



T.C.
KAHRAMANMARA SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

***ELYMUS REPENS* BİTKİSİNİN GENOTOKSİK
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

TÜBA PURKAYA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARA 2014

T.C.
KAHRAMANMARA SÜTÇÜ MAM ÜN VERS TES
FEN B L MLER ENST TÜSÜ

ELYMUS REPENS B TK S N N GENOTOKS K
ETK S N N DE ERLEND R LMES

TU BA PURKAYA

Bu tez,
Biyoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK L SANS
Derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARA 2014

Kahramanmara Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Tuğba
PURKAYA tarafından hazırlanan “*Elymus repens* Bitkisinin Genotoksik Etkisinin
Değerlendirilmesi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 11 / 02 / 2014 tarihinde oy birliğiyle
çokluğu ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Lale DÖNBAK (DANIŞMAN)
Biyoloji Anabilim Dalı K.S.Ü.

.....

Doç. Dr. Ahmet KAYRALDIZ (ÜYE)
Biyoloji Anabilim Dalı K.S.Ü.

.....

Doç. Dr. Ergül BELGE KURUTA (ÜYE)
Biyokimya Anabilim Dalı K.S.Ü.

.....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. M. Hakkı ALMA
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

TEZ B LD R M

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranı ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunuldu unu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalı mada orijinal olmayan her türlü kayna a eksiksiz atıf yapıldı nı bildiririm.

Tu ba PURKAYA

Bu çalı ma KSÜ, Bilimsel Ara tırma Projeleri Koordinasyon Birimi Ba kanlı ı tarafından desteklenmi tir.

Proje No: 2012/4-1YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve ba ka kaynaktan yapılan bildiri lerin, çizelge, ekil ve foto rafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**ELYMUS REPENS BİTKİSİNİN GENOTOKSİK ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

TUBANUR KAYA

Özet

İnsanlara ilk defa bitkileri yaralarının iyileştirilmesinde ve daha sonrasında bitki kompozisyonunda yer alan etken bileşenlerin bilinmesi ile ilaçların üretiminde kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle yurtdışında büyük ilgi gören bitkilerle tedavi (fitoterapi) yöntemi yurdumuzda da önem kazanmıştır.

Elymus repens bitkisi *Poaceae* (buğdaygiller) familyası, *Liliopsida* sınıfına ait çok yıllık bir bitkidir. Bu çalışmada *Elymus repens* bitkisinin insan periferik kan lenfositlerinde ki *in vitro* genotoksik aktivitesi kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozom anormallikleri (KA) ve mikronükleus (MN) testleri ile incelenmiştir. Bu amaçla hücreler *Elymus repens* kök ekstraktından hazırlanan farklı konsantrasyonlar (0,16; 0,32; 0,65 ve 1,30 µg/ml'lik) ile 24 ve 48 saat muamele edilmiştir.

Elymus repens kök ekstraktından hazırlanan farklı dozlar (0,16; 0,32; 0,65 ve 1,30 µg/ml'lik) ile 24 ve 48 saat muamele edilen hücrelerde KKD, KA ve MN oranında kontrol grubuna kıyasla önemli bir farklılık saptanmamıştır. Benzer şekilde *Elymus repens* kök ekstraktı ile muamelenin mitotik indeks, proliferasyon indeksi ve nükleer bölünme indeksini etkilemediği gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile *Elymus repens* kök ekstraktının insan periferik lenfositlerinde genotoksik ve/veya sitotoksik etki göstermediği saptanmıştır.

THE INVESTIGATION OF GENOTOXIC RISK OF *ELYMUS REPENS*

(MSc THESIS)

TU BA PURKAYA

Summary

Human beings used plants firstly in wound healing and subsequently used in producing drugs. In recent years, herbal therapy (phytotherapy) which is popular in abroad has gained importance in our country.

Elymus repens plant is a perennial plant belonging to the *Liliopsida* class of Poaceae family. In this study, genotoxic effects of *Elymus repens* an human peripheral blood lymphocytes were examined by using sister chromosomal watid exchanges (SCE), chromosomal abnormalities (CA) and micronucleus (MN) tests. For this purposes, the cells were treated with the different concentrations (0.16, 0.32, 0.65 and 1.30 mg / ml) prepared from extract of *Elymus repens* for 24 and 48 hours.

The levels of SCE, CA, MN in the cells treated with different doses of *Elymus repens* root extract for 24 and 48 h did not show significant differences as compared to control group. Similarly, treatment of *Elymus repens* root extract did not effect the mitotic index, proliferation index, and nuclear division index. Present study demonstrated that *Elymus repens* root did not have genotoxic and/or cytotoxic effect on human peripheral lymphocytes.

TE EKKÜR

Lisans ve Yüksek Lisans öğrenim süresince danışmanlık yapan, çalışmalarım sırasında desteğini ve bilgi birikimini esirgemeyen, çalışmalarımı ve beni sürekli yönlendiren, öğrencisi olmaktan onur ve mutluluk duyduğum sayın hocam Doç. Dr. Lale DÖNBAK'a teşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel çalışmalar sırasında laboratuvarında sabır ve özveri göstererek değerli vakitlerini çalışmalarım için ayıran sayın hocam Doç. Dr. Ahmet KAYRALDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Genetik Laboratuvarında beraber çalıştığımız ve çalışmalarım sırasında benden destek ve emeklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Uzman Biyolog Kübra KARABUDAK'a, Uzman Biyolog İbrahim Halil KENGER'e, Biyolog Gül GÖKÇE'ye ve özellikle Biyolog Esra KÖKER'e, Biyolog Kübra KURT'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca hayatımın her aşamasında olduğu gibi, eğitim hayatım boyunca da bana destek olan maddi ve manevi desteğini hep hissettim çok sevdiğim babam Ramazan PURKAYA'ya, hayatım boyunca öğütleriyle bana yol gösteren, hatalarımın bile arkasında duran annem Ayşe PURKAYA'ya ve kardeşlerim Mustafa, Musa ve Fundagül PURKAYA'ya desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca bu yüksek lisans çalışmamı maddi yönden destekleyen Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Araştırma Fonu'na teşekkürlerimi sunarım.

TUĞBA PURKAYA

Ç NDEK LER

Sayfa Numaraları

ÖZET.....	i
SUMMARY.....	ii
TE EKKÜR.....	iii
Ç NDEK LER.....	iv
EK LLER D Z N	vi
Ç ZELGELER D Z N	viii
S MGELER VE KISALTMALAR D Z N	ix
1. G R	1
1.1. Taksonomi.....	3
1.2. <i>Elymus repens</i> 'in Taksonomik Sınıflandırılması	4
1.2.1. <i>Plantae</i> (bitkiler alemi)	4
1.2.2. <i>Magnoliophyta</i> (kapalı tohumlular bölümü)	4
1.2.3. Liliopsida sınıfı (Monocotyledoneae = tek çenekli bitkiler)	6
1.2.4. <i>Commelinidae</i> alt sınıfı	7
1.2.5. <i>Cyperales</i> takımı	7
1.2.6. Poaceae (Gramineae= <i>bu daygiller</i>) familyası.....	8
1.2.7. <i>Elymus</i> (Yabani arpa) cinsi	12
1.2.8. <i>Elymus repens</i> (ayrık otu)	19
1.2.9. <i>Elymus repens</i> 'in kullanımı	23
2. ÖNCEK ÇALI MALAR.....	25
3. MATERYAL VE METOT.....	27
3.1. Çalı mada Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	27
3.2. Çalı mada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltilerin Hazırlanması	28
3.3. Lamların Temizlenmesi.....	32
3.4. <i>Elymus repens</i> Ekstraktının Hazırlanması ve Çalı ma Konsantrasyonlarının Belirlenmesi.....	32
3.5. Kan Örneklerinin Alınması	33
3.6. Hücre Kültürlerinin Yapılması	33
3.6.1. KKD ve KA testi için hücre kültürünün yapılması	33
3.6.2. MN analizi için hücre kültürünün yapılması	34

3.7. Preparatların Boyanması.....	35
3.7.1. KA ve MN testi için preparatların boyanması	35
3.7.2. KKD testi için preparatların boyanması.....	35
3.8. Daimi Preparatların Hazırlanması	35
3.9. Daimi Preparatlarda Mikroskopik ncelemeler	36
3.9.1. KKD/Hücre sayısının ve proliferasyon indeksinin (PI) saptanması	36
3.9.2. Kromozom anormallikleri (KA) ve mitotik indeksin (MI) saptanması	39
3.9.3. Mikronukleus sayısının saptanması	40
3.10. Mikroskopta Foto raf Çekme	43
3.11. statiksel Analiz ve Sonuçların De erlendirilmesi.....	43
4. BULGULAR VE TARTI MA.....	44
5. SONUÇ VE ÖNER LER.....	55
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇM	63

EK LLER D Z N

Sayfa Numaraları

ekil 1.1. M.Ö. 1500 yıllarında içerisinde ilâç hazırlanan bir mısır mabedi.....	2
ekil 1.2. Kapalı tohumlu bir bitkinin genel görünüşü.....	5
ekil 1.3. Tek çenekli bir bitkinin yaprak ve çiçek durumu.....	6
ekil 1.4. <i>Cyperales</i> takımının kum rengi meyvesi.....	7
ekil 1.5. <i>Poaceae</i> (Gramineae) ait genel çiçek yapısı.....	8
ekil 1.6. <i>Elymus alaskanus</i>	13
ekil 1.7. <i>Elymus canadensis</i>	14
ekil 1.8. <i>Elymus elymoides</i>	15
ekil 1.9. <i>Elymus hystrix</i>	15
ekil 1.10. <i>Elymus magellanicus</i>	16
ekil 1.11. <i>Elymus multisetus</i>	17
ekil 1.12. <i>Elymus trachycaulus</i>	17
ekil 1.13. <i>Elymus virginicus</i>	18
ekil 1.14. <i>Elymus caninus</i>	19
ekil 1.15. <i>Elymus repens</i> genel görünüşü.....	20
ekil 1.16. Vilayetlere göre <i>Elymus repens</i> 'in dağılımı: Iğdır, Kars, Hakkari, Bitlis, Ankara, Erzurum, Konya, Sivas.....	20
ekil 1.17. <i>Elymus repens</i> yaprak, gövde ve kök yapısı.....	21
ekil 1.18. <i>Elymus repens</i> çiçekleri.....	22
ekil 1.19. Ayırıkotu, rizomu, yaprak ve toprakta en yere kök atan gövdesi.....	22
ekil 3.1. a. ki karde kromatid de i imi, b. Bir karde kromatid de i imi c. Karde kromatid de i imi olmayan durumların metafazik görünümü.....	36
ekil 3.2. Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar (0,32 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	38
ekil 3.3. İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar (0,32 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	38
ekil 3.4. Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar(0,32 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	39
ekil 3.5. Bir nukleuslu hücre (1,30 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	41
ekil 3.6. ki nukleuslu hücre (1,30 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	41

ekil 3.7. Üç nukleuslu hücre (1,30 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	42
ekil 3.8. Dört nukleuslu hücre (1,30 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	42
ekil 3.9. Mikro nukleuslu hücre (1,30 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	43
ekil 4.1. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plaktası (0,32 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, saatlik muamele, , X1000).....	46
ekil 4.2. Kromozom kırığı (B'') bulunan metafaz plaktası (1,30 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, saatlik muamele, , X1000).....	46
ekil 4.3. Fragment (F) bulunan metafaz plaktası (0,32 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 24 saatlik muamele, , X1000).....	47
ekil 4.4. Kardeş kromatid birleşmesi (SU) bulunan metafaz plaktası (0,32 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	47
ekil 4.5. Disentrik kromozom (DS) bulunan metafaz plaktası (0,16 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).....	48
ekil 4.6. Kromatid delesi (CE) bulunan metafaz plaktası (0,65 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, saatlik muamele, , X1000).....	48
ekil 4.7. Poliploidi (P) bulunan metafaz plaktası (0,32 µg/ml <i>E. repens</i> ekstraktı, 24 saatlik muamele, , X1000).....	49

Ç ZELGELER D Z N

Sayfa Numaraları

Çizelge 1.1. Ekonomik olarak önemli otlar.....	9
Çizelge 1.2. Bu daygillerin kaba yemlerinin kimyasal bileşimleri.....	10
Çizelge 1.3. Ülkemizde yayılı gösteren ve polenleri allerjiye neden olan Gramineae familyasına ait taksonlardan bazıları ve çiçeklenme dönemleri.....	11
Çizelge 1.4. Türkiye'nin yıllık bu daygiller üretimi (1991).....	11
Çizelge 4.1. <i>Elymus repens</i> kök ekstraktından hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde kromatin kromatid de i imi (KKD) ve proliferasyon indeksi (PI).....	45
Çizelge 4.2. <i>Elymus repens</i> kök ekstraktından hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde hücre ba na dü en anormallik oranı (KA/hücre), kromozom anormallik tipleri, anormal hücre (AH) yüzdesi ve mitotik indeks (MI).....	50
Çizelge 4.3. <i>Elymus repens</i> kök ekstraktından hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde mikronukleus (MN), mikronukleuslu binukleer hücre (BNMN) oranı ve nukleer bölünme indeksi (NBI).....	52

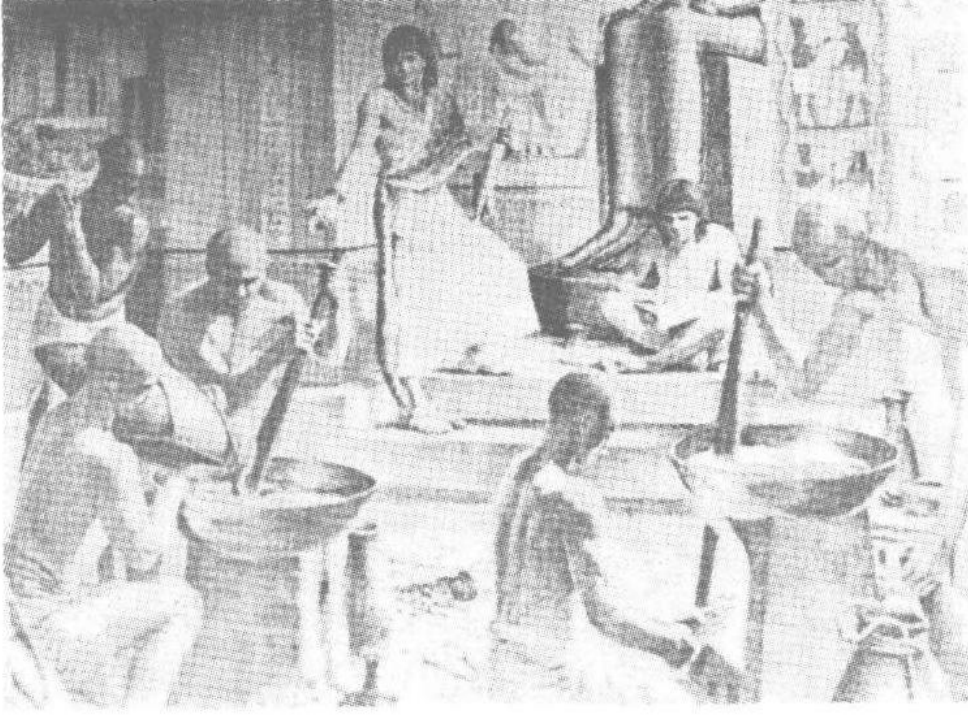
S İMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

B'	: Kromatid Kırığı
B''	: Kromozom Kırığı
F	: Fragment
DS	: Disentrik Kromozom
P	: Poliploidi
SU	: Sister Union (Kardeş Kromatid Birleşmesi)
CE	: Kromozom Değişimi
PI	: Proliferasyon İndeksi
RI	: Replikasyon İndeksi
BrdUrd	: 5'-bromo-2'-deoksiüridin
Cyt-B	: Sitokalsin B
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
KA	: Kromozom Anormallik
KKD	: Kardeş Kromatid Değişimi
MI	: Mitotik İndeks
SSC	: Standart Salın Sitrat
MN	: Mikro nucleus
BNMN	: Mikronükleuslu Binükleer Hücre
NBI	: Nükleer Bölünme İndeksi
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit
AOX	: Alternatif oksidaz
kDa	: Kilo dalton
DDT	: Dikloro difenil trikloro etan
HPLC	: High-performance liquid chromatography
M.Ö	: Milattan önce
UV	: Ultraviyole
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
°C	: Santigrat (Derece)

1. G R

nsano lunun var olu undan bu yana bitkiler gıda, parfüm, dezenfektan, ilaç gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Tarihin en eski ça larından beri, dünyanın hemen her yerinde, insanlar hangi bitkilerin besin maddesi olabilece i, hangilerinin tıbbi ve zehirli oldukları, hangi a açların odununun in aatta veya silâhların yapılmasına elveri li oldu unu ö renmi lerdir. Bu ilk devirlerde insanın aklını kullanmasından daha çok, içgüdüleri ile olmu tur. Nasıl ki, bugün bir hayvan, kendisi için yarayı lı otu seçerse, ilk devirlerde insanlar da, bitkilerden yarayı lı olup olmayanları, zararlı veya zararsız olanları, zehirli veya zehirsiz olanları ayırt etme e ve ö renme e çalı mı lardır (Karamano lu, 1977).

Tıbbi bitkiler üzerine yazılmı ilk eserler eski kültür merkezlerinde, Çin'de, Hindistan'da, Mısır'da, Yunan ve Roma'da bulunmu tur. Orta Avrupa'da M.Ö. V.'nci asırda bu day ve arpa kültürünün yapıldı ı tesbit edilmi tir. Mısır'da M.Ö. IV. ncü asırda faydalı ve tıbbi bitkilerin kültürünün yapıldı ı, örne in *Linum usitatissimum* (keten) mabet ve mezar duvarlarına yapılan resimlerden anla ılmaktadır (ekil 1.1). Bunun kadar eski bir medeniyeti olan, Sümerlerin de, hurma yeti tirdikleri, so an, arpa ve susam ektikleri, bugün kesin olarak bilinen bir gerçektir. Yine çok eski olan Çin kültüründe de Çin imparatoru Chen-Nung'un M.Ö. 2700 yılında, her yıl pirinç, so an ve bu day ekiminde merasim yaptı ı bilinmektedir (Karamano lu, 1977 ve Baytop 1991).



ekil 1.1. M.Ö. 1500 yıllarında içerisinde ilâç hazırlanan bir mısır mabedi.

Bitkilerin günlük hayatta kullanımının yaygınlaşması bitkilerin daha detaylı incelenmesi ve dolayısıyla da bitki biliminin gelişmesine neden olmuştur. Bitkileri konu alan, onları türlerine göre belirli bir düzenle inceleyen, nitelik ve özelliklerini esas tutarak sınıflandıran bilim kolu “botanik” diye isimlendirilir. Botanik alanında yapılan çalışmaların genişleyerek artması nedeniyle; bitkinin çıplak gözle ya da büyüteçle görülebilen bölümlerini inceleyen bitki morfolojisi (organografi), dokuların yapısını inceleyen ve araştıran dokübilimi (histoloji), organların büyüme, beslenme, özümleme, solunum, hareket ve üremelerini inceleyen bitki fizyolojisi, hasta bitkileri ve bitki hastalıklarını inceleyen bitki fitopatolojisi, iç yapısını inceleyen bitki anatomisi, üreme ve gelişmeyi inceleyen bitki biyolojisi, büyüme ve farklılaşma evrelerini inceleyen bitki embriyolojisi, bitkilerde kalıtımı ve kalıtsal özellikleri inceleyen bitki genetiği gibi çeşitli botanik alt dalları ortaya çıkmış ve botanik gelişen bir bilim dalı olması kaçınılmaz olmuştur (Biyologlar, 13/12/2013).

Bu alt dalların yanı sıra bitkilerin tedavi amaçlı kullanımına dayanarak, insan ve hayvan sağlığı yönünden faydalı olan tıbbi bitkileri, bunların çeşitli organlarından elde edilen ilaçların elde edilmelerini, hazırlanmalarını ve kapsadıkları etken maddelerle, kullanıldığı yerleri, baharat ve besin olarak kullanılan bitkileri de konusu içine alan, bitki

sistematiindeki yerini esas alarak özel yapılarını, ilaç yapımında kullanılan kısımlarını incelemeyi amaçlayan diğer bilim dalı ise “Farmasötik Botanik” (Eczacılık botanisi) olarak adlandırılmaktadır (Karamanolu, 1977; Tanker ve ark., 1998).

Yüzyıllarca bitkilerin kullanımı ve bitki populasyonlarının fazlalığı bitkilerin sınıflandırılmasına neden olmuştur ve bu bilim dalı taksonomi olarak adlandırılmıştır.

1.1. Taksonomi

Taksonomi, canlıları benzerliklerine veya farklılıklarına göre gruplara ayırarak incelenmesini kolaylaştıran bir bilim dalıdır. Taksonomi, canlıları sistematik kurallarına uygun bir şekilde adlandırıp, yeryüzündeki yayılımlarını ve habitat özelliklerini incelemektedir.

Taksonominin görevlerini şöyle özetleyebiliriz (Uma, 2010) ;

- 1) Her bir taksonu veya türü inceleme altına alıp kendine özgü özelliklerinin neler olduğunu tespit etmek
- 2) Ortaya çıkarılan özelliklerden hangilerinin belirli taksonlarda ortak olduğunu, farklılık ve ortak özelliklerin hangi biyolojik sebeplerden ileri geldiğini bulup ortaya koymak
- 3) Taksonların içerisindeki varyasyonlara ulaşmak
- 4) Bitkilerin birbirleriyle olan doğal akrabalık derecelerini göz önünde tutarak ve filogenetik gelişimlerine dayanarak inceleyip küçük ve büyük gruplar halinde gruplandırmak gibi temel görevleri yapar (Dırak ve İçim, 2002).

Sistematik; ayrıca yeryüzünde bulunan canlıları belirli bir düzen içerisine koyup, hayatın kökenine ait filogenetik bilgiler verir. Evrime katkı sağlayarak evrimin biyolojinin diğer alanlarında kullanılmasına yardımcı olur (Baytop,1994; Baytop,1995; Uma, 2010).

İlk sınıflandırma insanların yeryüzünde ortaya çıkıp bitkileri yenen-yenmeyen, otçuluğu- a aç diye ayırmalarıyla başlamıştır. Sonraki çalışmalarda bitkilerin farklı yönleri de ortaya çıkarılıp sistematik geliştirilmiştir. Sistematikte ilk yazılı eseri veren kişi, botaninin babası olarak kabul edilen ve Aristonun öğrencisi olan Theophrastus (M.Ö. 370-285) dir. De Historia Plantarum adlı eserinde 480 bitkiyi bu özelliklerine göre sınıflandırmıştır. Bu eserinde bitkileri ağaçlar, çalılar ve yarı çalılar ve otsu bitkiler olarak 4’e ayırmıştır. Theophrastus devrinden sonra Romalılar Devrinde M.S. 64 yılında Dioscorides, bitkileri az çok familyalar halinde gruplandırmıştır, çoğu tıbbi olan 600 bitki türünden bahsetmiştir (Dırak ve İçim, 2002; Uma, 2010).

Günümüzde sınıflandırma sistemi en çok kullanılan taksonomist Alman Adolph Engler (1844-1930) dir. Esas olarak Eichlerin sistemini benimsemiş olması rağmen daha

detaylı ve nomenklatür kuralları bakımından daha sağlam bir sistem kurmuştur. Engler kurduğu sistemi Prantl'la birlikte yayınladığı 20 ciltlik 'The natural plant families' (1887-1899) adlı eserde tanıttı. Eserin tüm dünya sistematikçilerince kabulünde en büyük rolü, tüm yeryüzü bitkilerini içermesi oynamıştır (Uma, 2010).

1.2. *Elymus repens*'in Taksonomik Sınıflandırılması

Elymus repens bitkiler aleminin, kapalı tohumlular grubunun, tek çenekliler sınıfının, bu daygiller ailesinden, yabancı arpa cinsine ait çok yıllık otsu bir bitki türüdür [2].

Kingdom (Alem)	: <i>Plantae</i>
Division (Bölüm, übe)	: <i>Magnoliophyta</i>
Class (Sınıf)	: <i>Liliopsida</i>
Subclass (Alt Sınıf)	: <i>Commelinidae</i>
Order (Takım)	: <i>Cyperales</i>
Family (Aile)	: <i>Poaceae</i>
Genus (Cins)	: <i>Elymus</i>
Species (Tür)	: <i>Elymus repens</i> (L.) GOULD

1.2.1. *Plantae* (Bitkiler Alemi)

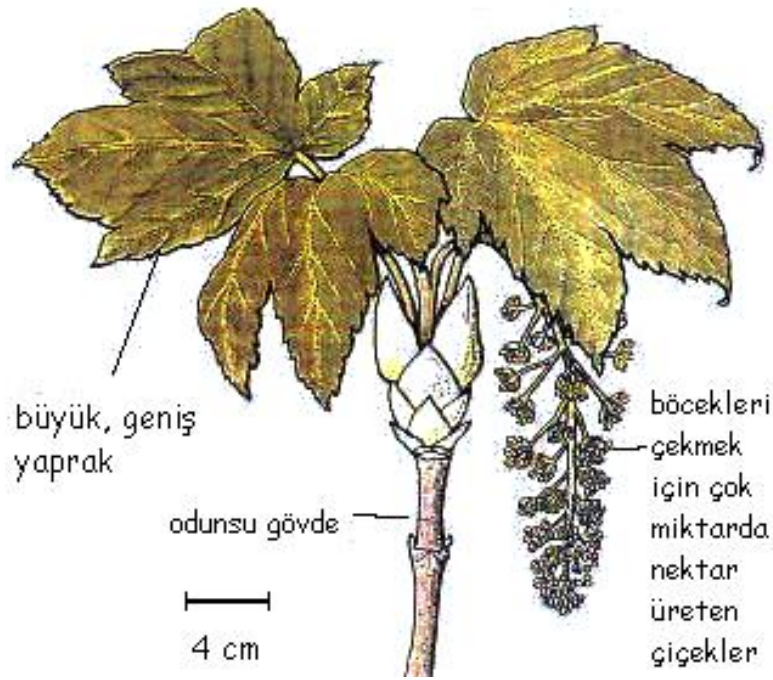
Fotosentez yapan, ağaçlar, çiçekler, otlar, eğreltiotları, yosunlar ve benzeri organizmaları içinde bulunduran çok büyük bir ökaryotik canlılar alemidir. Bitkiler dünyadaki canlılığın devamını ve doğal dengesini sağlayan yeryüzündeki yaşamın temel bir parçasıdır. Bitkiler tüm canlıların yiyecek, yakıt ve ilaç gibi yaşamal imkânlarının ve aynı zamanda da oksijen gibi önemli unsurların ana kaynağıdır. Bitkiler alemi'nin ekil, büyüklük, yapı, organizasyon ve ekolojik istekler açısından büyük farklılıklar gösteren çok sayıda üyesi bulunur. Çevremize baktığımızda suda ve karada yaşayan bitki türlerine rastlamak mümkündür (Akman, 1993).

1.2.2. *Magnoliophyta* (Kapalı Tohumlular Bölümü)

Kapalı tohumlu bitkiler evrimsel bakımdan en iyi gelişmiş, en büyük bitki grubudur. Günümüzde yaklaşık olarak 300,000 üyesi bulunmakta ve bu sayı her geçen gün artmaktadır. Kapalı tohumlu bitkilerin kültürü yapılmakta olup ekonomik değeri fazladır. Bu bitki grubu oluştukları andan beri diğer bitki gruplarına oranla daha gelişmiş özelliklere

sahiptir. Çünkü vegetatif kısımları (kök, gövde, yaprak gibi) ortam koşullarına daha rahat uyum sağlayabilmektedir (ekil 1.2).

Kapalı tohumlu bitkilerin organları arasında iyi bir bölünme söz konusudur. Döllenme ve tozlaşma güvence altındadır. Kapalı tohumlu bitkilerde erkek gametinin dişi gametle birleşmesi önce tozlaşma sonra da döllenme olayı ile gerçekleşir. Tozlaşma, çiçek tozunun dişi organının üzerine konması olayıdır. Bu işlem için rüzgâr, böcek, kuş, su gibi faktörlerden yararlanılır (MEGEP, 2007; Gültekin, 2010; Güner, 2004).



ekil 1.2. Kapalı tohumlu bir bitkinin genel görünümü.

Kapalı tohumlu bitkiler için kısaca şu özellikleri sıralayabiliriz: Tohumları meyve içerisinde bulunduğu andan ovaryum tarafından örtülmüştür, odunsu ve otsu çeşitleri vardır, çok yıllık olanların bazıları yapraklarını dökerken bazıları yaprak dökmeyenler, çenek sayısına göre tek çenekli ve çift çenekli diye ikiye ayrılırlar, tohum oluşturma sürecinde çift döllenme görülmektedir (MEGEP, 2007).

Angiospermae grubuyla ilgili yapılan sınıflandırma Cronquist (1968) sistemine dayanmaktadır. Bu sistem biyolojik bulgulara dayanılarak geliştirilmiştir ve kapalı tohumlu bitkiler tek çenekli ve çift çenekli bitkiler olmak üzere ikiye ayrılırlar.

1.2.3. Liliopsida Sınıfı (Monocotyledoneae = Tek Çenekli Bitkiler)

En belirgin özellikleri embriyoda bir kotiledon bulunmasıdır. Çoğunlukla otsu, küçük bir kısmı odunlu, bir veya çok yıllık bitkilerdir. Gövde kabuğunda mantar doku bulunmaz. Gövde basittir, dallanma çiçek durumunda olabilir. Gövdenin enine kesitinde iletim demetlerinin bir düzene göre yerleşimi görülür. Demetlerde ksilem ve floem arasında kambiyum bulunmaz, bu yüzden gövdede sekonder büyüme olmaz. Birçoğu, toprakaltında soğan, rizom ve yumru taşıyan geofitlerdir (Tanker ve ark., 1998). Genel olarak monokotiledonlarda iletim sistemi gövde de temel doku içinde dağınık demetler halindedir (Toker, 2004).

Kökleri saçak kök tipindedir; kökteki iletim demetleri radyal, ksilem kolları çok sayıdadır (Tanker ve ark., 1998). Yapraklar genellikle alternan dizili, basit, sapsız, linear, paralel damarlı ve stipulasızdır. Çiçek halkalarındaki (kaliks, korolla, androceum, gineceum) üye sayısı üç veya katları yani trimer, çiçek örtü yaprakları (periant) kaliks ve korolla olarak farklı maddelerden perigon eklindedir ve her bir örtü yaprağı tepal adını alır; tepaller serbest veya birleşik olabilir (ekil 1.3.). Ovaryum üst veya alt durumludur. Çiçekler aktinomorf veya zigomorf olup pentasiklik yani 5 halka üzerine dizilmiş tir (Tanker ve ark., 1998; MEGEP, 2007).



ekil 1.3. Tek çenekli bir bitkinin yaprak ve çiçek durumu.

1.2.4. *Commelinidae* Alt Sınıfı

Bu grupta 15,000'den fazla tür bulunmaktadır. Gıda ve yem sanayinde çok büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, kozmetik, ilaç, kağıt, niasta, inaat malzemeleri, tekstil lifleri, süs bitkisi, yakıt gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bu alt sınıf içerisinde Juncaceae, Cyperaceae, Poaceae, Esparganiaceae, Typhaceae familyaları vardır. (MEGEP, 2008).

1.2.5. *Cyperales* Takımı

Her dem yeşil, sık formulu, çim benzeri yer örtücülerdir. 20–30 cm yükseklikte. Yapraklar yeşilden gümüşü maviye kadar değişik farklı renklerde olur. Meyveleri ise açık kum renginde çiçekli bir bitkidir (ekil 1.4.). Tohum ve ağızla ile üretilir. Tohumlar erken ilkbahar veya sonbaharda ekilebilir. Ayrıştırılabilir çiçeklenme dönemi içinde köklü bitki parçaları kesilerek yapılır. Güneşli açık alanlarda ve ılıman iklim koşullarında yetişir. Her türlü toprakta yetişmekle beraber kumlu-killi, gevrek, drenajı ve havalanması iyi, kireç bakımından zengin topraklarda iyi gelişir. Orta derecede ve düzenli olarak sulanmalıdır. Söğütlere ve yangınlara karşı dayanıklıdır (MEGEP, 2008).

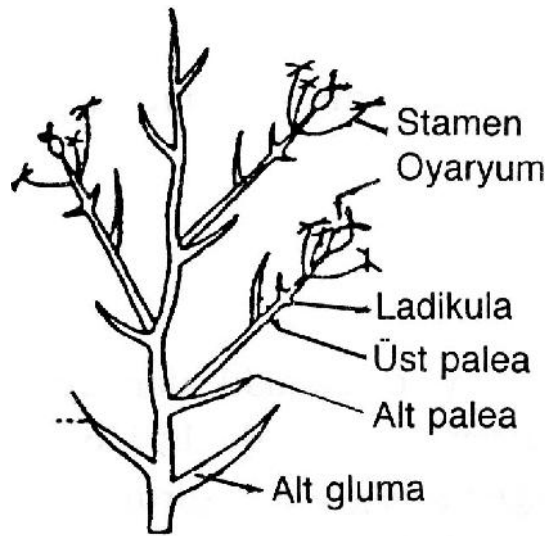


ekil 1.4. *Cyperales* takımının kum rengi meyvesi.

1.2.6. Poaceae (Gramineae=*bu daygiller*) Familyası

Kapalı tohumluların bir çenekliler sınıfından çok geni bir familya (Gramineae) olup 9,000 ve 10,000 arasında türü olan yeryüzünün %20 kapsayan bitkilerdir. Temmuz-Austos ayları arasında yeşil veya morumsu-yeşil renkli başaklar veren, 30-100 cm boyunda, özellikle kumlu toprakları seven bitkilerdir (Özer, 1999).

Gövde dik, tüysüz ve içi boştur. Yaprakları dar, uzun, ince paralel damarlı, sivri uçlu, koyu yeşil renkli, üst yüzü tüylüdür. Çiçekler gövdenin ucunda dik ve yassı bir spika durum halinde toplanmıştır. Spikulalar iki sıra halinde, spika eksenine zigzag bir şekilde ekildedir. Spikula 3-9 çiçekli, gluma 2 tane, lanseolat ekilli, 5 damarlı, ucu sivri ve genellikle kılıçlıdır. Üst palea zarımsı 2 damarlı, ucu 2 dişli ve kenarları içerdürü kıvrıktır (ekil 1.5). Stamen 3 tanedir. Filamentler iplik ekilinde, anterler uzun ve sarkıktır. Dişli organ 3 karpelden yapılmıştır, ovarium oval ekilli, stigma 2 tane, alt tarafı düz, üst yüzü uzun tüysüdür. Meyva sarımsı renkli uzundur (Baytop, 1963; Özer, 1999).



ekil 1.5. Poaceae (Gramineae) ait genel çiçek yapısı.

Saçak kök özelliğini gösterir ve buna bağlı olarak toprak altında çok fazla yayılmış olan rizomları bulunur, çoğunlukla otsu bitkilerdir. Bunlar arasında daha ilkel lardan itibaren kültüre alınmış olan tahıl bitkileri de bulunur. Örneğin; buğday, arpa, çavdar, yulaf, mısır, pirinç gibi. Odunsu bitkileri arasında en bilineni ise bambulardır. Yaprakları erit biçiminde ve kılıçlıdır, çiçekleri ise erseliktir. Tozlaşma, yani çiçek tozlarının dağılması rüzgârla olduğundan, çiçek yapraklarında körelme görülür. Çiçekler küçük başakçıklardan meydana gelmiş bileşik başaklar olur. Bu daygillerin taneleri görünüm olarak tohuma benzerse de aslında birer meyvedirler. Bu meyveler niasta bakımından

zengindir. Ayrıca protein ve yağta ırlar. Bu familyaya giren bitkiler arasında yukarıda sayılanlardan başka; çimotu, tav anıbyı ı, zembilotu gibi çayır otları; saz kamı ı, masura kamı ı gibi saz bitkileri; delice gibi yabancı zararlı bitkiler ve ekerkamı ı bulunur (Baytop, 1963).

Gramineae, ekonomik açıdan önemli familyalardan birisidir (Çizelge 1.1). Gerek insanlar için besin (tahıl veya hububat), gerekse hayvan yemi olarak (*Agrostis*, *Dactylis*, *Poa*, *Festuca*, *Anthoxanthum*, *Sorghum* türleri gibi) (Çizelge 1.2) ve ayrıca çoğunun tarımının yapılması, park, bahçe süslemelerinde yetiştirilmeleri, bahçelerde, parklarda, spor sahalarında çim yapımında da (*Lolium perenne*, *Lolium italicum* gibi) kullanımının yaygın olması ve ayrıca küçük çapta polenlere sahip olmaları, rüzgârla tozlaşmaları, çok fazla polen üretmeleri polen sezonunda havada çok yoğun bulunmasına neden olmakta ve duyarlı bireylerin *Gramineae* polenlerinden sakınılmasını olanaksız hale getirmektedir (Baytop, 1991; Yalıtık ve Efe, 1996; Açıkgöz, 2000; Bıçakçı ve ark., 2009).

Çizelge 1.1. Ekonomik olarak önemli otlar (Bıçakçı ve ark., 2009).

Taneli ürünler	Yaprak ve saplı ürünler	Çayır, çimen otları	Örnek organizmalar
Arpa	Bambu	Anthoxanthum	<i>Brachypodium distachyon</i>
Buğday	Kamı	Bahia grass	Buğday
Çavdar	Marram grass	Beach grass	Mısır
Darı	Meadow-grass	Bent grass	Pirinç
Mısır	Ryegrass	Bermuda grass	Sorgum
Pirinç	ekerkamı ı	Fescue	
Sorgum		Meadow-grass	
Yulaf		Ryegrass	
		Zoysia	

Çizelge 1.2. Bu daygillerin kaba yemlerinin kimyasal bileşimleri (Canbolat, 2012).

Yemler	Kimyasal Bileşim, %						
	OM	HP	HK	HY	NDF	ADF	ADL
Mısır	94.6a	8.8a	5.4d	2.9b	53.2b	30.1b	6.3d
Sorgum	93.3cd	7.4bc	6.7ab	2.7c	55.4a	32.0a	6.9c
Bu day	93.6c	8.6a	6.4bc	2.6c	49.9c	27.6c	6.3d
Arpa	94.5a	8.2a	5.5d	2.7c	53.1b	29.8b	7.9ab
Yulaf	93.9b	7.7b	6.1c	3.2a	46.6d	24.9d	6.4d
Çavdar	93.1d	7.1c	6.9a	2.6c	55.9a	32.6a	8.1a
Tritikale	93.7bc	7.8b	6.3bc	2.3bc	52.7b	29.6b	7.5bc
SH*	0.889	1.253	0.837	0.411	4.691	3.676	1.264

“a-d” Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.01),
SH: Standart Hata, NDF: Nötr deterjanda çözünmeyen lif, ADF: Asit deterjanda çözünmeyen lif, ADL: Asit deterjanda çözünmeyen lignin (Canbolat, 2012)

Atmosferde bulunan polenlerden çayır- çimen veya Grass olarak bilinen *Gramineae* (*Poaceae*) familyasına ait otsu bitkilerin polenleri de en önemli aeroallerjenler arasında yer almaktadır. Familya üyelerinin çoğunluğu rüzgarla (anemogam) tozlanmaktadır. Familyanın tipik polen özelliği, türlerinin tek apertüre (por) sahip olmasıdır. *Gramineae* familyasına ait polenler birbirine benzerlik gösterdiğinden tür veya cins seviyesinde analizleri yapılamamaktadır. Familya üyelerinin birbiri arasındaki yüksek çarpaz reaksiyon nedeniyle tür seviyesinde tespitinin allerjik açıdan pek önemi yoktur (Çizelge 1.3). Bu nedenle *Gramineae* familyasına ait farklı üyeler farklı zamanlarda çiçeklenerek havaya polen yaymalarına rağmen, benzer allerjik özellik gösterdiğinden havada bulunma zamanları dolayısıyla duyarlı bireyler açısından risk dönemi de uzamı olmaktadır (Bıçakçı ve ark., 2009).

Çizelge 1.3. Ülkemizde yayılı gösteren ve polenleri allerjiye neden olan Gramineae familyasına ait taksonlardan bazıları ve çiçeklenme dönemleri (Bıçakçı ve ark., 2009).

Taksonlar	Çiçeklenme dönemi
Agrostis gigantea (Redtop grass) (çim ayrığı)	Temmuz-A ustos
Anthoxanthum odoratum (Sweet vernal grass) (kokulu çayır otu)	Nisan-A ustos
Cynodon dactylon (Bermudo grass) (ayrık otu, köpek dili otu)	Nisan-Eylül
Dactylis glomerata (Orchard grass) (domuz ayrığı)	Mayıs-Temmuz
Festuca pratensis (Meadow fescue) (çimotu)	Temmuz-A ustos
Lolium perenne (Perennial ryegrass) (ingiliz çimi)	Nisan-A ustos
Poa pratensis (Kentucky bluegrass) (çayır tavflan bığı)	Mayıs-A ustos
Phleum pratense (Timothy grass) (çayır köpekkuyruğu)	Haziran-A ustos

Familyanın, Türkiye’de yaklaşık 140 cinse ait 602 takson yayılı göstermektedir. Türkiye’nin de içinde bulunduğu Güneybatı Asya, birçok *Gramineae* üyesinin ilk ortaya çıktığı yer yani gen merkezidir ve ülkemizde bu day ve türevleri yoğun olarak üretilmektedir (Çizelge 1.4.) (Bıçakçı ve ark., 2009).

Çizelge 1.4. Türkiye’nin yıllık bu daygiller üretimi (1991) (Bıçakçı ve ark., 2009).

Tahıl	Miktarı
Bu day	20.400.000 ton
Arpa	7.800.000 ton
Mısır	2.100.000 ton
Çavdar	280.000 ton
Yulaf	276.000 ton
Pirinç	158.000 ton
Darı	9.000 ton

1.2.7. *Elymus* (Yabani arpa) Cinsi

Bu daygiller (Poaceae) familyasından *Elymus* cinsini oluşturan yaklaşık 150 türü bulunan, genellikle püsküllü, nadiren kök saplı çok yıllık bitkilerdir. Ot sapı çoğu kez dik vaziyettedir. Kulakçıklar mevcuttur ya da bulunmaz. Toprak koruma ve yem değeri açısından üstün özellikte olduğu belirlenen türleri şunlardır (Könemann, 1993; Avcı, 2004; Ünal ve ark., 2012; Yılmaz ve Göl, 2012):

- Alaska yabani arpası (*Elymus alaskanus*)
- Montana yabani arpası (*Elymus albicans*)
- Kaliforniya yabani arpası (*Elymus californicus*)
- Kanada yabani arpası (*Elymus canadensis*)
- Dev yabani arpa (*Elymus cinereus*)
- Sincapkıyruğu (*Elymus elymoides*)
- Mavi yabani arpa (*Elymus glaucus*)
- Kuzey yabani arpası (*Elymus hirsutus*)
- Doğu yabani arpası (*Elymus hystrix*)
- SPüsküllü yabani arpa (*Elymus macrourus*)
- Macellan yabani arpası (*Elymus magellanicus*)
- Amerika yabani arpası (*Elymus mollis*)
- Büyük yabani arpa (*Elymus multisetus*)
- Yayılıcı yabani arpa (*Elymus scribneri*)
- Sibiryaya yabani arpası (*Elymus sibericus*)
- Sierra yabani arpası (*Elymus sierrae*)
- Kısa yabani arpa (*Elymus trachycaulus*)
- Virginia yabani arpası (*Elymus virginicus*)
- Ayırık otu (*Elymus repens*)
- Sakallı Kanepe (*Elymus caninus*)

Bu türlerden yurdumuzda yaygın olarak bulunan ve hem yem hemde bahçe süsü olarak kullanılan önemli türler ise; *Elymus alaskanus*, *Elymus canadensis*, *Elymus elymoides*, *Elymus hystrix*, *Elymus magellanicus*, *Elymus multisetus*, *Elymus trachycaulus*, *Elymus virginicus*, *Elymus caninus*'dur.

***Elymus alaskanus* (Alaska yabani arpası):** Her türlü iklim artlarında yeti ebilen, saçak kök özellikli, yapraklar ba akları bir zar gibi sarmaktadır ve ba aklar ye ilimsi mora yakın renkte ve 15–20 cm uzunlu una ula abilmektedir (ekil 1.6) (Özer, 1999; Ceylan, 2000; Asımgil, 2009).



ekil 1.6. *Elymus alaskanus*.

***Elymus canadensis* (Kanada yabani arpası):** Çok yıllık, saçak kök özelli i gösteren, uzun yaprak sapları olan ve bu day gibi ba ak veren bu ba akların boyu 20 cm'ye kadar uzanabilen önemli bir yem bitkisidir (ekil 1.7) (Ceylan, 1987; Elçi, 2005).



ekil 1.7. *Elymus canadensis*.

***Elymus elymoides* (Sincapku yru u):** *Elymus elymoides* çok yıllık, demet ekinde, çim yüksekli i yakla ık yarım metreyi bulan, çiçeklenme uzun ve biraz sert 15 santimetreye kadar, dik ba akçıklardan bir veya iki santimetre kılçık bulunduran çim bitkisidir.

Herdem ye il oldu undan, özellikle küçük ba hayvanlarda kı aylarında otlatma için en iyi yem bitkisidir (ekil 1.8) (Açık göz, 2000).



ekil 1.8. *Elymus elymoides*.

***Elymus hystrix* (Do u yabancı arpası):** Çok yıllık uzun boylu ve küçük dallı, yaprak kını grimsi ye il, ince çizgili, tüsüzdür. Kayalıklarda, nemli topraklarda, ılık veya gölgede, ormanda a aç diplerinde yeti ebilen ayrıca süs bitkisi olarak yeti tirilen bir bitkidir (ekil 1.9) (Elçi, 2005).



ekil 1.9. *Elymus hystrix*.

***Elymus magellanicus* (Macellan yabani arpası):** Bu çim Güney Amerika'ya özgüdür. Uzun boylu sapları taşıyan küçük mavi çiçekleri vardır. Başaklarının boyu 30-60 cm kadar uzayabilir. Metalik-mavi yaprakları olan yavaş büyüyen bir bitkidir. Sıcak, nemli yaz bölgelerinin yanı sıra kış aylarına ve kuraklıklara da dirençlidir. Mükemmel bir bahçe süs bitkisidir (ekil 1.10) (Ceylan, 2000; Elçi, 2005).



ekil 1.10. *Elymus magellanicus*.

***Elymus multisetus* (Büyük yabani arpa):** *Elymus multisetus* birçok habitatta yeti en batı Amerika Birleşik Devletlerine özgüdür. Bu bitkinin maksimum yüksekliği 60 santimetreye ulaşan çok yıllık bir ottur. Çiçeklenme çok uzun ve kılçıklıdır. Kılçıklar 20 santimetre uzunluğunda olabilir (ekil 1.11) (Açıkgöz, 2000; Ceylan, 2000, Asımgil, 2009).



ekil 1.11. *Elymus multisetus*.

***Elymus trachycaulus* (nce yabani arpa):** nce bu day çimi, aynı zamanda yabani çavdar olarakta bilinen, Kuzey Kanada'da Meksika'da çe itli habitatlarda yeti en aynı zamanda Anadolu'da da yayılı ı bulunan, genellikle kök saçak yapıda ve dar, do rusal çiçeklenme gösteren ye il bir çim bitkisidir (ekil 1.12) (Elçi, 2005).



ekil 1.12. *Elymus trachycaulus*.

***Elymus virginicus* (Virginia yabani arpası):** Çok yıllık dalsız ve sapları bulunan çim bitkisidir. Sapları düz ve yuvarlak, açık yeşil, tüysüz ve diktir. Yapraklar, koyu yeşil, orta iki tarafta tüysüzdür. Genellikle, çiçek başları açık halde, kısmen kapalıdır. Bitki ılıkta, gölgede, nemli koşullarda ve verimli killi topraklarda yaygın olarak görülür. Çim değeri, at ve diğer çiftlik hayvanları için yem bitkisi olarak kabul edilebilir (ekil 1.13) (Açıkgöz, 2000; Ceylan, 2000; Elçi, 2005).



ekil 1.13. *Elymus virginicus*.

***Elymus caninus* (Sakallı Kanepe):** Ormanda veya gölgeli yerlerde, alkali topraklarda yayılı gösterir. Uzun kılçıkları 10-20 mm boyundadır. Yaprakları geni ve çizgili yapı gösterir (ekil 1.14) (Ceylan, 2000).



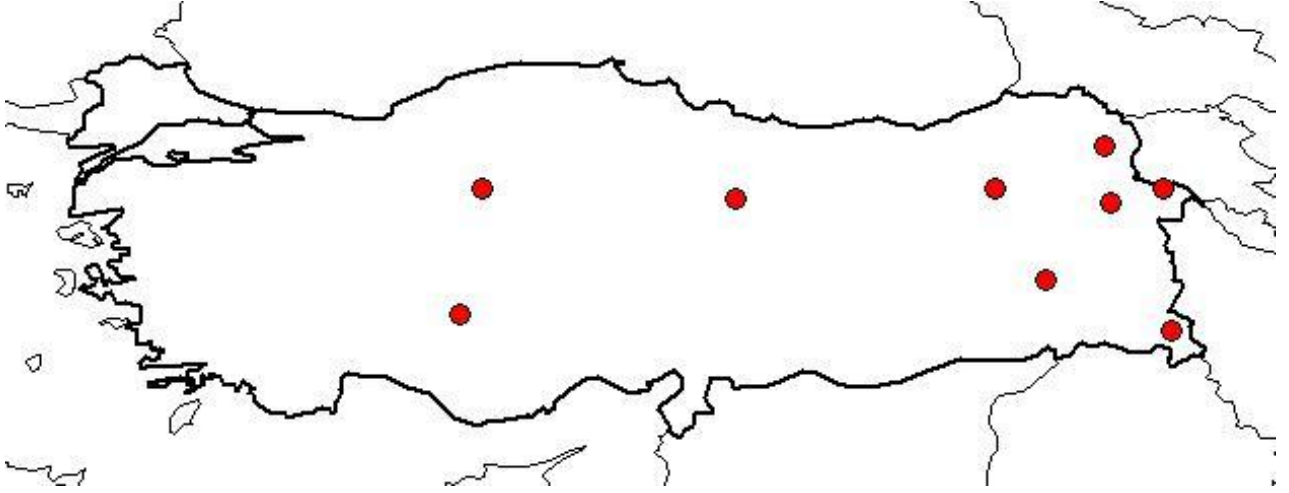
ekil 1.14. *Elymus caninus*.

1.2.8. *Elymus repens* (Ayrık otu)

Bu daygiller familyasındandır. Çok yıllık, yayılıcı köksaplara sahip bir otsu bitkidir (ekil 1.15). Anayurdu bilinmeyen dünyanın bütün soğuk ve ılıman iklimli bölgelerinin yüksek kesimlerinde yeti en 125 kadar türün ortak adı ayırıkotudur. Ülkemizde de 20 kadar ayırıkotu türü bulunmaktadır. Bu türlerin vilayetlere göre dağılımı ekil 1.16'da görülmektedir.



ekil 1.15. *Elymus repens* genel görünümü.



ekil 1.16. Vilayetlere göre *Elymus repens*'in dağılımı: Iğdır, Kars, Hakkari, Bitlis, Ağrı, Ankara, Erzurum, Konya, Sivas (TÜB VES, 15/12/2013).

Ayrık otunun 40-80 cm uzunluğa çıkabilen, 3-4 nodlu dik veya kalkık uçlu gövdesi vardır. Yaprak kını tüylü dip kısmı haricinde tüsüzdür. Kısa dilcikler 0,5 mm uzunlukta ince ve kulakçıklar zarımsı yapıdadır. Yassı yapraklar 10-20 cm uzunluk ve 5-10 mm geni likte olup üst yüzeyi kaba tüylü fakat alçak kısımları tüsüzdür. Çiçek kurulu dik başak 10-18 cm uzunluk ve 8-15 mm geni liktedir. Internodlar genellikle 10-15 mm uzunluğunda olur. Çiçekteki her bir başak 5-6 floret (çiçekçik) barındırır. Mızrak biçimindeki dış kavuz 10-15 mm uzunlukta, 5-6 damarlı tüsüzdür. Alt iç kavuz, üst iç kavuzdan uzunca yaklaşık 5 mm uzunluğunda 2 sırtlı ve kısa sert tüylüdür. İki mızraksı-diktörgen 5-6 damarlı; sarı başaklı (anter) ve kılçıklar 2 mm uzunluğundadır (ekil 1.17).

Elymus repens halk arasında Ayrık otu, Mekke ayrığı, Domuz ayrığı ve Tarla ayrığı olarak da bilinmektedir. *Elymus repens* türlerinden bazıları tarıma çok zararlı iken, kimi türleri de hayvan yemi ve çim bitkisi olarak özellikle yetiştirilmektedir (Asımgil, 2009; Çoruh, 2009). Mayıs temmuz ayları arasında küçük başaklar halinde açan çiçekleri çok gösterişlidir (ekil 1.18). Bitki bu çiçeklerde olgunlaşan tohumların dökülmesiyle, kök rizomlarının sürgün vermesiyle ya da toprağa deşen gövdenin yeniden kök atmasıyla çoğalır (ekil 1.19). Tarlalardan başka, yol kenarları ve bahçelerde de çok görülür (Ebcio lu, 2001; Deniz, 2005; Maranki ve Maranki, 2008).



ekil 1.17. *Elymus repens* yaprak, gövde ve kök yapısı.



ekil 1.18. *Elymus repens* çiçekleri.



ekil 1.19. Ayrık otu, rizomu, yaprağı ve toprağa değen yerde kök atan gövdesi.

Üç alt tür ve iki varyetesi bilinmektedir.

Bu alt türlerden en çok yayılı yapan taksonu *Elytrigia repens* subsp. *repens*.’tir. *Elytrigia repens* subsp. *repens* var. *repens*. genellikle kılçıksız ve kısa boyludur. *Elytrigia repens* subsp. *repens* var. *aristata*, kılçıklı ve 15 mm uzunlu undadır.

Elytrigia repens subsp. *elongatiformis* (Drobow) Tzvelev (syn. *Elytrigia elongatiformis* (Drobow) Nevski). Orta ve güneybatı Asya, güneydo u Avrupa (Ukrayna)’da yayılı göstermektedir.

Elytrigia repens subsp. *longearistata*. ise Batı Çin populasyonlarında görülmektedir (Baytop, 1963).

1.2.9. *Elymus Repens*’in Kullanımı

Yüksek protein ve ni asta içermesinden dolayı en de erli yem bitkilerinden biri olarak kabul edilir. Ayrık otu en çok at ve koyunlar tarafından sevilerek yenir. Dü ük lif oranı ve tatlı tadı nedeniyle öncelikli olarak büyükba hayvanlarının beslenmesinde kullanılır. Ayrıca toprak ve su koruma ile bentleri kuvvetlendirmek amacıyla ekimi yapılır. Di er yandan kısa sürede ürün alanını i gal ederek sorun yaratabilir (Baytop, 1963; Ebcio lu, 2001; Deniz, 2005; Maranki ve Maranki, 2008; Asımgil, 2009).

Bol miktarda karbonhidrat (triticin), müsilaj ve saponinler, mineral tuzlar, özellikle potasyum tuzu, salisilik asit ve demir, vitaminler (A, B), organik asitler içeren ayrık otunun kökü, ilkbahar ba langıcında filizlenmeye ba lamadan sökülür. Yıkanarak topraktan temizlenir ve açık havada kurutulur. Gölgede ya da güne te kurutulur. Kuruduktan sonra, 55 derecelik yapay ısıda tekrar kurutulması do ru olur. Çünkü tam olarak kurumadı nda küflenir ve kullanılamaz (Ebcio lu, 2001; Deniz, 2005; Maranki ve Maranki, 2008; Çerçi, 2008).

Ayrık otunun çayı; kurutulmu , ince kıyılmış Ayrık kökünden 2-3 tatlı ka ı ı demli e konarak üzerine 300-400 ml kaynar su ilave edilerek 5-10 dk demlenmeye bırakılır böylece elde edilen dekoksiyondan günde üç kez birer bardak içilir. Ancak, tadı çok kötü oldu undan bal, limon ya da naneyle tatlandırılır. Ayrıkotunun normalde herhangi bir yan tesiri yoktur (Ebcio lu, 2001; Bulut, 2005; Asımgil, 2009; Zeybek ve Haksel, 2010).

Ayrık otu, Klasik Yunan döneminden bu yana bitkisel ilaç olarak kullanılmı tır. Hasta köpeklerin topra ı kazarak kökleri yedi i bilinir. Orta Ça ’da iltihaplı idrar hastalıklarının tedavisinde kullanılmı tır. Günümüzde ise ayrık otu; ishale, idrar yolu ve mesane iltihabına, nikris hastalı na, ate li hastalıklara, sarılık hastalı na iyi geldi i

bilinmektedir. Vücutun susuzluğunu giderdiği için kanı ve bedendeki toksik maddeleri temizleyerek bedeni güçlendirici bir tonik olarak kullanılmaktadır. drar söktürücü özelliği nedeniyle böbrek ve mesane taşlarının atılmasına yardımcı olur. Romatizma ağrılarını hafifletir. Nezleyi, mide rahatsızlıklarını geçirildiği bilinmektedir. Prostada koruyucudur. Ayrıca antiseptik özellikleri vardır (Baytop, 1963; Ebcio lu, 2001; Erdemir, 2001; Deniz, 2005; Eyübo lu, 2007; Maranki ve Maranki, 2008; Dev, 2010; Ermi , 2011; Saraço lu, 2011; Maranki ve Maranki, 2012).

Ayrık otunun ayrıca; egzama ve cilt hastalıklarının iyileştirilmesinde etkili olduğu da bilinmektedir. Kaynatılan suyu ile pansuman yapıldığında özellikle ergenlik sivilcelerine ve deri hastalıklarına iyi gelmektedir. İkiyete edilen yerlere dıştan uygulanmalıdır (Baytop, 1963; Ebcio lu, 2001; Kırbacı ve Zengin, 2006; Maranki ve Maranki, 2008).

2. ÖNCEK ÇALI MALAR

Szczepaniak ve ark. (2002), morfolojik ve moleküler teknikler kullanarak intraspesifik varyasyonların nedenlerini saptamak amacıyla *E. repens*'deki genetik farklılıkla ilgili olan morfolojik çeşitliliği incelemiştir. Farklı yaşam alanlarından toplanan dört *E. repens* popülasyonunda 35 morfolojik karakter analiz edilmiş ve bu dört popülasyondaki genetik farklılaşma Amplifiye Fragman Uzunluk Polimorfizmi (AFLP) ile değerlendirilmiştir. Varyans analizine dayanılarak popülasyonlar arasında önemli morfolojik ve genetik farklılaşma olduğu saptanmıştır. Çalı malarında *E. repens*'in hibrit orijinli, evrimsel olarak genç bir tür olduğu ve hala mikro evrimsel sürecinin devam ettiğini belirtilmiş ve genetik farklılık ve morfolojik analizlerin ortak kullanımının taksonomi çalı malarında güçlü bir araç olduğu ileri sürülmüştür.

Mason-Gamer (2008), fosfoenolpiruvat karboksilaz (pepC) ve beta-amilaz enzimlerini kodlayan genlerin klonlanması bazı dizilerini kullanarak *Triticeae* (poaceae) familyası içinde yer alan hegzaploid *E. repens* bitkisinin filogenetik analizini yapmıştır. Araştırmacı, *E. repens*'in moleküler filogenetik analizi ile elde edilen sonuçların daha önce yapılan sitogenetik çalı malarla uyumlu olduğunu, *E. repens*'in hegzaploid orijinde üç nükleer gen grubunun saptanmasının *E. repens* genomuna üç farklı donörün katıldığını iddia etmiştir.

Szczepaniak ve ark. (2009), klonal büyüme ve seksüel üremenin nisbi önemlerini belirlemek amacıyla, altı *E. repens* popülasyonu ve dört *E. hispidus* popülasyonunda Rastgele Amplifiye Edilmiş Polimorfik DNA (RAPD) yöntemi ile genetik farklılığı incelemiştir. Toplam 12 primerin kullanıldığı çalı malarında yaklaşık 150 RAPD fragmanı amplifiye edilmiş ve incelenmiştir. Verilere dayanarak morfolojik olarak ayırt edilebilen *E. repens* ve *E. hispidus* varyeteleri arasında önemli düzeyde bir genetik farklılık olmadığını ancak *E. repens*'in, *E. hispidus*'a göre biraz daha fazla intra-spesifik genetik polimorfizm gösterdiğini bildirmiştir. Klonal farklılık analizlerine göre *E. repens*'in bir popülasyonunda klonal yapıya farklı kaynaklardan katkı olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar çalı alan iki türe ait popülasyonlar arasında genetik farklılık olduğunu, klonal özelliklerine rağmen *E. repens* ve *E. hispidus*'un üremesinde tohumlar ile yayılmanın önemli bir yeri olduğunu bildirmiştir.

Mahelka ve Kopecky (2010), Orta Avrupadaki doğal dağlık alanından toplanan dört *E. repens* popülasyonunda multi kopya ITS ve tek kopya (granül bağlanış sentetaz I (GBSSI) enzimini kodlayan) DNA bölgelerini genomik ve floresan insitu hibridizasyon

(GISH ve FISH) yöntemleri ile analiz ederek *E. repens*'in allopoliploid orjinini saptamaya çalışılmaktadır. ITS analizlerine göre *E. repens* nrDNA'sında en az dört farklı kaynak olduğu saptanmıştır. Genomun büyük bir kısmını oluşturan *Pseudoroegneria* ve *Hordeum* içinde *Triticeae* türleri dışından kaynaklanan ve *Panicum* (Paniceae) ve *Bromus*'a (Bromaceae) yakın olan yabancı bir genetik materyalin olduğu ortaya koymuştur. GBSSI analizlerinin, ITS sonuçlarını desteklediğini ve *Pseudoroegneria* ve *Hordeum*'un yanı sıra iki ilave gen varyantının varlığını gösterdiğini bildirmiştir. Bir tanesinin *Taeniatherum*'a benzer olduğu ancak diğerinin analiz edilen diploidlerin hiçbirisiyle ilişkili olmadığını saptamıştır. Ara tırmacılar, *Taeniatherum* ve *Bromus* türlerinden gen kazanımının *E. repens*'in allopoloid orjininden daha önce olduğunu ileri sürmüştür.

Elymus repens (L) Gould, *Triticeae* familyasından olup ekmeklik buğday *Triticum aestivum* L. ile uzaktan akrabadır. Zeng. ve ark. (2013), *Fusarium* bakteriyel yanıklı buğdaya dirençli bir kaynak olan *E. repens*'teki bu dirençlilik genlerini *E. repens* (L) Gould'a aktarmak amacıyla çeşitli çaprazlama çalışmaları yapmıştır.

Elymus repens'in genotoksik etkisi ile ilgili herhangi bir çalışma rastlanmadığından, bu çalışma; *Elymus repens* kök ekstraktının insan periferal lenfositlerindeki *in vitro* genotoksik aktivitesi araştırılacaktır. Bu amaçla; *E. repens* kök ekstraktından hazırlanan farklı konsantrasyonlarla muamele edilen insan periferal lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozom anormallik (KA) ve mikronukleus (MN) düzeyleri belirlenecek ve elde edilen veriler kontrol gruplarıyla karşılaştırılacaktır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalı mada Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Steril kabin (Flow Kabin): Hücree kùltürü tüplerine kromozom medyumu konulması, kan ekiminin yapılması, test solüsyonlarının hazırlanması ve hazırlanan solüsyonların kùltür tüplerine steril bir ortamda eklenebilmesi için %99,9 partikül tutma özellikli filtreye sahip, 1500 m³/h emme kapasiteli, sürgülü cam kapaklı, UV ve floresan ampülü olan Labormed marka flow kabin kullanılmı tır.

Buzdolabı: Bosch marka, derin dondurucusu (-20 °C) bulunan, iç sıcaklı ı +4 °C ile +8 °C arası de i tirilebilen buzdolabı kullanılmı tır.

nkübatör: Kan kùltürlerinin 37 °C'de inkübe edilmesi, hazırlanan bazı çözeltilerin 37 °C ve 60 °C'de sabit tutulması a amasında Memmert marka, iç ısısı 20 °C–80 °C arasında ayarlanabilen sıcaklık toleransına sahip inkübatör kullanılmı tır.

Otoklav: Çalı mada kullanılan cam malzemelerin ve mikropipet uçlarının (120 °C'de 20 dk) steril izolasyonu Nüve marka otoklav ile sa lanılmı tır.

Saf su cihazı: Suyu, bünyesinde çözünmü olabilecek iyonlardan ayırıp, kimyasal olarak safla tırmak için, Gesellschaft (GFL) marka saf su cihazı kullanılmı tır.

Soksalet cihazı: *Elymus repens* bitki köklerinin ekstrakt haline gelmesi Termal marka soksalet cihazı ile sa lanılmı tır.

UV kabini: Preparatları ı nılama i lemi sırasında 30 W ve 250 nm dalga boyunda ı ık yayabilen bir ultraviyole lambası olan, Elektromag M 306A marka kabin kullanılmı tır.

Mikroskop: Koordinat cetveli ve immersiyon objektifi olan x4, x10, x100 büyütme özelli ine sahip Olympus marka binoküler ı ık mikroskobu preparatların incelenmesinde kullanılmı tır.

Ph metre: Deneyde kullanılan kimyasal maddelerin Ph de erlerinin ölçülmesinde ve ayarlanmasında Schott marka laboratuvar tipi pH metre kullanılmı tır.

Santrifüj: Çalı malarda rotor çapı 21 cm olan ve 4000 devir/dakikaya kadar yükselebilen Hettich Universal marka, devir hızını ve zamanını ayarlayabildi imiz 28 tüp kapasiteli santrifüj kullanılmı tır.

Hassas terazi: Hava akımlarına karşı özel cam kapaklarla korunan Gec Avery marka terazi, kimyasalların tartılması sırasında kullanılmı tır. 0,1–220 g arasında ölçüm yapabilme özelliğine sahiptir.

Vorteks: Hücre kültüründe homojenitenin sağlanması amacıyla hızı manüel olarak ayarlanabilen Heidolph marka masa tipi vorteks kullanılmı tır.

Kültür tüpleri: Çalışmalarda 12 ml’lik polietilenden yapılmı steril kültür tüpleri kullanılmı tır. Bu tüpler kırmızı vida kapaklı olup alt kısımları koniktir.

Mikropipet: Gilson marka 20–200 µl arası ayarlanabilen mikropipet ve buna uygun sarı renkli steril pipet uçları kullanılmı tır.

Enjektör: Kan örneklerinin alınması amacıyla 5 ml’lik plastik steril enjektörler kullanılmı tır.

Dijital fotoğraf makinası: Foto raflar Olympus marka mikroskopta, (Olympus CX31RTSF, 7,1 Megapixel) dijital fotoğraf makinesi ile çekilmi tır.

Cam malzemeler: Deneylerde; 25x60 mm’lik lamalar ve bunlara uygun lameller, 1 l’lik, 500 ml’lik ve 250 ml’lik erlen, 250 ml’lik beher, 250 ml’lik, 100 ml’lik ve 10 ml’lik mezür, 10 ml’lik cam pipet, cam huni, ayrıca yatık ve dik cam aleler kullanılmı tır.

3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltilerin Hazırlanması

Kromozom Medyumu

Hücre kültürü yapımında PB Max. kromozom medyumu (Gibco, 12552–013) kullanılmı tır. PB Max. kromozom medyumunun içeriği aşağıdaki gibidir:

Non essential Amino Acids	850 ml
Fetal calf serum	50 ml
Heparin	25,000 E
Penicilin G, Sodium Salt	75,000 E
Sterptomycin Sulphate	50 mg
Phytohemagglutinin	2,5 mg

Bu kromozom medyumundan steril kabinde kültür tüplerine 2,5 ml olacak ekilde eklenmi ve deneyde kullanılıncaya kadar tüpler -20 °C'de buzdolabının derin dondurucu kısmında saklanmı tır.

Kol isin (5×10^{-7} M)

Kol isin (Sigma, C-9754), hücre kültürlerinde preparatların hazırlanması a amasında mitotik zehir olarak kullanılmı tır. Kol isin çözeltisi 1 l'lik bir erlende 2,025 g kol isin 500 ml distile su ile karı tırılarak hazırlanmı tır. Hazırlanan solüsyon buzdolabında saklanmı tır. Kültürün 70. saatinde ekimi yapılan kol isin kromozom medyumunun her mililitresinde 0,06 µg/ml olacak ekilde 50 µl/ml olarak eklenmi tir.

5'-Bromo 2'-deoksiüridin (BrdUrd)

BrdUrd, (Sigma, B-5002) karde kromatidlerin farklı boyanmasını sa lamak amacıyla kullanılmı tır. BrdUrd çözeltisi 25 mg BrdUrd, 50 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlanmı tır. Bu çözelti flow kabin içerisinde por çapı 0,2 µm olan bakteri filtresinden (Membran filtre, sartorius) geçirilerek steril edilmi tir. Daha sonra steril tüplere aktarılan BrdUrd çözeltisinin karanlık ortamda muhafaza edilebilmesi için tüplerin etrafı alüminyum folyo ile kapatılmı ve buzdolabına kaldırılmı tır. Hazırlanan bu BrdUrd çözeltisinden 50 µl alınıp kültür tüplerine eklendi inde kültür son konsantrasyonu 10 µg/ml olacak ekilde 50 ml BrdUrd eklenmi tir.

Mitomisin C (MMC)

Mitomisin C (Sigma, M-0503), çalı mamızda pozitif kontrol olarak kullanılmı tır. MMC çözeltisi 2 mg Mitomisin C'yi 30 ml steril distile suda çözerek elde edilmi tir. Hazırlanan bu eriyik Sartorius bakteri filtresi ile steril edildikten sonra +4 °C 'de buzdolabında muhafaza edilmi tir. Mitomisin C kültür tüplerine 0,15 µg/ml olacak ekilde eklenmi tir.

Sitokalsin B

MN testinde, hücre bölünmesi sırasında sitokinezi (stoplazmanın bo umlanarak ayrılması sürecini) engellemek amacıyla kullanılmı tır. Sitokalsin B (Sigma, C-6762) çözeltisi; 6,2 ml etil alkolde 5 mg sitokalsin B çözülerek hazırlanmı tır. Sitokalsin B her bir kültür tüpüne 6 µg/ml olacak ekilde ilave edilmi tir.

Standart Salin Sitrat (SSC) Eriyi i

Stok 5XSSC eri yi ini hazırlamak için; 2,206 g trisodyum sitrat (Sigma-Aldrich, BCBJ1501V) ve 4,383 g NaCl (Merck, K37303004–719) kullanılmı tır. Bu iki madde ayrı kaplarda bir miktar saf su içerisinde çözülmü , daha sonra aynı kaba aktarılarak birbirleriyle karı tırılmı ve üzerlerine 250 ml oluncaya kadar distile su eklenmi tir. Bu çözelti 60 °C’de inkübatörde muhafaza edilmi tir.

KKD’yi incelemek için deney esnasında, bu stoktan 20 ml alınıp üzeri 100 ml oluncaya kadar saf su ile tamamlanarak elde edilen 1XSSC eri yi i kullanılmı tır. Bu çözeltinin kullanım amacı ı nlamadan sonra karde kromatidler arasındaki kontrast farkını olu turmaktır.

Etanol

Bitki ekstaktının çözücüsü ve çözücü kontrol olarak %96’lık etanol (Sigma-Aldric, 62820) kullanılmı tır. Bitki ekstraktından 2 g alınıp 2 ml etil alkol içerisinde çözümlenerek stok solüsyon hazırlanmı tır. Seyreltme i lemi ise stok solüsyondan 1 ml alınıp 9 ml etil alkol ilave edilerek toplam 10 ml olacak ekilde yapılmı tır. Bu i lem 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 ve 1/100000 oranında seyreltilerek çalı ma dozları belirlenmi tir.

Fiksatif

KKD ve KA’yı incelemek amacıyla preparatların hazırlanmasında kullanılan fiksatif, 1/3 oranında glasiyal asetik asit (Sigma-Aldric, 71640) ve metanol (Merck, I653907235) karı tırılıp homojenize edilerek hazırlanmı tır.

MN preparatlarının hazırlanmasında ise; iki farklı fiksatif kullanılmı tır. İlk fiksatif 1 birim glasiyal asetik asit’in 5 birim metanol ile karı tırılıp daha sonra bu karı ma 1:1 oranında %0,9’luk NaCl eklenerek (1 birim glasiyal asetik asit:5 birim metanol:6 birim NaCl) hazırlanmı tır. İkinci fiksatif ise NaCl eklenmeden (1 birim glasiyal asetik asit:5 birim metanol) kullanılmı tır.

Fiksatif deneyde kullanılmadan iki saat önce hazırlanmı ve a zı kapalı cam bir kapta buzdolabında (+4 °C) muhafaza edilmi tir. Kültürlerdeki hücrelerin morfolojik olarak aniden ölmelerini salamak amacıyla fiksatif so uk olarak damlalar halinde eklenmi tir.

Hipotonik Solüsyon

Hipotonik eriyik, %0,4'lük KCl (Merck, K37108236–718) kullanılarak KKD-KA ve MN testleri için ayrı olmak üzere iki farklı şekilde hazırlanmıştır. KKD-KA testi için hipotonik solüsyon 1,397 g KCl 250 ml saf su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. MN testi için ise; 1,860 g KCl 250 ml saf su içerisinde çözülmüştür. Eriyikler ağız kapaklı cam şişelere aktarılarak 37 °C muhafaza edilmiştir. Hipotonik solüsyon her deney için taze hazırlanmıştır ve deney aşamasında 37 °C'de kullanılmıştır.

Entellan

Entellan (Merck, 7961), hazırlanan preparatların bozulmasını engellemek ve daimi hale getirmek için, lam ve lameli birbirine yapıştırmak amacıyla kullanılmıştır.

Nitrik Asit (HNO₃)

Lamları temizlemek amacıyla 1 N HNO₃ (Merck, K40382656–935) çözeltisi kullanılmıştır. 7 ml HNO₃'u 250 ml'ye saf su ile tamamlayarak hazırladığımız HNO₃ çözeltisi plastik şişede ağız kapalı bir şekilde oda sıcaklığında saklanarak her defasında tekrar tekrar kullanılmıştır.

Sorensen Tamponu

Bu tampon, tampon A ve tampon B olmak üzere iki stok çözelti olarak hazırlanmıştır.

Tampon A (pH=4,8); 11,34 g KH₂PO₄ (Sigma, P–5379) 250 ml saf su içinde eritilerek hazırlanmıştır.

Tampon B (pH=9,3); 14,83 g Na₂HPO₄.12H₂O (Sigma, S–7907) 250 ml saf su içinde çözülerek hazırlanmıştır.

Stok tamponlar kapalı kaplarda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

KKD'yi incelemek amacıyla preparatlar Sorensen tamponu içerisinde UV lambası ile ıslandırılmıştır. Sorensen tamponu; 5 ml tampon A, 5 ml tampon B'den alınıp bu karışımın 100 ml'ye distile su ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır (pH=6,8).

Giemsa Boyası (%5'lik)

Giemsa boyası (Merck, 9204), Sorensen A ve B tamponları kullanılarak hazırlanmıştır. Giemsa boyası 8 ml tampon A, 8 ml tampon B ve 8 ml giemsa boyası 160 ml'ye saf su ile tamamlanarak hazırlanmıştır. Hazırlanan boya yüzeyinde bulunan ya partiküllerinden arındırmak için filtre kağıdından geçirildikten sonra kullanılmış ve her seferinde taze olarak hazırlanmıştır.

3.3. Lamların Temizlenmesi

Kültür süresinin bitiminden 48 saat önce etiketli olan lamlar aleye dik bir şekilde dizilmiş ve lamların üzerini iyice örtecek şekilde 1N HNO₃ çözeltisi eklenmiştir. Lamların ağızları kapatılarak 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda lamlar, 30 dk boyunca akan çamaşır suyuyla iyice yıkanmış, 3-4 defa distile suda geçirildikten sonra ale distile su ile doldurularak buzdolabına kaldırılmıştır.

3.4. *Elymus repens* Ekstraktının Hazırlanması ve Çalınma Konsantrasyonlarının

Belirlenmesi

Elymus repens bitkisi Kahramanmaraş ilinin Pazarcık ilçesinin Narlı Beldesinden toplanmıştır. Bitkinin kök kısmı yapraklarından ayrılmış, kök toprak kalıntılarında arındırılmış, parçalanmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan kök parçalarından 20 g alınıp 150 ml etanol içerisinde Soxhlet cihazına yerleştirilmiş ve 24 saat süre ile ekstraksiyona tâbi tutulmuştur. Elde edilen ekstrakt döner buharla tırcıda (Rotary evaporator) 30 °C'de buharla tırcılmıştır.

Elymus repens'in çalınma konsantrasyonlarını tespit etmek için yapılan ön çalınmalarda bitki köklerinin sitotoksik etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. Sitotoksik olmayan maddeler için kullanılacak en yüksek doz ise 5000 µg/ml'dir (Madle ve ark. 1993). Yapılan ön çalınma test maddemizin mitotik indeksi %50 oranında düştüğü saptanmış ve buna göre Ld 50 dozu belirlenmiştir (0,16 µg/ml). En yüksek konsantrasyondaki test maddesi; bitki ekstraktından 2 g alınıp 2 ml etil alkolde çözülerek hazırlanmış ve daha sonra azalan katları eklendiği dozlar (0,32; 0,65 ve 1,30 µg/ml) hazırlanmıştır. Hazırlanan bu dozlar stok solüsyonun tekrar seyreltilerek (1 ml ekstrakt 9 ml etanol) deneyde kullanılacak dozlar oluşturulmuştur. Çözelti filtre kağıdından geçirilerek steril edilmiştir.

3.5. Kan Örneklerinin Alınması

Sigara içmeyen, alkol almayan, kalıtsal bir hastalığı bulunmayan, kronik rahatsızlığı ve devamlı kullanması gereken bir ilacı olmayan, sağlıklı, yaşları birbirine yakın iki erkek (18-22) ve iki bayandan (18-22), steril plastik enjektörler aracılığıyla 5 ml intravenöz kan örneği alınmıştır. Kan örnekleri 1/10 oranında heparinize edildikten sonra kullanılmıştır.

3.6. Hücre Kültürlerinin Yapılması

3.6.1. KKD ve KA Testi için Hücre Kültürünün Yapılması

Bu çalışmada hücre kültürünün yapılması ve preparatların hazırlanması KKD ve KA analizleri için Evans (1984), Perry ve Thompson'un (1984) metodlarına uygun gerçekleştirilmiştir.

Steril tüpelerde 1/10 oranında heparinize edilmiş periferik kan örneklerinden, 6' ar damla 2,5 ml'lik kromozom medyumunu içeren tüplere ekilmiştir. Ardından steril tüpelerde önceden hazırlanan BrdUrd eriyiğinden her tüpe 50 µg/ml olacak şekilde eklenip homojen olması için vorteksle karıştırılmıştır. Hücre kültürleri 37 °C'de inkübatörde 72 saat inkübe edilmiştir.

Elymus repens bitkisinin etkisini incelemek için kültür süresinin bitiminden 24 ve 48 önce bitki ekstraktından 0,16; 0,32; 0,65 ve 1,30 µg/ml'lik dozlarda kültür tüplerine ekim yapılmıştır. Ayrıca 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde çözücü kontrol olarak etil alkol, pozitif kontrol olarak MMC kullanılmıştır. MMC tüplere son konsantrasyonu 0,15 µg/ml olacak şekilde ekilmiştir. Kültür süresinin bitiminden 2 saat önce (yani kültürün 70. saatinde) her tüpe kolisin eriyiğinden 50 µl ilave edilmiş ve tüpler avuç içinde hafifçe sallanarak iyice karıştırılmıştır. Hücreler 37 °C'de 2 saat kolisin ile muameleye tâbi tutulmuştur.

Kültür süresi sonunda tüpler 1300 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş, tüplerin üst bölgesine çıkan süpernatant kısımlar atılmıştır. Dipte kalan ve hücrelerin bulunduğu 0,5–0,7 ml'lik sıvı iyice homojen edildikten sonra tüplere, etüvde 37 °C'de bulunan hipotonik eriyik damlalar halinde ilave edilmiş ve pipetaj yoluyla homojenize edilmiştir. Her tüpe 10 ml hipotonik eriyik ilave edildikten sonra tüpler, ağız kapatılarak inkübatöre konulmuştur. Hücreler 10 dk hipotonik eriyik ile 37 °C'de muamele edilmiştir. Bu sürenin sonunda tüpler 37 °C'den çıkarılıp kapakları açık şekilde 10 dk 1300 rpm'de santrifüj edilerek

süpernatant atılmı tır. Daha sonra her tüpe yava yava ve karı tırarak 10 ml olacak ekilde so uk fiksatif ilave edilmi tir. Fiksasyon i lemi sırasında pipetlerin içerisine solüsyon çekilmemesine dikkat edilmi tir. Oda sıcaklı ında 20 dk fiksatif ile muamele edilen hücreler 1300 rpm'de 10 dk santrifüj edilmi ve süpernatant atıldıktan sonra tüplere tekrar fiksatif ilave edilmi tir. Bu i lem en az 3 kez tekrarlanmı tır. Üçüncü kez fiksatif muamelesinin sonunda tüpte kalan sıvının tamamen berrakla tı ı görülmü tür. Son santrifüjden sonra dipte 0,5–0,7 ml sıvı kalacak ekilde süpernatant kısım atıldıktan sonra preparat yapma i lemine geçilmi tir.

Tüpün dibinde bulunan hücreler pasteur pipeti ile karı tırılarak homojen hale getirildikten sonra pasteur pipetine çekilmi tir. Özel olarak hazırlanmı , statif düzene e tutturulan pasteur pipetinden daha önce temizlenmi ve saf su içerisinde buzdolabında bekleyen lamaların üzerine yakla ık 50 cm yükseklikten farklı alanlara birer damla olmak üzere hücre süspansiyonu damlatılarak hücrelerin ve dolayısıyla kromozomların lam üzerinde yayılması sa lanmı tır. Bu ekilde hazırlanan preparatlar kurumak üzere, üzerleri kapatılarak 24 saat oda sıcaklı ında bekletilmi tir.

3.6.2. MN Analizi için Hücre Kültürünün Yapılması

Mikronukleus analizi için Rothfuss ve ark.'nın (2000) geli tirdikleri yöntem modifiye edilerek kullanılmı tır.

Heparinize edilmi (1/10) kan örneklerinden steril artlarda enjektör yardımıyla 6 damla (0,2 ml) kromozom medyumlarına ekilmi ve hücreler 37 °C'de 72 saat inkübe edilmi tir. Çalı mada kullanılan bitkinin (*Elymus repens*) etkisini belirlemek için kültürün ba langıcından 24 ve 48 saat sonra kültür tüplerine son konsantrasyonları 0,16; 0,32; 0,65 ve 1,30 µg/ml olacak ekilde *Elymus repens* kök ekstraktı eklenmi tir. Her deney için bir negatif kontrol bir pozitif kontrol (MMC) ve bir de çözücü kontrol (*E. repens* eskraktının çözüldü ü etil alkol) hazırlanmı tır.

nkübasyonun ba langıcından 44 saat sonra her tüpe konsantrasyonu 6 µg/ml olacak ekilde sitokalsin-B çözültisi ilave edilmi ve böylece bölünen hücrelerde sitokinez engellenmi tir. nkübasyonun sonunda, kültür tüpleri 1300 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant kısımları atılmı tır. Hipotonik eriyik, kültür tüplerine yava yava ve pipetaj yapılarak ilave edilip, oda sıcaklı ında 14 dk bekletilmi tir. Ardından kültür tüpleri 1300 rpm'de 10 dk santrifüj edilmi ve süpernatant atılarak ilk fiksatif (1:5:6 glasiyal asetik asit: metanol: %0,9 NaCl) ilave edilmi tir. İk fiksatif ile oda sıcaklı ında 15 dk muameleden sonra 1300 rpm'de 10 dk santrifüj edilen

tüplere bu kez glasiyal asetik asit:metanol (1:5) karışımından oluşan fiksatif ilave edilerek 10 dk oda sıcaklığında fiksatif muamelesi yapılmıştır. Bu fiksatif muamelesi iki kez daha tekrarlanmıştır. Santrifüj sonrası tüplerdeki süpernatant atılmış ve kültür tüplerinin dibinde toplanmış olan hücreler resüspanse edilmiştir. Daha sonra, hücre süspansiyonundan sonra su ve temiz lamalar üzerine 10 cm yükseklikten farklı alanlara olmak üzere 3–4 damla damlatılmış ve preparatlar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

3.7. Preparatların Boyanması

3.7.1. KA ve MN Testi için Preparatların Boyanması

KA analizi için; kuruyan preparatlar cam kalemler içerisinde %5'lik Giemsa boyası ile 20 dk boyanmıştır. Boya fazlasının akması için ayrı ayrı kaplardaki distile sudan geçirilen preparatlar dik bir şekilde oda sıcaklığında üzerleri kapalı olarak kurumaya bırakılmıştır.

3.7.2. KKD Testi için Preparatların Boyanması

KKD analizi için bir kromozoma ait kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını sağlamak amacıyla Speit ve Haupter'in (1985) geliştirdikleri yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla kuruyan preparatları inlama kabına konarak üzeri bir film eklede Sorensen tamponu ile örtülerek kapatılmıştır. İnleme çözeltisinin az ya da fazla olmasının kardeş kromatidler arasındaki kontrast farkını önemli derecede etkilediği saptanmıştır. Preparatlar UV kabininde karanlıkta 15 cm yükseklikten 30 W'luk 254 nm dalga boyunda ışık yayma özelliğine sahip ultraviyole lambası ile 30 dk ışıklandırılmıştır. İnleme sonrası preparatlar 1xSSC çözeltisinde 60 °C'de 60 dk inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresinin sonunda preparatlar 1xSSC çözeltisinden alınarak ardından %5'lik giemsa boyasının içerisine konmuş ve yaklaşık olarak 30 dk boya içerisinde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda preparatlar boyadan çıkarılmış ve üç ayrı kaptaki distile sudan geçirilerek preparatların üzerindeki fazla boyadan kurtulması sağlanmıştır. Bu işlemden sonra preparatlar dik vaziyette kurumaya bırakılmıştır.

3.8. Daimi Preparatların Hazırlanması

Boyama işleminden sonra oda sıcaklığında kuruyan preparatlar entellan yardımı ile lamel ile kapatılarak daimi hale getirilmiştir.

3.9. Daimi Preparatlarda Mikroskobik İncelemeler

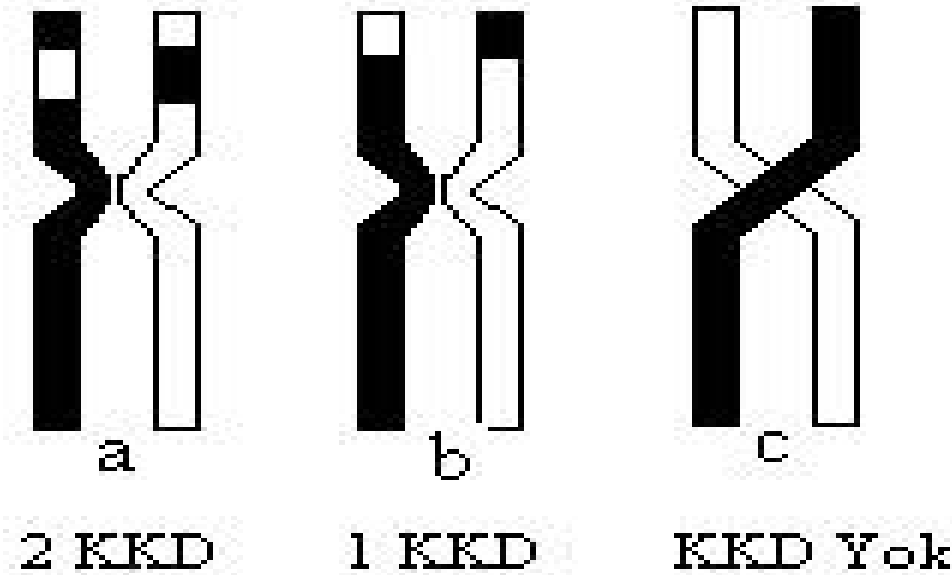
3.9.1. KKD/Hücre Sayısının ve Proliferasyon İndeksinin (PI) Saptanması

KKD analizi için hazırlanmış preparatlar binoküler ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile 10X100=1000 büyütmede incelenmiştir.

KKD sayısı, her iki ve farklı dozlara ait preparatlardan kromozomları iyi dağılmış ve ikinci mitozu geçiren 25 hücrede (her doz için 4 kilden toplam 100 hücrede) saptanmıştır. KKD sayısı bir kromozomun açık boyanmış kromatidindeki koyu boyanmış parçaların veya koyu boyanmış kromatidindeki açık boyanmış parçaların sayılmasıyla belirlenmiştir (Topakta ve Speit, 1990). Ortadan bir parça deşimi olması ise bu iki KKD olarak değerlendirilmiştir (ekil 3.2.a). Uçtan parça deşimi olması ise bu da bir KKD olarak değerlendirilmiştir (ekil 3.2.b). Kromatidler birincil bölümlerinden dönüşüm yapmış ise KKD yoktur (ekil 3.2.c).

$$\%KKD = \frac{X}{25}$$

X: İncelenen 25 mitoz iki hücrenin toplam kardeş kromatid deşimi.



ekil 3.1. a. iki kardeş kromatid deşimi, b. Bir kardeş kromatid deşimi c. Kardeş kromatid deşimi olmayan durumların metafazik görünümü (Topakta ve Speit, 1990).

PI deneyi; *Elymus repens* kök ekstraktının DNA replikasyonu üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla bulunmuştur. Bunun için her iki iye ait preparatlardan rastgele seçilen 100 hücre incelenmiştir. Bu incelemelerde gözlenen birinci, ikinci ve üçüncü mitoz

bölünmeyi geçiren hücreler sayılmıştır. Bu verilerden yola çıkılarak her bir kromozomun kan kültüründeki PI değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$PI = \frac{1 \times (M1) + 2 \times (M2) + 3 \times (M3)}{100}$$

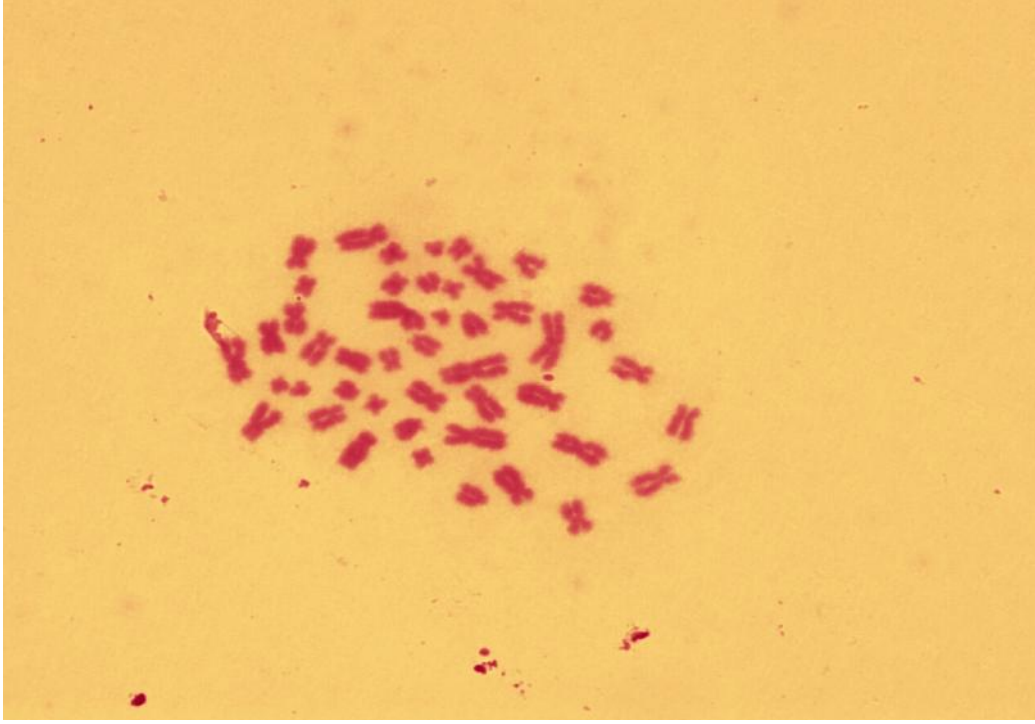
Bu formülde;

M1: Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin sayısı

M2: İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin sayısı

M3: Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin sayısı

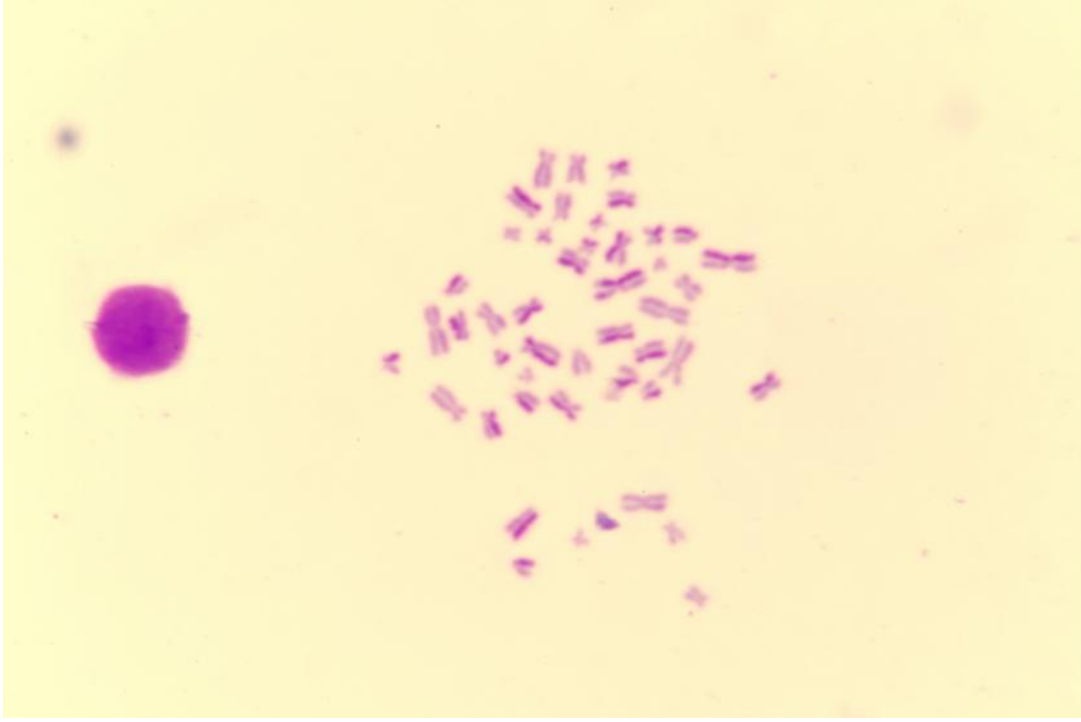
Birinci, ikinci ve üçüncü metafaz plakları Topakta ve Speit'e (1990) göre belirlenmiştir. DNA'nın yapısında bulunan timin bazlarının anololu olan BrdUrd kültür ortamına eklendiğinde hücreler birinci S fazında DNA'larını replike ettikleri esnada yeni sentezlenen polinukleotid ipliğine timinin yerine ortamda bulunan BrdUrd girecektir. Hücrelerin kromozomları boyandıığında bir kromozomun her iki kromatidi de (BrdUrd/dT: dT/BrdUrd) homojen koyu renkte boyanacaktır. Bu hücreler birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (ekil 3.2). BrdUrd'li ortamda ikinci S fazını geçiren hücreler metafaz devresinde kromozomlar boyandıığında tüm kromozomların kromatidlerinden birisi açıktır, diğeri ise koyu renkte boyanacaktır (BrdUrd/dT : BrdUrd/BrdUrd). Bunlar da ikinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (ekil 3.3). Bu hücreler tekrar S fazına girdiğinde ve hücrelerden metafaz devresinde preparat yapıldığında bazı kromozomların her iki kromatidi açık renkte, bazı kromozomların bir kromatidi açık diğerkromatidi koyu renkte boyanacaktır. Bu hücreler de üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (ekil 3.4).



ekil 3.2. Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar (0,32 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



ekil 3.3. İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar (0,32 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



ekil 3.4. Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar (0,32 µg/ml *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).

3.9.2. Kromozom Anormallikleri (KA Hücre) ve Mitotik İndeksin (MI) Saptanması

KA analizi için hazırlanan preparatlar binoküler ışık mikroskopunda immersiyon objektifi kullanılarak X1000 büyütmede incelenmiştir.

KA'yı belirlemek amacıyla her bir kiyeye ait preparatlardan iyi da ılmış kromozomlara sahip toplam 100 hücre (dört kiyeden toplam 400 hücre) değerlendirilmiştir. Bu incelemelerde gözlenen kromatid kırığı (B'), kromozom kırığı (B''), kardeş kromatid birleşmesi (SU), kromozom de i imi (CE), fragment (F), disentrik (DS) kromozom gibi yapısal anormallikler ve poliploidi (P) gibi sayısal anormallikler kaydedilmiştir. İncelenen bu 100 hücre içerisinde gözlenen toplam KA sayısı belirlenmiştir ve bu sayı incelenen hücre sayısına bölünerek hücre başına düşen KA sayısı (KA/Hücre) saptanmıştır. KA'lı hücrelerin toplam incelenen hücreler (100 hücre) içerisindeki oranları hesaplanarak anormal hücre yüzdesi (%AH) belirlenmiştir.

Bu çalışmada Gap'lar anormallik olarak değerlendirilmemiştir (Mace ve ark. 1978). Gap'lar ile kromatid ve kromozom tipi kırıkları arasındaki farklar bu şekilde ayırt edilmiştir (Preston, 1987'e göre; Kauderer ve ark. 1990'dan): Kırıklarda bir kromatiddeki (kromatid tipi kırık) veya her iki kromatiddeki (kromozom tipi kırık) boyanmamış bölge bir kromatidin kalınlığından daha fazladır. Gap'larda, kromatidin birinde (kromatid tipi

gap) veya kromatidin her ikisinde (kromozom tipi gap) görülen boyanmamı bölge bir kromatidin kalınlı ından daha azdır. Bu ölçülere göre kromatid kırıkları ve gap birbirinden ayırt edilmi tir.

Elymus repens kök ekstraktının mitoz bölünme üzerindeki etkilerini saptamak için MI de eri hesaplanmı tir. MI'i belirlemek için her bir ki iye ait preparatlarda toplam 3000 hücre incelenmi tir. Bunlar arasında metafaz plaklarının sayısı kaydedilmi tir. 3000 hücre içinde metafaz plaklarının oranı yüzde cinsinden hesaplanarak MI saptanmı tir.

3.9.3. Mikronukleus Sayısının Saptanması

MN testi için hazırlanan daimi preparatlar binoküler ık mikroskopunda 10X40=400 büyüklü ünde incelenmi tir. Mikronukleus sayısını belirlemek amacıyla her bir bireye ait daimi preparatlarda iki nukleusa sahip (binukleer) toplam 1000 hücre incelenmi ve bu hücrelerdeki toplam mikronukleus sayısı belirlenerek mikronukleus oranı (% MN) saptanmı tir. Ayrıca incelenen bu 1000 binukleer hücreler arasında mikronukleus içeren hücrelerin sayısı belirlenmi ve mikronukleuslu binukleer hücre oranı (% BNMN) hesaplanmı tir.

Binukleer hücre ve mikronukleus ayırımı Titenko-Holland ve ark. (1997) ve Fenech (2000)'e göre yapılmı tir: MN'ların ana nukleustan açık bir eki, lde ayrılma olmasına, ana nukleus gibi boyanma olmalarına dikkat edilmi ve ana nukleusların 1/3'ü kadar veya daha küçük olduklarında de erlendirmeye alınmı tir.

NBI'nin hesaplanması kimyasal maddenin veya fiziksel bir etkenin sitotoksik etkisini göstermede önemli bilgiler sa lar (Fenech, 1997). Bu nedenle, MN preparatlarında nukleus bölünme indeksini belirlemek için rastgele seçilmi alanlarda bir (ekil 3.5), iki (ekil 3.6), üç (ekil, 3.7), dört nukleuslu (ekil 3.8) ve mikro nukleuslu (ekil 3.9) toplam 1000 hücre (4 ki ide toplam 4000 hücre) incelenmi tir. Nukleer bölünme indeksi (NBI) Eastmond ve Tucker (1989) tarafından önerilen formüle göre hesaplanmı tir:

$$NBI = (1 \times MI + 2 \times MII + 3 \times MIII + 4 \times MIV) / N$$

Bu formüle göre;

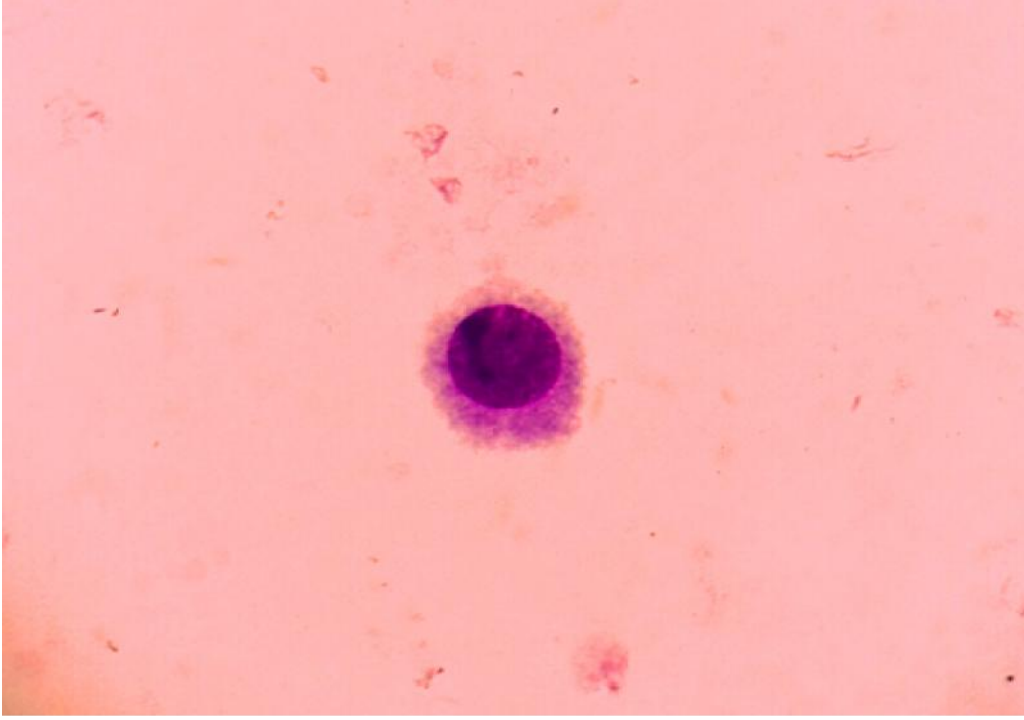
MI : Bir nukleuslu hücrelerin sayısı

MII : ki nukleuslu hücrelerin sayısı

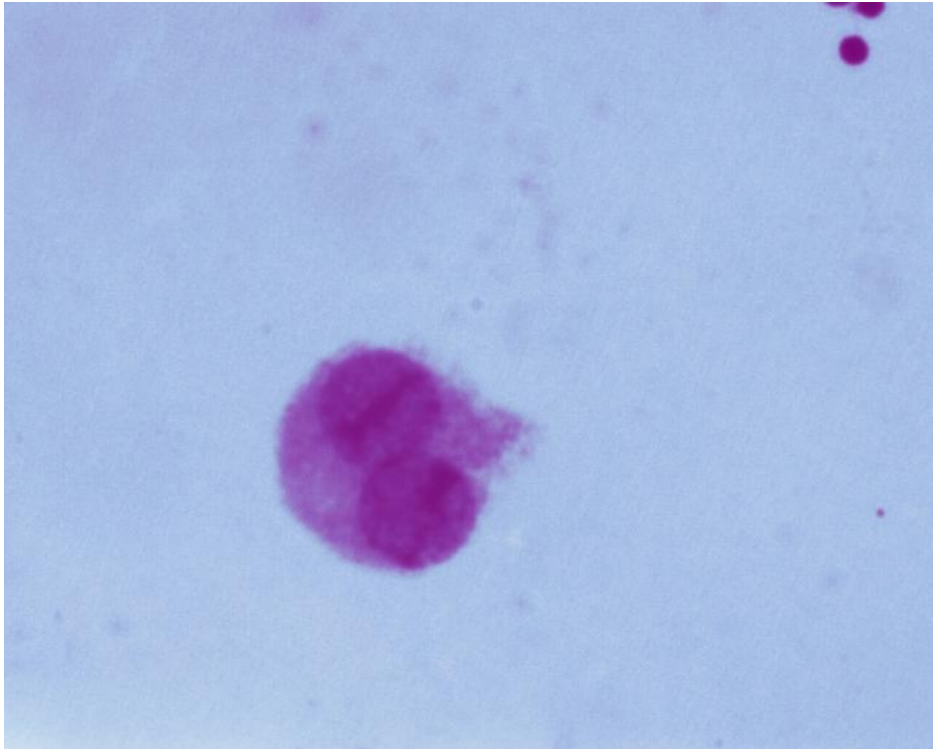
MIII : Üç nukleuslu hücrelerin sayısı

MIV : Dört nukleuslu hücrelerin sayısı

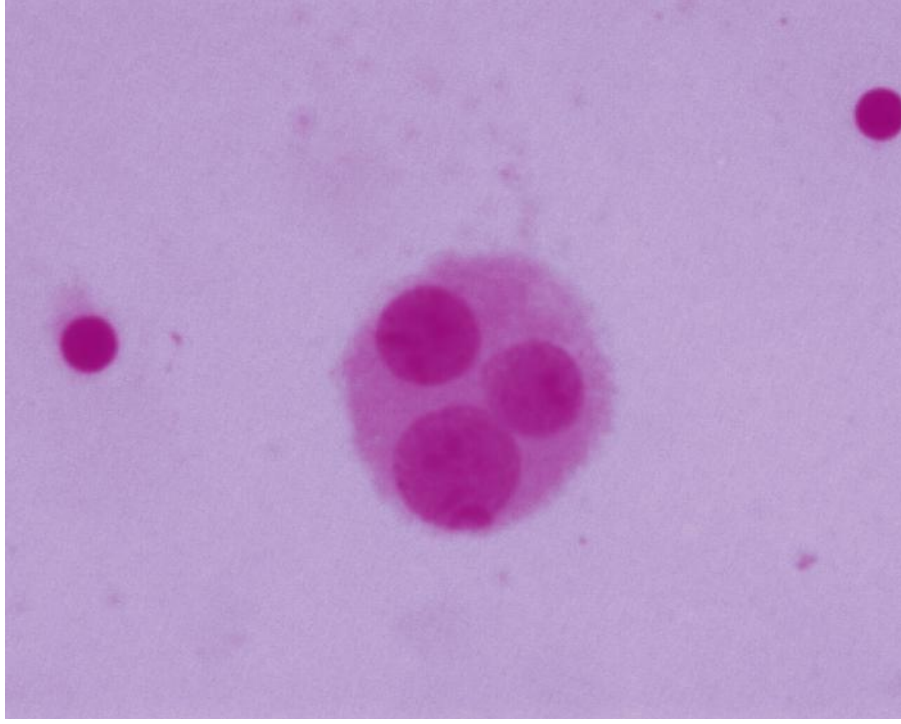
N : Toplam hücre sayısını ifade etmektedir.



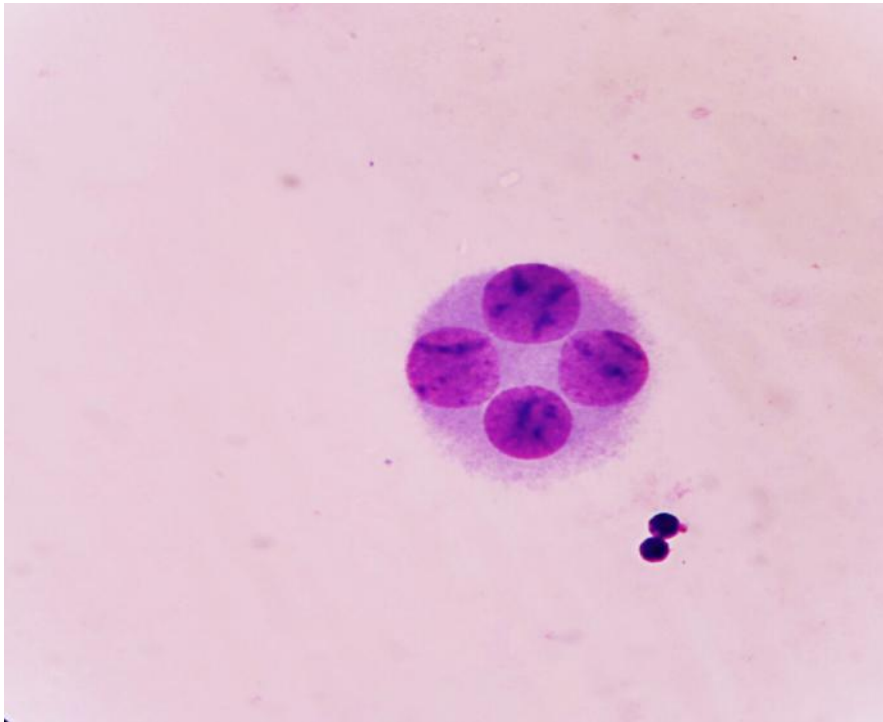
ekil 3.5. Bir nukleuslu hücre (1,30 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



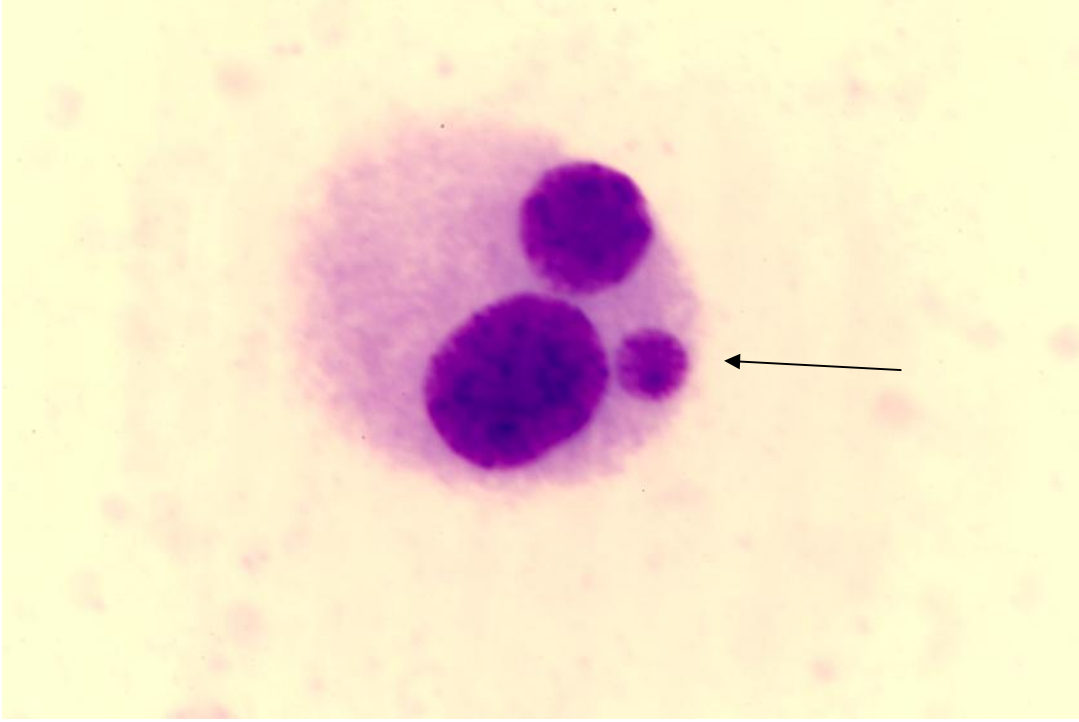
ekil 3.6. ki nukleuslu hücre (1,30 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



ekil 3.7. Üç nukleuslu hücre (1,30 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



ekil 3.8. Dört nukleuslu hücre (1,30 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



ekil 3.9. Mikro nukleuslu hücre (1,30 µg/ml *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).

3.10. Mikroskopta Foto raf Çekme

Foto raf çekme i lemi Olympus marka mikroskoba ba lı dijital foto raf makinesi kullanılarak 1000 büyütmede yapılmı tır. Birinci, ikinci ve üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin, sık rastlanan KA'lara ait örneklerin, binukleer hücrelerden mikronukleusa sahip olanların ve bir, iki, üç ve dört nukleuslu hücrelerin foto rafları çekilmi tir.

3.11. statiksel Analiz ve Sonuçların De erlendirilmesi

Mikroskobik incelemeler sonucunda elde edilen KKD, PI, KA, AH, MI, MN, BNMN ve NBI parametrelerine ait veriler için her bir muamele grubu ortalamaları ve kontrol kültürlerinin ortalamaları arasındaki farkın önemli olup olmadı ı t-testi ile kontrol edilmi tir. Verilerin istatistiksel analizi SPSS (17,0) paket programı kullanılarak yapılmı tır.

4. BULGULAR VE TARTI MA

Elymus repens kök ekstraktından hazırlanan dört farklı konsantrasyon (0,16; 0,32; 0,65; 1,30 µg/ml) ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferal lenfositlerinde saptanan karde kromatid de i imi (KKD) frekansı ve proliferasyon indeksi (PI) de erleri Çizelge 4.1’de, gözlenen kromozom anormallikleri, hücre ba ına dü en kromozomal anormallik (KA/Hücre) oranı, anormal hücre (AH) yüzdesi ve mitotik indeks (MI) de erleri Çizelge 4.2’de, mikronukleus (MN) frekansı, mikronukleuslu binukleer hücre (BNMN) oranı ve nukleer bölünme indeksi (NBI) de erleri ise Çizelge 4.3’de görülmektedir.

Veriler kar ıla tırıldı ında *Elymus repens* kök ekstraktı ile 24 ve 48 saatlik muamele süresinde tüm dozlarda karde kromatid de i imi frekansında kontrole göre bir artı oldu u gözlenmi tir. Ancak bu artı ın önemli düzeyde olmadığı saptanmıştır (p>0.05) (Çizelge 4.1). Benzer ekilde veriler proliferasyon indeksi açısından de erlendirildi inde *Elymus repens* kök ekstraktı ile 24 ve 48 saatlik muamele sonucunda tüm dozlarda PI de erinde kontrole göre gözlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemli düzeyde de ildir (p>0.05).

Çizelge 4.1. *Elymus repens* kök ekstraktından hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde kardeş kromatid de i imi (KKD) ve proliferasyon indeksi (PI).

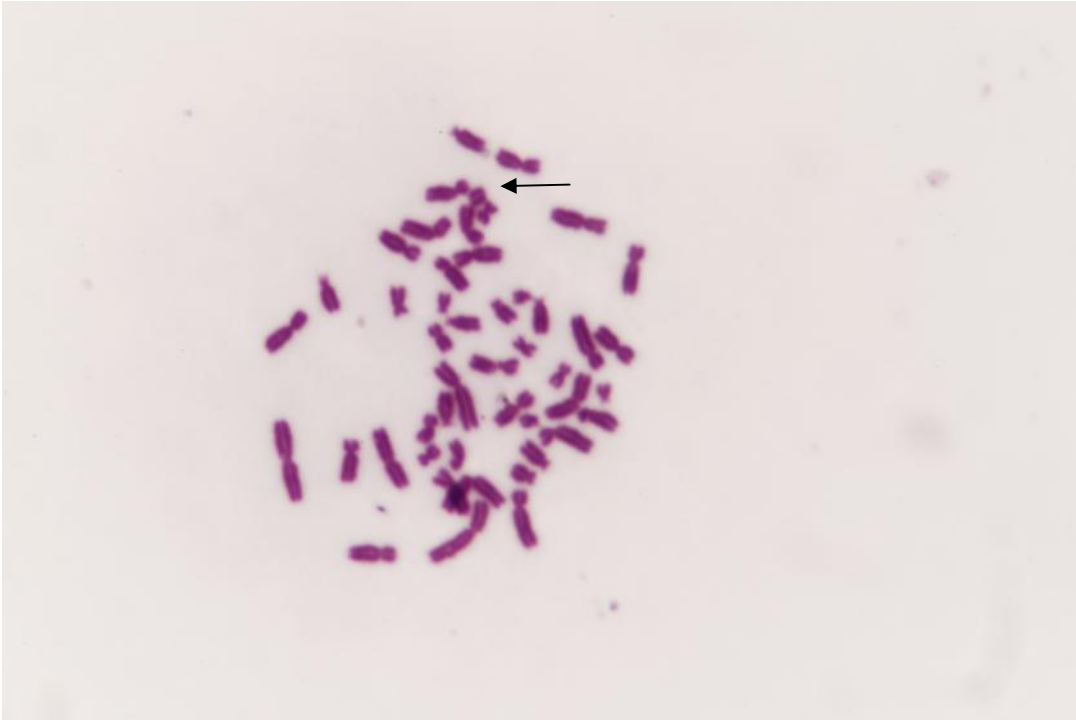
Test maddesi	Muamele		KKD±SD	PI±SD
	Süre (s)	Doz (µg/ml)		
K (-)^a	24	0,00	1,56±1,17	2,33±0,15
K (+)^b		0,10	25,13±0,64	1,29±0,14
Çözücü K^c		0,10	1,94±0,06	2,33±0,08
<i>E. repens</i>		0,16	1,72±0,21	2,26±0,08
		0,32	1,82±0,21	2,32±0,10
		0,65	1,44±0,26	2,32±0,05
		1,30	1,66±0,13	2,36±0,05
K (-)	48	0,00	1,56±1,17	2,33±0,15
K (+)		0,10	42,95±1,39	1,23±0,08
Çözücü K		0,10	1,72±0,27	2,26±0,04
<i>E. repens</i>		0,16	1,65±0,22	2,30±0,15
		0,32	1,63±0,41	2,37±0,08
		0,65	1,69±0,30	2,40±0,16
		1,30	1,89±0,22	2,28±0,06

^a: Negatif kontrol

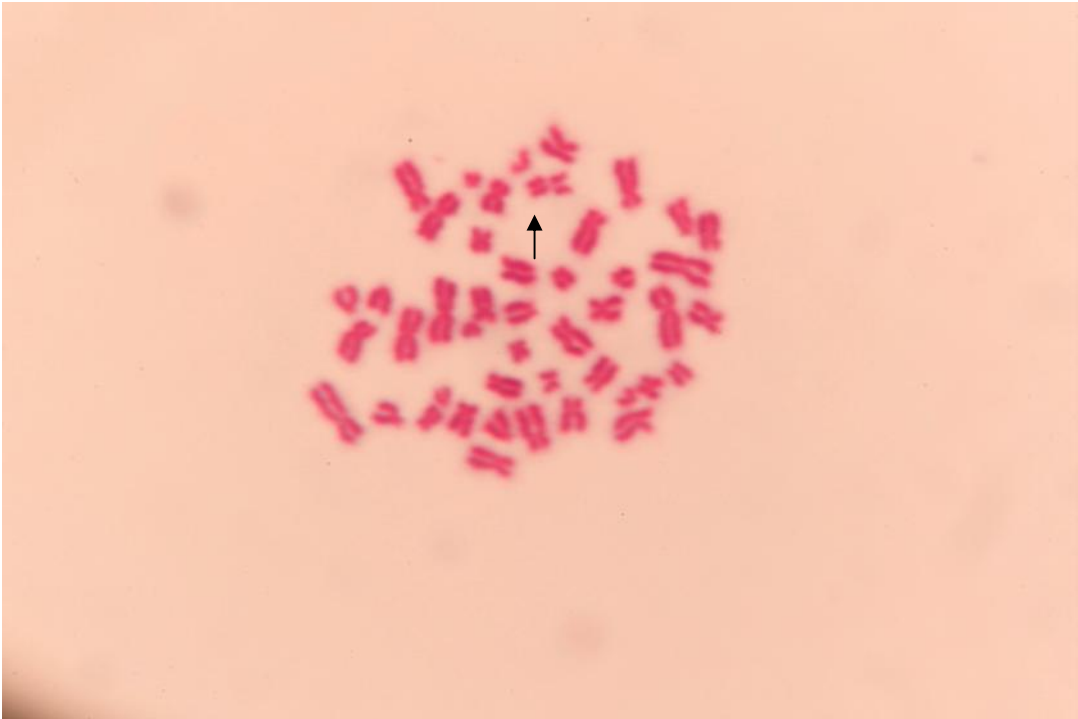
^b: Pozitif kontrol, Mitomisin C

^c: Çözücü Kontrol, Etil alkol

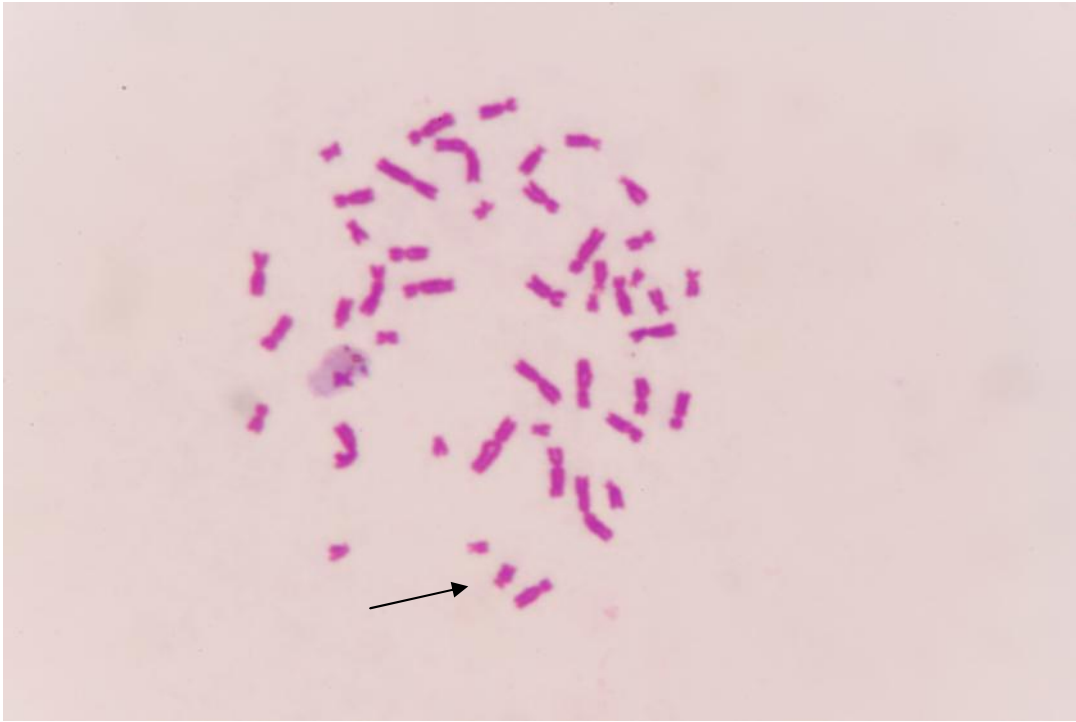
Çizelge 4.2'de görüldü ü gibi bu çalı mada gözlenen kromozomal anormallikler; kromatid kırılı m (ekil 4.1), kromozom kırılı m (ekil 4.2), fragment (ekil 4.3), kardeş kromatidlerin birleşmesi (ekil 4.4), disentrik kromozom (ekil 4.5), kromatid de i imi (ekil 4.6) ve poliploididir (ekil 4.7).



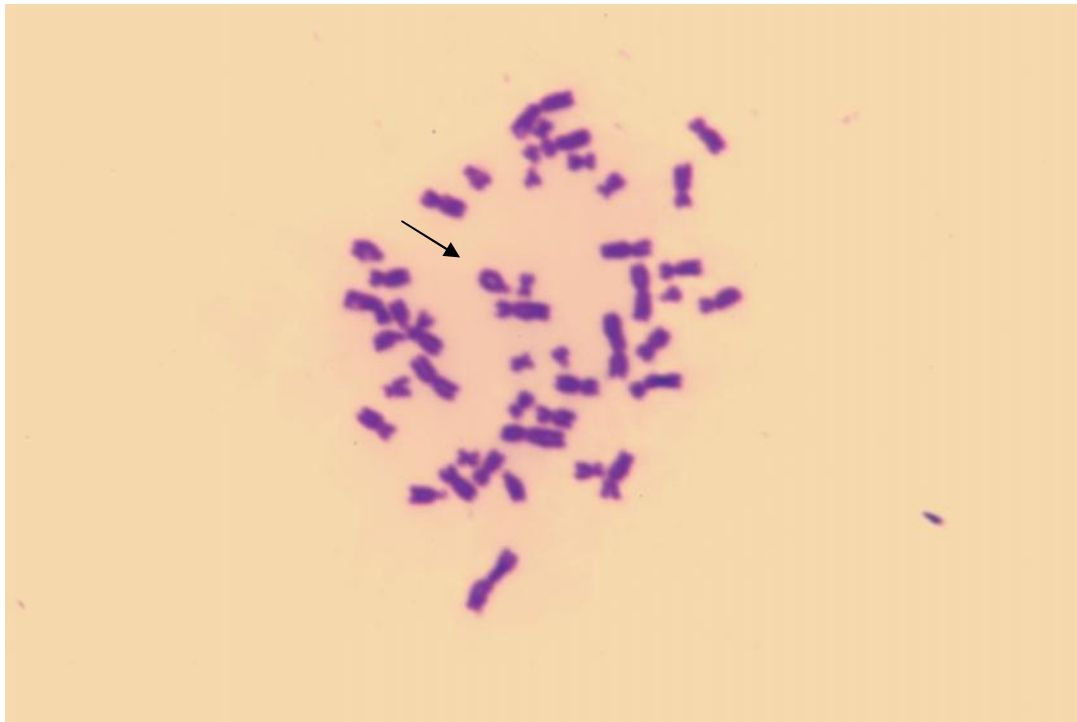
ekil 4.1. Kromatid kırını (B') bulunan metafaz plakanı (0,32 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



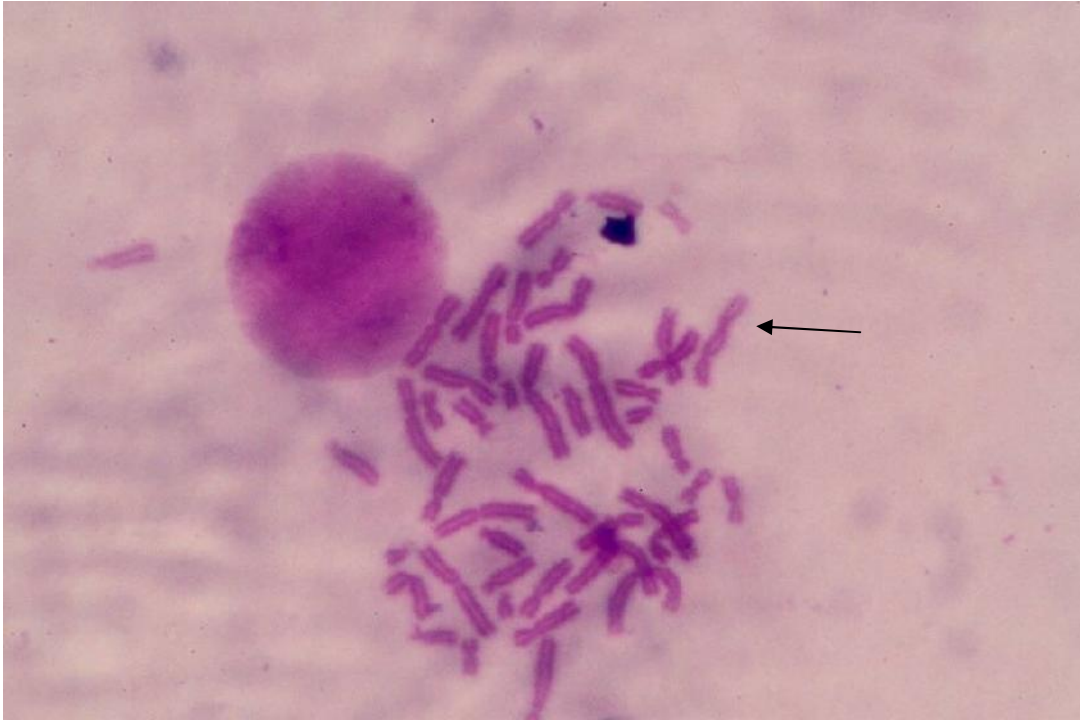
ekil 4.2. Kromozom kırını (B'') bulunan metafaz plakanı (1,30 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



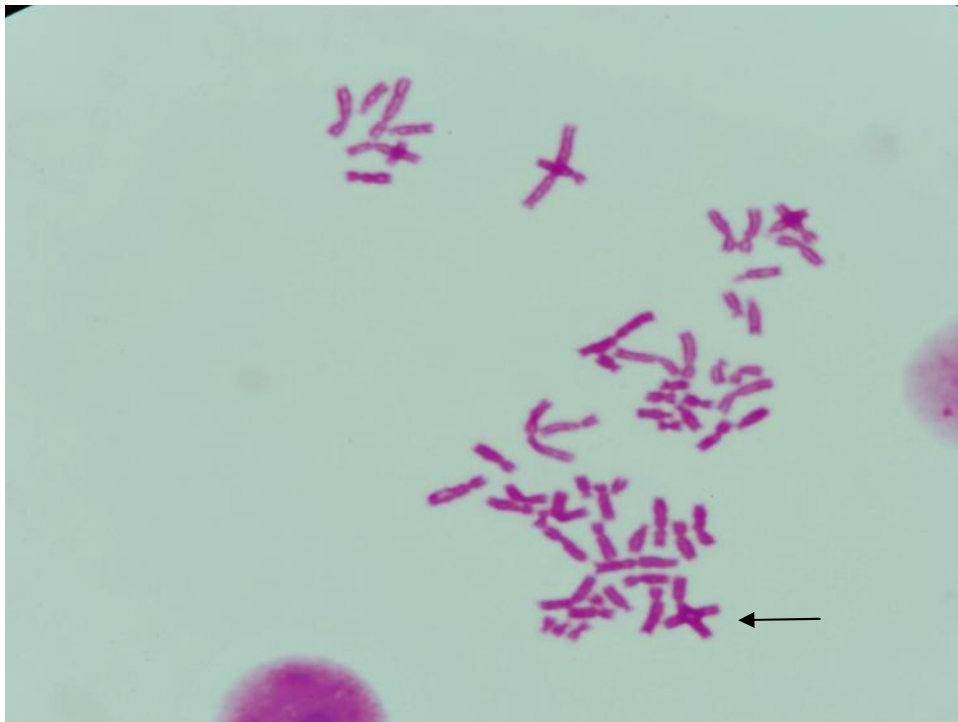
ekil 4.3. Fragment (F) bulunan metafaz pla ı (0,32 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 24 saatlik muamele, , X1000).



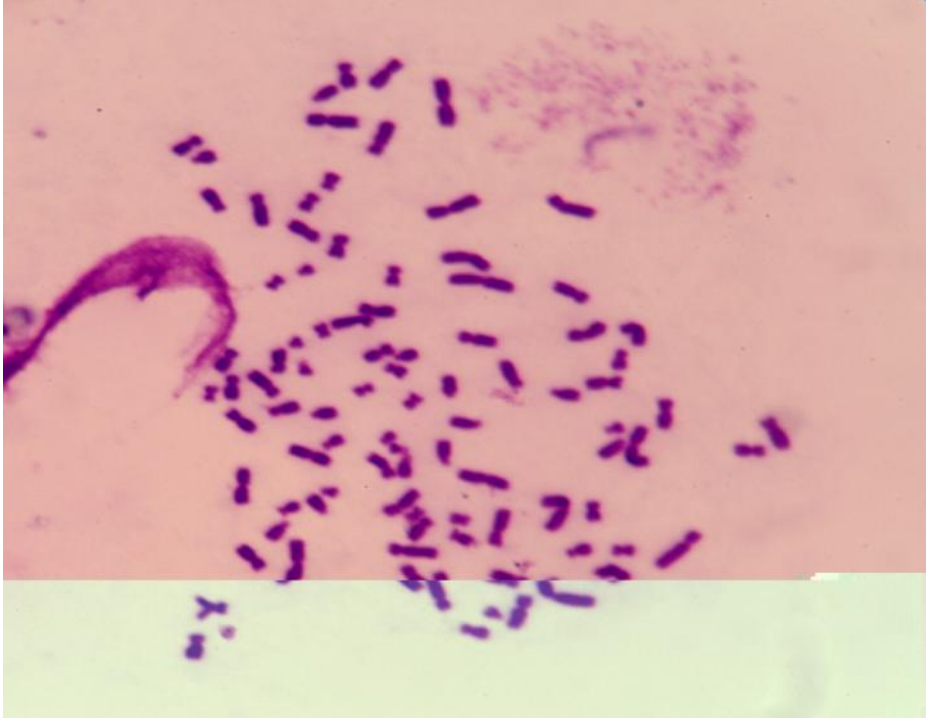
ekil 4.4 Karde kromatid birle mesi (SU) bulunan metafaz pla ı (0,32 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



ekil 4.5. Disentrik kromozom (DS) bulunan metafaz pla ı (0,16 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



ekil 4.6. Kromatid de i imi (CE) bulunan metafaz pla ı (0,65 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 48 saatlik muamele, , X1000).



ekil 4.7. Poliploidi (P) bulunan metafaz plâ ı (0,32 $\mu\text{g/ml}$ *E. repens* ekstraktı, 24 saatlik muamele, , X1000).

Çizelge 4.2. *Elymus repens* kök ekstraktından hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde hücre başına düşen anormallik oranı (KA/hücre), kromozom anormallik tipleri, anormal hücre (AH) yüzdesi ve mitotik indeks (MI).

Test maddesi	Muamele		KA/Hücre±SD	Kromozom Anormallikleri ^a							AH±SD (%)	MI±SD
	Süre (s)	Doz (µg/ml)		B'	B''	F	SU	DS	CE	P		
K (-) ^b	24	0,0	0,05±0,01	16	0	1	1	0	0	0	4,25±0,95	0,03±0,00
K (+) ^c		0,1	0,31±0,03	53	35	10	11	5	4	6	28,75±2,21	0,01±0,00
Çöz. K ^d		0,10	0,04±0,04	8	3	2	1	0	0	1	3,75±4,19	0,03±0,00
<i>E. rep.</i>		0,16	0,07±0,04	24	0	0	4	0	0	0	6,50±3,10	0,02±0,00
		0,32	0,07±0,03	24	0	1	1	0	1	2	6,25±2,62	0,02±0,00
		0,65	0,06±0,01	20	0	1	1	0	1	0	5,75±2,87	0,02±0,00
		1,30	0,07±0,02	23	0	0	2	0	0	2	6,50±1,00	0,01±0,00*
K (-)	48	0,0	0,05±0,00	16	0	1	1	0	0	0	4,25±0,95	0,03±0,00
K (+)		0,1	0,40±0,01	67	43	25	8	10	4	3	28,75±2,21	0,01±0,00
Çöz. K		0,10	0,03±0,03	10	1	0	0	0	1	0	3,00±3,46	0,02±0,00
<i>E. rep.</i>		0,16	0,06±0,02	14	4	0	2	1	0	1	5,50±2,37	0,02±0,00
		0,32	0,06±0,01	18	2	0	2	0	0	0	5,50±1,73	0,02±0,00
		0,65	0,05±0,01	14	2	0	2	0	0	1	4,75±1,70	0,02±0,00
		1,30	0,06±0,01	6	3	0	3	0	0	0	5,00±1,63	0,01±0,00*

^a: B', Kromatid Kırını; B'', Kromozom Kırını; F, Fragment; SU, Kardeş Kromatidlerin Birleşmesi, DS, Disentrik Kromozom; CE, Kromatid Değişimi; P, Poliploidi;

^b: Negatif kontrol

^c: Pozitif kontrol, Mitomisin C

^d: Çözücü Kontrol, Etil alkol

* p<0,05

E. repens kök ekstraktı ile 24 ve 48 saatlik muamelesi ile tüm dozlarda hücre baına dü en kromozomal anormallik oranı ve anormal hücre yüzdesinde kontrole göre bir artış oldu u saptanmıştır. Ancak bu artış pozitif kontrol kadar değildir ($p>0,05$). *E. repens* kök ekstraktı ile 24 ve 48 saatlik muamele sonucunda en yüksek doz ile muamelenin ($1,30 \mu\text{g/ml}$) mitotik indeks de erinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmaya neden oldu u saptanmıştır ($p<0,05$).

Elymus repens kök ekstraktından hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde tüm dozlarda mikronukleus frekansında ve mikronukleuslu hücre oranında gözlenen farklılıkların istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$). *Elymus repens* kök ekstraktı ile 24 ve 48 saatlik muamele sonucunda tüm dozlarda NBI de erinde kontrol grubuna göre önemli bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.3. *Elymus repens* kök ekstraktından hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde mikronukleus (MN), mikronukleuslu binukleer hücre (BNMN) oranı ve nukleer bölünme indeksi (NBI).

Test maddesi	Muamele		MN±SD (%)	BNMN±SD (%)	NBI±SD
	Süre (s)	Doz (µg/ml)			
K (-) ^a	24	0,00	3,00±0,00	3,00±0,00	1,85±0,31
K (+) ^b		0,10	26,75±12,23	23,50±1,29	2,20±0,07
Çözücü K ^c		0,10	2,00±1,15	2,00±1,15	1,82±0,05
<i>E. repens</i>		0,16	4,25±1,25	3,00±0,81	1,56±0,21
		0,32	4,00±1,41	3,75±0,95	1,60±0,19
		0,65	4,75±1,50	4,00±1,41	1,64±0,13
		1,30	3,25±1,25	3,00±0,81	1,65±0,19
K (-)	48	0,00	3,00±0,00	3,00±0,00	1,85±0,31
K (+)		0,10	35,50±2,88	33,25±3,30	2,32±0,09
Çözücü K		0,10	2,50±0,57	2,50±0,57	1,79±0,07
<i>E. repens</i>		0,16	3,25±0,50	3,25±0,50	1,91±0,17
		0,32	2,25±0,95	2,25±0,95	1,94±0,13
		0,65	3,00±2,16	2,25±0,95	1,97±0,12
		1,30	2,25±0,95	2,00±0,95	1,96±0,14

^a: Negatif kontrol

^b: Pozitif kontrol, Mitomisin C

^c: Çözücü Kontrol, Etil alkol

Etil alkol, *E. repens* ekstraktının çözücüsü olarak kullanıldı. İndan, etil alkolün sitogenetik markırların düzeyini etkileyip etkilemedi ini saptamak amacıyla negatif ve pozitif kontrollerin yanı sıra bir de çözücü kontrol grubu olu turulmu tur. Çözücü kontrol, negatif kontrol ile kar ıla tırıldı nda, etil alkolün KKD, PI (Çizelge 4.1), KA, AH, MI (Çizelge 4.2), MN, BNMN ve NBI (Çizelge 4.3) de erlerinde istatistiksel olarak önemli bir de i iklik gözlenmemi tir.

Bitkisel etkili maddelerin (alkolitler, glikozitler ve di erleri) ve sentetik kimyasal bile iklere tedavi alanında kazandıkları büyük başarılarının yanı sıra "Tıbbi bitkiler ile tedavi" (Phytotheapie) de bazı hastalıkların tedavisinde azımsanmayacak derecede önemli bir yere sahiptir. Tıbbi bitkiler ile hazırlanan ilaçlar müshil, yumu atıcı, hazmettirici, gaz söktürücü, yatı tırıcı, safra ve idrar söktürücü gibi etkileri nedeniyle, bütün dünyada olduğu gibi Türkiye'de de kullanılmaktadır. Sonuçta modern bilimin kullanımı olduğu gibi tıbbi ilaçlar da büyük oranda bitkilerden elde edilmektedir (Saraço lu, 2011).

Günümüz ilaç sanayinin sentetik ürünleri alerji konusunda bazen önemli sorunlara neden olabilmektedir. ifalı bitkilerin kullanımı alerji konusunda daha az soruna neden olduğundan günlük hayatta daha rahat kullanılmalarına olanak sağlamaktadır (Canbolat, 2012).

ifalı otların, çe itli hastalıklarda ilaç olarak kullanımları iki temele dayanır: Bunlardan biri, içerdikleri ilaç ham maddelerinden alkaloidler, esanslar ve benzeri moleküllerdir. ifalı otların ilaç olarak kullanımlarının ikinci dayana ı ise bazı vitaminlerden (A, B12, C vitamini ve folik asit) zengin olmalarıdır (Çoruh ve Zengin, 2009).

A, B12, C vitaminini bol miktarda barındıran *Gramineae* familyasından tahıllar, ilaç ham maddesinin yanı sıra, insanların ve hayvanların beslenmesinde çok önemli yere sahiptir. Ayrıca tarımsal, ekolojik ve sosyo-ekonomik nedeniyle ülkemiz tarımında vazgeçilmez ürünler grubudur. Yem olarak kullanılan dane tohumlarının büyük bir ço unlu unu bu daygillerin tohumları te kil eder. Bunlar besin maddeleri ve ni asta de erince zengin olduklarından kesif yemlerden sayılırlar (Özer, 1999; Demir ve ark., 2008).

Bu daygiller (*Poaceae*) familyasından *Elymus* cinsini oluşturan türler hemen her iklim artlarında yayılı gösterdiği için ve çok yıllık bitki olduğu için yurdumuzun dört bir tarafında *Elymus* cinsine ait türler görmek mümkündür. Bu cinsini oluşturan türler genellikle toprak koruma, yem de eri ve bahçe dekorasyonu açısından özellikle tercih edilmektedir. *Elymus repens* halk arasında Ayırık otu, Mekke ayrığı, Domuz ayrığı ve Tarla ayrığı olarak da bilinmektedir. *Elymus repens* türlerinden bazıları tarıma çok zararlı iken, kimi türleri de hayvan yemi ve çim bitkisi olarak tarlalarda özellikle yeti tirilmektedir.

Bol miktarda karbonhidrat (triticin), müsilaaj ve saponinler, mineral tuzlar, özellikle potasyum tuzu, salisilik asit, demir, vitaminler (A, B) ve organik asitler içeren ayırık otunun kökü çay ekinde demlenip tüketildiğinde; ishale, idrar yolu ve mesane iltihabına, böbrek ve mesane taşlarının atılmasına, nikris hastalığına, ate li hastalıklara, mide

rahatsızlıklarına iyi geldi i bilinmektedir. Halk arasında yaygın kullanımı olan *Elymus repens* çayı, besinden ziyade tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Maranki ve Maranki, 2008).

Bu çalı ma öncesi yaptı ımız kaynak taramasında *Elymus repens* bitkisi ile yapılmı çalı malar *E.repens*'in allopoloid orjini, klonal yapısı, morfolojik ve genetik varyasyonları ve filogenetik analizinin yapıldı ı gözlenmi tir.

Bu çalı malardan birinde, Szczpaniak ve ark. (2000), morfolojik ve moleküler teknikler kullanılarak *Elymus repens*'in intraspesifik varyasyonlarını incelemi lerdir. Mason-Gramer (2008), Fosfoenolprüvat karboksilaz (pepC) ve beta-amilaz enzimlerini kullanarak *E.repens* bitkisinin filogenetik analizini yapmı lardır. Szczpaniak ve ark. (2009), klonal büyüme ve seksüel üremenin nisbi önemlerini belirlemek amacıyla, altı *E. repens* popülasyonu ve dört *E. hispidus* popülasyonunda Rastgele Amplifiye edilmi Polimorfik DNA (RAPD) yöntemi ile genetik farklılı ı incelemi lerdir. Mahelka ve Kopecky (2010), Orta Avrupadaki do al da ılım alanından toplanan dört *E. repens* popülasyonunda multi kopya ITS ve tek kopya (granül ba lı ni asta sentetaz I (GBSSI) enzimini kodlayan) DNA bölgelerini genomik ve fuloesan insitu hibridizasyon (GISH ve FISH) yöntemleri ile analiz ederek *E. repens*'in allopoliploid orjinini saptamaya çalı mı lardır. Zeng. ve ark. (2013), *Elymus repens* (L) Gould, *Triticeae* familyasından olan ekmeklik bu day *Triticum aestivum*'un ba ak yanıklı ına direncini *E. repens*'e aktarmak amacıyla çaprazlama çalı ması yapmı lardır.

Vijayalaxmi ve ark. (1996), Mitoz bölünme indeksleri ve insan lenfositlerinde karde kromatid de i imi (KKD) üzerine melatoninin etkisini ara tırdıkları çalı mada, çözücü olarak etanol kullanılmı ve etanolün karde kromatid de i imi üzerinde arttırıcı yada azaltıcı bir etkisinin olmadı mını gözlemi lerdir. Bal ve ark. (1998), Down sendromlu bireylerden alınan kan lenfosit kültürlerinde KKD frekansta beta-karoten etkisini incelemi ler ve etanolü çözücü olarak kullanmı lardır. KKD frekansında etil alkolün etkisi olmadı mını gözlelemler. Soysal ve ark. (2008), insan lenfosit hücre kültüründe melatonin ve -karotenin indüklenmi karde kromatid de i imi sıklı ı üzerine *in vitro* etkilerini ara tırmı lar ve çözücü olarak etanolün KKD frekansına bir etkisi olmadı mını gözlemi lerdir. Çalı mamızda biz de bu çalı malarda oldu u gibi çözücü kontrol olarak etanolü kullandık ve bu çalı maları destekler nitelikte, etil alkolün KKD, KA, MN, AH, BNMN, PI, MI ve NBI de erlerini etkilemedi ini saptamı bulunmaktayız.

Sonuç olarak; bu çalı mada *E. repens* köklerinin insan periferik lenfositlerinde *in vitro*, genotoksik ve sitotoksik etki göstermedi i ortaya konulmu tur.

5. SONUÇ VE ÖNER LER

Elymus repens bitkisinin genotoksik etkisinin araştırıldı ı bu çalı mada; *Elymus repens*'in dört farklı dozuyla (0,16; 0,32; 0,65; 1,30 µg/ml) muamele edilen insan periferik lenfositlerinde, KKD, KA, MN, AH ve BNMN frekansı incelenmiştir. Ayrıca proliferasyon indeksi (PI) de erleri, mitotik indeks (MI) de erleri ve nükleer bölünme indeksi (NBI) de eri saptanmıştır ve elde edilen veriler kontrol gruplarıyla kıyaslanmıştır istatistiksel olarak kar ılaştırılmıştır. Çalı ma sonucunda elde edilen veriler aşağı da verilmiştir:

1. *Elymus repens* ekstraktı ile 24 saatlik ve 48 saatlik muamele süresinde tüm dozlarda KKD frekansında kontrole göre bir artış oldu u saptanmıştır. Ancak yapılan istatistiksel analizler bu artış ın önemli düzeyde olmadığını göstermiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde, *Elymus repens* ile muamele sonucunda tüm dozlarda PI de erinde kontrole göre gözlenen farklılıkların istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığını belirlemiştir ($p>0.05$)

2. *E.repens* kök ekstraktı ile 24 ve 48 saatlik muamele ile tüm dozlarda hücre ba ına düş en KA ve AH frekansında kontrole göre bir artış oldu u saptanmıştır. Ancak istatistiksel analizlere göre bu artış ın önemli düzeyde olmadığını saptanmıştır ($p>0,05$). *E.repens* kök ekstraktı ile hazırlanan dört farklı dozdan (0,16; 0,32; 0,65; 1,30 µg/ml) sadece en yüksek doz ile muamelenin (1,30 µg/ml) MI de erinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmaya neden oldu u gözlenmiştir ($p<0.05$).

3. *Elymus repens* ekstraktından hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde tüm dozlarda kontrol grubuna kıyasla MN frekansında ve BNMN oranında gözlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir ($p>0,05$). Ayrıca, *Elymus repens* ekstraktı ile muamele sonucunda tüm dozlarda NBI de erinde kontrol grubuna göre önemli bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Sonuç olarak; bu çalı mada *E. repens* köklerinin insan periferik lenfositlerinde 24 saatlik ve 48 saatlik her iki muamele için ve dört farklı doz için (0,16; 0,32; 0,65; 1,30 µg/ml) genotoksik ve sitotoksik etki göstermedi i saptanmıştır.

Tıbbi bitkileri kullanmadan önce bilinmesi gereken önemli noktalar vardır. Tıbbi bitkilerin botanik yönünden doğru tayin edilmesi tür olması gerekir. Çünkü etken maddeler, varyete ve alttür farklarına göre değişebilmektedir. Tıbbi bitkiler, belirli dönemlerde etken maddece zengindirler, etken maddece zengin oldukları dönemlerde hasat edilmeleri gerekir ve bu sebeple kullanılacak bitkinin doğru zamanda hasat edilmesi önemlidir. Kurutma esnasında etken madde kayıplarına sıkça rastlandığından, kurutma

yöntemlerine özellikle riayet edilmelidir. Bitkisel droglar (kök, yaprak, tohum, çiçek gibi), etkilerini belirli bir süre içerisinde koruyabilirler bu sebeple satın alınacak drogların hasat tarihlerinin yazılıp yazılmadığı kontrol edilmelidir. Bitkilerin toplandığı yer büyük önem taşıdığından yol kenarları, fabrika çevreleri, yoğun egzoz dumanına maruz kalan bölgelerden bitkiler temin edilmemelidir.

Eve alınan bitki çayları effaf ve polietilen ambalajlarda saklanmamalı bunun yerine bu çaylar çekmeceli ahşap dolaplarda muhafaza edilmelidir. Ayrıca bitkisel çayların kullanımında miktara da önem verilmeli aşırı tüketimin olumsuz etkisinin olabileceği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

- Açıkgöz, E., 2000. Yem Bitkileri. Uluda Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Vipa Yayınevi, Ankara, 596s.
- Akman, Y., 1993. Bitki Biyolojisine Giri (Botanik). Palme Yayıncılık, Ankara, 494s.
- Asımgil, A., 2009. ifalı Bitkiler. Tima Yayınları, stanbul, 352s.
- Avcı, M., 2004. Türkiye Bitkilerinin simlendirilmesinde Co rafi Özelliklerin Etkisi. stanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Co rafya Bölümü, *Co rafya Dergisi*, No: 12, s.31-45.
- Bal, F., ahin, F.I., Yirmibes, M., ve Menev e. S., 1998. In vitro Down sendromu lenfosit kültürlerde SCE frekansta beta-karoten ve mitomisin C'nin etkisi. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 184 (4): s.295-300.
- Baytop, A., 1991. Farmasotik Botanik Ders Kitabı. stanbul Üniversitesi Yayınları, No: 3637, stanbul, 315s.
- Baytop, A., 1995. Bitkilerin Bilimsel Adlarındaki Niteleyiciler Ve Anlamları. stanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 3889, stanbul, 294s.
- Baytop, T., 1994. Türkçe Bitki Adları Sözlü ü. Türk Dil Kurumu Yayınları, TDK Basım Evi, No:578, Ankara, 512s.
- Bıçakcı, A., Çelenk, S., Altuno lu, MK., Bili ik, A., Canitez, Y., Malyer, H., Sapan, N., 2009. Türkiye'de Alerjik Gramineae Polenlerinin Havadaki Da ılımları. Uluda Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Uluda Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sa lı ı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, sayı: 7, Bursa, s.90-99.
- Biyologlar, URL (eri im tarihi: 13/12/2013 13:30)
http://biyologlar.com/index.php?option=com_kunena&func=view&catid=203&id=609&Itemid=0
- Bulut, G. 2005. Narman (Erzurum) ve Köylerinde Halk lacı Olarak Kullanılan Bitkiler. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Sa lık Bilimleri Enstitüsü. Erzurum. 97s.

- Canbolat, Ö., 2012. Bazı Buğdaygil Kaba Yemlerinin in Vitro Gaz Üretimi, Sindirilebilir Organik Madde, Nisbi Yem Değeri ve Metabolik Enerji İçeriklerinin Karşılaştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 18 (4): 571-577.
- Ceylan, A., 1987. Tıbbi bitkiler II. Ege Üniversitesi Yayınları, No: 481, İzmir, 124s.
- Ceylan, G., 2000. Dış Mekan Süs Bitkileri ve Peyzajda Kullanımları. Flora Yayınları, İstanbul, 216s.
- Çerçi, M., 2008. Her Derde Deva İfalı Bitkiler. İstanbul Medikal Yayınları, İstanbul, 364s.
- Çoruh, İ., Zengin, H., 2009. Erzurum Yöresinde Yonca Ekim Alanlarında Bulunan Yabancı Otlar, Yoğunlukları ve Rastlama Sıklıkları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(1): 49-53.
- Demir, S., Kaya, İ., Kavur, O.B., Özkan, U., 2008. Van ve Çevresindeki Gramineae Familyası Bitkilerinde Arbusküler Mikorhizaların Belirlenmesi. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 18 (2): 103-111.
- Deniz, S., 2005. Bitkilerle Tedavi Mucizevi Bitkisel Reçeteler. Kar Yayınları, İstanbul, 324s.
- Dev, S., 2010. Impact of natural products in modern drug development. *Indian Journal of Experimental Biology*, 48(3): 191-198.
- Dırak, M., İçim, A., 2002. Sistematiğin Esasları. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş, 71s.
- Eastmond, D. A. and Tucker, J. D., 1989. Identification of Aneuploidy-Inducing Agents Using Cytokinesis-Blocked Human Lymphocytes and an Anti-Kinetochore Antibody. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 13: 34-43.
- Ebcioğlu, N., 2001. Sağlıklı İmiz İçin Yararlı Bitkiler. Remzi Kitap Evi, İstanbul, 175s.
- Elçi, İ., 2005. Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkileri. Tarım ve Köylere Bakanlığı Yayınları, Ankara, 486s.

- Erdemir, A., 2001. ifalı Bitkiler, Do al laçlarla Geleneksel Tedaviler. Alfa Yayınları, stanbul, 599s.
- Ermi , F.K., 2011. ifalı Bitkiler. Kirpi yayınları, stanbul, 240s.
- Evans, H.J., 1984. Human Pripheral Blood Lymphocytes for the Analysis of Chromosome Aberrations in Mutagen Tests. Hahdbook of Mutagenicity Test Producers. In Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C. (Eds.), Second edition Elsevier Science Publishers, B.V., pp. 405-427.
- Eyübo lu, .Z., 2007. Anadolu Halk laçları. Tima Yayınları, stanbul, 574s.
- Fenech, M. 2000. The in Vitro Micronucleus Technique. *Mutation Reserch*, 455: 81-95s.
- Fenech, M., 1997. The Advantages an Disadvantages of the Cytokinesis-Block Micronucleus Method. *Mutation Research*, 392: 11-18.
- Gültekin, H.C., 2010. Kapalı Tohumlu A aç Ve Çalıların E ey Özellikleri El Kitabı. T.C Çevre Ve Orman Bakanlığı A açlandırma Ve Erezyon Kontrolü Genel Müdürlü ü. Ankara, 312s.
- Güner, A., 2004, Bitkiler. Tübitak Yayınları, Ankara, 64s.
- Karamano lu, K., 1977. Farmasötik Botanik. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders Kitapları No: 44, Ankara, 483s.
- Kauderer, B., Zamith, H., Paumgarten, F.J. and Speit, G., 1991. Evolution of the Mutagenicity of Beta-Myrcene in Mammalian Cells In Vitro. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 18 (1): 28-34.
- Kırba , S., Zengin, F. 2006. Elazı Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, *Tarım Bilimleri Dergisi* (J. Agric. Sci.), 16 (2): 77-80.
- Könemann, 1993. Germplasm Resources Information Network, Flora of NW Europe, Flora of China, Webster Third International Dictionary. URL (eri im tarihi: 13.12.2013 13:30) http://en.wikipedia.org/wiki/Elymus_repens

- Mace, M.L. J.R., Daskal, Y. And Wray, W., 1978. Scanning electron microscopy of chromosome aberrations. *Mutation Research*, 52: 199-206.
- Mahelka V, Kopecky D., 2010. Gene capture from across the grass family in the allohexaploid *Elymus repens* (L.) Gould (Poaceae, Triticeae) as evidenced by ITS, GBSSI, and molecular cytogenetics. *Molecular Biology and Evolution*, 27: 1370-1390.
- Maranki, A., Maranki E., 2008. Kozmik Bilim I ında ifalı Bitkiler. Mozaik Yayınları, stanbul, 460s.
- Maranki, A., Maranki, E., 2012. ifalı Kürler. Hayat Yayınları, stanbul, 351s.
- Mason-Gramer R.J., 2008. Allohexaploidy, introgression, and the complex phylogenetic history of *Elymus repens* (Poaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47: 598-611.
- MEGEP, 2007. Kapalı Tohumlu Bitkiler Kitabı. Mesleki E itim Ve Ö retim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi Bahçecilik, T.C MEB Basım Evi, Ankara, 32s.
- MEGEP, 2008. Otsu Yer Örtücüler. Mesleki E itim Ve Ö retim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi Bahçecilik, T.C MEB Basım Evi, Ankara, 35s.
- Özer, Z., Önen, H., Tursun., N. ve Uygur, F.N., 1999. Türkiye'nin Bazı Önemli Yabancı Otları (Tanımları ve Kimyasal Sava ları), Gaziosmanpa a Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 38, 16s.
- Perry, P. and Thompson, E.J. 1984. The Methodology of Sister Chromatid Exchanges, in: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramel (Eds.), Handbook of Mutagenicity Test Producers, 2nd Edition, Elsevier, Amsterdam, s.459-529.
- Rothfuss, A., Schutz, P., Bochum, S., Volm, T., Elberhard, E., Kreinberg, R., Vogel, V. And Speit, G., 2000. Induced Micronucleus Frequencies in Peripheral Lymphocytes as a Screening Test for Carriers of a BRCA1 Mutation in Breast Cancer Families. *Cancer Research*. 60: 390-394.
- Saraço lu, .A., 2011. ifa Kitabı. Hayykitap, stanbul, 152s.

- Soysal, Y., ahin, F. ., ve Menev e, S., 2008. nsan lenfosit hücre kültüründe melatonin ve - karotenin mitomisin C ile indüklenmi karde kromatid de i imi sıklı ı üzerine in vitro etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 15(3): 23-29.
- Speit, G., and Haupter, S. 1985. On the Mechanism of Differential Giemsa Satining of Bromodeoxyuridine Substituted Chromosomes. II. Differences Between the Demonstration of Sister Chromatid Differention and Replication Patterns. *Human Genetic*, 70: 126-129.
- Szczepaniak M, Bieniek W, Boron P, Szklarczyk M, Mizianty M., 2009. A contribution to characterisation of genetic variation in some natural Polish populations of *Elymus repens* (L.) Gould and *Elymus hispidus* (Opiz) Melderis (Poaceae) as revealed by RAPD markers. *Plant Biolgy* (Stuttg), 11 (5): 766-773.
- Szczepaniak M, Cieslak E, Bednarek P.T., 2002. Morphological and AFLP variation of *Elymus repens* (L.) Gould (Poaceae). *Cellular Molecular Biology Letters*, 7(2A): 547-558.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Co kun, M., 1998. Farmasötik Botanik. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders Kitapları No: 78, Ankara, 416s.
- Titenko-Holland, N., Windham, G., Kolachana, P., Reinisch, F., Parvatham, S., Osorio, A.M. and Smith, M.T., 1997. Genotoxicity of Malathion in Human Lymphocytes Assessed Using the Micronucleus Assay In Vitro and In Vivo: a Study of Malathion-Exposed Workers. *Mutation Reserch*, 388 (1): 85-95.
- Toker, M.C., 2004. Bitki Morfolojisi. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Döner Sermaye letmesi Yayınları No: 56, Ankara, 131s.
- Topakta , M. ve Speit, G. 1990. Sister Chromatid Exchange (SCE) Testinin Mutajenite ve Kanserojenitenin Belirlenmesinde Kullanılması. *Çukurova Üniversitesi Sa lık Bilimleri Dergisi*, 5 (1,2,3): 73-84.
- Türkiye Bitkileri Veri Sistemi (TÜB VES). URL (eri im tarihi: 15.12.2013 12:00) http://turkherb.ibu.edu.tr/index.php?sayfa=1&tax_id=9894

- Uma, M., 2010. Bitki Toplama, Te his Ve Herbarium Teknikleri. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. 101s.
- Ünal, S., Mutlu, Z., Mermer, A., Urla, Ö., Ünal, E., Özaydın, K.A., Ava , A., Yıldız, H., Aydo mu , O., ahin, B., Aslan, S., 2012. Çankırı li Meralarında Mera Durumu ve Sa lı ının Belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*. 5(2), 131-135.
- Vijayalaxmi, Reiter, R.J., Leal, B.Z., ve Meltz, M.L., 1996. Mitoz ve ço alması endeksleri, ve insan kan lenfositlerinde karde kromatid de i imi üzerine melatoninin etkisi. *Mutation Research*, 351 (2): 92-187.
- Yaltırık, F., Efe, A., 1996. Otsu Bitkiler Sistemati i. stanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, No: 10, stanbul, 512s.
- Yılmaz, H., Göl, C., 2012. Çankırı Yöresi Kurak-Yarı Kurak Meralarında Islah ve Erozyon Önleyici Bitki Türleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(2): 109-115.
- Zeng, J., Cao, W., Hucl, P., Yang, Y., Xue, A., Chi, D., Fedak, G., 2013. Molecular Cytogenetic Analysis of Wheat-*Elymus Repens* Introgression Lines With Resistance to Fusarium Head Blight. *Genome*, 56(1): 75-82.
- Zeybek, U., Haksel, M., 2010. Türkiye’de ve Dünyada Önemli Tıbbi Bitkilerin Kullanımları. Zade Sa lık Yayınları, Konya, 102s.

ÖZGEÇM

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Tuğba PURKAYA
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 16.11.1987 Hassa
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (554) 900 07 28
Faks :
e-posta : tugba_purkaya@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	KSÜ /Biyoloji Bölümü	2014
Lisans	KSÜ/ Biyoloji Bölümü	2010
Lise	Hoca Ahmed Yesevi Lisesi	2004

Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
-----	-----	-------

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

- 1.
- 2.

Hobiler

Müzik dinlemek, yürüyüş yapmak.