



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ



***ACHILLEA NOBILIS* L. SUBSP. *SIPYLEA* (O. SCHWARZ) BÄSSLER
BİTKİ EKSTRAKTLARININ POTANSİYEL ETKİLERİNİN
FARKLI TEST SİSTEMLERİ İLE BELİRLENMESİ**

Merve BALLI YÜKSEL

Biyoloji Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

ACHILLEA NOBILIS L. SUBSP. SIPYLEA (O. SCHWARZ) BÄSSLER
BİTKİ EKSTRAKTLARININ POTANSİYEL ETKİLERİNİN
FARKLI TEST SİSTEMLERİ İLE BELİRLENMESİ
Merve BALLI YÜKSEL

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 01/02/2018

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

ÇANAKKALE

Merve BALLI YÜKSEL tarafından Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR yönetiminde hazırlanan ve 01/02/2018 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “*Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler Bitki Ekstraktlarının Potansiyel Etkilerinin Farklı Test Sistemleri ile Belirlenmesi” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

Başkan

Prof. Dr. Cüneyt AKI

Üye

Yrd. Doç. Dr. Canan ÖZTOKAT KUZUCU

Üye

Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA

Üye

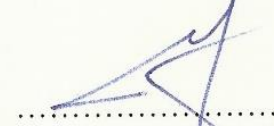
Doç. Dr. Burhan ŞEN

Üye











Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Merve BALLI YÜKSEL

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR'e; doktora çalışmam süresince değerli görüş, öneri ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Cüneyt AKI, Yrd. Doç. Dr. Canan ÖZTOKAT KUZUCU, Doç. Dr. Mustafa YILDIZ, Doç. Dr. Hüseyin ERDUĞAN ve Prof. Dr. Ahmet GÖNÜZ'e; kıymetli katkılarda bulunan tez jüri üyelerimden Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA ve Doç. Dr. Burhan ŞEN'e; arazi çalışmalarımıdaki üstün emeğinden dolayı Feridun KIRCALI'ya ve toplanan örneklerin tür teşhisindeki yardımlarından ötürü Doç. Dr. Ersin KARABACAK'a; kimyasal malzeme eksikliğimin giderilmesi hususundaki yardımsever davranışından dolayı Yrd. Doç. Dr. Mücella Hilal ŞEHİTOĞLU'na; bölümün tüm imkanlarından yararlanmam konusunda yardımını esirgemeyen bölüm başkanımız Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ'e saygılarımı ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın laboratuvarında gerçekleştirdiğim aşamalarında emeği geçen değerli arkadaşlarım Uzm. Dr. Nuray YILDIRIM, Bahar GÖK, Pınar GÖK İNAN, Mehmet Ali YILDIRIM, Melike SARAÇOĞLU, Gizem İLGÜN BOYALAN, Ozan Barış KÜRTÜR ve Araş. Gör. Nihan AKINCI'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Yaşamım boyunca her zaman yanımda olan aileme sonsuz sevgilerimi ve minnettarlığımı sunarım.

2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı ile desteğinden ötürü TÜBİTAK-BİDEB'e çok teşekkür ederim.

Merve BALLI YÜKSEL

Çanakkale, Şubat 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde oranı
⁰ C	Santigrat derece
BHT	Bütil hidroksi toluen
Da	Dalton
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
Kb	Kilobaz
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
m	Metre
mA	Miliamper
mg	Miligram
Mİ	Mitotik indeks
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
mL	Mililitre
mM	Milimolar
MN	Mikronükleus
nm	Nanometre
V	Volt
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μW	Mikrowatt

ÖZET

ACHILLEA NOBILIS L. SUBSP. SIPYLEA (O. SCHWARZ) BÄSSLER BİTKİ EKSTRAKTLARININ POTANSİYEL ETKİLERİNİN FARKLI TEST SİSTEMLERİ İLE BELİRLENMESİ

Merve BALLI YÜKSEL

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

01/02/2018, 139

Bu çalışmada, endemik *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler (Asteraceae) bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının genotoksik, antigenotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ile toplam fenolik ve flavonoid madde içerikleri üzerine mevsim ve lokasyon değişimlerinin etkisi belirlenmiştir. Bitkiler üç farklı istasyondan ilkbahar ve yaz aylarında toplanmıştır.

Bitkinin genotoksik potansiyeli *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi ve DNA cleavage testi ile belirlenmiştir. Antigenotoksik aktiviteyi saptayabilmek için DNA koruma aktivite testi ve *Allium cepa* L. kök meristematik hücre testi uygulanmıştır. Toplam fenolik ve flavonoid madde içerikleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri farklı yöntemler (DPPH radikal giderme aktivite testi, β -karoten/linoleik asit testi, CUPRAC, metal şelatlama aktivitesi ve toplam antioksidan aktivite testi) kullanılarak tespit edilmeye çalışılmıştır. Agar disk difüzyon yöntemi ve MİK testleri ile çeşitli patojenik bakteri ve mayalara karşı *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir.

Çalışma sonucunda, özellikle metanol ve su ekstraktlarının H_2O_2 'ye karşı anlamlı antigenotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca test edilen bütün ekstraktların, özellikle su ekstraktının, doza bağlı olarak antioksidan aktivite gösterdikleri saptanmıştır. Bununla birlikte, antioksidan aktivite ile toplam fenolik içerik arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Çalışma sonuçları, bitkinin antigenotoksik ve antioksidan aktiviteleri ile biyoaktif madde içeriğinin mevsim, ekstrakt çeşidi, doz ve uygulama süresine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar *A. nobilis* subsp. *sipylea* metanol ve su ekstraktlarının güçlü antioksidan ve DNA hasarına karşı koruma potansiyelinin olduğunu açıkça göstermekte olup, bu durum bitkinin doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilmesine işaret etmektedir.

Anahtar sözcükler: *Achillea nobilis* subsp. *sipylea*, Civanperçemi, Ekstrakt, Antigenotoksisite, Antioksidan, Antimikrobiyal.



ABSTRACT

DETERMINATION OF POTENTIAL EFFECTS OF *ACHILLEA NOBILIS* L. SUBSP. *SIPYLEA* (O. SCHWARZ) BÄSSLER PLANT EXTRACTS WITH DIFFERENT TEST SYSTEMS

Merve BALLI YÜKSEL

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Neslihan DEMİR

01/02/2018, 139

In this research, the influences of season and location variations on genotoxic, antigenotoxic, antioxidant and antimicrobial activities and total phenolic and flavonoid contents of *n*-hexane, methanol and water extracts of endemic *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler (Asteraceae) were determined. The plant was collected at three localities in spring and summer seasons.

The genotoxic potential of the plant was studied using *Tradescantia* stamen hair mutation assay and DNA cleavage assay. The antigenotoxic activity was determined by DNA protecting activity assay and *Allium cepa* L. bioassay. Total phenolics and flavonoids were determined spectrophotometrically. The antioxidant activities of the extracts were evaluated by different methods (DPPH radical scavenging assay, β -carotene/linoleic acid test, CUPRAC, metal chelating activity and total antioxidant activity). The extracts were considered for *in vitro* antimicrobial activity against a variety of clinical pathogenic bacteria and yeasts by agar disc diffusion method and MIC test.

Consequently, the extracts, especially methanol and water extracts, showed a good antigenotoxic activity against H₂O₂. All the tested extracts, especially water extracts, also showed a concentration dependent antioxidant activity. A positive correlation between antioxidant activity and total phenolic content was found. Results of study showed that antigenotoxic and antioxidant activities and bioactive compound content of plant changed according to season, type of extract, dose and duration of treatment.

These results clearly demonstrates the strong antioxidant and DNA damage protecting potential of methanol and water extracts of *A. nobilis* subsp. *siylea* and marks its use as a potential source of natural antioxidant.

Keywords: *Achillea nobilis* subsp. *siylea*, Yarrow, Extract, Antigenotoxicity, Antioxidant, Antimicrobial.



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	3
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Sitotoksosite ve Genotoksosite	3
2.1.1. <i>Tradescantia</i> Stamen Tüyü Mutasyon Analizi.....	4
2.1.2. DNA Kesme ve Koruma Aktivitesi.....	5
2.1.3. <i>Allium cepa</i> L. Kök Meristematik Hücre Testi	6
2.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Aktivite	7
2.2.1. Sekonder Metabolitler	13
2.2.1.1. Fenolik Bileşikler.....	13
2.2.1.2. Flavonoidler	15
2.2.2. DPPH Giderme Aktivitesi	15
2.3. Antimikrobiyal Aktivite	16
2.3.1. Agar Disk Difüzyon Testi	19
2.3.2. Dilüsyon Yöntemleri	20
2.3.2.1. Broth Dilüsyon Yöntemi.....	20
2.4. <i>Achillea</i> L. Cinsinin Genel Özellikleri.....	21
2.5. <i>Achillea</i> Cinsinin Tıbbi Özellikleri	22
2.6. Sitotoksik ve Genotoksik Aktivite Çalışmaları.....	24
2.7. Antisitotoksik ve Antigenotoksik Aktivite Çalışmaları	25
2.8. Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	27
2.9. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları.....	29
2.10. <i>Achillea</i> Cinsi ile Yapılan Çalışmalar	31

2.10.1. <i>Achillea nobilis</i> L. Türü ile Yapılan Çalışmalar.....	31
2.10.1.1. <i>Achillea nobilis</i> L. subsp. <i>sipylea</i> Alt Türü ile Yapılan Çalışmalar	33
2.10.2. Diğer <i>Achillea</i> Türleri ile Yapılan Çalışmalar.....	35
BÖLÜM 3	39
MATERYAL VE YÖNTEM.....	39
3.1. Materyal	39
3.1.1. <i>Achillea nobilis</i> L. subsp. <i>sipylea</i> (O. Schwarz) Bässler Bitki Örneklerinin Toplanması.....	39
3.1.2. <i>Tradescantia pallida</i> H.....	42
3.1.3. <i>Allium cepa</i> L.	43
3.1.4. Mikroorganizmalar	43
3.1.5. Kimyasallar.....	44
3.2. Yöntem.....	44
3.2.1. Ekstraktların Eldesi	44
3.2.2. Sitotoksik, Genotoksik ve Antigenotoksik Aktivite Analizleri.....	45
3.2.2.1. <i>Tradescantia</i> Stamen Tüyü Mutasyon Analizi	45
3.2.2.2. DNA Kesme ve Koruma Aktivitesi	46
3.2.2.3. <i>Allium cepa</i> L. Kök Meristematik Hücre Testi.....	47
3.2.3. Antioksidan Aktivite Analizleri	48
3.2.3.1. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi.....	48
3.2.3.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi	49
3.2.3.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi (DPPH Testi).....	49
3.2.3.4. β -Karoten/Linoleik Asit Testi.....	50
3.2.3.5. Bakır(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi (CUPRAC Testi)	51
3.2.3.6. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi.....	51
3.2.3.7. Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	52
3.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Analizleri	52
3.2.4.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi.....	52
3.2.4.2. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi.....	53
3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi.....	54
BÖLÜM 4	55
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	55
4.1. Genotoksisite ve Antigenotoksisite Sonuçları	55

4.1.1. <i>Tradescantia</i> Stamen Tüyü Mutasyon Analizi Sonuçları	55
4.1.2. DNA Kesme ve Koruma Aktivitesi Sonuçları	59
4.1.3. <i>Allium cepa</i> L. Kök Meristematik Hücre Testi Sonuçları	62
4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	79
4.2.1. Toplam Fenolik Madde İçeriği Testi Sonuçları.....	79
4.2.2. Toplam Flavonoid Madde İçeriği Testi Sonuçları.....	82
4.2.3. DPPH Radikali Giderme Aktivite Testi Sonuçları	84
4.2.4. β -Karoten/Linoleik Asit Testi Sonuçları	88
4.2.5. CUPRAC Testi Sonuçları.....	92
4.2.6. Metal Şelatlama Testi Sonuçları.....	96
4.2.7. Toplam Antioksidan Aktivite Testi Sonuçları.....	100
4.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	104
4.3.1. Agar Disk Difüzyon Testi Sonuçları	104
4.3.2. MİK Testi Sonuçları	106
BÖLÜM 5	115
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	115
KAYNAKLAR	116
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. (a) Plazmid DNA'nın farklı formları ve (b) agaroz jel elektroforezindeki bant görünümleri.....	6
Şekil 2.2. Oksidatif stresin olası etkileri.....	9
Şekil 2.3. Flavonoidlerin genel yapısı	15
Şekil 2.4. <i>Achillea nobilis</i> L. subsp. <i>sipylea</i> (O. Schwarz) Bässler endemik bitkisinin Türkiye üzerindeki dağılımı	22
Şekil 3.1. <i>Achillea nobilis</i> L. subsp. <i>sipylea</i> (O. Schwarz) Bässler	39
Şekil 3.2. Örneklerin toplandığı istasyonlar. 1: Sarıot Köyü/Bayramiç, 2: Evciler Köyü/Bayramiç, 3: Çırpılar Köyü/Bayramiç	40
Şekil 3.3. Sarıot Köyü/Bayramiç/Çanakkale (1. İstasyon)	41
Şekil 3.4. Evciler Köyü/Bayramiç/Çanakkale (2. İstasyon)	41
Şekil 3.5. Çırpılar Köyü/Bayramiç/Çanakkale (3. İstasyon)	42
Şekil 3.6. Test edilen bitki örneklerinin sırasıyla toplandığı mevsimin, istasyonun ve ekstrakt çeşidinin ifade edilmesi.....	42
Şekil 3.7. <i>Tradescantia pallida</i> H. bitkisi.....	43
Şekil 3.8. Ekstraktların eldesinde kullanılan (a) soksilet düzeneği ve (b) rotary evaporatör	45
Şekil 3.9. <i>Tradescantia</i> stamen tüyü mutasyon analizi deney düzeneği	46
Şekil 3.10. <i>Allium cepa</i> L. kök meristematik hücre testinin uygulanaşı	48
Şekil 3.11. Agar disk difüzyon yönteminin uygulandığı petri görüntüsü.....	53
Şekil 3.12. Broth mikrodilüsyon yönteminin uygulanaşı ve test sonucundaki mikroplak görüntüsü.....	54
Şekil 4.1. <i>Tradescantia</i> stamen tüyü mutasyon analizinde gözlenen pembe mutant hücreler	55
Şekil 4.2. İlkbahar örneklerinin <i>Tradescantia</i> stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları.....	57
Şekil 4.3. Yaz örneklerinin <i>Tradescantia</i> stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları.....	57
Şekil 4.4. 1. İstasyon örneklerinin <i>Tradescantia</i> stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları	58
Şekil 4.5. 2. İstasyon örneklerinin <i>Tradescantia</i> stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları	58
Şekil 4.6. 3. İstasyon örneklerinin <i>Tradescantia</i> stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları	59
Şekil 4.7. İlkbahar örneklerinin DNA hidrolitik kesme aktivitesi	60
Şekil 4.8. Yaz örneklerinin DNA hidrolitik kesme aktivitesi.....	60
Şekil 4.9. İlkbahar örneklerinin H ₂ O ₂ hasarına karşı DNA koruma aktivitesi	60
Şekil 4.10. Yaz örneklerinin H ₂ O ₂ hasarına karşı DNA koruma aktivitesi	61
Şekil 4.11. İlkbahar örneklerinin UV hasarına karşı DNA koruma aktivitesi.....	61
Şekil 4.12. Yaz örneklerinin UV hasarına karşı DNA koruma aktivitesi.....	61
Şekil 4.13. <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testinde gözlenen mitotik hücreler ve kromozomal anomaliler	63
Şekil 4.14. İlkbahar örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök uzunluğu testi sonuçları.....	65
Şekil 4.15. Yaz örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök uzunluğu testi sonuçları.....	65
Şekil 4.16. 1. İstasyon örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök uzunluğu testi sonuçları.....	66
Şekil 4.17. 2. İstasyon örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök uzunluğu testi sonuçları.....	66
Şekil 4.18. 3. İstasyon örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök uzunluğu testi sonuçları.....	67
Şekil 4.19. İlkbahar örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri	70
Şekil 4.20. Yaz örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri	70

Şekil 4.21. 1. İstasyon örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri.....	71
Şekil 4.22. 2. İstasyon örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri.....	71
Şekil 4.23. 3. İstasyon örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri.....	72
Şekil 4.24. İlkbahar örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi % anomali oranları.....	77
Şekil 4.25. Yaz örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi % anomali oranları.....	77
Şekil 4.26. 1. İstasyon örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi % anomali oranları.....	78
Şekil 4.27. 2. İstasyon örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi % anomali oranları.....	78
Şekil 4.28. 3. İstasyon örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi % anomali oranları.....	79
Şekil 4.29. Kalibrasyon eğrisi (gallik asit).....	80
Şekil 4.30. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri.....	81
Şekil 4.31. Kalibrasyon eğrisi (kuersetin).....	82
Şekil 4.32. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> ekstraktlarının flavonoid madde içerikleri.....	84
Şekil 4.33. İlkbahar örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%).....	86
Şekil 4.34. Yaz örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%).....	86
Şekil 4.35. 1. İstasyon örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%).....	87
Şekil 4.36. 2. İstasyon örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%).....	87
Şekil 4.37. 3. İstasyon örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%).....	88
Şekil 4.38. İlkbahar örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları.....	90
Şekil 4.39. Yaz örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları.....	90
Şekil 4.40. 1. İstasyon örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları.....	91
Şekil 4.41. 2. İstasyon örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları.....	91
Şekil 4.42. 3. İstasyon örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları.....	92
Şekil 4.43. İlkbahar örneklerinin CUPRAC testi sonuçları.....	94
Şekil 4.44. Yaz örneklerinin CUPRAC testi sonuçları.....	94
Şekil 4.45. 1. İstasyon örneklerinin CUPRAC testi sonuçları.....	95
Şekil 4.46. 2. İstasyon örneklerinin CUPRAC testi sonuçları.....	95
Şekil 4.47. 3. İstasyon örneklerinin CUPRAC testi sonuçları.....	96
Şekil 4.48. İlkbahar örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları.....	98
Şekil 4.49. Yaz örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları.....	98
Şekil 4.50. 1. İstasyon örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları.....	99
Şekil 4.51. 2. İstasyon örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları.....	99
Şekil 4.52. 3. İstasyon örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları.....	100
Şekil 4.53. İlkbahar örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları.....	102
Şekil 4.54. Yaz örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları.....	102
Şekil 4.55. 1. İstasyon örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları.....	103
Şekil 4.56. 2. İstasyon örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları.....	103
Şekil 4.57. 3. İstasyon örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları.....	104

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Temel aktif oksijen türleri	8
Çizelge 3.1. Bitki örneklerinin toplandığı lokasyonlar	40
Çizelge 4.1. <i>Tradescantia</i> stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları	56
Çizelge 4.2. <i>Allium cepa</i> kök uzunluğu testi sonuçları	64
Çizelge 4.3. İlkbahar örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri	68
Çizelge 4.4. Yaz örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri	69
Çizelge 4.5. İlkbahar örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testinde gözlenen kromozomal anomali çeşitleri ve % anomali oranları	73
Çizelge 4.6. Yaz örneklerinin <i>Allium cepa</i> kök meristematik hücre testinde gözlenen kromozomal anomali çeşitleri ve % anomali oranları	75
Çizelge 4.7. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri	81
Çizelge 4.8. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> ekstraktlarının toplam flavonoid madde içerikleri	83
Çizelge 4.9. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> bitkisi ekstraktlarının DPPH radikali giderme aktivitesi (%)	85
Çizelge 4.10. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> bitkisi ekstraktlarının β -karoten/linoleik asit testi sonuçları	89
Çizelge 4.11. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> bitkisi ekstraktlarının CUPRAC testi sonuçları	93
Çizelge 4.12. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> bitkisi ekstraktlarının metal şelatlama testi sonuçları	97
Çizelge 4.13. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> bitkisi ekstraktlarının toplam antioksidan aktivite sonuçları	101
Çizelge 4.14. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> bitkisi ekstraktlarının agar disk difüzyon testi sonuçları	105
Çizelge 4.15. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> bitkisi ekstraktlarının minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) sonuçları	107

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Bitkiler eski çağlardan beri parfüm ve kozmetik endüstrisinde aroma verici, gıda ve içecek endüstrisinde koruyucu ve lezzet verici olarak kullanılmasının yanı sıra sahip oldukları biyolojik özellikleri ile çeşitli hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Bitkilerin biyolojik özellikleri doğrudan kimyasal kompozisyonları ile ilişkilidir. Bitkilerin kimyasal kompozisyonu çevresel, coğrafi, mevsimsel ve sirkadiyen değişimlerden etkilenebilmektedir (Cerqueira ve ark., 2007).

İnsanoğlu, sahip olduğu tıbbi ve aromatik özelliklerinden ötürü bitkilerden ve bitki ekstraktlarından tarih öncesi çağlardan beri faydalanmaktadır. Geçmişte olduğu gibi günümüzde de çeşitli hastalıkların tedavisinde ya bitkiler ya da bitkilerden elde edilen etken maddeler kullanılarak tedavi yoluna gidilmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Son yıllarda, tıbbi ve aromatik bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif bileşenler üzerinde çok sayıda araştırmalar yapılmış olup halen bu çalışmalar artarak devam etmektedir.

Bitkiler, biyolojik olarak aktif bileşiklerin zengin değerli doğal bir kaynağıdır. Bitkilerin antiviral, antibakteriyel, antifungal, insektisidal, antioksidan ve antimutajen özelliklere sahip olduğunu kanıtlayan pek çok çalışma bulunmaktadır (Kawther, 2007).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bitkisel tıbbın önemini kabul etmiş ve bunun maliyeti düşürmesinden dolayı gelişmekte olan ülkelerdeki insanlar için de geçerli bir alternatif kaynak olarak öneme sahip olduğunu öne sürmüştür. Kimyasal önleyici ajanlar olarak adlandırılan pek çok doğal ürün; antioksidan, antimutajenik aktivite, enzim modülasyonu, gen ifadesi, apoptozu da içeren farklı mekanizmalar yoluyla kanser oluşumunun çok adımlı süreçlerini inhibe ederek kansere karşı mücadelede büyük bir potansiyel sunmaktadır (De Flora ve ark., 2001; Miadokova ve ark., 2008).

Pek çok bitki tedavi edici özelliğe sahip olmasına rağmen, içerdikleri bazı etken maddeler nedeniyle potansiyel mutajenik, kanserojenik, toksik ve teratojenik olabilmektedir (Gadano ve ark., 2006). Bununla birlikte, yapılan pek çok çalışma sonucunda bitkilerin potansiyel doğal antigenotoksik etkiye sahip olduklarına dair bulgular da elde edilmiştir (Sinaplı, 2010; Yıldız, 2010; Ballı, 2012). Bu açıdan, genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmaları halk arasında yaygın kullanıma sahip bitkilerin ve bitkisel ürünlerin güvenilirliğini ve etkinliğini değerlendirmeye yardımcı olabilmektedir.

Günümüzde insan sağlığı ve çevreye büyük önem verilmesi gerektiği anlaşılmış olup; pek çok bilimsel çalışma sağlıklı kalabilmek için doğal beslenmenin gerekliliğine ve

doğal yollardan elde edilmiş antioksidan kullanımına işaret etmektedir. Oksijen insan yaşamı için vazgeçilmez olmakla birlikte, normal metabolizma sırasında vücuda zarar verme potansiyeline sahip bazı reaktif oksijen türleri (ROS) üretmektedir. Oksidatif strese neden olabilen bu durum DNA, protein, karbonhidrat ve lipidlerde hasarlara yol açabilmekte ve başta koroner hastalıklar, kanser, diyabet ve karaciğer tahribatı olmak üzere birçok hastalığa neden olabilmektedir. Bugün 50'den fazla hastalığın ROS'larla ilgili olduğu bildirilmektedir (Diplock, 1997; Koca ve Karadeniz, 2003; Metin, 2013). Günümüzde, yapay antioksidanların güvenirlilikleri üzerindeki endişeler neticesinde çeşitli doğal materyallerden alternatif doğal antioksidanların elde edilmesine yönelik yoğun bir ilgi bulunmaktadır. Bu durum, araştırmacıların potansiyel doğal antioksidan kaynağı olarak görülen tıbbi ve aromatik bitkiler üzerine odaklanmasına neden olmuştur.

Antimikrobiyal aktivite besinlerin korunması, eczacılık, alternatif tıp ve doğal terapi gibi pek çok uygulama alanlarının temelini oluşturmaktadır (Abay, 2006). Bitkilerin mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkileri ve insan sağlığı açısından önem taşıyan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır (Vonderbank, 1949; Dığrak ve ark., 1999). Antimikrobiyal aktivite gösteren bitkiler gıdalarda koruyucu madde olarak, tıbbi amaçlı anti-helmintik, anti-fungal olarak ve bitki zararlılarına, yabancı otlara karşı mücadelede kullanılmaktadır (Toroğlu ve Çenet, 2006). Bu nedenle günümüzde, bitki ekstraktları test edilerek yapılan ve yaygın kullanıma sahip antimikrobiyal aktivite çalışmaları da önem arz etmektedir.

Alternatif etkili doğal kaynakların bulunmasına yönelik yapılan çalışmalara ek olarak, bu çalışmada Asteraceae familyasından çok yıllık *Achillea* türlerinden *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi seçilmiştir. Bitkinin sahip olduğu etken madde içeriği üzerinde ekolojik faktörlerin rol oynayabileceği düşünölmektedir. Bu nedenle bu çalışmada; *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin genotoksik, antigenotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelinin mevsime, yetiştiği lokasyona, elde edilen ekstrakt çeşidine ve doza bağlı olarak anlamlı bir farka sahip olup olmadığının araştırılması ve böylelikle bitkinin optimum toplanma ve kullanım şekli için de bilimsel bir temel oluşturulması amaçlanmıştır. Yapılan bu kapsamlı karşılaştırmalı çalışma, *Achillea* türleri ile yapılan çalışmalar arasında ilk ve diğer bitki türleri için de nadir olma niteliği taşımaktadır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Sitotoksisite ve Genotoksisite

Kısaca zehir bilimi olarak tanımlanabilen toksikoloji, biyolojik sistemlerde kimyasal ya da fiziksel ajanların neden olabileceği olumsuz etkileri inceleyen ya da bu ajanların zararsızlık limitlerini ortaya koymaya çalışan bilim dalı olarak nitelendirilebilir. Toksikoloji denilince ilk akla gelen isim, modern tıbbın kurucularından olan Paracelsus'tur. Yaklaşık 500 yıl önce Paracelsus'un zehrin tanımını yaparken kullanmış olduğu ifadeler ile şimdiki modern toksikolojinin temelini attığı söylenebilir. Paracelsus'a göre; "Her madde zehirdir. Zehir olmayan madde yoktur; zehir ile ilacı ayıran dozdur". Bu konuyla ilgili günümüze kadar yapılan çok sayıda bilimsel çalışma ile maruz kalınan maddelerin olası riskleri daha iyi anlaşılabilmiş ve böylelikle insan sağlığına zarar verebilecek maddelere karşı gereksiz maruziyet önlenmiştir.

Toksikoloji, oldukça geniş araştırma konusuna sahip bir bilim dalıdır ve çalışma alanlarına göre farklı alt dallara ayrılmaktadır. Bu alt dallardan, maddelerin canlıların temel yapıtaşısı olan hücreler üzerine etkilerini inceleyen bilim dalı "sitotoksikoloji"; geliştirilen çeşitli genetik tekniklerle elde edilen kromozomlar üzerine etkilerini inceleyen bilim dalı da "genotoksikoloji" olarak adlandırılmaktadır. Kromozomal veya DNA'da hasara neden olan maddelere de genotoksin denilmektedir. Eğer bu hasar (mutasyon) bir eşey hücresinde gerçekleşirse, kalıtsal olarak değişmiş bir özelliğe neden olabilmektedir. Ayrıca, somatik bir hücrede oluşan DNA hasarı da somatik bir mutasyon ile sonuçlanarak habis transformasyona (kansere) neden olabilmektedir.

Potansiyel sitotoksik, genotoksik, mutajenik ve kanserojenik etkinin belirlenebilmesi için günümüzde birçok test sistemi geliştirilmiştir. Bu testlerden *in vivo* testler ile doğrudan ya da *in vitro* testler ile dolaylı olarak etki belirlenebilmektedir. Genotoksisite çalışmaları için tasarlanan bu *in vitro* ve *in vivo* deney modelleri ile DNA hasarı veya bunun prokaryotik veya ökaryotik hücrelerdeki biyolojik sonuçları saptanabilmektedir. 1960 ve 1970'li yıllarda, genotoksik potansiyele sahip maddelerin ve bunların çevresel etkilerinin belirlenmesi için bitkilerin kullanıldığı birkaç genotoksisite testi geliştirilmiştir (Ma, 1981; Mişik ve ark., 2011). Fenotipik değişikliklerin saptanması esasına dayanan gen mutasyon testleri, birkaç bitki (*Zea mays*, *Glycine max*, *Hordeum vulgare* ve *Arabidopsis thaliana*) ile belirlenmekteydi. Bu modeller pahalı ve zaman alıcı olmalarından dolayı günümüzde nadiren kullanılmaktadır. Kromozomal anomalilerin

belirlenmesine dayalı diğer yaklaşımlar, daha kısa sürede sonuç alınabilen mikronükleus (MN) testleriyle değiştirilmiştir.

Genotoksisite testleri ile genomu etkileyebilen parazitik enfeksiyonların tespiti, bazı hastalıklarda artan DNA hasarının tayini, kimyasal maddelerin (tatlandırıcılar, gıda katkı maddeleri, nanopartiküller, bitkisel ürünler, ilaçlar gibi) etki potansiyeli hakkında bilgi edinebilme ve kansere duyarlılığın tespit edilmesi mümkün olmaktadır (Mateuca ve ark., 2006). Ayrıca bu testler, çevresel kimyasalların ve tüketici ürünlerinin güvenilirliğini değerlendirmek ve bilinen veya şüphe edilen kanserojenlerin etki mekanizmalarını ortaya çıkarmak için de kullanılmaktadır.

2.1.1. *Tradescantia* Stamen Tüyü Mutasyon Analizi

Bazı bitkilerin sahip olduğu özel gen bölgelerinden yararlanılarak tasarlanmış mutasyon analizleri ile maddelerin genotoksisitesini belirlemek mümkün olmaktadır. Bu analizlerin temeli, bir ya da iki lokusta heterozigot olan özel olarak oluşturulmuş test suşlarına veya klonlara dayanmaktadır. Test edilen maddenin genotoksik potansiyele sahip olması durumunda, test suşlarına veya klonlara uygulandıktan kısa süre sonra somatik mutasyonlar ortaya çıkmaktadır. Bu somatik mutasyonlar; yapraklar, çiçek petalleri, stamen tüyleri üzerindeki farklı renklerdeki doku bölgeleri şeklinde kendisini göstermektedir. *Tradescantia* stamen tüyü analizinde pembe renkli mitotik hücrelerin oluşumu, somatik resesif mutasyonların varlığına işaret etmektedir (Akı ve Karabay, 2004).

Tradescantia stamen tüyü mutasyon (Trad-SHM) analizi, 1950'li yılların sonlarında Dr. Arnold H. Sparrow ve arkadaşları tarafından bulunmuş ve 1960'lı yıllar boyunca aynı ekip tarafından geliştirilmiştir (Ma ve ark., 1994). *Tradescantia* ile yapılan ilk çalışmalar nükleer radyasyonun genetik materyal üzerine olan etkileriyle ilgili olmuştur (Sparrow ve ark., 1972). Daha sonra bu test, havada bulunan maddelerin, uçucu organik bileşiklerin ve sıvı formdaki kimyasal maddelerin mutajenik aktivitesini araştırmak üzere uyarlanmıştır (Sparrow ve Schairer, 1971; Schairer ve ark., 1982).

Trad-SHM analizi basit, uygun maliyetli, 11-14 gün içinde sonucun alınabileceği kısa süreli, arazi ya da laboratuvar koşullarına uyarlanabilen bir mutajenite belirleme testidir. Bu testte esas hücreler, genç çiçek tomurcuklarında gelişen mitotik stamen tüyü hücreleridir. *Tradescantia* (özellikle 4430 klonu) bitkisinin bu stamen tüyü hücreleri, çiçek rengi için heterozigottur. Böylece, maviden (dominant) pembeye (resesif) olan renk değişimi ile gerçekleşen fenotipik değişiklik sonucu mutasyon görünür hale gelmektedir.

Bu nedenle, mavi allele meydana gelen mutasyonların çoğu mavi hücreler arasında resesif bir pembe hücre oluşmasına neden olmaktadır. Bu sırada ortaya çıkan mutant pembe hücre bölünmeye devam edebilmekte ve birden fazla sayıda pembe hücre sürekli bir dizi oluşturabilmektedir. Bu şekilde mavi hücreler tarafından ayrılmış pembe bir hücre dizisi, sadece tek bir mutasyon olarak dikkate alınmaktadır. Bir ya da daha fazla mavi hücre ile ayrılmış iki adet pembe hücreye sahip bir stamen tüyü iki ayrı mutasyona uğramıştır diye düşünülmektedir (Underbrink ve ark., 1973; Schairer ve ark., 1982). Genellikle mutasyon oranı 1000 stamen tüy hücresinde gerçekleşen mutasyon sayısı dikkate alınarak hesaplanmaktadır (Ma ve ark., 1994).

Akut uygulamalarda uygulamadan yaklaşık 7 gün sonra pembe renkli stamen tüyü hücrelerinin hesaplanabilir olmasına karşın, mutasyonların gözlenebildiği en iyi sürenin 8.-14. günler olduğu saptanmıştır. Birkaç gün süren kronik uygulamalarda ise, iyileşme süresinin buna göre ayarlanması gerektiği vurgulanmaktadır (Ma ve ark., 1994).

Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS)'nin desteklediği bir çalışmada, aralarında Trad-SHM analizinin de bulunduğu *Tradescantia* test modellerinin başarısı, beş farklı laboratuvarında bilinen dört genotoksik kimyasalla değerlendirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Trad-SHM testinin, mutajenite açısından kimyasalların taranması için güvenilir bir sistem olduğunu doğrulamıştır (Rodrigues ve ark., 1997).

2.1.2. DNA Kesme ve Koruma Aktivitesi

DNA kesme aktivitesi, hidrolitik veya oksidatif olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Hidrolitik yolla kesme işlemi, DNA'nın fosfodiester bağında meydana gelirken; oksidatif yolla kesme işlemi ise, şeker veya nükleobazlarda meydana gelmektedir. Çift sarmallı DNA molekülünün hidrolitik olarak kesimi, fosfodiester bağının hidrolizi ile sonuçlanmaktadır. Oksidatif olarak DNA kesimi, hidroksil radikali (HO[•]), süperoksit (O₂⁻) veya singlet oksijen (¹O₂) türleri gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasıyla başlamaktadır. Bu serbest radikaller, şeker hidrojenlerini ayırarak DNA kesimini başlatmakta ve sonuçta DNA kesim ürünleri oluşmaktadır.

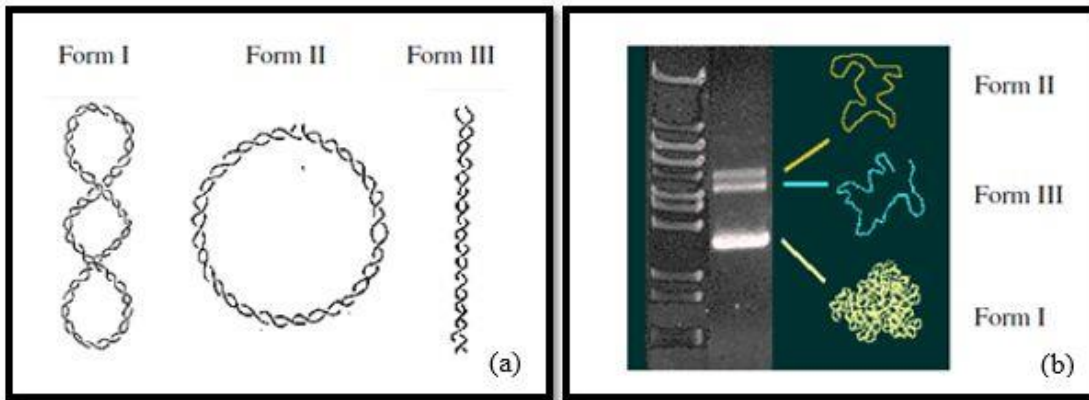
DNA kesme ve koruma aktivitesinin belirlenmesi amacıyla DNA cleavage testi kullanılmaktadır. Bu test ile hem DNA'da hasara yol açan hem de DNA hasarına karşı koruyucu özelliğe sahip maddeler tespit edilebilmektedir. Bu amaçla testte, Form I olarak adlandırılan plazmid DNA'nın Form II ve/veya Form III şekline dönüşüp dönüşmediği incelenmektedir. Form I, II ve III olarak ifade edilen plazmid DNA'lar kısaca şu şekilde tanımlanabilir:

Form I: Supercoiled form; süper kıvrımlı çembersel DNA

Form II: Relaxed circular form; tek zincir kırığı içeren çembersel DNA

Form III: Linearized form; iki zincirde de bir veya birden fazla kırık içeren doğrusal DNA

Bu formlar agaroz jel elektroforezde farklı hızlarda hareket ederler. Örneğin; yük yoğunluğu fazla ve hacmi az olduğundan dolayı jelde en hızlı Form I hareket etmektedir. Hareket hızlarına göre Form I>Form III>Form II şeklinde sıralanmaktadırlar (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. (a) Plazmid DNA'nın farklı formları ve (b) agaroz jel elektroforezindeki bant görünüşleri

2.1.3. *Allium cepa* L. Kök Meristematik Hücre Testi

Allium cepa L. kök meristematik hücre testi başta kimyasalların genotoksik potansiyellerinin belirlenmesinde, çevresel kirliliğin tespitinde, bitki ekstraktlarının anti/genotoksik etkilerinin belirlenmesinde yaygın olarak tercih edilen bir hızlı tarama testidir (Fiskeşjö, 1985).

Bitkinin tüm yaşamı boyunca bölünebilme yeteneğinde olan meristematik dokular, mitoz bölünmenin incelenmesi için en uygun materyallerdir. Bitki meristematik dokularından kök uçları, test edilecek kimyasallar ve kirleticilerle bire bir temas eden kısımdır. Bu bakımdan, kök meristematik hücreleri bu maddelere karşı duyarlı olmakla birlikte; yeni gelişen köklerde meydana gelen inhibisyon ve/veya kök meristematik hücrelerinin kromozomlarında gözlenebilen anormallikler test edilen maddenin toksisitesi hakkında genel bir bilgi sağlamaktadır.

Bitkilerin anti/genotoksik potansiyellerini belirlemek amacıyla farklı test sistemleri uygulanmaktadır. Bu sistemler arasında en yaygın olarak kullanılanlardan birisi de *A. cepa* testidir. Bu test ilk defa Levan tarafından 1938 yılında kolşisinin etkisini belirlemek

amacıyla denenmiştir. Daha sonraki yıllarda bu temel test sistemine belirli modifikasyonlar yapılarak kullanım alanı geliştirilmiştir (Fiskesjö, 1985). *Allium* testi hızlı, güvenilir, uygulanması kolay ve ekonomik bir test sistemidir. Kök uçları ile uğraşmak kolaydır ve bunlar konsantrasyonu ayarlanabilen kimyasallarla doğrudan etkileştirilebilir. *A. cepa* türünün az sayıda ($2n=16$) ve büyük kromozomlara sahip olması da bu testin kullanılabilirliğini arttırmıştır. Ayrıca, prokaryotik veya ökaryotik canlılarla yapılan diğer alternatif kısa dönem toksisite test sistemleriyle iyi bir korelasyon göstermektedir (Fiskesjö, 1985; Marco ve ark., 1986).

Toksisite çalışmalarında kök ucu sistemlerinin incelenmesi hızlı, ucuz ve hassas bir yöntemdir. Ayrıca bu yöntem sayesinde; kök uçlarındaki büyüme düzensizlikleri ile makroskobik, mitotik indeksin ve kromozomal anormalliklerin belirlenmesi ile mikroskobik seviyede gözlem yapılabilmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada büyük yapıda ve az sayıda kromozomlara, kısa çimlenme süresine ve düşük maliyete sahip *A. cepa* kök ucu hücre testi kullanıldı.

2.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Aktivite

Genellikle bir atom merkezi bir çekirdeğin etrafında dönen çift elektronlardan oluşur. Bununla birlikte; bazı atomlar, atom grupları veya moleküller son yörüngelerinde eşleşmeyen elektronlara sahiptir ve bunlar serbest radikaller olarak tanımlanmaktadır. Eşleşmemiş bu elektronlar diğer elektronlarla çift oluşturmaya eğilimli olurlar. Bu nedenle, serbest radikaller çoğunlukla kararsızdır ve oldukça reaktiftirler (Lobo ve ark., 2010).

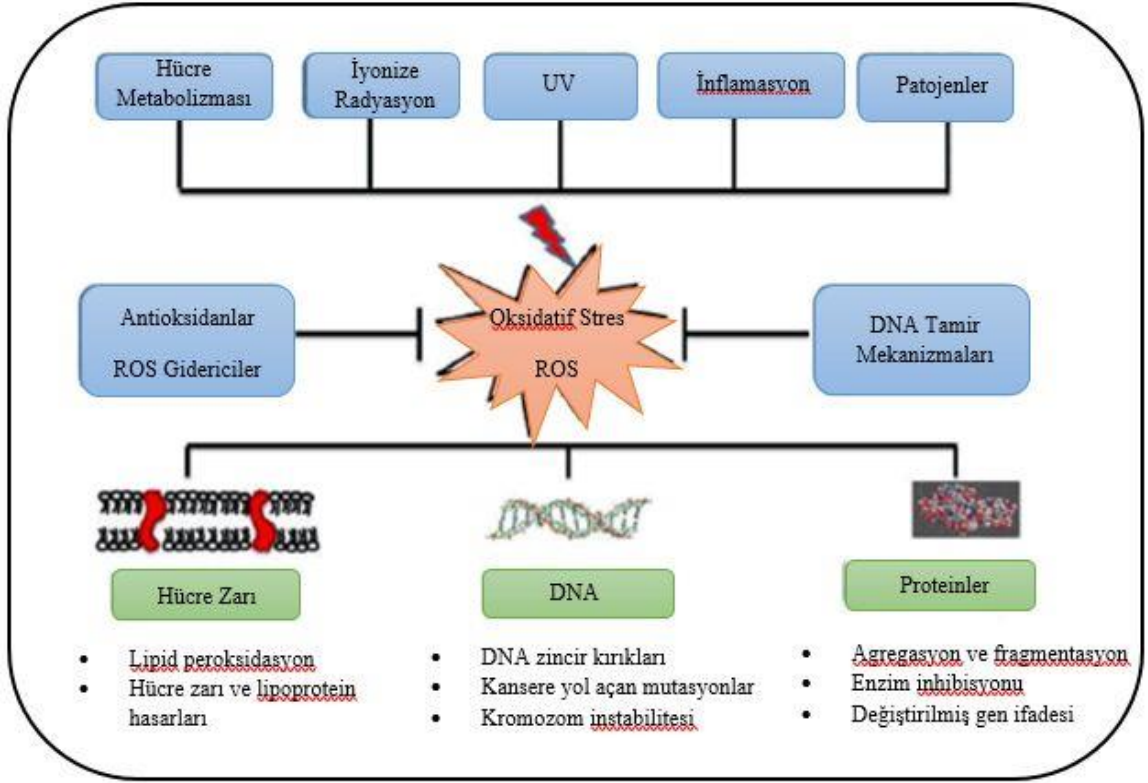
Yaşam için vazgeçilmez bir element olan oksijenin vücuda alınan ortalama %4'ü reaktif oksijen türleri (ROS) şekline dönüşmektedir. Bir oksijen molekülü (O_2) *in vivo* metabolize olduğunda dört elektron indirgenir. Bu işlem sırasında aktif oksijen metabolitleri, enerji ilavesi veya geçiş elementleri ile etkileşime bağlı olarak elektronların uyarılmasıyla üretilir. Bu şekilde üretilen aktif oksijen metabolitleri, orjinal oksijen molekülünden daha yüksek derecede reaktiftir ve bunlara aktif oksijen türleri denir. Kısaca, ROS kimyasal olarak reaktif, bir veya daha fazla oksijen atomu içeren moleküller olarak da tanımlanabilir. Bu moleküller, serbest radikalleri ve biyolojik molekülleri okside edebilen radikal olmayan reaktif bileşikleridir. Bu nedenle ROS aynı zamanda oksidanlar veya prooksidanlar olarak da ifade edilmektedir. Süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijen aktif oksijen türlerinden sadece birkaçıdır. Çizelge 2.1.'de sadece kimyasal formülün üstünde ve sağında bir nokta ile gösterilen eşleşmemiş elektrona sahip olan aktif oksijen türleri serbest radikallerdir. Bu aktif oksijen türleri

metabolik faaliyetler sırasında hücrelerde normal olarak üretilen, oldukça reaktif, toksik moleküllerdir. Proteinler, lipidler, enzimler ve DNA'ya kovalent bağlanma ve lipid peroksidasyonu ve ardından doku hasarı ile şiddetli oksidatif hasara neden olurlar (Şekil 2.2). Bu nedenle, doğal antioksidan ajanlar, serbest radikalleri süpürme kabiliyeti nedeniyle çok ilgi görmektedir (Lobo ve ark., 2010; Birben ve ark., 2012).

Çizelge 2.1. Temel aktif oksijen türleri

$O_2^{\cdot-}$	Süperoksit radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HO^{\cdot}	Hidroksil radikali
1O_2	Singlet oksijen
HOO^{\cdot}	Hidroperoksil radikali
$LOOH$	Alkilhidroperoksit
LOO^{\cdot}	Alkilperoksil radikali
LO^{\cdot}	Alkoksil radikali
ClO^-	Hipoklorit iyonu
$Fe^{+4}O$	Ferril iyonu
$Fe^{+5}O$	Periferril iyonu
NO^{\cdot}	Nitrik oksit

Aerobik organizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri için, bu yüksek derecede reaktif aktif oksijen türlerini gidermek için bir mekanizmanın bulunması şarttır. İnsan vücudu, enzimatik ve enzimatik olmayan (non-enzimatik) doğal kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Bu doğal sistem, serbest radikallerin ve diğer oksidanların zararlı etkilerine karşı vücudu korumaktadır. Serbest radikaller kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nöral düzensizlikler, Alzheimer, Parkinson, ülseratif kolit, yaşlanma ve aterosklerozun da dahil olduğu pek çok hastalığın nedeni olarak sorumlu tutulmaktadır (Ramakrishna ve ark., 1997; Bolton ve ark., 2000; Smith ve ark., 2000; Kinnula ve Crapo, 2004; Hyun ve ark., 2006; Singh ve Jialal, 2006; Sas ve ark., 2007). Serbest radikallere karşı koruma, beslenme düzeninde yer alan antioksidanların bol miktarda alımı ile arttırılabilmektedir.



Şekil 2.2. Oksidatif stresin olası etkileri (Sharma, 2014)

Bitki ekstraktlarının, beslenme düzenlerinde yer alan besinlerin ya da ticari antioksidanların antioksidan özelliğini araştırmak için çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Genel olarak bu yöntemleri *in vivo* ve *in vitro* olarak ayırmak mümkündür.

İnsan vücudundaki homeostasinin devamlılığı için fizyolojik sistemlerin dengede tutulması gerekmektedir. Eğer denge bozulursa, bir hastalık meydana gelebilir. Günümüzde yaygın olarak gözlenen kanser ve Alzheimer gibi komplike hastalıkların nedenlerinden birinin oksidatif stres olduğunu kanıtlayan çalışmalar çokça mevcuttur (Holmes, 2013). Örneğin, oksidatif stres doku ve hücre hasarına neden olabilir ve kolorektal kanser hücrelerinin proliferasyonunu hızlandırabilir (Kang ve ark., 2013). ROS ve lipid peroksidasyon oksidatif stres süreciyle ilişkili bileşiklere hasar vermektedirler. ROS seviyeleri ve antioksidan savunmaları arasındaki dengesizlik, Crohn hastalığı gibi çeşitli hastalıklarda meydana gelmektedir.

Canlı organizmaların hepsi oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemlerine sahip olmakla birlikte, bu sistemler hasarı tamamen önlemek için yetersizdir (Simic, 1988). Bu nedenle, hücresel DNA'yı oksidatif stresten kaynaklanan zararlardan korumak için doğal veya sentetik antioksidan kaynaklara ihtiyaç duyulmaktadır. Sentetik

antioksidanların karaciğer ve böbrek hasarı veya kanser oluşumu gibi potansiyel sağlık riskleri nedeniyle, son yıllarda doğal şifalı bitkilerin antioksidan özelliklerine ilişkin kapsamlı araştırmalara hız verilmiştir (Anlas ve ark., 2017). Bitkilerde bulunan doğal antioksidanlar, normal veya patolojik hücre metabolizmasından veya harici kaynaklardan üretilen serbest radikalleri ayırarak hücreleri oksidasyona karşı koruyabilirler (Durackova, 2010).

Oksidatif stres Alzheimer ve Parkinson hastalıkları yanında diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, romatizmal artrit, kanser gibi çok sayıda hastalıklara sebep olabilmektedir (Simonian ve Coyle, 1996).

Antioksidanlar; organizma tarafından üretilbildiği gibi, tüketilen besinler yoluyla da vücuda alınabilmektedir. Besinlerde yaygın olarak bulunan ve sağlığımızı serbest radikallere karşı koruyan başlıca doğal antioksidanlar arasında askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), retinoidler ve karotenoidler (A vitamini çeşitleri), polifenoller ve flavonoidlerdir. Meyve, sebze ve çay tüketimi ile belirli kanser ve kalp hastalıklarının oluşumu arasındaki ilişkiyi araştıran çoğu araştırmada beslenme alışkanlığının hastalık riskiyle bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır (Holt ve ark., 2009; Lobo ve ark., 2010).

Gıdalarda en yaygın olarak kullanılan bütil hidroksi toluen (BHT) ve bütil hidroksi anizol (BHA) gibi sentetik antioksidanların insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olduğundan veya bunları teşvik ettiğinden şüphelenilmektedir. Bu nedenle son yıllarda potansiyel antioksidan özelliğe sahip, etkili, toksik olmayan, doğal katkı maddelerini bulmaya yönelik yapılan çalışmalara karşı artan bir ilgi söz konusudur. Son yıllarda bitki kökenli birçok antioksidan kaynağı araştırılmıştır. Birçok aromatik bitkinin bu antioksidan özellikleri arasında, yağlarda ve yağlı gıdalarda lipid peroksidasyon sürecinin geciktirilmesinde etkili olduğu bulunmuş olup bu sonuç çok sayıda araştırma grubunun ilgisini çekmeyi başarmıştır (Kulisic ve ark., 2004).

Şimdiye kadar çeşitli aktivitelere sahip çok sayıda antioksidan türleri tespit edilmiştir. Antioksidan etkileri, kimyasal yapılarındaki hidroksil gruplarının varlığına bağlı olduğu belirlenmiştir (Vekiari ve ark., 1993; Shahidi, 2000).

Antioksidanlar diğer moleküllerin oksidasyonunu önleme ya da yavaşlatma yeteneğine sahip bileşiklerdir. Antioksidanlar, serbest radikalleri gidererek zincir reaksiyonları ve kendilerini oksitleyerek de diğerlerini bloke eden oksidasyon reaksiyonunu sonlandırabilirler. Bu nedenle, polifenoller ve flavonlar gibi antioksidanlar çoğunlukla indirgeyici etkenler olarak iş görürler (Shahidi, 1997).

Antioksidanlar, moleküler oksijen veya reaktif oksijen türlerinin etkisi altında oluşan oksidasyon süreçlerini geciktirme veya inhibe etme yeteneğine sahiptirler. Antioksidanlar, organizmanın serbest radikallerin saldırısına bağlı patolojilere karşı savunma mekanizmasından sorumludur, böylece bitki kaynaklı antioksidanların alınması, kanser, Parkinson, Alzheimer veya Ateroskleroz gibi oksidatif stresin neden olduğu dejeneratif hastalıkların önlenmesinde rol alır (Lai ve Lim, 2011). Bitkilerin toplam antioksidan aktivitelerini belirleyebilmek için spektrofotometrik, kromatografik ve elektrokimyasal teknikler bulunmaktadır. Polimerik ürünlerin, petrokimyasalların, gıda maddelerinin, kozmetik ürünlerin ve ilaçların stabilizasyonu için kullanılırlar (Pisoschi ve Negulescu, 2011).

Antioksidanlar, organizmanın serbest radikallerin saldırısına bağlı patolojilere karşı savunma mekanizmasına katılırlar (Pisoschi ve Negulescu, 2011).

Endojen antioksidanlar; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimler olabildiği gibi ürik asit, bilirubin, albümin, metalloproteinler gibi enzimatik olmayan bileşikler de olabilirler. Oksidatif stres durumunda ve organizmanın serbest radikal türlerine karşı korunması konusunda endojen faktörler yetersiz kaldığında, etken madde olarak bir antioksidan bileşik içeren besin takviyeleri veya farmasötik ürünler olarak ekzojen antioksidanlara ihtiyaç duyulmaktadır. En önemli ekzojen antioksidanlar arasında E vitamini, C vitamini, β -karoten, flavonoidler, Selenyum minerali, D vitamini ve K₃ vitamini bilinmektedir. Ekzojen antioksidanlar doğal kaynaklardan (vitaminler, flavonoidler, antosiyaninler, bazı mineral bileşikleri) türetilbildiği gibi bütil hidroksi anisol (BHA), bütil hidroksi toluen (BHT), galatlar gibi sentetik bileşikler de olabilmektedir (Pisoschi ve Negulescu, 2011).

Epidemiyolojik araştırmalara dayanan tavsiyeler, meyveler, sebzeler ve daha az işlenmiş temel yiyeceklerin, kanser, koroner kalp hastalığı, obezite, tip 2 diyabet, hipertansiyon ve katarakt gibi oksidatif stresin yol açtığı hastalıkların gelişimine karşı en iyi korumayı sağladığı şeklindedir (Halvorsen ve ark., 2002).

Meyve suları, içecekler ve sıcak içecekler, polifenoller, C vitamini, E vitamini, Maillard reaksiyon ürünleri, β -karoten ve likopen gibi yüksek miktarda antioksidan içerir (Ramadan-Hassanien, 2008).

BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlar serbest radikalleri nötralize etmede çok etkilidirler ve bu özelliklerinden dolayı yağ içeren gıdaları stabilize etmek için lipid peroksidasyon inhibitörleri olarak kullanılırlar. Bununla birlikte, bu sentetik antioksidanların kanserojen ve toksik özelliklere sahip olabileceklerini gösteren çalışmalar

nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Son yıllarda, sentetik antioksidanların yerine geçebilecek tokoferoller, flavonoidler gibi doğal antioksidanların keşfi üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır (Hassanbaglou ve ark., 2012).

Antioksidanlar, gıdaların serbest radikallerin neden olduğu oksidatif bozulmalarına karşı koruma sağlamak için gıda katkı maddeleri olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Gülçin ve ark., 2002). Son yıllarda, iyi antioksidan özelliklerinden dolayı doğal antioksidanlar için uçucu yağların ve çeşitli bitki ekstraktlarının taranmasına büyük ilgi duyulmaktadır. Gıdaların depolanma sürelerini uzatmak için BHT, BHA, tert-bütildihidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidan maddeler kullanılmaktadır. Ancak, bu maddelerin devamlı olarak tüketilmesi sakıncalı olabilir. Çünkü, yapılan son çalışmalar insan sağlığı ve çevre açısından toksik özelliğe sahip olabileceklerini göstermiştir (Wu ve ark., 2009). Dolayısıyla, doğal kaynaklı alternatif antioksidanların geliştirilmesi büyük ilgi görmüş ve genellikle istenen bir gelişme olarak düşünülmüştür (Jia ve ark., 2007).

Yapılan çalışmalar sonucu, meyve ve sebzelerin fazla miktarda antioksidan içerdikleri bilinmektedir. Bu ürünleri tüketen ve/veya diyetlerinde bu ürünlere yer veren insanlar kalp hastalıkları ve nörolojik rahatsızlıklar gibi serbest radikal hastalıkları için daha düşük bir riske sahip olmaktadır (Hassanbaglou ve ark., 2012). Ayrıca, tıbbi bitkilerin de antioksidan aktiviteye sahip oldukları fenolik diterpenler, flavonoidler, tanninler ve fenolik asitlerin varlığının tespit edilmesiyle gösterilmiştir (Dawidowicz ve ark., 2006). Tıbbi bitkiler, biyoaktif doğal bileşiklerin kaynağı olarak kabul edilmektedir. Antioksidanlar, oksidatif stresin neden olduğu hasarlara karşı vücudu koruma yeteneğine sahiptirler. Doğal antioksidanlara olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Örneğin, tıbbi bitkilerde ve gıdalarda bulunabilen polifenoller oksidatif hasarları önlemeye yardımcı olabilmektedir (Silva ve ark., 2005).

Bitki fenolik bileşikleri muhtemelen çok fonksiyonlu antioksidanlara sahiptir. Bu bileşiklerin oksijenden kaynaklanan serbest radikalleri gidermek için, radikale bir elektron ya da bir hidrojen atomu verdiği rapor edilmiştir (Wanasundara and Shahidi, 1998). Fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışma ile kanıtlanmıştır.

Bitkilerde sekonder metabolit profilini farklı faktörler belirleyebilmektedir. Türün genotipik özellikleri ve fenolojisi, fitokimyasal profili belirleyen temel unsurlardır (Fillipini ve ark., 2010). Biyotik (patojenler ve herbivor canlılar) ve abiyotik faktörler (ışık, sıcaklık, besin, su durumu ve coğrafi koşullar) bitkinin sekonder metabolit kimyasal kompozisyonunu doğrudan etkileyebilir (Moura ve ark., 2010; Sousa ve ark., 2011).

2.2.1. Sekonder Metabolitler

Yeryüzünde yaklaşık 300.000 tanımlanmış bitki türü farklı yapıda ve sınıfa ait muazzam sayıda bileşiği sentezleyebilmektedir. Bu bileşikler primer ve sekonder metabolitler olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer metabolitler şekerler, yağ asitleri, amino asitler ve nükleik asitler gibi metabolitler ile bitkilerin büyüme ve gelişmesi için gerekli ve hemen her yerde bulunan kimyasalları içerir. Sekonder metabolitler ise, yapısal ve kimyasal olarak primer metabolitlerden çok farklıdırlar. Sekonder metabolitler temel fotosentez veya solunum metabolizması için doğrudan gerekli olmayan, fakat doğada bitkilerin hayatta kalabilmesi için gerekli olduğu düşünülen özelleşmiş hücrelerde bulunan bileşikleridir. Bitkiler, biyotik ve abiyotik faktörlerin yarattığı stres durumlarına etkili bir şekilde tepki verebilecek onbinlerce sekonder metabolit ürünüyle bunlara yol açan metabolik yollara sahiptir. Sekonder metabolitlerin birikimi sıklıkla gelişim evrelerinin başlangıcını işaret eder. Gen ekspresyonunun sıkı bir uzamsal ve zamansal kontrolü çeşitli sekonder ürünlerin doğru bir şekilde birikimini sağlar. Ontojeni ve sirkadiyen saat kontrollü gen ekspresyonu, temel düzenleyici transkripsiyon faktörleri olduğu gibi bitki sekonder metabolizmasının da önemli özelliklerindedir. Sekonder metabolitler görünüşte savunma (herbivorlara, mikroorganizmalara, virüslere veya rakip bitkilere karşı) ile sinyal (tozlaşmayı sağlayan veya tohum dağıtıcı hayvanları çekmek için) ve ayrıca bitkiyi ultraviyole radyasyon ve oksidanlardan koruyucu olarak davranırlar. Belli bir bitkideki sekonder metabolit şablonu karmaşıktır; çünkü, doku veya organa spesifik olarak değişebilir. Ayrıca farklı gelişim aşamaları, bireyler ve popülasyonlar arasında da farklılıklar görülebilir. Bu sekonder metabolitler, biyosentez yollarına ve yapısal özelliklerine göre çeşitli gruplara ayrılırlar (Grace ve Logan, 2000; Lattanzio ve ark., 2006; Nascimento ve Fett-Neto, 2010).

Fenolik bileşikler, bitkiler aleminin her zaman bulunan ve en yaygın sekonder metabolitleridir. Bitkiler tarafından fotosentezde kullanılan karbonun %2'sinin flavonoidlere veya benzer bileşiklere dönüştürüldüğü tahmin edilmektedir (Balasundram ve ark., 2006).

2.2.1.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik bir halkaya sahip ve yapıları basitten yüksek moleküler ağırlıklı kompleks bir polimerinkine kadar değişebilen moleküllerdir. Sahip oldukları bu yapısal çeşitlilik nedeniyle, fenolik bileşikler grubuna sıklıkla polifenoller de denilmektedir (Balasundram ve ark., 2006).

Fenolik maddeler, bitkilerde çok çeşitli fizyolojik görevleri yerine getiren sekonder metabolitlerdir. Gelişmiş bitkiler, bilinen birkaç bin fenolik bileşik sentezlerler. Bitkilerin sahip olduğu fenolik bileşikleri sentezleme yeteneği, farklı bitki türlerinde evrimsel süreç boyunca seçilerek sürekli değişen çevresel zorluklarla başa çıkılmasına izin vermiştir.

Yüksek ışık, düşük sıcaklık, patojen enfeksiyonu, herbivorlar ve mineral madde eksikliği gibi çevresel streslerin bitkilerde serbest radikallerin ve diğer oksidatif türlerin üretiminde artışa neden olabileceği bilinmektedir. Bu aşamada, bitki fenoliklerinin savunma bileşikleri olarak önemli bir role sahip oldukları düşünülmektedir. Böylelikle, hem biyotik hem de abiyotik stres sekonder metabolitlerin üretilmesi yönünde bitkiyi uyarmaktadır.

Fenolik bileşikler, çevresel strese tepki olarak bitkiler tarafından üretilir. Işığın flavonoidlerin, özellikle antosiyaninlerin ve flavonların, fenilalanin amonyak liyaz (PAL) yoluyla sentezini teşvik ettiği bildirilmiştir (Dixon ve Paiva, 1995). Fenolik bileşiklerin DNA'yı dimerizasyon ve kırılmadan koruyarak UV-B hasarına ve ardından hücre ölümüne karşı bir koruma sağladığı düşünülmektedir (Strack, 1997). Bu nedenle düşük hava sıcaklığı, kısmi O₂ basıncının azalması, UV radyasyonunun artması ve olumsuz su rejimi gibi çeşitli stres faktörlerine maruz kalmış dağlık alanlardaki bitkilerde, genellikle flavonoidler gibi antioksidan birikiminde artış gözlenmektedir (Chanishvili ve ark., 2007).

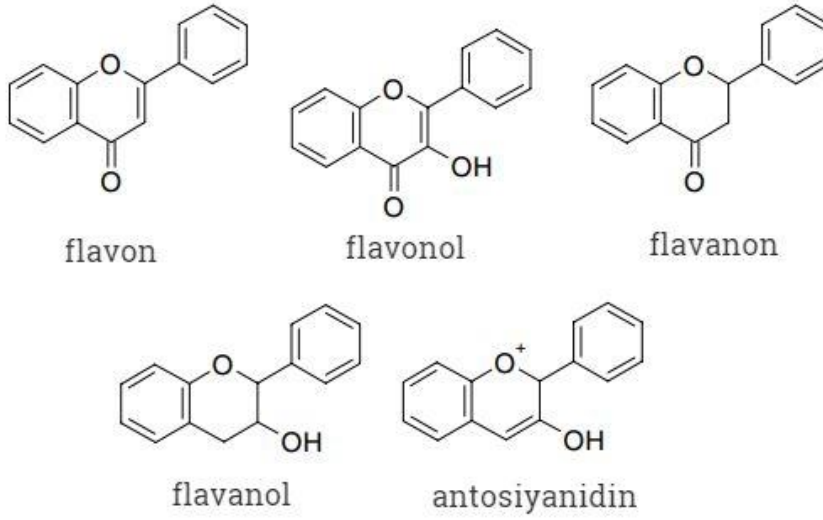
Fenolik bileşikler bitki kökenli hemen hemen tüm gıdalarda bulunur; ancak meyveler, sebzeler ve içecekler insan diyetinde bu bileşiklerin başlıca kaynaklarıdır (Hertog ve ark., 1993). Bu bitkisel gıdalar tüketildiğinde, bu fitokimyasallar da insan diyetlerinde doğal antioksidan alımına böylelikle katkıda bulunur.

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi, serbest radikalleri süpürme, hidrojen atomları veya elektron verme veya metal katyonlarını şelatlama yeteneklerinden ileri gelmektedir. Fenolik bileşiklerin yapısı, serbest radikal temizleme ve metal kenetleme aktivitesinin önemli bir belirleyicisidir. Örneğin; fenolik asitlerde antioksidan aktivite, karboksil işlevsel grubuyla ilişkili hidroksil gruplarının sayısına ve konumlarına bağlıdır (Robards ve ark., 1999; Amarowicz ve ark., 2004; Balasundram ve ark., 2006).

Fenolik bileşiklerin aşırı tüketimi sonucu ortaya çıkabilecek yan etkiler konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bazı fenolik bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarda alındığında kanser gelişimi, genotoksisite, tiroid toksisitesi, farmasötik maddelerle etkileşim ve östrojenik aktivite (izoflavonlar için) üzerine olası rolleri olabileceği ileri sürülmektedir (Mennen ve ark., 2005).

2.2.1.2. Flavonoidler

Flavonoidler, doğal fenolik bileşiklerin yarısından fazlasını oluşturan en büyük bitki fenolik grubu oluşturmaktadır (Harborne ve Baxter, 1999). Flavonoidler, C₆-C₃-C₆ konfigürasyonunda düzenlenmiş 15 karbon atomundan oluşan düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerdir. Flavonoidler en yaygınları flavonoller ve flavonlar olmak üzere flavanonlar, flavanoller (ya da katekinler), izoflavonlar, flavanonoller ve antosiyanidinler şeklinde sınıflara ayrılmaktadırlar (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Flavonoidlerin genel yapısı (Balasundram ve ark., 2006)

Antiklastojenik aktivite gösteren çeşitli flavonoidlere rağmen, bazı flavonoidlerin de çeşitli ökaryotik *in vivo* sistemlerde genotoksik olduğu gösterilmiştir. Kimyasal yapı-aktivite ilişkileri üzerine yapılan çalışmalar ile gerekli flavonoid yapısal özellikleri tanımlanmış olmasına rağmen, memeli hücre sistemlerinde değerlendirilen klastojenite için mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır (Snyder ve Gillies, 2002).

2.2.2. DPPH Giderme Aktivitesi

Serbest radikal giderme yöntemleri arasında DPPH yöntemi, diğer test modelleriyle karşılaştırıldığında çabuk sonuç alınabilen, basit işlem basamaklarından oluşan ve maliyeti düşük olan bir yöntemdir.

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (α,α -difenil- β -pikrilhidrazil; DPPH) molekülü, kararlı bir serbest radikal olarak tanımlanmaktadır. DPPH radikalinin indirgenmesi, reaksiyon sırasında belirli bir dalga boyundaki absorbans değerinde meydana gelen azalmanın izlenmesi ile takip edilmektedir.

Farklı reaktiviteye sahip pek çok radikal tür ($\cdot\text{OH}$, O_2^- , $\text{LOO}\cdot$, $\text{LO}\cdot$ vb.), lipid oksidasyonu sırasında oluşmaktadır. Nispeten kararlı organik DPPH radikali (DPPH \cdot), bileşiklerin ve farklı bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yöntem, hidrojen veren bir antioksidan varlığında alkolik DPPH \cdot solüsyonlarının indirgenmesine dayanmaktadır. DPPH \cdot solüsyonları, 517 nm'de koyu menekşe renginde güçlü bir absorpsiyon bandı göstermektedir. Absorpsiyon kaybolur ve oluşan renk giderme azalma derecesine göre stokiyometriktir. Kalan DPPH \cdot , belirli bir süre sonra ölçülür ve antioksidanın radikal giderme aktivitesine ters orantılı olur (Blois, 1958).

DPPH yöntemi, β -Karoten yönteminden daha hızlıdır ve yeni antioksidanların araştırılmasında radikal giderme aktivitesinin hızlı bir tahmini ve ön bilgi için yararlı olabilir. Yöntem hassastır ve az miktarda örnek yeterlidir (Blois, 1958). Yöntem, hem lipofilik hem de hidrofilik maddelerin test edilmesine olanak sağlar (Kulisic ve ark., 2004).

2.3. Antimikrobiyal Aktivite

Bakterilerin sebep olduğu bulaşıcı hastalıklar yaygın bir halk sağlığı problemidir (Zhang ve ark., 2006). *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* ve *Proteus vulgaris* gibi bakteriyel ajanlar çeşitli insan enfeksiyonlarına neden olur (Pitout, 2008). Son zamanlarda ortaya çıkan antibiyotik direnci ve buna bağlı toksisite sorunları, antimikrobiyal ajanların kullanımını sınırlamaktadır (Eggleston ve ark., 2010). Bu nedenle, bilim insanları toksik olmayan doğal antimikrobiyal ajanları bulmaya yönelik çalışmalar yapmaktadırlar.

Bitkiler, antimikrobiyal ajanların potansiyel kaynağıdır. Gelişmekte olan ülkelerdeki nüfusun yaklaşık %60-90'ı bitki kökenli ilaç kullanmaktadır. Geleneksel olarak, ham bitki özütleri insan bulaşıcı hastalıkların tedavisinde bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır. Bitkiler, *in vitro* antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bulunan tanenler, terpenoidler, alkaloidler ve flavonoidler gibi çeşitli fitokimyasal maddeler bakımından zengindir (Alviano ve Alviano, 2009; Talib ve Mahasneh, 2010).

Gastrointestinal hastalıklar, Enterobacteriaceae familyasının içerdiği birçok bakteri türünden (*Clostridium difficile*, *Salmonella enterica*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Bacillus cereus*, *Helicobacter pylori*, enterotoksijenik *Escherichia coli* gibi) kaynaklanmaktadır. *Bacillus cereus*, çoğunlukla patojen olmayan bir bakteri türüdür; ancak bazı suşları hayvanlarda gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilmektedir.

Bazı bitki türleri ile yapılan antimikrobiyal çalışmalarda, çeşitli enterik patojenlere karşı umut verici bakteriyostatik ve bakterisidal aktiviteler gösteren türler keşfedilmiştir (Enwa ve ark., 2013). Bu etkilerin, bitkilerin sahip olduğu alkaloidler, flavonoidler, taninler, terpenoidler, glikozitler, saponinler, antrakınonlar gibi biyoaktif fitokimyasal maddeler varlığı sebebiyle olduğu bilinmektedir.

Fenolikler, fenoller veya polifenolikler (veya polifenol ekstraktları), bitkilerin meyve renginden sorumlu doğal renk pigmentleri olarak her yerde bulunan kimyasal bileşenlerdir. Bitkilerdeki fenolikler çoğunlukla fenilalanin amonyak liyaz (PAL) hareketiyle fenilalaninden sentezlenir. Bitkiler için çok önemlidir ve çok işlevlidir. En önemli rolü patojenlere ve otçul predatörlerine karşı bitki savunmasında olabilir ve bu nedenle insan patojenik enfeksiyonlarının kontrolünde uygulanır (Dixon ve Paiva, 1995; Nascimento ve Fett-Neto, 2010).

Bitkisel bileşenler, patojen bakteri suşlarına karşı farklı etki şekilleri gösterebilirler. Bunlar; bakteriyel hücre membran geçirgenliğinin artması ile hücresel yapıların kaybı ile sonuçlanan fosfolipit hücre membranları ile etkileşim, yapısal bileşenlerin sentezinde ve hücresel enerji üretiminde rol oynayan enzimlerin zarar görmesi, genetik materyalin inaktivasyonu ya da parçalanması şeklinde olabilmektedir. Genel olarak etki mekanizması; sitoplazmik zarın bozulması, proton hareket gücünün kesintiye uğratılması, elektron akışı, aktif taşıma mekanizmaları ve hücre kompozisyonunun koagülasyonu şeklindedir (Kotzekidou ve ark., 2008).

Antimikrobiyal direnç, çevresel sorunlar, kanserojenite, yan etkiler ve yüksek maliyeti de içeren geleneksel antibiyotik uygulanmasına ilişkin sorunlar, sentetik antimikrobiyaller yerine doğal alternatif ajanların kullanımına yönlendirmiştir (Gortzi ve ark., 2006). Bitkisel bazlı ürünler, geleneksel antibiyotiklerin yerini almak için araştırılan alternatif ajanlar arasında yer almaktadır (Immanuel ve ark., 2004). Bu nedenle, çeşitli patojenik mikroorganizmaların büyümesini engelleyebilme özelliği gösteren bitki ekstraktları ve uçucu yağların antimikrobiyal etkisini değerlendirmek için kapsamlı araştırmalar yapılmış olup bu çalışmalar artarak devam etmektedir (Ayatollahi-Moosavi ve ark., 1996).

Fungal enfeksiyonların kontrol altına alınması konusu antifungal ilaçların sınırlı sayıda olması, toksisite, yüksek maliyet, yaygın olarak kullanılan antifungal ilaçlara olan dirençlilik ve enfeksiyonların yeniden ortaya çıkması gibi pek çok problemi de beraberinde getirir. Bu nedenle yeni antifungal ajanların keşfedilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Aleksic ve Knezevic, 2014).

Antimikrobiyal ajanlarda protozoonlar, funguslar, bakteriler ile hayvan hücreleri arasındaki farklılıklardan yararlanılmaktadır. Amaç, bu patojenlere karşı yüksek derecede seçici toksisiteye sahip olup aynı zamanda insan sağlığı açısından toksik etkisi olmayan maddeleri keşfetmektir.

Bitki ekstraktlarının ve uçucu yağlarının antimikrobiyal etkileri çeşitli etki mekanizmalarıyla açıklanabilmektedir. Ekstrakt ve uçucu yağ bileşenlerinin kimyasal kompozisyonları ve miktarlarının değişkenliği nedeniyle sahip oldukları antimikrobiyal etki mekanizmaları da çeşitlilik gösterebilmektedir. Bu bileşenlerin hücresel seviyede çeşitli etkiye sahip oldukları düşünülmektedir. Bu antimikrobiyal etki mekanizmalarını genel olarak 6 gruba ayırmak mümkündür: (1) hücre zarının parçalanması, (2) ATPazlar ve diğer membran proteinleriyle etkileşim, (3) lipopolisakkaritlerin serbest bırakılmasıyla Gram negatif bakterilerin dış membranının bozulması, (4) iyon sızıntısı ile proton itici gücün istikrarsızlığı, (5) hücre içeriğinin koagülasyonu ve (6) enzim sentezinin inhibisyonu (Hammer ve ark., 2008; Amensour ve ark., 2010).

Antimikrobiyal ilaçların keşfedilmesinden bu yana, bu tür ilaçların bakteriyal enfeksiyonların kontrolünde oldukça etkili oldukları yapılan çok sayıda çalışma ile kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, bazı bakteriyal patojenlerin ilk keşfedilen antimikrobiyal etkili ilaçların çoğuna karşı hızlı bir şekilde dirençli hale geldikleri gözlenmiştir (Barbour ve ark.,2004). Bu nedenle, patojen mikroorganizmalara karşı etkili yeni ilaç arayışları başlamış olup, bu direnç mekanizması nedeniyle de halen devam etmektedir.

Antimikrobiyal duyarlılık testleri yeni bir ilaç keşfi, tedavi sonuçlarının tahmini ve epidemiyoloji için yapılmaktadır. Tetrasiklinler, sefalosporinler, aminoglikozitler ve makrolidler gibi nerede ise tüm önemli antibiyotik gruplarının keşfedilmesiyle 1960'lı yıllarda kemoterapi ile ilgili temel sorunlar çözülmüştür. Günümüzde ise, bu heyecan verici bileşikler mikrobiyal direncin artması nedeniyle etkinliklerini kaybetme tehlikesiyle karşı karşıya kalmış durumdadırlar (Mayers ve ark., 2009). Son yıllarda, birden fazla ilaca direnç geliştiren bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde gözlenen sıkıntılar küresel ölçekte bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bu nedenle, yeni antibiyotiklerin keşfi önemli bir hedef haline gelmiştir. Çeşitli prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlardan elde edilen doğal ürünler, bugün hala yeni ilaç moleküllerinin en önemli kaynaklarından birini oluşturmaktadır (Berdy, 2005; Balouiri ve ark., 2016). Bitkiler ve diğer doğal kaynaklar, kompleks ve farklı yapıda çok çeşitli bileşikler sağlayabilir. Son zamanlarda, birçok araştırmacı bitkisel ekstraktlar, uçucu yağlar, sekonder metabolitler ve potansiyel antimikrobiyal ajanlar olarak yeni sentezlenmiş

moleküller üzerine yoğunlaşmıştır. Bununla birlikte; bu doğal ürünlerin antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde, izlenen farklı standart dışı yaklaşımlar nedeniyle sonuçların karşılaştırılması zordur (Balouiri ve ark., 2016).

Bir ekstraktın veya saf bir bileşiğin *in vitro* antimikrobiyal aktivitesini araştırmak ve değerlendirmek için laboratuvar ortamında çeşitli yöntemler kullanılabilir. En çok bilinen ve uygulanan yöntemler, agar disk difüzyon ve broth dilüsyon yöntemleridir. Diğer yöntemler ise, özellikle antifungal aktiviteyi test etmek için kullanılmaktadır.

2.3.1. Agar Disk Difüzyon Testi

Difüzyon yöntemlerinden agar disk difüzyon testi, 1940 yılında geliştirilen ve birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarında rutin antimikrobiyal duyarlılık testi için kullanılan temel yöntemdir. Günümüzde, bakteri ve maya testleri için Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından birçok kabul edilmiş ve onaylanmış standartlar yayınlanmıştır.

Agar disk difüzyon testinde, agar plaklara (genellikle Müeller Hinton Agar, MHA) test mikroorganizmasının standardize edilmiş bir miktarı (son inokülüm büyüklüğü bakteriler için $1-2 \times 10^8$ kob/mL; mayalar için $1-5 \times 10^6$ kob/mL) inoküle edilir. Daha sonra, farklı dozlarda test bileşiği içeren filtre kağıdı diskleri (yaklaşık 6 mm çapında) steril bir pens yardımıyla agar yüzeyine belirli aralıklarla yerleştirilir. Petri kapları test mikroorganizmasına göre uygun koşullarda (bakteriler için 35 ± 2 °C'de 20-24 saat; mayalar için 28 ± 2 °C'de 48 saat) inkübasyona bırakılır. Genellikle, antimikrobiyal ajan agara yayılır (difüzyon) ve test mikroorganizmasının büyümesini ve üremesini engeller. Inkübasyon sonunda, inhibisyon büyüme bölgelerinin çapları milimetrik olarak ölçülür (CLSI, 2004; 2012a).

Antibiyogram, bakterileri duyarlı, orta dirençli veya dirençli olarak sınıflandırarak niteliksel sonuçlar sağlar. Bu nedenle, test edilen mikrobiyal suşun direnç fenotipine dayalı bir yazım aracıdır. Antibiyogram sonuçları, klinisyenleri ilk ampirik tedavilerin uygun seçiminde ve belirli durumlarda bireysel hastalar için kullanılan antibiyotiklere yönlendirir (Caron, 2012). Bununla birlikte; bakteriyel büyüme inhibisyonu bakterilerin öldürülmesi anlamı taşımadığı için, bu yöntem bakteriyostatik ve bakterisidal etkileri ayırt edemez. Aynı zamanda, agar ortamına yayılan antimikrobiyal maddenin miktarının nicelleştirilmesi mümkün olmadığından dolayı, agar disk difüzyon yöntemi minimum inhibisyon konsantrasyonunu (MİK) belirlemek için uygun bir yöntem değildir. Yine de, depolanmış algoritmalarla inhibisyon bölgeleri karşılaştırılarak, bazı mikroorganizmalar ve

antibiyotikler için uygun MİK değerleri hesaplanabilir (Nijs ve ark., 2003).

Agar disk difüzyon yöntemi, diğer yöntemlerle kıyaslandığında pek çok avantaja sahiptir. Uygulama kolaylığı, düşük maliyet, çok sayıda mikroorganizma ve ajanın test edilebilmesine olanak sağlaması ve elde edilen sonuçların yorumlanabilme kolaylığı bu testin avantajları arasında sayılabilir. Ayrıca, yapılan birçok araştırma bakteriyel enfeksiyon geçiren hastaların etken maddenin antibiyogramına dayalı bir antibiyoterapiye karşı büyük ilgi duyduklarını göstermiştir. Bu ise, *in vitro* ve *in vivo* veriler arasındaki korelasyonun uyumlu olmasından kaynaklanmaktadır (Caron, 2012).

2.3.2. Dilüsyon Yöntemleri

Dilüsyon yöntemleri, MİK değerlerinin belirlenmesi için en uygun yöntemlerdendir. Bu yöntemlerde, agarda (agar dilüsyon) ya da sıvı besin ortamında (broth) (makrodilüsyon ya da mikrodilüsyon) test edilen antimikrobiyal ajanın etkili olduğu konsantrasyon belirlenebilmektedir. Bakteri ve funguslarda *in vitro* antimikrobiyal aktiviteyi kantitatif olarak belirleyebilmek için agar ya da broth dilüsyon yöntemi kullanılabilir. Kaydedilen MİK değeri, test edilen antimikrobiyal maddenin test edilen mikroorganizmanın görünür düzeydeki büyümesini inhibe eden en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanır. Bu ise, genellikle µg/mL ya da mg/L olarak ifade edilir. Kültür ortamında zor yetişen bakteriler de dahil olmak üzere bakterilerin, mayaların ve filamentli mantarların dilüsyon antimikrobiyal duyarlılık testleri için standartlar, Klinik ve Laboratuvar Standartları Kurumu (CLSI) ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) tarafından sağlanmaktadır. Bu kılavuz ilkeler, çoğu klinik mikrobiyoloji laboratuvarında uygulanması pratik olan testler için tek bir prosedür oluşturmaktadır. Bu metodolojik standartların geliştirilmesi, bu testlerin klinik açıdan uygun olduğunu garanti etmemekle birlikte; sonuçların klinik önemini değerlendirmek için uygulanan testlerin standartlaştırılmış bir yaklaşımla uygulanmasına izin vermektedir (Pfaller ve ark., 2004).

2.3.2.1. Broth Dilüsyon Yöntemi

Makrodilüsyon ya da mikrodilüsyon olmak üzere iki farklı şekilde uygulanabilen broth dilüsyon yöntemi, en temel antimikrobiyal duyarlılık test yöntemlerinden biridir. Yöntemde, potansiyel antimikrobiyal aktivitesi test edilecek maddenin iki katı olacak şekilde sıvı besin ortamında (brothda) dilüsyonları hazırlanır (örneğin; 5, 10, 20, 40, 80, 160 µg/mL gibi). Uygulamada, içerisinde minimum 2 mL besin ortamı içeren tüpler

kullanıldığında “makrodilüsyon”; 96 kuyucuklu mikroplakalar kullanıldığında ise “mikrodilüsyon” olarak adlandırılmaktadır. Maddenin seyreltilmesinin ardından her bir tüp ya da kuyucuk, 0,5 McFarland ölçeğine göre ayarlanmış standart mikrobiyal süspansiyonundan alınan belli bir hacimdeki mikrobiyal aşı ile inoküle edilir. İyice karıştırılan tüpler ya da mikroplakalar, test mikroorganizmasına bağlı olmak üzere uygun şartlarda inkübasyona alınır (CLSI, 2002; 2012b).

MİK, tüplerdeki veya mikrodilüsyon kuyucuklarındaki organizmanın büyümesini tamamen inhibe eden antimikrobiyal maddenin çıplak gözle saptanan en düşük konsantrasyonudur. Reaktiflerin az miktarda yeterli olması, fazla alana ihtiyaç duyulmaması, tekrarlanabilir olması gibi büyük avantajları nedeniyle broth mikrodilüsyon yöntemi daha çok tercih edilmektedir (CLSI, 2012b).

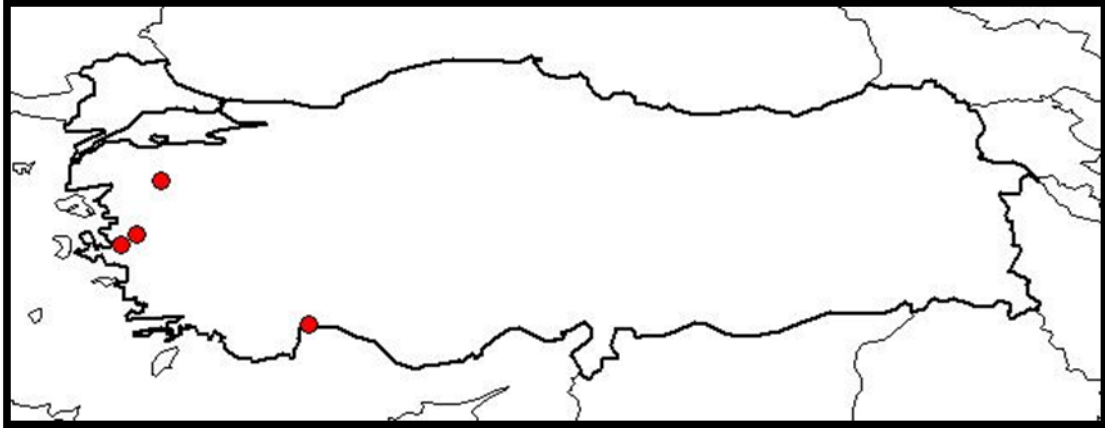
2.4. *Achillea* L. Cinsinin Genel Özellikleri

Ülkemiz tıbbi ve aromatik bitki yönünden zengin bir floraya sahiptir. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye doğal florasında da yer alan bitkilerin halk arasında çay, baharat, gıda, boya, kozmetik, biyopestisit endüstrisinde ve tedavi amaçlı olarak yaygın bir kullanım alanı bulunmaktadır. Yüksek endemizm oranına (yaklaşık %30) sahip ülkemizde 9000’e yakın doğal bitki türü bulunmaktadır. Ancak sahip olunan bu bitkisel zenginlik yeterince değerlendirilememektedir (İlçim ve Dığrak, 1998). *Achillea* L. cinsinin de Türkiye florasında 42 türü bulunmaktadır ve bunların 23’ü endemiktir (Huber-Morath, 1989; Duman, 2000). Bu türler, ekonomik öneme sahip Türkiye’ye özgün türlerdir (Arabacı, 2006) (Şekil 2.4).

Türk halk tıbbında, farmakolojik özelliklerinden ve sağlıklı olmayı teşvik etme potansiyellerinden dolayı çok sayıda tıbbi bitki kullanılmaktadır. Asteraceae familyasına ait *Achillea* L. cinsi de tıbbi, tarımsal, kozmetik ve koku özelliklerinden dolayı Anadolu’nun en önemli yerli ekonomik bitkilerini temsil etmektedir (Saeidnia ve ark., 2011; Anlas ve ark., 2017). Ülkemizde halk arasında, *Achillea* cinsine ait birçok tür topraküstü kısımlarından demleme (infüzyon) ve kaynatma (dekoksasyon) şeklinde hazırlanarak diyare, karın ağrısı, mide ağrısı ve deri yaralarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1984). *Achillea nobilis* subsp. *sipylea*, Türkiye florasının endemik bir alttürü olup; antispazmodik, antiinflamatuvar ve analjezik özellikleri nedeniyle özellikle karın ağrısına karşı tüketilen bir bitkidir (Karamenderes ve Apaydın, 2003; Çetin, 2013).

Achillea (civanperçemi) cinsine ait türler Compositae (Asteraceae) familyasına ait olup; yöresel olarak halk arasında akbaşı, ayvadana, barsamaotu, binbir yaprakotu, marsama otu, beyaz civanperçemi, sarı civanperçemi ve kandil çiçeği diye de bilinen bitkileri oluşturmaktadır. Türkiye'de 40 kadar civanperçemi türü bulunmakta ve bunların birçoğu tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Baytop, 1984; Bozkurt, 2013).

Achillea L. cinsi, vasküler bitkilerin en büyük familyası olan Asteracea (Compositae) familyasına aittir. Bu familyaya ait bitkiler yeryüzünde geniş bir dağılıma sahip olmakla birlikte, subtropikal kurak ve yarı-kurak alanlarda yaygındırlar. *Achillea* cinsi yaklaşık 130 kadar çiçekli ve çok yıllık bitki türünü içermektedir. Bu türler Avrupa'da, Asya'nın ılıman bölgelerinde, Kuzey Afrika'da ve birkaçı Kuzey Amerika'da yaygın olarak bulunur. Genellikle tüylü ve aromatik yapraklara ve gövdeleri üzerinde küme halinde küçük çiçeklere sahiptirler. Çeşitli renklere sahip çiçeklerinden dolayı, çok sayıda türü bahçe bitkileri arasında popülerdir (Huber-Morath, 1989; Bremer ve ark., 1992; Mozaffarian, 1996; Sheidai ve ark., 2009; Azizi ve ark., 2010).



Şekil 2.4. *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler endemik bitkisinin Türkiye üzerindeki dağılımı (Anonim)

2.5. *Achillea* Cinsinin Tıbbi Özellikleri

Achillea cinsi ismini İlyada Destanı'nda anlatılan Troya Savaşı'nda askerlerin yaralarını tedavi etmek için civanperçemini kullanan Akhilleus (Achilles, Aşil)'dan almaktadır. *Achillea* türlerinin çoğu tedavi edici (terapötik) uygulamalara sahip tıbbi bitkilerdir (Sheidai ve ark., 2009).

Achillea türleri Anadolu'nun en önemli yerli ekonomik bitkileridir. Bazı bölgelerde, *A. millefolium* türü halk arasında anti-inflamatuvar, spazmolitik (spazm

giderici) ve hemostatik etkilerinden dolayı uzun zamandır yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle gastrointestinal sistem rahatsızlıklarına karşı bu türden hazırlanan bitkisel çayların kullanımı oldukça yaygındır (Kastner ve ark., 1995a; Honda ve ark., 1996; Skocibusić ve ark., 2004).

Achillea millefolium uçucu yağının tavuklar üzerinde yara iyileştirme özelliğinin araştırıldığı bir çalışmada, yüksek konsantrasyonların (%12 ve %18) uygulandığı deney gruplarında iyileşmenin çok daha hızlı olduğu gözlenmiştir (Samani ve ark., 2014).

Achillea türleriyle yapılan fitokimyasal araştırmalar, bu cinsin sahip olduğu birçok bileşenin yüksek derecede biyoaktif olduğunu ortaya koymuştur. Literatür araştırmaları sonucu, bu türlerin çeşitli flavonoidler, terpenoidler, lignanlar, amino asit türevleri, yağ asitleri ve alkamidler içerdiği saptanmıştır (Xiao-Tang ve ark., 2006). *Achillea* türlerinin kimyasal kompozisyonlarının kompleks ve değişken olabileceğini; bununla birlikte biyolojik yönden aktif bileşenlerin çoğunlukla uçucu yağlar ve sesquiterpen laktonları olduğunu göstermiştir.

Grafen oksitin doğal kaynaklı ürünler kullanılarak indirgenmesi ile ilgili yapılan bir çalışmada; flavonoid, askorbit asit, pektin gibi indirgeyici ajan olarak görev yapan kimyasallarca zengin bitkilerden biri olan *Achillea nobilis* ekstraktı kullanılmıştır (Öztürk, 2015).

Achillea ve *Echinacea* bitkilerinin insektisit, anti-inflamasyon ve bazı immünolojik etkilerinden alkamidlerin (lipofilik ve azot içeren bileşikler) sorumlu olduğu bilinmektedir (Greger, 1984).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda civanperçemi'nin gastrointestinal rahatsızlıklarda (Nemeth ve Bernath, 2008), karaciğer ve safra kesesi hastalıklarında (Miraldi ve ark., 2001), menstrual düzensizliklerde (Newall ve ark., 1996), yüksek ateşte (Blumenthal ve ark., 2000), kanamalı yaralarda (Aljancic ve ark., 1999), *Helicobacter pylori* enfeksiyonu tedavisinde (Mahady ve ark., 2005) kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca anti-inflamatuvar (Benedek ve ark., 2007), analjezik (Pires ve ark., 2009), yara iyileştirici (Pirbalouti ve ark., 2010), antispazmodik ve hepatoprotektif (Yaesh ve ark., 2006; Lemmens-Gruber ve ark., 2006), antibakteriyel (Ünlü ve ark., 2002; Candan ve ark., 2003), antifungal (Stojanovich ve ark., 2005), antioksidan (Konyalıoğlu ve Karamenderes, 2005) etkileri olduğu saptanmıştır. Bu özelliklerinin dışında, Leishmaniasis hastalığının tedavisinde kullanılabileceğine (Yektaian ve ark., 2012) ve kolajen biyosentezini teşvik edici özelliğe sahip olabileceğine (Kurt, 2015) ait çalışmalar da mevcuttur.

Bu doktora tezi kapsamında araştırılacak olan endemik *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler bitkisi, halk arasında ayvadana, binbirdelik otu, kabe fesleğeni olarak isimlendirilmekte olup; diğer *Achillea* türleri gibi benzer rahatsızlıklar için hem çay olarak tüketilmekte hem de merhem ya da oturma banyoları şeklinde de uygulanmaktadır.

Şimdiye kadar yapılan çeşitli araştırmalarla *Achillea* (civanperçemi) cinsinin bazı türlerinin antigenotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal özellik gösterdiği belirlenmiştir (Başer ve ark., 2002; Konyalıoğlu ve Karamenderes, 2005; Mamedov ve ark., 2010; Düsman ve ark., 2013). Ege Bölgesi bazı halk ilaçları üzerinde yapılan etnofarmakognozik bir çalışmada, aralarında *Achillea nobilis* türünün de bulunduğu bazı bitkiler üzerinde kimyasal ve farmakolojik araştırmalar yapılmasının yararlı olacağı belirtilmiştir (Aslan, 2002).

Achillea cinsi tüm dünyada yaygın olarak bulunmaktadır ve bu cinsin pek çok türü yöre halkı tarafından geleneksel bitkisel ilaçlar olarak kullanılmaktadır. *Achillea* türleriyle yapılan fitokimyasal araştırmalar, bu cinsin sahip olduğu birçok bileşenin oldukça biyoaktif olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, *Achillea* türlerinin hala daha araştırılması gereken özellikleri vardır. Bu nedenle, bu cinsin fitokimyasal ve biyolojik özelliklerini araştırmaya yönelik çalışmalara yoğunluk verilmesi gerekmektedir (Si ve ark., 2006).

Tıbbi bitkilerin tedavi edici özelliklerinden içerdikleri fitokimyasal maddeler sorumludur. Bununla birlikte, bu maddelerin içerikleri bitkinin yaşı, büyüme mevsimi ve bulunduğu lokasyonun yanı sıra ortam sıcaklığı, gün ışığı, toprağın nem oranı gibi çevresel faktörlere bağlı olarak da değişkenlik gösterebilmektedir (Xu ve ark., 2011; Bhandari ve Kwak, 2015). Ayrıca, ekstraksiyon yöntemine göre de biyoaktif maddelerin seviyesinde değişiklik gözlenebilmektedir (Caunii ve ark., 2012; Anlas ve ark., 2017). Bu türün antioksidan aktivitesi üzerine çalışmalar yapılmış olsa da, bahsedilen faktörlerin çeşitliliği sahip olduğu özelliği etkileyebilir. Diğer yandan, literatürde bu türle yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

2.6. Sitotoksik ve Genotoksik Aktivite Çalışmaları

Urginea maritima L. ekstraktının genotoksik ve sitotoksik etkileri *Allium cepa* testi ile araştırılmıştır. Bitki ekstraktının farklı doz ve sürelerle uygulandığı çalışmada, artan doza ve süreye bağlı olarak mitotik indeksin azaldığı ve kromozomal anomali yüzdesinin arttığı saptanmıştır (Metin, 2006).

Gıda boyası olarak kullanılan Sunset Yellow (E110) ve Brilliant Black (E151) adlı maddelerin genotoksik potansiyelleri *Allium cepa* L., *Tradescantia pallida* H. ve *Vicia faba* L. bitkileri ile araştırılmıştır. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, tüm bitkiler için test edilen maddelerin doz artışlarına bağlı olarak genotoksik aktivitelerinin de arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, çalışmada kullanılan *Tradescantia* stamen tüyü analizi ve MN testlerinin test edilen boya maddeleri için farklı duyarlılıklara sahip oldukları belirlenmiştir (İlhan, 2008).

Antartika yosunu *Sanionia uncinata* türünün sulu ve hidroalkolik ekstraktlarının DNA hasarını indüklenme potansiyeli DNA cleavage testi ile araştırılmıştır. Çalışma sonunda *S. uncinata* ekstraktlarının DNA'da hasara neden olmadığı; aksine oksidatif hasara karşı güçlü koruyucu etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Fernandes ve ark., 2011).

Asteraceae familyasına ait *Distephanus angulifolius* bitkisinin su ekstraktının sitotoksik ve genotoksik etkisinin *Allium cepa* kök ucu hücre testi ile araştırıldığı bir çalışmada, soğan kökleri bitki ekstraktının farklı dozları ile 24 saat muamele edilmiştir. Çalışma sonunda, *D. angulifolius* bitkisinin doza bağlı olarak kök büyümesini inhibe ettiği, mitotik indeksi azalttığı ve kromozomal anomali oranında artışa neden olduğu belirlenmiştir (Chukwujekwu ve Van Staden, 2014).

Nehir (Paranaíba Nehri, Brezilya) suyunun genotoksik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *Tradescantia* MN testi uygulanmıştır. Sonuç olarak, nehrin bazı kollarından alınan su örneklerinin MN frekansını arttırdığını ve dolayısıyla genotoksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Campos ve ark., 2015).

Tradescantia pallida bitkisi kullanılarak, Brezilya'da bulunan bir seramik sanayi kompleksinin çevresel genotoksik potansiyelinin belirlenmesi ve izlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, kiremit üretimi yapılan bir sanayi alanına ait emisyonların genotoksik etkisi *T. pallida* bitkisinde ağır metal birikimi analizi ve MN testi yapılarak saptanmaya çalışılmıştır. Çalışma sonunda kontrol bölge ile karşılaştırıldığında, emisyonlara maruz kalan bitkilerde MN frekansının önemli derecede arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, özellikle kadmiyum (Cd) ve krom (Cr) ağır metallerinin bitkilerde yüksek oranda birikim gösterdiği belirlenmiştir (Campos ve ark. 2016).

2.7. Antisitotoksik ve Antigenotoksik Aktivite Çalışmaları

Hindistan'da oldukça bilinen bazı tıbbi bitkilerin (*Celastrus paniculatus*, *Picrorhiza kurroa* ve *Withania somnifera*) DNA koruma aktiviteleri DNA cleavage testi ile araştırılmıştır. Çalışmada, DNA hasarı için H₂O₂ ve UV beraber uygulanmıştır. Sonuç

olarak, test edilen bitkiler arasında *P. kurroa* bitkisinin DNA koruma ve antioksidan aktivitesi açısından daha aktif olduğu belirlenmiştir (Russo ve ark., 2001).

Plantago lanceolata yapraklarından elde edilen sulu ekstraktın antigenotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, H₂O₂ (%0,7)'ye karşı yapılan uygulamalar sonucunda mitotik indeksle birlikte kromozomal anormallik oranının da azaldığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada, flavonoidlerce zengin olduğu vurgulanan *P. lanceolata* bitkisinin test edilen dozlarının (15 g/L ve 30 g/L) antimitotik ve antigenotoksik özelliğe sahip olduğu saptanmıştır (Aşkın Çelik ve Aslantürk, 2006).

Endemik *Cyclotrichium niveum* bitkisinin DNA hasarına karşı koruma aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada elektroforetik DNA cleavage testi uygulanmıştır. Plazmid DNA'ya H₂O₂+UV uygulaması sonucu oluşabilecek hasara karşı *C. niveum* metanol ekstraktının koruma aktivitesi test edilmiştir. Sonuç olarak, test edilen bitkinin doza bağlı olarak DNA kırılmalarını önlediği saptanmıştır (Emen ve ark., 2009).

Anksiyete, ruh hali yükselmesi ve çeşitli hastalıkların tedavisinde Çin ve Hint tıp sistemlerinde yaygın şekilde kullanılan *Psoralea corylifolia* bitkisinin DNA koruma potansiyeli araştırılmıştır. Bu amaçla test edilen ekstraktlar, farklı polaritede çözücüler (hekzan, kloroform, etil asetat, aseton, metanol, etanol ve su) kullanılarak bitkinin tohumlarından elde edilmiştir. Çalışma sonunda, test edilen ekstraktlar arasında etanol, metanol ve su ekstraktlarının önemli derecede DNA koruma aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Bhawya ve Anilakumar, 2011).

Morinda citrifolia (Noni, Hint dutu) yapraklarından elde edilen sulu ekstraktın antigenotoksik aktivitesi, *Allium cepa* kök ucu meristematik hücre testi ile araştırılmıştır. Genotoksik ajan olarak H₂O₂'nin (%7) kullanıldığı çalışmada, *M. citrifolia* ekstraktının 15 ve 30 g/L dozları test edilmiştir. Negatif kontrol ile kıyaslandığında, uygulama gruplarında mitotik indekste anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, özellikle 15 g/L dozunun kromozomal anomali oranını önemli derecede azalttığı saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada, *M. citrifolia* bitkisinin antimitotik ve antigenotoksik özelliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Sreeranjini ve Siril, 2011).

Brassica oleracea L. var. *italica* (brokoli) bitkisi tohumunun antigenotoksik potansiyeli, *Allium cepa* L. kök ucu meristematik hücre test sistemiyle araştırılmıştır. Genotoksik ajan olarak bir herbisit kullanıldığı deneyde 3 farklı uygulama yapılmıştır. Bunlar; önce herbisit sonra tohum ekstraktının uygulanması, önce tohum ekstraktının sonra herbisit uygulanması ve herbisit ile ekstraktın beraber uygulanması şeklindedir. Çalışma sonunda, yapılan farklı uygulamaların hepsinde de kromozomal anomali oranının

ekstraktın dozuna bağı olarak azaldığı saptanmıştır (Kumari ve ark., 2012).

Yenilebilir bir kırmızı yosun türünün (*Gracilaria tenuistipitata*) sulu ekstraktının H₂O₂ ile indüklenmiş DNA hasarına karşı koruma aktivitesi incelenmiştir. Farklı dozları (1, 2 ve 4 mg/mL) test edilen *G. tenuistipitata* ekstraktının, oksidatif DNA hasarına karşı doza bağı olarak yüksek koruma aktivitesine sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışılan türün fenolikler, flavonoid ve askorbik asit gibi antioksidan maddeler bakımından da zengin olduğu vurgulanmıştır (Yang ve ark., 2012).

Brezilya'da geleneksel olarak iltihap, ülser ve tümör tedavisinde kullanılan *Schinus terebinthifolius* (Brezilya biber ağacı) bitkisinin antijenotoksik ve antimutajenik etkisi, *Allium cepa* bitkisi ve fareler üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalarla araştırılmıştır. *A. cepa* test modelinde DNA hasar ajanı olarak metil metansülfonat (MMS) kullanılmış olup, testte üç çeşit uygulama (MMS'den önce, MMS ile birlikte ve MMS'den sonra) yapılmıştır. Farklı dozları (16,8 mg/L, 33,6 mg/L ve 50,4 mg/L) test edilen *S. terebinthifolius* yapraklarının metanol ekstraktı, yapılan çalışmalar sonucunda antijenotoksik ve antimutajenik olarak değerlendirilmiştir (Fedel-Miyasato ve ark., 2014).

Buğdaygillerden tıbbi *Desmostachya bipinnata* bitkisinin DNA koruma aktivitesinin hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak araştırıldığı bir çalışmada yapılan DNA cleavage testi sonucunda, H₂O₂'nin neden olduğu oksidatif hasarı doza bağı olarak önlediği sonucuna varılmıştır (Golla ve Bhimathai, 2014).

Carissa carandas bitkisinin yapraklarından elde edilen metanol ekstraktının DNA hasarını inhibe etme potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, bitkinin oksidatif DNA hasarına karşı doza bağı olarak koruyucu etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada *C. carandas* bitkisinin yüksek oranda fenolik madde içerdiği saptanmış olup, DNA koruma aktivitesinin de buna bağı olarak gözlemlendiği belirtilmiştir (Verma ve ark., 2015).

Sambucus australis (mürver) bitkisinin antijenotoksik potansiyelinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi ile araştırılmıştır. İki farklı dozda (3 mg/mL ve 12 mg/mL) test edilen *S. australis* sulu ekstraktının yüksek dozunun antijenotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan fitokimyasal analizler sonucunda da bitkinin fenolik asitler ve flavonoidler içerdiği saptanmıştır (Tedesco ve ark., 2017).

2.8. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Cynara cardunculus L. (enginar) bitkisinin antijenotoksik ve antioksidan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, yapılan DPPH serbest radikal giderme testi sonucu

kayda değer bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Enginarın sahip olduğu bu antioksidan aktivitenin ise, çoğunluğunu flavonoidlerin oluşturduğu biyoaktif bileşenlerinden kaynaklı olabileceği üzerinde durulmuştur (Miadokova ve ark., 2008).

Alternatif tıpta çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan *Marrubium peregrinum* bitkisinin farklı ekstraktları elde edilerek, toplam fenolik ve flavonoid madde iğeriği ile *in vitro* antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Elde edilen veriler karşılaştırıldığında, fenolik ve flavonoid konsantrasyonu bakımından en yksek ve antioksidan aktivitesi en gkcll olan ekstraktın *M. peregrinum* metanol ekstraktı olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde iğeriği ile antioksidan etkinliği değerleri arasında doğrusal bir korelasyon olduğu doğrulanmiştir. Elde edilen bu sonuç, toplam fenolik madde iğeriğinin yksek olmasının antioksidan aktiviteye katkıda bulunduğunu gstermiştir (Stankovi, 2011).

Beşparmak ağacı olarak da bilinen *Vitex negundo* bitkisinin yaprağından elde edilen ekstraktların antioksidan etkisi araştırılmıştır. DPPH, FRAP ve β -karoten linoleik asit gibi çeşitli antioksidan testleri uygulanan bitkinin metanol ekstraktının en etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bunun nedeni olarak ise, bu ekstraktın yksek miktarda fenolik bileşenler, epikateşin, kuersetin, kateşin ve myricetin gibi biyoaktif bileşikleri iğermesi gsterilmiştir (Zargar ve ark., 2011).

Actaea spicata (domuz zkzümü) kkklerinden elde edilen metanol ekstraktı ve etil asetat fraksiyonu ile yapılan bir çalışmada, toplam fenolik madde ve flavonoid iğeriği ile beraber antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Sonuçta; etil asetat fraksiyonunun metanolik ekstraktla karşılaştırıldığında, iki katı fenolik ve flavonoid madde iğerdiği saptanmıştır. DPPH yntemi ile araştırılan antioksidan aktivite sonuçlarına gbre ise; diğer elde edilen sonuçlarla da uyumlu olacak şekilde, zellikle etil asetat fraksiyonunun daha dűřkk dozlarının yksek antioksidan aktivite gsterdiği gzlennmiştir (Madaan ve ark., 2011)

Asteraceae familyasına ait *Artemisia biennis* Willd bitkisinin toplam fenolik madde iğeriği ve antioksidan aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, 5 farklı ekstraktı (petrol eteri, diklorometan, etil asetat, etanol ve etanol-su) test edilmiştir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için β -karoten test sistemi, DPPH serbest radikal giderme testi ve metal şelatlama testi birlikte kullanılmıştır. Analiz edilen tm ekstraktlar arasında hidroetanolik ekstrakt, diğer rneklerle karşılaştırıldığında fenolik içerik ve antioksidan aktivitesi açısından anlamlı derecede yksek bulunmuştur (Hatami ve ark., 2014).

Arisaema jacquemontii (Araceae) bitkisinin antioksidan aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, DPPH testi sonucunda bitkinin yksek antioksidan aktiviteye (%64,16)

sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, *A. jacquemontii* bitkisinin toplam fenolik ve flavonoid içeriği ile antioksidan aktivitesinin pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (Baba ve Malik, 2015).

Yapılan bir çalışmada toplam fenolik bileşik, flavonoid ve yoğun tanin içeriği ile antioksidan aktivite üzerine hasat zamanı ve yetiştirme alanının etkileri araştırılmıştır. *Pistacia atlantica* yapraklarından elde edilen etil asetat ekstraktının toplam fenolik madde, flavonoid ve tanin içeriği spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiş olup; antioksidan aktivite için DPPH radikali giderme ve indirgeme gücü kapasitesi testleri kullanılmıştır. Çalışma sonunda, toplam fenolik madde içeriği 79-259 mg gallik asit/g kuru ağırlık ve flavonoid miktarı 0,65-2,81 mg kuersetin/g kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, serbest radikal giderme aktivitesinin yaklaşık 262-675 mg askorbik asit/g kuru ağırlık olduğu saptanmıştır. Bu bulgularla birlikte, *P. atlantica* yapraklarının sekonder metabolit içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerine hasat zamanı ve yetiştirme alanının etkili olduğu ortaya konmuştur (Ben Ahmed ve ark., 2017).

2.9. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Myrcia myrtifolia uçucu yağının antimikrobiyal etkisi ve bu yağın içerdiği kimyasalların mevsimsel değişimi araştırılmıştır. Brezilya'nın Kuzeydoğu bölgesinden toplanan bu bitki örneklerinin tümünde temel bileşenin α -pinene (%61,5-90,9) olduğu belirlenmiştir. *M. myrtifolia* yaprağından elde edilen uçucu yağın (Ekim 2002) *Microsporum canis* ve *Trichophyton rubrum* türlerine karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi gösterdiği; bununla birlikte *Staphylococcus aureus*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* ve *Aspergillus fumigatus* türlerine karşı da etkili olduğu saptanmıştır (Cerqueira ve ark., 2007).

Allium sativum (sarımsak), *Zingiber officinale* (zencefil), *Caryophyllus aromaticus* (karanfil), *Cymbopogon citratus* (limon otu), *Mikania glomerata* (guaco) ve *Psidium guajava* (yabani guava) gibi çeşitli aromatik ve tıbbi bitkilerin antibakteriyel aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, test edilen bakterilere (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus* sp.) karşı en aktif *C. aromaticus* bitkisinin olduğu saptanmıştır (Ushimaru ve ark., 2007).

Kedi nanesi (Catnip) olarak da bilinen *Nepeta cataria* (Lamiaceae) türünün antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Elde edilen metanol ekstraktının çeşitli bakteri ve funguslara karşı inhibisyonları ve MİK değerleri tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, yaprak ve çiçekli kısımlarından yapılan çayının yatıştırıcı özelliğinden dolayı yaygın

olarak tüketilen bu türün zayıf antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Adıgüzel ve ark., 2009).

Meksika'da geleneksel tıpta çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan 17 bitki türünün antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin araştırıldığı çalışmada, bitkilerin kök, gövde, kabuk, yaprak, çiçek ve meyve gibi kısımları ayrı ayrı incelenmiştir. Antimikrobiyal çalışma sonucunda, bitkilerin hiçbirinin test edilen Gram (-) bakterilere (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Acinetobacter baumannii*) karşı etki göstermediği, ancak bazılarının Gram (+) bakterilere (*Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus*) ve mayalara (*Candida albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata*) karşı etkili oldukları saptanmıştır (Salazar-Aranda ve ark., 2011).

Tayland'da yenilebilir bazı bitkilerin (*Citrus aurantifolia* Swingle, *Sesbania grandiflora* L., *Piper sarmentosum* Roxb, *Curcuma domestica* Valetton, *Morinda citrifolia* L., *Cassia siamea* Britt ve *Cocos nucifera* L.) çeşitli kısımlarının antioksidan ve antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Çalışmada, bitkilerin toplam fenolik ve flavanoid içerikleri de belirlenmiştir. Metanol, hekzan, kloroform, etil asetat, bütanol ve su ekstraktları elde edilmiş olup *C. aurantifolia*, *S. grandiflora*, *P. sarmentosum* ve *C. domestica* bitkilerinin antibakteriyel ve antioksidan özelliğe sahip oldukları tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu bitkilerin doğal antibiyotik olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir (Lee ve ark., 2014).

Tayland'da bilinen *Streblus ilicifolius* türünün odun kısmından elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Çalışmada maserasyon yoluyla petrol eteri, etil asetat, etanol ve su ekstraktları elde edilmiştir. Test edilen ekstraktlardan sadece etanol ekstraktı, *Staphylococcus epidermidis* (9,25±0,56 mm) ve *S. aureus* (8,47±0,31 mm) türlerine karşı antibakteriyel etki göstermiştir (Dej-adisai ve ark., 2016).

Rhanterium adpressum bitkisinin çiçeklerinden elde edilen aseton ve metanol ekstraktlarının total fenolik içeriği ve antibakteriyel potansiyeli araştırılmıştır. Çalışma kapsamında, çiçekler 2011 ve 2012 yıllarına ait nisan, mayıs ve haziran aylarında toplanmıştır. Total fenolik içeriklerinin Folin-Ciocalteu metoduyla araştırıldığı çalışmada, en yüksek fenolik içeriğe nisan aylarında toplanan *R. adpressum* metanol ekstraktlarının sahip olduğu belirlenmiştir. Disk difüzyon yöntemiyle tespit edilmeye çalışılan antibakteriyel aktivite çalışmaları sonucu da, total fenolik içerik test sonuçlarıyla aynı çıkmıştır. Böylelikle, test edilen ekstraktların aktifliğinin fenolik bileşik konsantrasyonu ile ilişkisi vurgulanmıştır. Ayrıca, aktif ekstraktların test edilen bakterilerden *Staphylococcus*

aureus ve *Salmonella typhi* türlerine karşı daha etkili oldukları belirtilmiştir (Boussoussa ve ark., 2016).

Vietnam'da geleneksel tıpta kullanılan 12 adet bitki türünün antimikrobiyal potansiyeli, çeşitli Gram pozitif (*Bacillus cereus*, *B. subtilis* ve *Staphylococcus aureus*) ve Gram negatif (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) bakterilere karşı araştırılmıştır. Broth mikrodilüsyon yönteminin uygulandığı bu çalışmada, test edilen bitkilerin hepsinin özellikle Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili oldukları saptanmıştır. Çalışmada en düşük MİK değerine (62,5 µg/mL) sahip *Baeckea frutescens* ekstraktının, test edilen bitkiler arasında antibakteriyel etkisinin en yüksek olduğu açıklanmıştır (Vu ve ark., 2016).

Punica granatum (nar), *Syzygium aromaticum* (karanfil), *Zingiber officinales* (zencefil), *Thymus vulgaris* (kekik) ve *Cuminum cyminum* (kimyon) bitkilerinin, gıda zehirlenmelerine yol açan bazı bakteriyel suşlara karşı antimikrobiyal etkisi test edilmiştir. Agar disk difüzyon tekniğinin uygulandığı çalışmada *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi* bakterileri kullanılmıştır. Test edilen bitkiler arasında en etkili *P. granatum* ve *S. aromaticum* etanol ekstraktlarının olduğu; *C. cyminum* ekstraktının ise, en az etkili olduğu belirlenmiştir (Mostafa ve ark., 2017).

2.10. *Achillea* Cinsi ile Yapılan Çalışmalar

2.10.1. *Achillea nobilis* L. Türü ile Yapılan Çalışmalar

Achillea nobilis L., başta açık kuru çayırlarda olmak üzere Güney Avrupa ve Batı Asya'da görülür (Azizi ve ark., 2010). Bu türle ilgili yapılan bazı çalışmalara aşağıda yer verilmektedir.

Achillea nobilis türüne ait farklı lokasyonlardan toplanan 5 alttürün yaprak flavonoid içeriği araştırılmıştır. İzole edilen flavonoidlerin çoğu C-glikozil flavonlar ve flavonol 3-O-glikozitler grubuna girmektedir. Bunlar arasında yaygın olarak viteksin, orientin, isoorientin ve kuersetin tespit edilmiştir (Valant-Vetschera, 1987).

Achillea nobilis ile yapılan diğer bir fitokimyasal çalışma sonucunda 2 chrysanthemol türevi izole edilmiştir (Kastner ve ark., 1995b).

Achillea nobilis, *A. millefolium* ve *A. grandiflora* uçucu yağlarının kimyasal içeriklerinin araştırıldığı bir çalışmada, ilk iki tür için temel bileşenin camphor; diğeri için ise β-pinen olduğu tespit edilmiştir. *A. nobilis* uçucu yağında 87 bileşen belirlenmiş olup temel bileşenlerinin camphor (%17), 1,8-cineole (%15,6), terpinen-4-ol (%10), borneol

(%7,2) ve β -eudesmol (%7,1) olduğu bildirilmiştir (Suleimenov ve ark., 2001).

Achillea cinsine ait iki türün (*Achillea nobilis* ve *A. crithmifolia*) uçucu yağ kompozisyonu ve bu yağların antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde; *A. nobilis* uçucu yağının temel bileşenleri arasında sırasıyla α -thujone (%25,7), artemisia ketone (%14,8), borneol (%9,9) ve camphor (%8,2) tespit edilmiştir. Antibakteriyel aktivite sonuçlarına göre ise, test edilen iki türe ait uçucu yağların *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı güçlü antibakteriyel etki gösterdikleri saptanmıştır (Palić ve ark., 2003).

Achillea nobilis türünün içerdiği flavonoidleri tanımlamaya yönelik yapılan bir çalışmada toplam 10 adet flavonoid izole edilip tanımlanmıştır. Bu flavonoidler arasında orientin, isoorientin, vitexin, isoschaftoside, quercetin yanı sıra iki nadir flavonolglycosid ile birlikte yeni bir C-glycosylflavone bulunmaktadır (Krenn ve ark., 2003).

Achillea nobilis subsp. *neilreichii* türünün analjezik ve anti-inflamatuvar aktiviteleri ile akut toksisitesi *in vivo* araştırılmıştır. Bu amaçla bitkinin çiçek kısımlarından elde edilen etanol ekstraktı test edilmiştir. Ekstraktın farelerdeki akut LC₅₀ değeri 4456 mg/kg (intraperitoneal) olarak saptanmakla birlikte, *A. nobilis* subsp. *neilreichii* etanol ekstraktının anti-inflamatuvar etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur (Karabay-Yavaşoğlu ve ark., 2007).

Achillea cinsine ait bazı türlerin (*Achillea nobilis*, *A. eriophora*, *A. biebersteinii* ve *A. wilhelmsii*) uçucu yağ kompozisyonları araştırılmış olup, 1,8-cineole kimyasalının test edilen bütün türlerde bulunan temel bileşen olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *A. nobilis* subsp. *neilreichii* uçucu yağı temel bileşenlerinin α -thujone (%34,06), 1,8-cineole (%14,14) ve β -cedren epoxide (%9,63) olduğu saptanmıştır (Ghani ve ark., 2008).

13 *Achillea* türünden elde edilen toplam 39 ekstraktın antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* türünün de aralarında bulunduğu bu bitkilerden elde edilen n-hekzan, kloroform ve metanol ekstraktları test edilmiştir. Çalışma sonunda, özellikle kloroform ekstraktlarının bir kısmının antibakteriyel özelliğe sahip olduğu belirlenmiş olup, bununla birlikte test edilen ekstraktların hiçbirinin *Candida albicans* fungusuna karşı bir etki göstermediği saptanmıştır (Karaalp ve ark., 2009).

Achillea nobilis subsp. *neilreichii* ve *A. teretifolia* endemik türlerinin uçucu yağ kompozisyonları ve bunların bazı biyolojik aktiviteleri saptanmaya çalışılmıştır. Çalışma sonunda, *Achillea nobilis* subsp. *neilreichii* uçucu yağının temel bileşenleri fragranil asetat (%32), fragranol (%24) ve β -eudesmol (%8) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca uçucu yağlarla

yapılan antimikrobiyal ve antioksidan testleri sonucunda ise, her iki bitkinin de etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Demirci ve ark., 2009).

Aralarında *Achillea nobilis* türünün de bulunduğu 4 *Achillea* türünün farklı gelişim evrelerinde sahip oldukları uçucu yağ kompozisyonları karşılaştırılmıştır. Bitkilerden elde edilen diklorometan ekstraktları ve uçucu yağlarının temel uçucu bileşen kompozisyonu, GC ve GC/MS analizleri sonucunda tespit edilmiştir. Çalışma sonunda, *A. nobilis* uçucu yağındaki esas bileşenin α -thujone (%25-64) olduğu belirlenmiştir. Çiçeklenme zamanlarında hasat edilen bitkilerden elde edilen uçucu yağların hepsinde artemisia keton miktarının %40'ın üzerinde olduğu saptanmıştır (Azizi ve ark., 2010).

Diğer bir fitokimyasal çalışmada, *Achillea nobilis* türünün Acetylcocaine içerdiği ilk kez belirlenmiştir (Serkerov ve Mustafaeva, 2010).

Bazı tıbbi bitki ekstraktlarının radyoprotektif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *Achillea nobilis* sulu ekstraktının albino Wistar cinsi sıçanlara uygulanan γ -radyasyonun mutajenik etkisini azalttığı bildirilmiştir (Mamedov ve ark., 2010).

Aralarında *Achillea nobilis* türünün de bulunduğu farklı bitki türlerinin uçucu yağ kompozisyonlarının araştırıldığı bir çalışma sonucunda, toplam yağın %95,4'ünü oluşturan 30 kimyasal arasında en yüksek oranda (%46,7) artemisia ketone olduğu belirlenmiştir (Rustaiyan ve ark., 2011).

Achillea nobilis L. ve diğer bazı *Achillea* türlerinin (*A. vermicularis*, *A. wilhelmsii*, *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *A. tenuifolia*, *A. biebersteinii* ve *A. eriophora*) uçucu yağlarının antioksidan aktivitelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, aynı zamanda toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları ile kimyasal kompozisyonları da araştırılmıştır. Bitkilerin en fazla içerdikleri kimyasalların 1,8-cineole, camphor ve borneol olduğu tespit edilmiştir. Karşılaştırma sonucunda, en fazla fenolik ve flavonoid madde içeriği ile birlikte en yüksek antioksidan aktiviteye sahip uçucu yağın *A. biebersteinii* türüne ait olduğu belirtilmiştir (Gharibi ve ark., 2015).

2.10.1.1. *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* Alt Türü ile Yapılan Çalışmalar

Achillea nobilis L. subsp. *sipylea* türünün sıçan duodenumu üzerindeki antispazmodik etkisi araştırılmış olup, bu türün spazm giderici etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Karamenderes ve Apaydın, 2003).

Achillea nobilis subsp. *sipylea* türünün de dahil olduğu *Achillea* cinsine ait 15 adet bitki türünün farklı testlerle (DPPH serbest radikal testi, toplam antioksidan aktivite testi, OH \cdot radikali giderme testi ve H₂O₂ indirgeme gücü testi) *in vitro* antioksidan aktivitesi

belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada elde edilen aktivite sonuçlarının bitkilerin toplam fenolik madde ve flavonoid içerikleriyle ilişkili olduğu; test edilen *Achillea* türlerinin %23-41 serbest radikal giderme aktivitesinin olduğu; antioksidan aktivitesi en yüksek türün *A. millefolium* subsp. *pannonica* olduğu bildirilmiştir (Konyalıoğlu ve Karamenderes, 2004).

Türkiye'ye özgü 15 *Achillea* türünün insan eritrosit ve lökositlerinde H₂O₂ ile uyarılmış oksidatif hasara karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, bitki infüzyonlarının hücreler üzerindeki katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri, lipid peroksidasyon (LPO) etkileri ile glutasyon (GSH) seviyeleri belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, test edilen bütün *Achillea* türlerinin antioksidan enzim sistemi üzerinde etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Test edilen bitki infüzyonları arasında *Achillea nobilis* subsp. *neilreichii* ile *Achillea crithmifolia* CAT üzerinde en yüksek aktiviteyi gösterirken, LPO enzim sistemleri üzerinde en etkili tür *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* olmuştur. Bu çalışma ile *Achillea* türlerinin potansiyel doğal antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır (Konyalıoğlu ve Karamenderes, 2005).

Achillea nobilis subsp. *sipylea* ve *A. nobilis* subsp. *neilreichii* türlerinden elde edilen uçucu yağların kompozisyonları tespit ederek, bu yağların antimikrobiyal potansiyelleri belirlenmiştir. Çalışmada test edilen uçucu yağların farklı alttürlerden elde edilmesi ve bunların farklı lokalitelerden toplanması, kimyasal içerik kompozisyonlarında nicel ve nitel farklılıkların gözlenmesine neden olmuştur. Antimikrobiyal aktivite sonuçları değerlendirildiğinde, iki uçucu yağın da *Pseudomonas aeruginosa* haricinde test edilen bütün mikroorganizmalara karşı etkili olduğu saptanmıştır (Karamenderes ve ark., 2007).

Kaz Dağları'ndan toplanan bazı bitki türlerinin fenolik asit içeriklerinin belirlendiği bir çalışmada, *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin en yüksek ferulik asit içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, test edilen diğer bitkilerle karşılaştırıldığında toplam fenolik asit içeriği bakımından oldukça fakir olduğu belirlenmiştir (Tuncel ve Yılmaz, 2010).

Başka bir çalışmada, aralarında *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* türünün de yer aldığı ve *Achillea* L. cinsinin Türkiye'de yayılış gösteren 9 taksonunun polen morfolojisi incelenmiştir (Akyalçın ve ark., 2011).

Achillea nobilis subsp. *sipylea*, *A. grandifolia* Friv. ve *A. teretifolia* Willd. türlerinin uçucu yağ içerikleri araştırılmış ve bu bitkilere ait eser element analizleri yapılmıştır. En yüksek uçucu yağ verimliliğine *A. nobilis* subsp. *sipylea* türüne ait örneklerde saptanmıştır. Bu türün uçucu yağ bileşenleri cis-cadin-4-en-7-ol, linalool ve

1,8-cineole olarak belirlenmiştir (Çetin, 2013).

Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* ve *Alcea apterocarpa* ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada *n*-hekzan, etanol ve su ekstraktları test edilmiş olup; ekstraktların eldesinde maserasyon, dekoksasyon, infüzyon ve soksilet ile ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin özellikle infüzyon ve dekoksasyon ile elde edilen ekstraktlarının daha fazla fenolik madde içerdiği ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Anlas ve ark., 2017).

2.10.2. Diğer *Achillea* Türleri ile Yapılan Çalışmalar

Achillea multifida (DC.) Boiss. uçucu yağının kimyasal kompozisyonunun ve antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı çalışmada, uçucu yağı oluşturan temel bileşenlerin α -thujone (%60,9), β -thujone (%9,1), sabinene (%4,1) ve camphor (%3,7) olduğu tespit edilmiştir. Mikrodilüsyon tekniğinden yararlanılarak yapılan antimikrobiyal çalışma sonucunda ise; *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* gibi çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı MİK değerleri (62,5-250 μ g/mL) saptanmıştır (Başer ve ark., 2002).

Achillea holosericea, *A. taygetea* ve *A. fraasii* uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu ve antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Yağların ana bileşenlerinin camphor, borneol ve 1,8-cineole olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite sonucunda, test edilen 6 bakteriye (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa*) karşı *A. holosericea* türünün etkisinin olmadığı, *A. taygetea* ve *A. fraasii* türlerinin ise orta ve güçlü derecelerde aktivite gösterdiği saptanmıştır. Özellikle, *A. fraasii* uçucu yağının çalışmada test edilen patojen funguslara (*Candida albicans*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata*) karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Magiatis ve ark., 2002).

Achillea setacea ve *Achillea teretifolia* türlerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların içerdiği temel bileşenin 1,8-cineole (eucalyptol) olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivitesi test edilen uçucu yağların *Clostridium perfringens*, *Acinetobacter lwoffii* ve *Candida albicans* gibi patojen mikroorganizmalara karşı değişen oranlarda (0,28-2,25 mg/mL) MİK değerlerine sahip oldukları saptanmıştır. Çalışılan yağların temel bileşenlerinden olan eucalyptol, terpinen-4-ol, borneol, camphor ve türevlerinin bu antimikrobiyal etkiden sorumlu olabileceği belirtilmiştir (Ünlü ve ark., 2002).

Achillea millefolium subsp. *millefolium* türünden elde edilen metanol ekstraktının ve uçucu yağının antioksidan ve antimikrobiyal etkileri test edilmiştir. Uçucu yağın GC-MS analizi sonucunda temel bileşenlerinin eucalyptol, camphor, α -terpineol, β -pinene ve borneol olduğu saptanmıştır. Çalışma sonunda, test edilen uçucu yağ ve ekstraktın güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite sonuçları değerlendirildiğinde ise, uçucu yağın *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans*, *Mycobacterium smegmatis*, *Acinetobacter lwoffii* ve *Candida krusei* mikroorganizmalarına karşı etkili olduğu, ekstraktının ise az ya da hiç etki göstermediği belirlenmiştir (Candan ve ark., 2003).

Achillea damascena bitkisinden elde edilen ekstraktların test edilen *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteria*, *Salmonella enteritidis*, *S. typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı en yüksek antimikrobiyal etkiyi (%88,8) metanol ekstraktının 20 µl/disk dozunda gösterdiği saptanmıştır (Barbour ve ark., 2004).

Achillea alexandri-regis ekstraktlarının hidroksil ve süperoksit radikallerine karşı antioksidan etkisi araştırılmış olup, farklı *in vitro* sistemlerde test edilen etil asetat ve bütanol ekstraktlarının etkili olduğu saptanmıştır (Kundaković ve ark., 2005).

Achillea clavennae, *A. holosericea*, *A. lingulata* ve *A. millefolium* türlerinin hekzan:eter:metanol (1:1:1) ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Çalışmada türlerin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Aspergillus niger* ve *Candida albicans* patojenlerine karşı etkisi disk difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Çalışma sonunda, en güçlü antimikrobiyal aktivite *Achillea clavennae* türünde gözlenmiştir (Stojanović ve ark., 2005).

Achillea biebersteinii türünün metanol ekstraktı ve uçucu yağının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırıldığı çalışma sonucunda; ekstraktın yağdan daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu, bununla birlikte yalnızca uçucu yağın antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (Barış ve ark., 2006).

Achillea schischkinii ve *A. aleppica* subsp. *aleppica* uçucu yağlarının antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antinosiseptif etkilerinin araştırıldığı çalışmada, *A. aleppica* subsp. *aleppica* türünün daha etkili olduğu gözlenmiştir. Uçucu yağların temel bileşeni 1,8-cineole olarak belirlenmiş; ayrıca *A. aleppica* subsp. *aleppica* türünde bisabolol ve türevlerinin fazla miktarda bulunduğu saptanmıştır (İşcan ve ark., 2006).

Achillea santolina L. hidroalkolik ekstraktı çeşitli *in vitro* antioksidatif sistemlerde çalışılmıştır. Çalışma sonunda, ekstraktın yüksek dozunun (1000 µg/mL) serbest radikaller

tarafından uyarılan protein oksidasyonunu önemli derecede engellediği tespit edilmiştir (Ardestani ve Yazdanparast, 2007).

Achillea gypsicola ve *A. biebersteinii* bitkilerinin uçucu yağ ve hekzan ekstraktlarının kimyasal kompozisyonları, 12 bitki patojeni fungusu karşı etkileri ve herbisidal potansiyeli araştırılmıştır. Bitkilerin yoğun olarak camphor, 1,8-cineole ve piperitone içerdiği belirlenen çalışmada, uçucu yağların daha fazla antifungal ve herbisidal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Kordali ve ark., 2009).

Achillea millefolium ekstraktının spermatogenesis üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, geçici antifertil aktiviteye neden olduğu saptanmıştır (Takzare ve ark., 2011).

Achillea millefolium sulu ekstraktının (5, 10, 20 ve 30 mg/mL) *Lactuca sativa* kök ucu meristematik hücre testi ile sitotoksik ve genotoksik etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, test edilen en yüksek konsantrasyonun *L. sativa* tohum çimlenmesi, kök gelişimi ve mitotik indeks üzerinde olumsuz etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, doz arttıkça kromozomal anomali yüzdesinde de artış gözlemlendiği saptanmıştır (Sousa ve Viccini, 2011).

Nadir ve tehdit altındaki tıbbi türlerden olan *Achillea ageratum* L. bitkisinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, yabani ve kültür formları karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, bitkilerin Gram (+) bakteri suşlarına karşı etkili oldukları (MİK= 2,55-7,02 mg/mL); ancak Gram (-) bakteri suşlarına karşı etki etmedikleri (MİK= 20,40-41,10 mg/mL) belirlenmiştir. Ayrıca, *A. ageratum* bitkisinin bazı *Candida* türlerine karşı antifungal etkiye (MİK= 5,83-8,42 mg/mL) sahip olduğu saptanmıştır. Son olarak, *A. ageratum* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine yabani ya da kültüre alınmış olmasının kimyasal kompozisyonunda önemli bir fark yaratmadığı belirtilmiştir (El Bouzidi ve ark., 2012).

Achillea teretifolia bitkisinin toprak üstü kısımlarının sulu ekstraktının genotoksik etkisi *Allium cepa* kök ucu testi ile araştırılmıştır. Çalışma sonunda, test edilen dozlarının (25, 50 ve 100 g/L) kromozomal anomali yüzdesini anlamlı bir şekilde arttırdığı ve dolayısıyla bitkinin genotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Akyıl ve ark., 2012).

Horasan'dan toplanan ve tıbbi etkileri iyi bilinen iki *Achillea* türünden (*A. pachycephala* ve *A. santolina*) elde edilen uçucu yağ ve ekstraktların kimyasal içerikleri ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. GC-MS sonuçlarına göre, bitkilerin temel sekonder metabolitleri arasında 1,8-cineole, camphor, sabinen, terpinen-4-ol'un bulunduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, uçucu yağ ve ekstraktların test edilen Gram (+) ve Gram (-)

bakterilere karşı etkili oldukları belirlenmiştir (Motavalizadehkakhky ve ark., 2013).

Ürdün’de yetiştirilen *Achillea falcata* L. türünün ekstraktlarının antioksidan ve antibakteriyel etkilerinin araştırıldığı bir çalışma sonucunda, bitkinin yüksek olmayan antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve sadece Gram (+) bakterilere karşı bakterisidal etki gösterdiği saptanmıştır (Hammad ve ark., 2014).



BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

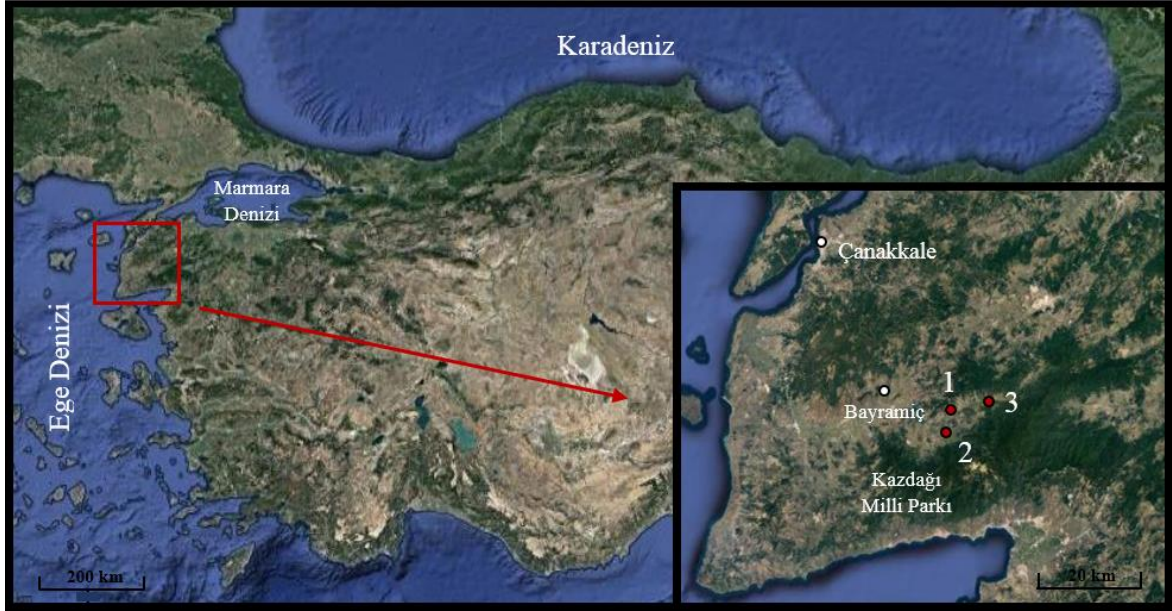
3.1. Materyal

3.1.1. *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler Bitki Örneklerinin Toplanması

Çalışma kapsamında test edilen endemik *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* (Asteraceae) bitkisinin toprak üstü organları, çiçeklenme döneminde yapılan mevsimsel (Mayıs ve Temmuz 2015) arazilerle Bayramiç/Çanakkale'nin köylerinden toplanarak laboratuvara getirildi (Şekil 3.1-3.5; Çizelge 3.1). Tür teşhisi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Ersin KARABACAK tarafından yapıldı. Çalışmada test edilen bitki örnekleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda saklanmaktadır.



Şekil 3.1. *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler



Şekil 3.2. Örneklerin toplandığı istasyonlar. 1: Sarıot Köyü/Bayramiç, 2: Evciler Köyü/Bayramiç, 3: Çırpılar Köyü/Bayramiç

Çizelge 3.1. Bitki örneklerinin toplandığı lokasyonlar

İstasyon No	Lokasyon	Yükseklik	Koordinatlar
1	Sarıot Köyü Bayramiç/Çanakkale	363 m	N 39 ⁰ 49,817 ¹ E 26 ⁰ 47,904 ¹
2	Evciler Köyü Bayramiç/Çanakkale	440 m	N 39 ⁰ 44,931 ¹ E 26 ⁰ 46,998 ¹
3	Çırpılar Köyü Bayramiç/Çanakkale	740 m	N 39 ⁰ 47,420 ¹ E 26 ⁰ 52,476 ¹



Şekil 3.3. Sarıot Köyü/Bayramiç/Çanakkale (1. İstasyon)

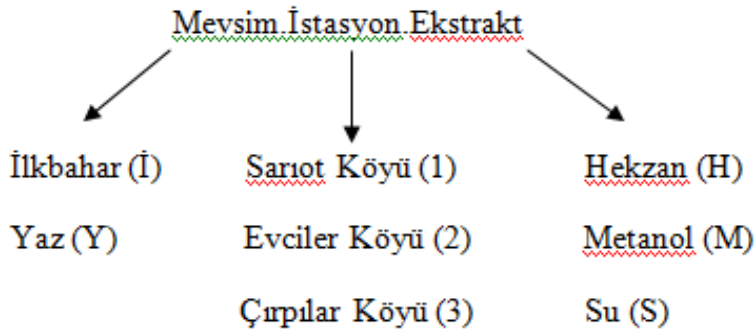


Şekil 3.4. Evciler Köyü/Bayramiç/Çanakkale (2. İstasyon)



Şekil 3.5. Çırpılar Köyü/Bayramiç/Çanakkale (3. İstasyon)

Bu çalışmada test edilen bitki örnekleri metin içerisinde bahsedilirken kodlama yapıldı (Şekil 3.6). Örneğin; İ.3.M olarak ifade edilen örnek, ilkbahar mevsiminde Çırpılar Köyü'nden toplanan bitkilerden elde edilen metanol ekstraktıdır.



Şekil 3.6. Test edilen bitki örneklerinin sırasıyla toplandığı mevsimin, istasyonun ve ekstrakt çeşidinin ifade edilmesi

3.1.2. *Tradescantia pallida* H.

Tradescantia pallida H. bitkisi kontrollü laboratuvar koşullarında çelikleme yöntemiyle çoğaltıldı. Bitkinin yetiştirilmesinde perlit ve toprak karışımı (1:3) kullanıldı. Ekimi yapılan çeliklerin bulunduğu saksılar, uygun fotoperiyodun (16:8,

aydınlık:karanlık), sıcaklığın (25 ± 2 °C) ve bağıl nemin (%60-80) sağlandığı bitki yetiştirme odasına alındı. Bitkilere su az miktarda günlük olarak verildi. 8 hafta sonunda *T. pallida* bitkilerinin gelişmesi ve köklenmesi sağlandı. Bitkiler çiçeklenme dönemine gelince deney düzeneği kuruldu (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. *Tradescantia pallida* H. bitkisi

3.1.3. *Allium cepa* L.

Allium cepa L. kök meristematik hücre testinde sertifikalı mutfak soğanı (*Allium cepa* L.) yumruları kullanıldı.

3.1.4. Mikroorganizmalar

Achillea nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırılmasında Gram pozitif (+) [*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)] ve Gram negatif (-) [*Escherichia coli* (ATCC 25922), *E. coli* (NRRL B-3704), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315)] bakteriler ile mayalar [*Candida albicans* (ATCC 60193), *C. tropicalis* (ATCC 13803)] kullanıldı. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi/Fen Fakültesi/Biyoloji Bölümü ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi/Tıp Fakültesi'nden temin edildi.

3.1.5. Kimyasallar

Ekstraktların elde edilmesi amacıyla kullanılan çözücülerden *n*-hekzan (C₆H₁₄) ve metanol (CH₃OH) Merck'den temin edildi.

Genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmalarında kullanılan gliserol, agaroz, etidyum bromür, EDTA, hidrojen peroksit (H₂O₂), glasiyal asetik asit (CH₃COOH), etanol (C₂H₅OH), orsein Merck'den temin edildi.

Antioksidan aktivite çalışmalarında kullanılan gallik asit (GA), sodyum karbonat (Na₂CO₃), Folin-Ciocalteu reaktifi, kuersetin, alüminyum nitrat nonahidrat (Al(NO₃)₃.9H₂O), potasyum asetat (C₂H₃KO₂), etanol (C₂H₅OH), metanol (CH₃OH), bütül hidroksi toluen (BHT) (C₁₅H₂₄O), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), Tween-20, linoleik asit, β-karoten, kloroform (CHCl₃), bakır(II) klorür (CuCl₂.2H₂O), amonyum asetat (CH₃COONH₄), neokuproin (C₁₄H₁₂N₂), EDTA (C₁₀H₁₆N₂O₈), demir(II) klorür tetrahidrat (FeCl₂.4H₂O), ferrozin, demir(III) klorür (FeCl₃.6H₂O), sodyum dihidrojen fosfat (NaH₂PO₄), amonyum tiyosiyanat (NH₄SCN) Sigma-Aldrich'den temin edildi.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan Müller Hinton Agar (MHA, Oxoid), Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Nutrient Agar (NA, Oxoid), Müller Hinton Broth (MHB), Nutrient Broth (NB, Oxoid), dimetil sülfoksit (DMSO), etanol, metanol, Merck'den temin edildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstraktların Eldesi

Tür teşhisi yapılan bitki örnekleri serin, kuru ve doğrudan güneş ışığı almayan bir ortamda kurutuldu. İyice kurutulmuş ve ufak parçalara ayrılmış bitki örneklerinden soksilet düzeneği (Wisd, Wise Therm) kullanılarak ekstraktlar elde edildi (Şekil 3.8a). Aynı bitki örneği sırasıyla *n*-hekzan (C₆H₁₄, kaynama noktası (KN): 68,7 °C), metanol (CH₃OH, KN: 64,7 °C) ve distile su (dH₂O, KN: 100 °C) ile muamele edildi. Böylelikle, farklı polariteye sahip çözücülerin seçilmesiyle test edilen bitkiden farklı biyoaktif bileşenlerin izole edilmesi amaçlandı. Yaklaşık 15 g kuru bitki örneği için 300 mL çözücü kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi her bir ekstrakt için 12 saat uygulandı. Bu süre sonunda elde edilen ekstraktlar filtre kağıdı (Whatman No.1) ile süzüldü ve rotary evaporatörde (Spektral, Heidolph, Laborota 4001) 45 °C'de çözücüler tamamen uçuruldu (Şekil 3.8b). Elde edilen ham ekstraktlar test edilinceye kadar -20 °C'de saklandı (Boubaker ve ark., 2010).



Şekil 3.8. Ekstraktların eldesinde kullanılan (a) soksilet düzeneği ve (b) rotary evaporatör

3.2.2. Sitotoksik, Genotoksik ve Antigenotoksik Aktivite Analizleri

3.2.2.1. *Tradescantia* Stamen Tüyü Mutasyon Analizi

Çalışma kapsamında, *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin genotoksik potansiyeli *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi ile belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla, öncelikle *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ekstraktlarından farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanarak ve farklı uygulama şekilleri denenerek ön çalışmalar yapıldı. Bu çalışmalar sonucunda test edilecek doz ve uygulama şekli belirlenmiş oldu. Daha sonra, *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi hekzan, metanol ve su ekstraktlarından hazırlanan çözeltiler (1 mg/mL), doğrudan ışık geçirmeyen alüminyum folyo ile sarılı cam beherlere konuldu (Şekil 3.9). Negatif kontrol için distile su (DS); pozitif kontrol için ise sodyum azid (SA) (1 mg/mL) kullanıldı. *T. pallida* bitkisi çiçeklenme döneminde iken çiçekli dallarından koparılarak bu çözeltiler içerisinde farklı sürelerle (12, 24, 48, 72 ve 96 saat) muamele edildi. Bu süreler sonunda bitkilere yaklaşık 24 saatlik bir iyileşme periyodu uygulandı. İyileşme periyodu sonunda, her bir bitki parçasında bulunan 5-10 adet çiçeğin stamen tüyleri ince uçlu pens yardımıyla koparılarak lam yüzeyine alındı. Üzerine gliserol:su (1:1) karışımından bir damla damlatıldı ve bir diseksiyon iğnesi yardımıyla tüyler düzenli bir şekilde sıralanarak tüy sayısının ve oluşan mutasyonların kolaylıkla görülmesi sağlandı. Her deney grubu için 20 adet bitki parçası seçildi ve her deney grubu için de yaklaşık 1000 stamen tüyü hücresi binoküler loop

mikroskop altında incelenerek, gözlenen mutant pembe renkli hücrelerin sayısı not edildi. Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildiğinden, toplamda her deney grubu için yaklaşık 3000 stamen tüyü hücresi incelenmiş oldu. Elde edilen sonuçların ortalamaları alınarak standart sapma değerleri hesaplandı (Ma ve ark., 1994).



Şekil 3.9. *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi deney düzeneği

3.2.2.2. DNA Kesme ve Koruma Aktivitesi

Bitki ekstraktlarının DNA hasarı oluşturma ve hasara karşı koruma potansiyelleri DNA cleavage testi ile araştırıldı. Bu çalışma kapsamında, DNA kesme ve koruma aktivitelerinde yaygın olarak kullanılan pBR322 plazmid DNA (Thermo Scientific) ile çalışıldı. Süper sarmal pBR322 plazmid DNA, çift zincirli halkasal formda olup 4361 bp uzunluğundadır. Moleküler ağırlığı ise $2,83 \times 10^6$ Da'dur. Ayrıca, ampisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı direnç genleri içermektedir.

Achillea nobilis subsp. *sipylea* ekstraktlarının DNA kesme ve koruma aktivitelerinin belirlenmesinde öncelikle farklı dozlar ile ön denemeler yapıldı ve test edilecek doz 0,5 mg/mL olarak belirlendi. DNA koruma aktivitesinde, H₂O₂ (25 mM) ve UV'nin (5 dk, 8000 μ W cm⁻¹, 300 nm) DNA'da oluşturdukları hasara karşı ekstraktların koruyucu etkisi belirlenmeye çalışıldı.

Ekstraktların DNA kesme ve koruma aktivitelerinin belirlenmesi için agaroz jel elektroforez tekniği uygulandı. DNA karışımları %1'lik hazırlanan agaroz jeldeki kuyucuklara aktarıldı. Marker olarak 1 kb DNA Ladder (Thermo Scientific) kullanıldı. Her kuyucuk için 0,2 μ g plazmid DNA yüklendi. Elektroforez 60 V'ta 400 mA akımda 60 dk

(Labnet Gel XL Enduro) uygulandı. Yürütme sonunda jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat TFX-20.M) ile jelin fotoğrafı çekilerek bant görüntüleri elde edildi. Elde edilen bu görüntüler ile Form I'in Form II ve/veya Form III'e dönüşümü dikkate alınarak sonuçlar değerlendirildi.

3.2.2.3. *Allium cepa* L. Kök Meristematik Hücre Testi

Ekstraktların antigenotoksik aktivitesinin belirlenmesi amacıyla DNA cleavage yönteminin yanı sıra *Allium cepa* kök meristematik hücre testi de uygulandı. Bu çalışma kapsamında uygulanan *Allium* test, Fiskesjö (1985)'nün yöntemi temel alınarak yapıldı.

Çalışmada, benzer ağırlıklara sahip arpacık soğanları (*Allium cepa* L., $2n=16$) kullanıldı. Dış kabukları ve kuru kök kısımları temizlenen soğanlar, köklenmesi için distile su ile doldurulmuş cam tüplerin ağız kısmına yerleştirildi (Şekil 3.10). Köklendirme işlemi 22 ± 2 °C oda sıcaklığında laboratuvar koşullarında yapıldı. Kökler yaklaşık 2-3 cm uzunluğa ulaşınca, kök uçları 1 saat süreyle H_2O_2 çözeltisi (%0,3) içeren cam tüplere transfer edildi. Bu süre sonunda soğanlar yaklaşık 10 dakika boyunca akan çeşme suyunda yıkandıktan sonra, test edilecek ekstraktların farklı dozlarını (0,02, 0,10 ve 0,50 mg/mL) içeren cam tüplere yerleştirildi. Bu dozların belirlenmesi amacıyla öncelikle ekstraktların farklı konsantrasyonları hazırlanarak bir ön çalışma yapıldı. Pozitif kontrol amacıyla H_2O_2 çözeltisi (%0,3; 1 saat), negatif kontrol amacıyla da distile su kullanıldı. Deney süresi (48 saat) sonunda kökler, uzunlukları not edildikten sonra bir bistüri yardımıyla yaklaşık 1-2 cm boyunda uç kısımlarından kesildi. Kesilen kökler farmer fiksatif (3:1, etanol:glasiyal asetik asit) içerisine alınarak, 24 saat süre boyunca 4 °C'de tespit edildi. Fiksasyon işleminden sonra, kökler ışık mikroskopunda incelenene kadar %70'lik etanol çözeltisine alındı ve 4 °C'de buzdolabında muhafaza edildi. Mikroskopik inceleme için öncelikle kök uçlarının 1 N hidroklorik asit (HCl) çözeltisinde ısı uygulanarak yaklaşık 3 dakika boyunca hidroliz işlemi gerçekleştirildi. Asitten alınan kök uçları %2'lik orsein çözeltisine konularak beg alevi üzerinde boyama işlemi yapıldı. Boyanan kök uçları lam üzerine alınarak ezme preparat tekniği uygulandı. Her kontrol ve uygulama grubu için her slaytta 5 kök ucu olmak üzere üçer slayt hazırlandı ve her grup için en az 5000 hücre analiz edildi. Slaytlar Olympus CX41 binoküler ışık mikroskopunda 40×10 'luk büyütmede incelendi.

Çalışmada her deney grubu için kök uzunlukları, bölünen hücre sayısı/toplam hücre sayısı (mitotik indeks; MI) ve kromozomal anormallikler (metafazda kutup kayması, fragment oluşumu, anafazda kalgın kromozom, C-mitoz, dağınık kromozom yapısı, anafazda ve telofazda kromatid köprüsü oluşumu, anafazda ve telofazda kutup kayması,

yapışkan kromozom vb) not edilerek ortalamaları ve standart sapma değerleri kaydedildi. Böylelikle bu test kapsamında elde edilen verilerle, *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin oksidatif hücre ve DNA hasarına karşı koruyucu etkisi test edilmeye çalışıldı.



Şekil 3.10. *Allium cepa* L. kök meristematik hücre testinin uygulanışı

3.2.3. Antioksidan Aktivite Analizleri

3.2.3.1. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi

Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu ayırıcı ile Slinkard ve Singleton'un (1977) geliştirdiği metoda göre tayin edildi.

Standart fenolik bileşik olarak gallik asit (GA) kullanıldı. Standart eğri eldesi için 250 mg gallik asit 25 mL saf suda çözülerek (10 mg/mL) stok çözelti elde edildi. Stok çözeltilerden de 25-1000 µg/mL'lik bir seri çözelti hazırlandı. Tüplere sırasıyla standart çözelti (0,1 mL), distile su (4,5 mL) ve Folin-Ciocalteu reaktifi (0,1 mL) konuldu. Yaklaşık 3 dakika sonra %2'lik hazırlanan Na₂CO₃ çözeltilisinden (0,3 mL) ilave edildi. Tüpler vorteksledikten sonra karışım 2 saat boyunca karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi. Test edilecek ekstraktlar ve kör de aynı şekilde hazırlandı. Negatif kontrole standart veya ekstrakt yerine distile su (0,1 mL) ilave edildi. Kör için ise su kullanıldı. Hazırlanan örnekler spektrofotometrede 760 nm dalga boyunda okutulmuş ve elde edilen değerler kaydedildi. Deney 3 tekrarlı olarak yapıldı ve değerlerin ortalamaları alındı. Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarlarının hesaplanmasında, standart eğriden elde edilen aşağıdaki denklem kullanıldı ve sonuçlar mg gallik asit/g ekstrakt şeklinde

düzenlenerek hesaplandı.

$$y = 0,001x + 0,067 \quad (3.1)$$

y = Absorbans değeri

x = Gallik asit miktarı (mg)

3.2.3.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi

Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı, Matejić ve ark. (2013)'nın geliştirdiği yöntemle göre belirlendi. Çalışmada standart flavonoid bileşik olarak kuersetin kullanıldı. Standart eğri elde etmek amacıyla 25-1000 µg/mL'lik kuersetin çözeltileri hazırlandı. Sırasıyla standart çözeltilerden 100 µL, %10 Al(NO₃)₃.9H₂O çözeltilerinden 100 µL, 1 M C₂H₃KO₂ çözeltilerinden 100 µL ve etanolden de 5,2 mL eklenerek vortekste karıştırıldı. Oda sıcaklığında 40 dakika bekletilen karışımın, 415 nm'de spektrofotometrede absorbans değeri belirlendi. Test edilecek ekstraktlar ve kör de aynı şekilde hazırlandı. Negatif kontrole standart veya ekstrakt yerine etanol (100 µL) ilave edildi. Kör için ise etanol kullanıldı. Ölçümler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Ekstraktların içerdiği toplam flavonoid madde miktarı, standart eğriden elde edilen aşağıdaki denklem kullanılarak belirlendi ve sonuçlar mg kuersetin/g ekstrakt şeklinde düzenlenerek ifade edildi.

$$y = 0,010x + 0,104 \quad (3.2)$$

y = Absorbans değeri

x = Kuersetin miktarı (mg)

3.2.3.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi (DPPH Testi)

Serbest radikal giderme aktivitesi, Brand-Williams metoduna göre 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak belirlendi. Bu yöntemde, DPPH molekülü ortamda bulunan antioksidan moleküllerine H⁺ vererek indirgenir ve bu durum absorbansın azalmasına neden olur. Absorbans değeri ne kadar çok azalırsa, test edilen maddenin serbest radikal giderme aktivitesi de o kadar fazla anlamına gelmektedir (Brand-Williams ve ark., 1995).

Test edilecek ekstraktlar veya standart olarak kullanılacak BHT çözeltisi 1 mg/mL olacak şekilde hazırlanıp, farklı miktarlarda (20, 40, 60, 80 ve 100 µL) test tüplerine alındı. Daha sonra, her bir tüpteki toplam hacim 2 mL olacak şekilde metanol eklendi. Örnekler

üzerine metanolde günlük olarak hazırlanan 20 mg/L DPPH çözeltisinden 0,5 mL eklenerek vorteks yardımıyla hızlıca karıştırıldı. Hazırlanan örnekler karanlık ortamda oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu süre sonunda, spektrofotometrede 517 nm’de örneklerin absorbansları köre karşı ölçüldü. Pozitif ve negatif kontroller de paralel olarak çalışıldı. Pozitif kontrolde ekstrakt yerine standart (BHT), negatif kontrolde ise çözücü (metanol) kullanıldı. Deney üç kez tekrarlandı ve okunan değerlerin aritmetik ortalaması alındı. Her örneğin radikal giderme aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar % inhibisyon olarak belirlendi (Brand-Williams ve ark., 1995).

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.3)$$

A₀: Ekstrakt veya standart içermeyen kontrol absorbansı

A₁: Ekstrakt veya standart absorbansı

3.2.3.4. β -Karoten/Linoleik Asit Testi

β -Karoten testi, bir emülsiyonda linoleik asit oksidasyonu ile oluşturulan radikallerle reaksiyonundan dolayı β -karotenin sarı renginin kaybolması esasına dayanmaktadır. Antioksidanlar varlığında β -karoten ağartma oranı yavaşlatılabilmektedir. Bu sayede, iyi bilinen sentetik antioksidanlardan olan BHT, *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin antioksidan aktivite değerlendirilmesinde kullanıldı.

β -Karoten/linoleik asit testi Miller (1971)’in yöntemi esas alınarak yapıldı. 0,2 mL %100 Tween 20 ve 0,02 mL linoleik asit içeren 50 mL’lik yuvarlak dipli bir şişe içerisine, 1 mL β -karoten solüsyonundan (0,2 mg/mL kloroform) ilave edildi. Bir rotary evaporator yardımıyla 40 °C’de 5 dakika tutulan karışımdan kloroformun uzaklaştırılması sağlandı. Uçurma işleminden sonra, karışım hemen 100 mL distile su ile seyreltildi. Bir emülsiyon oluşturmak amacıyla distile su karışımın içerisine azar azar eklendi ve karışım hızlı bir şekilde çalkalandı. Bu karışım stok solüsyon olarak kullanıldı. İçerisinde %80’lik metanolde çözülmüş 1 mg/mL dozunda hazırlanan ekstraktlardan 0,2 mL bulunan farklı test tüplerine bu emülsiyondan 5’er mL paylaştırıldı. Hazırlanan karışımın absorbansı köre (β -karoten içermeyen emülsiyon) karşı 470 nm’de ölçüldü. Cam tüpler 50 °C’ye ayarlı su banyosuna yerleştirildi ve emülsiyonun oksidasyonu 30, 60 ve 90 dakikalık süreler sonunda 470 nm’de absorbansının ölçülmesiyle spektrofotometrik olarak izlendi. Pozitif kontrol olarak BHT kullanıldı. Her deney 3 tekrarlı olarak yapıldı. Ekstraktların antioksidan aktivite yüzdesi aşağıda yer alan formüle göre hesaplandı ve elde edilen değerlerin aritmetik ortalamaları alındı.

$$\text{Antioksidan aktivite (\%)} = 100 \times [1 - (A_0 - A_t / A_{00} - A_{0t})] \quad (3.4)$$

A_0 : Ekstrakt veya standart içeren solüsyonun reaksiyonun başlangıcındaki absorbansı

A_t : Ekstrakt veya standart içeren solüsyonun belli bir süre (30, 60, 90 dakika) sonundaki absorbansı

A_{00} : Ekstrakt veya standart içermeyen kontrol solüsyonunun reaksiyonun başlangıcındaki absorbansı

A_{0t} : Ekstrakt veya standart içermeyen kontrol solüsyonunun belli bir süre (30, 60, 90 dakika) sonundaki absorbansı

3.2.3.5 Bakır(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi (CUPRAC Testi)

Bitki ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini için CUPRAC testi uygulandı (Apak ve ark., 2006). Testte kullanılan 10 mM CuCl_2 çözeltisi distile suda; 1 M amonyum asetat tampon çözeltisi (pH=7,0) ve 7,5 mM neokuproin çözeltisi de etanolde günlük olarak hazırlandı. Bir cam tüpe farklı konsantrasyonlarda (0,8-4 mg/mL) hazırlanan ekstraktlardan 250 μL konuldu. Üzerine sırasıyla 250 μL CuCl_2 çözeltisi, 250 μL neokuproin çözeltisi ve 250 μL amonyum asetat tamponu eklendi. Daha sonra, tüplere toplam hacim 2 mL olacak şekilde 1 mL distile su eklendi ve iyice karıştırıldı. Tüpler oda sıcaklığında karanlıkta ağzı kapalı olarak 30 dakika bekletildikten sonra, 450 nm'deki absorbans değerleri köre karşı okundu. Pozitif kontrolde standart olarak BHT kullanıldı. Negatif kontrolde ise, ekstrakt yerine distile su (250 μL) konuldu.

3.2.3.6. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Ekstraktların metal şelatlama aktiviteleri, Dinis ve ark. (1994)'nın belirledikleri yöntemle yapıldı. Ekstraktlardan ve pozitif kontrolde kullanılacak olan bileşikten (EDTA) 100 mg/mL olacak şekilde stok çözeltileri hazırlandı. Her stok çözeltiden de farklı konsantrasyonlarda (0,25-10 mg/mL) seri çözeltiler elde edildi. Tüpe sırasıyla 100 μL test edilecek madde, 400 μL etanol, 100 μL $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2 mM) ve 400 μL ferrozin (5 mM) ilave edildi. Çözelti vortekste kuvvetli bir şekilde karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. İnkübasyondan sonra çözeltinin 562 nm'deki absorbansı, ferrozin hariç geriye kalan çözeltiden oluşan köre karşı kaydedildi; ferrozin yerine aynı miktarda (400

µL) etanol konuldu. Negatif kontrol olarak ekstrakt ya da EDTA hariç geriye kalan çözelti kullanıldı. Deneyde her doz 3 tekrarlı olacak şekilde test edildi. Metal şelatlama aktivitesi % cinsinden şu formülle hesaplandı:

$$\text{Metal şelatlama aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.5)$$

A₀: Ekstrakt veya standart içermeyen kontrol absorbansı

A₁: Ekstrakt veya standart absorbansı

3.2.3.7. Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Ekstraktların toplam antioksidan aktivitesini belirlemek için ferrik tiyosiyanat metodu kullanıldı. Bu test için 1 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanan ekstrakt stok çözeltisinden 0,5 mL alınarak üzerine 2,5 mL linoleik asit, 2 mL sodyum fosfat tampon çözeltisi (0,04 M NaH₂PO₄; pH 7,2) eklendi. Aynı işlemler standart (BHT) için de tekrarlandı. Karışımlar 6 saat süreyle 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra bu numunelerden 100 µL alınıp, üzerine sırasıyla 4,7 mL etanol, 100 µL FeCl₂ (%3,5) çözeltisi ve 100 µL amonyum tiyosiyanat (%30) çözeltisi eklendi. Kontrol çözelti olarak 2,5 mL linoleik asit üzerine 2,5 mL tampon çözelti ilave edildi. Kör ise, ekstrakt ya da standart yerine tampon çözelti konularak hazırlandı. Standardın ve ekstraktların absorbansı, reaksiyon başlangıcında ve 6, 24, 48 saat sonunda 500 nm’de köre karşı okundu ve yüzde inhibisyonları aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Mitsuda ve ark., 1996).

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.6)$$

A₀: Ekstrakt veya standart içermeyen kontrol absorbansı

A₁: Ekstrakt veya standart absorbansı

3.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Analizleri

Achillea nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin antimikrobiyal aktivite analizleri, broth mikrodilüsyon ve agar disk difüzyon yöntemleri kullanılarak Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü’nün önerdiği şekilde gerçekleştirildi (CLSI, 2002; 2004; 2012a; 2012b).

3.2.4.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntemde, test edilen her mikroorganizma için 100 µL inokulum steril petri kaplarına aktarıldı ve agar disk difüzyon testlerinde, bakteriler için Müeller-Hinton Agar

(MHA) plakları; funguslar için Saboraud Dekstroz Agar (SDA) plakları kullanıldı. Plaklar inokülasyon öncesi yaklaşık 30 dakika 37 °C’de inkübatörde tutuldu. Her petride 5 adet olacak şekilde agar üzerinde 6 mm çapında boş steril antibiyogram diskleri yerleştirildi. Test edilmek istenen bitki ekstraktlarından hazırlanan farklı dilüsyonlardan 25 µL bu disklere emdirildi. Petriler oda sıcaklığında 15 dk bekletildikten sonra, bakteri ekimi yapılanlar 35-37 °C’de 24 saat, fungus ekimi yapılanlar ise 28-30 °C’de 48 saat inkübe edildi. Duyarlılık testlerinde standart antibiyotikler pozitif kontrol amacıyla kullanıldı. Pozitif kontrolde bakteriler için gentamisin ve ampisilin, funguslar için flukonazol uygulandı. Negatif kontrolde çözücü olarak kullanılan DMSO uygulandı. Bütün testler üç tekrarlı olarak yapıldı. Biyoanaliz sonuçları inhibisyon bölgesi çap değerlerinin ortalaması alınarak verildi (Şekil 3.11). Buna göre elde edilen sonuçlar, <9 mm ise inaktif; 9-12 mm ise kısmen aktif; 12-18 mm ise aktif; >18 mm ise yüksek derecede aktif olarak kabul edildi (Cerqueira ve ark., 2007).



Şekil 3.11. Agar disk difüzyon yönteminin uygulandığı petri görüntüsü

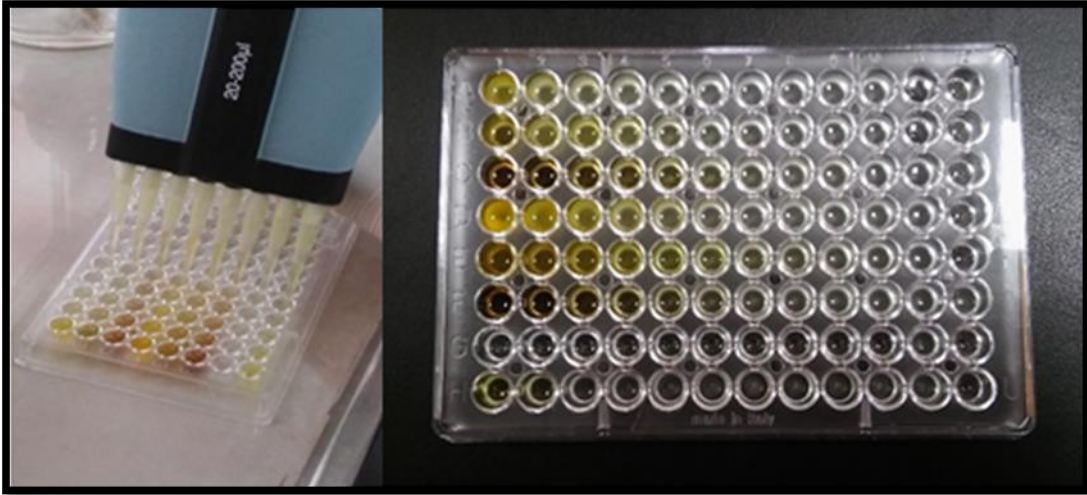
3.2.4.2. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi

Broth mikrodilüsyon yöntemi ile bitki ekstraktlarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) belirlendi. MİK değerlerinin belirlenmesi, 96 kuyucuğa sahip mikropklarda bir seri dilüsyon metodu uygulanarak yapıldı.

Ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (NRRL B-3704), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC

10145), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315) bakterileri ve *Candida albicans* (ATCC 60193) ile *Candida tropicalis* (ATCC 13803) mayalarına karşı test edildi.

Bakteriler Müeller Hinton Agar (MHA) (pH 7,2), mayalar ise Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) besiyerleri kullanılarak çoğaltıldı. Bakterilerin inokulumu Müeller Hinton Broth (MHB, Difco) besiyerindeki 4-6 saatlik kültürden, mayalar için ise RPMI-1640 (Sigma) besiyerindeki 24 saatlik kültürden hazırlandı. Mikroorganizma süspansiyonlarının yoğunlukları 0,5 McFarland standardı kullanılarak ayarlandı. Böylelikle, son konsantrasyonları bakteriler için 5×10^5 kob/mL (koloni oluşturan birim/mL), mayalar için $0,5-2,5 \times 10^3$ kob/mL olacak şekilde taze gecelik kültürlerden seyreltmeler yapıldı. Ekim yapılan mikropalaklar bakteriler için 35-37 °C'de 18-24 saat, mayalar için ise 28-30 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu MİK değeri olarak kaydedildi (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Broth mikrodilüsyon yönteminin uygulanışı ve test sonucundaki mikropalak görüntüsü

3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics Version 21.0 paket programı kullanılarak hesaplandı. Ölçümler üç tekrarlı olarak yapıldı ve sonuçlar ortalama±standart sapma (ort±ss) olarak gösterildi. Test sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, One-Way ANOVA testi ve grupların karşılaştırılması amacıyla Duncan çoklu aralık testi ile Kruskal-Wallis H nonparametrik testi ve iki grubun karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Farklılıklar $p < 0,05$ seviyesinde önemli görüldü.

BÖLÜM 4

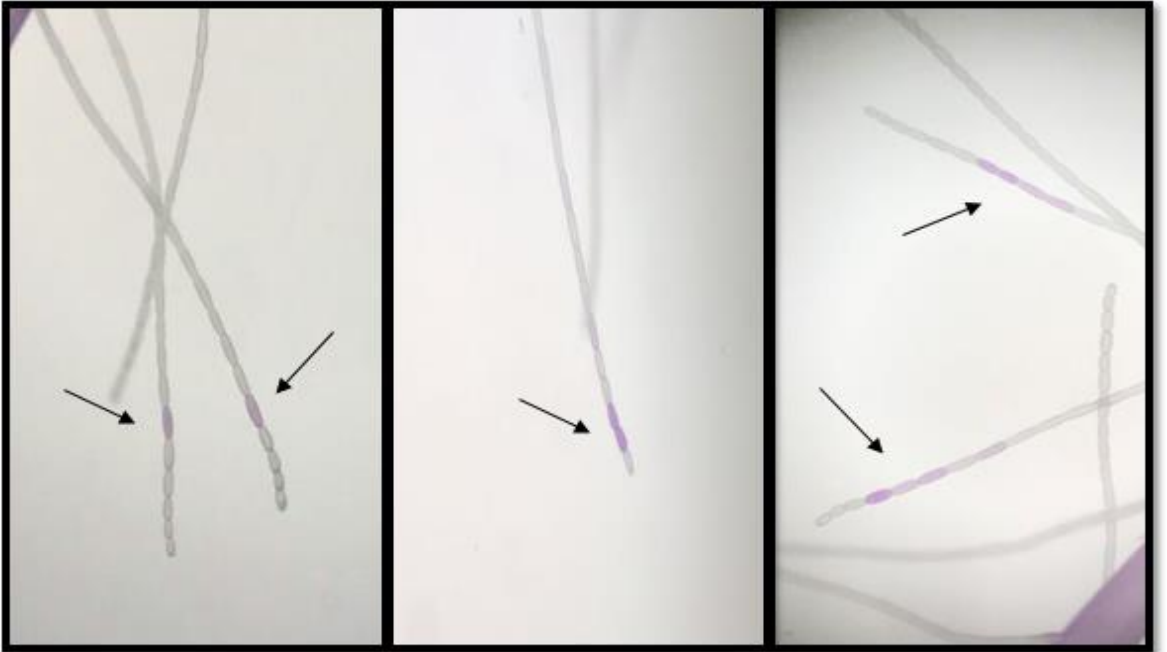
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Genotoksisite ve Antigenotoksisite Sonuçları

4.1.1. *Tradescantia* Stamen Tüyü Mutasyon Analizi Sonuçları

Achillea nobilis subsp. *sipylea* bitkisinden elde edilen hekzan, metanol ve su ekstraktlarının *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizleri sırasında gözlenen pembe renkli mutant hücreler Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Analizlerde elde edilen veriler Çizelge 4.1’de ve Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6’da ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. Gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal Wallis H nonparametrik testi ve Mann Whitney U testi ile belirlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olan değerler farklı harflerle ifade edilmiştir (Çizelge 4.1).

Yapılan bu analizde, *A. nobilis* subsp. *sipylea* hekzan ekstraktlarının test edildiği deney gruplarının hiçbirinde çiçeklenme olmadığı için stamen tüyü hücreleri incelenememiş olup hekzan ekstraktları için analiz gerçekleştirilememiştir. Diğer *A. nobilis* subsp. *sipylea* metanol ve su ekstraktlarının mutasyon analizi sonuçları karşılaştırıldığında ise, uygulama süresine bağlı olarak ekstraktların mutant hücre sayısında artışa neden olduğu; ancak negatif kontrolle kıyaslandığında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Sadece pozitif kontrol olarak kullanılan sodyum azid (SA) uygulama gruplarının hepsinde istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,05$).

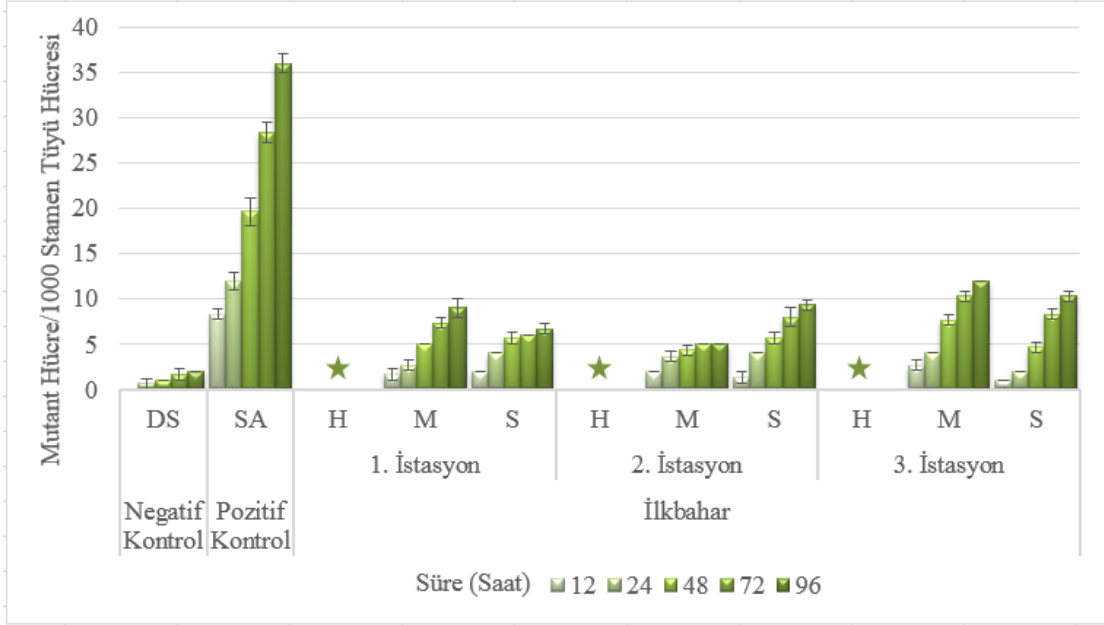


Şekil 4.1. *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizinde gözlenen pembe mutant hücreler

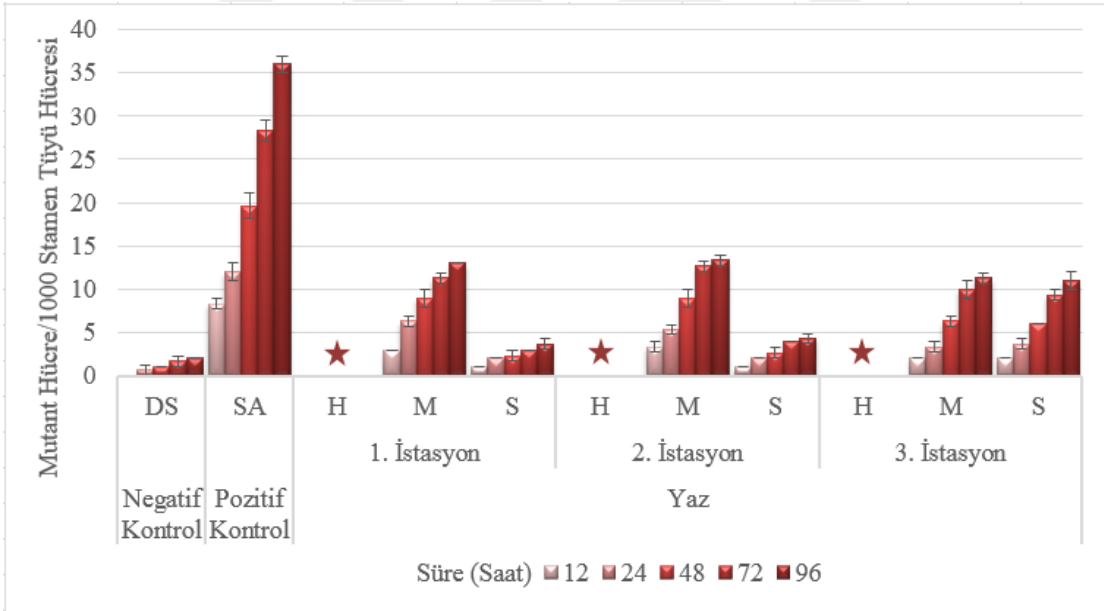
Çizelge 4.1. *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları

Uygulama (1 mg/mL)		Mutant Hücre/1000 Stamen Tüyü Hücresi						
		Uygulama Süresi (Saat)						
		12	24	48	72	96		
Negatif Kontrol	DS	0,00±0,00 ^{c,B}	0,67±0,58 ^{d,B}	1,00±0,00 ^{d,B}	1,67±0,58 ^{e,A}	2,00±0,00 ^{e,A}		
Pozitif Kontrol	SA	8,33±0,58 ^{a,E}	12,00±1,00 ^{a,D}	19,67±1,53 ^{a,C}	28,33±1,15 ^{a,B}	36,00±1,00 ^{a,A}		
İlkbahar	1. İstasyon	H	-	-	-	-	-	
		M	1,67±0,58 ^{c,C,D}	2,67±0,58 ^{c,d,C}	5,00±0,00 ^{e,B}	7,33±0,58 ^{c,A,B}	9,00±1,00 ^{e,A}	
		S	2,00±0,00 ^{c,C}	4,00±0,00 ^{c,B}	5,67±0,58 ^{b,c,A,B}	6,00±0,00 ^{d,A}	6,67±0,58 ^{c,d,A}	
	2. İstasyon	H	-	-	-	-	-	
		M	2,00±0,00 ^{c,B}	3,67±0,58 ^{c,A,B}	4,33±0,58 ^{c,A}	5,00±0,00 ^{d,A}	5,00±0,00 ^{d,A}	
		S	1,33±0,58 ^{c,C}	4,00±0,00 ^{c,B}	5,67±0,58 ^{b,c,B}	8,00±1,00 ^{c,A}	9,33±0,58 ^{c,A}	
	3. İstasyon	H	-	-	-	-	-	
		M	2,67±0,58 ^{b,c,C}	4,00±0,00 ^{c,C}	7,67±0,58 ^{b,B}	10,33±0,58 ^{b,c,A,B}	12,00±0,00 ^{b,A}	
		S	1,00±0,00 ^{c,C}	2,00±0,00 ^{d,C}	4,67±0,58 ^{c,B}	8,33±0,58 ^{c,A}	10,33±0,58 ^{b,c,A}	
	Yaz	1. İstasyon	H	-	-	-	-	-
			M	3,00±0,00 ^{b,D,E}	6,33±0,58 ^{b,c,C,D}	9,00±1,00 ^{b,B,C}	11,33±0,58 ^{b,A,B}	13,00±0,00 ^{b,A}
			S	1,00±0,00 ^{c,B}	2,00±0,00 ^{d,B}	2,33±0,58 ^{c,d,A,B}	3,00±0,00 ^{d,A}	3,67±0,58 ^{d,A}
2. İstasyon		H	-	-	-	-	-	
		M	3,33±0,58 ^{b,D}	5,33±0,58 ^{b,c,C}	9,00±1,00 ^{b,B}	12,67±0,58 ^{b,A}	13,33±0,58 ^{b,A}	
		S	1,00±0,00 ^{c,B}	2,00±0,00 ^{d,B}	2,67±0,58 ^{c,A,B}	4,00±0,00 ^{d,A}	4,33±0,58 ^{d,A}	
3. İstasyon		H	-	-	-	-	-	
		M	2,00±0,00 ^{c,D}	3,33±0,58 ^{c,D}	6,33±0,58 ^{b,c,C}	10,00±1,00 ^{b,c,A,B}	11,33±0,58 ^{b,A}	
		S	2,00±0,00 ^{c,D}	3,67±0,58 ^{c,D}	6,00±0,00 ^{c,C}	9,33±0,58 ^{c,B}	11,00±1,00 ^{b,c,A}	

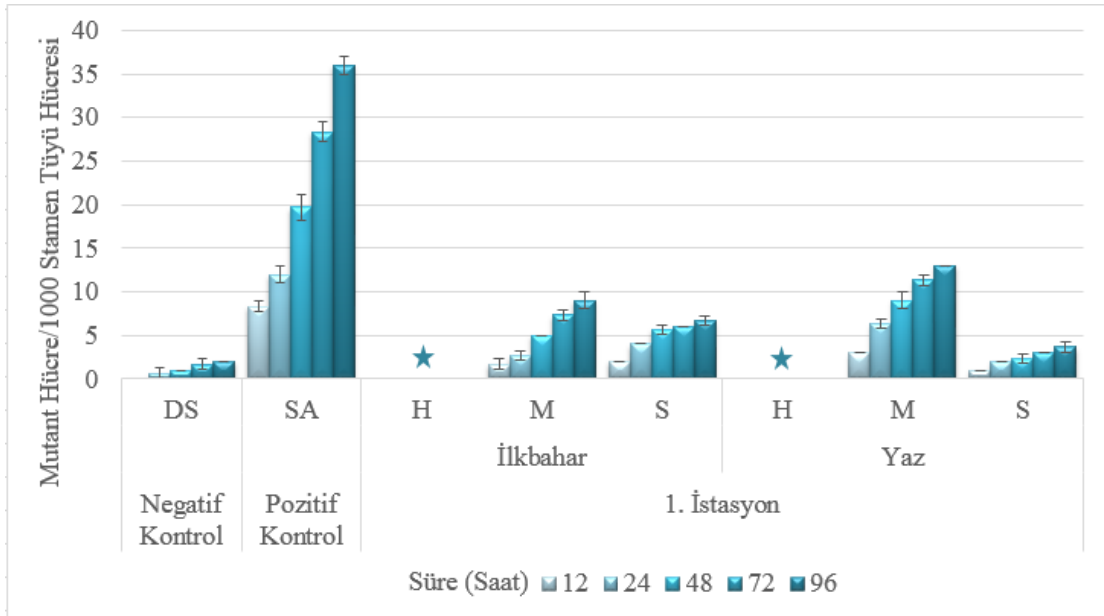
DS: Distile su, SA: Sodyum azid, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. (-): Analiz yapılamamıştır. Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). A, B, C, D, E: Aynı satır içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)



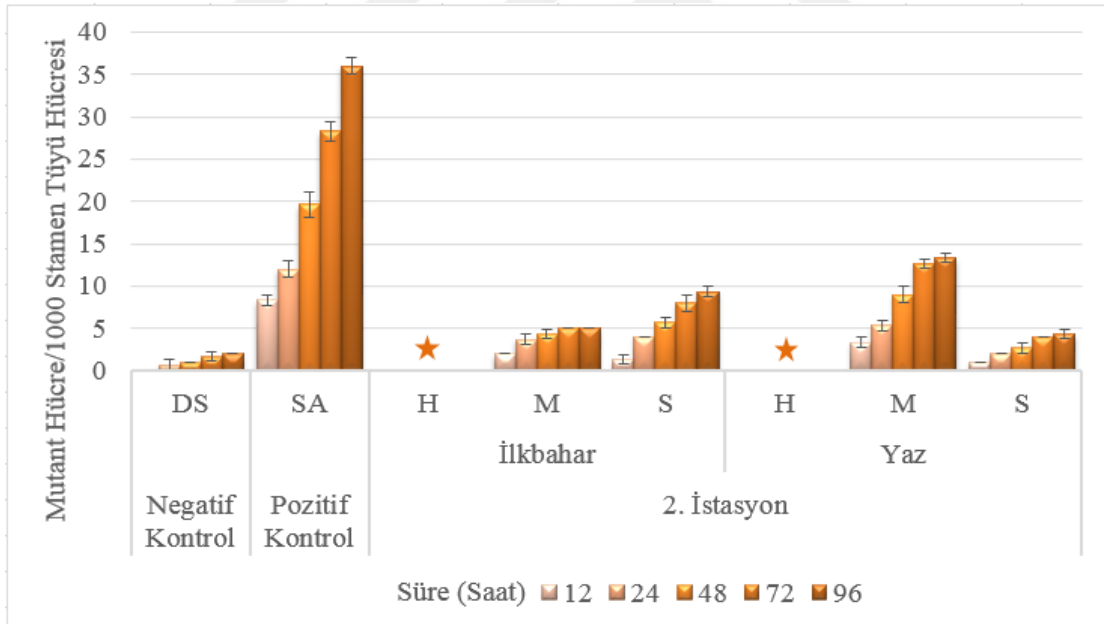
Şekil 4.2. İlkbahar örneklerinin *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları. DS: Distile su, SA: Sodyum azid, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. ★: Analiz yapılamamıştır



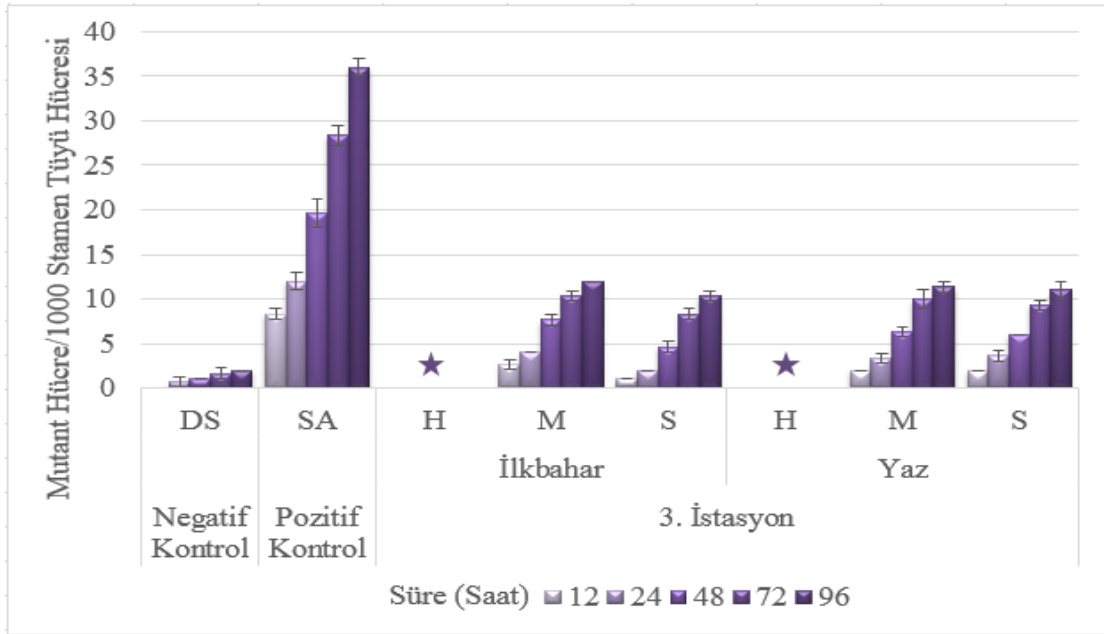
Şekil 4.3. Yaz örneklerinin *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları. DS: Distile su, SA: Sodyum azid, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. ★: Analiz yapılamamıştır



Şekil 4.4. 1. İstasyon örneklerinin *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları. DS: Distile su, SA: Sodyum azid, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. ★: Analiz yapılamamıştır



Şekil 4.5. 2. İstasyon örneklerinin *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları. DS: Distile su, SA: Sodyum azid, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. ★: Analiz yapılamamıştır



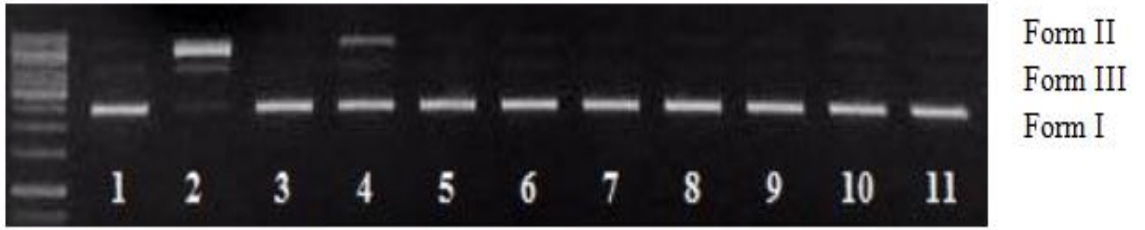
Şekil 4.6. 3. İstasyon örneklerinin *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi sonuçları. DS: Distile su, SA: Sodyum azid, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol esktraktı, S: Su ekstraktı. ★: Analiz yapılamamıştır

4.1.2. DNA Kesme ve Koruma Aktivitesi Sonuçları

Achillea nobilis subsp. *sipylea* bitkisinden elde edilen hekzan, metanol ve su ekstraktlarının DNA kesme ve koruma aktivite sonuçları Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12’de gösterilmiştir. Hidrolitik DNA kesme aktivitesi sonuçlarına göre; ilkbahar örneklerinin hiçbirinde kesim aktivitesi gözlenmezken, yaz örneklerinden sadece 1. istasyona ait metanol ekstraktının (Y.1.M) kesim aktivitesi gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.7 ve 4.8). Ayrıca, hem ilkbahar hem yaz örneklerinin metanol ve su ekstraktlarının H_2O_2 (25 mM)’ye karşı DNA’yı korudukları tespit edilmiştir (Şekil 4.9 ve 4.10). Bununla birlikte, test edilen bütün ekstraktlar UV’ye karşı DNA koruma aktivitesi göstermiştir (Şekil 4.11 ve 4.12).



Şekil 4.7. İlkbahar örneklerinin DNA hidrolitik kesme aktivitesi. 1. DNA (Negatif Kontrol), 2. DNA+H₂O₂ (Pozitif Kontrol), 3. DNA+İ.1.H, 4. DNA+İ.1.M, 5. DNA+İ.1.S, 6. DNA+İ.2.H, 7. DNA+İ.2.M, 8. DNA+İ.2.S, 9. DNA+İ.3.H, 10. DNA+İ.3.M, 11. DNA+İ.3.S



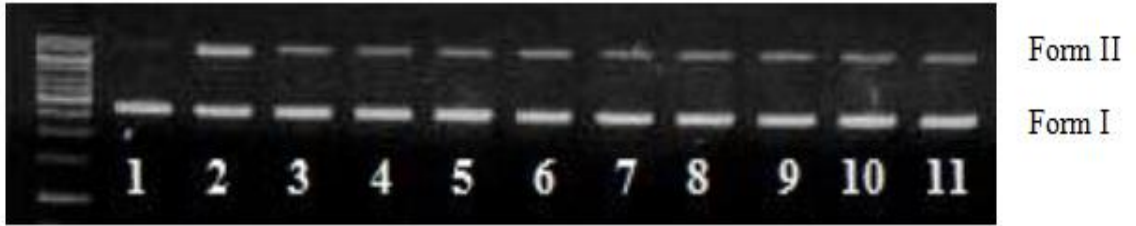
Şekil 4.8. Yaz örneklerinin DNA hidrolitik kesme aktivitesi. 1. DNA (Negatif Kontrol), 2. DNA+H₂O₂ (Pozitif Kontrol), 3. DNA+Y.1.H, 4. DNA+Y.1.M, 5. DNA+Y.1.S, 6. DNA+Y.2.H, 7. DNA+Y.2.M, 8. DNA+Y.2.S, 9. DNA+Y.3.H, 10. DNA+Y.3.M, 11. DNA+Y.3.S



Şekil 4.9. İlkbahar örneklerinin H₂O₂ hasarına karşı DNA koruma aktivitesi. 1. DNA (Negatif Kontrol), 2. DNA+H₂O₂ (Pozitif Kontrol), 3. DNA+H₂O₂+İ.1.H, 4. DNA+H₂O₂+İ.1.M, 5. DNA+H₂O₂+İ.1.S, 6. DNA+H₂O₂+İ.2.H, 7. DNA+H₂O₂+İ.2.M, 8. DNA+H₂O₂+İ.2.S, 9. DNA+H₂O₂+İ.3.H, 10. DNA+H₂O₂+İ.3.M, 11. DNA+H₂O₂+İ.3.S



Şekil 4.10. Yaz örneklerinin H_2O_2 hasarına karşı DNA koruma aktivitesi. 1. DNA (Negatif Kontrol), 2. DNA+ H_2O_2 (Pozitif Kontrol), 3. DNA+ H_2O_2 +Y.1.H, 4. DNA+ H_2O_2 +Y.1.M, 5. DNA+ H_2O_2 +Y.1.S, 6. DNA+ H_2O_2 +Y.2.H, 7. DNA+ H_2O_2 +Y.2.M, 8. DNA+ H_2O_2 +Y.2.S, 9. DNA+ H_2O_2 +Y.3.H, 10. DNA+ H_2O_2 +Y.3.M, 11. DNA+ H_2O_2 +Y.3.S



Şekil 4.11. İlkbahar örneklerinin UV hasarına karşı DNA koruma aktivitesi. 1. DNA (Negatif Kontrol), 2. DNA+UV (Pozitif Kontrol), 3. DNA+İ.1.H+UV, 4. DNA+İ.1.M+UV, 5. DNA+İ.1.S+UV, 6. DNA+İ.2.H+UV, 7. DNA+İ.2.M+UV, 8. DNA+İ.2.S+UV, 9. DNA+İ.3.H+UV, 10. DNA+İ.3.M+UV, 11. DNA+İ.3.S+UV



Şekil 4.12. Yaz örneklerinin UV hasarına karşı DNA koruma aktivitesi. 1. DNA (Negatif Kontrol), 2. DNA+UV (Pozitif Kontrol), 3. DNA+Y.1.H+UV, 4. DNA+Y.1.M+UV, 5. DNA+Y.1.S+UV, 6. DNA+Y.2.H+UV, 7. DNA+Y.2.M+UV, 8. DNA+Y.2.S+UV, 9. DNA+Y.3.H+UV, 10. DNA+Y.3.M+UV, 11. DNA+Y.3.S+UV

4.1.3. *Allium cepa* L. Kök Meristematik Hücre Testi Sonuçları

Allium cepa L. kök meristematik hücre testi kapsamında; *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi hekzan, metanol ve su ekstraktlarının hidrojen peroksitin (H_2O_2) neden olduğu toksisiteye karşı antisitotoksik ve antigenotoksik etkisi *A. cepa* kök uzunlukları, mitotik indeks (Mİ) değerleri ve kromozomal anomali yüzdeleri hesaplanarak belirlenmeye çalışılmıştır. *A. cepa* kök meristematik hücre testinde gözlenen mitotik hücreler ve kromozomal anomaliler Şekil 4.13'te verilmiştir.

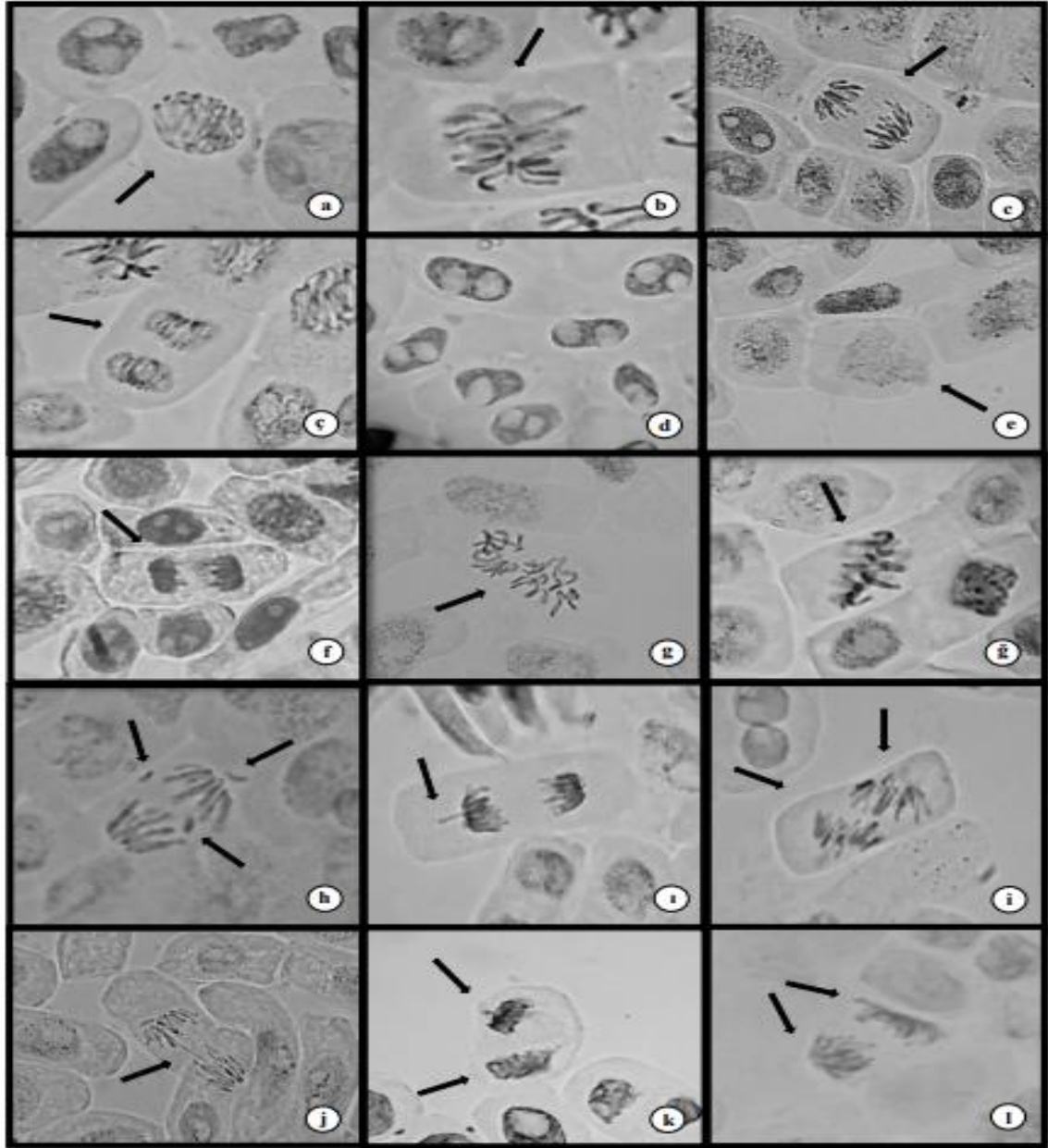
A. cepa kök meristematik hücre testi kapsamında elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2-4.6 ve Şekil 4.14-4.28'de gösterilmiştir. Sonuçlar ortalama±standart sapma değerleri hesaplanarak verilmiştir. Ekstraktların antisitotoksik ve antigenotoksik aktivitelerinin değerlendirilmesi One-Way ANOVA testi ve grupların karşılaştırılması Duncan çoklu aralık testi ile yapılmıştır. Farklılıklar $p<0,05$ seviyesinde anlamlı görülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) değerler farklı harflerle ifade edilmiştir (Çizelge 4.2-4.6).

A. cepa kök uzunluğu testi sonuçlarına göre, mevsim ve lokasyon değişimlerinin kök uzunluklarına anlamlı bir etki göstermediği saptanmıştır ($p>0,05$). Ekstraktlar karşılaştırıldığında ise; en güçlü antisitotoksik etkiye sırasıyla su>metanol>hekzan ekstraktlarının sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.14 ve 4.15). Bununla birlikte, çalışmada test edilen dozlardan en düşük doz (0,02 mg/mL) ile en yüksek doz (0,50 mg/mL) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken; aradaki dozun (0,10 mg/mL) sonuçları anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.16, 4.17 ve 4.18).

A. cepa mitotik indeks değerlerinin araştırıldığı çalışma sonucunda, test edilen örneklerin toplandığı mevsimin önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Buna göre, yaz mevsiminde toplanan bitkilerden elde edilen ekstraktların uygulandığı kök uçlarında mitotik indeks yüzdelerinin diğer mevsime göre daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (Çizelge 4.4). Bununla birlikte, mitotik indeks değerleri üzerine bitkilerin toplandığı istasyonlar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.19 ve 4.20). Kök uzunluğu testinde olduğu gibi bu test sonucunda da en etkili ekstraktın su ekstraktı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca pozitif kontrolle kıyaslandığında, test edilen en yüksek dozun (0,50 mg/mL) mitotik indeks değerlerinde anlamlı bir fark oluşturmadığı ve diğer dozların (0,02 ve 0,10 mg/mL) önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

A. cepa kromozomal anomali testi sonuçları değerlendirildiğinde, mitotik indeks testine benzer şekilde yaz mevsimine ait örneklerin antigenotoksik aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.6). Bununla birlikte, istasyon farkının bu aktivitede önemli bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür ($p>0,05$) (Şekil 4.24 ve

4.25). Yine benzer şekilde, su ekstraktının en fazla koruyucu etkiye sahip ekstrakt olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.26, 4.27 ve 4.28). Mitotik indeks testinden farklı olarak, bu testte antigenotoksik aktivite üzerinde doz farkının anlamlı bir etkiye sahip olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.5 ve 4.6).

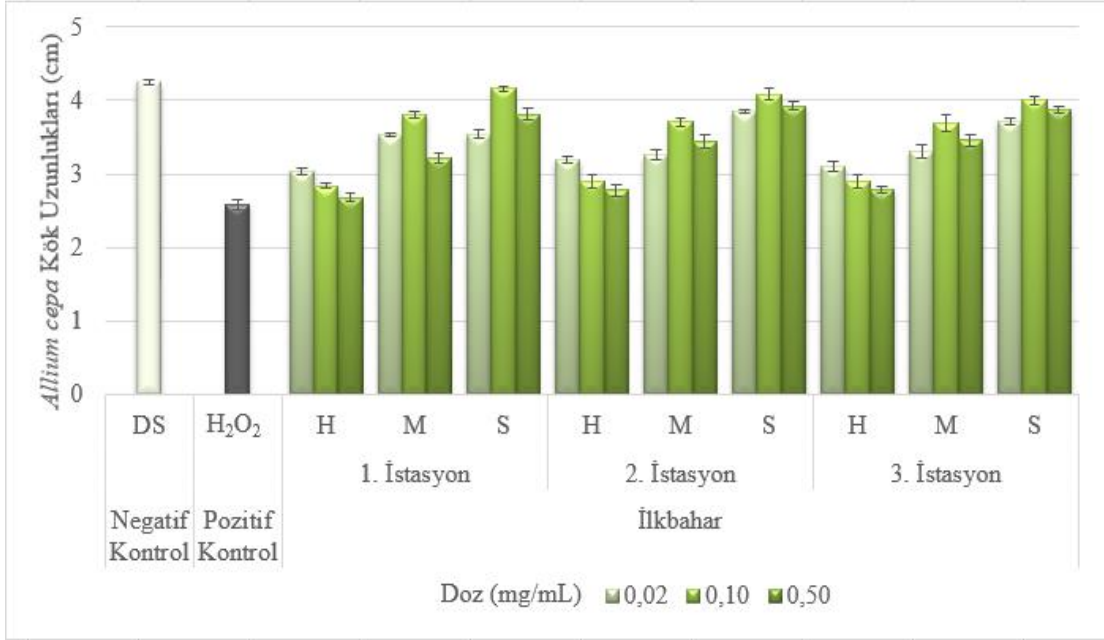


Şekil 4.13. *Allium cepa* kök meristematik hücre testinde gözlenen mitotik hücreler ve kromozomal anomaliler. (a) Normal profaz, (b) normal metafaz, (c) normal anafaz, (ç) normal telofaz, (d) vakuollü nükleuslar, (e) parçalanmış nükleus, (f) anafazda yapışkan kromozom, (g) c-mitoz, (ğ) metafazda tabla kayması, (h) anafazda fragment oluşumları, (ı) anafazda kalgın kromozom, (i) anafazda kutup kayması, (j) anafazda kromatid köprüsü, (k) telofazda kutup kayması ve (l) senkronizasyon bozukluğu

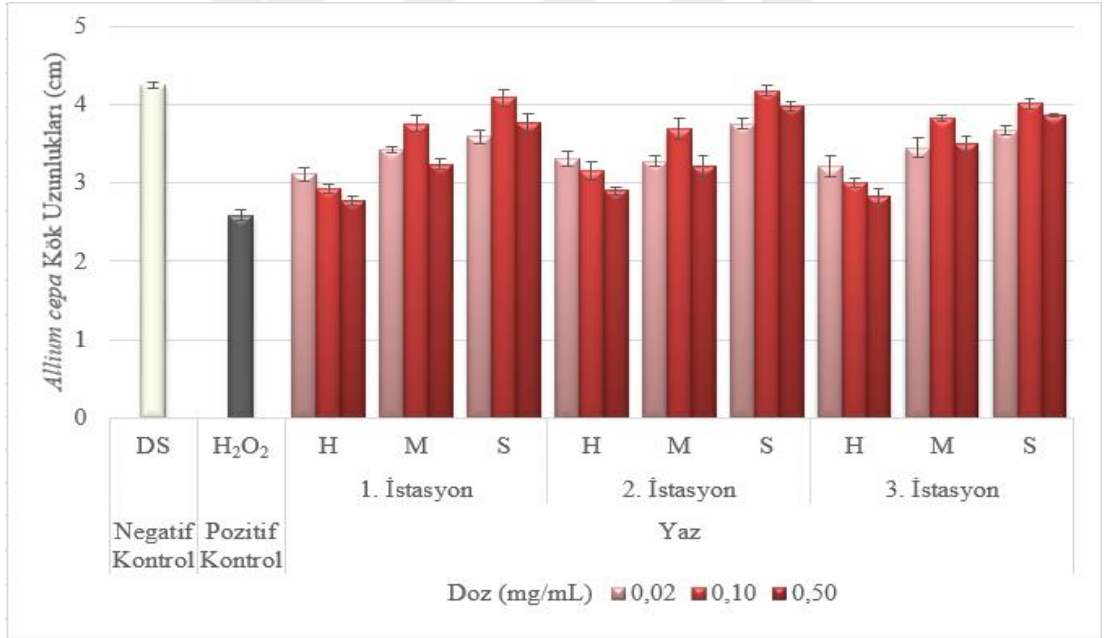
Çizelge 4.2. *Allium cepa* kök uzunluğu testi sonuçları

Uygulama		Kök Uzunluğu (cm) (Ort±SS)			
		İlkbahar	Yaz		
Negatif Kontrol	DS	4,25±0,04 ^a			
Pozitif Kontrol	H₂O₂	2,59±0,07 ^e			
1. İstasyon	H	0,02	3,04±0,05 ^{d,A}	3,11±0,08 ^{d,A}	
		0,10	2,84±0,04 ^{e,A}	2,93±0,06 ^{d,e,A}	
		0,50	2,68±0,06 ^{e,A}	2,78±0,06 ^{e,A}	
	M	0,02	3,54±0,02 ^{b,A}	3,42±0,04 ^{c,A}	
		0,10	3,81±0,05 ^{b,A}	3,76±0,10 ^{b,A}	
		0,50	3,22±0,07 ^{c,d,A}	3,24±0,07 ^{c,d,A}	
	S	0,02	3,54±0,06 ^{c,b,A}	3,59±0,08 ^{c,b,A}	
		0,10	4,16±0,04 ^{a,A}	4,09±0,11 ^{a,A}	
		0,50	3,81±0,08 ^{b,A}	3,77±0,12 ^{b,A}	
	2. İstasyon	H	0,02	3,19±0,04 ^{c,d,A}	3,31±0,09 ^{c,A}
			0,10	2,90±0,10 ^{d,e,B}	3,16±0,12 ^{c,d,A}
			0,50	2,78±0,08 ^{e,B}	2,90±0,05 ^{d,e,A}
M		0,02	3,26±0,07 ^{c,d,A}	3,28±0,07 ^{c,A}	
		0,10	3,71±0,06 ^{b,A}	3,69±0,13 ^{b,A}	
		0,50	3,44±0,09 ^{c,A}	3,21±0,14 ^{c,d,B}	
S		0,02	3,86±0,02 ^{b,A}	3,76±0,07 ^{b,A}	
		0,10	4,08±0,08 ^{a,A}	4,18±0,06 ^{a,A}	
		0,50	3,93±0,05 ^{a,b,A}	3,98±0,06 ^{a,A}	
3. İstasyon		H	0,02	3,11±0,07 ^{d,A}	3,21±0,13 ^{c,d,A}
			0,10	2,91±0,09 ^{d,e,A}	3,00±0,06 ^{d,A}
			0,50	2,79±0,05 ^{e,A}	2,83±0,09 ^{d,e,A}
	M	0,02	3,31±0,09 ^{c,A}	3,45±0,12 ^{b,c,A}	
		0,10	3,69±0,11 ^{b,A}	3,83±0,04 ^{b,A}	
		0,50	3,46±0,08 ^{c,A}	3,50±0,10 ^{b,c,A}	
	S	0,02	3,72±0,05 ^{b,A}	3,67±0,06 ^{b,A}	
		0,10	4,00±0,06 ^{a,A}	4,01±0,07 ^{a,A}	
		0,50	3,88±0,04 ^{a,b,A}	3,87±0,02 ^{b,A}	

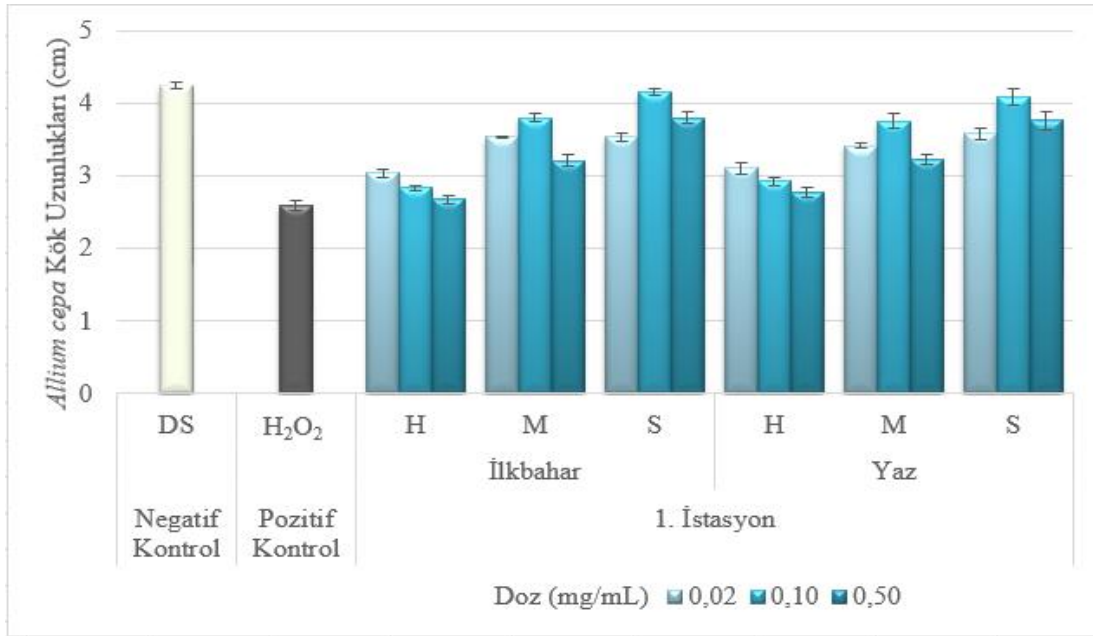
DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Sonuçlar ortalama±standart sapma (ort±ss) şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). A, B: Aynı satır içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)



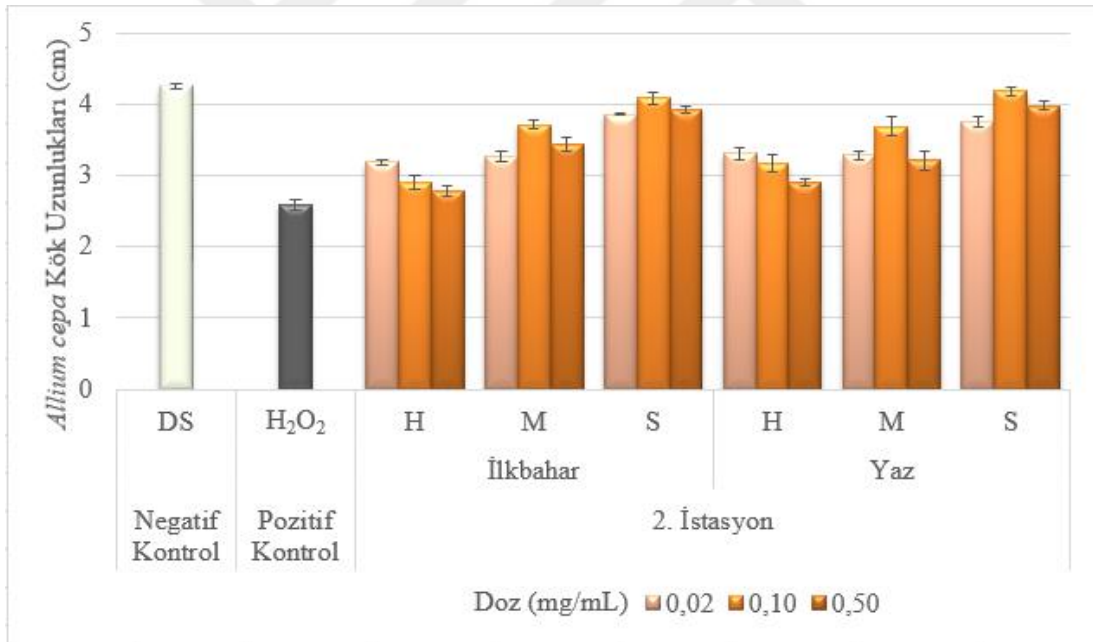
Şekil 4.14. İlkbahar örneklerinin *Allium cepa* kök uzunluğu testi sonuçları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



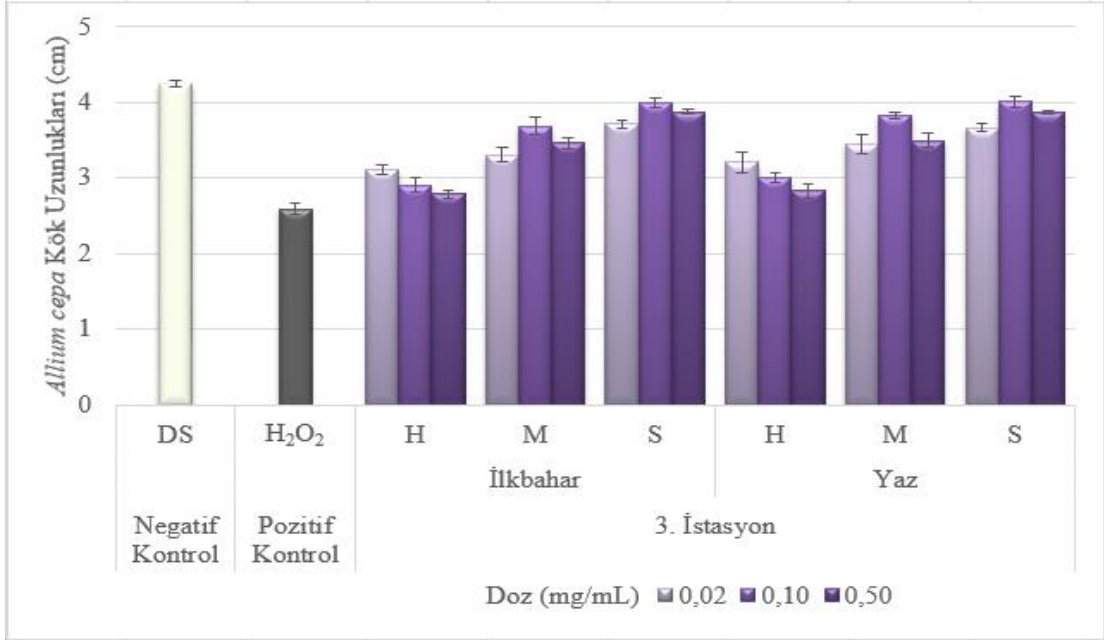
Şekil 4.15. Yaz örneklerinin *Allium cepa* kök uzunluğu testi sonuçları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.16. 1. İstasyon örneklerinin *Allium cepa* kök uzunluğu testi sonuçları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.17. 2. İstasyon örneklerinin *Allium cepa* kök uzunluğu testi sonuçları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.18. 3. İstasyon örneklerinin *Allium cepa* kök uzunluğu testi sonuçları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

Çizelge 4.3. İlkbahar örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri

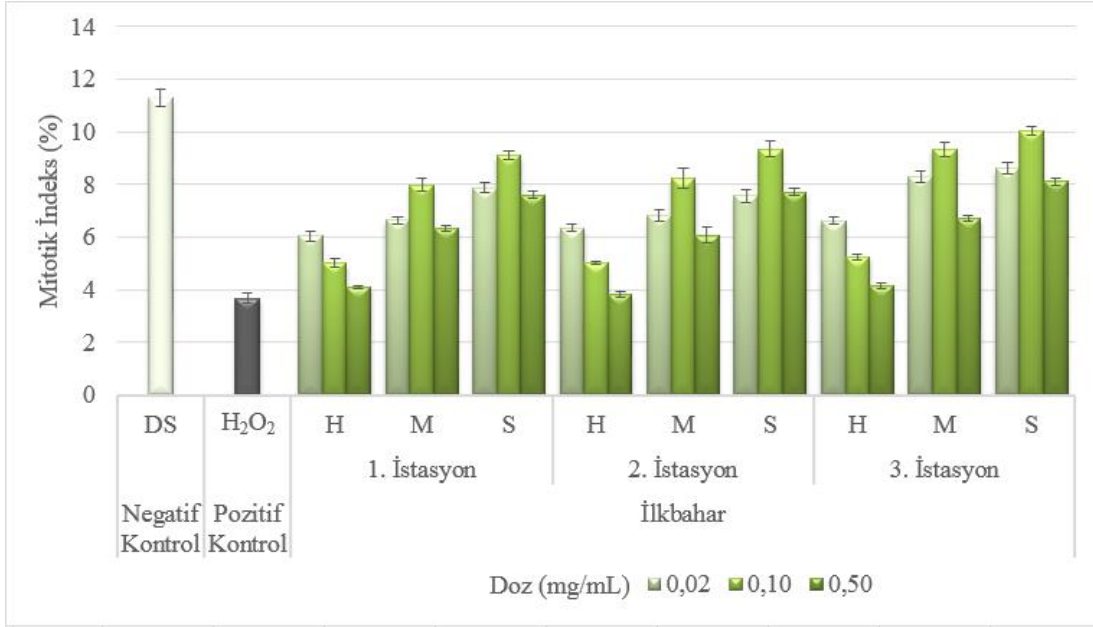
	Uygulama	Toplam Hücre	Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	Toplam Bölünen Hücre	Mitotik İndeks (%)		
	Negatif Kontrol	DS	5032	43,60±1,67	25,00±1,58	21,00±1,41	24,00±1,58	113,60±3,44	11,29±0,33 ^a	
	Pozitif Kontrol	H ₂ O ₂	5062	19,40±1,14	4,20±0,84	6,00±0,71	7,60±0,55	37,20±1,79	3,67±0,19 ^e	
İlkbahar	1. İstasyon		0,02	5062	39,00±1,00	3,40±0,55	2,80±0,45	15,80±1,10	61,00±1,87	6,03±0,21 ^d
		H	0,1	5010	38,00±1,00	1,80±0,45	0,80±0,45	9,60±0,55	50,20±1,48	5,01±0,15 ^{d,e}
			0,5	5028	36,00±0,71	0,60±0,55	0,60±0,55	4,00±0,00	41,20±0,45	4,10±0,04 ^e
		M	0,02	5048	44,00±1,00	4,00±0,00	2,80±0,45	16,20±0,84	67,00±1,73	6,64±0,15 ^c
			0,1	5172	54,20±0,84	11,60±0,55	5,80±0,45	11,00±1,00	82,60±1,14	7,99±0,23 ^{b,c}
			0,5	5128	43,80±1,64	7,40±0,55	3,60±0,55	10,20±0,84	65,00±0,71	6,34±0,10 ^d
	2. İstasyon	S	0,02	5041	53,00±1,22	14,20±0,84	3,80±0,45	8,40±0,55	79,40±1,34	7,88±0,17 ^{b,c}
			0,1	5085	49,00±1,58	15,60±0,89	11,20±0,84	16,80±0,84	92,60±2,97	9,10±0,17 ^b
			0,5	5095	49,00±1,22	9,60±0,89	5,00±0,00	14,00±1,00	77,60±2,19	7,61±0,14 ^c
		H	0,02	5020	31,60±1,52	9,60±0,89	5,60±0,55	17,00±0,71	63,80±1,30	6,35±0,12 ^d
			0,1	5029	28,20±1,30	7,40±0,55	4,00±0,00	10,80±0,84	50,40±0,55	5,01±0,05 ^d
			0,5	5187	25,20±0,84	3,80±0,45	2,80±0,45	7,80±0,45	39,60±1,14	3,82±0,12 ^e
	3. İstasyon	M	0,02	5025	34,80±1,30	9,80±0,84	6,60±0,55	17,20±0,84	68,40±2,19	6,81±0,21 ^c
			0,1	5060	39,60±1,34	13,60±1,14	10,40±0,89	19,60±2,41	83,20±3,77	8,22±0,39 ^{b,c}
			0,5	5153	32,20±1,79	9,60±0,55	5,60±0,55	15,20±1,30	62,60±2,61	6,08±0,29 ^d
S		0,02	5078	39,60±1,34	14,40±0,89	8,40±0,55	14,40±1,34	76,80±2,39	7,56±0,24 ^c	
		0,1	5043	49,00±1,58	16,20±1,10	10,40±0,55	18,60±1,14	94,20±2,77	9,34±0,30 ^{a,b}	
		0,5	5083	43,60±1,34	14,00±1,00	6,00±0,00	14,80±0,84	78,40±1,52	7,71±0,12 ^c	
İlkbahar	H		0,02	5046	35,00±1,00	12,60±0,55	5,60±0,55	13,60±0,89	66,80±1,64	6,62±0,13 ^{c,d}
			0,1	5030	34,20±0,84	6,80±0,45	3,00±0,00	8,80±0,45	52,80±0,84	5,25±0,10 ^d
			0,5	5048	27,00±0,71	4,40±0,55	2,00±0,00	8,60±0,55	42,00±1,22	4,16±0,10 ^e
	M		0,02	5046	41,00±1,22	16,00±1,00	10,00±0,71	16,80±1,10	83,80±1,92	8,30±0,20 ^b
			0,1	5028	43,60±1,14	19,80±0,84	12,00±1,00	18,40±0,55	93,80±2,68	9,33±0,26 ^{a,b}
			0,5	5070	38,80±0,84	11,60±0,55	4,00±0,00	13,60±0,55	68,00±0,71	6,71±0,11 ^c
	S		0,02	5070	41,20±1,10	14,00±1,00	17,40±1,14	14,60±0,89	87,20±1,30	8,60±0,22 ^b
			0,1	5052	45,80±0,84	19,00±0,71	12,60±0,55	23,80±0,84	101,20±1,48	10,02±0,17 ^a
			0,5	5120	42,00±1,00	14,40±0,55	8,80±0,45	17,80±0,84	83,00±1,22	8,11±0,14 ^{b,c}

DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)

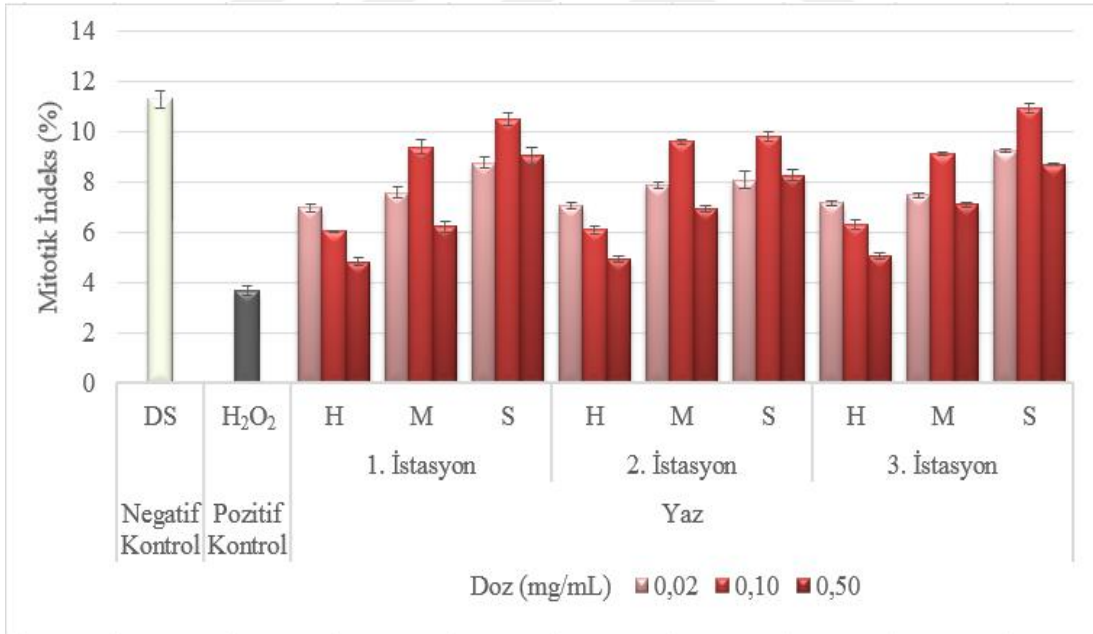
Çizelge 4.4. Yaz örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri

Uygulama	Toplam Hücre	Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	Toplam Bölünen Hücre	Mitotik İndeks (%)		
Negatif Kontrol DS	5032	43,60±1,67	25,00±1,58	21,00±1,41	24,00±1,58	113,60±3,44	11,29±0,33 ^a		
Pozitif Kontrol H ₂ O ₂	5062	19,40±1,14	4,20±0,84	6,00±0,71	7,60±0,55	37,20±1,79	3,67±0,19 ^e		
1. İstasyon	0,02	5124	43,60±0,89	9,40±0,55	5,40±0,55	13,00±1,00	71,40±1,14	6,97±0,16 ^c	
	H	0,1	5032	40,60±1,14	7,40±0,55	3,60±0,55	9,20±0,84	60,80±0,45	6,04±0,05 ^d
		0,5	5027	35,00±1,00	4,60±0,55	2,40±0,55	6,60±0,55	48,60±1,52	4,83±0,14 ^{d,e}
		0,02	5048	38,20±1,10	14,40±1,14	9,60±0,89	14,40±1,34	76,60±1,82	7,59±0,20 ^c
	M	0,1	5072	45,20±1,92	24,40±1,14	13,20±0,84	12,40±1,14	95,20±2,59	9,39±0,27 ^{a,b}
		0,5	5029	34,80±1,10	9,60±0,89	3,60±0,55	14,60±0,89	62,60±2,19	6,22±0,21 ^d
		0,02	5145	32,20±2,39	19,80±1,92	17,40±1,67	20,80±1,79	90,20±2,59	8,77±0,20 ^b
	S	0,1	5028	39,60±1,14	22,60±1,14	19,80±1,64	23,60±1,14	105,60±2,07	10,50±0,23 ^a
		0,5	5035	35,40±1,34	18,00±1,00	20,40±2,19	17,20±1,30	91,00±3,16	9,04±0,34 ^b
		0,02	5056	38,40±1,14	13,40±0,55	8,20±0,45	11,20±0,84	71,20±1,30	7,04±0,12 ^c
	H	0,1	5071	34,40±0,89	9,00±0,71	5,40±0,55	13,20±0,84	62,00±1,22	6,11±0,16 ^d
		0,5	5046	33,00±0,71	5,00±0,00	3,40±0,55	8,40±0,55	49,80±1,10	4,93±0,12 ^{d,e}
		0,02	5028	37,60±1,14	15,00±0,71	7,80±0,45	18,80±0,84	79,20±1,30	7,88±0,13 ^{b,c}
	M	0,1	5033	43,20±0,84	17,40±0,55	11,80±0,45	24,40±0,55	96,80±0,84	9,62±0,09 ^a
		0,5	5038	37,00±0,71	10,40±0,55	5,80±0,45	16,60±0,55	69,80±1,30	6,93±0,12 ^c
0,02		5080	46,80±2,39	13,20±0,84	6,20±0,45	16,00±0,71	82,20±2,95	8,09±0,33 ^{b,c}	
S	0,1	5072	43,80±1,64	20,60±0,89	10,60±0,55	24,60±1,34	99,60±1,67	9,82±0,17 ^a	
	0,5	5083	42,40±0,89	14,00±1,00	6,80±0,45	21,00±1,00	84,20±1,79	8,28±0,22 ^b	
	0,02	5013	41,00±1,22	10,40±0,55	7,60±0,55	13,00±0,71	72,00±1,00	7,18±0,10 ^c	
H	0,1	5019	37,80±0,84	8,40±0,55	4,80±0,45	12,40±0,55	63,40±1,67	6,32±0,18 ^d	
	0,5	5023	32,00±1,00	6,20±0,45	3,00±0,00	9,60±0,55	50,80±1,30	5,06±0,13 ^{d,e}	
	0,02	5047	38,80±0,84	12,20±0,45	5,60±0,55	18,80±0,84	75,40±1,14	7,47±0,11 ^c	
M	0,1	5064	44,20±1,30	18,00±1,00	12,80±0,84	17,40±0,89	92,40±0,55	9,12±0,08 ^b	
	0,5	5040	37,40±0,89	12,40±0,55	6,20±0,45	15,60±0,55	71,60±0,55	7,10±0,11 ^c	
	0,02	5037	43,60±1,14	15,80±0,84	11,00±0,71	22,80±0,84	93,20±1,10	9,25±0,08 ^b	
S	0,1	5030	52,20±1,48	18,00±1,00	19,20±0,84	20,80±0,45	110,20±1,64	10,95±0,17 ^a	
	0,5	5055	44,20±0,84	15,60±0,55	8,20±0,45	20,00±1,00	88,00±0,71	8,70±0,03 ^b	

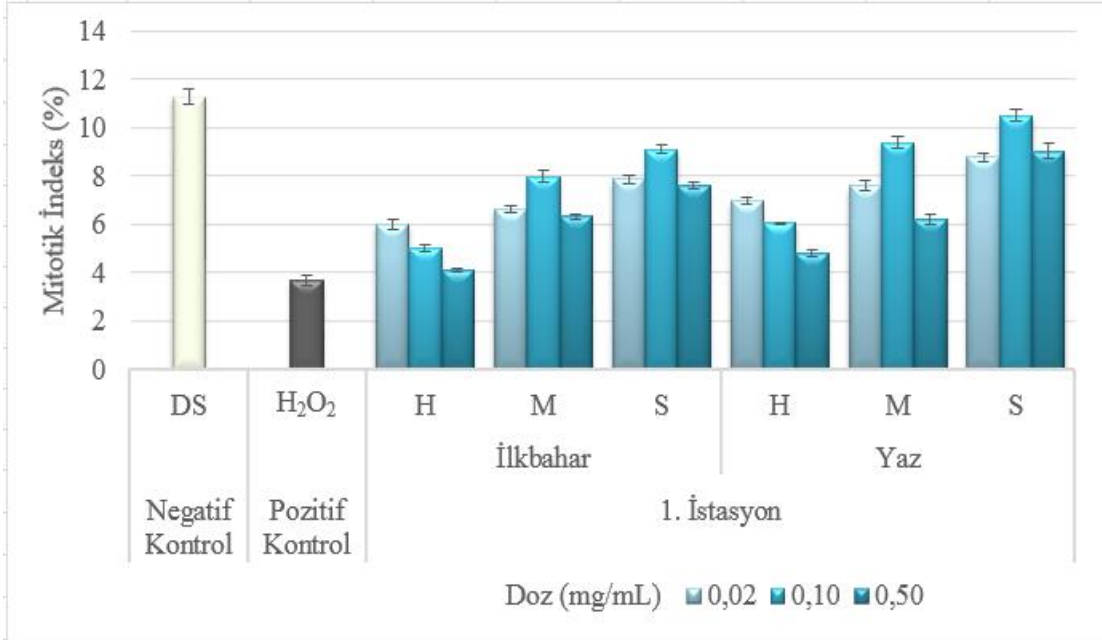
DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)



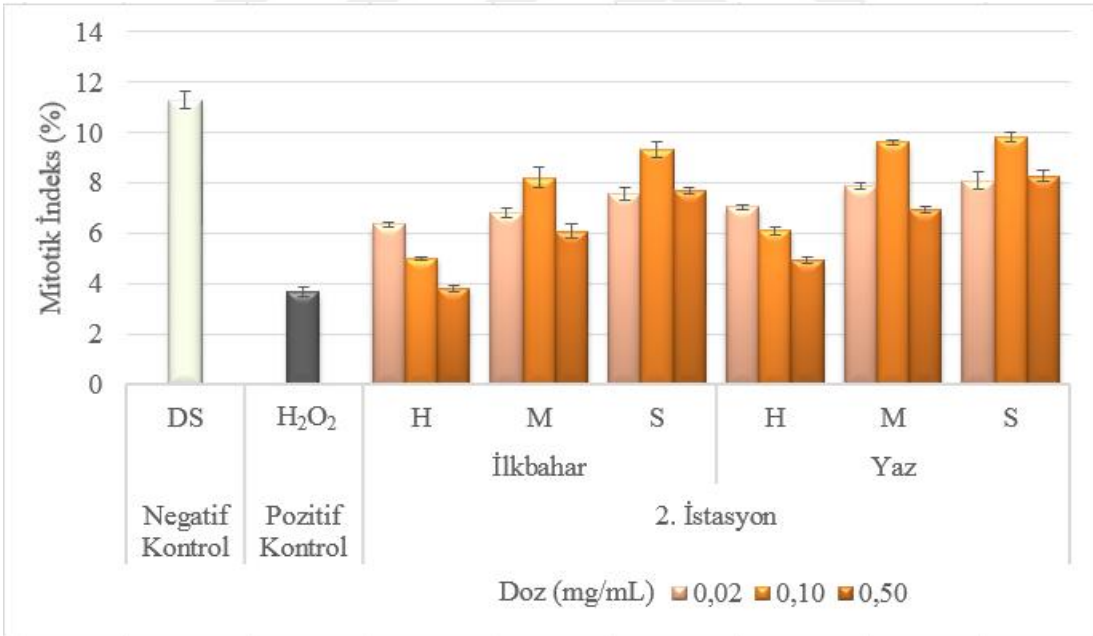
Şekil 4.19. İlkbahar örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



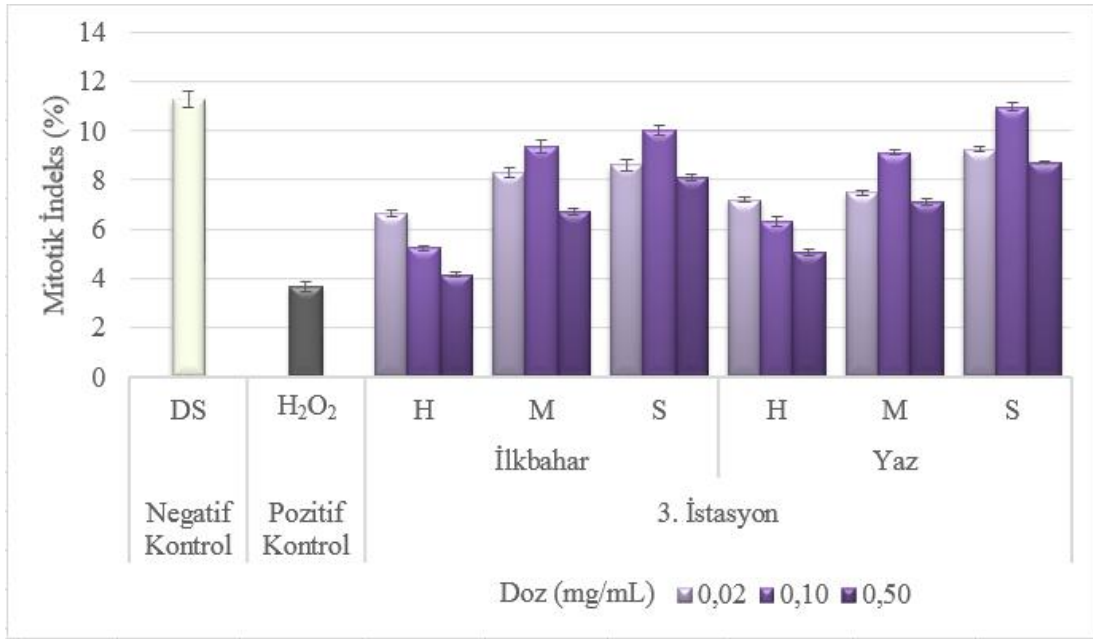
Şekil 4.20. Yaz örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.21. 1. İstasyon örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.22. 2. İstasyon örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.23. 3. İstasyon örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi mitotik indeks değerleri. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

Çizelge 4.5. İlkbahar örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testinde gözlenen kromozomal anomali çeşitleri ve % anomali oranları

Uygulama	Toplam Hücre	Gözlenen Anomaliler											Toplam Anormal Hücre	Anomali Oranı (%)			
		Vakuollü Nükleus	Parçalanmış Nükleus	Yapışık Kromozom	C-Mitoz	Metafazda Tabla Kayması	Fragment	Kalın Kromozom	Anafazda Kutup Kayması	Kromatid Köprüsü	Telofazda Kutup Kayması	Senkronizasyon Bozukluğu					
Negatif Kontrol	DS	5032	3,20±0,45	0,00±0,00	1,00±0,00	0,60±0,55	2,00±0,00	1,60±0,55	1,00±0,00	1,00±0,00	0,00±0,00	0,80±0,45	0,60±0,55	11,80±0,84	1,17±0,08 ^e		
Pozitif Kontrol	H ₂ O ₂	5062	35,40±0,89	45,60±1,34	1,80±0,45	2,80±0,45	3,00±0,00	1,00±0,00	0,60±0,55	1,00±0,00	1,40±0,55	1,20±0,45	1,00±0,00	94,80±1,64	9,36±0,19 ^a		
İlkbahar	1. İstasyon	0,02	5062	36,20±0,84	20,00±1,00	2,40±0,55	2,80±0,45	2,20±0,45	0,00±0,00	0,00±0,00	1,60±0,55	0,00±0,00	2,20±0,45	1,00±0,00	68,40±1,52	6,76±0,19 ^b	
		H	0,1	5010	41,00±1,00	19,40±1,14	3,80±0,45	1,00±0,00	1,00±0,00	0,00±0,00	1,00±0,00	0,80±0,45	0,60±0,55	1,80±0,45	0,80±0,45	71,20±1,30	7,11±0,12 ^b
			0,5	5028	45,00±1,22	25,00±1,00	2,40±0,55	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1,00±0,00	0,00±0,00	73,40±2,07	7,30±0,20 ^b
			0,02	5048	26,60±1,14	13,40±0,55	2,40±0,55	2,40±0,55	2,20±0,45	0,80±0,45	0,80±0,45	1,40±0,55	0,00±0,00	1,00±0,00	0,80±0,45	51,80±1,64	5,13±0,15 ^c
		M	0,1	5172	22,00±1,00	9,20±0,84	2,40±0,55	1,60±0,55	3,00±0,00	2,20±0,45	1,60±0,55	2,20±0,45	0,60±0,55	1,80±0,45	1,40±0,55	48,00±3,08	4,64±0,18 ^{c,d}
		0,5	5128	31,00±0,71	11,40±0,55	2,60±0,55	1,80±0,45	2,60±0,55	1,20±0,45	1,00±0,00	1,60±0,55	0,00±0,00	1,80±0,45	1,20±0,45	56,20±1,10	5,48±0,06 ^c	
		0,02	5041	21,20±0,84	9,60±0,55	1,80±0,45	2,60±0,55	2,00±0,00	0,80±0,45	0,80±0,45	1,20±0,45	0,00±0,00	0,80±0,45	0,00±0,00	40,80±1,79	4,05±0,16 ^d	
	S	0,1	5085	17,40±0,55	7,80±0,45	1,40±0,55	1,00±0,00	3,00±0,00	0,60±0,55	1,00±0,00	2,40±0,55	0,00±0,00	1,40±0,55	0,60±0,55	36,60±1,67	3,60±0,18 ^d	
		0,5	5095	18,20±0,84	8,40±0,55	2,00±0,00	1,40±0,55	2,20±0,45	0,80±0,45	0,00±0,00	1,40±0,55	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	34,40±0,89	3,38±0,10 ^d	
	İlkbahar	2. İstasyon	0,02	5020	34,00±1,00	15,40±0,89	3,60±0,55	2,20±0,45	2,60±0,55	2,00±0,00	0,80±0,45	2,00±0,00	0,00±0,00	1,60±0,55	1,60±0,55	65,80±2,17	6,55±0,23 ^b
H			0,1	5029	36,40±1,14	18,00±1,22	4,60±0,55	2,40±0,55	2,00±0,00	2,60±0,55	1,00±0,00	0,60±0,55	1,20±0,45	0,00±0,00	0,80±0,45	69,60±2,07	6,92±0,19 ^b
			0,5	5187	42,60±1,14	20,20±0,84	3,40±0,55	3,40±0,55	1,00±0,00	1,60±0,55	0,00±0,00	1,00±0,00	0,80±0,45	0,60±0,55	1,00±0,00	75,60±1,82	7,29±0,36 ^b
			0,02	5025	25,40±0,55	13,00±0,00	1,60±0,55	1,60±0,55	1,40±0,55	0,60±0,55	0,00±0,00	2,80±0,45	0,60±0,55	2,60±0,55	0,80±0,45	50,40±1,95	5,02±0,21 ^c
M		0,1	5060	23,20±0,45	8,20±0,45	1,40±0,55	1,00±0,00	2,60±0,55	1,60±0,55	1,40±0,55	3,20±0,45	0,00±0,00	2,00±0,00	0,80±0,45	45,40±1,14	4,49±0,11 ^{c,d}	
		0,5	5153	27,60±1,14	17,40±0,89	2,00±0,00	1,60±0,55	1,00±0,00	1,00±0,00	0,60±0,55	1,60±0,55	0,80±0,45	1,00±0,00	0,00±0,00	54,60±0,55	5,30±0,05 ^c	
		0,02	5078	17,80±1,10	8,00±0,71	2,40±0,55	2,80±0,45	4,80±0,45	2,00±0,71	0,80±0,45	1,60±0,55	0,00±0,00	2,60±0,55	1,40±0,55	44,20±2,17	4,35±0,21 ^{c,d}	
S		0,1	5043	16,00±1,00	3,60±0,55	2,20±0,45	1,40±0,55	3,00±0,00	2,40±0,55	1,40±0,55	3,20±0,45	0,00±0,00	3,00±0,00	1,00±0,00	37,20±0,84	3,69±0,10 ^d	
	0,5	5083	13,40±0,55	3,20±0,45	2,60±0,55	2,80±0,45	2,60±0,55	1,60±0,55	1,00±0,00	2,60±0,55	0,60±0,55	2,40±0,55	0,60±0,55	33,40±2,30	3,29±0,25 ^d		

Çizelge 4.5. İlkbahar örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testinde gözlenen kromozomal anomali çeşitleri ve % anomali oranları (devamı)

Uygulama	Toplam Hücre	Gözlenen Anomaliler											Toplam Anormal Hücre	Anomali Oranı (%)		
		Vakuollü Nükleus	Parçalanmış Nükleus	Yapışık Kromozom	C-Mitoz	Metafazda Tabla Kayması	Fragment	Kalgın Kromozom	Anafazda Kutup Kayması	Kromatid Köprüsü	Telofazda Kutup Kayması	Senkronizasyon Bozukluğu				
İlkbahar 3. İstasyon	0,02	5046	31,60±1,14	14,20±0,84	3,60±0,55	3,00±0,00	2,60±0,55	2,60±0,55	1,00±0,00	1,60±0,55	0,80±0,45	2,60±0,55	0,00±0,00	63,60±2,70	6,30±0,26 ^{b,c}	
	H	0,1	5030	37,60±1,52	18,20±0,84	2,80±0,45	2,00±0,00	1,80±0,45	0,80±0,45	0,00±0,00	1,20±0,45	0,00±0,00	1,80±0,45	1,20±0,45	67,40±2,07	6,70±0,22 ^b
		0,5	5048	36,80±2,39	27,20±1,10	4,40±0,55	0,00±0,00	0,60±0,55	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	3,40±0,55	1,20±0,45	73,60±3,05	7,29±0,33 ^b
	M	0,02	5046	23,20±1,30	12,00±0,71	2,60±0,55	1,60±0,55	4,40±0,55	1,60±0,55	1,20±0,45	1,80±0,45	0,00±0,00	2,60±0,55	1,00±0,00	52,00±2,74	5,15±0,27 ^c
		0,1	5028	20,60±1,34	8,20±0,84	1,80±0,45	1,60±0,55	3,20±0,45	1,40±0,55	0,80±0,45	2,80±0,45	0,80±0,45	3,80±0,45	0,60±0,55	45,60±2,19	4,53±0,22 ^{c,d}
		0,5	5070	31,80±0,84	12,40±0,55	2,80±0,45	1,00±0,00	2,40±0,55	1,20±0,45	0,00±0,00	1,40±0,55	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	53,00±1,22	5,23±0,11 ^c
	S	0,02	5070	15,00±1,00	6,80±0,45	2,00±0,00	2,20±0,45	3,40±0,55	1,60±0,55	1,40±0,55	3,60±0,55	1,20±0,45	1,60±0,55	0,80±0,45	39,60±1,52	3,91±0,19 ^d
		0,1	5052	9,80±0,84	3,00±0,00	1,20±0,45	3,40±0,55	2,40±0,55	2,40±0,55	1,20±0,45	3,00±0,71	0,60±0,55	2,20±0,45	2,60±0,55	31,80±2,68	3,15±0,27 ^{d,e}
		0,5	5120	13,40±1,34	4,40±0,55	3,20±0,45	1,40±0,55	1,60±0,55	1,40±0,55	0,60±0,55	2,00±0,00	0,00±0,00	1,60±0,55	0,00±0,00	29,60±2,30	2,89±0,23 ^{d,e}

DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)

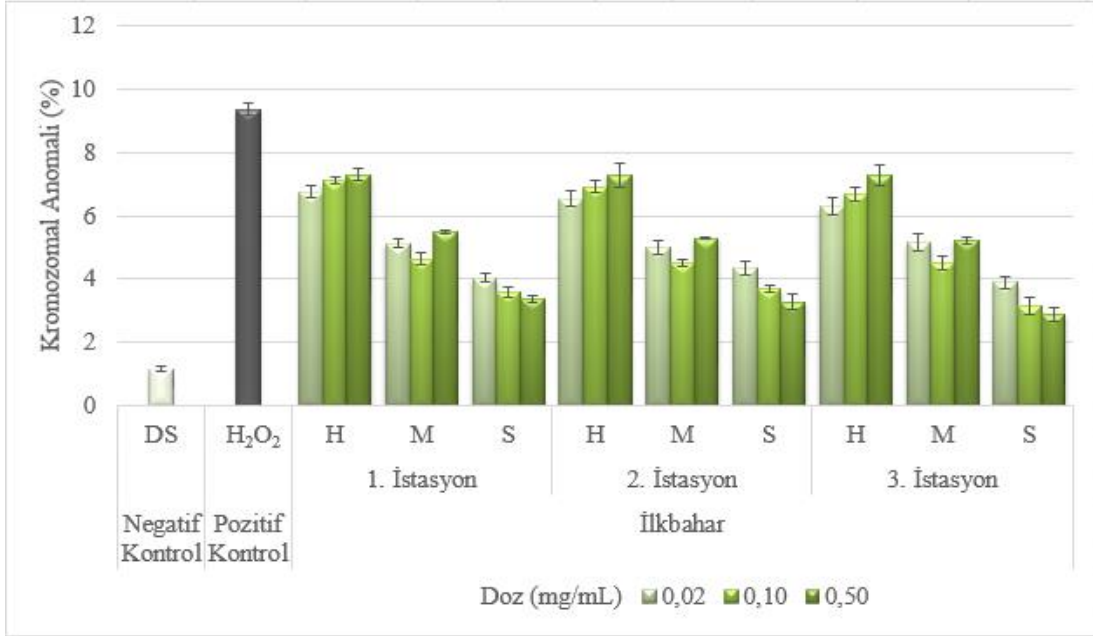
Çizelge 4.6. Yaz örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testinde gözlenen kromozomal anomali çeşitleri ve % anomali oranları

Uygulama	Toplam Hücre	Gözlenen Anomaliler											Toplam Anormal Hücre	Anomali Oranı (%)			
		Vakuollü Nükleus	Parçalanmış Nükleus	Yapışık Kromozom	C-Mitoz	Metafazda Tabla Kayması	Fragment	Kalgın Kromozom	Anafazda Kutup Kayması	Kromatid Köprüsü	Telofazda Kutup Kayması	Telofazda Senkronizasyon Bozukluğu					
Negatif Kontrol	DS	5032	3,20±0,45	0,00±0,00	1,00±0,00	0,60±0,55	2,00±0,00	1,60±0,55	1,00±0,00	1,00±0,00	0,00±0,00	0,80±0,45	0,60±0,55	11,80±0,84	1,17±0,08 ^e		
Pozitif Kontrol	H ₂ O ₂	5062	35,40±0,89	45,60±1,34	1,80±0,45	2,80±0,45	3,00±0,00	1,00±0,00	0,60±0,55	1,00±0,00	1,40±0,55	1,20±0,45	1,00±0,00	94,80±1,64	9,36±0,19 ^a		
Yaz	1. İstasyon	0,02	5124	35,80±0,84	13,60±0,55	3,00±0,00	2,80±0,45	2,40±0,55	1,20±0,45	1,00±0,00	1,80±0,45	0,60±0,55	1,00±0,00	1,40±0,55	64,60±1,34	6,30±0,17 ^{b,c}	
		H	0,1	5032	33,60±1,67	19,40±0,89	3,80±0,45	2,00±0,00	0,80±0,45	0,60±0,55	1,00±0,00	1,20±0,45	0,80±0,45	1,40±0,55	1,40±0,55	66,00±2,45	6,56±0,23 ^b
			0,5	5027	39,80±1,30	23,60±0,89	2,00±0,00	0,80±0,45	0,00±0,00	1,00±0,00	0,00±0,00	1,00±0,00	0,00±0,00	1,20±0,45	0,00±0,00	69,40±0,89	6,90±0,07 ^b
		M	0,02	5072	23,40±1,14	8,80±0,84	2,80±0,45	1,80±0,45	2,40±0,55	2,00±0,00	1,20±0,45	2,60±0,55	0,60±0,55	2,00±0,00	0,80±0,45	48,40±1,14	4,77±0,14 ^c
			0,1	5048	18,80±0,84	7,80±0,45	2,20±0,45	1,40±0,55	3,60±0,55	1,60±0,55	1,80±0,45	2,20±0,45	0,60±0,55	2,60±0,55	1,40±0,55	44,00±2,00	4,36±0,23 ^{c,d}
			0,5	5029	23,80±1,30	10,80±0,45	3,00±0,00	1,80±0,45	2,60±0,55	2,20±0,45	1,60±0,55	2,00±0,00	0,00±0,00	1,60±0,55	1,00±0,00	50,40±1,67	5,01±0,16 ^c
			0,02	5145	16,80±0,84	7,60±0,55	2,00±0,00	1,80±0,45	2,40±0,55	1,80±0,45	1,60±0,55	2,60±0,55	0,00±0,00	1,20±0,45	0,00±0,00	37,80±1,48	3,67±0,07 ^d
	2. İstasyon	S	0,1	5028	13,00±1,00	6,20±0,45	1,20±0,45	1,20±0,45	3,00±0,00	1,00±0,00	1,60±0,55	2,60±0,55	0,00±0,00	1,60±0,55	0,80±0,45	32,20±1,48	3,20±0,15 ^d
			0,5	5035	15,20±0,84	5,40±0,55	1,40±0,55	1,20±0,45	2,00±0,00	0,80±0,45	1,00±0,00	2,20±0,45	0,00±0,00	1,80±0,45	0,60±0,55	31,60±1,14	3,14±0,12 ^d
			0,02	5056	29,60±1,14	18,40±0,55	3,60±0,55	2,40±0,55	2,40±0,55	1,00±0,00	0,00±0,00	2,00±0,00	0,00±0,00	2,20±0,45	0,00±0,00	61,60±1,52	6,09±0,17 ^{b,c}
		H	0,1	5071	32,20±1,10	22,00±0,71	2,60±0,55	2,00±0,00	1,80±0,45	0,80±0,45	0,80±0,45	1,20±0,45	0,80±0,45	1,60±0,55	1,00±0,00	66,80±1,30	6,59±0,17 ^b
			0,5	5046	33,80±0,84	27,80±0,84	3,80±0,45	2,60±0,55	0,80±0,45	0,00±0,00	0,00±0,00	0,60±0,55	0,60±0,55	1,40±0,55	0,80±0,45	72,20±1,92	7,15±0,20 ^b
		M	0,02	5028	17,00±0,71	8,60±0,55	2,40±0,55	1,60±0,55	2,40±0,55	1,40±0,55	0,80±0,45	2,40±0,55	0,00±0,00	2,00±0,00	0,80±0,45	39,40±0,55	3,92±0,06 ^d
			0,1	5033	13,00±1,00	7,20±0,45	2,00±0,00	1,80±0,45	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	2,20±0,45	0,80±0,45	2,60±0,55	1,40±0,55	35,00±2,12	3,48±0,21 ^d
S		0,5	5038	16,80±1,30	11,60±0,55	4,80±0,45	2,80±0,45	1,40±0,55	0,60±0,55	0,00±0,00	0,80±0,45	0,60±0,55	3,40±0,55	0,80±0,45	43,60±1,82	4,33±0,19 ^{c,d}	
		0,02	5080	18,40±0,89	8,60±0,55	1,80±0,45	1,00±0,00	2,00±0,00	0,80±0,45	1,60±0,55	1,60±0,55	0,00±0,00	2,40±0,55	0,00±0,00	38,20±1,92	3,76±0,18 ^d	
		0,1	5072	16,00±1,00	5,60±0,55	1,00±0,00	0,80±0,45	2,40±0,55	1,00±0,00	0,80±0,45	1,80±0,45	0,00±0,00	2,00±0,00	0,60±0,55	32,00±1,58	3,15±0,14 ^d	
		0,5	5083	13,80±0,84	5,20±0,45	2,40±0,55	1,20±0,45	1,80±0,45	1,00±0,00	0,60±0,55	1,40±0,55	0,60±0,55	1,60±0,55	1,00±0,00	30,60±2,07	3,01±0,21 ^{d,e}	

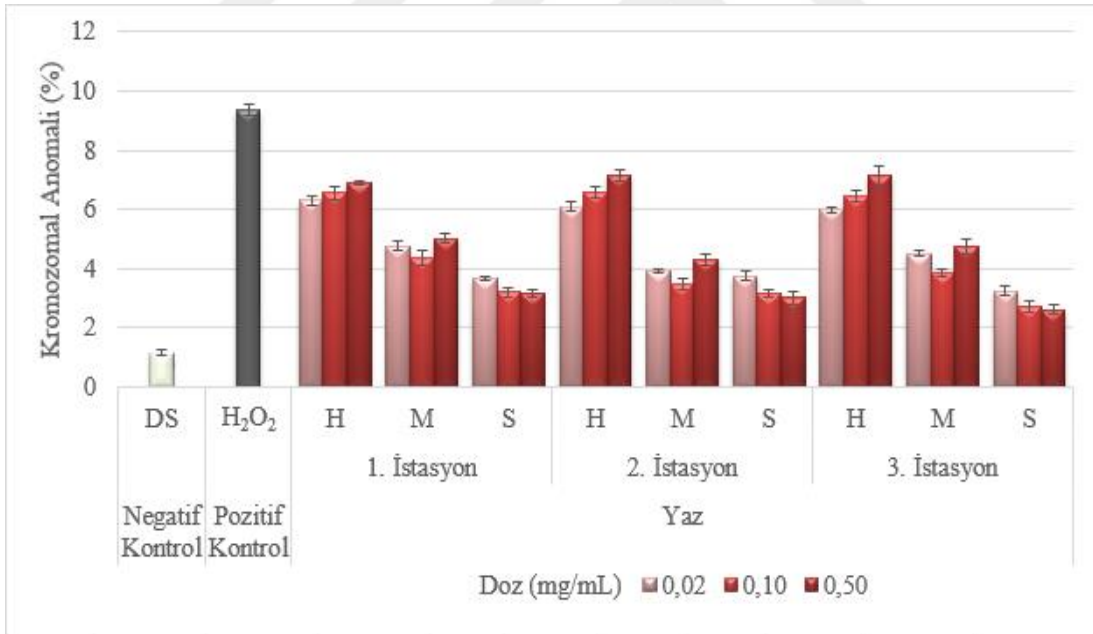
Çizelge 4.6. Yaz örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testinde gözlenen kromozomal anomali çeşitleri ve % anomali oranları (devamı)

Uygulama	Toplam Hücre	Gözlenen Anomaliler											Toplam Anormal Hücre	Anomali Oranı (%)		
		Vakuollü Nükleus	Parçalanmış Nükleus	Yapışık Kromozom	C-Mitoz	Metafazda Tabla Kayması	Fragment	Kalgın Kromozom	Anafazda Kutup Kayması	Kromatid Köprüsü	Telofazda Kutup Kayması	Telofazda Senkronizasyon Bozukluğu				
Yaz 3. İstasyon	H	0,02	5013	25,40±1,14	17,00±1,00	4,00±0,71	2,60±0,55	2,20±0,45	0,80±0,45	0,60±0,55	2,60±0,55	1,00±0,00	3,00±0,71	0,80±0,45	60,00±1,00	5,98±0,11 ^c
		0,1	5019	28,60±1,52	19,20±1,30	3,40±0,55	3,20±0,45	2,20±0,45	1,80±0,45	0,80±0,45	1,00±0,00	0,80±0,45	3,80±0,84	0,00±0,00	64,80±2,17	6,46±0,21 ^b
		0,5	5023	35,20±1,48	22,60±1,14	2,60±0,55	3,60±0,55	1,00±0,00	1,80±0,45	0,60±0,55	1,20±0,45	0,00±0,00	2,60±0,55	0,80±0,45	72,00±3,16	7,17±0,31 ^b
	M	0,02	5047	21,60±1,14	7,60±0,55	1,80±0,45	1,40±0,55	3,20±0,45	2,80±0,84	1,60±0,55	3,00±0,00	0,60±0,55	1,80±0,45	0,00±0,00	45,40±1,14	4,50±0,09 ^{c,d}
		0,1	5064	18,80±1,30	5,40±0,55	2,60±0,55	1,80±0,45	2,20±0,45	1,40±0,55	1,20±0,45	2,40±0,55	0,00±0,00	2,80±0,84	0,60±0,55	39,20±1,30	3,87±0,14 ^d
		0,5	5040	25,00±1,00	9,80±0,84	4,00±0,71	2,60±0,55	1,20±0,45	0,60±0,55	0,60±0,55	1,20±0,45	0,80±0,45	2,20±0,45	0,00±0,00	48,00±2,45	4,76±0,27 ^{c,d}
	S	0,02	5037	17,00±0,71	2,60±0,55	2,80±0,45	2,20±0,45	2,20±0,45	0,80±0,45	1,00±0,00	1,20±0,45	0,00±0,00	2,20±0,45	0,60±0,55	32,60±1,67	3,24±0,15 ^d
		0,1	5030	14,80±1,10	2,00±0,00	2,20±0,45	1,40±0,55	1,80±0,45	0,80±0,45	0,60±0,55	1,60±0,55	0,60±0,55	1,40±0,55	0,00±0,00	27,20±1,92	2,70±0,19 ^e
		0,5	5055	14,40±0,89	1,60±0,55	2,80±0,45	1,40±0,55	1,80±0,45	1,00±0,00	0,80±0,45	1,40±0,55	0,00±0,00	1,20±0,45	0,00±0,00	26,40±1,67	2,61±0,17 ^e

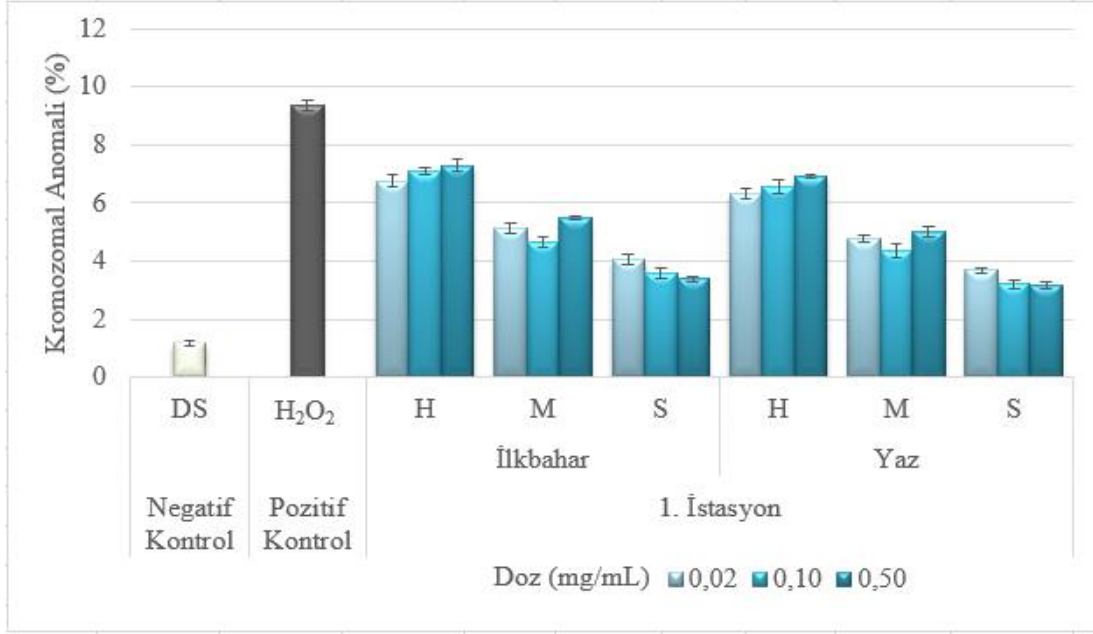
DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)



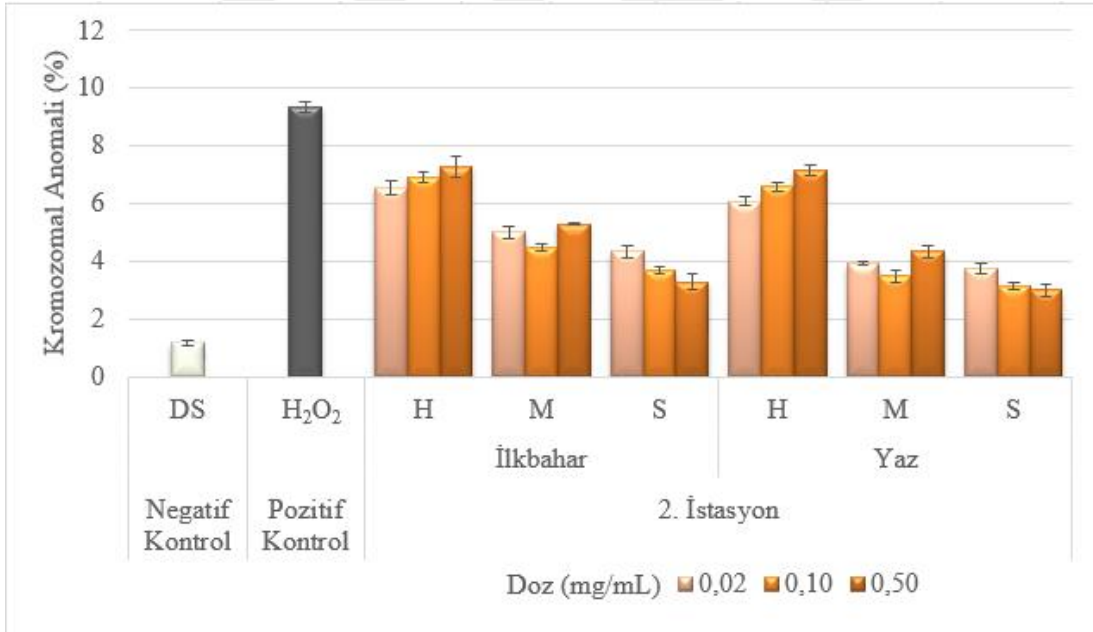
Şekil 4.24. İlkbahar örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi % anomali oranları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



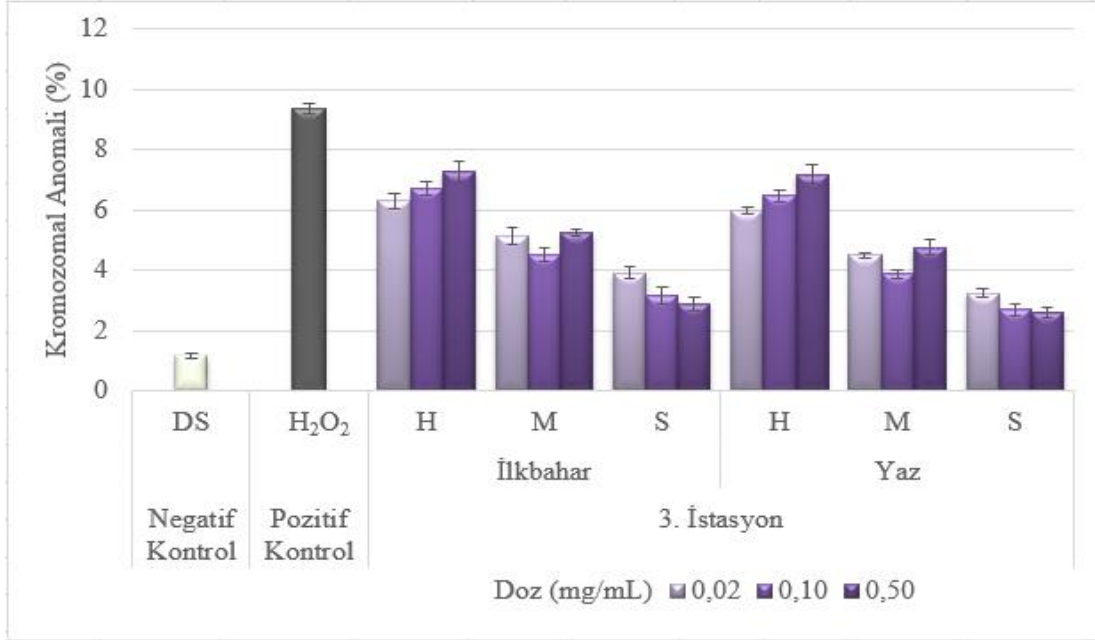
Şekil 4.25. Yaz örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi % anomali oranları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.26. 1. İstasyon örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi % anomali oranları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.27. 2. İstasyon örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi % anomali oranları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.28. 3. İstasyon örneklerinin *Allium cepa* kök meristematik hücre testi % anomali oranları. DS: Distile su, H₂O₂: Hidrojen peroksit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları

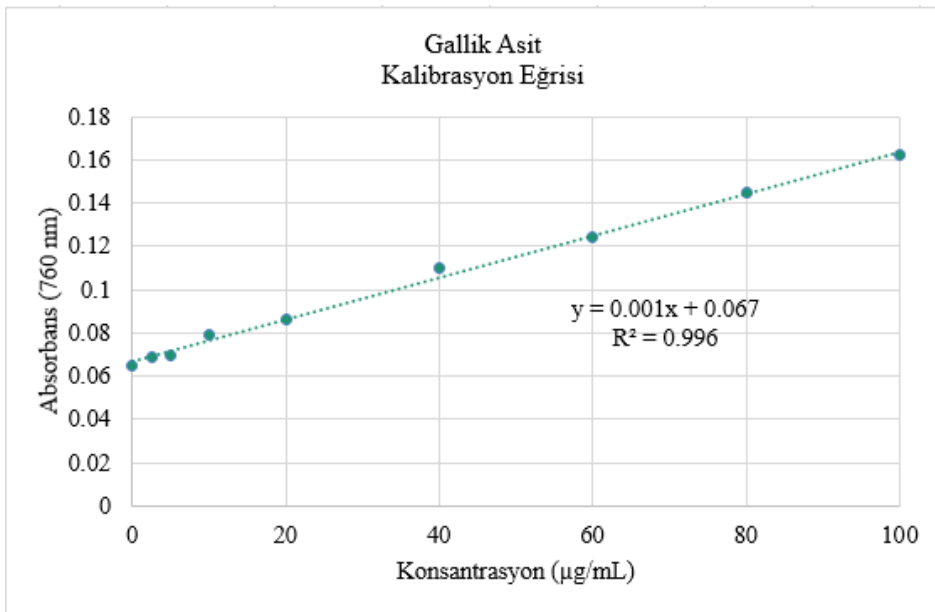
Bu çalışma kapsamında, mevsim ve lokasyon değişimlerinin *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla toplam fenolik ve flavonoid madde içerikleri testi, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali giderme aktivite testi, β -karoten/linoleik asit testi, bakır iyonu indirgeme antioksidan kapasite (CUPRAC) testi, metal şelatlama testi ve toplam antioksidan aktivite testi yapılmıştır. Elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma şeklinde çizelge ve şekillerde gösterilmiştir. Test sonuçlarının değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis H nonparametrik testi ve Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Farklılıklar $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı görülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) değerler farklı harflerle ifade edilmiştir.

4.2.1. Toplam Fenolik Madde İçeriği Testi Sonuçları

A. nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak yapılan toplam fenolik madde içeriği test sonuçları Çizelge 4.7 ve Şekil 4.30'da gösterilmiştir. Analiz sonuçları, standart olarak kullanılan gallik asit (GA) ile hazırlanan kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplanmıştır (Şekil 4.29). Test edilen bitki ekstraktlarında bulunan toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit eşdeğeri

(GAE)/g ekstrakt şeklinde ifade edilmiştir.

Ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarının yaz mevsiminde artış gösterdiği ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Bununla birlikte, istasyonlar arasında anlamlı bir fark gözlenememiştir ($p > 0,05$). Ekstraktlar karşılaştırıldığında ise, özellikle su ve metanol ekstraktlarının içerdiği toplam fenolik madde miktarının hekzan ekstraktlarına göre önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Toplam fenolik madde içeriği en yüksek ekstraktın Y.2.M ($65,80 \pm 0,86$ mg GAE/g ekstrakt), en düşük ekstraktın ise İ.1.H ($14,41 \pm 0,39$ mg GAE/g ekstrakt) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7. ve Şekil 4.30).

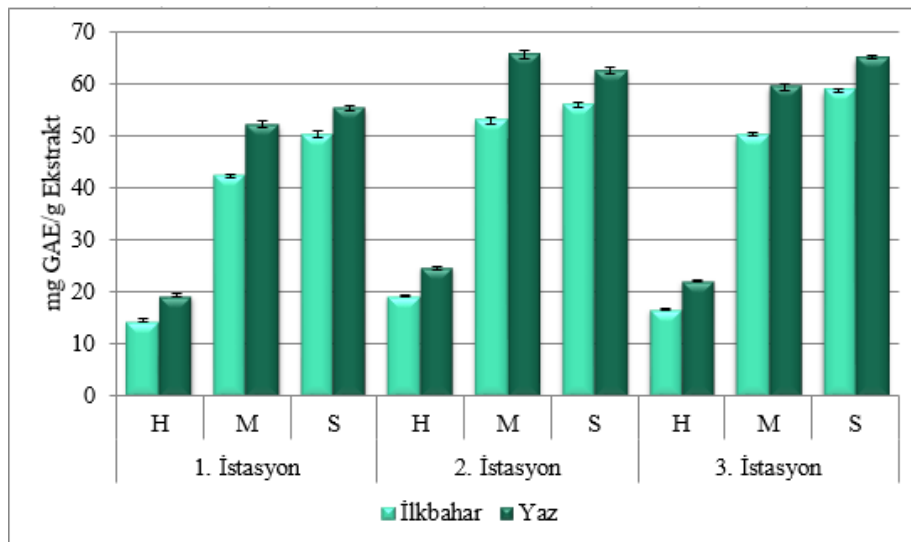


Şekil 4.29. Kalibrasyon eğrisi (gallik asit)

Çizelge 4.7. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri

Mevsim	İstasyon	Ekstrakt	mg GAE/g Ekstrakt (Ort±SS)
İlkbahar	1	Hekzan	14,41±0,39 ⁱ
		Metanol	42,38±0,29 ^f
		Su	50,36±0,70 ^{d,e}
	2	Hekzan	19,20±0,22 ^h
		Metanol	53,05±0,66 ^d
		Su	55,92±0,53 ^c
3	Hekzan	16,60±0,20 ⁱ	
	Metanol	50,31±0,35 ^{d,e}	
	Su	58,83±0,43 ^{b,c}	
Yaz	1	Hekzan	19,33±0,24 ^h
		Metanol	52,19±0,63 ^d
		Su	55,43±0,54 ^c
	2	Hekzan	24,64±0,30 ^g
		Metanol	65,80±0,86 ^a
		Su	62,60±0,57 ^{a,b}
	3	Hekzan	22,14±0,16 ^g
		Metanol	59,54±0,69 ^b
		Su	65,16±0,40 ^a

GAE: Gallik asit eşdeğeri. Değerler ortalama±standart sapma (Ort±SS) şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e, f, g, h, i: Farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)



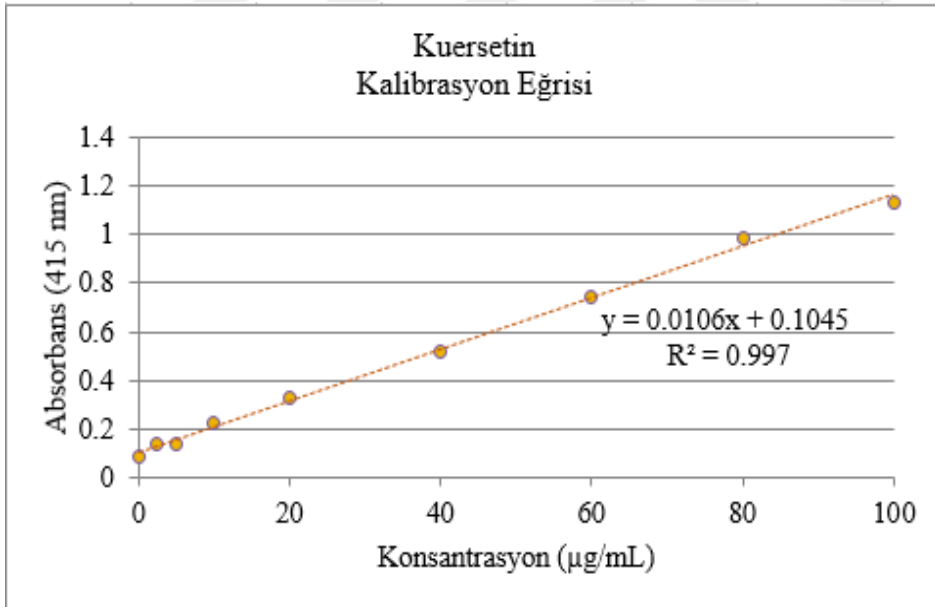
Şekil 4.30. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri.

GAE: Gallik asit eşdeğeri, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

4.2.2. Toplam Flavonoid Madde İçeriği Testi Sonuçları

A. nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının toplam flavonoid madde içeriği testi sonuçları Çizelge 4.8 ve Şekil 4.32’de gösterilmiştir. Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları, standart olarak kullanılan kuersetin ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır (Şekil 4.31). Elde edilen değerler mg kuersetin eşdeğeri (KE)/g ekstrakt olarak verilmiştir.

Elde edilen toplam flavonoid madde miktarları karşılaştırıldığında; veriler arasında mevsim, istasyon ve ekstrakt bakımından anlamlı farkların olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Toplam flavonoid madde miktarının yaz mevsiminde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bitkilerin toplandığı istasyonlardan 2. ve 3. istasyonlar arasında anlamlı bir fark gözlenmezken, 1. istasyon ile aralarında fark olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, test edilen bütün metanol ve su ekstraktlarının hekzan ekstraktlarına göre yüksek miktarda flavonoid madde içerdiği saptanmıştır. Metanol ve su ekstraktları arasındaki fark ise, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.32).

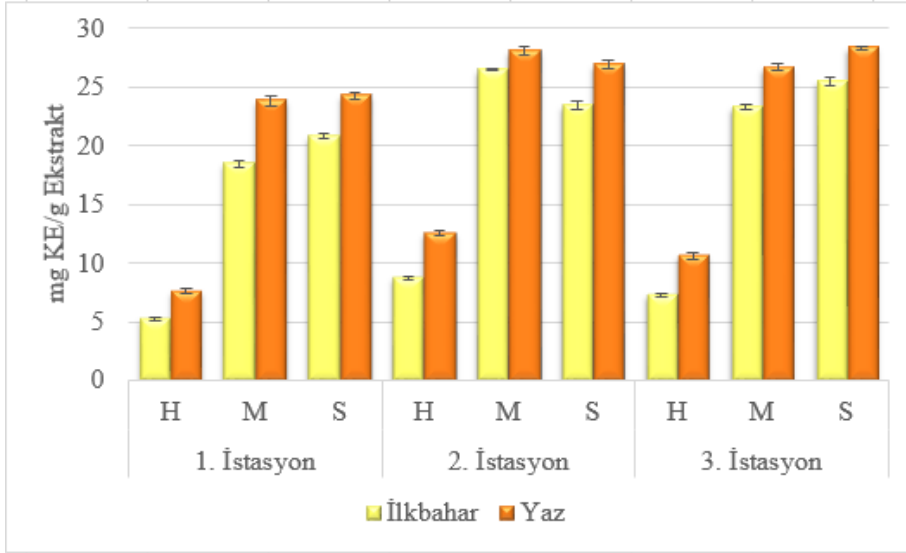


Şekil 4.31. Kalibrasyon eğrisi (kuersetin)

Çizelge 4.8. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* ekstraktlarının toplam flavonoid madde içerikleri

Mevsim	İstasyon	Ekstrakt	mg KE/g Ekstrakt (Ort±SS)
İlkbahar	1	Hekzan	5,28±0,11 ^h
		Metanol	18,49±0,33 ^e
		Su	20,87±0,18 ^d
	2	Hekzan	8,78±0,17 ^g
		Metanol	26,50±0,13 ^{a,b}
		Su	23,45±0,33 ^c
3	Hekzan	7,36±0,38 ^g	
	Metanol	23,28±0,24 ^c	
	Su	25,47±0,35 ^b	
Yaz	1	Hekzan	7,62±0,22 ^g
		Metanol	23,86±0,41 ^c
		Su	24,27±0,27 ^{b,c}
	2	Hekzan	12,60±0,18 ^f
		Metanol	28,14±0,34 ^a
		Su	26,90±0,34 ^a
	3	Hekzan	10,66±0,31 ^f
		Metanol	26,72±0,29 ^{a,b}
		Su	28,35±0,17 ^a

KE: Kuersetin eşdeğeri. Değerler ortalama±standart sapma (Ort±SS) şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e, f, g, h: Farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)



Şekil 4.32. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* ekstraktlarının flavonoid madde içerikleri. KE: Kuersetin eşdeğeri, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

4.2.3. DPPH Radikali Giderme Aktivite Testi Sonuçları

A. nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) molekülü kullanılarak yapılan inhibisyon (%) sonuçları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.33-4.37’de gösterilmiştir.

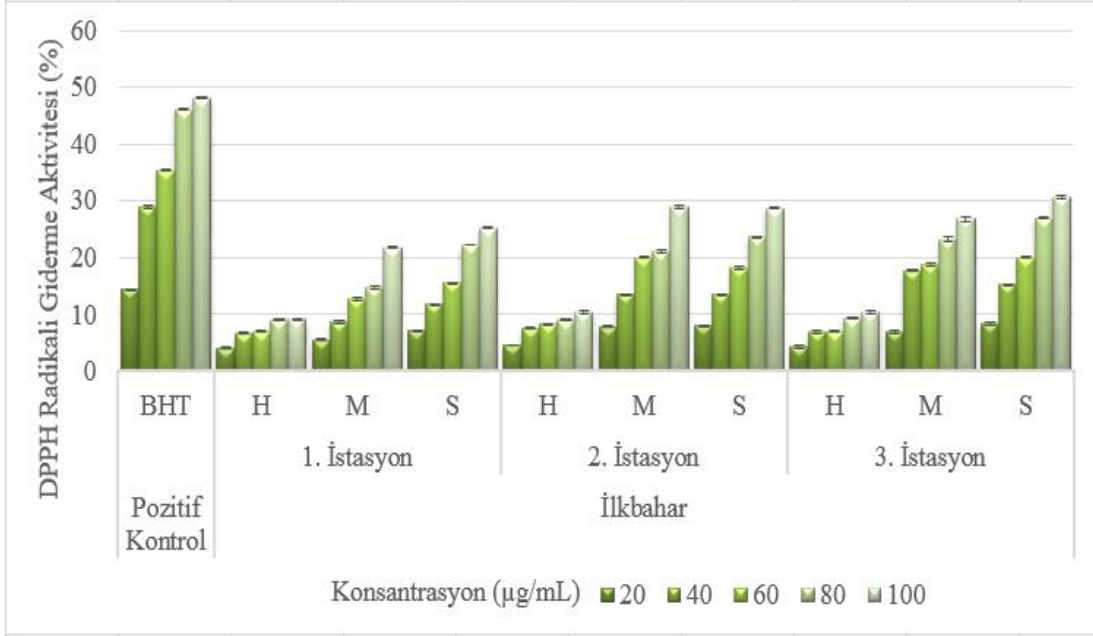
DPPH radikali giderme aktivite testi sonuçlarına göre, yaz mevsiminde toplanan bitkilerden elde edilen ekstraktların inhibisyon yüzdesinin ilkbahar örnekleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farka sahip olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$) (Şekil 4.35, 4.36 ve 4.37). Bununla birlikte, 2. ve 3. istasyonlar arasında anlamlı bir fark olmadığı ve 1. istasyondan daha yüksek inhibisyon değerine sahip oldukları bulunmuştur (Şekil 4.33 ve 4.34). Ayrıca, test edilen ekstraktların inhibisyon yüzdeleri karşılaştırıldığında su > metanol > hekzan şeklinde sıralandıkları gözlenmiştir. Genel olarak test edilen bütün örneklerin inhibisyon aktivitesinin doza bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.9).

Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan bütil hidroksi toluen (BHT)’in inhibisyon değeri ($48,14 \pm 0,09$, 100 $\mu\text{g/mL}$) ile kıyaslandığında, en yüksek aktiviteye ($36,96 \pm 0,20$, 100 $\mu\text{g/mL}$) Y.3.S ekstraktının sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4.9).

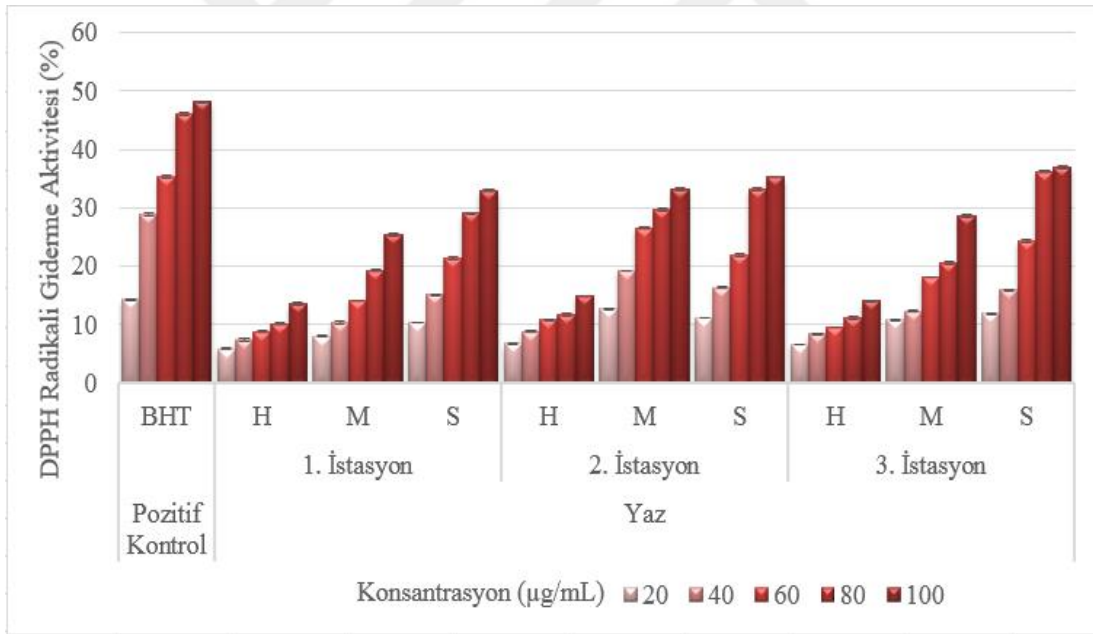
Çizelge 4.9. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ekstraktlarının DPPH radikali giderme aktivitesi (%)

Uygulama		İnhibisyon (%) (Ort±SS)					
		Konsantrasyon (µg/mL)					
		20	40	60	80	100	
Pozitif Kontrol	BHT	14,35±0,12 ^{a,D}	29,00±0,27 ^{a,C}	35,31±0,17 ^{a,B}	46,12±0,22 ^{a,A}	48,14±0,09 ^{a,A}	
İlkbahar	1. İstasyon	H	4,07±0,06 ^{e,B}	6,64±0,18 ^{e,A}	6,92±0,12 ^{e,A}	9,02±0,18 ^{e,A}	9,12±0,20 ^{g,A}
		M	5,57±0,11 ^{d,C}	8,68±0,28 ^{d,C}	12,72±0,38 ^{d,B}	14,62±0,28 ^{d,B}	21,79±0,17 ^{e,A}
		S	7,11±0,20 ^{d,C}	11,67±0,14 ^{c,B}	15,44±0,15 ^{d,B}	22,23±0,09 ^{c,A}	25,25±0,11 ^{d,A}
	2. İstasyon	H	4,54±0,07 ^{e,B}	7,57±0,14 ^{e,A}	8,19±0,12 ^{e,A}	8,95±0,18 ^{e,A}	10,36±0,17 ^{g,A}
		M	7,86±0,07 ^{c,D}	13,50±0,13 ^{c,C}	20,06±0,24 ^{c,B}	21,08±0,22 ^{c,B}	28,84±0,36 ^{c,A}
		S	7,93±0,11 ^{c,D}	13,42±0,12 ^{c,C}	18,26±0,29 ^{c,C}	23,58±0,17 ^{c,B}	28,73±0,17 ^{c,A}
	3. İstasyon	H	4,32±0,22 ^{e,B}	6,89±0,17 ^{e,A}	7,02±0,19 ^{e,A}	9,29±0,21 ^{e,A}	10,35±0,22 ^{g,A}
		M	6,91±0,21 ^{d,C}	17,74±0,18 ^{b,B}	18,82±0,28 ^{c,B}	23,22±0,33 ^{c,A}	26,82±0,39 ^{d,A}
		S	8,29±0,23 ^{c,C}	15,17±0,13 ^{c,B}	20,00±0,12 ^{c,B}	26,97±0,11 ^{b,A}	30,64±0,28 ^{c,A}
Yaz	1. İstasyon	H	5,91±0,14 ^{d,B}	7,43±0,21 ^{e,B}	8,89±0,21 ^{e,A}	10,23±0,23 ^{e,A}	13,58±0,27 ^{f,A}
		M	8,08±0,11 ^{c,D}	10,40±0,17 ^{d,C}	14,16±0,08 ^{d,C}	19,35±0,12 ^{c,B}	25,42±0,26 ^{c,A}
		S	10,36±0,05 ^{b,D}	15,12±0,11 ^{c,C}	21,51±0,26 ^{b,B}	29,09±0,11 ^{b,A}	32,98±0,11 ^{b,A}
	2. İstasyon	H	6,85±0,11 ^{d,B}	8,85±0,16 ^{d,B}	10,82±0,12 ^{d,A}	11,71±0,16 ^{e,A}	14,99±0,06 ^{f,A}
		M	12,71±0,06 ^{a,D}	19,25±0,09 ^{b,C}	26,55±0,19 ^{b,B}	29,75±0,23 ^{b,A}	33,14±0,21 ^{b,A}
		S	11,11±0,02 ^{b,D}	16,40±0,12 ^{b,C}	22,02±0,26 ^{b,B}	33,21±0,18 ^{b,A}	35,30±0,08 ^{b,A}
	3. İstasyon	H	6,69±0,03 ^{d,B}	8,40±0,16 ^{d,B}	9,61±0,09 ^{e,A}	11,17±0,22 ^{e,A}	14,02±0,10 ^{f,A}
		M	10,82±0,14 ^{b,C}	12,39±0,13 ^{c,C}	18,22±0,04 ^{c,B}	20,59±0,25 ^{c,B}	28,72±0,26 ^{c,A}
		S	11,96±0,11 ^{a,D}	15,91±0,10 ^{b,D}	24,35±0,20 ^{b,C}	30,27±0,17 ^{b,B}	36,96±0,20 ^{b,A}

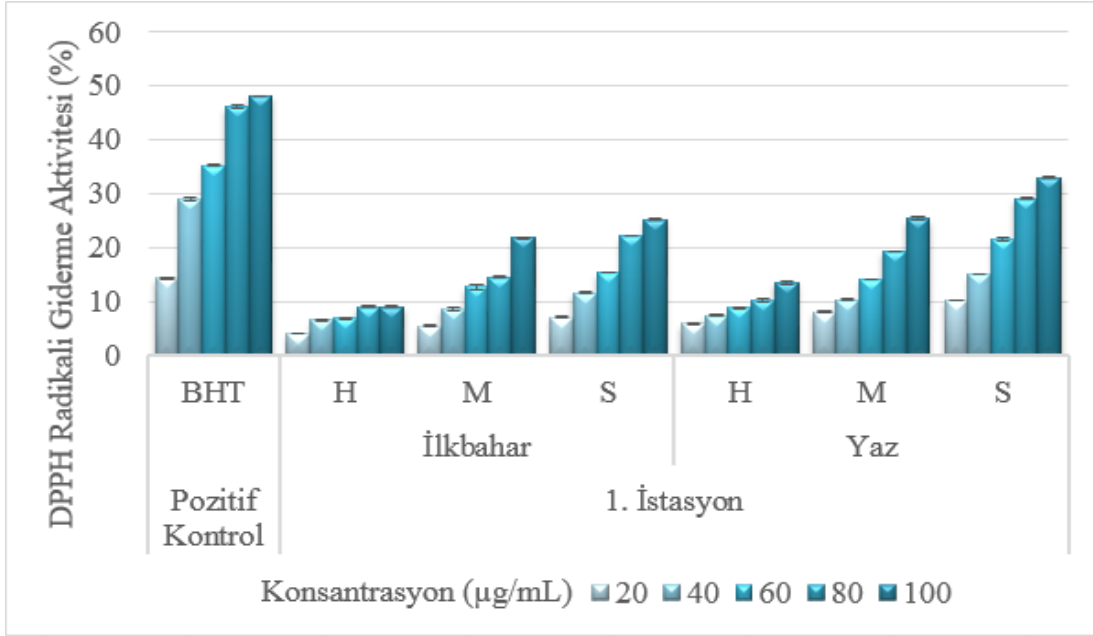
BHT: Bütil hidroksi toluen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Değerler ortalama±standart sapma (Ort±SS) şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e, f, g: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). A, B, C, D: Aynı satır içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)



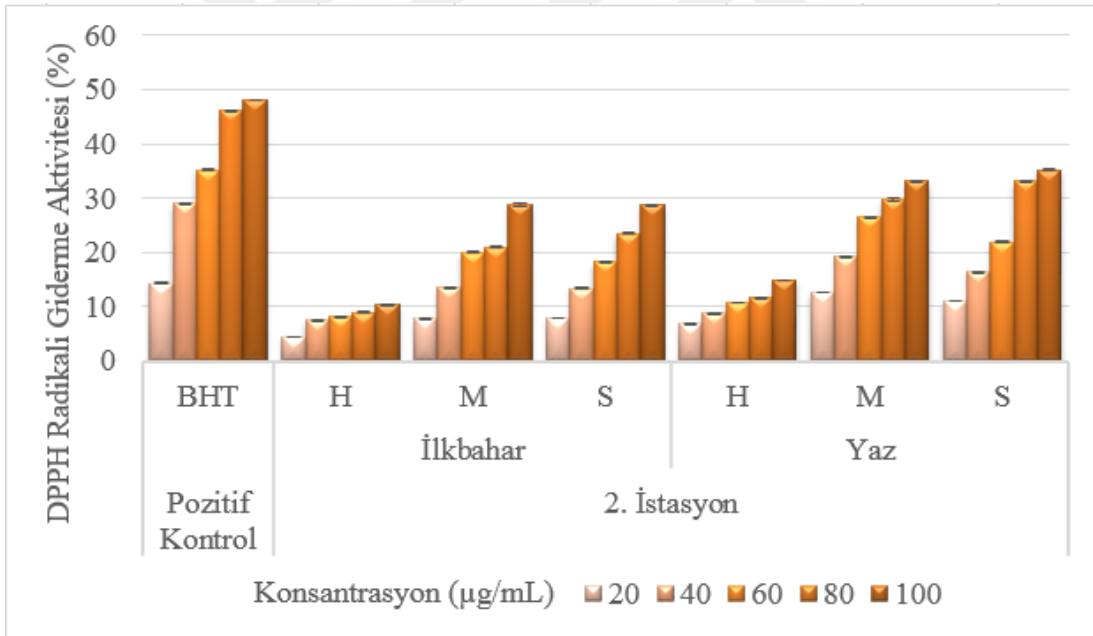
Şekil 4.33. İlkbahar örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%). BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



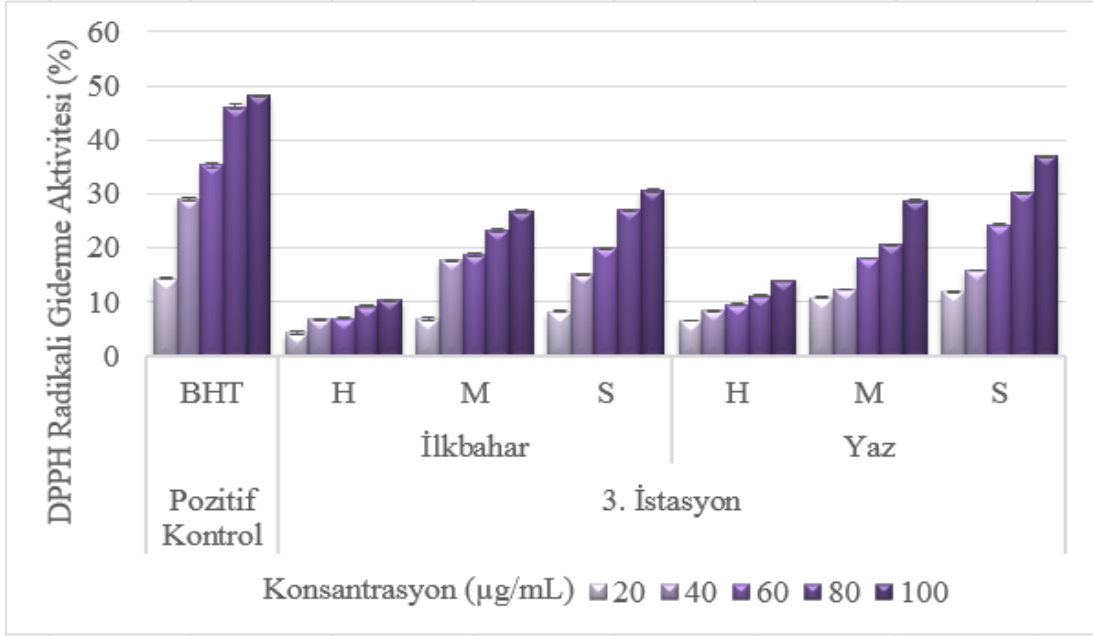
Şekil 4.34. Yaz örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%). BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.35. 1. İstasyon örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%). BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.36. 2. İstasyon örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%). BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.37. 3. İstasyon örneklerinin DPPH radikali giderme aktivitesi (%). BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

4.2.4. β -Karoten/Linoleik Asit Testi Sonuçları

A. nobilis subsp. *sipylea* ekstraktlarının β -karoten/linoleik asit testi sonuçları Çizelge 4.10 ve Şekil 4.38-4.42’de verilmiştir.

β -Karoten/linoleik asit testi sonuçları incelendiğinde, ekstraktların antioksidan aktiviteleri üzerinde mevsim faktörünün genel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Sadece 30. dakika sonunda test edilen ekstraktlar arasında mevsimsel bir fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Bununla birlikte, örneklerin toplandığı istasyonlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiş olup, ekstrakt çeşidinin ve sürenin antioksidan aktivitesinde önemli fark yarattığı saptanmıştır (Çizelge 4.10). Metanol ve su ekstraktları arasında bir fark gözlenmemiş olmakla birlikte hekzan ekstraktına oranla yüksek derecede antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Ayrıca, uygulama süresi arttıkça antioksidan aktivitenin de anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.38 ve Şekil 4.39).

Yapılan β -Karoten/linoleik asit testi sonucuna göre, antioksidan aktivitesi en yüksek Y.3.S (%62,86±0,42), en düşük Y.1.H (%10,64±0,10) ekstraktı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. *Achillea nobilis* subsp. *siyplea* bitkisi ekstraktlarının β -karoten/linoleik asit testi sonuçları

Uygulama		Antioksidan Aktivite (%) (Ort \pm SS)			
		Süre (Dakika)			
		30	60	90	
Pozitif Kontrol	BHT	93,25 \pm 0,69 ^{a,A}	79,39 \pm 0,50 ^{a,B}	59,57 \pm 0,30 ^{a,C}	
İlkbahar	1. İstasyon	H	18,97 \pm 0,42 ^{f,A}	14,03 \pm 0,15 ^{f,B}	12,8 \pm 0,18 ^{f,B}
		M	49,85 \pm 0,65 ^{d,A}	42,71 \pm 0,32 ^{b,B}	36,57 \pm 0,14 ^{b,C}
		S	54,13 \pm 0,62 ^{c,A}	43,61 \pm 0,44 ^{b,B}	30,54 \pm 0,18 ^{c,C}
	2. İstasyon	H	20,78 \pm 0,51 ^{f,A}	15,45 \pm 0,13 ^{f,B}	13,26 \pm 0,12 ^{f,B}
		M	55,05 \pm 0,55 ^{c,A}	47,2 \pm 0,46 ^{b,B}	39,29 \pm 0,19 ^{b,C}
		S	54,22 \pm 0,79 ^{c,A}	43,43 \pm 0,18 ^{b,B}	35,67 \pm 0,30 ^{b,C}
	3. İstasyon	H	23,24 \pm 0,20 ^{e,A}	20,74 \pm 0,29 ^{e,A}	16,8 \pm 0,29 ^{e,B}
		M	49,8 \pm 0,75 ^{d,A}	41,39 \pm 0,45 ^{c,B}	34,24 \pm 0,31 ^{b,C}
		S	57,39 \pm 0,41 ^{b,A}	43,94 \pm 0,39 ^{b,B}	39,27 \pm 0,37 ^{b,B}
Yaz	1. İstasyon	H	23,59 \pm 0,13 ^{e,A}	15,16 \pm 0,08 ^{f,B}	10,64 \pm 0,10 ^{f,C}
		M	54,67 \pm 0,21 ^{c,A}	40,59 \pm 0,34 ^{c,B}	24,49 \pm 0,12 ^{d,C}
		S	60,93 \pm 0,39 ^{b,A}	46,98 \pm 0,22 ^{b,B}	26,85 \pm 0,16 ^{c,C}
	2. İstasyon	H	24,76 \pm 0,30 ^{e,A}	18,69 \pm 0,15 ^{e,B}	12,24 \pm 0,10 ^{f,C}
		M	61,99 \pm 0,25 ^{b,A}	40,77 \pm 0,19 ^{c,B}	19,15 \pm 0,15 ^{e,C}
		S	62,57 \pm 0,34 ^{b,A}	43,22 \pm 0,23 ^{b,B}	21,98 \pm 0,11 ^{d,C}
	3. İstasyon	H	27,13 \pm 0,34 ^{e,A}	20,56 \pm 0,16 ^{e,B}	13,17 \pm 0,03 ^{f,C}
		M	52,71 \pm 0,09 ^{c,A}	24,76 \pm 0,08 ^{d,B}	15,87 \pm 0,12 ^{e,C}
		S	62,86 \pm 0,42 ^{b,A}	38,7 \pm 0,20 ^{c,B}	28,19 \pm 0,25 ^{c,C}

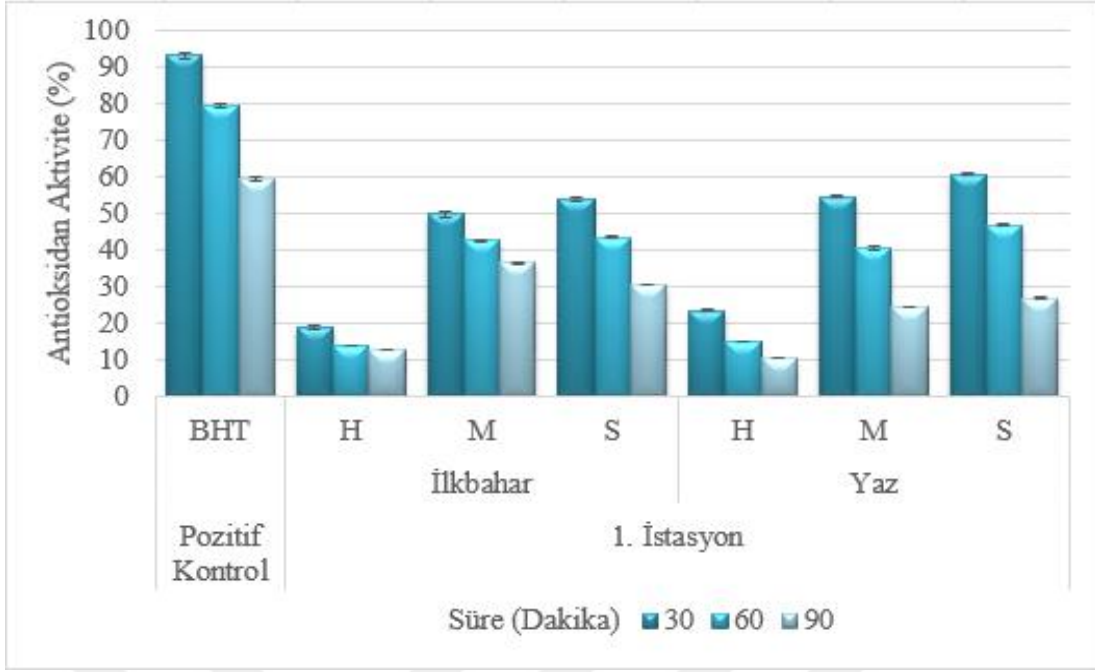
BHT: Bütil hidroksi toluen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Değerler ortalama \pm standart sapma (Ort \pm SS) şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e, f: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). A, B, C: Aynı satır içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$)



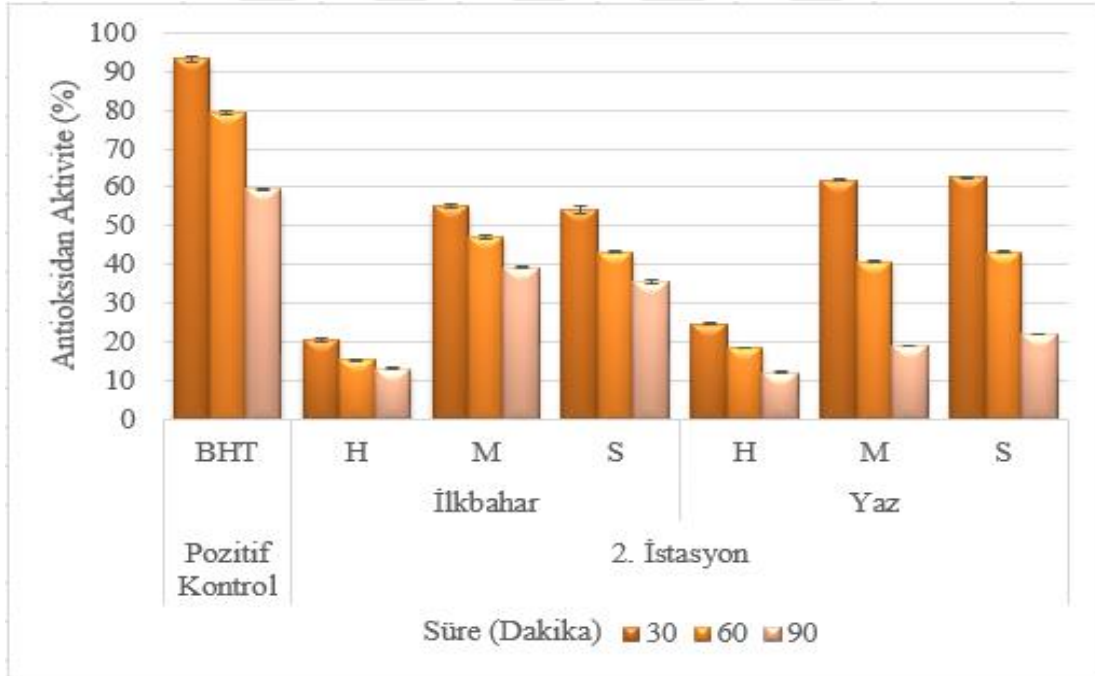
Şekil 4.38. İlkbahar örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi toluen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



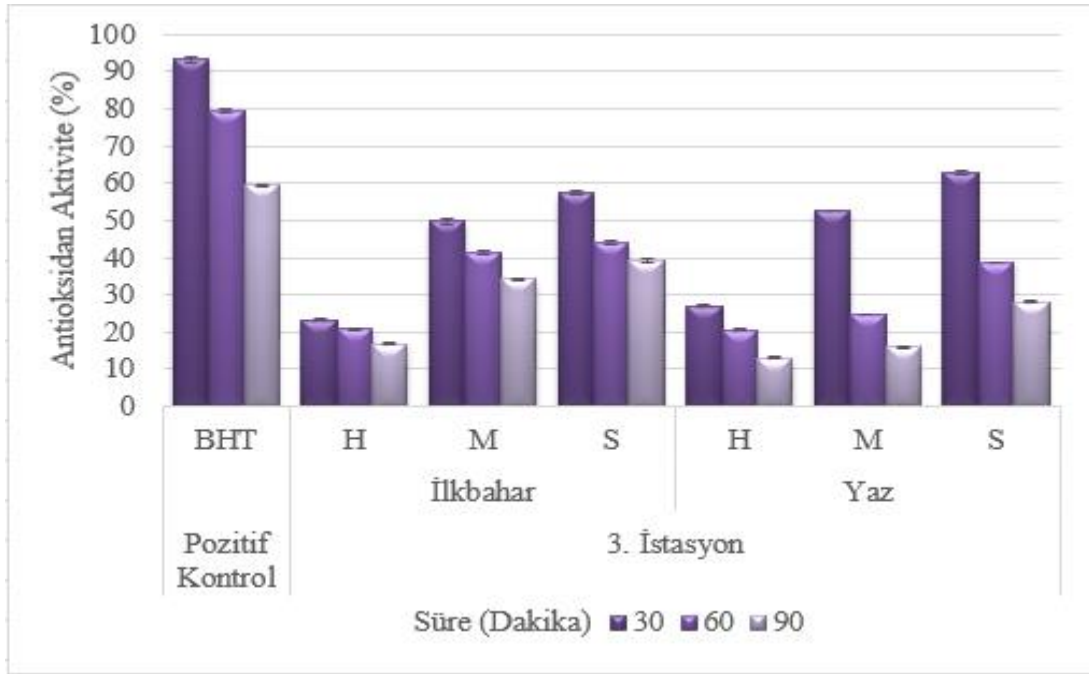
Şekil 4.39. Yaz örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi toluen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.40. 1. İstasyon örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.41. 2. İstasyon örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.42. 3. İstasyon örneklerinin β -karoten/linoleik asit testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

4.2.5. CUPRAC Testi Sonuçları

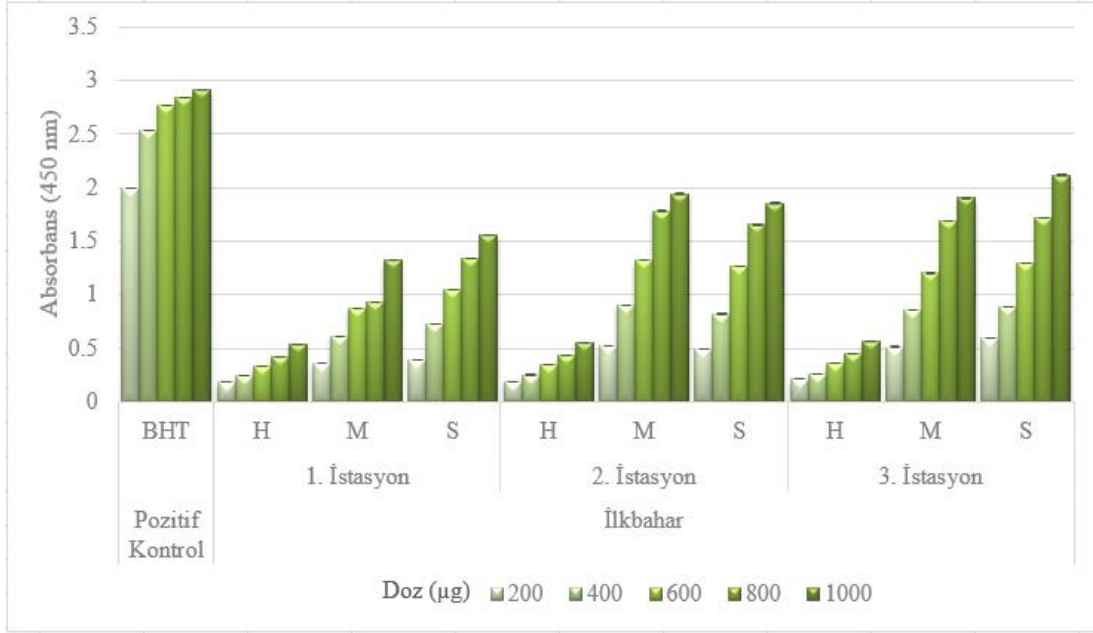
A. nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının bakır iyonu indirgeme antioksidan kapasite (CUPRAC) testi sonuçları Çizelge 4.11 ve Şekil 4.43-4.47’de verilmiştir.

CUPRAC testi sonucunda, test edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi üzerine mevsim ve lokasyon değişimlerinin önemli bir fark oluşturmadığı sonucuna varılmıştır ($p>0,05$). Yapılan istatistiksel incelemeler sonucunda, ekstrakt çeşidinin ve uygulanan dozun antioksidan aktivite üzerinde önem arz ettiği belirlenmiştir ($p<0,05$). Metanol ve su ekstraktları arasında anlamlı bir fark bulunmadığı ve hekzan ekstraktına oranla yüksek antioksidan etkiye sahip oldukları saptanmıştır. Ayrıca, bu antioksidan etkinin bütün ekstraktlarda doza bağlı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.11).

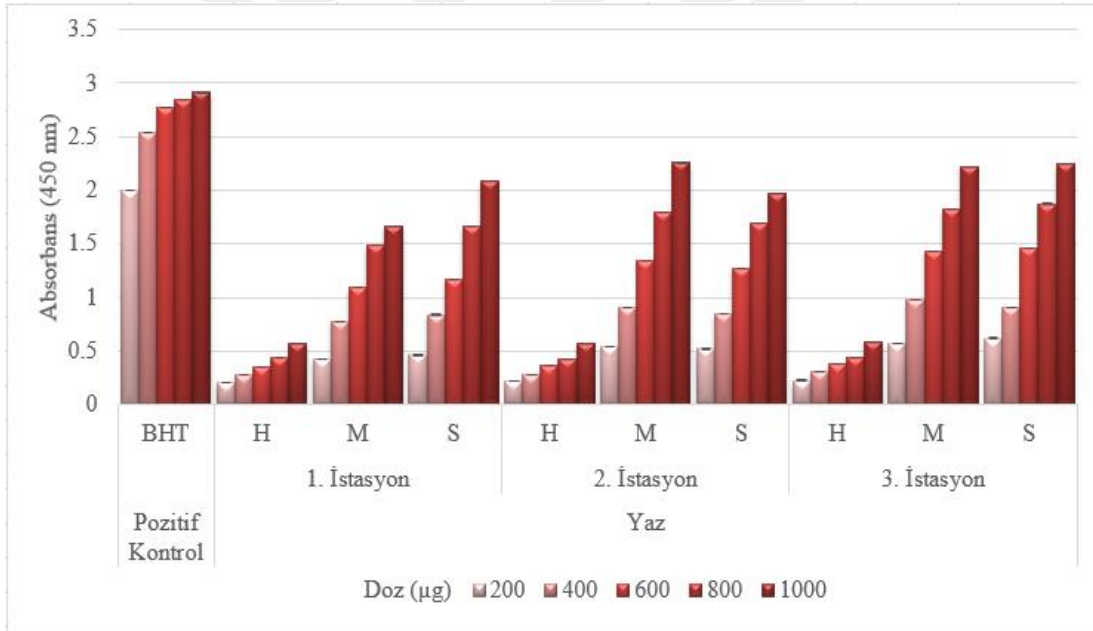
Çizelge 4.11. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ekstraktlarının CUPRAC testi sonuçları

Uygulama	Absorbans (450 nm) (Ort±SS)						
	BHT	Doz (µg)					
		200	400	600	800	1000	
Pozitif Kontrol	BHT	1,995±0,001 ^{a,C}	2,536±0,002 ^{a,B}	2,773±0,002 ^{a,A}	2,846±0,002 ^{a,A}	2,912±0,001 ^{a,A}	
İlkbahar	1. İstasyon	H	0,182±0,001 ^{d,A}	0,249±0,001 ^{d,A}	0,336±0,001 ^{d,B}	0,423±0,001 ^{e,B}	0,542±0,001 ^{e,C}
		M	0,361±0,001 ^{c,A}	0,611±0,001 ^{c,B}	0,872±0,002 ^{c,C}	0,928±0,001 ^{d,C}	1,323±0,003 ^{d,D}
		S	0,393±0,001 ^{c,A}	0,727±0,001 ^{c,B}	1,051±0,001 ^{c,C}	1,336±0,003 ^{c,D}	1,555±0,001 ^{d,E}
	2. İstasyon	H	0,193±0,001 ^{d,A}	0,253±0,002 ^{d,A}	0,347±0,002 ^{d,B}	0,433±0,001 ^{e,B}	0,556±0,001 ^{e,C}
		M	0,523±0,002 ^{b,A}	0,903±0,002 ^{b,B}	1,321±0,002 ^{b,C}	1,783±0,012 ^{b,D}	1,944±0,001 ^{c,D}
		S	0,495±0,001 ^{b,A}	0,821±0,002 ^{b,B}	1,262±0,001 ^{b,C}	1,654±0,001 ^{b,D}	1,853±0,006 ^{c,D}
	3. İstasyon	H	0,212±0,002 ^{d,A}	0,256±0,002 ^{d,A}	0,358±0,002 ^{d,B}	0,448±0,001 ^{e,B}	0,562±0,002 ^{e,C}
		M	0,516±0,002 ^{b,A}	0,862±0,001 ^{b,B}	1,203±0,003 ^{c,C}	1,689±0,002 ^{b,D}	1,901±0,003 ^{c,D}
		S	0,597±0,001 ^{b,A}	0,888±0,002 ^{b,B}	1,299±0,003 ^{b,C}	1,716±0,002 ^{b,D}	2,119±0,003 ^{b,E}
Yaz	1. İstasyon	H	0,209±0,001 ^{d,A}	0,275±0,001 ^{d,A}	0,356±0,001 ^{d,B}	0,434±0,001 ^{e,B}	0,571±0,001 ^{e,C}
		M	0,426±0,002 ^{c,A}	0,780±0,001 ^{c,B}	1,092±0,001 ^{c,C}	1,489±0,001 ^{c,D}	1,668±0,001 ^{c,E}
		S	0,463±0,001 ^{c,A}	0,841±0,001 ^{c,B}	1,168±0,001 ^{c,C}	1,667±0,001 ^{b,D}	2,086±0,001 ^{b,E}
	2. İstasyon	H	0,223±0,001 ^{d,A}	0,283±0,001 ^{d,A}	0,367±0,001 ^{d,B}	0,430±0,002 ^{e,B}	0,577±0,001 ^{e,C}
		M	0,547±0,002 ^{b,A}	0,912±0,002 ^{b,B}	1,338±0,001 ^{b,C}	1,797±0,002 ^{b,D}	2,256±0,002 ^{b,E}
		S	0,521±0,001 ^{b,A}	0,845±0,001 ^{b,B}	1,276±0,001 ^{b,C}	1,697±0,001 ^{b,D}	1,968±0,002 ^{b,E}
	3. İstasyon	H	0,228±0,001 ^{d,A}	0,310±0,002 ^{d,B}	0,383±0,002 ^{d,B}	0,445±0,001 ^{e,B}	0,582±0,003 ^{e,C}
		M	0,574±0,001 ^{b,A}	0,976±0,002 ^{b,B}	1,432±0,003 ^{b,C}	1,821±0,002 ^{b,D}	2,221±0,003 ^{b,E}
		S	0,621±0,002 ^{b,A}	0,904±0,001 ^{b,B}	1,457±0,002 ^{b,C}	1,876±0,003 ^{b,D}	2,246±0,002 ^{b,E}

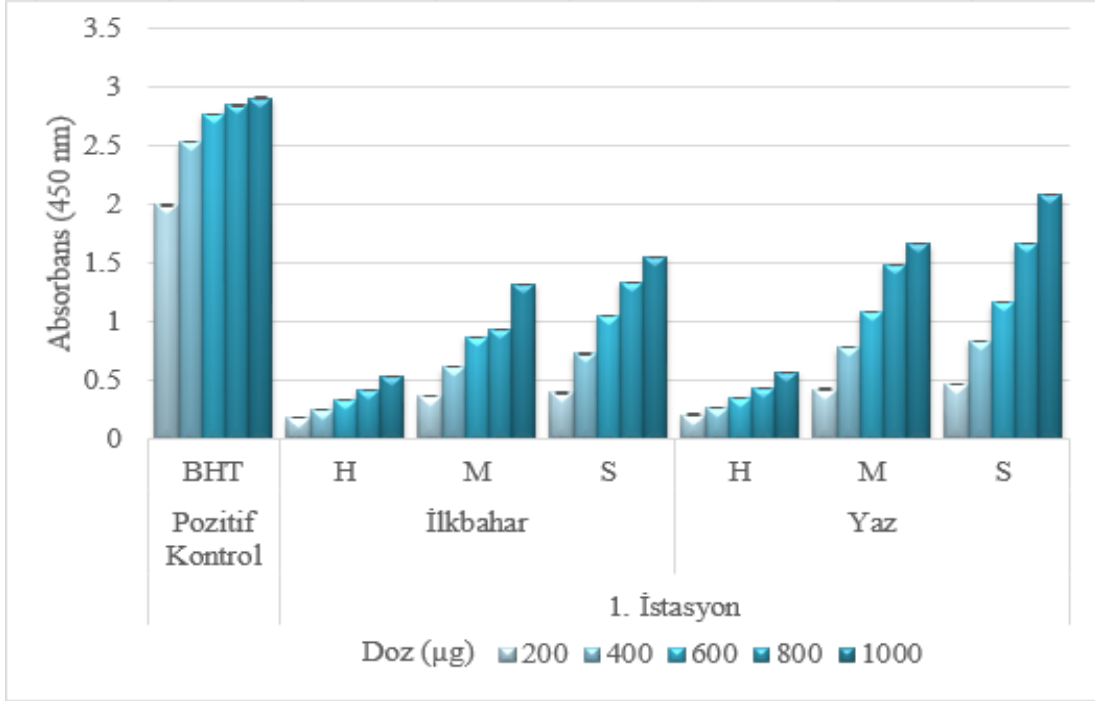
BHT: Bütil hidroksi toluen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Değerler ortalama±standart sapma (Ort±SS) şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). A, B, C, D, E: Aynı satır içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$)



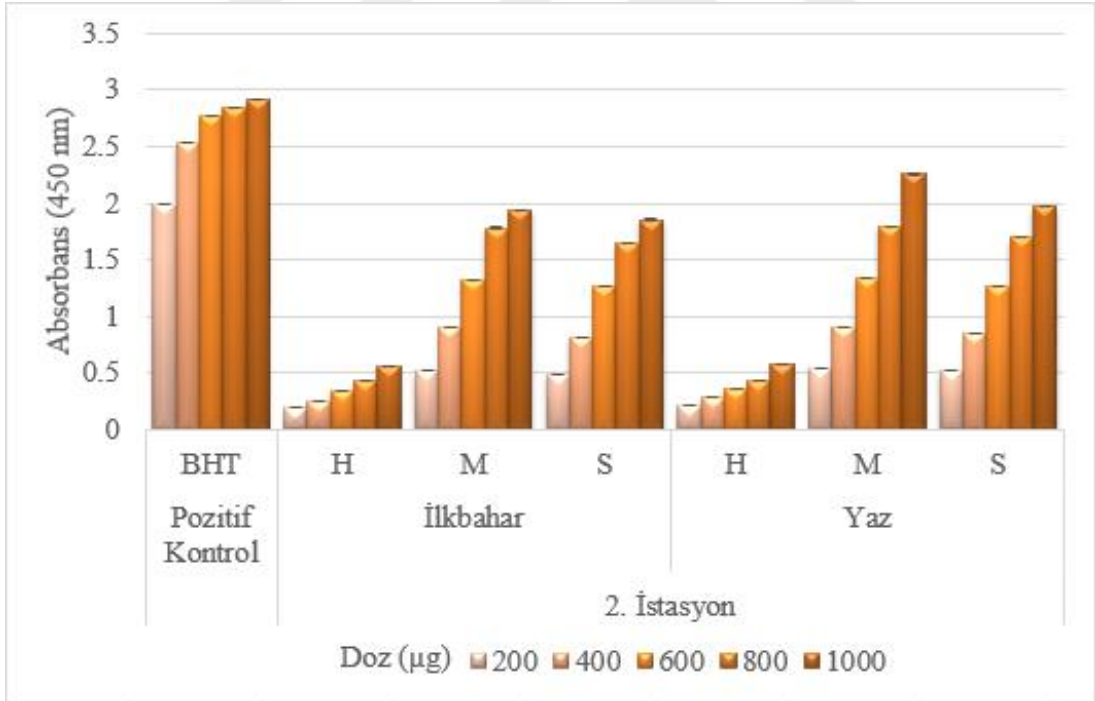
Şekil 4.43. İlkbahar örneklerinin CUPRAC testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi toluen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



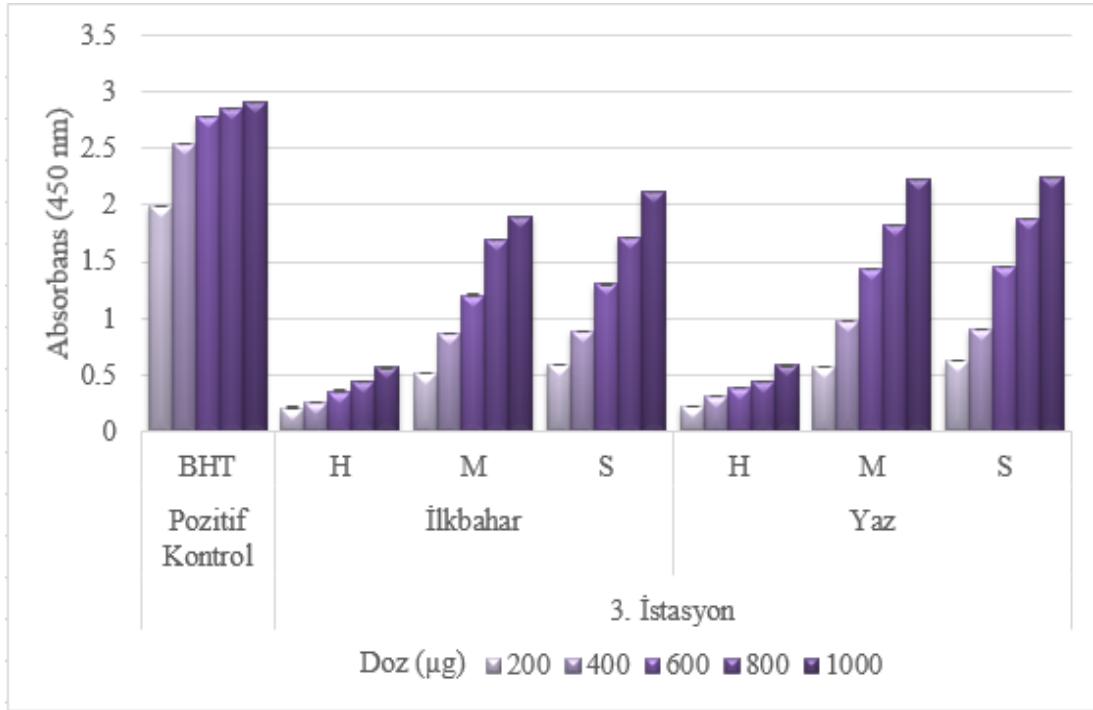
Şekil 4.44. Yaz örneklerinin CUPRAC testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi toluen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.45. 1. İstasyon örneklerinin CUPRAC testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.46. 2. İstasyon örneklerinin CUPRAC testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.47. 3. İstasyon örneklerinin CUPRAC testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

4.2.6. Metal Şelatlama Testi Sonuçları

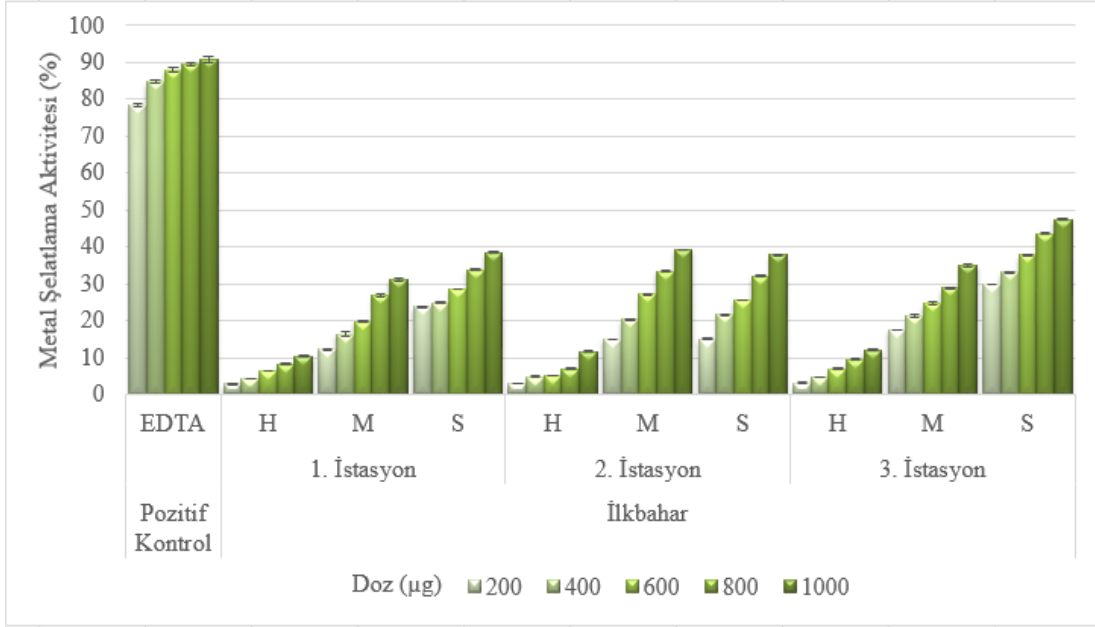
A. nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının metal şelatlama testi sonuçları Çizelge 4.12 ve Şekil 4.48-4.52’de verilmiştir.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, test edilen ekstraktların metal şelatlama aktiviteleri üzerinde mevsimin etkili olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Yaz mevsimine ait örneklerin daha iyi bir metal şelatlayıcı oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 4.12). Farklı istasyonlardan toplanan örneklerin aktivitesinde anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($p > 0,05$) (Şekil 4.48 ve 4.49). Bununla birlikte, ekstraktlar arasında en yüksek metal şelatlama aktivitesine sırasıyla su>metanol>hekzan ekstraktlarının sahip olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 4.50, 4.51 ve 4.52). Ayrıca, test edilen bütün ekstraktların aktivitesinin doza bağlı olarak artış gösterdiği ve bu durumun istatistiksel olarak da anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır ($p < 0,05$).

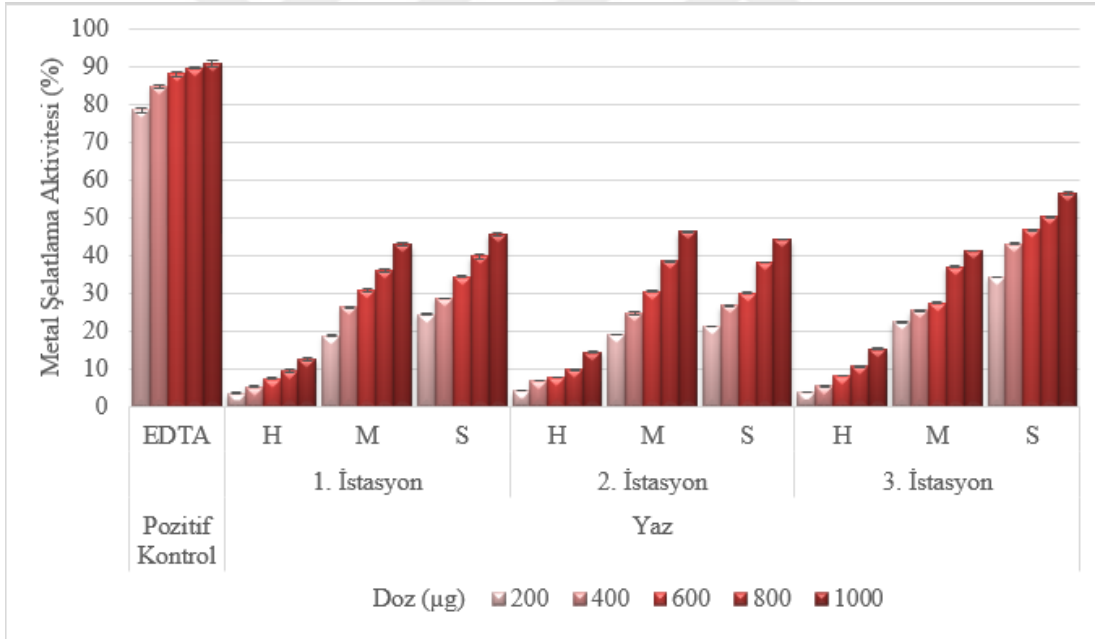
Çizelge 4.12. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ekstraktlarının metal şelatlama testi sonuçları

Uygulama		Metal Şelatlama Aktivitesi (%) (Ort±SD)					
		Doz (µg)					
EDTA		200	400	600	800	1000	
İlkbahar	Pozitif Kontrol		78,41±0,58 ^{a,C}	84,75±0,51 ^{a,B}	87,95±0,65 ^{a,A}	89,61±0,32 ^{a,A}	90,85±0,85 ^{a,A}
	1. İstasyon	H	2,80±0,15 ^{f,C}	4,38±0,08 ^{h,B,C}	6,37±0,00 ^{g,B}	8,21±0,22 ^{g,A}	10,40±0,37 ^{g,A}
		M	12,15±0,24 ^{e,E}	16,33±0,58 ^{f,D}	19,70±0,24 ^{f,C}	26,90±0,40 ^{f,B}	31,12±0,28 ^{e,A}
		S	23,67±0,18 ^{c,D}	24,84±0,16 ^{d,D}	28,52±0,16 ^{d,C}	33,74±0,18 ^{e,B}	38,45±0,18 ^{d,A}
	2. İstasyon	H	2,88±0,08 ^{f,D}	4,78±0,15 ^{g,C}	5,11±0,12 ^{h,B,C}	7,00±0,12 ^{h,B}	11,68±0,14 ^{f,A}
		M	14,99±0,07 ^{e,E}	20,31±0,24 ^{e,D}	27,10±0,28 ^{d,C}	33,43±0,12 ^{e,B}	39,29±0,14 ^{d,A}
		S	15,02±0,17 ^{e,E}	21,54±0,19 ^{e,D}	25,62±0,07 ^{e,C}	32,00±0,19 ^{e,B}	37,83±0,28 ^{d,A}
	3. İstasyon	H	3,19±0,11 ^{f,D}	4,80±0,09 ^{g,D}	6,94±0,18 ^{g,C}	9,55±0,16 ^{g,B}	12,07±0,16 ^{f,A}
		M	17,52±0,16 ^{d,E}	21,27±0,37 ^{e,D}	24,65±0,37 ^{e,C}	28,82±0,16 ^{e,B}	35,03±0,42 ^{e,A}
S		29,78±0,00 ^{b,E}	33,12±0,16 ^{c,D}	37,76±0,16 ^{c,C}	43,58±0,24 ^{c,B}	47,37±0,18 ^{c,A}	
Yaz	1. İstasyon	H	3,50±0,09 ^{f,D}	5,19±0,09 ^{g,C}	7,37±0,16 ^{g,B,C}	9,35±0,33 ^{g,B}	12,51±0,30 ^{f,A}
		M	18,71±0,37 ^{d,E}	26,17±0,24 ^{d,D}	30,70±0,24 ^{d,C}	35,96±0,32 ^{d,B}	42,87±0,61 ^{c,A}
		S	24,25±0,24 ^{c,E}	28,68±0,00 ^{c,D}	34,37±0,18 ^{c,C}	39,76±0,58 ^{c,B}	45,50±0,24 ^{c,A}
	2. İstasyon	H	4,13±0,11 ^{f,D}	6,79±0,12 ^{g,C}	7,76±0,07 ^{g,B}	9,64±0,14 ^{g,B}	14,35±0,12 ^{f,A}
		M	18,92±0,12 ^{d,E}	24,63±0,26 ^{d,D}	30,47±0,12 ^{d,C}	38,34±0,12 ^{d,B}	46,15±0,39 ^{c,A}
		S	21,22±0,12 ^{c,E}	26,60±0,07 ^{d,D}	29,87±0,21 ^{d,C}	38,14±0,10 ^{d,B}	44,08±0,06 ^{c,A}
	3. İstasyon	H	3,79±0,08 ^{f,D}	5,30±0,15 ^{g,C}	7,97±0,09 ^{g,B,C}	10,56±0,09 ^{g,B}	15,25±0,16 ^{f,A}
		M	22,40±0,24 ^{c,D}	25,37±0,32 ^{d,C}	27,31±0,18 ^{d,C}	36,85±0,16 ^{d,B}	41,17±0,18 ^{d,A}
		S	34,20±0,12 ^{b,E}	43,07±0,33 ^{b,D}	46,61±0,37 ^{b,C}	50,23±0,18 ^{b,B}	56,54±0,48 ^{b,A}

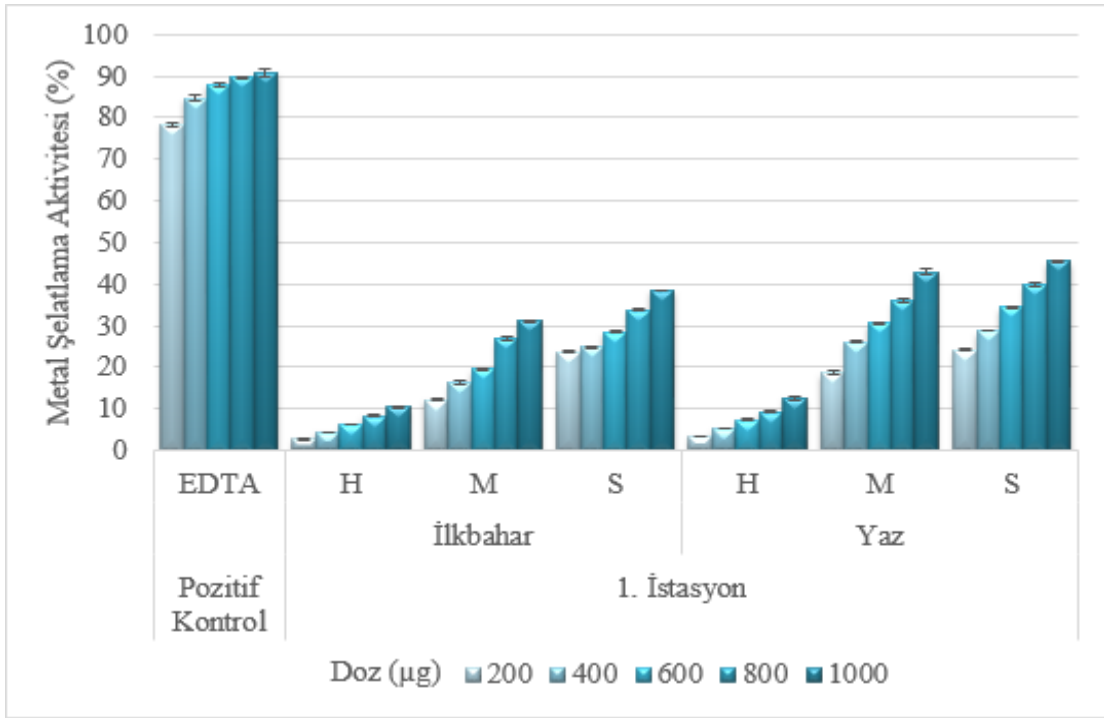
EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Değerler ortalama±standart sapma (Ort±SS) şeklinde verilmiştir. a, b, c, d, e, f, g, h: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). A, B, C, D, E: Aynı satır içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)



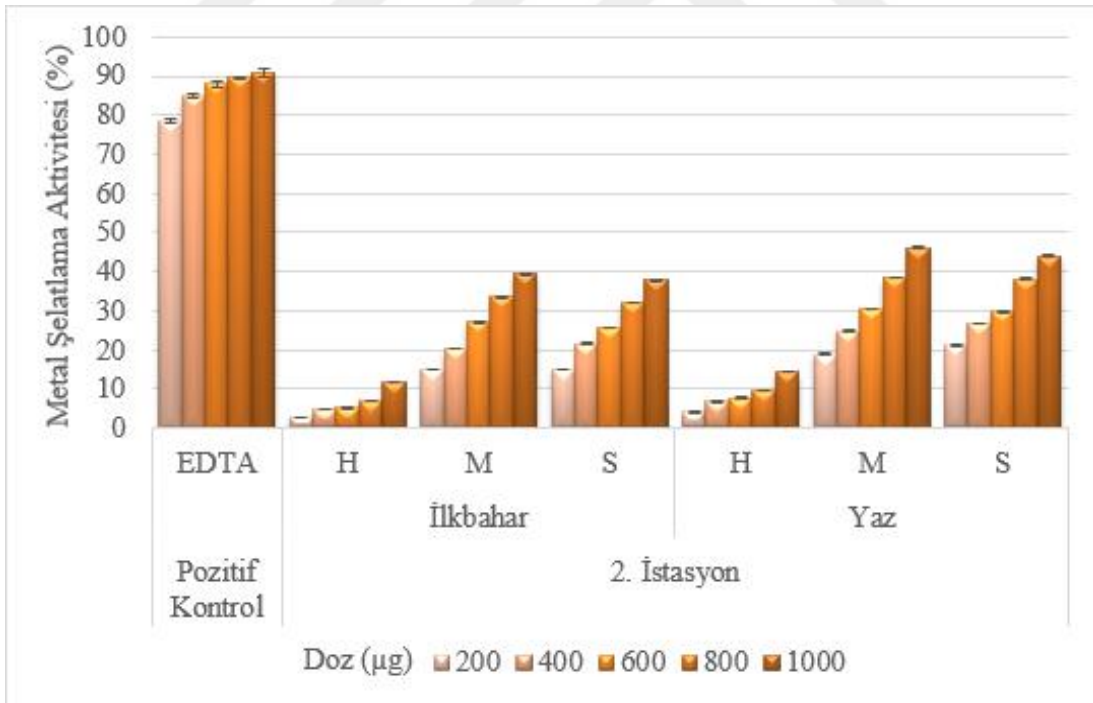
Şekil 4.48. İlkbahar örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları. EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



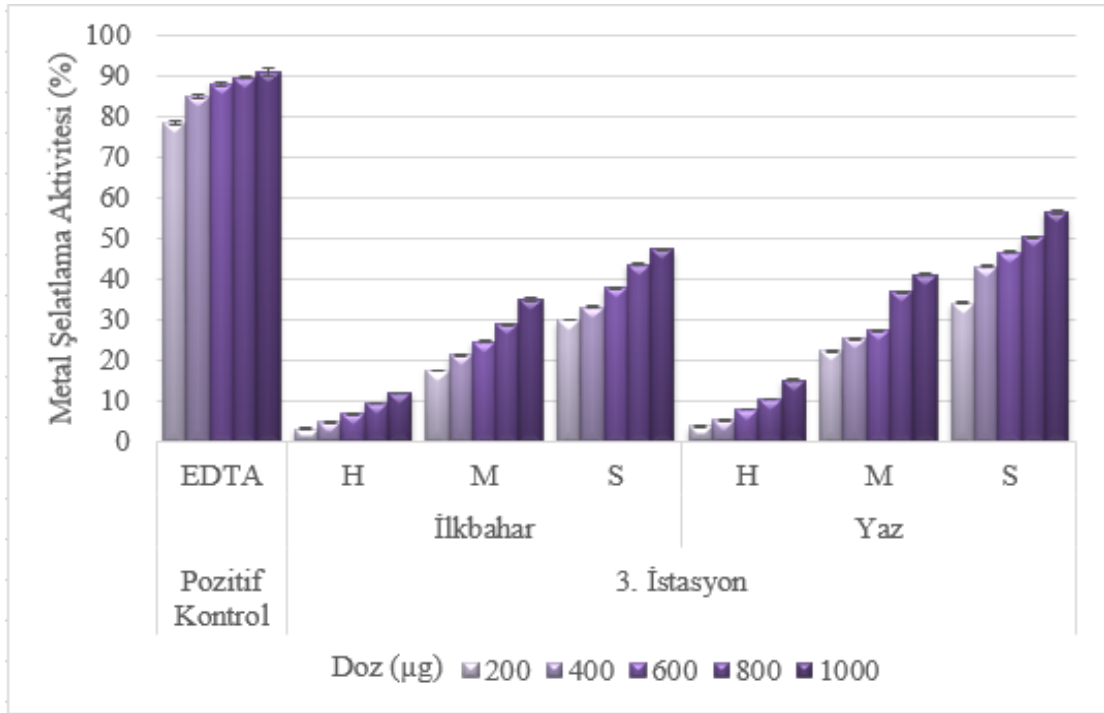
Şekil 4.49. Yaz örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları. EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.50. 1. İstasyon örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları. EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.51. 2. İstasyon örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları. EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.52. 3. İstasyon örneklerinin metal şelatlama testi sonuçları. EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

4.2.7. Toplam Antioksidan Aktivite Testi Sonuçları

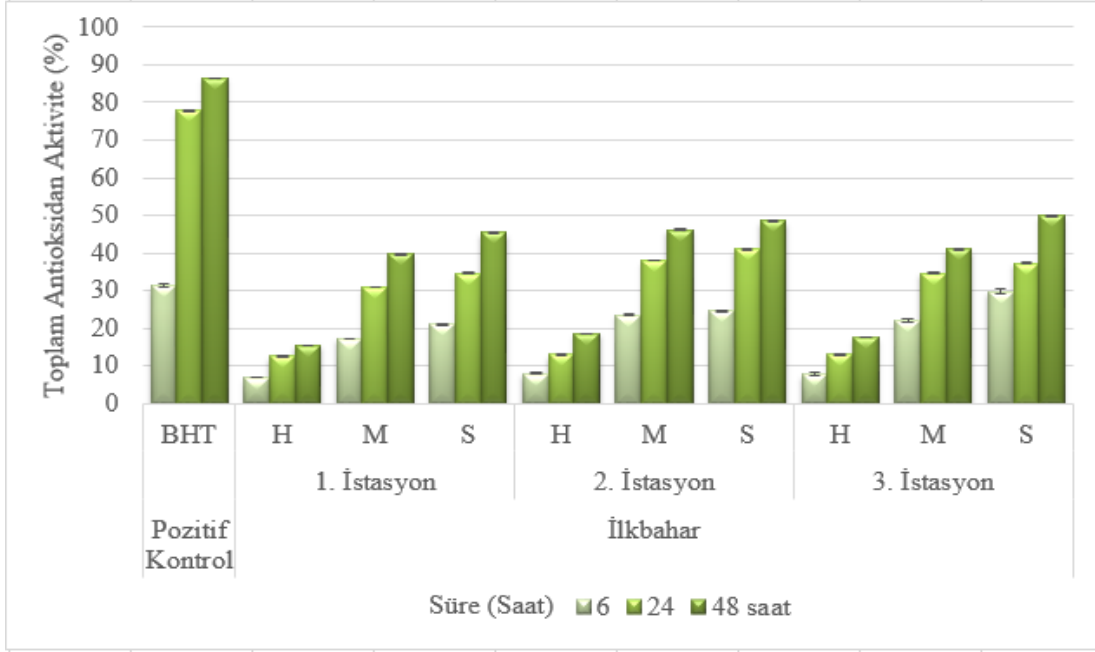
A. nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi Çizelge 4.13 ve Şekil 4.53-4.57’de verilmiştir.

Yapılan mevsimsel karşılaştırmalar sonucunda, yaz mevsiminde toplanan örneklerin toplam antioksidan aktivitesinin anlamlı bir farka sahip olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Bununla birlikte, istasyonlar arasında istatistiksel bir fark saptanamamış ve ekstraktların toplam antioksidan aktiviteleri (%) üzerinde lokasyon değişimlerinin etkili olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$). Toplam antioksidan aktivitesi en yüksek su ekstraktlarının, en düşük ise hekzan ekstraktlarının olduğu saptanmıştır (Şekil 4.53 ve 4.54). Test edilen bütün *A. nobilis* subsp. *sipylea* ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitelerinin zamana bağlı olarak anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.13) (Şekil 4.55, 4.56, 4.57).

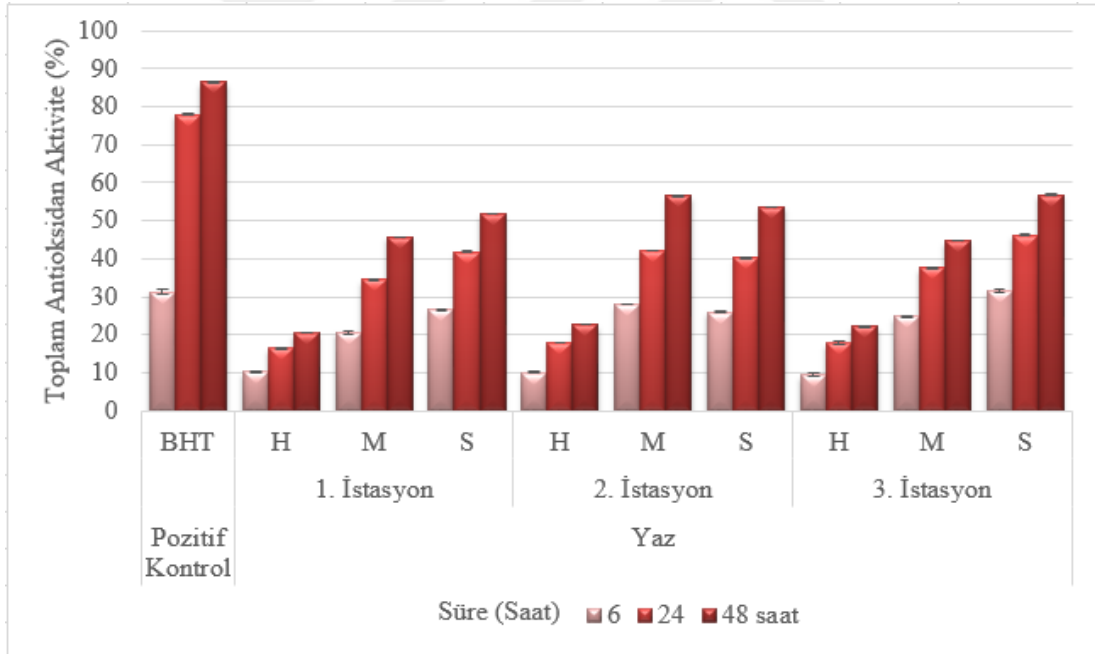
Çizelge 4.13. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ekstraktlarının toplam antioksidan aktivite sonuçları

Uygulama		Toplam Antioksidan Aktivite (%)				
		(Ort±SS)				
		Süre (Saat)				
		6	24	48		
İlkbahar	Pozitif Kontrol	BHT	31,32±0,48 ^{a,C}	77,92±0,21 ^{a,B}	86,46±0,06 ^{a,A}	
	1. İstasyon	H	6,84±0,08 ^{d,B}	12,49±0,14 ^{g,A}	15,47±0,10 ^{f,A}	
		M	17,17±0,15 ^{c,C}	30,83±0,07 ^{e,B}	39,61±0,13 ^{d,A}	
		S	20,99±0,21 ^{b,C}	34,65±0,07 ^{d,B}	45,40±0,13 ^{c,A}	
	2. İstasyon	H	7,95±0,13 ^{d,C}	13,12±0,21 ^{g,B}	18,54±0,10 ^{e,A}	
		M	23,53±0,33 ^{b,C}	37,95±0,12 ^{d,B}	46,23±0,06 ^{c,A}	
		S	24,58±0,28 ^{b,C}	41,02±0,14 ^{c,B}	48,51±0,06 ^{c,A}	
	3. İstasyon	H	7,81±0,28 ^{d,C}	12,95±0,07 ^{g,B}	17,55±0,07 ^{f,A}	
		M	21,86±0,43 ^{b,C}	34,64±0,18 ^{d,B}	40,95±0,10 ^{d,A}	
		S	29,79±0,51 ^{a,C}	37,35±0,12 ^{d,B}	49,85±0,06 ^{c,A}	
	Yaz	1. İstasyon	H	10,24±0,10 ^{d,C}	16,38±0,12 ^{f,B}	20,44±0,11 ^{e,A}
			M	20,58±0,28 ^{b,C}	34,48±0,25 ^{d,B}	45,74±0,10 ^{c,A}
S			26,53±0,16 ^{a,C}	41,82±0,18 ^{c,B}	51,83±0,06 ^{b,A}	
2. İstasyon		H	10,11±0,18 ^{d,C}	18,03±0,07 ^{f,B}	22,71±0,10 ^{e,A}	
		M	27,97±0,00 ^{a,C}	42,18±0,14 ^{c,B}	56,49±0,06 ^{b,A}	
		S	26,02±0,28 ^{a,C}	40,21±0,18 ^{c,B}	53,63±0,10 ^{b,A}	
3. İstasyon		H	9,42±0,47 ^{d,C}	17,84±0,30 ^{f,B}	22,16±0,11 ^{e,A}	
		M	24,88±0,28 ^{b,C}	37,60±0,12 ^{d,B}	44,69±0,10 ^{c,A}	
		S	31,45±0,55 ^{a,C}	46,21±0,14 ^{b,B}	56,87±0,04 ^{b,A}	

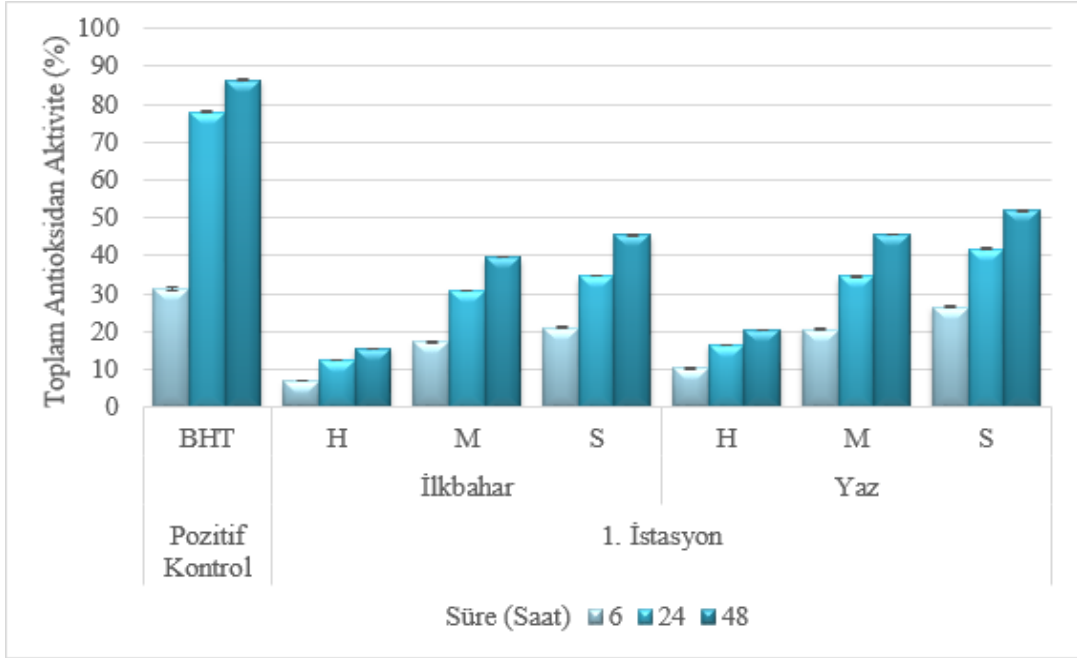
BHT: Bütil hidroksi toluen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı. Değerler ortalama±standart sapma (Ort±SS) şeklinde verilmiştir. a, b, c, d: Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). A, B, C: Aynı satır içerisinde farklı harfler ile belirtilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)



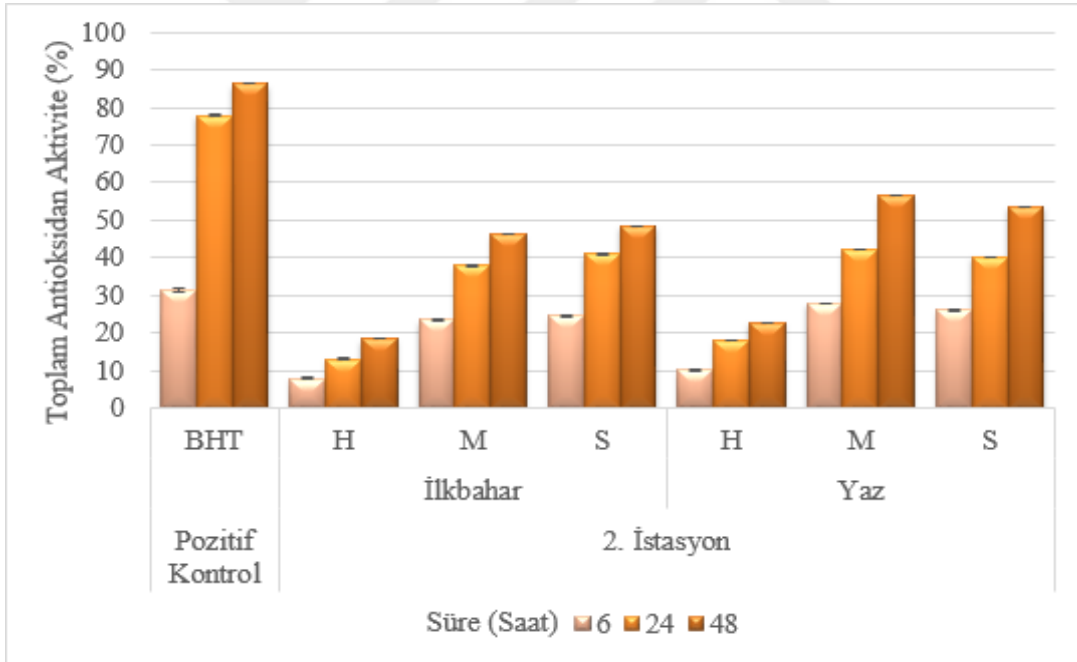
Şekil 4.53. İlkbahar örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları. BHT: Bütül hidroksi tolueen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



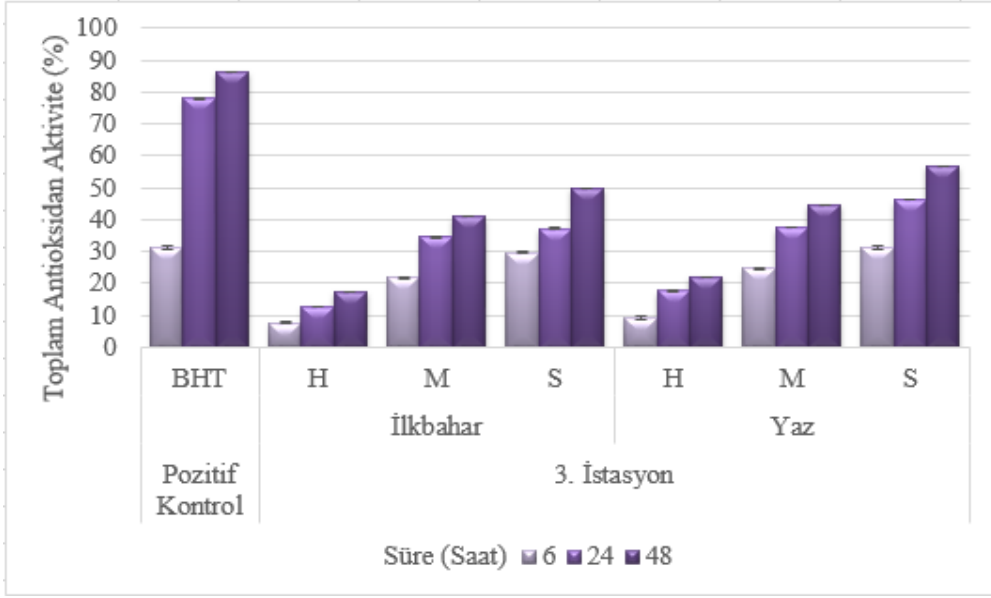
Şekil 4.54. Yaz örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları. BHT: Bütül hidroksi tolueen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.55. 1. İstasyon örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.56. 2. İstasyon örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı



Şekil 4.57. 3. İstasyon örneklerinin toplam antioksidan aktivite testi sonuçları. BHT: Bütil hidroksi tolüen, H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

4.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.3.1. Agar Disk Difüzyon Testi Sonuçları

A. nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının çeşitli patojen bakteri ve maya suşlarına karşı antimikrobiyal etkilerinin test edildiği agar disk difüzyon testi sonuçları Çizelge 4.14’de verilmiştir.

Yapılan çalışmada, *A. nobilis* subsp. *sipylea* ekstraktlarının Gram (+) ve Gram (-) bakteriler ile mayalara karşı farklı derecelerde etki gösterdikleri saptanmıştır (Çizelge 4.14). Test edilen hekzan ekstraktlarının (500-1000 µg/disk) *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* ve *Candida tropicalis* mikroorganizmaları üzerinde zayıf etkiye (inhibisyon bölge çapı 8-10 mm) sahip olduğu, diğer test edilen mikroorganizmalara karşı ise etki göstermediği tespit edilmiştir. Metanol ekstraktlarının (İ.3.M ve Y.1.M) da özellikle *Enterococcus faecalis* ve *Escherichia coli* (ATCC) bakterilerine karşı etki (10-12 mm) gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte, su ekstraktlarının *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* (ATCC), *E. coli* (NRRL) ve *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı farklı derecelerde etkili (10-16 mm) olduğu belirlenmiştir. Böylece, test edilen ekstraktlar arasında antimikrobiyal aktivitesi en yüksek su ekstraktının olduğu söylenebilir (Çizelge 4.14).

Agar disk difüzyon testi sonuçlarına bakıldığında, *A. nobilis* subsp. *sipylea* ekstraktlarının çeşitli patojen Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı zayıf-orta derecede antimikrobiyal etki gösterdiği; mayalara karşı ise etkisiz-zayıf etkili olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.14. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ekstraktlarının agar disk difüzyon testi sonuçları

Uygulama	Doz (µg/disk)	İnhibisyon Bölge Çapı (mm)								
		Bakteriler						Mayalar		
		Gram (+)			Gram (-)					
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Escherichia coli</i> (NRRL B-3704)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 10145)	<i>Proteus vulgaris</i> (ATCC 13315)	<i>Candida albicans</i> (ATCC 60193)	<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13803)	
İ.1.H	250	0	0	0	0	0	8	0	0	8
	500	0	0	0	0	0	8	0	0	8
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	8
İ.1.M	250	0	0	0	8	0	0	0	8	0
	500	0	8	8	0	0	0	8	8	0
	1000	0	8	8	8	0	0	0	8	8
İ.1.S	250	8	8	0	8	0	8	0	10	0
	500	10	0	0	0	8	0	8	10	8
	1000	12	0	0	0	8	0	8	8	8
İ.2.H	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	8	0	8	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	10	0	8	0
İ.2.M	250	0	8	0	0	0	10	8	8	0
	500	0	0	0	8	0	8	8	8	0
	1000	0	0	8	8	0	8	0	0	0
İ.2.S	250	12	8	0	8	0	0	0	0	8
	500	14	8	0	0	0	0	0	0	8
	1000	16	0	0	0	0	0	0	0	8
İ.3.H	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	8	0	0	0	0	10	0	8	0
	1000	8	0	0	0	8	10	0	8	0
İ.3.M	250	0	10	0	10	8	0	8	0	0
	500	0	12	0	10	8	0	8	0	8
	1000	0	12	0	10	0	0	8	0	0
İ.3.S	250	0	8	0	10	8	8	8	0	0
	500	0	10	0	12	10	8	0	0	0
	1000	0	10	0	10	10	8	8	0	0
Y.1.H	250	0	8	0	8	8	0	0	0	0
	500	0	8	0	8	0	8	8	8	0
	1000	8	8	0	8	8	0	8	0	0
Y.1.M	250	0	10	0	10	8	0	0	0	0
	500	0	10	0	10	8	0	0	0	0
	1000	0	10	0	10	0	0	0	0	0
Y.1.S	250	0	12	0	8	0	0	0	0	0
	500	8	10	0	10	8	8	8	0	0
	1000	0	10	0	8	8	0	0	0	0
Y.2.H	250	0	0	0	0	0	0	8	0	0
	500	8	0	0	0	8	0	8	0	0
	1000	10	0	8	0	0	8	10	8	0
Y.2.M	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	8	0	0	8	0	0
Y.2.S	250	0	0	0	8	0	0	8	0	0
	500	0	0	0	8	0	8	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	8	0	0	0

Çizelge 4.14. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ekstraktlarının agar disk difüzyon testi sonuçları (devamı)

Uygulama	Doz (µg/disk)	İnhibisyon Bölge Çapı (mm)									
		Bakteriler						Mayalar			
		Gram (+)			Gram (-)						
		<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Escherichia coli</i> (NRRL B-3704)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 10145)	<i>Proteus vulgaris</i> (ATCC 13315)	<i>Candida albicans</i> (ATCC 60193)	<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13803)	
Y.3.H	250	0	0	8	0	0	0	8	0	0	
	500	0	8	0	0	0	8	8	8	0	
	1000	0	8	0	8	8	10	8	8	0	
Y.3.M	250	0	8	0	0	8	0	0	0	0	
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1000	8	0	0	0	8	0	8	8	0	
Y.3.S	250	0	8	0	0	0	0	0	0	0	
	500	0	8	0	0	8	0	0	0	0	
	1000	0	0	0	0	10	0	0	0	0	
Kontrol	G	10	24	20	26	20	22	16	22	-	-
	F	25	-	-	-	-	-	-	16	16	
	D		0	0	0	0	0	0	0	0	0

Pozitif kontrolde bakteriler için gentamisin (G), mayalar için flukonazol (F) antibiyotikleri; negatif kontrolde dimetilsülfoksit (D) kullanıldı. İ: İlkbahar, Y: Yaz; 1: 1. İstasyon, 2: 2. İstasyon, 3: 3. İstasyon; H: Hekzan ekstraktı, M: Metanol ekstraktı, S: Su ekstraktı

4.3.2. MİK Testi Sonuçları

A. nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının farklı patojen mikroorganizmalara karşı etkisinin araştırıldığı minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) testi sonuçları Çizelge 4.15’de gösterilmiştir.

MİK testi sonuçlarına göre, test edilen bitki ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının (5-40 mg/mL) çeşitli Gram (+) ve Gram (-) bakteriler ile mayaları inhibe edici özellikte olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, genel olarak ilkbahar örneklerinin daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip oldukları söylenebilir (Çizelge 4.15). MİK değerleri karşılaştırıldığında, sonuçların istasyonlara bağlı olmaksızın değişebildiği gözlenmektedir. Ayrıca, Gram (+) bakterilere karşı hekzan ve metanol ekstraktlarının daha etkili olduğu; Gram (-) bakteriler için ise belli bir ekstraktın etkili olduğunu söylemenin mümkün olmadığı şeklinde yorum yapılabilir. Bununla birlikte, hekzan ekstraktının metanol ve su ekstraktına göre daha yüksek antifungal etkiye sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ekstraktlarının minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) sonuçları

Uygulama	MİK (mg/mL)									
	Bakteriler						Mayalar			
	Gram (+)			Gram (-)						
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Escherichia coli</i> (NRRL B-3704)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 10145)	<i>Proteus vulgaris</i> (ATCC 13315)	<i>Candida albicans</i> (ATCC 60193)	<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13803)		
İ.1.H	10	20	20	20	20	10	20	5	5	
İ.1.M	20	20	20	20	20	10	20	20	20	
İ.1.S	40	20	40	40	>40	20	>40	20	10	
İ.2.H	20	10	20	20	20	10	20	5	10	
İ.2.M	10	5	10	20	10	20	20	10	5	
İ.2.S	40	20	40	40	40	20	40	5	10	
İ.3.H	>40	>40	5	40	40	40	40	10	5	
İ.3.M	>40	>40	20	40	20	20	40	10	10	
İ.3.S	40	>40	40	20	20	20	20	20	20	
Y.1.H	>40	>40	40	>40	>40	40	40	20	10	
Y.1.M	40	40	40	40	20	20	>40	20	20	
Y.1.S	>40	40	40	>40	20	20	20	20	20	
Y.2.H	>40	>40	20	>40	40	40	40	10	10	
Y.2.M	>40	40	20	20	20	10	20	20	10	
Y.2.S	>40	20	40	20	>40	10	40	20	20	
Y.3.H	>40	>40	20	>40	>40	20	40	10	5	
Y.3.M	>40	>40	10	40	>40	10	40	10	10	
Y.3.S	>40	>40	20	>40	40	10	20	10	20	
Kontrol	G	1,56 .10 ⁻⁴	1,25.10 ⁻³	1,56 .10 ⁻⁴	1,56.10 ⁻⁴	1,56.10 ⁻⁴	1,56 .10 ⁻⁴	1,56.10 ⁻⁴	-	-
	A	>1,28.10 ⁻¹	1,28. 10 ⁻¹	2.10 ⁻³	>1,28.10 ⁻¹	1,6. 10 ⁻²	>1,28.10 ⁻¹	3,2. 10 ⁻²	-	-
	F	-	-	-	-	-	-	-	4.10 ⁻²	2.10 ⁻²

Kontrol amacıyla bakteriler için gentamisin (G) ve ampisilin (A); mayalar için ise flukonazol (F) antibiyotikleri kullanıldı. MİK değerleri mg/mL olarak verildi. (-) işareti test edilmediğini göstermektedir

Tıbbi bitki ekstraktlarının insan hastalıklarının tedavisinde kullanımı, son yıllarda büyük bir artış gösteren eski bir uygulamadır (Oyeyemi ve Bakare, 2013). Bitkilerin sahip oldukları tıbbi özellikler, metabolizmaları sonucunda ürettikleri sekonder metabolitlerden kaynaklanmaktadır. Çok çeşitli biyolojik aktiviteye sahip bu sekonder metabolitler değerli bileşikler olup, gündelik yaşamda antimitojen ve antikanserojen olarak kullanımı söz konusudur. Bununla birlikte; polifenoller, flavanoller, alkaloidler ve taninler gibi bitkilerde doğal olarak bulunan bu fitokimyasalların yüksek konsantrasyonlarda kromozom hasarına neden olduğu ve aynı kimyasalların düşük dozlarının antijenotoksik ajan olarak rol oynayabileceğine dair çalışmalar mevcuttur. Moğolistan'da özellikle zehirlenmelere karşı kullanılan *Leptopyrum fumarioides* bitkisinin metanol ekstraktı, diklorometan fraksiyonu ve bu fraksiyondan izole edilen bileşikler karışımının DNA hasar seviyesini arttırdığı bildirilmiştir (Boldbaatar ve ark., 2014). Bu çalışma kapsamında da, *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin genotoksik potansiyeli hem *in vivo* (*Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizi) hem de *in vitro* (DNA cleavage testi) olarak test edilmiştir. *Tradescantia* stamen tüyü mutasyon analizinde uygulama süresinin artışının (özellikle metanol ekstraktında) mutasyon oluşumunu indüklediği belirlenmiş; ancak test edilen dozun (1 mg/mL) anlamlı bir genotoksik etkiye sebep olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.2 ve 4.3). Bu çalışmada, uygulama süresinin genotoksikiteyi etkileyebileceği ön plana çıkmaktadır. Bununla birlikte, DNA cleavage testinde sadece yaz mevsimine ait 1. istasyon örneklerinin metanol ekstraktının DNA'da kırılmaya yol açtığı belirlenmiştir. Bunun nedeninin, örneklerin toplandığı yerin çok yakınında tarım arazisinin bulunması ve buna bağlı olarak burada pestisit türevi zirai ilaçların kullanımına bağlı bir kontaminasyon olabileceği düşünülmektedir.

Prunus avium (kiraz) bitkisi yaprağından elde edilen farklı ekstraktların (etanol, metanol, etil asetat, sıcak su ve soğuk su) 200 ve 400 µg/mL dozlarının oksidatif DNA hasarına karşı koruma aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, en güçlü koruma aktivitesinin metanol ile etanol ekstraktlarına ait olduğu ve koruyucu etkinin yüksek dozda daha çok arttığı saptanmıştır (Takım, 2010). Benzer bir çalışmada, *Lantana camara* (ağaç minesini) bitkisi yapraklarının sulu ekstraktının hidrojen peroksit (H_2O_2) ve ultraviyole ışığı (UV) ile indüklenmiş DNA hasarına karşı yüksek koruyucu etki gösterdiği ve bu ekstraktın fenolik madde bakımından zengin olduğu bildirilmiştir (Kalita ve ark., 2012). Bu çalışmada ise, *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin test edilen bütün ekstraktlarının belirli oranlarda DNA'yı koruduğu ve en yüksek koruma aktivitesinin metanol ve su ekstraktlarında görüldüğü tespit edilmiştir (Şekil 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12). Ayrıca, bu

ekstraktların toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları ile *in vitro* antioksidan aktivitelerinin de hekzan ekstraktına göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

Morinda citrifolia bitkisinin yapraklarından elde edilen sulu ekstraktın H₂O₂ (%7)'nin neden olduğu oksidatif hasara karşı koruma aktivitesinin araştırıldığı *Allium cepa* testinde, bitkinin 15 g/L dozunun kromozomal anomali yüzdesini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Elde edilen verilerden *M. citrifolia* bitkisinin sulu ekstraktının antimitotik ve antigenotoksik etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Sreeranjini ve Siril, 2011). Bu çalışmada *Allium cepa* kök meristematik hücre testi kapsamında *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* ekstraktlarıyla yapılan testler sonucunda da, ekstraktların antigenotoksik aktivitesi su>metanol>hekzan ekstraktı şeklinde sıralanmıştır (Çizelge 4.5 ve 4.6).

DNA hasarı indüksiyonu (özellikle oksidatif hasar) kanserin yanı sıra erken yaşlanma, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi diğer dejeneratif süreçlerin gelişiminde çok önemli bir basamaktır (Finkel ve Holbrook, 2000). Tıbbi bitkiler, kanser oluşumunun erken safhalarında engellenmesi veya tersine çevrilmesi için etki gösterebilen biyolojik olarak etkili bileşikler içerir (Lippman ve ark., 1994). Bununla birlikte, tıbbi bitkilerin sekonder metabolit içeriklerinin mevsimsel olarak değiştiği ve buna bağlı olarak bitkilerin tedavi edici özelliklerinin de değişebileceği yapılan birçok bilimsel araştırma sonucu ispatlanmıştır. Örneğin; bitki uçucu yağ bileşenlerinin büyüme mevsimi boyunca ritmik olarak arttığı ve kışa doğru istikrarlı bir düşüş gösterdiği; dolayısıyla en verimli toplama zamanının yazın son zamanları olduğu önerilmiştir. Buna karşılık, diğer araştırmacılar uçucu yağların eldesi için en doğru zamanın kışın olacağı görüşündedir. Ayrıca, mevsimsel değişim sadece uçucu yağlar üzerinde etkili olmamakla birlikte; polifenoller, flavonoidler, glikozitler, alkaloidler gibi değerli bileşenleri de etkilemektedir. Elde edilen veriler neticesinde, belirli sekonder metabolitlerin eldesinde verimli hasat zamanı olarak genel bir kural bulunmamaktadır (Soni ve ark., 2015). Bu konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada, üç farklı hasat zamanında (mayıs, temmuz ve eylül) toplanan *Camellia sinensis* (çay) yapraklarındaki toplam fenolik madde içerikleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, fenolik madde içeriği sırasıyla temmuz (80,69 µg/mg), eylül (62,88 µg/mg) ve mayıs (59,44 µg/mg) şeklinde olduğu belirlenmiştir (Anesini ve ark., 2008). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla da uyumlu olarak başka bir çalışmada, su stresinin fenoliklerin birikimini teşvik edebileceği hipotezi ileri sürülmektedir (Deshmukh, 2012). Bu çalışmada, *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin çeşitli ekstraktları ile yapılan toplam fenolik madde içeriği testi sonuçları karşılaştırıldığında da benzer sonuçlar görülmektedir. Yaz mevsimine ait örneklerin hekzan ekstraktında 19,33-24,64 mg GAE/g

ekstrakt, metanol ekstraktında 52,19-65,80 mg GAE/g ekstrakt ve su ekstraktında 55,43-65,16 mg GAE/g ekstrakt fenolik madde içerdiği saptanmıştır. Bununla birlikte, ilkbahar mevsimine ait örneklerin hekzan ekstraktında 14,41-19,20 mg GAE/g ekstrakt, metanol ekstraktında 42,38-53,05 mg GAE/g ekstrakt ve su ekstraktında 50,36-58,83 mg GAE/g ekstrakt fenolik madde tespit edilmiştir. Elde edilen bu değerler arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p < 0,05$) (Çizelge 4.7).

Biyolojik sistemlerde doğal antioksidanların koruyucu etkisi dikkat çekmiştir. Yapılan çalışmalarda bazı tıbbi bitkilerin serbest radikal giderici ya da antioksidan etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Japon kızılçamı olarak da bilinen *Pinus densiflora* ağacının kabuğundan elde edilen su ekstraktının toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivitesi ve DNA hasarına karşı koruma aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, toplam fenolik madde içeriğinin 211,32 mg tannik asit/g ekstrakt olduğu ve *P. densiflora* bitkisi su ekstraktının doğal bir antioksidan olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda, güçlü DNA koruma aktivitesi (1 mg/mL) gösterdiği de vurgulanmıştır (Jiang ve ark., 2012). Bu çalışmada test edilen *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* su ekstraktlarından hiçbirinde bu kadar fazla miktarda fenolik madde tespit edilememekle birlikte, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Örneğin; yaz mevsimine ait 3. İstasyon örneğinin su ekstraktının 65,16±0,40 mg GAE/g ekstrakt fenolik madde içerdiği ve 1000 µg dozunun β-karoten/linoleik asit testinde %62,86, metal şelatlama aktivite testinde %56,54, toplam antioksidan aktivite testinde de %56,87 oranında antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7, 4.10, 4.12 ve 4.13).

Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler insan diyetinin önemli bir parçasıdır. Meyve, sebze ve içecekler fenolik bileşiklerin başlıca kaynaklarıdır. Günümüzde bu bileşikler antioksidan özelliklerinden dolayı önemli derecede ilgi çekmektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi yapısına, özellikle hidroksil gruplarının sayısına ve aromatik halkalar üzerindeki konumlarına bağlıdır (Balasundram ve ark., 2006). Ayrıca, fenolik bileşenlerin biosentezinin güneş ışığıyla uyarıldığı bilinmektedir. Bu nedenle, bitkilerdeki fenolik madde içeriklerinin değişebildiği söylenebilir. Bu bilgilere dayanarak, ülkemizde daha serin ve daha sıcak geçen aylarda hasat edilen bitkilerin toplam fenolik seviyesindeki farklılıklar, sadece sıcaklık etkisiyle değil; aynı zamanda gün uzunluğu ve güneş ışığının da etkisiyle meydana gelmektedir (Harbowy ve Balentine, 1997). Bu çalışma kapsamında yapılan *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı tayini sonuçları değerlendirildiğinde, benzer şekilde ekstraktların hem fenolik hem flavonoid içeriklerinin yaz mevsiminde daha fazla olduğu ve bu farklılığın anlamlı olduğu

saptanmıştır ($p < 0,05$).

Achillea millefolium bitkisinin metanolik ve sulu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin test edildiği bir çalışmada, metanolik ekstraktların daha güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu ve toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivitenin pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (Eghdami ve Sadeghi, 2010). Bu çalışmada da aynı testler sonucu elde edilen sonuçlara göre; *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin metanol ve su ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği bakımından farklı olmadığı ve yüksek miktarda fenoliğe sahip iki ekstraktın antioksidan aktivitelerinin de yüksek olduğu, ancak su ekstraktının antioksidan etkisinin önemli derecede daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$). Bununla birlikte *Humulus lupulus* (şerbetçi otu) bitkisi ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin araştırıldığı benzer bir çalışmada, toplam fenolik ve flavonoid madde içeriklerinin antioksidan aktivitesi (%) ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (Psenakova ve ark., 2010).

Farklı büyüme dönemlerinde toplanan *Astragalus onobrychis* L. subsp. *chlorocarpus* (geven) bitkisi yapraklarının antioksidan enzim aktivitesi ve toplam antioksidan kapasitesi mevsimsel olarak araştırılmıştır. Çalışma sonunda, mevsimsel değişimlerin enzimatik faaliyetler üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Farklı mevsimlerde farklı antioksidan enzimlerin seviyesinde artış olduğu saptanmıştır. *A. onobrychis* L. subsp. *chlorocarpus* yaprak ekstraktının toplam antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu, ancak bu aktivite üzerinde mevsimsel bir etkinin olmadığı tespit edilmiştir (Dragoljub ve ark., 2013). Bununla birlikte bu çalışmada, *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin toplam antioksidan aktivitesinin mevsim değişiminden etkilendiği; ancak aynı örneklerin test edildiği β -karoten/linoleik asit ve CUPRAC testlerinde önceki çalışmada olduğu gibi mevsimin anlamlı bir fark yaratmadığı gözlenmiştir.

Antioksidan gücü seçilen yöntemle, konsantrasyona ve incelenen antioksidanların doğası ile fiziko-kimyasal özelliklerine bağlıdır. Yapılan bu çalışmada, aynı örneklerin konsantrasyona ve ölçülen antioksidan parametresine bağlı olarak farklı antioksidan aktivite (%) değerleri sergilediği tespit edilmiştir. Buna benzer durumlarda, yanlış sonucu önlemek için çoklu konsantrasyon ölçümleri yapmak önemlidir. *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin antioksidan kapasitesinin farklı test yöntemleriyle araştırıldığı bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçların genel olarak birbiriyle tutarlı olduğu; ancak bazı farklılıkların da görüldüğü tespit edilmiştir. Örneğin; yapılan bazı antioksidan aktivite testlerinde (β -karoten/linoleik asit ve CUPRAC testi) ekstraktların antioksidan kapasiteleri üzerine mevsimsel bir fark gözlenmezken, diğer tetlerde yaz mevsimi örneklerinin

antioksidan aktivitesinin (%) anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde, DPPH radikali giderme aktivitesi testinde lokasyon değişimleri anlamlı bir fark oluştururken, diğer testlerde bu etkinin önemsiz olduğu sonucuna varılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi, antioksidan aktivite değerlendirmesinde farklı yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Bu çalışma da, test edilen örneklerin antioksidan aktivitesini belirleyebilmek için tek bir test yönteminin yeterli olmadığını göstermektedir. Çalışmada uygulanan farklı antioksidan aktivite testleri bu amaç için seçilmiş iyi bir kombinasyon olup, yapılacak olan benzer çalışmalar için de önerilebilir.

Ekstrakt eldesinde farklı ekstraksiyon yöntemlerinin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin özellikle infüzyon ve dekoksasyon ile elde edilen ekstraktlarının daha fazla fenolik madde içerdiği ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Anlas ve ark., 2017). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ekstrakt eldesi için soksilet düzeneği kullanılmıştır (Şekil 3.8a). Dolayısıyla, ekstraktların elde edilme yöntemlerinin de bitkilerin toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktivite özellikleri üzerinde rol oynayabileceği sonucu çıkarılmaktadır.

Bir fungus türünden (*Hericium erinaceus*) elde edilen çeşitli ekstraktların *in vitro* antioksidan aktivite seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, farklı polariteye sahip kimyasalların etkisi karşılaştırılmıştır. Çalışmada hekzan, ksilen, kloroform, eter, etil asetat, aseton, etanol ve distile su çözücü olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, bütün ekstraktların DPPH ve süperoksit anyonu serbest radikallerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, ekstraktların antioksidan kapasitelerinin kullanılan çözücünün çeşidine ve doza bağlı olduğu saptanmıştır. Ayrıca, en güçlü antioksidatif etkiye etanol ekstraktının sahip olduğu da bildirilmiştir (Jiang ve ark., 2016). Bu çalışma kapsamında da *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinden ekstraktların eldesinde farklı çözücüler (hekzan, metanol ve su) kullanılmıştır. Ekstraktların genotoksik, antigenotoksik ve antioksidan aktivite çalışmaları sonucunda, biyolojik aktivitelerin ekstrakt çeşidine bağlı olarak değişebildiği ve genellikle bu değişimin doza bağlı olduğu görülmüştür.

Yaprakları sebze olarak tüketilen ve bazı bulaşıcı hastalıkların tedavisinde antibiyotik olarak kullanılan Asteraceae familyasından *Acmella uliginosa* türünün antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada bitkinin diklorometan, metanol ve sulu ekstraktları test edilmiştir. Çalışma sonucunda, *A. uliginosa* türünün çeşitli bakterilere karşı geniş spektrumlu (MİK= 0,625-5 mg/ml) aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada en etkili ekstraktların diklorometan ve metanol ekstraktları olduğu bildirilmiştir

(Lagnika ve ark., 2016). *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının farklı patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite çalışmalarında ise, MİK değerlerinin ≥ 5 mg/mL olduğu ve agar disk difüzyon testinde de inhibisyon bölge çaplarının en fazla 16 mm olarak ölçüldüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.14 ve 4.15). Kuete (2010)'ye göre, bir bitki ekstraktının antibakteriyel aktivitesi MİK <100 $\mu\text{g/mL}$ ise önemli derecede yüksek, $100 \leq \text{MİK} \leq 625$ $\mu\text{g/mL}$ ise orta dereceli ve MİK >625 $\mu\text{g/mL}$ olduğunda ise zayıf olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, disk difüzyon testi sonuçlarında inhibisyon bölge çapı <9 mm ise inaktif; 9-12 mm ise kısmen aktif; 12-18 mm ise aktif; >18 mm ise yüksek derecede aktif olarak kabul edilmektedir (Cerqueira ve ark., 2007). Bu değerler dikkate alınarak bir değerlendirme yapıldığında, *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin MİK testi sonuçlarına göre zayıf antimikrobiyal etkiye sahip olduğu; agar disk difüzyon testi sonuçlarına göre ise kısmen aktif-aktif olduğu söylenebilir (Çizelge 4.14 ve 4.15).

Myrcia myrtifolia bitkisinin antimikrobiyal etkisinin mevsimsel değişime bağlı olarak belirlenmeye çalışıldığı bir araştırmada, birbirinden yaklaşık olarak 100 m uzaklıkta iki örnekleme alanı seçilmiştir. Toprak kompozisyonu, nem, ışık şiddeti ve diğer çevresel faktörlerin etkisini en aza indirmek için örnekleme alanlarının birbirine yakın seçildiği belirtilmiştir. *M. myrtifolia* bitkilerinin yaprakları her ay (Mayıs 2002-Aralık 2003) sabah saatlerinde toplanmıştır. Çalışma sonunda *M. myrtifolia* yaprak uçucu yağının kompozisyonunda mevsime bağlı olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiş olup, broth mikrodilüsyon ve agar difüzyon yöntemlerinden elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçlarının farklı olduğu tespit edilmiştir. *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin antimikrobiyal aktivite testleri sonucunda da kısmen farklı sonuçlar çıkmıştır. Bu iki deney arasında mikrobiyal büyüme, mikroorganizmaların bitki uçucu yağlarına maruz kalma şekli, yağların veya yağ bileşenlerinin çözünürlüğü, emülgatör miktarı ve kullanımı gibi pek çok faktörün değişken olduğu belirtilmiştir. Agar difüzyon yönteminde, uçucu yağ bileşenlerinin çoğunun hidrofobik yapıya sahip olması nedeniyle bu maddelerin agar ortamında homojen difüzyonunu engellediği ve bunun elde edilen sonuçlardaki farklılıklardan sorumlu olabileceği görüşüne varılmıştır (Cerqueira ve ark., 2007).

Farklı yükseltlerden (700 ve 2300 m) toplanan *A. millefolium* bitkisinin uçucu yağının antibakteriyel aktivitesinin test edildiği bir çalışmada, 2300 m yükseklikten toplanan bitki uçucu yağının test edilen bakterilere karşı daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, bu yükseltiden toplanan bitkilerin farklı bakterilere karşı değişen MİK değerlerine (12,6-112 $\mu\text{g/mL}$) sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışma

sonunda, *A. millefolium* bitkisi uçucu yağının Gram (+) ve (-) bakterilere karşı etkili olduğu; ancak bu etkinin bölgesel olarak değişebildiği belirlenmiştir (Mazandarani ve ark., 2013). Yaptığımız çalışma kapsamında da, farklı yükseltilerden (363, 440 ve 740 m) toplanan *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal etkisi araştırılmış olup test edilen patojen mikroorganizmalara karşı yükselti açısından bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 3.1, 4.14 ve 4.15).

Fitokimyasalların birçok antimikrobiyal etki mekanizması, farklı araştırmacılar tarafından önerilmiştir; ancak, etki mekanizmalarının moleküler temelleri konusunda belirsizlikler mevcuttur. Bazı fitokimyasallar, mikrobiyal büyümeyi inhibe ederek, hücresel membran pertürbasyonlarını indükleyerek, belirli mikrobik metabolik süreçlere müdahale ederek, sinyal iletiminin modülasyonunda veya gen ekspresyon yollarında görev yapabilir (Omojate ve ark., 2014). *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ile yapılan antimikrobiyal aktivite testleri sonucunda elde edilen sonuçlara göre, bazı ekstraktların belirli patojenlere karşı zayıf ya da orta dereceli etki gösterdiği belirlenmiş olup bu etkinin hangi mekanizmayla gerçekleştiğine dair bir araştırma yapılmamıştır.

Birçok literatürde, *A. millefolium* bitkisinin antibakteriyel aktivitesinin sahip olduğu terpenoidlerin ve flavonoidlerin çeşitliliğine, yaşam alanlarına ve büyüme periyoduna bağlı olduğu belirtilmektedir (Lorenzi ve Matos, 2002; Kotan ve ark., 2010; Mazandarani ve ark., 2013).

Bitkilerin toplandığı Çanakkale'nin Bayramiç İlçesi'nde önemli miktarda tarımsal üretim (elma başta olmak üzere, sırasıyla zeytin, şeftali, kiraz ve çilek) gerçekleştirilmektedir (İlgar, 2017). Buna bağlı olarak, bölgede yoğun pestisit kullanımı söz konusudur. Bu kimyasalların kendisinin ya da dönüşüm ürünlerinin toprak, hava, su ve gıdalarda bulunabilmesi mümkündür. Dolayısıyla, bu alandan toplanan bitki örneklerinin genotoksik, antigenotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin de bu durumdan etkilenmesi söz konusudur.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda sağlık ve gıda alanlarında kullanılan sentetik maddelerin neden olabileceği birçok yan etkiden dolayı, doğal kaynaklardan elde edilen maddelerin tüketimine yönelik artan bir ilgi söz konusudur.

İlaçların neden olduğu yan etkiler ve insanların alternatif tıp olarak da adlandırılan bitkilerle tedavi yoluna gitme eğilimi, bu konuyla ilgilenen bilim insanlarının dikkatini çekmiş ve çalışmaların bu yönde yoğunlaşmasına neden olmuştur.

Achillea nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin hekzan, metanol ve su ekstraktlarının genotoksik, antigenotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerine mevsim ve lokasyon değişimlerinin etkisinin araştırıldığı bu çalışma kapsamında, bitkinin özellikle su ve metanol ekstraktlarının güçlü antigenotoksik ve antioksidan özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, ekstraktların sahip olduğu biyolojik aktivitelerin mevsim, ekstrakt çeşidi, doz ve uygulama süresine bağlı olarak değişebildiği saptanmıştır. Ayrıca, çalışmada kullanılan *Allium cepa* ve *Tradescantia pallida* türlerinin *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisi ekstraktlarına karşı tepkileri farklı olmuştur. Bu test sistemlerinin genotoksik ve antigenotoksik duyarlılıklarının farklı olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışmada yaz döneminde toplanan bitkilerden elde edilen ekstraktların daha etkili olmasının nedeninin, ortam sıcaklığı ve gün ışığı vb faktörlerden etkilenen sekonder metabolit artışına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma ile *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin etki mekanizması açıklığa kavuşturulamamış olmakla birlikte; bitkinin sahip olduğu antigenotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelin kullanılan genotoksik ya da oksidatif ajanın etki tarzına bağlı olarak artan hasarın tipi ve kullanılan deneysel model sistemi gibi olası mekanizmalarla bağlantılı olduğunu söylemek mümkündür.

A. nobilis subsp. *sipylea* bitkisinin kimyası, aktif bileşenleri ve farmakolojik etkileri hakkında nadir bilgiye sahip olunması nedeniyle bu konuda *in vitro* ve *in vivo* araştırmaların yapılmasının gerekli olduğu kanısına varılmıştır.

Çalışma kapsamında elde edilen veriler ışığında, *A. nobilis* subsp. *sipylea* bitkisinin antigenotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal potansiyeli göz önüne alındığında bitkiler dünyasında ilgi uyandıracığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abay E., 2006. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel Etkilerinin Disk Difüzyon Yöntemiyle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kafkas Üniversitesi, Türkiye.
- Adıgüzel A., Özer H., Sökmen M., Güllüce M., Sökmen A., Kılıç H., Şahin F., Barış Ö., 2009. Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extract of *Nepeta cataria*. Polish Journal of Microbiology, 58 (1): 69-76.
- Akı C., Karabay Ü., 2004. Genetik Laboratuvarı Uygulama Kitabı. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Yayınları, No.38, Çanakkale.
- Akyalçın H., Arabacı T., Yıldız B., 2011. Pollen Morphology of Six *Achillea* L. Sect. *Achillea* (Asteraceae) Species in Turkey. Turkish Journal of Botany, 35: 183-201.
- Akyıl D., Oktay S., Liman R., Eren Y., Konuk M., 2012. Genotoxic and Mutagenic Effects of Aqueous Extract from Aerial Parts of *Achillea teretifolia*. Turkish Journal of Biology, 36: 441-448.
- Aleksic V., Knezevic P., 2014. Antimicrobial and Antioxidative Activity of Extracts and Essential Oils of *Myrtus communis* L.. Microbiological Research, 169: 240-254.
- Aljancic I., Vajs V., Menkovic N., Karadzic I., Juranic N., Milosavljevic S., Macura S., 1999. Flavones and Sesquiterpene Lactones from *Achillea atrata* subsp. *multifida*: Antimicrobial Activity. Journal of Natural Products, 62: 909-911.
- Alviano D.S., Alviano C.S., 2009. Plant Extracts: Search for New Alternatives to Treat Microbial Diseases. Current Pharmaceutical Biotechnology, 10 (1): 106-121.
- Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., Weil J.A., 2004. Free-radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of Selected Plant Species from the Canadian Prairies. Food Chemistry, 84: 551-562.
- Amensour M., Bouhdid S., Fernandez-Lopez J., Idaomar M., Senhaji N.S., Abrini J., 2010. Antibacterial Activity of Extracts of *Myrtus communis* against Food-Borne Pathogenic and Spoilage Bacteria. International Journal of Food Properties, 13: 1215-1224.

- Anesini C., Ferraro G.E., Filip R., 2008. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56 (19): 9225-9229.
- Anlas C., Ustuner O., Ustun Alkan F., Bakirel T., Aydogan M.N., Baykan Erel S., 2017. A Comparative Study on the Antioxidant Activities and Phenolic Contents of Different Extracts of *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* and *Alcea apterocarpa* (Fenzl) Boiss, Endemic Plants in Turkey. Fresenius Environmental Bulletin, 26 (2): 1423-1430.
- Anonim. (b.t.). http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=5011.
- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir S.E., Erçağ E., 2006, The Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity and Polyphenolic Content of Some Herbal Teas. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 57: 292-304.
- Arabacı T., 2006. Türkiye’de Yetişen *Achillea* L. (Asteraceae) Cinsinin Revizyonu. Doktora Tezi. İnönü Üniversitesi, Türkiye.
- Ardestani A., Yazdanparast R., 2007. Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of *Achillea santolina* Extracts. Food Chemistry, 104 (1): 21-29.
- Aslan A., 2002. Ege Bölgesi Bazı Halk İlaçları Üzerinde Etnofarmakognozik Bir Değerlendirme. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Türkiye.
- Aşkın Çelik T., Aslantürk Ö.S., 2006. Anti-mitotic and Anti-genotoxic Effects of *Plantago lanceolata* Aqueous Extract on *Allium cepa* Root Tip Meristem Cells. Biologia, 61 (6): 693-697.
- Ayatollahi-Moosavi S.A., Abdollahi H., Kazemipour N., 1996. Study of Anti-Dermatophyte Effect of Ten Herbal Methanolic Extract. Journal of Kerman University of Medical Sciences, 3 (3): 115-122.
- Azizi M., Chizzola R., Ghani A., Oroojalian F., 2010. Composition at Different Development Stages of the Essential Oil of Four *Achillea* Species Grown in Iran. Natural Product Communications, 5 (2): 283-290.
- Baba S.A., Malik S.A., 2015. Determination of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antimicrobial and Antioxidant Activity of A Root Extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. Journal of Taibah University for Science, 9: 449-454.

- Balasundram N., Sundram K., Samman S., 2006. Phenolic Compounds in Plants and Agri-industrial by-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.
- Ballı M., 2012. *Sideritis trojana* Bornm. ve *Sideritis athoa* Papanikolaou & Kokkini Bitkilerinden Elde Edilen Ekstraktların Ames Testi ile Mutajenik ve Antimutajenik Aktivitelerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.
- Balouiri M., Sadiki M., Ibsouda S.K., 2016. Methods for *in Vitro* Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6: 71-79.
- Barbour E.K., Al Sharif M., Sagherian V.K., Habre A N., Talhouk R.S., Talhouk S.N., 2004. Screening of Selected Indigenous Plants of Lebanon for Antimicrobial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 93: 1-7.
- Barış Ö., Güllüce M., Şahin F., Özer H., Kılıç H., Özkan H., Sökmen M., Özbek T., 2006. Biological Activities of the Essential Oil and Methanol Extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Turkish Journal of Biology*, 30: 65-73.
- Başer K.H.C., Demirci B., Demirci F., Koçak S., Akıncı Ç., Malyer H., Güleriyüz G., 2002. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Achillea multifida*. *Planta Medica Letters*, 68: 941-943.
- Baytop T., 1984. Türkiyede Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No:3255, İstanbul.
- Ben Ahmed Z., Yousfi M., Viaene J., Dejaegher B., Demeyer K., Mangelings D., Heyden Y.V., 2017. Seasonal, Gender and Regional Variations in Total Phenolic, Flavonoid, and Condensed Tannins Contents and in Antioxidant Properties from *Pistacia atlantica* ssp. Leaves. *Pharmaceutical Biology*, 55 (1): 1185-1194.
- Benedek B., Kopp B., Melzig M.F., 2007. *Achillea millefolium* L.-Is the Anti-inflammatory Activity Mediated by Protease Inhibition?. *Journal of Ethnopharmacology*, 113 (2): 312-317.
- Berdy J., 2005. Bioactive Microbial Metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58: 1-26.

- Bhandari S.R., Kwak J.H., 2015. Chemical Composition and Antioxidant Activity in Different Tissues of Brassica Vegetables. *Molecules*, 20: 1228-1243.
- Bhawya D., Anilakumar K.R., 2011. Antioxidant, DNA Damage Protection and Antibacterial Effect of *Psoralea corylifolia*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4 (2): 149-155.
- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O., 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5 (1): 9-19.
- Blois M.S., 1958. Antioxidant Determinations by the Use of A Stable Free Radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- Blumenthal M., Goldberg A., Brinckmann J., 2000. *Herbal Medicine American Botanical Council, Publ. Integrative Medicine Communications, USA.*
- Boldbaatar D. El-Seedi H.R., Findakly M., Jabri S., Javzan B. Choidash B. Göransson U., Hellman B., 2014. Antigenotoxic and Antioxidant Effects of the Mongolian Medicinal Plant *Leptopyrum fumarioides* (L): An *in Vitro* Study. *Journal of Ethnopharmacology*, 155 (1): 599-606.
- Bolton J.L., Trush M.A., Penning T.M., Dryhurst G., Monks T.J., 2000. Role of Quinones in Toxicology. *Chemical Research of Toxicology*, 13: 135-160.
- Boubaker J., Skandrani I., Bouhleb I., Ben Sghaier M., Neffati A., Ghedira K., Chekir Ghedira L., 2010. Mutagenic, Antimutagenic and Antioxidant Potency of Leaf Extracts from *Nitraria retusa*. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2283-2290.
- Boussoussa H., Khacheba I., Djeridane A., Mellah N., Yousfi M., 2016. Antibacterial Activity from *Rhanterium adpressum* Flowers Extracts, Depending on Seasonal Variations. *Industrial Crops and Products*, 83: 44-47.
- Bozkurt N.G., 2013. Sıçanlarda Fruktöz ile Oluşturulan Hipertansiyon Üzerine Civanperçemi (*Achillea millefolium*) Bitkisinin Etkileri. Doktora Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Türkiye.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995. Use of A Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology*, 28: 25-30.

- Bremer K., Jansen R.K., Karis P.O., Kallersjö M., Keeley S.C., Kim K.J., Michaels H.J., Palmer J.D., Wallace R.S., 1992. A Review of the Phylogeny and Classification of the Asteraceae. *Nordic Journal of Botany*, 12: 141-148.
- Campos C.F., Pereira B.B., Campos-Júnior E.O., Sousa E.F., Souto H.N., Morelli S., 2015. Genotoxic Evaluation of the River Paranaíba Hydrographic Basin in Monte Carmelo, MG, Brazil, by the *Tradescantia* Micronucleus. *Genetics and Molecular Biology*, 38 (4): 507-512.
- Campos C.F., Campos-Júnior E.O., Souto H.N., Sousa E.D., Pereira B.B., 2016. Biomonitoring of the Environmental Genotoxic Potential of Emissions from A Complex of Ceramic Industries in Monte Carmelo, Minas Gerais, Brazil, using *Tradescantia pallida*. *Journal of Toxicology and Environmental Health-A*, 79 (3): 123-128.
- Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sökmen A., Akpulat H.A., 2003. Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Essential Oil and Methanol Extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87: 215-220.
- Caron F., 2012. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Four Facets Tool for the Clinician. *Journal des Anti-infectieux*, 14: 186-174.
- Caunii A., Pribac G., Grozea I., Gaitin D., Samfira I., 2012. Design of Optimal Solvent Extraction of Bio-active Ingredients from Six Varieties of *Medicago sativa*. *Chemistry Central Journal*, 6: 1-8.
- Cerqueira M.D., Souza-Neta L.C., Passos M.G.V.M., Lima E.O., Roque N.F., Martins D., Guedes M.L.S., Cruz F.G., 2007. Seasonal Variation and Antimicrobial Activity of *Myrcia myrtifolia* Essential Oils. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18 (5): 998-1003.
- Chanishvili S., Badridze G., Janukashvili N., 2007. Effect of Altitude on the Contents of Antioxidants in Leaves of Some Herbaceous Plants. *Russian Journal of Ecology*, 38: 367-373.

- Chukwujekwu J.C., Van Staden J., 2014. Cytotoxic and Genotoxic Effects of Water Extract of *Distephanus angulifolius* on *Allium cepa* Linn. South African Journal of Botany, 92: 147-150.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2002. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Second Edition, M27-A2. Wayne, Pennsylvania.
- CLSI, 2004. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Guideline. CLSI document M44-A. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.
- CLSI, 2012a. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA,.
- CLSI, 2012b. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition. CLSI Document M07-A9. Wayne, Pennsylvania.
- Çetin H., 2013. Bazı *Achillea* Türleri Uçucu Yağlarının Kimyasal Bileşimlerinin ve Eser Elementlerinin Tayini. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi, Türkiye.
- Dawidowicz A.L., Wianowska D., Baraniak B., 2006. The Antioxidant Properties of Alcoholic Extracts from *Sambucus nigra* L. (Antioxidant Properties of Extracts). Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic, 39: 308-315.
- De Flora S., Izzotti A., D'Agostini F., Balansky R.M., Noonan D.M., Albin A., 2001. Multiple Points of Intervention in the Prevention of Cancer and Other Mutation Related Diseases. Mutation Research, 480-481: 9-22.
- Dej-adisai S., Parndaeng K., Wattanapiromsakul C., 2016. Determination of Phytochemical Compounds, and Tyrosinase Inhibitory and Antimicrobial Activities of Bioactive Compounds from *Streblus ilicifolius* (S Vidal) Corner. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 15 (3): 497-506.

- Demirci F., Demirci B., Gürbüz İ., Yeşilada E., Başer K.H.C., 2009. Characterization and Biological Activity of *Achillea teretifolia* Willd. and *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek Essential Oils. Turkish Journal of Biology, 33 (2): 129-136.
- Deshmukh R.N., 2012. Osmolyte Accumulation in *Sorghum bicolor* Under Water Stress. Bionano Frontier, 5 (2): 204-209.
- Diğrak M., İlçim A., Alma M.H., 1999. Antimicrobial Activities of Several Parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. Phytotherapy Research, 13: 584-587.
- Dinis, T.C.P., Maderia, V.M.C., Almeida L.M., 1994. Action of Phenolic Derivates (Acetaminophen, Salicylate and, 5-Aminosalicylate) as Inhibitors of Membrane Lipid Peroxidation and as Peroxyl Radical Scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics, 315: 161-169.
- Diplock A.T., 1997. Will the “Good Fairies” Please Prove to us that Vitamin E Lessens Human Degenerative Disease?. Free Radical Research, 26 (6): 565-583.
- Dixon R.A., Paiva N.L., 1995. Stress-induced Phenylpropanoid Metabolism. The Plant Cell, 7: 1085-1097.
- Dragoljub L.M., Budimir S.I., Stevo J.N., Olga G.C., Aleksandra M.Š., Marija D.M., Nikola D.N., 2013. Antioxidative Responses to Seasonal Changes and Chemiluminescence Assay of *Astragalus onobrychis* Leaves Extract. Central European Journal of Chemistry, 11 (2): 123-132.
- Duman H., 2000. *Achillea* L., Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Vol. 11). Edinburgh University Press, Edinburgh. 158-159.
- Durackova Z., 2010. Some Current Insights into Oxidative Stress. Physiological Research, 59: 459-469.
- Düsman E., de Almeida I.V., Coelho A.C., Balbi T.J., Düsman Tonin L.T., Vicentini V.E., 2013. Antimutagenic Effect of Medicinal Plants *Achillea millefolium* and *Bauhinia forficata* in vivo. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Article ID 893050: 6.

- Eggleston K., Zhang R., Zeckhauser R.J., 2010. The Global Challenge of Antimicrobial Resistance: Insights from Economic Analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7: 3141-3149.
- Eghdami A., Sadeghi F., 2010. Determination of Total Phenolic and Flavonoids Contents in Methanolic and Aqueous Extract of *Achillea millefolium*. *The Journal of Organic Chemistry*, 2: 81-84.
- El Bouzidi L., Abbad A., Hassani L., Fattarsi K., Leach D., Markouk M., Legendre L., Bekkouche K., 2012. Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of Wild and Cultivated Moroccan *Achillea ageratum* L.: A Rare and Threatened Medicinal Species. *Chemistry and Biodiversity*, 9 (3): 598-605.
- Emen S., Çeken B., Kızıl G., Kızıl M., 2009. DNA Damage Protecting Activity and *in Vitro* Antioxidant Potential of the Methanol Extract of *Cyclotrichium niveum*. *Pharmaceutical Biology*, 47 (3): 219-229.
- Enwa F.O., Omojate C.G., Adonu C., 2013. A Review on the Phytochemical Profile and the Antibacterial Susceptibility Pattern of Some Clinical Isolates to the Ethanolic Leaves Extract of *Moringaoleifera* Lam. (Moringaceae). *International Journal of Advanced Research*, 1 (5): 226-238.
- Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 52-67.
- Fedel-Miyasato L.E.S., Formagio A.S.N., Auharek S.A., Kassuya C.A.L. Navarro S.D., Cunha-Laura A.L., Monreal A.C.D., Vieira M.C., Oliveira R.J., 2014. Antigenotoxic and Antimutagenic Effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss Mice: A Comparative Study. *Genetics and Molecular Research*, 13 (2): 3411-3425.
- Fernandes A.S. Mazzei J.L., Alencar A.S., Evangelista H., Felzenszwalb I., 2011. Effects of *Sanionia uncinata* Extracts in Protecting against and Inducing DNA Cleavage by Reactive Oxygen Species. *Redox Report*, 16 (5): 201-207.

- Fillipini R., Piovan A., Borsarini A., Caniato R., 2010. Study of Dynamic Accumulation of Secondary Metabolites in Three Subspecies of *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, 81: 115-119.
- Finkel T., Holbrook N.J., 2000. Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing. *Nature*, 408: 239-247.
- Fiskesjö G., 1985. The *Allium* Test as Standart in Enviromental Monitoring. *Hereditas*, 102: 99-112.
- Gadano A.B., Gurni A.A., Carballo M.A., 2006. Argentine Folk Medicine: Genotoxic Effects of Chenopodiaceae Family. *Journal of Ethnopharmacology*, 103 (2): 246-251.
- Ghani A., Azizi M., Hassanzadeh-Khayyat M., Pahlavanpour A.A., 2008. Essential Oil Composition of *Achillea eriophora*, *A. nobilis*, *A. biebersteinii* and *A. wilhelmsii* from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11 (5): 460-467.
- Gharibi S., Tabatabaei B.E.S., Saeidi G., 2015. Comparison of Essential Oil Composition, Flavonoid Content and Antioxidant Activity in Eight *Achillea* Species. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18 (6): 1382-1394.
- Golla U., Bhimathati S.S.R., 2014. Evaluation of Antioxidant and DNA Damage Protection Activity of the Hydroalcoholic Extract of *Desmostachya bipinnata* L. *Stapf. The Scientific Worl Journal*, Article ID 215084: 1-8.
- Gortzi O., Lalas S., Chinou I., Tsaknis J., 2006. Reevaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Thymus* spp. Extracts Before and After Encapsulation in Liposomes. *Journal of Food Protection*, 69: 2998-3000.
- Grace S.C., Logan B.A., 2000. Energy Dissipation and Radical Scavenging by the Plant Phenylpropanoid Pathway. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 355 (1402): 1499-1510.
- Greger H., 1984. Alkamides: Structural Relationship, Distribution and Biological Activity. *Planta Medica*, 50: 366-375.

- Gülçin İ., Oktay M., Küfrevioğlu Ö.İ., Aslan A., 2002. Determination of Antioxidant Activity of Lichen *Cetraria islandica* (L) Ach.. Journal of Ethnopharmacology, 79: 325-329.
- Halvorsen B.L., Holte K., Myhrstad M.C.W, Barikmo I., Hvattum E., Remberg S.F., Wold A.B., Haffner K., Baugerod H., Andersen L.F., Moskaug O., Jacobs D.R., Blomhoff R., 2002. A Systematic Screening of Total Antioxidants in Dietary Plants. Journal of Nutrition, 132: 461-471.
- Hammad H.M., Litescu S.C., Matar S.A., Al-Jaber H.I., Afifi F.U., 2014. Biological Activities of the Hydro-alcoholic and Aqueous Extracts of *Achillea falcata* L. (Asteraceae) Grown in Jordan. European Journal of Medicinal Plants, 4 (3): 259-270.
- Hammer K.A., Carson C.F., Dunstan J.A., Hale J., Lehmann H., Robinson C.J., Prescott S.L., Riley T.V., 2008. Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Five *Taxandria fragrans* Oils *in Vitro*. Microbiology and Immunology, 52: 522-530.
- Harborne J.B., Baxter H., 1999. Handbook of Natural Flavonoids. Wiley, Chichester. 1838.
- Harbowy M.E., Balentine D.A., 1997. Tea Chemistry. Critical Reviews in Plant Sciences, 16: 415-480.
- Hassanbaglou B., Hamid A.A., Roheeyati A.M., Saleh N.M., Abdülamir A.S., Khatib A., Sabu M.C., 2012. Antioxidant Activity of Different Extracts from Leaves of *Pereskia bleo* (Cactaceae). Journal of Medicinal Plants Research, 6 (15): 2932-2937.
- Hatami T., Emami S.A., Miraghaee S.S., Mojarrab M., 2014. Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Different Extracts and Fractions from the Aerial Parts of *Artemisia biennis* Willd. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 13 (2): 551-558.
- Hertog M.G., Feskens E.J., Hollman P.C., Katan M.B., Kromhout D., 1993. Dietary Antioxidant Flavonoids and Risk of Coronary Heart Disease: the Zutphen Elderly Study. The Lancet, 342: 1007-1011.
- Holmes C., 2013. Review: Systemic Inflammation and Alzheimer's Disease. Neuropathology Applied Neurobiology, 39: 51-68.

- Holt E.M., Steffen L.M., Moran A., Basu S., Steinberger J., Ross J.A., Hong C.P., Sinaiko A.R., 2009. Fruit and Vegetable Consumption and Its Relation to Markers of Inflammation and Oxidative Stress in Adolescents. *Journal of the American Dietetic Association*, 109 (3): 414-421.
- Honda G., Yeşilada E., Tabata M., Sezik E., Fujita T., Takeda Y., Takaishi Y., Tanaka T., 1996. Traditional Medicine in Turkey VI. Folk Medicine in West Anatolia: Afyon, Kutahya, Denizli, Mugla, Aydin Provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, 53: 75-87.
- Huber-Morath A., 1989. *Achillea*. In: Rechinger K.H. (eds) *Flora Iranica*. No.158. Graz: Akademische Druck-U, Verlagsanstalt. 57-58.
- Hyun D.H., Hernandez J.O., Mattson M.P., de Cabo R., 2006. The Plasma Membrane Redox System in Aging. *Ageing Research Reviews*, 5: 209-220.
- Ilgar R., 2017. Çanakkale İlinde Tarımda Sürdürülebilirlik ve Organik Tarım. *Doğu Coğrafya Dergisi*, 22 (37): 159-178.
- Immanuel G., Vincybai V.C., Sivaram V., Palavesam A., Marian M.P., 2004. Effect of Butanolic Extracts from Terrestrial Herbs and Seaweeds on the Survival, Growth, and Pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) Load on Shrimp *Penaeus indicus* Juveniles. *Aquaculture*, 236 (1-4): 53-65.
- İlçim A., Dıgırak M., 1998. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, 22: 119-125.
- İlhan D., 2008. *Tradescantia pallida* H., *Allium cepa* L., *Vicia faba* L. Bitkilerinde Bazı Genotoksik Bileşiklerin Genetiksel Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.
- İşcan G., Kirimer N., Kürkçüoğlu M., Arabacı T., Küpeli E., Başer K.H.C., 2006. Biological Activity and Composition of the Essential Oils of *Achillea schischkinii* Sosn. and *Achillea aleppica* DC. subsp. *aleppica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 170-173.
- Jia Z.B., Tao F., Guo L., Tao G.J., Ding X.L., 2007. Antioxidant Properties of Extracts from Juemingzi (*Cassia tora* L.) Evaluated in Vitro. *Food Science and Technology*, 40: 1072-1077.

- Jiang Y., Han W., Shen T., Wang M.H., 2012. Antioxidant Activity and Protection from DNA Damage by Water Extract from Pine (*Pinus densiflora*) Bark. Preventive Nutrition and Food Science, 17: 116-121.
- Jiang S., Wang Y., Zhang X., 2016. Comparative Studies on Extracts from *Hericium erinaceus* by Different Polarity Reagents to Gain Higher Antioxidant Activities. Experimental and Therapeutic Medicine, 12: 513-517.
- Kalita S., Kumar G., Karthik L., Rao K.V.B., 2012. *In Vitro* Antioxidant and DNA Damage Inhibition Activity of Aqueous Extract of *Lantana camara* L. (Verbenaceae) Leaves. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1675-1679.
- Kang K.A., Kim K.C., Bae S.C., Hyun J.W., 2013. Oxidative Stress Induces Proliferation of Colorectal Cancer Cells by Inhibiting RUNX3 and Activating the Akt Signaling Pathway. International Journal of Oncology, 43: 1511-1516.
- Karaalp C., Yurtman A.N., Karabay-Yavaşoğlu N.U., 2009. Evaluation of Antimicrobial Properties of *Achillea* L. Flower Head Extracts. Pharmaceutical Biology, 47 (1): 86-91.
- Karabay-Yavaşoğlu N.U., Karamenderes C., Baykan S., Apaydın S., 2007. Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities and Acute Toxicity of *Achillea nobilis* subsp. *neilreichii* Extract in Mice and Rats. Pharmaceutical Biology, 45 (2): 162-168.
- Karamenderes C., Apaydın S., 2003. Antispasmodic Effect of *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bessler on The Rat Isolated Duodenum. Journal of Ethnopharmacology, 84: 175-179.
- Karamenderes C., Karabay Yavasoglu N.U., Zeybek U., 2007. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* and subsp. *neilreichii*. Chemistry of Natural Compounds, 43 (5): 632-634.
- Kastner U., Glasl S., Jurenitsch J., 1995a. *Achillea millefolium*-Ein Gallentherapeutikum?. Zeitschrift für Phytotherapie, 16: 34-36.
- Kastner U., Breuer J., Glasl S., Baumann A., Robien W., Jurenitsch J., Rucker G., Kubelka W., 1995b. Guaianolide-endoperoxide and Monoterpene-hydroperoxides from *Achillea nobilis*. Planta Medica, 61 (1): 83-85.

- Kawther F.A., 2007. Antibacterial and Anticandidal Activity of Essential Oils of Some Medicinal Plants in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 14 (2): 245-250.
- Kinnula V.L., Crapo J.D., 2004. Superoxide Dismutases in Malignant Cells and Human Tumors. *Free Radical Biology and Medicine*, 36: 718-744.
- Koca N., Karadeniz F., 2003. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Antioksidan Savunma Sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16: 32-37.
- Konyalıoğlu S., Karamenderes C., 2004. Screening of Total Flavonoid, Phenol Contents and Antioxidant Capacities of Some *Achillea* L. Species Growing in Turkey. *Acta Pharmaceutica Turcica*, 46: 163-170.
- Konyalıoğlu S., Karamenderes C., 2005. The Protective Effects of *Achillea* L. Species Native in Turkey against H₂O₂-Induced Oxidative Damage in Human Erythrocytes and Leucocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 102 (2): 221-227.
- Kordali S., Cakir A., Akcin T.A., Mete E., Akcin A., Aydin T., Kilic H., 2009. Antifungal and Herbicidal Properties of Essential Oils and *n*-Hexane Extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. and *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Industrial Crops and Products*, 29: 562-570.
- Kotan R., Cakir A., Dadasoglu F., Aydin T., Cakmakci R., Ozer H., Kordali S., 2010. Antibacterial Activities of Essential Oils and Extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* Species against Plant Pathogenic Bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 15 (90): 145-60.
- Kotzekidou P., Giannakidis P., Boulamatsis A., 2008. Antimicrobial Activity of Some Plant Extracts and Essential Oils against Foodborne Pathogens *in Vitro* and on the Fate of Inoculated Pathogens in Chocolate. *LWT-Food Science and Technology*, 41 (1): 119-127.
- Krenn L., Miron A., Pemp E., Petr U., Kopp B., 2003. Flavonoids from *Achillea nobilis* L.. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 58 (1-2): 11-16.
- Kuete V., 2010. Potential of Cameroonian Plants and Derived Products against Microbial Infections: A Review. *Planta Medica*, 76: 1479-1491.

- Kulisic T., Radonic A., Katalinic V., Milos M., 2004. Use of Different Methods for Testing Antioxidative Activity of Oregano Essential Oil. *Food Chemistry*, 85: 633-640.
- Kumari A., Sharma S., Vig A.P., 2012. Antigenotoxic Effects of *Brassica oleracea* L. Var. *Italica* Aqueous Seed Extract on *Allium cepa* Root Chromosomal Aberration Assay. *International Journal of Genetics*, 2 (2): 22-28.
- Kundaković T., Dukić N.M., Kovačević N., 2005. Free Radical Scavenging Activity of *Achillea alexandri-regis* Extracts. *Fitoterapia*, 76: 574-576.
- Kurt A., 2015. Kolajen Biyosentezini Teşvik Eden Bitki Kaynaklı Maddelerin Araştırılması; Kozmetik ve Dermatolojik Cilt Bakım Ürünleri Geliştirilmesi. Doktora Tezi. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Türkiye.
- Lai H.Y., Lim Y.Y., 2011. Evaluation of Antioxidant Activities of the Methanolic Extracts of Selected Ferns in Malaysia. *International Journal of Environmental Science and Development*, 2 (6): 442-447.
- Lagnika L., Amoussa A.M.O., Adjileye R.A.A., Laleye A., Sanni A., 2016. Antimicrobial, Antioxidant, Toxicity and Phytochemical Assessment of Extracts from *Acmella uliginosa*, A Leafy-vegetable Consumed in Bénin, West Africa. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16: 34, DOI 10.1186/s12906-016-1014-3.
- Lattanzio V., Lattanzio V.M.T., Cardinali A., 2006. Role of Phenolics in the Resistance Mechanism of Plants against Fungal Pathogens and Insects. In: *Phytochemistry: Advances in Research*, Research Signpost, India. 23-67.
- Lee J.H., Cho S., Paik H.D., Choi C.W., Nam K.T., Hwang S.G., Kim S.K., 2014. Investigation on Antibacterial and Antioxidant Activities, Phenolic and Flavonoid Contents of Some Thai Edible Plants as an Alternative for Antibiotics. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27: 1461-1468.
- Lemmens-Gruber R., Marchart E., Rawnduzi P., Engel N., Benedek B., Kopp B., 2006. Investigation of the Spasmolytic Activity of the Flavonoid Fraction of *Achillea millefolium* on Isolated Guinea-pig Ilea. *Arzneimittelforschung*, 56: 582-588.
- Lippman S.M., Benner S.E., Hong W.K., 1994. Cancer Chemoprevention. *Journal of Clinical Oncology*, 12: 851-873.

- Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N., 2010. Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacognosy Reviews*, 4 (8): 118-126.
- Lorenzi H., Matos F.J.A., 2002. Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exoticas. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 129-130.
- Ma T.H., 1981. *Tradescantia* Micronucleus Bioassay and Pollen Tube Chromatid Aberration Test for *in Situ* Monitoring and Mutagen Screening. *Environmental Health Perspectives*, 37: 85-90.
- Ma T.H., Cabrera G.L., Cebulska-Wasilewska A., Chen R., Loarca F., Vandenberg A.L., Salamone M.F., 1994. *Tradescantia* Stamen Hair Mutation Bioassay. *Mutation Research*, 310: 211-220.
- Madaan R., Bansal G. Kumar S., Sharma A., 2011. Estimation of Total Phenols and Flavonoids in Extracts of *Actaea spicata* Roots and Antioxidant Activity Studies. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73 (6): 666-669.
- Magiatis P., Skaltsounis A.L., Chinou I., Haroutounian S.A., 2002. Chemical Composition and *in-Vitro* Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Three Greek *Achillea* Species. *Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung*, 57c: 287-290.
- Mahady G.B., Pendland S.L., Stoia A., Hamill F.A., Fabricant D., Dietz B.M., Chadwick L.R., 2005. *In Vitro* Susceptibility of *Helicobacter pylori* to Botanical Extracts Used Traditionally for the Treatment of Gastrointestinal Disorders. *Phytotherapy Research*, 19 (11): 988-991.
- Mamedov N.A., Rzayev A.A., Shamilov E.N., Abdullaev A.S., Rzayeva I.A., Gasimova N.I., Guliev G.N., Craker L.E., 2010. Radioprotective Activity of Some Medicinal Plant Extracts. 28th International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC) / IHC Seminar on New Look at Medicinal and Aromatic Plants, Portugal, August 22-27, 925: 315-320.
- Marco A.D., Romanelli M., Stazi M.A., Vitagliano E., 1986. Induction of Micronucleated Cells in *Vicia faba* and *Allium cepa* Root Tips Treated with Nitritotriacetic Acid (NTA). *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 171 (2): 145-148.

- Matejić J.S., Džamić A.M., Mihajilov-Krstev T.M., Ranđelović V.N., Krivošej Z.Đ., Marin P.D., 2013. Total Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Extracts from *Tordylium maximum*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3 (1): 55-59.
- Mateuca R., Lombaert N., Aka P.V., Decordier I., Kirsch-Volder M., 2006. Chromosomal Changes: Induction, Detection, Methods and Applicability in Human Biomonitoring. *Biochimie*, 88: 1515-1531.
- Mayers D.L., Lerner S.A., Ouelette M., 2009. Antimicrobial Drug Resistance C: Clinical and Epidemiological Aspects (Vol. 2). Springer Dordrecht Heidelberg, London. 681-1347.
- Mazandarani M., Mirdeilami S.Z., Pessarakli M., 2013. Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Achillea millefolium* L. from Different Regions in North East of Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7 (16): 1063-1069.
- Mennen L.I., Walker R., Bennetau-Pelissero C., Scalbert A., 2005. Risks and Safety of Polyphenol Consumption. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81 (suppl): 326S–329S.
- Metin M., 2006. *Urginea maritima* L. Ekstraktının Kromozomlar Üzerindeki Etkisinin *Allium* Test Metodu ile Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Türkiye.
- Metin M., 2013. *Euphorbia rigida* Bieb. Ekstraktının Genotoksik, Sitotoksik, Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Türkiye.
- Miadokova E., Nadova S., Vlckova V., Duhova V., Kopaskova M., Cipak L., Rauko P., Mucaji P., Grancai D., 2008. Antigenotoxic Effect of Extract from *Cynara cardunculus* L.. *Phytotherapy Research*, 22: 77-81.
- Miller H.E., 1971. A Simplified Method for the Evaluation of Antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 48 (2): 91.
- Miraldi E., Ferri S., Mostaghimi V., 2001. Botanical Drugs and Preparations in the Traditional Medicine of West Azerbaijan (Iran). *Journal of Ethnopharmacology*, 75: 77-87.

- Mišík M., Ma T.H., Nersesyan A., Monarca S., Kim J.K., Knasmueller S., 2011. Micronucleus Assays with *Tradescantia* Pollen Tetrads: An Update. *Mutagenesis*, 26: 215-221.
- Mitsuda H., Yuasumoto K. ve Iwami K., 1996. Antioxidation Action of Indole Compounds During the Autoxidation of Linoleic Acid. *Journal of Japanese Society of Food and Nutrition*, 19: 210-214.
- Mostafa A.A., Al-Askar A.A., Almaary K.S., Dawoud T.M., Sholkamy E.N. Bakri M.M., 2017. Antimicrobial Activity of Some Plant Extracts against Bacterial Strains Causing Food Poisoning Diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.004>.
- Motavalizadehkakhky A., Shafaghat A., Zamani H.A., Akhlaghi H., Mohammadhosseini M., Mehrzad J., Ebrahimi Z., 2013. Compositions and the *in Vitro* Antimicrobial Activities of the Essential Oils and Extracts of Two *Achillea* Species from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7 (19): 1280-1292.
- Moura J.C.M.S., Bonine C.A.V., Viana J.O.F., Dornelas M.C., Mazzafera P., 2010. Abiotic and Biotic Stresses and Changes in the Lignin Content and Composition in Plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52: 360-376.
- Mozaffarian V., 1996. *A Dictionary of Iranian Plant Names*. Tehran: Farhang Moase. 1112.
- Nascimento N.C., Fett-Neto A.G., 2010. Plant Secondary Metabolism and Challenges in Modifying Its Operation: An Overview. *Methods in Molecular Biology*, 643: 1-13.
- Nemeth E., Bernath J., 2008. Biological Activities of Yarrow Species (*Achillea* spp.). *Current Pharmaceutical Design*, 14 (29): 3151-3167.
- Newall C.A., Anderson L.A., Phillipson J.D., 1996. *Herbal Medicines, A Guide for Health-Care Professionals*. The Pharmaceutical Press, London. 154 p.
- Nijs A., Cartuyvels R., Mewis A., Peeters V., Rummens J.L., Magerman K., 2003. Comparison and Evaluation of Osiris and Sirscan 2000 Antimicrobial Susceptibility Systems in the Clinical Microbiology Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 3627-3630.

- Omojate G.C., Enwa F.O., Jewo A.O., Eze C.O., 2014. Mechanisms of Antimicrobial Actions of Phytochemicals against Enteric Pathogens-A Review. *Journal of Pharmaceutical*, 2 (2): 77-85.
- Oyeyemi I.T., Bakare A.A., 2013. Genotoxic and Anti-genotoxic Effect of Aqueous Extracts of *Spondias mombin* L., *Nymphaea lotus* L. and *Luffa cylindrica* L. on *Allium cepa* Root Tip Cells. *Caryologia*, 66 (4): 360-367.
- Öztürk E., 2015. Reduction of Graphene Oxide by Natural Products and Production of Reduced Graphene Oxide-hydroxyapatite Composites. MSc. Thesis. Yıldız Technical University, Turkey.
- Palić R., Stojanović G., Nasković T., Ranelović N., 2003. Composition and Antibacterial Activity of *Achillea crithmifolia* and *Achillea nobilis* Essential Oils. *Journal of Essential Oil Research*, 15: 434-437.
- Pfaller M.A., Sheehan D.J., Rex J.H., 2004. Determination of Fungicidal Activities against Yeasts and Molds: Lessons Learned from Bactericidal Testing and the Need for Standardization. *Clinical Microbiology Reviews*, 17: 268-280.
- Pirbalouti A.G., Koohpayeh A., Karimi I., 2010. The Wound Healing Activity of Flower Extracts of *Punica granatum* and *Achillea kellalensis* in Wistar Rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67: 107-110.
- Pires J.M., Mendes F.R., Negri G., Duarte-Almeida J.M., Carlini E.A., 2009. Antinociceptive Peripheral Effect of *Achillea millefolium* L. and *Artemisia vulgaris* L.: Both Plants Known Popularly by Brand Names of Analgesic Drugs. *Phytotherapy Research*, 23: 212-219.
- Pisoschi A.M., Negulescu G.P., 2011. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, 1 (1): 1-10.
- Pitout J.D., 2008. Multiresistant Enterobacteriaceae: New Threat of An Old Problem. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 6 (5): 657-669.
- Psenakova I., Hetesova L., Nemecek P., Farago J., Kraic J., 2010. Genotype and Seasonal Variation in Antioxidant Activity of Hop Extracts. *Agriculture*, 56 (4): 106-113.

- Ramadan-Hassanien M.F., 2008. Total Antioxidant Potential of Juices, Beverages and Hot Drinks Consumed in Egypt Screened by DPPH *in Vitro* Assay. *Grasas y aceites*, 59: 254-259.
- Ramakrishna B.S., Varghese R., Jayakumar S., Mathan M., Balasubramanian K.A., 1997. Circulating Antioxidants in Ulcerative Colitis and Their Relationship to Disease Severity and Activity. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 12: 490-494.
- Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W., 1999. Phenolic Compounds and Their Role in Oxidative Processes in Fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.
- Rodrigues G.S., Ma T.H., Pimentel D., Weinstein L.H., 1997. *Tradescantia* Bioassays as Monitoring Systems for Environmental Mutagenesis: A Review. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 16 (4): 325-359.
- Russo A., Izzo A.A., Cardile V., Borrelli F., Vanella A., 2001. Indian Medicinal Plants as Antiradicals and DNA Cleavage Protectors. *Phytomedicine*, 8 (2): 125-132.
- Rustaiyan A., Masoudi S., Ezatpour L., Danaii E., Taherkhani M., Aghajani Z., 2011. Composition of the Essential Oils of *Anthemis hyalina* DC., *Achillea nobilis* L. and *Cichorium intybus* L. Three Asteraceae Herbs Growing Wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14 (4): 472-480.
- Saeidnia S., Gohari A.R., Mokhber-Dezfuli N., Kiuchi F., 2011. A Review on Phytochemistry and Medicinal Properties of the Genus *Achillea*. *Daru*, 19: 173-186.
- Salazar-Aranda R., Pérez-López L.A., López-Arroyo J., Alanís-Garza B.A., Waksman de Torres N., 2011. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Plants from Northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 536139, 6 pages.
- Samani A.D., Ghahfarokhi S.M., Samani A.D., 2014. An *in Vivo* Survey on Effect of Essential Oil of *Achillea millefolium* on Wound Healing in Chicken (Geometrical Study). *Journal of Natural Remedies*, 14 (1): 93-97.
- Sas K., Robotka H., Toldi J., Vecsei L., 2007. Mitochondrial, Metabolic Disturbances, Oxidative Stress and Kynurenine System, with Focus on Neurodegenerative Disorders. *Journal of the Neurological Sciences*, 257: 221-239.

- Schairer L.A., Sautkulis R.C., Tempel N.R., 1982. Monitoring Ambient Air for Mutagenicity Using the Higher Plant *Tradescantia*, in: Tice R.R., Costa D.L. ve Schaich K.M. (Eds.). Genotoxic Effects of Airborne Agents, Plenum, New York. 123-140.
- Serkerov S.V., Mustafaeva S.J., 2010. Detection of Acetylcannabin in *Achillea nobilis*. Chemistry of Natural Compounds, 46 (4): 666.
- Shahidi F., 1997. Natural Antioxidants: An Overview, In: Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications, Shahidi F. (Ed.). AOCS Press Champaign, Illinois, USA. 1-10.
- Shahidi F., 2000. Antioxidant in Food and Food Antioxidants. Nahrung, 44: 158-163.
- Sharma N., 2014. Free Radicals, Antioxidants and Disease. Biology and Medicine, 6 (3): 1-6.
- Sheidai M., Azanei N., Attar F., 2009. New Chromosome Number and Unreduced Pollen Formation in *Achillea* Species (Asteraceae). Acta Biologica Szegediensis, 53: 39-43.
- Si X.T., Zhang M.L., Shi Q.W., Kiyota H., 2006. Chemical Constituents of the Plants in the Genus *Achillea*. Chemistry and Biodiversity, 3 (11): 1163-1180.
- Silva C.G., Herdeiro R.S., Mathias C.J., Panek A.D., Silveira C.S., Rodrigues V.P., Renno M.N., Falcao D.Q., Cerqueira D.M., Minto A.B., Nogueira F.L., Quaresma C.H., Silva J.F., Menezes F.S., Eleutherio E.C., 2005. Evaluation of Antioxidant Activity of Brazilian Plants. Pharmacological Research, 52 (3): 229-233.
- Simic M.G., 1988. Mechanisms of Inhibition of Free-radical Processed in Mutagenesis and Carcinogenesis. Mutation Research, 202: 377-386.
- Simonian N.A., Coyle J.T., 1996. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 36: 83-106.
- Sinaplı Ö., 2010. *Myrtus communis*, *Pistacia terebinthus*, *Conyza bonariensis* Bitkilerinin Antigenotoksik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Türkiye.
- Singh, U., Jialal I., 2006. Oxidative Stress and Atherosclerosis. Pathophysiology, 13: 129-142.

- Skocibusić M., Bezić N., Dunkić V., Radonić A., 2004. Antibacterial Activity of *Achillea clavennae* Essential Oil against Respiratory Tract Pathogens. *Fitoterapia*, 75 (7-8): 733-736.
- Slinkard K., Singleton V.L., 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28 (1): 49-55.
- Smith M.A., Rottkamp C.A., Nunomura A., Raina A.K., Perry G., 2000. Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1502: 139-144.
- Snyder R.D., Gillies P.J., 2002. Evaluation of the Clastogenic, DNA Intercalative, and Topoisomerase II-Interactive Properties of Bioflavonoids in Chinese Hamster V79 Cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 40: 266-276.
- Soni U., Brar S., Gauttam V.K., 2015. Effect of Seasonal Variation on Secondary Metabolites of Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6 (9): 3654-3662.
- Sousa S.M., Viccini L.F., 2011. Cytotoxic and Genotoxic Activity of *Achillea millefolium* Aqueous Extracts. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21 (1): 98-104.
- Sousa J.P.B., Leite M.F., Jorge R.F., Resende D.O., da Silva Filho A.A., Furtado N.A.J.C., Soares A.E.E., Spadarom A.C.C., Magalhães P.M., Bastos J.K., 2011. Seasonality Role on the Phenolics from Cultivated *Baccharis dracunculifolia*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 464289, doi: 10.1093/ecam/nep077.
- Sparrow A.H., Schairer L.A., 1971. Mutation Response in *Tradescantia* After An Accidental Exposure to A Chemical Mutagen. *EMS Newsletter*, 5: 16-19.
- Sparrow A.H., Underbrink A.G., Rossi H.H., 1972. Mutation Induced in *Tradescantia* by Small Doses of X-Rays and Neutrons: Analysis of Dose-Response Curves. *Science*, 176: 916-918.
- Sreeranjini S., Siril E.A., 2011. Evaluation of Anti-genotoxicity of the Leaf Extracts of *Morinda citrifolia* Linn. *Plant, Soil and Environment*, 57 (5): 222-227.

- Stanković M.S., 2011. Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration and Antioxidant Activity of *Marrubium peregrinum* L. Extracts. Kragujevac Journal of Science, 33: 63-72.
- Stojanović G., Radulović N., Hashimoto T., Palić R., 2005. *In Vitro* Antimicrobial Activity of Extracts of Four *Achillea* Species: The Composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) Extract. Journal of Ethnopharmacology, 101: 185-190.
- Strack D., 1997. "Phenolic Metabolism," in Plant Biochemistry, P.M. Dev. & J.B. Harborne (Eds.), London, UK, Academic Press, pp 387-416.
- Suleimenov Y.M., Atazhanova G.A., Ozek T., Demirci B., Kulyyasov A.T., Adekenov S.M., Baser K.H.C., 2001. Essential Oil Composition of Three Species of *Achillea* from Kazakhstan. Chemistry of Natural Compounds, 37 (5): 447-450.
- Takım K., 2010. Kiraz Yaprağı Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitesinin ve Oksidatif DNA Hasarı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi, Türkiye.
- Talib W.H., Mahasneh A.M., 2010. Antimicrobial, Cytotoxicity and Phytochemical Screening of Jordanian Plants Used in Traditional Medicine. Molecules, 15 (3): 1811-1824.
- Takzare N., Hosseini M.J., Mortazavi S.H., Safaie S., Moradi R., 2011. The Effect of *Achillea millefolium* Extract on Spermatogenesis of Male Wistar Rats. Human and Experimental Toxicology, 30 (4): 328-334.
- Tedesco M., Kuhn A.W., Frescura V.D.S., Boligon A.A., Athayde M.L., Tedesco S.B., Da Silva A.C.F, 2017. Assessment of the Antiproliferative and Antigenotoxic Activity and Phytochemical Screening of Aqueous Extracts of *Sambucus australis* Cham. & Schltld. (Adoxaceae). Annals of the Brazilian Academy of Sciences, 89 (3): 2141-2154.
- Toroğlu S., Çenet M., 2006. Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi için Kullanılan Metotlar. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi, 9 (2): 12-20.

- Tuncel N.B., Yılmaz N., 2010. Kaz Dağları'ndan Toplanan Bazı Bitkilerin Fenolik Asit Kompozisyonlarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Belirlenmesi. Akademik Gıda, 8 (3): 18-23.
- Underbrink A.G., Schairer L.A., Sparrow A.H., 1973. *Tradescantia* Stamen Hairs: A Radiobiological Test System Applicable to Chemical Mutagenesis, in: Hollaender A. (Ed.). Chemical Mutagens: Principles and Methods for Their Detection, Vol. 3, Plenum, New York. 171-207.
- Ushimaru P.I., Silva M.T.N., Stasi L.C.D., Barbosa L., Junior A.F., 2007. Antibacterial Activity of Medicinal Plant Extracts. Brazilian Journal of Microbiology, 38: 717-719.
- Ünlü M., Daferera D., Dönmez E., Polissiou M., Tepe B., Sökmen A., 2002. Compositions and the *in Vitro* Antimicrobial Activities of the Essential Oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). Journal of Ethnopharmacology, 83: 117-121.
- Valant-Vetschera K.M., 1987. Flavonoid Glycoside Accumulation Trends of *Achillea nobilis* L. and Related Species. Biochemical Systematics and Ecology, 15 (1): 45-52.
- Vekiari S.A., Oreopoulou V., Tzia C., Thomopoulos C.D., 1993. Oregano Flavonoids as Lipid Antioxidants. Journal of American Oil Chemical Society, 70: 483-487.
- Verma K., Shrivastava, S., Kumar G., 2015. Antioxidant Activity and DNA Damage Inhibition *in Vitro* by A Methanolic Extract of *Carissa carandas* (Apocynaceae) Leaves. Journal of Taibah University for Science, 9: 34-40.
- Vonderbank H., 1949. Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose. Pharmazie, 4: 198-207.
- Vu T.T., Kim H., Tran V.K., Dang Q.L., Nguyen H.T., Kim H., Kim I.S., Choi G.J. Kim J.C., 2016. *In Vitro* Antibacterial Activity of Selected Medicinal Plants Traditionally Used in Vietnam against Human Pathogenic Bacteria. BMC Complementary and Alternative Medicine, 16 (32): 1-6.
- Yaesh S., Jamal Q., Khan A.U., Gilani A.H., 2006. Studies on Hepatoprotective, Antispasmodic and Calcium Antagonist Activities of the Aqueous-Methanol Extract of *Achillea millefolium*. Phytotherapy Research, 20 (7): 546-551.

- Yıldız A.M., 2010. Endemik Bir Tür Olan *Stachys petrokosmos* Bitki Ekstraktının Metabolik Aktivatör Varlığında ve Yokluğunda İnsan Lenfositlerinde Genotoksik ve Antigenotoksik Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Türkiye.
- Wanasundara U.N., Shahidi F., 1998. Antioxidant and Pro-oxidant Activity of Green Tea Extract in Marine Oils. *Food Chemistry*, 63: 335-342.
- Wu N., Fu K., Fu Y.J., Zu Y.G., Chang F.R., Chen Y.H., Liu X.L., Kong Y., Liu W., Gu C.B., 2009. Antioxidant Activities of Extracts and Main Components of Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] Leaves. *Molecules*, 14: 1032-1043.
- Xiao-Tang S., Man-Li Z., Qing-Wen S., Hiromasa K., 2006. Chemical Constituents of the Plants in the Genus *Achillea*. *Chemistry and Biodiversity*, 3: 1163-1180.
- Xu C., Zhang Y., Zhu L., Huang Y., Lu J., 2011. Influence of Growing Season on Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Grape Berries from Vines Grown in Subtropical Climate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 1078-1086.
- Yang J.I., Yeh C.C., Lee J.C., Yi S.C., Huang H.W., Tseng C.N., Chang H.W., 2012. Aqueous Extracts of the Edible *Gracilaria tenuistipitata* are Protective against H₂O₂-Induced DNA Damage, Growth Inhibition, and Cell Cycle Arrest. *Molecules*, 17: 7241-7254.
- Yektaian N., Rafieian M., Khalili Dehkorbi B., Hejazi S.H., Shirani Bidabadi L., Hosseini S.A., 2012. Effect of Combination of *Achillea millefolium*, *Artemisia absinthium* and *Juglans regia* Leaves Extracts on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER), *in Vitro*. *Journal of Medicinal Plants*, 11 (9): 197-204.
- Zargar M., Azizah A.H., Roheeyati A.M., Fatimah A.B., Jahanshiri F., Pak-Dek M.S., 2011. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Different Extracts from *Vitex negundo* Leaf. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (12): 2525-2532.
- Zhang R., Eggleston K., Rotimi V., Zeckhauser R.J., 2006. Antibiotic Resistance as A Global Threat: Evidence from China, Kuwait and the United States. *Global Health*, 7: 2-6.

ÖZGEÇMİŞ

1. **Adı Soyadı** : Merve BALLI YÜKSEL
2. **Doğum Tarihi** : 21.03.1985
3. **Öğrenim Durumu** :

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2005-2009
Y. Lisans	Biyoloji	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2010-2012
Doktora	Biyoloji	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2012-2018

4. Yayınlar

4.1. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

- Ballı M., Demir N., 2017. Seasonal Changes in Antimicrobial Activity of *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler (Asteraceae). IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, 26-29 April, İstanbul, p. 629.
- Ballı M., Demir N., Yıldız M., Merdamert E., Yıldırım M.A., 2017. Colorimetric Sensor, DNA Binding and DNA Cleavage Studies of 6-Methoxybenzo[d]thiazol-2-ylimino Derivative. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, 26-29 April, İstanbul, p. 583.
- Ballı M., Demir N., 2016. Investigation of Mutagenic and Antimutagenic Activities of Extracts Obtained from *Sideritis athena* Papan. & *Kokkini* Plants by the Ames Test. 6th International Congress of Aromatic and Medicinal Plants, CIPAM, 29 May-1 June, Coimbra, Portugal, p. 283.
- Ballı M., Demir N., Ertürk S., Geren E., 2013. Preliminary Investigation on Heavy Metal Pollution in *Pecten maximus* in the Dardanelles Bosphorus, Turkey. Second Scientific Conference on Ecology, University of Plovdiv, Bulgaria, p. 78.
- Ertürk S., Ballı M., Demir N., Geren E., 2013. Metal Concentrations in Mantle Tissue of Some Aquatic Invertebrates from Umurbey, Canakkale-Turkey. Second Scientific Conference on Ecology, University of Plovdiv, Bulgaria, p. 77.

Demir N., Ertürk S., Ballı M., Geren E., 2013. Seasonal Variation of Heavy Metal Bioaccumulation in the Tissues of *Ruditapes decussatus* from Cardak, Canakkale-Turkey. Second Scientific Conference on Ecology, University of Plovdiv, Bulgaria, 1st November, p. 75.

Bican Süerdem T., Ballı M., Demir N., Turgut Genç T., 2013. *Sideritis trojana* Bornm. ve *Sideritis athoa* Papan. & Kokkini Metanol Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. 2-4 Mayıs, 2. Uluslararası Kazdağları ve Edremit Sempozyumu, Balıkesir, s. 65-70.

4.2. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Demir N., Ballı M., 2016. Farklı Yıllara Ait *Sideritis trojana* Bornm. Bitkisinin Sitogenetik Etkileri. 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, 5-9 Eylül, Gaziantep.

Ballı M., Demir N., 2014. *Sideritis trojana* Bitkisi Su Ekstraktının Ames Testi ile Mutajenik ve Antimutajenik Aktivitelerinin Araştırılması. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran, Eskişehir.

Ballı M., Demir N., 2014. *Sideritis athoa* Bitkisi Su Ekstraktının Ames Testi ile Mutajenik ve Antimutajenik Aktivitelerinin Araştırılması. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran, Eskişehir.

Ballı M., Demir N., 2012. Sarıçay (Çanakkale) Yüzey Suyunun Sitotoksik ve Genotoksik Potansiyelinin *Allium cepa* Kök Ucu Hücrelerinde Araştırılması. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül, İzmir.

Demir N., Ballı M., 2012. Indoxacarb İsektisidinin Sitogenetik Etkisinin Araştırılması. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül, İzmir.

Demir N., Ballı M., Çetin M., Kaya H., 2011. Çanakkale Boğazı'ndaki Midyelerde (*Mytilus galloprovincialis*) Mikronukleus Testi ile Genotoksik Etkinin Araştırılması. 10. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 4-7 Ekim, Çanakkale, s. 411.

Ballı M., 2011. Artıları ve Eksileri ile Nükleer Enerji Santralleri. 10. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 4-7 Ekim, Çanakkale, s. 444.

Ballı M. ve Demir N., 2011. Radyoaktif Kirlenme, Olası Etkileri ve Korunma Yolları. 10. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 4-7 Ekim, Çanakkale, s. 445.

Gezen M.R., Demir N., Çetin M., Ballı M., 2011. Çanakkale Boğazı'ndaki Deniz Kestanesi (*Paracentrotus lividus*)'nin Ağır Metal Düzeyleri Üzerine Bir Araştırma. Ekoloji 2011 Sempozyumu, 5-7 Mayıs, Düzce, s. 176.

Demir N., Gezen M.R., Ballı M., 2011. Çanakkale Boğazı'nın Karacaören Kıyısındaki Deniz Suyu ve Bazı Yumuşakçalarda (Bivalvia ve Gastropoda) Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması. Ekoloji 2011 Sempozyumu, 5-7 Mayıs, Düzce, s. 177.

5. Projeler

Umurbey Çayı (Çanakkale) Su ve Sediment Kirliliğinin Ames/*Salmonella*/Mikrozom Testi ile Araştırılması. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), 2011/071.

6. İş Deneyimi

Staj (Haziran-Ağustos 2007)

Çanakkale Devlet Hastanesi

Mikrobiyoloji ve Biyokimya Laboratuvarları

7. Kazandığı Ödüller, Burslar ve Diğer

Üniversite Birinciliği (2008-2009 Eğitim-Öğretim Yılı)

TÜBİTAK-BİDEB Genel Yurt İçi Doktora Bursu (2013-2016)

ERASMUS Öğrenim Hareketliliği (University of Debrecen/Hungary)
(Şubat-Haziran 2016)

8. İletişim

E-posta: merveballi1985@hotmail.com