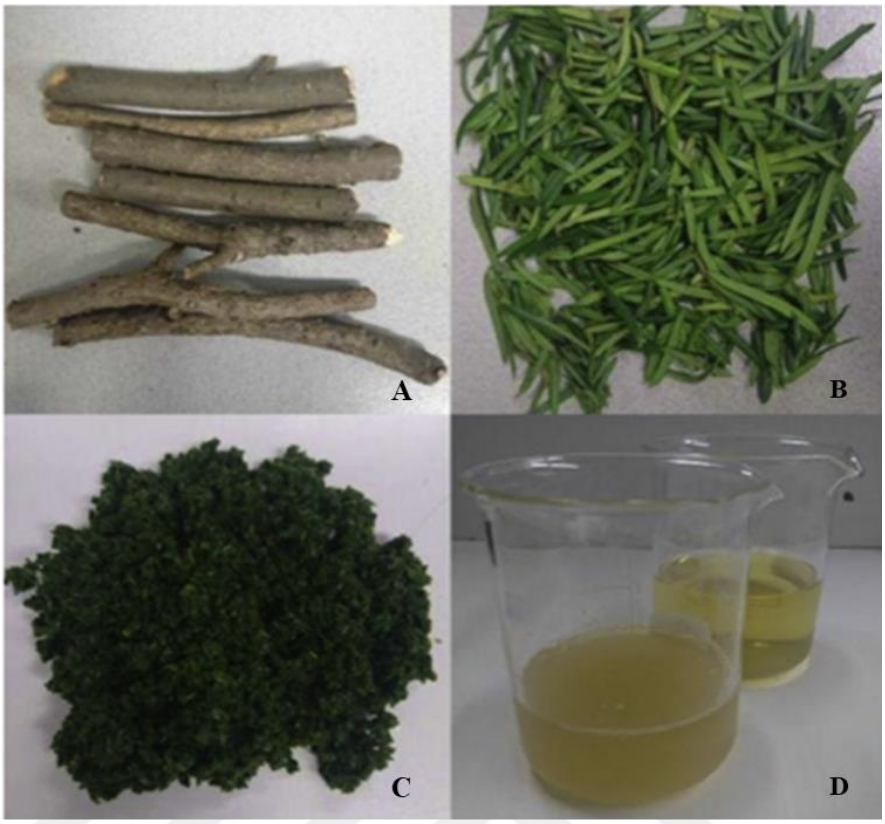
Porsuk ağacının ünü sanat eserlerine de yansımıştır. William Shakespeare'in yazdığı 'Macbeth' adlı tiyatro oyununun 4. perdesinde, bir cadı büyü yaparken porsuk ağacı dallarını kullanmıştır (Lee, 1998). İngiliz efsanesine göre, halk kahramanı Robin Hood porsuk ağacından yapılmış bir yay kullanarak düşmanlarını yener (Delong & Prange, 2010).

Porsuk ağacı sağlam ve esneyebilen dalları sayesinde de ticari değeri yüksek bir ağaç olmuştur. Eski çağlarda ok ve yay yapımında, daha sonraki dönemlerde ise mobilya ve müzik aletleri yapımında porsuk ağacından faydalanıldığı bilinmektedir (Dhar vd., 2008; Linares, 2013). Fakat günümüzde yok olma tehlikesi altında olan bir ağaç olduğundan dolayı ahşap sanayisinde kullanılmamaktadır (Tandoğan, 2021).

*Taxus baccata*'nın toksisitesine tekrar dönülecek olursa; kolayca ulaşılabilmesi ve zehirlenmeye sebep olan etken maddesinin yıllardır çok yönlü araştırılmalarla ortaya konmasından dolayı cinayet ve intihar vakalarında sıklıkla tercih edildiği bilinmektedir. Bunlara ilave olarak kazara olan zehirlenme vakaları da literatürde yerini almıştır (Grobosch vd., 2013)

*Taxus baccata* ile zehirlenme vakaları; dallarının tüketilmesi (A) yapraklarının yenmesi (B), yaprakların ezilerek/püre halinde tüketilmesi (C) ve çay formunda içilmesiyle (D) gerçekleştiği görülmektedir (Şekil 2.4.2.1). Bu vakalardan en sık karşılaşılanı; yaprakların yenmesi yoluyla meydana gelen zehirlenmelerdir. Taksin'in ölümcül dozu kilogram(kg) başına 3,0-6,5 g'dır. Bu miktar 70 kg ağırlığında bir yetişkin için yaklaşık 42-91 g yaprağa denk gelmektedir (Reijnen vd., 2017). Vücuda alındıktan sonra ince bağırsaktan hızla emilir ve kana karışır (Pilija vd., 2018). Büyük bir kısmı karaciğer tarafından safrayla, çok az bir kısmı idrarla dışarı atılır (Tranca & Petrisor, 2013).

Zehirlenmenin ilk belirtileri; ishal, kusma, baş dönmesi ve karın ağrısıdır. Zaman geçtikçe kalpte ritim bozuklukları başlamaktadır (Willaert vd., 2002). Taksinler, özellikle Taksin B, miyokardiyumu etkileyerek hipotansiyona yol açar. Kalsiyum-sodyum kanallarının sürekli açık/işlevsiz hale gelmesine neden olarak kalpte bradikardi ve kardiyojenik şoka sebep olur (Jones vd., 2011; Wilson vd., 2001a).




**Şekil 2.4.2.1.** Porsukla zehirlenme vakalarında kullanılan yöntemler; A: Dallarını tüketmek, B: Yapraklarını yemek, C: Yapraklarını ezerek/püre halinde tüketmek, D: Çay formunu içmek

### 2.4.3. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*) ile olası zehirlenmenin tespiti

Tüm zehirlenme vakalarında vücuda alınan toksik maddenin miktarı ve bireyin bünyesi; zehirlenme derecesini etkileyen en önemli iki faktördür (Kupper & Reichert, 2009). Porsuktaki taksinlerin toksik etki dozu; bitkinin hangi kısmının (yaprak, gövde, tohum) ne şekilde (çay formda içme, direkt ya da ezerek tüketme) kullanıldığına bağlı olarak değişmektedir (Nižnanský vd., 2022a; Pietsch vd., 2007). Belirtiler 30 dk ile 1,5 sa içinde ortaya çıkmakta ve ölüm 1,5 sa'den 24 sa'e kadar gerçekleşebilmektedir (Pilija vd., 2018). Çeşitli vakalar incelendiğinde; hayati tehlike henüz başlamamışsa mide yıkanarak temizlenmiş, kalpteki ritim bozukluklarını giderecek ilaçlar uygulanmış ve kandaki elektrolit dengesinin yerine getirilmesi amaçlanmıştır (Tranca & Petrisor, 2013; Vallis-Booth & Moore, 2022). *Taxus baccata*'da bulunan çoğu bileşik suda çözünmediği için detoksifikasyonda hemodiyaliz yöntemlerinin kullanılması mümkün değildir (Tranca & Petrisor, 2013).

İlk semptomların ardından bradikardi, ventriküler taşikardi, şiddetli hipotansiyon ve ölüm meydana gelmektedir (Tranca & Petrisor, 2013). Hayati tehlikesi olan kişilerde atropin ve epinefrin gibi ilaçlar uygulanarak kalbin devamlı çalışması sağlanır (Arens vd., 2016; Kobusiak-Prokopowicz vd., 2016; Tranca & Petrisor, 2013). Fakat sodyum-kalsiyum kanallarının kontrolünün bozularak sürekli açık hale gelmesi, kalbin uyarılmasını engeller. Bu nedenle bazı vakalarda ilaç uygulamaları sonuç vermez ve ölüm meydana gelir (Lie Thooft vd., 2014).

Bütün zehirlenmelerde olduğu gibi porsuk ağacı zehirlenmeleri de adli vaka olarak değerlendirilmiştir. Zehirlenmelerin sebebi (intihar, cinayet veya kazara) emniyet güçleri tarafından araştırılmıştır. Bu araştırmalara ek olarak doktorların ve adli bilim uzmanlarının yaptığı analizler de oldukça önemli olmuştur (Nižnanský vd., 2022b; Pietsch vd., 2007; Reijnen vd., 2017). Literatüre geçen olgular incelendiğinde; olay yerinde porsuk bitki parçalarının veya çay formunun bulunduğu bazı vakalar olduğu görülmektedir. Otopside gerçekleştirilen fiziksel incelemenin sonucunda ağız, mide ve ince bağırsakta bitki parçalarının görülebildiği çeşitli zehirlenme vakaları da yer almaktadır (Pietsch vd., 2007; Reijnen vd., 2017). Porsuk zehirlenmesini belirlemek için yapılan bir başka çalışmada ise; otopsi sonucunda midede bulunan bitki kalıntılarından nükleotid dizi analizi yapılmış ve *Taxus baccata* türü ile eşleşme sağlandığı tespit edilmiştir (Gausterer vd., 2012).

### 2.4.4. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*)'nda bulunan sekonder metabolitlerin belirteç olarak kullanılması

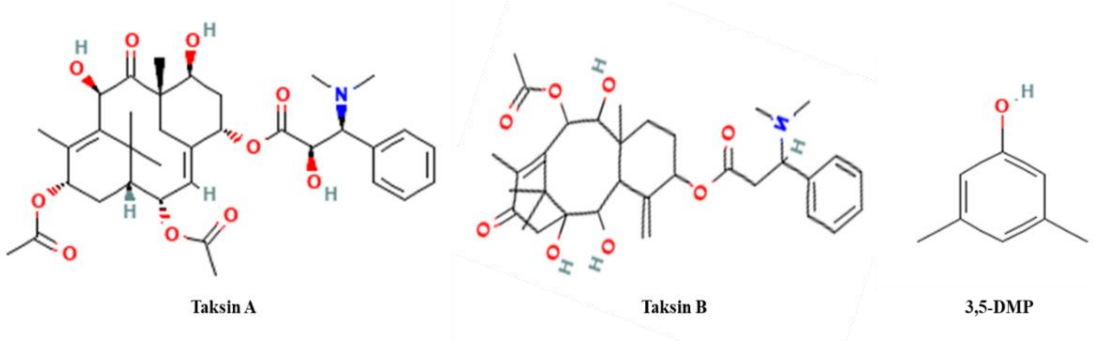
Zehirlenmeye neden olan etken maddenin bulunabilmesi için fiziksel incelemenin yanında, kimyasal analizler de yapılmıştır. Kişinin hayatta olduğu vakalarda zehirli madde analizi için kan ve idrar örnekleri incelenmiştir (Grobosch vd., 2013). Hayatta olmadığı durumda ise otopsi bulguları değerlendirilmiştir. Otopside kan, idrar gibi vücut sıvılarının yanı sıra akciğer, karaciğer, böbrek ve beyin dokuları incelenmiştir (Grobosch vd., 2013; Pietsch vd., 2007).

*Taxus baccata*'da terpenler, alkaloitler ve fenolik bileşikler sınıfına ait sekonder metabolit türleri bulunmaktadır (Çizelge 2.4.4.1). Bu bileşiklerin varlığı; Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) ve Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS) gibi kimyasal yöntemlerle ortaya çıkarılmıştır (Jacobs vd., 2023; Grobosch vd., 2013; Nižnanský vd., 2022b).

**Çizelge 2.4.4.1.** *Taxus baccata* türünün yapısında bulunan önemli sekonder metabolitler

| **Sekonder Metabolit Sınıfları** | ***Taxus baccata*'da bulunan önemli sekonder metabolitler** | **Kaynakça** |
|---|---|---|
| Fenolik bileşenler | 3.5-DMP, mirisetin, bilobetin, lignin | (Küçükboyaci & Şener, 2010; Nižnanský vd., 2022a; Pinto vd., 2021) |
| Alkaloidler | Taksin A ve Taksin B | (Sharma vd., 2021) |
| Terpenler | 10-Deasetilbakatin III (10-DAB III) | (Pinto vd., 2021) |

*Taxus baccata* zehirlenmesinden şüphelenilmişse doku ve organ içeriklerinde bakatin-III (BAC-III), 10-DAB III, 10-Deasetiltaxol (10-DAT), taksin B, izotaksin B, paklitaksel (Taxol A), sefalomannin (Taxol B) ve 3,5-DMP gibi belirteçlere bakılmaktadır (Nižnanský vd., 2022b). Bu belirteçlerden en sık kullanılan 3,5-DMP; *Taxus baccata*'da bulunan taksinlerin hidrolizi sonucu açığa çıkan aglikondur (Mufihoff vd., 1993). Bitkide zehirlenmeye sebep olan Taksin alkaloitleri ilk defa 1856 yılında Lucas tarafından tespit edilmiştir. Lucas, Taksin'in beyaz renkte ve kararsız yapıda olduğunu keşfetmiştir (Wilson vd., 2001a). 1956'da Graf ve Boeddeker'in yaptıkları elektroforez deneyleri sonucunda, Taksin alkaloidinin iki banda ayrıldığını ortaya çıkarmışlardır. Bitki içeriğinin %1,3'ünü oluşturan banda Taksin A, %30'unu oluşturan banda ise Taksin B adını vermişlerdir (Malkoç & Üzün, 2021; Özesen vd., 2022). Zehirlenme belirteci olarak en sık kullanılan bileşiklerin kimyasal yapısı Şekil 2.4.4.1'de verilmiştir (National Center for Biotechnology Information, 2024c, 2024b, 2024a).




**Şekil 2.4.4.1.** Belirteç olarak sıklıkla kullanılan Taksin A, Taksin B ve 3,5-DMP bileşiklerinin kimyasal yapısı

### 2.4.5. Porsuk ağacı (*Taxus baccata*) zehirlenmesiyle ilgili örnek vakalar

Brooks ve ark. (2022)'ın yayınladığı vakada, 40 yaşında bir kadın *Taxus baccata* yapraklarını yedikten bir süre sonra ölmüştür. Ailesinin ifadesi, kadının şifa amacıyla porsuk ağacı yaprakları topladığı yönündedir. Olay yeri olan kadının evinde porsuk ağacından koparılmış bir dal parçası bulunmuştur (Şekil 2.4.5.1.A). 125 kg olan kadının otopsi sonucunda midesinde yaklaşık 180 g bitki parçası bulunmuştur (Şekil 2.4.5.1.B). LC-MS/MS yöntemi ile kanda Taksin B bileşiği tespit edilmiştir.



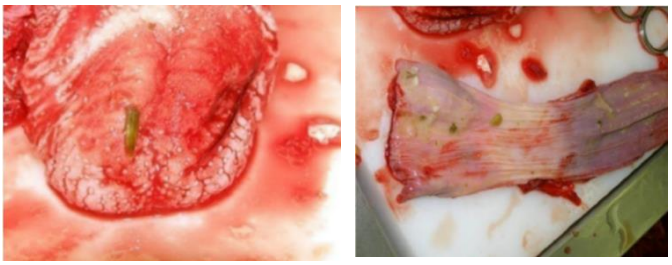

**Şekil 2.4.5.1.** *Taxus baccata* yapraklarının yenmesi ile meydana gelen zehirlenme vakasına ait deliller. A: Olay yerinde bulunan porsuk materyali; B: Otopside mideden çıkarılan yaprak parçaları

Pilija (2018)'nın bildirdiği bir vakada ise 30 yaşında bir erkek intihar etmek amacıyla porsuk ağacı yapraklarını tüketmiş ve zehirlenerek ölmüştür. Olay yeri incelemesinde yatağının kenarında bir torba ve içerisinde porsuk ağacı parçaları bulunmuştur. Yapılan otopside ise mide içerisinde çok sayıda yaprak parçası bulunmuştur (Şekil 2.4.5.2). Mide içeriği, böbrek, beyin, safra ve kandan alınan örneklerde 3,5-DMP bileşiği GC-MS yöntemiyle belirlenmiştir.



**Şekil 2.4.5.2.** Otopsi sonucu midede görülen porsuk ağacı yaprakları

Grobosch ve ark. (2013), yayınladıkları sekiz tane vaka örneğinin birinde; 22 yaşında bir erkek, esrar bağımlılığı ile ilgili tedavi gördüğü hastanenin bahçesinden topladığı porsuk yapraklarını yiyerek intihar etmiştir. Bu kişinin mesleğinin bahçıvan olduğu bilinmektedir. Otopside yutak ve yemek borusunda yapılan incelemede yaprak parçaları bulunmuştur. (Şekil 2.4.5.3). LC-MS/MS yöntemi kullanılarak idrarda 3,5-DMP, Paclitaxel, 10-DAT, BAC-III, 10-DAB III ve sefalomannin bileşiklerinin yer aldığı tespit edilmiştir.



**Şekil 2.4.5.3.** Otopsi sırasında tespit edilen yutak ve yemek borusunda kalmış porsuk yaprak parçaları

Grobosch ve ark.ın yayınladığı sekiz vakanın üçünü bir anne ve iki çocuğunun zehirlenmesi oluşturmaktadır. 36 yaşında bir anne köknar ağacı olduğunu düşündüğü bitkinin yapraklarını kendisi ve çocuklarına içirmek üzere öksürük tedavisi için kullanmak istemiştir. Anne yaprakta acı bir tat olduğu fark edince eşine danışmış, eşi ise bitkinin porsuk ağacı olduğunu belirlemiştir. Anne, 5 yaşında kızı ve 7 yaşındaki oğlu hastaneye başvurmuşlardır. Annesinden alınan ifadeye göre, erkek çocuk sadece iki yaprak yemiştir. Buna rağmen elektrokardiyografi (EKG)'de anormallik gözlenmiştir. Erkek çocuktan alınan kan örneğinde LC/MS-MS yöntemi ile 3,5-DMP, 10-DAT, BAC-III, 10-DAB III varlığı tespit edilmişken, anne ve kızında bu belirteçler negatif çıkmıştır. Aynı çalışmada 38 yaşındaki bir erkeğin zehirlenerek ölmesi de yer almıştır. Babası tarafından yatağında ölü olarak bulunan bireyin ağızının etrafında yeşil küçük yapraklar görülmüştür (Şekil 2.4.5.4). Olay yeri incelenmesinde masasında bir makas ve etrafta kesilmiş yapraklar bulunmuştur. Polisin ilk tutanağında yapraklar, noel ağacı olarak kullanılan çam ağacı yaprakları olarak tanımlanmıştır. Otopsiden sonra mide içeriği, idrar ve kanda toksikolojik analiz yapılmış 3,5-DMP ve *Taxus baccata*'da bulunan diğer bileşikler pozitif çıkmıştır.



**Şekil 2.4.5.4.** Zehirlenme vakasında ağız ve çevresinde gözlenen yaprak parçaları

Reijnen ve ark. (2017)'ın sunduğu olgu örneğinde; psikiyatri servisinde yatan 19 yaşında kadın hasta porsuk ağacından yaptığı çayı içerek intihar etmiştir. Olay yeri incelemelerinde, bilgisayarındaki geçmiş tarayıcı kayıtlarında *Taxus baccata* ile ilgili araştırma yaptığı tespit edilmiştir. Yine incelemeler sırasında odasında içinde sadece ıslak yapraklar kalan 1 litrelik bir şişe ve bardak bulunmuştur.

Rebecca Jones ve ark. (2011), yazdığı bir vaka raporunda; daha önce intihar geçmişi olan bir kız çocuk, İngiliz Tarihi dersinde Birleşik Krallık'a bağlı Iceni Kabilesi'nin kraliçesi Boudica'nın Romalılara teslim olmak yerine porsuk ağacı yaprakları yiyerek intihar

ettiğini öğrenmiştir. Öğrendiği bilgiden etkilenerek, porsuk ağacı yaprakları ve dallarından yiyerek intihar girişiminde bulunmuştur. Acil servise başvuran öğrenci tekrar hayata döndürülebilmiştir.

Malkoç & Üzün (2021), Türkiye'de literatüre geçen tek vakayı yayınlamıştır. Görgü tanığının ifadesine göre genç kadın parktan bazı bitki parçaları toplayarak yemiştir. Daha sonra kusmaya başlamış ve yere yığılmıştır. 29 yaşındaki kadının odasında yapılan araştırmada çöp kutusunun içinde kırmızı renkli meyveler bulunmuştur. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Anabilimdalı'na gönderilen örneklerde yapılan analiz sonucu bitkinin *Taxus baccata* olduğu sonucuna varılmıştır (s. 384-387).

Gausterer ve ark. (2012)., yayınladıkları çalışmada, 23 yaşında bir kadın evinde ölü bulunmuştur. Cesedin yanında yeşilimsi bir kusmuk içerisinde belli-belirsiz kırmızı meyveler olduğu görülmüştür. Eşi ifadesinde üniversitedeki final sınavları ile ilgili şiddetli anksiyete atakları yaşadığını ve depresyonda olduğunu söylemiştir. İntiharı düşündüren olayda adli tıp çalışanları, yaptıkları otopsi sonucunda midede ezilmiş yapraklar olduğunu gözlemişlerdir. Zehirlenmenin porsuk ağacından kaynaklandığından şüphelenen araştırmacılar, mide içeriğinden alınan örnekte 3,5-DMP bileşiğinin varlığına rastlamışlardır. Daha sonra yapılan çalışmada ise *Taxus baccata* yaprakları olduğunu doğrulamak için moleküler bir yöntem kullanmışlardır. Midede bulunan yaprak parçalarından elde ettikleri DNA'da *ITS* genini PCR yöntemi ile çoğaltıp BLAST programında aynı türe ait bilinen dizi ile karşılaştırma yapmışlardır. Elde ettikleri sonuca göre bitki türünün *Taxus baccata* olduğunu ispat etmişlerdir.

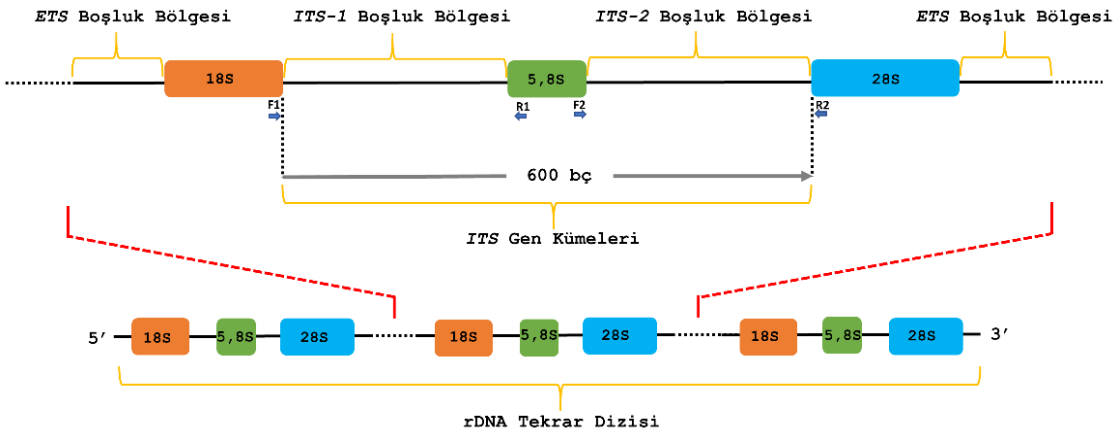
### 2.5. *ITS* bölgesi ve Kullanım Alanları

Türleri tayin edebilmek ve türler arası akrabalık ilişkilerini belirlemek amacıyla moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin temelini türe özgü gen bölgeleri oluşturur (Uluar, 2018).

Bitkilerde ribozom; 18S küçük alt birim ve 5,8S-28S büyük alt birimi kodlayan ribozomal DNA (rDNA)'daki tekrarlı genlerden meydana gelmektedir. *ITS* bölgeleri; bu tekrarlı

rDNA dizileri arasındadır. 18S ile 5,8S arasında *ITS-1*, 5,8S ile 28S arasında *ITS-2*, 5' ve 3' uçlarda external transcribed spacer (*ETS*) bölgeler vardır (Şekil 2.5.1). Bu kısımlar intronik bölgede olduğu için herhangi bir protein kodlamazlar (Coleman, 2003). Türler arasında *ITS* uzunlukları ve nükleotid dizilimleri farklılık gösterir (Jobst vd., 1998; Uluar, 2018). Ayrıca *ITS-1*'in *ITS-2*'ye göre nükleotid değişimine daha açık olduğu bilinmektedir (Baldwin vd., 1995).

*ITS* dizilerinin tür çalışmalarında sık kullanılma sebepleri olarak; uygun sayıda baz çifti içermesi (yaklaşık 700 bp), rDNA'ya ait gen bölgelerinin içinde olması, aynı türe ait DNA örneklerinde nükleotid farklılıkları göstermemesi ve nükleer DNA'da çok sayıda kopyası olması örnek verilebilir (De & Bandyopadhyay, 2008; Smirnov vd., 2021). İlgili türün tayini için öncelikle nükleer DNA izolasyonu yapılır. *ITS* bölgesine spesifik primerler kullanılarak ilgili bölge PCR ile çoğaltılır ve son olarak biyoinformatif araçlar kullanılarak dizi analizi yapılır (Baldwin vd., 1995).




**Şekil 2.5.1.** *ITS(1-2)* kümeleri ve primer çiftlerinin (F-R) bitki rDNA'sındaki temsili lokalizasyonları. F: Forward/ileri; R: Reverse/geri (Ebadi & Ebadi (2024)'den türkçeleştirilerek oluşturulmuştur)

## 2.6. BLAST

NCBI, 1988 yılında ABD'de kurulan bir biyolojik veri tabanı sitesidir (Agarwala vd., 2016). Bu sitede yer alan Publication Medicine Center (PMC) arama servisi, dünya genelinde yayınlanan çok sayıda bilimsel makaleye erişim mümkün kılmaktadır.

Kullandığı algoritmalar proteinlerde yapı ve fonksiyon araştırmaları, taksonomi çalışmaları ve sekans analizlerinin yapılmasına imkan sağlar. Sekans analizleri için kullanılan araçlardan biri ise BLAST'dır (Krauthammer vd., 2000).

Aynı veya farklı türler arasında nükleotid ya da protein dizi karşılaştırmaları yapmak için kullanılır (Tanyolaç vd., 2012) (s. 634). Temelde; bir protein ya da DNA dizisini, bir protein ya da DNA veri tabanında yer alan diğer diziler ile karşılaştırarak arasındaki benzerlikleri (alignment) ortaya çıkarır. En çok benzeyen dizileri bularak puanlandırır. İlk olarak sorgulanacak diziyi belirli boyuttaki kelimelere böler. Kelime benzerliklerini yüksek skor çiftlerine uzatır ve değerlendirir (Saçar, 2012). BLAST aracı, karşılaştırılmak istenen dizi ve kullanılan veri tabanına göre kendi içerisinde farklı programlara ayrılmıştır. (Çizelge 2.6.1) (Tanyolaç vd., 2012) (s. 643).

**Çizelge 2.6.1.** BLAST programları

| Program | Sorgu Dizisi | Veri Tabanı |
|---|---|---|
| blastp | Protein | Protein |
| blastn | Nükleotid | Nükleotid |
| blastx | Nükleotid | Protein |
| tblastn | Protein | Nükleotid |
| tblastx | Nükleotid | Nükleotid |

# 3. MATERYAL ve YÖNTEM

## 3.1.Materyal

### 3.1.1. Kimyasal maddeler

**Çizelge 3.1.1.1.** Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler

| Kimyasal Maddeler | Temin Edildiği Firma/Yer |
|---|---|
| HCl çözeltisi (>%37) | Sigma/ABD |
| NaCl | Sigma/ABD |
| Kloroform | Merck/Almanya |
| İzoamil Alkol | Merck/Almanya |
| Ethanol (%96-100) | Merck/Almanya |
| β-Merkaptoetanol | Sigma/ABD |
| DNA Ladder (1 kb/N3232S) | Neb/ABD |
| DNA Ladder (100 bp/N3231S) | Neb/ABD |
| Yükleme boyası (6X/G108-R) | Abm/Kanada |
| Yükleme boyası (6X/7654) | Sigma/ABD |
| Etidyum Bromür (EtBr/111608) | BioShop/Kanada |
| Tris bazı | Sigma/ABD |
| Borik Asit | BioShop/Kanada |
| Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA) | BioShop/Kanada |
| Agar-Agar | Sigma/ABD |
| Pepsin | Merck/Almanya |

### 3.1.2. Sarf malzemeler

**Çizelge 3.1.2.1.** Tez çalışmasında kullanılan sarf malzemeler

| Sarf Malzemeler | Temin Edildiği Yer |
|---|---|
| Dnase&Rnase içermeyen filtreli 10µl'lik pipet uçları | Corning/ABD |
| Dnase&Rnase içermeyen filtreli 100µl'lik pipet uçları | Corning/ABD |
| Dnase&Rnase içermeyen filtreli 1000µl'lik pipet uçları | Corning/ABD |
| Dnase&Rnase içermeyen santrifüj tüpleri (15 ml) | Thermo Scientific/ABD |
| Dnase&Rnase içermeyen santrifüj tüpleri (50 ml) | Thermo Scientific/ABD |
| Dnase&Rnase içermeyen eppendorf tüpleri (0,5 ml) | SSIbio/ABD |
| Dnase&Rnase içermeyen eppendorf tüpleri (1,5 ml) | SSIbio/ABD |
| Serolojik pipet (10 ml) | ThermoFisher/ABD |
| Serolojik pipet (25 ml) | ThermoFisher/ABD |
| Sıvı Azot | Asalgaz/Türkiye |
| Mezür (100 ml-1000 ml) | Superior Marienfeld/Almanya |
| Parafilm (50 mm x 75 m) | 3M/Türkiye |

### 3.1.3. Cihazlar

**Çizelge 3.1.3.1.** Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

| Cihazlar | Temin Edildiği Yer |
|---|---|
| Yatay elektroforez sistemi (NanoPAC-300P) | Cleaver Science/UK |
| Steril Kabin (Kimyasal Hazırlama) | Esco/Singapur |
| 0,5-10µl'lik pipet (Biohit) | Krackeler Scientific/New York |
| 10-100µl'lik pipet (Biohit) | Krackeler Scientific/New York |
| 100-1000µl'lik pipet (Biohit) | Krackeler Scientific/New York |
| Saf su cihazı (Direct-Q 3 UV) | Merck/Almanya |
| Kuru Blok Termostat (WiseTherm HB-96) | Daihan Scientific/Güney Kore |
| UV-Görüntüleme Cihazı (Syngene GVM20) | Gemini/Hollanda |
| Hassas terazi (Precisa-XB3200C) | Labor/Türkiye |
| (+4) / (-20) °C Buzdolabı | Vestel/Türkiye |
| Mikrospin-Vortex cihazı (WiseMix VM-10) | Lab.Tec/Almanya |
| Manyetik mini-karıştırıcı (Isotex SH-4) | İldam/Türkiye |
| Mikrosantrifüj (Gyrozen 1524) | Art Laborteknik/Türkiye |
| Buharlı sterilizatör/Otoklav | Nüve/Türkiye |
| Nanodrop (NANODROP 2000) | Thermo Scientific/ABD |
| pHmetre (AD1000) | Adva/Macaristan |
| Soğutmalı santrifüj (NF 400R) | Nüve/Türkiye |
| Pcr tüpleri | Nüve/Türkiye |
| Pcr cihazı (Applied Biosystems Step One Plus v2.3) | Thermo Scientific/ABD |
| Falkon Tüp Karıştırıcı (Tube Revolver Rotator) | Thermo Scientific/ABD |

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. *Taxus baccata* örneklerinin toplanması ve saklanması

Bitki örnekleri; 23 Nisan 2025'de Prof. Dr. Özer YILMAZ danışmanlığında Bursa Kültürpark bölgesindeki arazi çalışmasında toplanmıştır. Üzerinde yaprak bulunan dallar (Şekil 3.2.1.1.A ve B) makas yardımıyla kesilerek temiz bir poşete koyulmuştur. Bitkinin dalları laboratuvarda önce saf suyla hafifçe yıkanmış, ardından %70 etanolde birkaç

saniye tutulduktan sonra tekrar saf suyla alkolden arındırılmıştır. Temizlenen yapraklar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.2.1.1.C).




**Şekil 3.2.1.1.** Örneklerin alındığı porsuk ağacının uzaktan (A) ve yakından (B) görüntüsü. Ön-hazırlık aşaması uygulanan yaprak örnekleri (C)

### 3.2.2. *Taxus baccata* yapraklarının sindirim sıvılarıyla muamele edilmesi

*Taxus baccata* zehirlenme vakalarının çoğunda zehirlenme şeklinin yaprakların tüketilmesiyle olduğu görülmektedir (Reijnen vd., 2017). Bu nedenle deneyde *Taxus baccata* yapraklarının kullanılmasına karar verilmiştir. Bir önceki bölümde gösterildiği gibi bazı vakaların otopsisinde, sindirim organlarında yaprak parçalarına rastlanmıştır. Bu parçalar neredeyse tanımlanamayacak haldedir ve sindirim enzimlerine maruz kalmıştır.

Gerçek bir vakadan örnek alınamadığı için taze toplanmış ve temizlik aşamalarından geçmiş yapraklar, 1:1 oranda tükürük sıvısına (amilaz enzim (*EC 3.2.1.1*) aktivitesi için) ve %1 (v/v)'lik HCl (pH:1,5-2) içinde hazırlanmış 2 mg/ml pepsin çözeltisine (pepsin enzim (*EC 3.4.23.1*) aktivitesi için) fizyolojik ortam koşullarında (37 °C) maruz bırakılarak bağımsız değişken olan zamanın etkisi analiz edilmiştir. İlgili koşullar, Minekus vd. (2014) çalışmasından yardım alınarak planlanmıştır.
Bitki örneklerinde sindirim enzimleri ve zaman faktörlerinin etkisini analiz etmek amacıyla öncelikle altı farklı deney grubu oluşturulmuştur (Şekil 3.2.2.1). Her grup için eşit miktarda (0,6 gram) taze bitki yaprağı kullanılmıştır. Kuruyan yapraklar 0,5 x 0,5 cm parçalara ayrılarak 6 örnek hazırlanmıştır (Şekil 3.2.2.1).



**Şekil 3.2.2.1.** *Taxus baccata* yapraklarıyla hazırlanan örnek grupları

Hazırlanan örnekler 15 ml'lik falkon tüplere alınmıştır. Çizelge 3.2.2.1.'de hazırlanış şeması verilen A, B ve C tüpleri kontrol grubunu; diğer tüpler (D, E ve F) ise farklı ortam ve süre koşullarına maruz bırakılmış bitki örneklerini içeren deney grubunu ifade etmektedir.

**Çizelge 3.2.2.1.** *Taxus baccata* yapraklarından kontrol ve deney gruplarının hazırlanış şeması

| A | B | C | D | E | F |
|---|---|---|---|---|---|
| Örnek + Nükleaz İçermeyen Su (1 Saat) | Örnek + Nükleaz İçermeyen Su (2 Saat) | Örnek + Nükleaz İçermeyen Su (3 Saat) | Örnek + Tükürük Sıvısı + Pepsin Çözeltisi (1 Saat) | Örnek + Tükürük Sıvısı + Pepsin Çözeltisi (2 Saat) | Örnek + Tükürük Sıvısı + Pepsin Çözeltisi (3 Saat) |

1. Ağız ortamı simülasyonu: A, B ve C tüplerine 0.6 ml su; D, E ve F tüplerine 0.6 ml tükürük sıvısı eklenip vorteklenmiştir. Hazırlanan örnekler karıştırıcıya alınıp 37°C' de 20 dk boyunca sıvıların yapraklara temas etmesi sağlanmıştır.
2. Mide ortamı simülasyonu: A, B ve C tüplerine 0.6 ml su; D, E ve F tüplerine 0.6 ml pepsin-HCI çözeltisi eklenmiştir. Örnekler vortekslendikten sonra yine 37°C'de karıştırıcıya alınmıştır (Şekil 3.2.2.2). 1 saat sonra A ve D, 2 saat sonra B ve E, 3 saat sonra C ve F tüpleri buzdolabına (+4 °C) koyularak enzim aktivitelerinin durması sağlanmıştır.

3. Örneklere eklenen sıvıların yaklaşık 3 katı kadar (5 ml) 1X soğuk (+4) PBS eklendi.
4. 1000 rpm'de 45 sn spin santrifüj uygulanarak bitki parçacıklarının dibe çökmesi sağlandı. Sıvı kısım ortamdan uzaklaştırıldı.




**Şekil 3.2.2.2.** Örneklerin belirli zaman periyotları boyunca inkübasyon aşamaları

### 3.2.3. DNA izolasyonu

Bitki örneklerinin tayini için yapılan moleküler analizlerin ilk basamağı genomik DNA'nın elde edilmesidir. Genomik DNA izolasyonu için genel aşamalar ise sırayla; hücre duvarı ve hücre zarının parçalanması, protein ve diğer bileşiklerin uzaklaştırılması, DNA'nın çöktürülmesi ve uygun koşullarda saklanmasıdır (Yılmaz S, 2021).
DNA'nın elde edilmesi için hazır kitler ya da farklı izolasyon yöntemleri kullanılmaktadır (Abdel L & Osman, 2017). Tez çalışması için CTAB yöntemi kullanılmıştır (Lodhi et al., 1994) Metod, rutinde bitki DNA izolasyonunda kullanılan oldukça etkin bir yöntemdir (Schenk vd., 2023).

**a-İzolasyon için gerekli çözeltilerin hazırlanması**

1- Extraksiyon Buffer: Öncelikle bir miktar nükleaz içermeyen suya 20 mM EDTA ve 100 mM Tris- HCl eklendi ve pH: 8.0'da hazırlandı. Devamında 1.4 M NaCl ve %2'lik (w/v) CTAB çözeltiye eklenerek toplam 200 µL hacimde çözelti hazırlandı. 60 °C'de çözdürüldükten sonra kullanıma kadar oda sıcaklığında saklandı. İzolasyon öncesi % 0.2'lik β-Merkaptoetanol taze olarak eklendi.

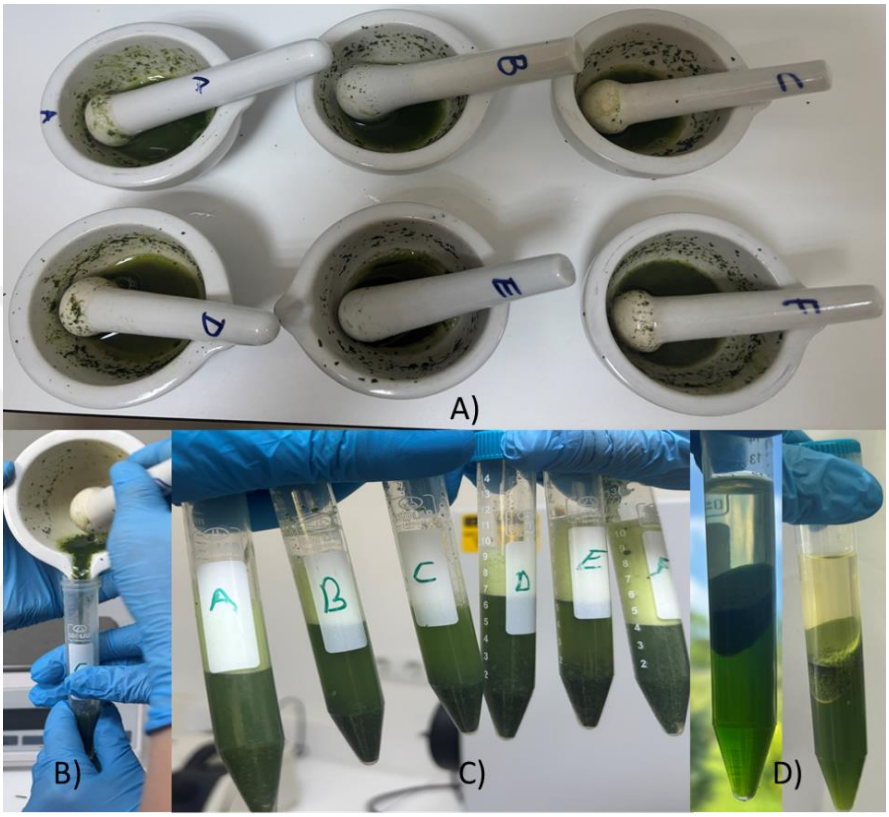
2- TE Buffer: Bir miktar nükleaz içermeyen suya 10 mM Tris-HCl ve 1 mM EDTA (pH: 8.0) eklendi ve pH: 8.0'da çözdürüldü. dd$H_2O$ ile 100 ml'ye tamamlanarak çözelti hazırlandı ve otoklavda steril edildi.

3- Tuz ile çöktürme aşamasında kullanılmak üzere 5 M NaCl hazırlandı.

**b-CTAB metodunun uygulanışı**

İzolasyon için öncelikle Çizelge 3.2.2.1'de verilen koşullarda muamele edilen bitki örnekleri, 1X PBS ile santrifüj sonrası havana aktarılarak sıvı azot yardımıyla toz haline getirildi (Şekil 3.2.3.1). Homojenize örneklerin üzerine 5 ml CTAB tamponu eklendi ve karışım 15 ml'lik tüplere aktarıldı. Ardından örnek başına 50 mg Poly vinyl polypyrrolidone (PVP) eklenerek vortekslendi. Bir saat süreyle 65°C'de tüp rotator cihazı yardımıyla inkübe edildi. İnkübasyon sonunda örneklerin oda sıcaklığına gelmesi sağlandı ve 24:1 oranında hazırlanmış Kloroform:İzoamil Alkol 6 ml/örnek eklenerek 20-25 defa alt üst edildi. Oda sıcaklığında 15 dk boyunca 6000 dakika başına devir (rpm)'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüplerde 3 faz gözlendi. En üstte DNA'yı içeren renksiz sulu faz 15 ml'lik yeni bir tüpe aktarılarak alttaki pelet kısımdan uzaklaştırıldı. Süpernatant miktarının 0,5 katı kadar hacim 5 M NaCl eklenerek dikkatlice karıştırıldı. Devamında yine ilk koyulan süpernatantın iki katı kadar hacimde %95'lik soğuk (-20°C) etil alkol tüpe eklendi. Buz üzerinde ve buzdolabında 15-20 dk (DNA iplikleri görünene kadar) beklendi. Süre sonunda oda sıcaklığında sırasıyla 3000 rpm 3 dk ve 8000 rpm 5 dk süreyle santrifüj edilerek DNA'nın dibe çökmesi sağlandı. Santrifüj sonrası karışım dikkatlice atık kabının içerisine devirmek suretiyle dökülerek soğuk %76'lık etil alkol ile yıkandı. İlk yıkama sonrası alkol uzaklaştırılıp, pipet ucu ile DNA yumağı yeni ependorf tüpe alındı. İkinci defa %76'lık Etil Alkol ile yıkandı ve tüpten uzaklaştırıldı. 37°C

sıcaklıkta 10-15 dk süre boyunca tüpün kapağı açık bırakılarak etil alkolün uçması sağlandı. Pellet yoğunluğuna göre (200-500 µl) TE Buffer konularak hafifçe pipetaj yapıldı. DNA'nın bir gece boyunca oda sıcaklığında çözülmesi beklendi. Örnekler ileri analizlerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı.




**Şekil 3.2.3.1.** CTAB yöntemi izolasyon aşamaları (A-Sıvı azot ile homojenizasyon, B-CTAB Ekstraksiyon Buffer ile parçalama, C-Kloroform:İzoamil Alkol ile karıştırma işlemi, D-Santrifüj sonrası oluşan fazlar)

### 3.2.4. Nanodrop cihazı ile bitki DNA örneklerinin saflık tayini

Nanodrop cihazı, izolasyonu yapılan DNA ve Ribonükleik Asit (RNA) gibi moleküllerin miktar (ng/µL) ve kaliteleri (Dalgaboyu grafikleri ve Optik Density (OD)'lerinden faydalanılarak) hakkında araştırmacılara kantitatif veriler sağlamaktadır. Genellikle, DNA örneklerinin saflık derecesi ($A_{260}/A_{280}$) 1,8-2,0 referans aralık olarak kabul edilmektedir. Nanodrop cihazında okuma yapmak için izole edilen DNA örneği ve blank olarak DNA'nın çözündüğü TE tampon çözelti kullanıldı. İlgili örneklerden 1'er µl alınıp ölçüm sağlandı.

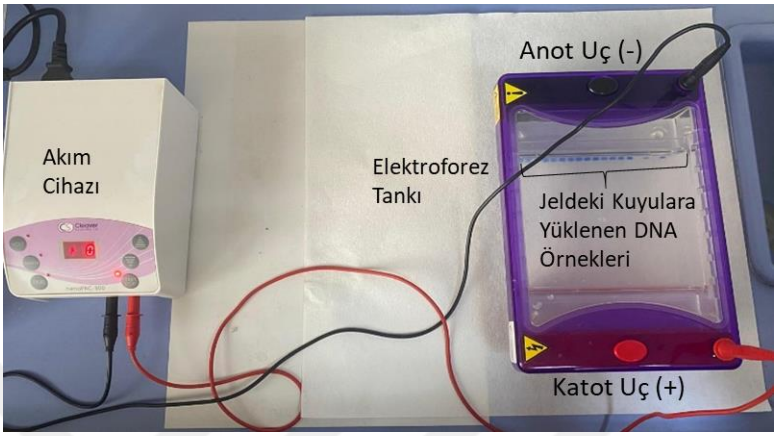
### 3.2.5. DNA örneklerinin agaroz jel elektroforez ile görüntülenmesi

Agaroz jel elektroforez; jel maddesi olarak agarın kullanıldığı ve moleküllerin elektriksel ortamda hareketine dayanan kalitatif bir analiz yöntemidir. Bu yöntem genellikle DNA ve RNA moleküllerini görüntülemek için kullanılır. Şekil 3.2.5.1'de parçaları verilen elektroforez cihazının çalışma prensibi kısaca şöyle tanımlanabilir; Anot ve katot uçlar arasında uygulanan elektriksel alan kuvveti sonucunda meydana gelen manyetik güçle, negatif yüklü nükleik asitler pozitif yüklü uca doğru ilerlerken molekül ağırlıklarına göre bantlar oluştururlar. İlgili bantlar UV ışık yardımıyla görüntülenir ve referans olarak bant aralıkları bilinen marker/belirteç yardımıyla yoğunluğu/baz çifti bilinmeyen nükleik asit örnekleri hakkında bilgi verir (Kavsaoğlu & Mersinkaya, 2019).

Elektroforezde kullanılan jel ticari olarak hazır şekilde satın alınabilir ya da yürütülecek molekülün büyüklüğüne göre farklı yüzdelerde (DNA için genellikle %1'lik) Agar-agar'ın liyofilize hali ve $dH_2O$ ile hazırlanabilir. Liyofilize agardan jel hazırlanırken, çözeltiye EtBr eklenir. EtBr; DNA iplikleri ile interkalasyon yaparak UV ışık altında turuncu ışıma şeklinde bantların görünmesini mümkün kılar. Jel çözeltisi, soğuma esnasında Elektroforez tankında uygun tepsiye (tray) dökülerek katı porlu hale gelmesi sağlanır. Uygulanan elektriksel kuvvetin etkisi ile kuyulara yüklenen molekülün ilerlemesi tampon çözelti sayesinde gerçekleşir. Tampon çözelti; ortamda iyon yükü dengesini sağlayarak elektriksel alanın stabilizasyonunda görev alır. Bu kapsamda ilgili tampon çözelti; Tris-Borik Asit-EDTA kullanılarak, referans olarak takip edilen çalışma yönergelerine göre hazırlanmıştır (Sanderson vd., 2014). Jeldeki kuyucuklara DNA'nın yüklenebilmesi için Loading Dye/yükleme boyasına ihtiyaç vardır. Yükleme boyası aynı zamanda yürütme esnasında DNA'nın tahmini olarak konumunu/bant aralığını gözle görebilmesini sağlar.

Jel ve tampon çözelti hazırlandıktan sonra yükleme boyası (1X) ve genomik DNA için ortalama 100 ng DNA örnekleri karıştırılarak 6µl hacimde ilgili kuyulara dikkatlice yüklendi. Neb N3232S (500 µg/ml) 1 kb DNA Ladder referans olarak kullanıldı. Jelin boyutlarına bağlı olarak ortalama 80 V (6 V/cm) ve 90 dk boyunca yürütme işlemi gerçekleştirildi. Anot uçtan uygulanan elektriksel kuvvet ve tampon çözelti yardımıyla

moleküllerin ilerlemesini sağlandı. Jel ve yürütülen DNA örneklerinin voltaja bağlı oluşan ısıdan zarar görmemesi için buz üstünde işlem gerçekleştirildi. Süre sonunda DNA örnekleri, UV transilluminator cihazı ile görüntülendi.




**Şekil 3.2.5.1.** Agaroz jel elektroforez sistemine ait parçalar

### 3.2.6. PCR ile *ITS* bölgelerinin çoğaltılması

Filogeni çalışmalarında tür tayinlerini için rDNA bölgesinde yer alan *ITS* dizileri sıklıkla kullanılır (Rgen Jobst vd., 1998). *Taxus baccata* bitkisine ait Internal Transcribed Spacer (*ITS*) (*ITS*-1, 5.8S gen ve *ITS*-2) bölgesinin çoğaltılması için Çizelge 3.2.6.1'da dizisi verilen primer (Gausterer vd., 2012; (Kakiuchi et al., 2011) seti ticari olarak temin edilmiştir.

**Çizelge 3.2.6.1.** *ITS* bölgesine ait primerlerin baz dizisi

| Primer | Yön | Tm*(°C) | Sekans (5′→3′) |
|---|---|---|---|
| *ITS*_F | Forward | 58 | AACCTGCGGTAGGATCATTGT |
| *ITS*_R | Reverse | 59 | TCGCGACTAACAACGAGTAAAGT |

*Tm; Melting Temperature

Standart PCR (End-Point) ile *ITS* bölgesi çoğaltma işlemi, "Applied Biosystems Step One Plus v2.3 (ThernoFisher, USA)" cihazında "dNTP, Polimeraz ve Buffer çözeltilerini içeren (5X) FIREPol® Master Mix (12.5 mM MgCl2)" kullanılarak, mix üretici firmanın protokolü doğrultusunda optimize edilerek aşağıda verilen bileşenler ve döngü koşullarında gerçekleştirildi (Çizelge 3.2.6.2).

**Çizelge 3.2.6.2.** PCR bileşenleri ve döngü koşulları

| PCR Bileşenleri | Final Konsantrasyon | Döngü Koşulları | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 5X FIREPol® Master Mix (12.5 mM $MgCl_2$) | 1X | İlk Denatürasyon | 95 $^0$C | 5 dakika | x1 |
| Forward Primer (0,1-0,3 µM) | 0,3 µM | Denatürasyon | 95 $^0$C | 30 saniye | x30 |
| Reverse Primer (0,1-0,3 µM) | 0,3 µM | Annealing | 55 $^0$C | 30 saniye | |
| Template (cDNA) (2-200 ng) | 50 ng | Uzama (1 dk/kb) | 72 $^0$C | 60 saniye | |
| Nuclease İçermeyen Su | Total hacim 20 µl'ye tamamlanır | Son Uzama | 72 $^0$C | 5 dakika | x1 |

### 3.2.7. PCR ürünlerinin agoroz jel elektroforezi ile görüntülemesi

Master Mix içeriğinde tracking/izleme boyaları yer aldığı için, PCR ürünleri kuyulara direkt olarak 6'şar µl hacimde yüklendi. Neb N3231S (500 µg/ml) 100 bp DNA Ladder referans olarak kullanıldı. %2'lik agaroz jelde 100 V' da 90 dakika yürütme işlemi gerçekleştirildi. Süre sonunda UV transilluminator cihazı ile görüntülendi. Bu sayede, belirli sürelerde sindirim çözeltilerine maruz bırakılan bitki örnekleri DNA'larının bozulma oranları kalitatif olarak belirlendi.

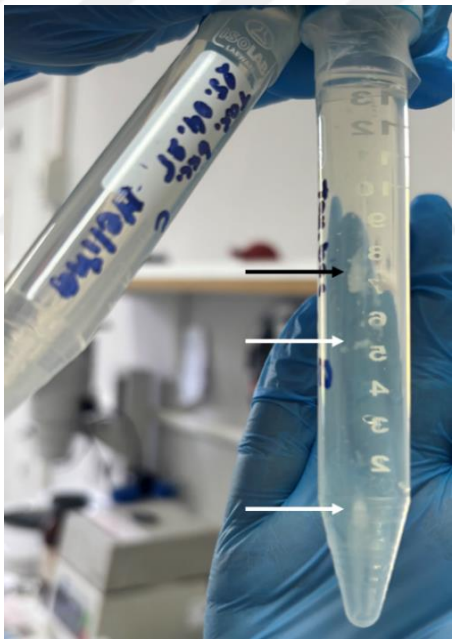
### 3.2.8. DNA dizi analizi ve türün belirlenmesi

PCR ile çoğaltılan örneklerde çift yönlü okuma yapılması için hizmet alımı gerçekleştirildi. Sekanslanan örneklerin AB1 formatlı verileri, Snapgene programı kullanılarak işlendi. Nükleotidlerin kromatogram görüntüleri incelendi ve primer bölgeleri uzaklaştırıldı. *ITS*1-F ve *ITS*2-R primerlerinin sentezlediği dizilerin güvenilir ortak bölgeleri seçilerek fasta formatına dönüştürüldü. Her örnek ayrı ayrı BLAST veri tabanında karşılaştırıldı. İkinci bir kontrol amacıyla farklı bir yöntemle BLAST analizi yapıldı. Bunun için *ITS*1-F ve *ITS*2-R primerlerinin sentezlediği diziler, Clustal Omega programıyla karşılaştırıldı. Hatalı okumalar ve primer bölgeleri tespit edildi. Ortak sekanslar kullanılarak CAP-3 programı yardımıyla devamlı dizi (contig) çıktısı oluşturuldu. Oluşturulan dizi, BLAST veri tabanında karşılaştırıldı.

# 4. BULGULAR

## 4.1. CTAB yöntemi ile *Taxus baccata* örneklerinden DNA izolasyonu

Bitkisel kaynaklı zehirlenme vakalarında, moleküler yöntemlerden faydalanılarak olayların açığa çıkarıldığı bilinmektedir (Nithaniyal vd., 2021). Zehirlenmelerde karşılaşılan ilk belirtilerden bazıları mide bulantısı ve kusmadır. Kusmuk örneğindeki küçük yaprak parçalarından DNA izolasyonu yapmak mümkündür. Bu amaçla materyal&yöntem kısmında açıklaması verilen olası bir zehirlenme senaryosu oluşturuldu, porsuk ağacı yapraklarından DNA izolasyonu gerçekleştirildi. TE tamponu ile çözünme aşamasına geçmeden önce, Şekil 4.1.1'de ok ile belirtildiği gibi DNA'nın bulutsu görüntü oluşturduğu gözlendi.



**Şekil 4.1.1.** %96'lık etil alkol inkübasyonu aşamasında DNA ipliğinin oluşması

## 4.2. İzolasyon sonrası bitki DNA'larında miktar ve saflık tayini

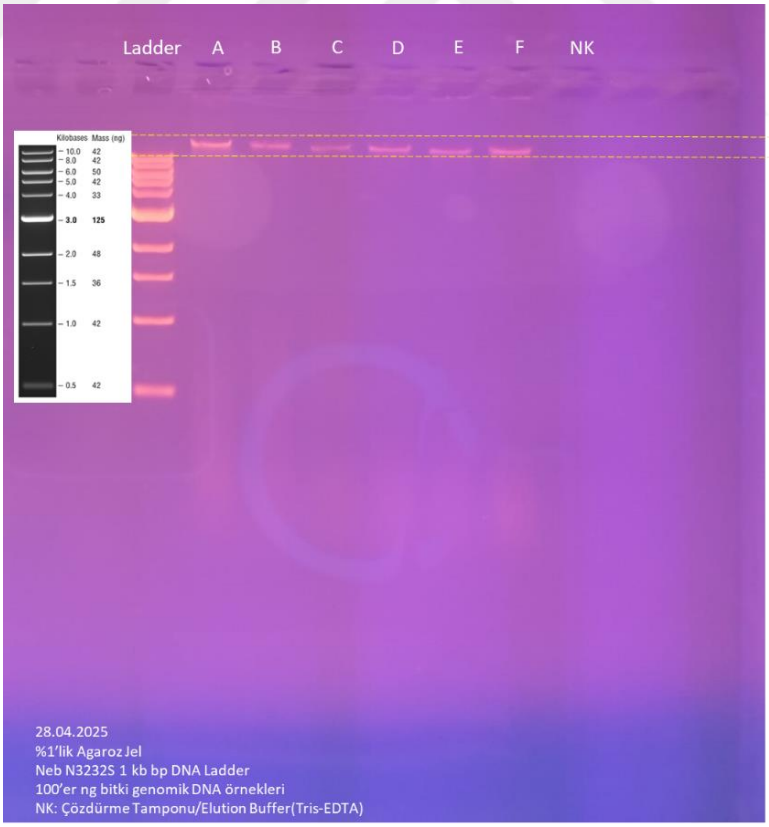
Nanodrop cihazında absorbans okuma sonucunda saflık dereceleri ($A_{260}/A_{280}$) incelendiğinde tüm örneklerin referans aralığında (1.8-2.0) olduğu gözlenmiştir. Hem kontrol grupları hem de deney gruplarında süre arttıkça DNA miktarlarında azalma olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2.1).

**Çizelge 4.2.1.** Nanodrop okuması sonucunda DNA'ların miktar ve saflık değerleri

| Örnek | Nükleik Asit (ng/µL) | A260 /A280 |
|---|---|---|
| A | 792,2 | 1,97 |
| B | 575,2 | 2 |
| C | 460,9 | 2 |
| D | 623,2 | 1,97 |
| E | 70,2 | 1,87 |
| F | 457,8 | 1,97 |

### 4.3. İzolasyon sonrası bitki DNA'larının agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi

Agaroz jel elektroforezi kuyularına eşit miktarda (100 ng) yükleme yapılıp, total DNA'nın varlığı kalitatif analiz edilmiştir. DNA Ladder bantları referans olarak alındığında, bitki genomik DNA örneklerinin yaklaşık 10 kb uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Kontrol gruplarında süre arttıkça bant parlaklığının azaldığı görülmüştür. Enzim içeren gruplarda ise anlamlı bir azalma olmamıştır.



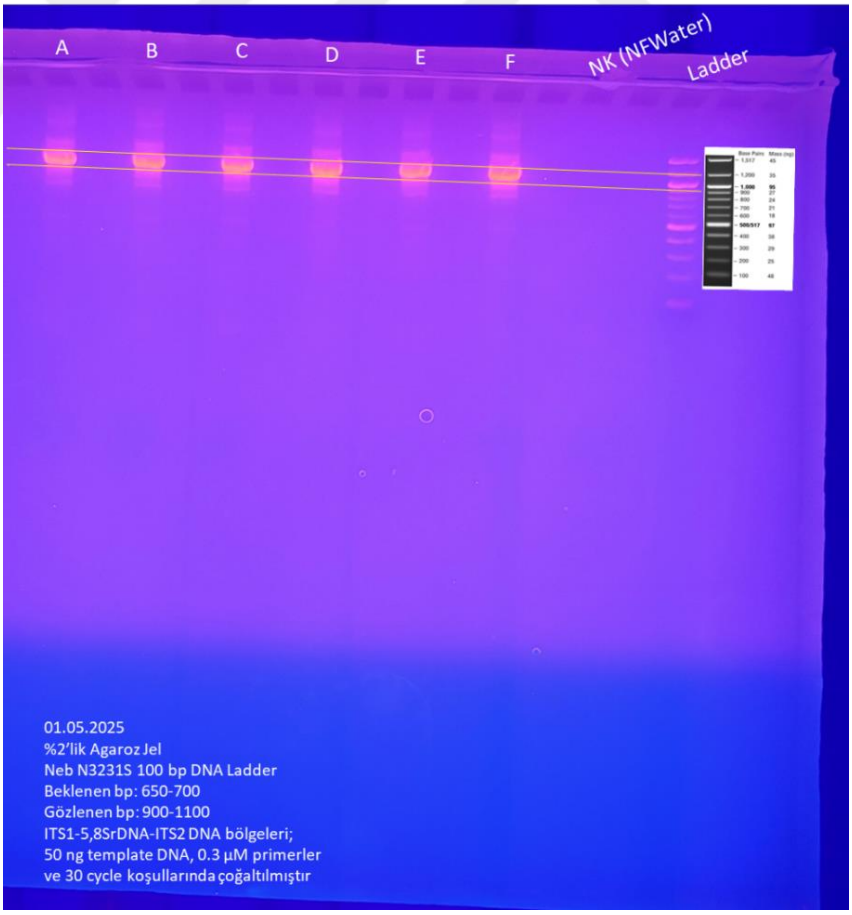

**Şekil 4.3.1.** Agaroz jel elektroforezi sonucunda yürütülen DNA'ların UV ışık altındaki görüntüsü

### 4.4. PCR ile *ITS* bölgelerinin çoğaltılması

PCR yöntemiyle DNA örneklerinde *ITS*-1, 5.8S gen ve *ITS*-2 bölgeleri çoğaltıldı. Master Mix'in temin edildiği firmanın yönergeleri doğrultusunda Çizelge 3.2.6.2'deki bileşenler kullanılarak PCR çoğaltma reaksiyonu gerçekleştirildi.

### 4.5. PCR ürünlerinin agoroz jel elektroforezi ile görüntülemesi

Agaroz jel elektroforezi sonucunda *ITS* bölgesinin 6 örnekte de 900-1100 bp uzunluğunda olduğu görülmüştür (Şekil 4.5.1). Bant yoğunlukları Image.J programı ile hesaplanmıştır (Şekil 4.5.2). Elde edilen sonuçlara göre, hem gruplar arasında (kontrol ve deney) hem de grup içerisinde zamana bağlı olarak bant yoğunluğunun azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5.1).




**Şekil 4.5.1.** *Taxus baccata ITS*-PCR Sonrası Jel Görüntüsü



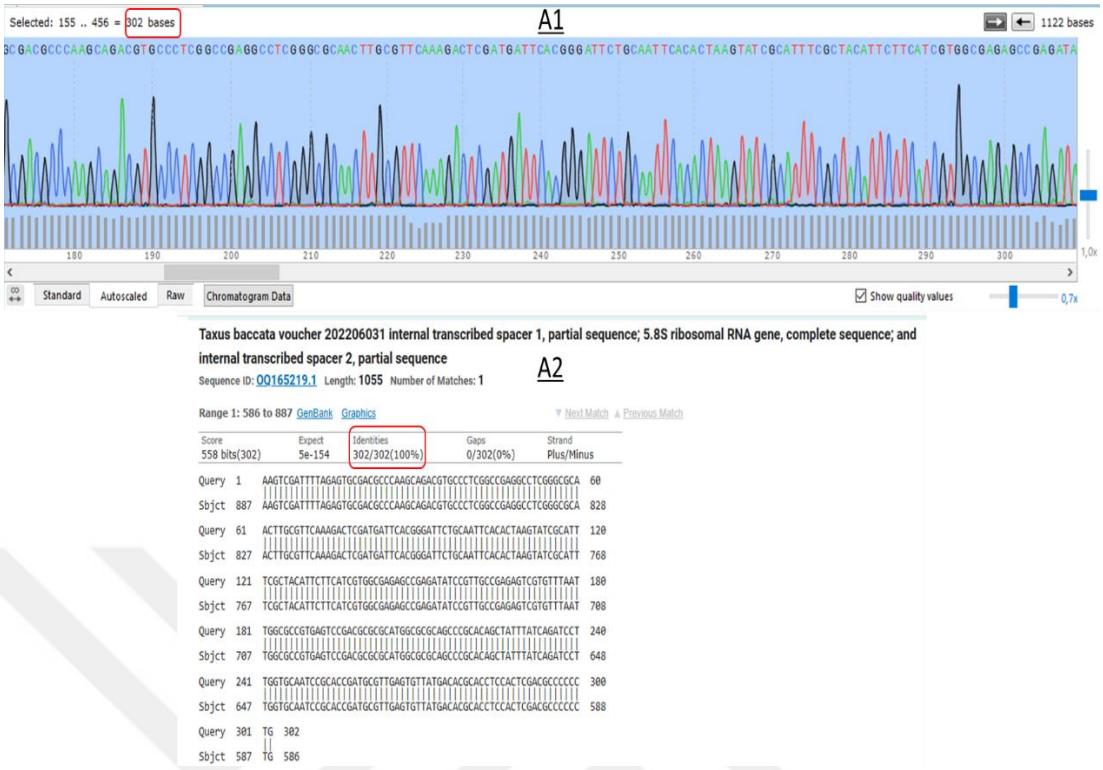

**Şekil 4.5.2.** Jel görüntüsü kullanılarak bant yoğunluklarının hesaplanma aşaması

**Çizelge 4.5.1**. Image J programı ile hesaplanan örnekler arasındaki değişim oranları

| Örnek | Plot Alanı | Göreceli Alan | % (Azalma) |
|---|---|---|---|
| 1 (A) | 100.708,33 | 100,00 | - |
| 2 (B) | 93.781,44 | 93,12 | 6,88 |
| 3 (C) | 92.913,07 | 92,26 | 7,74 |
| 4 (D) | 83.318,63 | 100,00 | - |
| 5 (E) | 66.013,04 | 79,23 | 20,77 |
| 6 (F) | 60.691,97 | 72,84 | 27,16 |

## 4.6. DNA dizi analizi ve türün belirlenmesi

Örneklerdeki DNA dizileri karşılaştırıldığında bazı nükleotid varyasyonlarının olduğu görüldü (Şekil 4.6.8). Buna rağmen her bir dizi BLAST veri tabanında *Taxus baccata* türü ile %100 eşleşme sağladı (Şekil 4.6.1-4.6.7). Yine tüm diziler (contig dizi de dahil) BLAST sonucunda Taxus cinsinin diğer türleri olan *Taxus globosa*, *Taxus sumatrana*, *Taxus wallichiana*, *Taxus celebica* ve *Taxus cuspidata* ile %100 oranda benzerlik gösterdi (Şekil 4.6.2 ve 4.6.10).

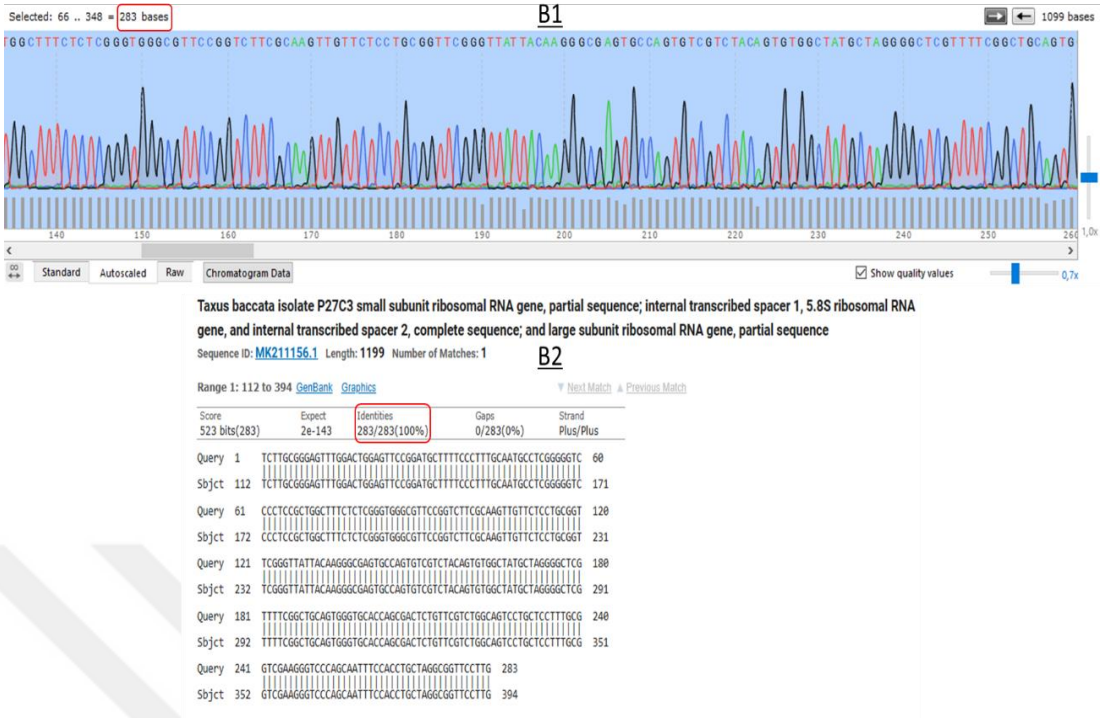



**Şekil 4.6.1.** A örneğinin *ITS*2-R kullanılarak okunan dizisinden 302 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2)

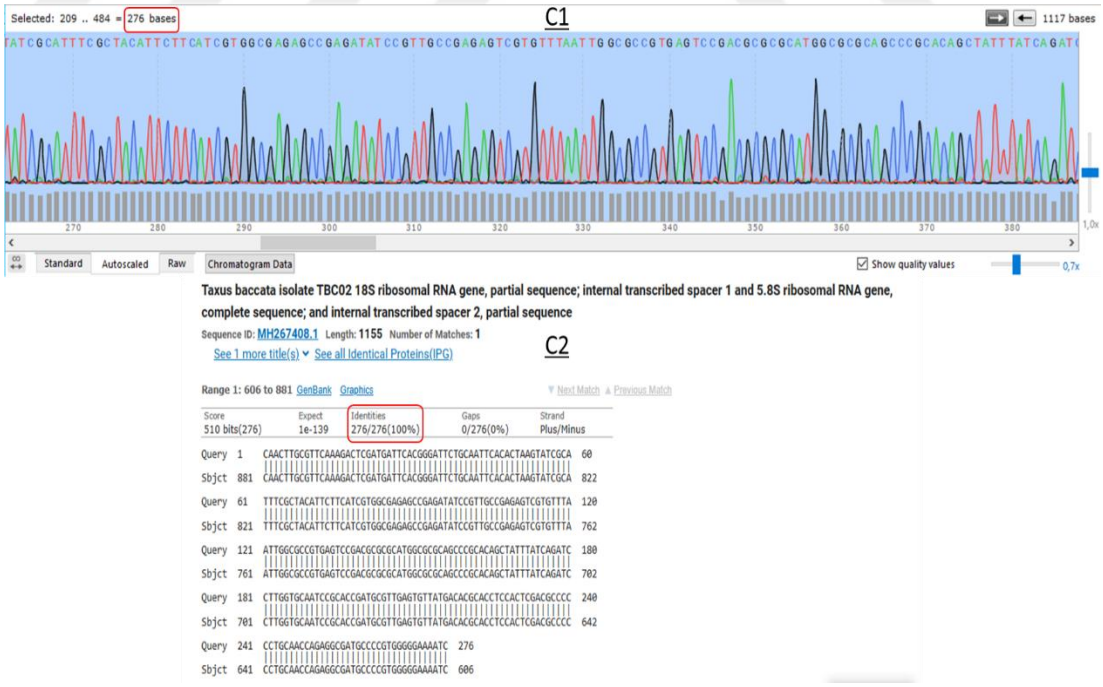
Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

| Description | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Accession |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Taxus phytonii clone L95b internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5 | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|2686090154\|PP388607.1 |
| Taxus wallichiana var. wallichiana isolate YN04 internal transcribed spacer 1 | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|2015378769\|MW788524.1 |
| Taxus sp. 'Huangshan type' voucher Taxus_Huangshan_HSH6 internal tran | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|1867186377\|MT735126.1 |
| Taxus baccata voucher 202206031 internal transcribed spacer 1, partial sec | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|2419340239\|OQ165219.1 |
| Taxus sp. 'Huangshan type' clone HSH5b internal transcribed spacer 1, part | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|2686089892\|PP388345.1 |
| Taxus phytonii clone S233b internal transcribed spacer 1, partial sequence; | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|2686090254\|PP388707.1 |
| Taxus phytonii clone AP1b internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5 | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|2686090350\|PP388803.1 |
| Taxus sp. 'Huangshan type' clone HSH5a internal transcribed spacer 1, part | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|2686089891\|PP388344.1 |
| Taxus wallichiana var. wallichiana isolate YN01 internal transcribed spacer 1 | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|2015378763\|MW788521.1 |
| Taxus sp. 'Huangshan type' clone HSH4a internal transcribed spacer 1, part | 558 | 558 | 100% | 1e-154 | 100.00% | gi\|2686089889\|PP388342.1 |

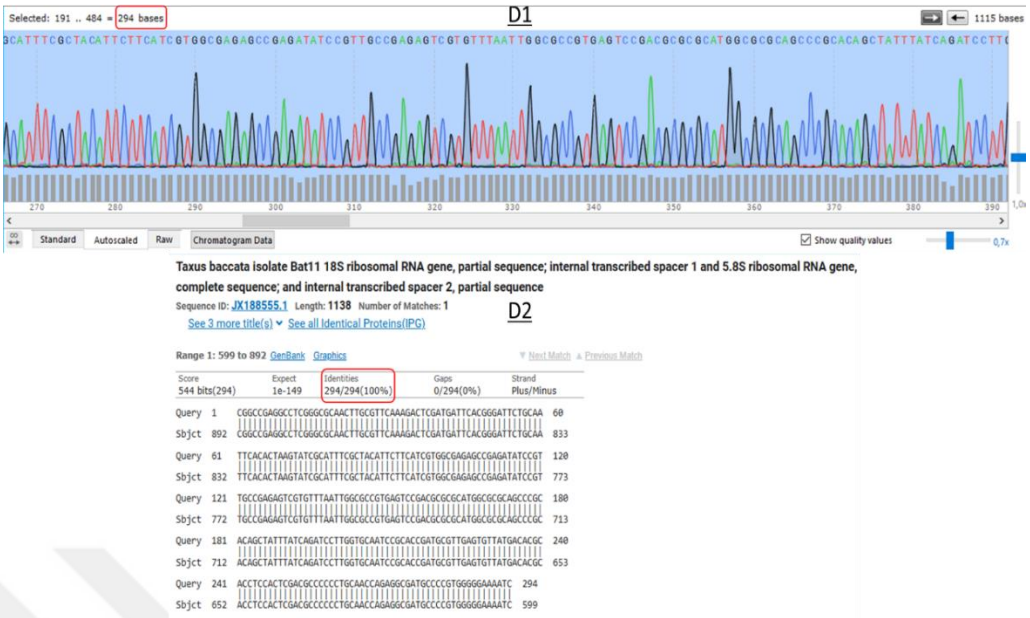
**Şekil 4.6.2.** A örneğinin BLAST veri tabanında yer alan türlere benzerlik oranlarının görüntüsü



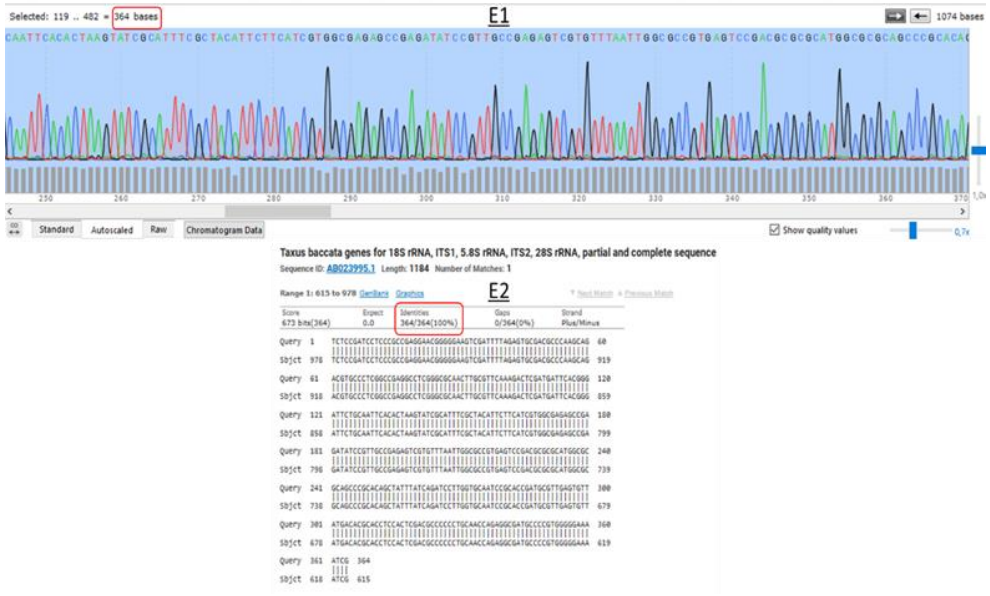

**Şekil 4.6.3.** B örneğinin *ITS*2-F kullanılarak okunan dizisinden 283 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2)



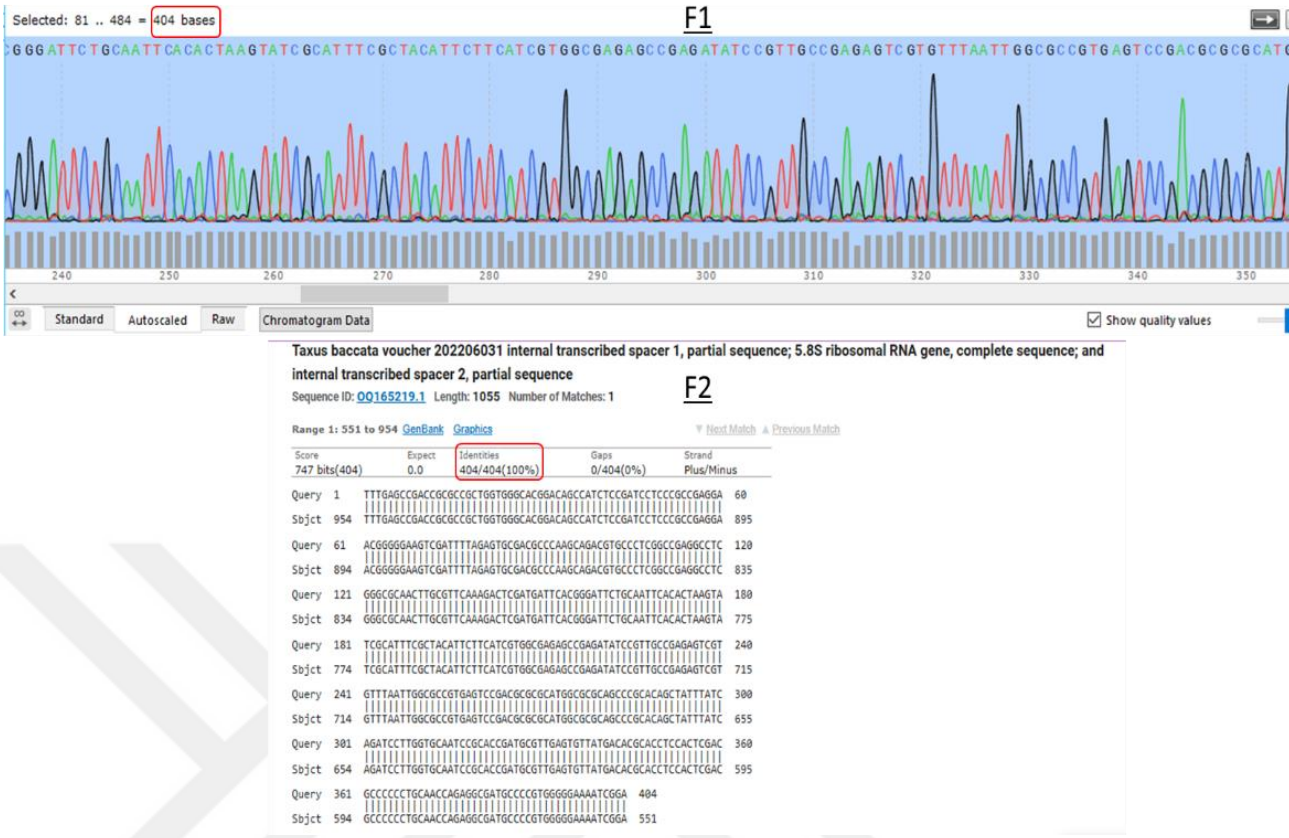

**Şekil 4.6.4.** C örneğinin *ITS*2-R kullanılarak okunan dizisinden 276 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2)



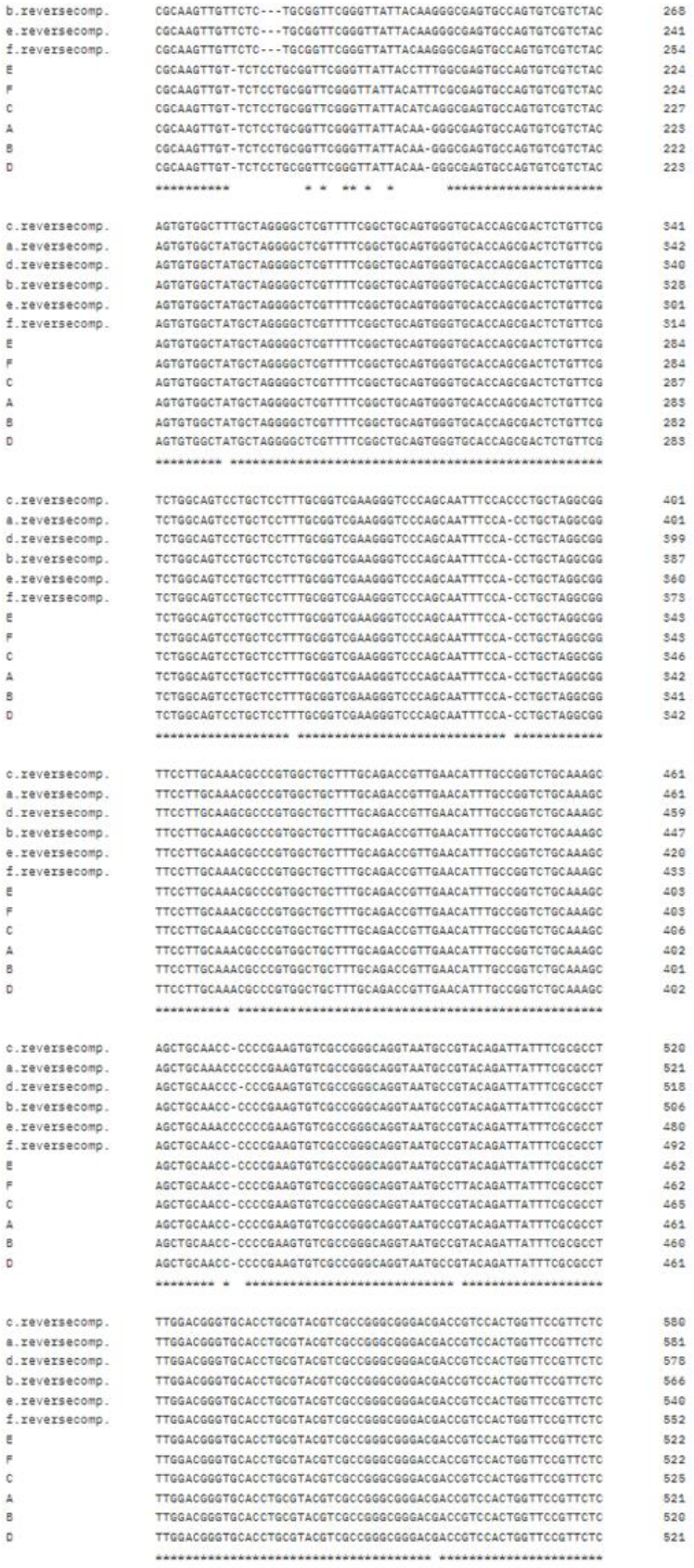

**Şekil 4.6.5.** D örneğinin *ITS*2-R kullanılarak okunan dizisinden 294 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2)




**Şekil 4.6.6.** E örneğinin *ITS*2-R kullanılarak okunan dizisinden 364 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2)




**Şekil 4.6.7.** F örneğinin *ITS*2-R kullanılarak okunan dizisinden 404 bazlık bölgenin kromatogram görüntüsü (1) ve BLAST veri tabanında tür karşılaştırması sonucu eşleşen diziler (2)




**Şekil 4.6.8.** Örneklerin(A-F) Clustal Omega programında alt alta karşılaştırılması

>Contig1
GCTAGTGAACGTGCAGGGGAGTGGGCGTGTTCGGCACGTCCGGCGCGTCTCCTCCCCCTC
CCCCCCCCCTGCGGGAGTTTGGACGGAAGTCCCGGATGCTTTTCCCCTTGCAATGCCTCG
GGGGTCCCCTCCGCTGGCTTTCTCTCGGGTGGGCGTTCCCGGTCTTCGCAAGTTGTTCTC
CTGCGGTTCGGGTTATTACAAGGGCGAGTGCCAGTGTCGTCTACAGTGTGGCTATGCTAG
GGGCTCGTTTTCGGCTGCAGTGGGTGCACCAGCGACTCTGTTCGTCTGGCAGTCCTGCTC
CTTTGCGGTCGAAGGGTCCCAGCAATTTCCACCTGCTAGGCGGTTCCTTGCAAACGCCCG
TGGCTGCTTTGCAGACCGTTGAACATTTGCCGGTCTGCAAAGCAGCTGCAAACCCCCCGA
AGTGTCGCCGGGCAGGTAATGCCGTACAGATTATTTCGCGCCTTTGGACGGGTGCACCTG
CGTACGTCGCCGGGCGGGACGACCGTCCACTGGTTCCGTTCTCATCTGTTCGGTCTCCGG
CCTTTCGACACTCCGGGGCGGGGACACCCTTTCTCCGATTTTCCCCCACGGGGCATCGCC
TCTGGTTGCAGGGGGGCGTCGAGTGGAGGTGCGTGTCATAACACTCAACGCATCGGTGCG
GATTGCACCAAGGATCTGATAAATAGCTGTGCGGGCTGCGCGCCATGCGCGCGTCGGACT
CACGGCGCCAATTAAACACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCCACGATGAAG
AATGTAGCGAAATGCGATACTTAGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAATCATCGAGTCTTT
GAACGCAAGTTGCGCCCGAGGCCTCGGCCGAGGGCACGTCTGCTTGGGCGTCGCACTCTA
AAATCGACTTCCCCCGTTCCTCGGCGGGAGGATCGGAGATGGCTGTCCGTGCCCACCAGC
GGCGCGGTCGGCTCAAATGGCAACGAGATTTGTGGCCGATGTCACGATGAGCGGTGGCCA
AGGTTGGGCGGCGCGCCATTGAAGCATGGCCATGGGGTCACGATTGGATGAACGTTTTCT
CCCTTCGTATGCAGCAGCAGCACGAGTAGATATCGTGC
>Contig2
CCCAAATTGGAACGATGCAGGGGAGTGGGCGTGTTCGGCACGTCCGGCGCGTCTCCTCCC
CGTCCCCGCTCTTGAGGGAGGCGGCTGGAGTTCCGGATGCTTTTCCCTTTGCAATGCCTA
GGGGAAGGAGGTCCGCTGGCTTTCTCTCGGGTGGGCGTTCCGGTCTTCGCAAGTTGTTCT
CCTGCGGTTCGGGTTATTACATTTGGCGAGTGCCAGTGTCGTCTACAGTGTGGCTATGCT
AGGGGCTCGTTTTCGGCTGCAGTGGGTGCACCAGCGACTCTGTTCGTCTGGCAGTCCTGC
TCCTTTGCGGTCGAAGGGTCCCAGCAATTTCCACCTGCTAGGCGGTTCCTTGCAAACGCC
CGTGGCTGCTTTGCAGACCGTTGAACATTTGCCGGTCTGCAAAGCAGCTGCAACCCCCCG
AAGTGTCGCCGGGCAGGTAATGCCGTACAGATTATTTCGCGCCTTTGGACGGGTGCACCT
GCGTACGTCGCCGGGCGGGACGACCGTCCACTGGTTCCGTTCTCATCTGTTCGGTCTCCG
GCCTTTCGACACTCCGGGGCGGGGACACCCCTTTCTCCGATTTTCCCCCACGGGGCATCG
CCTCTGGTTGCAGGGGGGCGTCGAGTGGAGGGTGCGTGTCATAACACTCAACGCATCGTG
TGCGGATTTGCACCAAGGGATCTGATAAATAGCTGTGCGGGCTGCGCGCCATGCGCGCGT
CGGACTCACGGCGCCGATTAAACACGACTCTCGGCAACGGATATTTCGGCTCTCGCCACT
ATTAAAAATGTACCGAAATGCGATACTTAGTGTGAAATTGCAGAATCCCGGGAATAATCG
AAGTCTTTTGAAACGCAGGTTGCGCCCGAGGCCCTC

**Şekil 4.6.9.** CAP-3 programı kullanılarak elde edilen devamlı diziler

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Taxus wallichiana var. wallichiana isolate GS20 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal... | Taxus wallichia... | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1139 | gi\|403240072\|JX188587.1 |
| Taxus wallichiana var. wallichiana isolate CY13 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal... | Taxus wallichia... | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1139 | gi\|403240070\|JX188585.1 |
| Taxus cuspidata isolate JP1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer... | Taxus cuspidata | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1138 | gi\|403240053\|JX188568.1 |
| Taxus cuspidata isolate JL34 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed space... | Taxus cuspidata | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1138 | gi\|403240052\|JX188567.1 |
| Taxus baccata isolate IR1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1,... | Taxus baccata | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1138 | gi\|403240043\|JX188558.1 |
| Taxus baccata isolate EU1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gen... | Taxus baccata | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1122 | gi\|403240042\|JX188557.1 |
| Taxus baccata isolate Bat11 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer... | Taxus baccata | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1138 | gi\|403240040\|JX188555.1 |
| Taxus baccata haplotype Azorean H1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosoma... | Taxus baccata | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1128 | gi\|359466028\|JN255686.1 |
| Taxus sp. 'Huangshan type' voucher Taxus_Huangshan_HSH6 internal transcribed spacer 1, partial ... | Taxus sp. 'Hua... | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1138 | gi\|186718637\|MT735126.1 |
| Taxus celebica 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribos... | Taxus celebica | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1228 | gi\|351735907\|JN600627.1 |
| Taxus sumatrana voucher RBGE 19951671 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra... | Taxus sumatrana | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1146 | gi\|316953980\|HM590968.1 |
| Taxus sumatrana voucher RBGE 19951673 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra... | Taxus sumatrana | 510 | 510 | 100% | 1e-139 | 100.00% | 1146 | gi\|316953979\|HM590967.1 |

**Şekil 4.6.10.** Devamlı dizilerin BLAST veri tabanında karşılaştırılması sonucunda %100 benzerlik bulunan *Taxus baccata* ve diğer Taxus türleri

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Milattan önceki yıllardan beri, doğal olarak bitkilerde bulunan ya da pestisit gibi yapay olarak sentezi gerçekleştirilebilen zehirler insanların ilgisini çekmiş; pek çok farklı amaç için kullanılmıştır (Gümüşçü, 2011). Zehirlenme nedenleri arasında bitkisel kaynaklı zehirlenmelerin önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2007). Türkiye'nin bitki biyoçeşitliliğine zehirli bitki türleri katkı sağlamaktadır. Zehirli bitki türlerine; Güzelavrat Otu (*Atropa belladonna*), Zakkum (*Nerium oleander*), Hint Yağı Bitkisi (*Ricinus communis*), Boru Çiçeği (*Datura stramonium*) ve Porsuk Ağacı (*Taxus baccata)* örnek olarak verilebilir (Efe vd., 2013; O. Yılmaz, 1990). Porsuk ağacı; Marmara ve Karadeniz bölgesinde sık görülmekle birlikte diğer bölgelerde de rastlanabilen bir bitki türüdür (Tandoğan, 2021).

Porsuk ağacının toksik etkisi çok eski yıllardan beri bilinmekte olup bu konuda çok sayıda araştırma makalesi mevcuttur (Lee, 1998). Meyvesi hariç tüm kısımları zehirli olan porsuk bitkisinin vücuda alınmasıyla ortaya çıkan zehirlenmelerin; yaprak ve dalların tüketilmesi, yaprakların püre haline getirilmesi veya çay formunun içilmesi sonucunda meydana geldiği bilinmektedir (Reijnen vd., 2017).
İnternette, çeşitli eserlere ve efsanelere konu olan porsuk ağacıyla ilgili birçok bilgi mevcuttur. Reijnen ve ark. (2017)'nın yayınladıkları vaka raporunda 19 yaşındaki bir kadının intihar etmeden önce porsuk ağacıyla ilgili araştırma yaptığı görülmüştür.
Porsuk ağacının toksik etkisi ile ilgili çok sayıda bilgi olması ve kolayca ulaşılabilmesi, dünya genelinde daha birçok zehirlenme vakası yaşanabileceğini göstermektedir. Bu vakaların çözümlenmesi ya da önüne geçilebilmesi adına daha çok çalışma yapılmalı ve teze konu olan moleküler yöntemin geliştirilmesi sağlanmalıdır.

Porsuk ağacına yayılım gösterdiği alanlar dışında, estetik görüntüsü sebebiyle park ve bahçelerde de süs ve görüntü amaçlı rastlamak mümkündür (Müftüoğlu vd., 2020). Grobosch ve ark. (2013) yayınladıkları vaka raporunda; esrar bağımlılığı ile ilgili tedavi gören bireyin, yattığı hastanenin bahçesinden porsuk ağacına ulaşarak intihar ettiğini belirtmişlerdir. Müftüoğlu ve ark. (2020), yaptıkları çalışmada Ankara ilinde bulunan park ve bahçelerdeki porsuk ağaçlarını incelemişlerdir. Tez çalışması için seçilen bitki

materyalleri de halka açık bir alan olan Bursa Kültürpark'tan elde edilmiştir. Porsuk ağacının zehirli etkisi uzun zamandan beri bilinmesine rağmen estetik amaçlı kullanılması ile ilgili herhangi bir sınırlama henüz getirilmemiştir.

Türkiye'de porsuk ağacı zehirlenmesiyle ilgili tek bir vaka literatüre geçmiştir. Malkoç & Üzün (2021)'ün yayınladığı vaka raporunda 29 yaşındaki kadının parkta bulunan porsuk ağacından zehirlenerek öldüğü aktarılmıştır. Vaka incelendiğinde, zehirlenen bireyin halka açık bir alanda kolaylıkla ağaca ulaşabildiği belirlenmiştir. Türkiye'de porsuk ağacı birçok yerde olmasına rağmen tek bir vakayla karşılaşılması dikkat çekicidir. Bu durum büyük ihtimalle, porsuk ağacı ile zehirlenmenin tam olarak belirlenememiş olmasından kaynaklanıyor olabilir.

*Taxus baccata* türleri arasında görülen morfolojik benzerlikler, bitki örneğinin doğru tanımlanmasını zorlaştırmaktadır. Türler arasında yaprak genişliği, yaprak uzunluğu ve stoma sayısı gibi farklılıklar taksonomik açıdan anlamlı olabilecek düzeyde değildir (Dempsey & Hook, 2000). Literatürde yer alan bilgiye benzer şekilde, Grobosch ve ark. (2013) yayınladığı rapordaki vaka örneğinde 38 yaşındaki erkeğin ağız çevresinde görülen bitki parçaları görece küçük olduğu için incelenen örneğin *Taxus baccata* olduğu tahmin edilse bile net olarak tespit edilememiştir (bkz. Şekil 2.4.5.4). Polisin ilk raporunda çam ağacı yapraklarına benzetilmiştir.

Zehirlenme olaylarının aydınlatılmasında en önemli adımlar; zehirlenme kaynağına ulaşılması ve olayın hangi amaçla (intihar, cinayet veya kazara) gerçekleştiğinin ortaya çıkarılmasıdır. İlk etapta olay yeri incelemesi ve alınan ifadeler doğrultusunda bir ön-sonuç elde edilmektedir. Eğer ortamda ve/veya vaka üzerinde bitki kalıntıları mevcutsa morfolojik açıdan incelenir. Bulunabilecek kusmuk örnekleri, çay yapımında kullanılan materyaller, bilgisayar, tablet ve telefon gibi kişisel cihazlardaki arama geçmişleri araştırılır. Kişinin psikiyatrik bir rahatsızlığı olup olmadığı da göz önünde bulundurulur (Özesen vd., 2022). Brooks ve ark. (2022), Malkoç&Üzün (2021), Reijnen ve ark. (2017), Pilija (2018) ve Gausterer ve ark. (2012)'ın yayınladıkları vaka raporlarının genelinde, olay yerinde bulunan bitki kalıntıları, araştırmanın sonuca kavuşmasında yardımcı olmuştur (bkz. Şekil 2.4.5.1.A). Nihai sonuca ulaşmada, otopside fiziksel ve kimyasal

birçok inceleme yapılmaktadır. HPLC, LC ve GC gibi kimyasal analizlerle vücut sıvılarında bitkiye özgü bileşikler taranır (Taniguchi vd., 2021). Pilija ve ark. (2018), Brooks ve ark. (2022) ve Grobosch ve ark. (2013) yayınladıkları vaka raporlarında, otopside yapılan inceleme sonucu sindirim sistemindeki organlarda yapraklara rastlanıldığı bildirilmiştir (Bkz. Şekil 2.4.5.1; Şekil 2.4.5.2; Şekil 2.4.5.3; Şekil 2.4.5.4). Ayrıca kan ve idrar örneklerinde, *Taxus baccata*'da bulunan BAC-III, 10-DAB III, 10-DAT, Taksin B, İzotaksin B, Taxol A, Taxol B ve 3,5-DMP bileşikleri tespit edilmiştir. Kusmayla başlayan belirtiler, solunum yetmezliği ve anafilaktik şok şeklinde devam etmiştir. Bu belirtiler zehirlenme olaylarının çoğunda görülebilen belirtilerdir.

Zehirlenme olaylarının aydınlatılmasında kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemlerin bazı eksiklikleri olduğu açıktır. Örneğin, fiziksel inceleme esnasında bitki kalıntısına rastlanmayabilir; rastlanılsa dahi parçalı formu türün doğru teşhisinde yeterli olmayabilir. Bazı durumlarda ise olay yerine ulaşılana kadar geçen süre zarfında, sindirim sisteminde çalışan organlarda görülen enzimatik aktiviteler sonucunda, vakada delil olarak incelenen bitki materyallerinin bulunması imkânsız hale gelebilmektedir (Brooks-Lim vd., 2022; Grobosch vd., 2013; Pietsch vd., 2007; Pilija vd., 2018). Delillerin yetersiz olduğu durumlarda ise zehirlenmeye neden olabilecek türü ayırt edebilmek oldukça zorlaşacaktır. Kimyasal inceleme esnasında ise tespit edilen bileşikler bitkiye özgü olmayabilir. Karşılaşılan vakalarda belirteç olarak en sık 3,5-DMP molekülü incelenmiştir. Fakat Musshoff & Madea (2008)'nın yayınladıkları makalede bu molekülün Çin gülü (*Rosa chinensis)*, Sedef otu (*Ruta graveolens*) ve üzüm bitkisinde de olduğunu ve belirteç olarak kullanılmasının yalancı pozitif sonuç verebileceğinin altını çizmişlerdir.

Taxus türlerinin yayılım gösterdiği alanlar iyi bilinmektedir. Bu nedenle zehirlenmeye sebep olan türün ortaya çıkması olay yeri ile ilgili doğru ilişkilerin kurulmasına yardımcı olacaktır. Taxus türlerinin hepsi zehirlidir fakat yayıldıkları coğrafyalar birbirinden farklıdır. (Dela Cruz vd., 2018; Temple & Lopez, 2023). Örneğin Türkiye'de sadece *Taxus baccata* türü bulunurken Kanada ve Amerika'da *Taxus brevifolia* ve *Taxus canadensis* türleri bulunur (Thakur & Kanwal, 2024). Türkiye'de yaşayan birinin *Taxus canadensis* ile zehirlenmesi oldukça dikkat çekici olur ve bu durumda bu bitkiye nasıl ulaşıldığını bulmak olayın hızlıca çözüme kavuşmasını sağlayacaktır.

Vakalarda zehirlenmenin kaynağını belirlemek için kullanılan yöntemlerde karşılaşılan sınırlar, fiziksel ya da kimyasal incelemeden farklı olarak daha hızlı, kolay ve kesin sonuç verebilecek bir moleküler yöntem ile analizin gerçekleştirilmesi ihtiyacını doğurmaktadır.

Yapılan tez çalışmasında, *Taxus baccata* ile olası bir zehirlenme senaryosu oluşturulup, tanınmayacak haldeki bitki parçalarında DNA tabanlı analizlerin yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla öncelikle Bursa Kültürpark bölgesinden porsuk ağacının yaprakları toplanmıştır. Etik açıdan soruna neden olabileceğinden gerçek bir vakayla çalışılamamış, laboratuvar şartlarında gerçeğe yakın/fizyolojik ortam koşulları tasarlanarak deneyler gerçekleştirilmiştir. Vakaların çoğunda yapraklar tüketildiği için *Taxus baccata* yaprakları parçalanarak belirli zaman periyotlarında taze hazırlanan tükürük sıvısı ve Pepsin-HCl çözeltisine maruz bırakılmıştır. Ağızda sindirimin gerçekleşmesinde görev alan amilaz enzimini yansıtması için tükürük sıvısına, midede sindirimin gerçekleşmesinde görev alan pepsin enzimini yansıtması için ise pepsin-HCl çözeltisine maruz bırakılmıştır. Zehirlenme vakalarında ölüm; maruz kalınan doza ve bünyeye göre 1,5-24 sa'de gerçekleşmektir (Pilija vd., 2018). Bireyin hastaneye ulaşma süresi değişiklik gösterebilir. Olay yerinde şayet kusmuk örneği varsa, toplanması için geçen süre vakadan vakaya farklılık gösterebilir.
Çeşidine bağlı olarak herhangi bir besinin mideden ince bağırsağa geçmesi 1-4 saatte gerçekleşmektedir. Sindirim sisteminin simülasyonu ile ilgili çalışmalara bakıldığında, gıdaların enzimlerle 37 °C ortam sıcaklığında 2 saat muamele edildiği görülmüştür (Göçer Çomak vd., 2016).

Bu bilgilerden yola çıkarak, bitki yapraklarının önce tükürükle 20 dk sonra pepsin- HCl çözeltisinde sırasıyla 1, 2 ve 3 saat maruz bırakılmasına karar verilmiştir. Devamında CTAB metodu ile yapraklardan DNA izolasyonu yapılmış ve her örnekte DNA varlığı gözlenebilmiştir. Tüm örneklerde saflık derecesi 1.8-2.0 aralığında kalmıştır. (Bkz. Çizelge 4.2.1). Normal şartlarda maruziyet süresi arttıkça DNA'da meydana gelebilecek bozulmalara paralel olarak saflığında sapmalar olacağı bilinmektedir (Chierto vd., 2024). Yapraklar gerçek vücut ortamında olmadıkları için önemli bir sapma olmadığı düşünülebilir. Aynı zamanda sindirimde görevli amilaz enziminin, karbohidratlarda α-1,4 ve α-1,6 bağların kırılmasında görev aldığı bilinmesine rağmen DNA saflık derecesini

önemli ölçüde değiştirecek bir etkiye sahip olmadığı çıkarımı yapılabilir (Janeček vd., 2014).

Agaroz jel elektroforezi kullanılarak, eşit miktarda yüklenen DNA örneklerinin yürütme işlemi sonucunda her örnekte yaklaşık 10 kb hizasında bir bant ışıması gözlenmiştir (Bkz. Şekil 4.3.1). Bant yoğunlukları arasında ise bazı farklılıklar olmuştur, bu durum enzimlere ve zamana bağlı olarak örneklerin moleküler yapılarında kısmen bozulmalar olduğunu düşündürmektedir. Kontrol grubundaki azalma hipotezle uygun olsa da deney grubundaki F örneğinde daha fazla bant yoğunluğu olduğu görülmüştür. Bu durum, izolasyon esnasında teknik bir hata olduğunu düşündürmektedir (Bkz. Çizelge 4.5.1). İkinci aşamada, *ITS* bölgesinin iki homologu olan *ITS-1* ve *ITS-2* primerleri kullanılarak ilgili bölge PCR yöntemiyle çoğaltılmıştır. PCR ile çoğaltılan örnekler agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre, örnekler 900-1100 bp arasında güçlü ışıma vermiştir (Bkz. Şekil 4.5.1). Böylece, hedeflenen dizilerin çoğaltıldığı gözlenmiştir. Devamında, Image J programı kullanılarak bant yoğunlukları hesaplanmıştır (Bkz. Çizelge 4.5.1). Deney gruplarındaki bant yoğunluklarında kontrol grubuna göre daha fazla azalma olduğu gözlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.5.1).bSon olarak sekanslanan diziler incelendiğinde bazı nükleotid farklılıkları olduğu görülmüştür (Şekil 4.6.8). Bu durumun, hatalı okumalardan ya da enzimlerin DNA'da çeşitli mutasyonlara sebep olmasından kaynaklanabileceği düşünülse de enzimlerin etkisine dair anlamlı bir sonuç çıkarılamamıştır. Dizilerin BLAST veri tabanında karşılaştırılması sonucunda tüm örnekler *Taxus baccata* türü ile %100 eşleşmiştir. Böylece oluşturulan deney koşullarının türün belirlenmesiyle ilgili bir engel oluşturmadığı anlaşılmıştır.

DNA dizileri Taxus cinsinin bazı türleri olan *Taxus globosa, Taxus sumatrana, Taxus wallichiana, Taxus celebica* ve *Taxus cuspidata* ile de %100 eşleşmiştir (Şekil 4.6.8). Bu durum kullanılan *ITS* bölgelerinin *Taxus baccata* bitkisini diğer türlerden ayırt edebilecek nitelikte olmadığını göstermiştir. Olası bir zehirlenme vakasında *ITS* primerleri kullanılarak, Taxus cinsine ait bir bitkiye ulaşılabileceği fakat spesifik tür tayini için daha fazla veriye ihtiyaç olduğu belirlenmiştir. Bu durumda karşılaşılan türlerin doğal yayılış alanlarına bakılarak bir çıkarımda bulunulabilir. Türkiye'de sadece Taxus cinsine ait *Taxus baccata* türü olduğu bilgisi zehirlenme vakasının aydınlatılmasına katkıda

bulunacaktır. Taxus türlerini kesin olarak belirlemek için *ITS* dışında, Transfer RNA Leucine (*trnL-F*), Maturase K (*matK*), Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase Large subunit (*rbcL*), 18S rRNA ve 28S rRNA gibi belirteçler kullanılarak detaylı bir analiz yapılabilir (Bross vd., 2025; Y. Cheng vd., 2000; Coughlan vd., 2020; Wilson vd., 2001b). Patricia ve ark., yayınladıkları makalede; *ITS, trnL ve trnL-F* gen kombinasyonu kullanarak Taxus türlerinin filogenetik analizlerini yapmışlardır. Bu analizler sonucunda *Taxus baccata, Taxus canadensis* ve *Taxus cuspidata* türlerinin belirgin olarak ayrılmadığı görülmüştür (Coughlan vd., 2020). Zehirlenmeye sebep olan türün belirlenebilmesi için daha fazla moleküler belirtece ihtiyaç olduğu anlaşılsa da elde edilen veriler kaynağa ulaşma yolunda oldukça önemli olacaktır. Yapılan tez çalışmasına yakın olabilecek tek çalışma, Gausterer ve ark. (2012)'ın yayınladığı makaledir. Bu çalışmada; ölümle sonuçlanmış gerçek bir vakanın midesinde bulunan yapraklar kullanılmıştır. Yapraklardan elde edilen DNA'dan tür tespiti başarılı bir şekilde yapılabilmiştir. Midede bulunan yapraklar 4°C'de 1 yıl geçtikten sonra kullanılmıştır. Bu kadar uzun bir maruziyete rağmen net bir sonuç alınması, hipotezin şekillenmesi için umut verici olmuştur.

Moleküler yöntemlerin avantajları olduğu gibi dezavantajları da vardır. DNA molekülü her ne kadar dayanıklı olsa da kimyasal maddeler yapısını bozabilir (Altınsoy & Uçar, 2022). Otopside, dış muayenede veya olay yerinde elde edilen DNA'ların bozulmasına sebep olabilecek ekstrem koşullar gözlenebilir. *Taxus baccata* DNA'sının sindirim enzimlerine daha uzun süre maruz kaldığı durumlarda (hastaneye geç ulaşılması, otopsinin hemen yapılamaması ve tüketilen bitkinin az miktarda olmasından dolayı ölümün uzun süre sonra gerçekleşmesi) DNA'nın eldesi ve nükleotid dizilerinin belirlenmesinde sorunlara yol açabilecek olması, moleküler yöntemlerin uygulanmasının önündeki engelleri oluşturmaktadır. Diğer taraftan, gerçek vakadaki doku ve organ sistemleri, laboratuvar koşullarında oluşturulan ortamdan çok daha komplekstir. Sindirime yardımcı olan mikroorganizmaların olmaması ve her bireyin sindirim sisteminin kendine özgü işleyişi bu yöntemin eksik taraflarını oluşturmaktadır (Sensoy, 2021).

İleriye dönük hedefler arasında, araştırma kapsamının farklı zehirli bitki türleri ve değişen koşullar altında genişletilmesi yer almaktadır. Bununla ilgili olarak bitki materyallerinin daha uzun sürelerle amilaz ve pepsin enzimlerine maruz bırakılması, ayrıca hayvan deneyleriyle in-vivo uygulamaların gerçekleştirilmesi planlanmaktadır. Böylece bitki zehirlenmelerinde moleküler yöntemlerle erken ve doğru teşhis yapılabilecek; henüz ölüm gerçekleşmemişse bireye uygun tedavi sunulabilecek ve olayla ilgili bağlantıların hızlı şekilde ortaya çıkarılması mümkün olacaktır.

## KAYNAKLAR


Abdel L, A., & Osman, G. (2017). Comparison of three genomic DNA extraction methods to obtain high DNA quality from maize. *Plant Methods*, *13*(1). https://doi.org/10.1186/s13007-016-0152-4

Açikgöz, N., Hancı, İ. H., & Çakır, A. H. (2002). *OLAY YERİNDEN DNA ANALİZİ İÇİN BİYOLOJİK ÖRNEK TOPLAMA VE ÖRNEKLERİN LABORATUARA GÖNDERİLME USULLERİ*.

Agarwala, R., Barrett, T., Beck, J., Benson, D. A., Bollin, C., Bolton, E., Bourexis, D., Brister, J. R., Bryant, S. H., Canese, K., Charowhas, C., Clark, K., Dicuccio, M., Dondoshansky, I., Federhen, S., Feolo, M., Funk, K., Geer, L. Y., Gorelenkov, V., … Zbicz, K. (2016). Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Research*, *44*(D1), D7-D19. https://doi.org/10.1093/nar/gkv1290

Akbar, S. (2020). Handbook of 200 medicinal plants: A comprehensive review of their traditional medical uses and scientific justifications. Içinde *Handbook of 200 Medicinal Plants: A Comprehensive Review of Their Traditional Medical Uses and Scientific Justifications*. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16807-0/COVER

Akkemik, Ü. (2014). *Türkiye'nin doğal-egzotik ağaç ve çalıları-2* (1. bs). Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü.

Aksoy, Z. B., & Soydemir, E. (2005). Polimorfizm. Içinde *Güncel Gastroenteroloji* (ss. 9-13).

Alaca, F., & Arslan, N. (2012). Sekonder Metabolitlerin Bitkiler Açısından Önemi. *Ziraat Mühendisliği*, *358*, 48-55.

ALAKOÇ, Y. D. (2010). ADLİ BİLİMLERDE DNA ANALİZLERİ. *Ankara Üniversitesi Dikimevi SHMYO*, *9*(2).

Aldossary, S. A. (2022). Review on Pharmacology of Atropine, Clinical Use and Toxicity. Içinde *Biomedical and Pharmacology Journal* (C. 15, Sayı 2, ss. 691-697). Oriental Scientific Publishing Company. https://doi.org/10.13005/bpj/2408

Aliyeva, N. (2023). *History of Forensic Science*. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26207.23202

Alotaibi, S. S., Alshoaibi, D., Alamari, H., Albogami, S., Khan, E., Alshanbari, A., Darwish, H., Alshanqiti, B., Alghamdi, H., & Almalki, W. (2021). Potential significance of medicinal plants in forensic analysis: A review. Içinde *Saudi Journal of Biological Sciences* (C. 28, Sayı 7, ss. 3929-3935). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.071

Altınsoy, E., & Uçar, H. H. (2022). ADLİ OLAYLARDAN ELDE EDİLEN DNA'LARIN FAİLİN TESPİTİ AMAÇLI KULLANILMASINDA YENİ BİR YÖNTEM: DNA FENOTİPLENDİRME. *Uluslararası Beşeri ve Sosyal Bilimler İnceleme Dergisi*, *6*(2), 134-144. https://doi.org/10.55243/ihssr.1004891

Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M. R., Ares, I., & Martínez, M. A. (2018). Poisonous Plants of the Europe. Içinde *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles: Third Edition* (ss. 891-909). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00062-3

Aplin, T. E. H. (1976). Poisonous garden plants and other plants harmful to man in Australia. Içinde *Department of Primary Industries and Regional Development* (ss. 3000-3999). https://library.dpird.wa.gov.au/bulletins3

Arens, A. M., Anaebere, T. C., Horng, H., & Olson, K. (2016). Fatal *Taxus baccata* ingestion with perimortem serum taxine B quantification. *Clinical Toxicology*, *54*(9), 878-880. https://doi.org/10.1080/15563650.2016.1209765

Arslan, Y., Katar, D., Kayaçetđn, F., & SUBAŞI Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Đ. (2008). Afyon (Opium) Alkaloitleri ve Önemi. Içinde *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi* (C. 17, Sayı 2). Derleme.

Atinç, M., & Kalkan, İ. (2018). *Flavonoidler ve Sağlık Üzerine Etkileri* (C. 2, Sayı 1).

Aydin, S. A., & Üstün, F. (2007). Derleme TANENLER 1 KİMYASAL YAPILARI, FARMAKOLOJİK ETKİLERİ, ANALİZ YÖNTEMLERİ. Içinde *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg. J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ* (C. 33, Sayı 1).

Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter, J. M., Wojciechowski, M. F., Campbell, C. S., & Donoghue, M. J. (1995). The its Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *82*(2), 247-277. https://doi.org/10.2307/2399880

Başaran, N. (1999). *TIBBİ GENETİK-DERS KİTABI* (8th bs). GÜNEŞ-NOBEL TIP KİTABEVİ.

Bayraktar, D. Z. (2021). ZENCEFİL'İN (ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE) İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ÇEŞİTLİ TERAPÖTİK ETKİLERİ. *Karya Journal of Health Science*, *2*(2), 55-60. https://doi.org/10.52831/KJHS.886448

Baytop, T. (1963). *Türkiyenin tıbbi ve zehirli bitkileri* (C. 59). İsmail Akgün Matbaası.

Benham, S. E., Durrant, H., Caudullo, G., & De Rigo, D. (2016). *Annual average temperature (°C) Potential spring-summer solar irradiation (kWh m-2 )*. https://w3id.org/mtv/FISE-Comm/v01/e015921.

Bozkaya, Ö. G. (2009). Klinisyenler İçin Mutasyon ve Polimorfizm. *Türkiye Klinikleri*, *18*(2), 147-153.

Breijyeh, Z., Jubeh, B., Bufo, S. A., Karaman, R., & Scrano, L. (2021). Cannabis: A Toxin-Producing Plant with Potential Therapeutic Uses. *Toxins*, *13*(2). https://doi.org/10.3390/TOXINS13020117

Brooks-Lim, E. W. L., Mérette, S. A., Hawkins, B. J., Maxwell, C., Washbrook, A., & Shapiro, A. M. (2022). Fatal ingestion of *Taxus baccata*: English yew. *Journal of Forensic Sciences*, *67*(2), 820-826. https://doi.org/10.1111/1556-4029.14941

Bross, D., Schroeder, H., Pers-Kamczyc, E., & Kersten, B. (2025). DNA markers targeting three cellular genomes for the discrimination between *Taxus baccata*, T. cuspidata and their hybrid. *Tree Genetics and Genomes*, *21*(3). https://doi.org/10.1007/s11295-025-01696-8

Bukyya, J. L., Tejasvi, M. L. A., Avinash, A., P., C. H., Talwade, P., Afroz, M. M., Pokala, A., Neela, P. K., Shyamilee, T. K., & Srisha, V. (2021). DNA Profiling in Forensic Science: A Review. *Global Medical Genetics*, *8*(4), 135-143. https://doi.org/10.1055/S-0041-1728689

Burney, I., & Pemberton, N. (2013). Making space for criminalistics: Hans Gross and fin-de-siècle CSI. *Studies in History and Philosophy of Science Part C :Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, *44*(1), 16-25. https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2012.09.002

Chen, X. F., Ding, Y. Y., Guan, H. R., Zhou, C. J., He, X., Shao, Y. T., Wang, Y. Bin, Wang, N., Li, B., Lv, G. Y., & Chen, S. H. (2024). The Pharmacological Effects and Potential Applications of Limonene From Citrus Plants: A Review. Içinde *Natural Product Communications* (C. 19, Sayı 5). SAGE Publications Inc. https://doi.org/10.1177/1934578X241254229

Cheng, H., & An, X. (2022). Cold stimuli, hot topic: An updated review on the biological activity of menthol in relation to inflammation. Içinde *Frontiers in Immunology* (C. 13). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1023746

Cheng, Y., Nicolson, R. G., Tripp, K., & Chaw, S. M. (2000). Phylogeny of taxaceae and cephalotaxaceae genera inferred from chloroplast matK gene and nuclear rDNA ITS region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *14*(3), 353-365. https://doi.org/10.1006/mpev.1999.0710

Chierto, E., Aneli, S., Nocco, N., Riem, A., Onofri, M., Carnevali, E., & Robino, C. (2024). Assessing DNA Degradation through Differential Amplification Efficiency of Total Human and Human Male DNA in a Forensic qPCR Assay. *Genes*, *15*(5), 622. https://doi.org/10.3390/GENES15050622/S1

CL, S. (2020). *NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools.* Database (Oxford).

Coleman, A. W. (2003). ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons. *Trends in Genetics*, *19*(7), 370-375. https://doi.org/10.1016/S0168-9525(03)00118-5

Coughlan, P., Carolan, J. C., Hook, I. L. I., Kilmartin, L., & Hodkinson, T. R. (2020). Phylogenetics of Taxus using the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA and plastid trnL-F regions. *Horticulturae*, *6*(1). https://doi.org/10.3390/horticulturae6010019

Çatak, E., & Atalay, A. (2022). LAMİACEAE (LABİATAE) (BALLIBABAGİLLER) FAMİLYASI'NIN EKONOMİK VE TIBBİ DEĞERLERİ. *Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural & Medical Sciences*, *9*(20), 150_157-150_157. https://doi.org/10.38065/EUROASIAORG.941

De, S., & Bandyopadhyay, S. (2008). Molecular Taxonomy: An Approach Based on Molecular Markers. *Science and Culture*, *74*, 397-496. http://www.scienceandculture-isna.org/20081213.htm

Dela Cruz, M., McCloskey, K., Mostafa, A., Ershad, M., McKeever, R., & Vearrier, D. (2018). Cardiotoxicity resulting from yew plant ( Taxus canadensis ) ingestion . *Toxicology Communications*, *2*(1), 78-80. https://doi.org/10.1080/24734306.2018.1532677

Delong, J. M., & Prange, R. K. (2010). Taxus spp.: Botany, Horticulture, and Source of Anti-Cancer Compounds. Içinde *Horticultural Reviews* (C. 32, ss. 299-327). Wiley Blackwell. https://doi.org/10.1002/9780470767986.ch6

Dempsey, D., & Hook, I. (2000). Yew (Taxus) Species - Chemical And Morphological Variations. *Pharmaceutical Biology*, *38*(4), 274-280. https://doi.org/10.1076/1388-0209(200009)3841-aft274

Dhar, A., Ruprecht, H., & Vacik, H. (2008). Population viability risk management (PVRM) for in situ management of endangered tree species-A case study on a *Taxus baccata* L. population. *Forest Ecology and Management*, *255*(7), 2835-2845. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.01.059

Dikeş, S., Yılmaz, M., & Kalkan, M. (2021). Mustafakemalpaşa ve Karacabey'deki *Taxus baccata* L. Gen Kaynakları. *Biological Diversity and Conservation, 14*(1), 146-154. https://doi.org/10.46309/biodicon.2021.883497

Ebadi, M., & Ebadi, A. (2024). *Importance and Applications of Endophytic Fungi*. www.intechopen.com

Efe, R., Soykan, A., Cürebal, İ., & Sönmez, S. (2013). *Balıkesir'in ağaçları ve çalıları*. Balıkesir Belediyesi Kent Arşivi Yayınları.

Ellialtioglu, S. (2017). *Solanaceae Familyasındaki Sekonder Metabolitler ve Nikotin Hakkında Bir İnceleme (A Study on Secondary Metabolites and Nicotine in the Family of Solanaceae)*. https://www.researchgate.net/publication/321528142

Erdemoğlu, N. (1999). *Türkiye'de Yetişen Taxus baccata L. Bitkisinin Taksan Türevi Bileşikleri Üzerinde Araştırmalar* [Doktora Tezi]. Gazi Üniversitesi.

Farhud, D. D. (2018). Karl Landsteiner (1868–1943). *Iranian Journal of Public Health, 47*(6), 777. https://doi.org/10.4049/jimmunol.48.1.vi

Filoğlu, G., & Bülbül, Ö. (Ed.). (2024). *Adli Biyoloji: Doğanın Izleriyle Adaletin Peşinde I*. İÜC Üniversite Yayınevi. https://doi.org/10.5152/0800

Fosdick, R. B. (1915). Passing of the Bertillon System of Identification. *Journal of Criminal Law and Criminology, 6*(3), 363-369. https://scholarlycommons.law.northwestern.edu/jclc

Fuster, V., & Sweeny, J. M. (2011). Aspirin: A historical and contemporary therapeutic overview. Içinde *Circulation* (C. 123, Sayı 7, ss. 768-778). https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.963843

Gausterer, C., Stein, C., & Stimpfl, T. (2012). Application of direct PCR in a forensic case of yew poisoning. *International Journal of Legal Medicine, 126*(2), 315-319. https://doi.org/10.1007/s00414-011-0607-0

Göçer Çomak, M. E., Ergin, F., & Küçükçetin, A. (2016). Sindirim Sistemi Modellerinde Probiyotik Mikroorganizmaların Canlılığı. *Akademik Gıda, 14*(2), 158-165. http://www.academicfoodjournal.com

Grobosch, T., Schwarze, B., Felgenhauer, N., Riesselmann, B., Roscher, S., & Binscheck, T. (2013). Eight cases of fatal and non-fatal poisoning with *Taxus baccata*. *Forensic Science International, 227*(1-3), 118-126. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.11.014

Güley, M. (1953). *Samsun ve Trabzon bölgesi tıbbi ve zehirli bitkilerinden başlıcalarının farmakodinamik etkileri ve tedavideki önemleri* (C. 49).

Gümüşçü, A. (2011). Zehirler ve Tarihte Kullanımı. *Ziraat Mühendisliği, 356*, 34-39.

Gürgen, A. C. (2023). *TÜRKİYE'DE YETİŞEN EPHEDRA L. / DENİZÜZÜMÜ (EPHEDRACEAE / DENİZÜZÜMÜGİLLER) TÜRLERİNİN MİKROMORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN ADLİ BOTANİK AÇISINDAN İNCELENMESİ* [Bursa Uludağ Üniversitesi]. https://avesis.uludag.edu.tr/yonetilen-tez/ef72b742-9976-47dc-8c28-0d221fcc922f/turkiyede-yetisen-ephedra-l-denizuzumu-ephedraceae-denizuzumugiller-turlerinin-mikromorfolojik-ozelliklerinin-adli-botanik-acisindan-incelenmesi

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, T. C. S. B. (2021). *ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİ (UZEM) RAPORLARI 2014-2020 YILLARI*.

Hamlin, C. (2021). What's Scientific About Forensic Science? Three Versions of American Forensics, 1903-1965, and One Modest Proposal. *Academic Forensic Pathology, 11*(1), 24. https://doi.org/10.1177/1925362121999414

Hotti, H., & Rischer, H. (2017). The killer of socrates: Coniine and related alkaloids in the plant Kingdom. Içinde *Molecules* (C. 22, Sayı 11). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/molecules22111962

Hultén, Eric., & Fries, Magnus. (1986). *Atlas of north European vascular plants north of the Tropic of Cancer*. https://search.worldcat.org/title/19973618

Jacobs, C. M., Wagmann, L., & Meyer, M. R. (2023). Analytical toxicology of yew constituents in human blood and urine by liquid chromatography-high-resolution tandem mass spectrometry. *Drug Testing and Analysis*, *15*(1), 123-127. https://doi.org/10.1002/dta.3360

Janeček, Š., Svensson, B., & MacGregor, E. A. (2014). α-Amylase: An enzyme specificity found in various families of glycoside hydrolases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *71*(7), 1149-1170. https://doi.org/10.1007/S00018-013-1388-Z/METRICS

Jobst, J., King, K., & Hemleben, V. (1998). Molecular Evolution of the Internal Transcribed Spacers (ITS1 and ITS2) and Phylogenetic Relationships among Species of the Family Cucurbitaceae. *MOLECULAR PHYLOGENETICS AND EVOLUTION*, *9*(2), 204-219.

Jones, R., Jones, J., Causer, J., Ewins, D., Goenka, N., & Joseph, F. (2011). Case presentation Yew tree poisoning: a near-fatal lesson from history. Içinde *CARE Clinical Medicine* (C. 11, Sayı 2).

Kaplan, A., & Muzaffer, M. (2022). *Hakkâri ilinde zehirli bitkiler üzerine etnotoksik bir çalışma* [Master Thesis, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü]. https://avesis.hakkari.edu.tr/yonetilen-tez/072ff340-1397-41d5-b99d-d21b793e4c2e/hakkari-ilinde-zehirli-bitkiler-uzerine-etnotoksik-bir-calisma

Karabulut, G., & Yemiş, O. (2019). Bound Forms of Phenolic Compounds and their Bioavailability. Içinde *Akademik Gida* (C. 17, Sayı 4, ss. 526-537). Sidas Medya A.S. https://doi.org/10.24323/akademik-gida.667270

Karuppusamy, S., & Pullaiah, T. (2022). Botany of paclitaxel producing plants. *Paclitaxel: Sources, Chemistry, Anticancer Actions, and Current Biotechnology*, 155-170. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90951-8.00008-4

Kavsaoğlu, A. R., & Mersinkaya, İ. (2019). Python İle Mini Jel Elektroforez Kontrol Yazılımı Ve Sistem Tasarımı. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi Part C: Tasarım ve Teknoloji*, *7*(4), 969-984. https://doi.org/10.29109/gujsc.621700

Kaya, S. (2008). *Tıbbi Botanik ve Tıbbi Bitkiler* (1. bs). Medisan.

Khehra, N., Padda, I. S., & Swift, C. J. (2023). Polymerase Chain Reaction (PCR). *StatPearls*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589663/

Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, *61*(1), 1361779. https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779

Kılıç, Ö., Aktaş, İ., & Bilgiç, S. (2020). *ÖN LİSANS TOKSİKOLOJİ* (İ. Aktaş, Ed.; 1. bs). İksad Yayınevi. www.iksadyayinevi.com

Kilic, O., Kocak, A., & Bagci, E. (2011). Composition of the volatile oils of two Anthemis L. taxa from Turkey. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, *66*(11-12), 535-540. https://doi.org/10.1515/ZNC-2011-11-1201/MACHINEREADABLECITATION/RIS

Kleinz, M. J., & Spence, I. (2008). The pharmacology of the autonomic nervous system. Içinde *THE SYMPATHETIC NERVOUS SYSTEM – CATECHOLAMINERGIC SYNAPSES* (ss. 59-82).

Kobusiak-Prokopowicz, M., Marciniak, A., Ślusarczyk, S., Ściborski, K., Stachurska, A., Mysiak, A., & Matkowski, A. (2016). A suicide attempt by intoxication with *Taxus baccata* leaves and ultra-fast liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry, analysis of patient serum and different plant samples: Case report. *BMC Pharmacology and Toxicology*, *17*(1). https://doi.org/10.1186/s40360-016-0078-5

Krauthammer, M., Rzhetsky, A., Morozov, P., & Friedman, C. (2000). Using BLAST for identifying gene and protein names in journal articles. *Gene*, *259*, 245-252. www.elsevier.com/locate/gene

Kupper, J., & Reichert, C. (2009). Vergiftungen mit pflanzen. Içinde *Therapeutische Umschau* (C. 66, Sayı 5, ss. 343-348). https://doi.org/10.1024/0040-5930.66.5.343

Küçükboyaci, N., & Şener, B. (2010). Biological activities of lignans from *Taxus baccata* L. growing in Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*.

Lee, M. R. (1998). *THE YEW TREE (TAXUS BACCATA) IN MYTHOLOGY AND MEDICINE*.

Li, C. (2018). Forensic genetics. Içinde *Forensic Sciences Research* (C. 3, Sayı 2, ss. 103-104). Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/20961790.2018.1489445

Lie Thooft, A., Goubella, A., Fagnoul, D., Taccone, F. S., Brimioulle, S., Vincent, J.-L., & De Backer, D. (2014). Combination of veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation and hypothermia for out-of-hospital cardiac arrest due to Taxus intoxication CASE REPORT N RAPPORT DE CAS. *Canadian Association of Emergency Physicians*, *16*(6), 504-507. https://doi.org/10.2310/8000.2013.131127

Linares, J. C. (2013). Shifting limiting factors for population dynamics and conservation status of the endangered English yew (*Taxus baccata* L., Taxaceae). Içinde *Forest Ecology and Management* (C. 291, ss. 119-127). https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.11.009

Lončar, M., Jakovljević, M., Šubarić, D., Pavlić, M., Služek, V. B., Cindrić, I., & Molnar, M. (2020). Coumarins in food and methods of their determination. Içinde *Foods* (C. 9, Sayı 5). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. https://doi.org/10.3390/foods9050645

Lucas, D. M. (2014). Forensic Science in the Nineteenth and Twentieth Centuries. *Encyclopedia of Criminology and Criminal Justice*, 1805-1819. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5690-2_683

Malik, S., Cusidó, R. M., Mirjalili, M. H., Moyano, E., Palazón, J., & Bonfill, M. (2011). Production of the anticancer drug taxol in *Taxus baccata* suspension cultures: A review. *Process Biochemistry*, *46*(1), 23-34. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.09.004

Malkoç, M. A., & Üzün, İ. (2021). Olgularla Adli Tıp ve Adli Bilimler. Içinde *Olgularla Adli Tıp ve Adli Bilimler* (ss. 381-389). Akademisyen Kitabevi. https://doi.org/10.37609/akya.2

Malliarou, E., Avramidou, E. V., Ranis, G. D., & Bountis, D. I. (2023). Towards the Conservation of Monumental *Taxus baccata* L. Trees of Thasos Island: Genetic Insights. *Forests 2023, Vol. 14, Page 2384*, *14*(12), 2384. https://doi.org/10.3390/F14122384

Medveckiene, B., Kulaitiene, J., Jariene, E., Vaitkevičiene, N., & Hallman, E. (2020). Carotenoids, Polyphenols, and Ascorbic Acid in Organic Rosehips (Rosa spp.) Cultivated in Lithuania. *Applied Sciences 2020, Vol. 10, Page 5337*, *10*(15), 5337. https://doi.org/10.3390/APP10155337

Menek, N., & Taşdöven, U. (2021). Adli Bilimlerde Kriminalistik ve Luminol. *Adli Bilimler ve Suç Araştırmaları Dergisi*, *1-2*(3), 3-17.

Meriney, S. D., & Fanselow, E. E. (2019). Metabotropic g-protein-coupled receptors and their cytoplasmic signaling pathways. Içinde *Synaptic Transmission*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815320-8.00012-0

Michaleas, S. N., Veskoukis, A. S., Samonis, G., Pantos, C., Androutsos, G., & Karamanou, M. (2022). Mathieu Joseph Bonaventure Orfila (1787-1853): The Founder of Modern Toxicology. *Maedica*, *17*(2), 532-537. https://doi.org/10.26574/maedica.2022.17.2.532

Milliyet. (2016, Haziran 14). *Dünyanın en büyük ağaçlarından! Zonguldak'ta bulundu - Son Dakika Haberleri*. Milliyet. https://www.milliyet.com.tr/gundem/dunyanin-en-buyuk-agaclarindan-zonguldak-ta-bulundu-2262124

Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., MacIerzanka, A., MacKie, A., … Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, *5*(6), 1113-1124. https://doi.org/10.1039/c3fo60702j

Molyneux, R. J., & Ralphs, M. H. (1992). Plant toxins and palatability to herbivores. *Journal of Range Management*, *45*(1), 13-18. https://doi.org/10.2307/4002519

Mufihoff, F., Jacob, B., Fowinkel, C., & Daldrup, T. (1993). Legal Medicine Suicidal yew leave ingestion-Phloroglucindimethylether (3,5-dimethoxyphenol) as a marker for poisoning from *Taxus baccata*. Içinde *International Journal* (C. 106).

Musshoff, F., & Madea, B. (2008). Modern analytical procedures for the determination of taxus alkaloids in biological material. Içinde *International Journal of Legal Medicine* (C. 122, Sayı 4, ss. 357-358). https://doi.org/10.1007/s00414-008-0241-7

Müftüoğlu, V., Çorbacı, Ö., & Çetiner, Z. (2020). *Sevimli Katil: Taxus baccata L.* https://www.researchgate.net/publication/348002974

National Center for Biotechnology Information. (2024a). *PubChem Compound Summary for CID 7948, 3,5-Dimethylphenol*.

National Center for Biotechnology Information. (2024b). *PubChem Compound Summary for CID 121443, Taxine B.*

National Center for Biotechnology Information. (2024c). *PubChem Compound Summary for CID 5281829, Taxine A.*

Nithaniyal, S., Majumder, S., Umapathy, S., & Parani, M. (2021). Forensic application of DNA barcoding in the identification of commonly occurring poisonous plants. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, *78*. https://doi.org/10.1016/j.jflm.2021.102126

Nižnanský, Ľ., Osinová, D., Kuruc, R., Hengerics Szabó, A., Szórádová, A., Masár, M., & Nižnanská, Ž. (2022a). Natural Taxanes: From Plant Composition to Human Pharmacology and Toxicity. Içinde *International Journal of Molecular Sciences* (C. 23, Sayı 24). MDPI. https://doi.org/10.3390/ijms232415619

Nižnanský, Ľ., Osinová, D., Kuruc, R., Hengerics Szabó, A., Szórádová, A., Masár, M., & Nižnanská, Ž. (2022b). Natural Taxanes: From Plant Composition to Human Pharmacology and Toxicity. Içinde *International Journal of Molecular Sciences* (C. 23, Sayı 24). MDPI. https://doi.org/10.3390/ijms232415619

Okumuş, E., & Temiz, A. M. (2022). Saponin Bileşeninin Biyolojik Aktiviteleri, Kullanım Alanları ve Etkileri. *Van Sag Bil Derg*, *15*(2), 164-173. https://doi.org/10.52976/vansagli

Ozturk, M., Gucel, S., Uysal, İ., Tuba, M., Eren, A., & Sezgin, Ç. (2008). Ethnoecology of poisonous plants of Turkey and Northern Cyprus. *Article in Pakistan Journal of Botany*, *40*(4). https://www.researchgate.net/publication/26541878

Özay, C., & Pehlivan, E. (2024). BİTKİ SEKONDER METABOLİTLERİNİN BİYOSENTEZİNİ VE AKÜMÜLASYONUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, *48*(3), 44-44. https://doi.org/10.33483/jfpau.1488042

Özcan, N., & İkincioğullari, D. (2009). H ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİ 2008 YILI ÇALIŞMA RAPORU ÖZETİ. Içinde *Türk Hij. Den. Biyol. Derg* (C. 66, Sayı 3).

Özesen, T. A., Kaya, K., Malkoç, M. A., & Korkut Gülmen, M. (2022). The Tree That Leads to Death: Yew Fruit. *The Bulletin of Legal Medicine*, *27*(2), 195-200. https://doi.org/10.17986/blm.1554

Özkaya, O., Şen, K., Aubert, C., Dündar, Ö., & Gunata, Z. (2018). Characterization of the free and glycosidically bound aroma potential of two important tomato cultivars grown in Turkey. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(11), 4440-4449. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3362-0

Öztürk, C. (2005). *CEZA MUHAKEMESİ HUKUKUNDA İZ BİLİMİ* [Master Thesis]. AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ SOSYAL BİLİMLER ENSTİTÜSÜ .

Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., & Bansal, Y. K. (2015). Secondary Metabolites of Plants and their Role:Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, *9*(3), 293-304. https://www.researchgate.net/publication/283132113

Papaloucas, M., Papaloucas, C., & Stergioulas, A. (2008). Ricin and the assassination of Georgi Markov. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *11*(19), 2370-2371. https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.2370.2371

Parish, S., & Evans, D. (2015). *Predicting the First Recorded Set of Identical Fingerprints*. http://www.gov.scot/Topics/Justice/law/dna-forensics/scottishdnadatabase/ident1

Pietsch, J., Schulz, K., Schmidt, U., Andresen, H., Schwarze, B., & Dreßler, J. (2007). A comparative study of five fatal cases of Taxus poisoning. *International Journal of Legal Medicine*, *121*(5), 417-422. https://doi.org/10.1007/s00414-006-0099-5

Pilija, V., Djurendic-Brenesel, M., & Miletic, S. (2018). Fatal poisoning by ingestion of *Taxus baccata* leaves. *Forensic Science International*, *290*, e1-e4. https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2018.07.017

Pinto, A., Lemos, T., Silveira, I., & Aragão, I. (2021). *Taxus baccata* intoxication: The sun after the electrical storm. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, *33*(1), 172-175. https://doi.org/10.5935/0103-507X.20210019

Reijnen, G., Bethlehem, C., van Remmen, J. M. B. L., Smit, H. J. M., van Luin, M., & Reijnders, U. J. L. (2017). Post-mortem findings in 22 fatal *Taxus baccata* intoxications and a possible solution to its detection. Içinde *Journal of Forensic and*

*Legal Medicine* (C. 52, ss. 56-61). Churchill Livingstone. https://doi.org/10.1016/j.jflm.2017.08.016

Saçar, M. D. (2012). Blast Algoritması. Içinde *Biyoenformatik I Dizi Kıyaslamaları* (1. bs, ss. 143-151). Nobel Akademik Yayıncılık.

Sanderson, B. A., Araki, N., Lilley, J. L., Guerrero, G., & Lewis, L. K. (2014). Modification of gel architecture and TBE/TAE buffer composition to minimize heating during agarose gel electrophoresis. *Analytical Biochemistry*, *454*(1), 44-52. https://doi.org/10.1016/j.ab.2014.03.003

Schenk, J. J., Becklund, L. E., Carey, S. J., & Fabre, P. P. (2023). What is the "modified" CTAB protocol? Characterizing modifications to the CTAB DNA extraction protocol. *Applications in Plant Sciences*, *11*(3), e11517. https://doi.org/10.1002/APS3.11517

Schoch, C. L., Ciufo, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, *2020*. https://doi.org/10.1093/DATABASE/BAAA062

Selçuk, M., & Çakar, N. (2015). Single-Center Analysis of Acute Intoxication: Six-Year Data Case. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi*, *13*(2), 57-61. https://doi.org/10.4274/tybdd.72692

Sensoy, I. (2021). A review on the food digestion in the digestive tract and the used in vitro models. Içinde *Current Research in Food Science* (C. 4, ss. 308-319). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.04.004

Shah, S. W. A., Xu, Q., Ullah, M. W., Zahoor, Sethupathy, S., Morales, G. M., Sun, J., & Zhu, D. (2023). Lignin-based additive materials: A review of current status, challenges, and future perspectives. Içinde *Additive Manufacturing* (C. 74). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.addma.2023.103711

Sharma, A., Sharma, A., Thakur, S., Mutreja, V., & Bhardwaj, G. (2021). A brief review on phytochemistry and pharmacology of *Taxus baccata* L. *Materials Today: Proceedings*, *48*, 1569-1574. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.09.468

Silici, S. (2019). Orman Gülü Balı (Deli Bal) Toksikasyonu. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, *12*(2), 35-44.

Suffness, Matthew. (1995). *Taxol : science and applications*. CRC Press.

Tandoğan, M. (2021). *BAZI PORSUK (Taxus baccata L.) POPULASYONLARININ MEŞCERE ÖZELLİKLERİ VE TAKSOL İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ* [Doktora Tezi]. LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ.

Taniguchi, M., Minatani, T., Miyazaki, H., Tsuchihashi, H., & Zaitsu, K. (2021). A highly sensitive quantification method for 12 plant toxins in human serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry with a quick solid-phase extraction technique. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *192*. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113676

Tanyolaç, B., Kaya, H. B., Soya, S., & Akkale, C. (2012). BİYOTEKNOLOJİ VE BİYOİNFORMATİK. Içinde A. Yıldırım, F. Bardakçı, M. Karataş, & B. Tanyolaç (Ed.), *Moleküler Biyoloji* (2. bs, ss. 599-655). Nobel Yayınevi.

T.C. Sağlık Bakanlığı. (2007). *Birinci Basamağa Yönelik Zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri* (Y. Tunçok & N. İ. Kalyoncu, Ed.). Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı.

Tekol, Y. (2007). The Medieval Physician Avicenna Used an Herbal Calcium Channel Blocker, *Taxus baccata* L. *Phytother. Res*, *21*, 701-702. https://doi.org/10.1002/ptr

Temple, C., & Lopez, A. (2023). Fatal ingestion of Taxus brevifolia (Pacific yew): a case report. *Toxicology Communications*, *7*(1). https://doi.org/10.1080/24734306.2023.2220532

Thomas, P. A., & Polwart, A. (2003). *Taxus baccata* L. *Journal of Ecology*, *91*(3), 489-524. https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2003.00783.x

Tiring, G., Satar, S., & Özkaya, O. (2020). Sekonder Metabolitler. *Journal of Agricultural Faculty of Bursa Uludag University*, *35*(1), 203-215. https://dergipark.org.tr/tr/pub/bursauludagziraathttp://www.uludag.edu.tr/ziraatdergiHaziran/

Tranca, S., & Petrisor, C. L. (2013). A FATAL CASE OF TAXUS POISONING. Içinde *Case Reports Clujul Medical* (C. 86, Sayı 3).

Türkiye e-Florası. (2012). *Taxus baccata L. (porsuk) yayılışı*. https://turkiyeflorasi.org.tr/view.html?taxon=TR0000000979

Ulanowska, M., & Olas, B. (2021). Biological properties and prospects for the application of eugenol—a review. Içinde *International Journal of Molecular Sciences* (C. 22, Sayı 7). MDPI. https://doi.org/10.3390/ijms22073671

Uluar, O. (2018). *Anterastes (ORTHOPTERA, TETTIGONIIDAE) TÜRLERİNDE ITS2 SEKONDER YAPISI: TÜR KARAKTERİZASYONU, BARKOD POTANSİYELİ VE FİLOGENETİK KULLANIMI* [Yüksek Lisans Tezi]. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Vallis-Booth, E., & Moore, S. (2022). Fatal overdose of *Taxus baccata* plant matter treated in a rural district general hospital. *BMJ Case Reports*, *15*(4). https://doi.org/10.1136/bcr-2021-243896

Willaert, W., Claessens, P., Vankelecom, B., & Vanderheyden, M. (2002). *Intoxication with Taxus baccata: Cardiac Arrhythmias Following Yew Leaves Ingestion*.

Wilson, C. R., Sauer, J.-M., & Hooser, S. B. (2001a). Taxines: a review of the mechanism and toxicity of yew (Taxus spp. ) alkaloids. *Toxicon* , *39*(2001), 175-185. www.elsevier.com/locate/toxicon

Wilson, C. R., Sauer, J.-M., & Hooser, S. B. (2001b). Taxines: a review of the mechanism and toxicity of yew (Taxus spp. ) alkaloids. *Toxicon*, *39*, 175-185. www.elsevier.com/locate/toxicon

Wink, M. (2010). Introduction: Biochemistry, Physiology and Ecological Functions of Secondary Metabolites. Içinde *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism: Second Edition* (C. 40, ss. 1-19). Wiley Blackwell. https://doi.org/10.1002/9781444320503.ch1

Xia, Z. (2020). Historical Shifts in China's Forensic Medicine Education and Service Mode Since 1949. Içinde *Academic Forensic Pathology* (C. 10, Sayı 3-4, ss. 131-143). SAGE Publications Inc. https://doi.org/10.1177/1925362120981245

Yaman, B., & Zaman, E. (2022). Zonguldak-Gökgöl Mağarası Yakınındaki Porsuk Ağaçlarının (*Taxus baccata* L.) Anıtsal Özellikleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, *24*(1), 32-41. https://doi.org/10.24011/BAROFD.1017071

Yılmaz, H., Akpınar, E., & Yılmaz, H. (2006). PEYZAJ MİMARLIĞI ÇALIŞMALARINDA KULLANILAN BAZI SÜS BİTKİLERİNİN TOKSİKOLOJİK ÖZELLİKLERİ. *Türkiye Ormancılık Dergisi*, *7*(1), 82-95. https://doi.org/10.18182/TJF.27146

Yılmaz, O. (1990). *Bursa yöresinde yetişen önemli zehirli bitkilerin toksikolojik özellikleri*. Uludağ Üniversitesi. http://hdl.handle.net/11452/9776

Yılmaz S, P. (2021). Çeşitli Bitki Taksonlarında Bazı DNA İzolasyon Yöntemlerinin Karşılaştırmalı Analizi. *Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi*, *3*(1), 117-128. https://doi.org/10.47898/ijeased.834338

Young, C. R. (1992). The Yew Tree: A Thousand Whispers. By Hal Hartzell, Jr. Eugene, Oregon: Hulogosi, 1991. xvi + 319 pp. Illustrations, appendixes, notes, bibliography, index. Paper $19.95 . *Forest and Conservation History*, *36*(4), 199-199. https://doi.org/10.2307/3983696

Yükseloğlu, E. H. (2024). *Adli Genetik Uygulamaları* (E. H. Yükseloğlu, Ed.). https://doi.org/10.5152/0701