

*ACHILLEA TERETIFOLIA* BİTKİ EKSTRESİNİN  
*ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEM HÜCRELERİ  
ÜZERİNE SİTOGENETİK ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Sedat OKTAY

Danışman  
Prof. Dr. Muhsin KONUK

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2011

T.C.  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

*ACHILLEA TERETIFOLIA* BİTKİ EKSTRESİNİN  
*ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEM HÜCRELERİ  
ÜZERİNE SİTOGENETİK ETKİLERİ

Sedat OKTAY

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman  
Prof. Dr. Muhsin KONUK

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

NİSAN 2011

## ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Muhsin KONUK danışmanlığında

Sedat OKTAY tarafından hazırlanan

***ACHILLEA TERETIFOLIA* BİTKİ EKSTRESİNİN  
*ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEM HÜCRELERİ ÜZERİNE  
SİTOGENETİK ETKİLERİ**

başlıklı bu çalışma lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca

19/04/2011

tarihinde aşağıdaki jüri tarafından

Biyoloji Anabilim Dalında

Yüksek Lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

---

Ünvanı, Adı, Soyadı

İmza

Başkan Prof. Dr. Muhsin KONUK (Danışman)

Üye Doç. Dr. Elif KORCAN

Üye Doç. Dr. Yavuz Osman BİRDANE

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetin Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mevlüt DOĞAN

Enstitü Müdürü

**ACHILLEA TERETIFOLIA BİTKİ EKSTRESİNİN  
ALLIUM CEPA L. KÖK MERİSTEM HÜCRELERİ ÜZERİNE  
SİTOGENETİK ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**SEDAT OKTAY**

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**2011**

**ÖZET**

Bu çalışmada, *Achillea teretifolia* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen sıvı ekstrenin, *Allium cepa* kök ucu hücrelerindeki mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine olan etkileri incelenmiştir. Ön çalışmada EC<sub>50</sub> değeri 50 g/L olarak belirlenmiştir. *Achillea teretifolia* sulu ekstrelerinin değişik konsantrasyonları (25, 50 ve 100 g/L) ve pozitif kontrol olarak MMS, *Allium cepa* kök ucu hücrelerine uygulanmıştır. Negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır. *Allium cepa*'nın hücre döngüsü 24 saat olduğu için uygulama süresi 12, 24, 48, 72 ve 96 saat olarak belirlenmiştir.

Mitotik indeks ve mitotik faz frekansları her bir doz ve süre için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Elde edilen veriler, SPSS 15.0 paket programında Duncan testi ile istatistiksel yönden değerlendirilmiştir. Mitotik indeksteki değişiklikler tüm doz ve uygulamalarda kontrol grubuna göre artmış olup bu artışlar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. En fazla görülen anormallikler kalgın kromozom, yapışıklık ve bozulmuş anafaz-telofazdır. Ayrıca c-mitoz, prometafaz, anafaz köprüsü ve poliploidi'ye de rastlanılmıştır. İnterfaz safhasında ise binükleer hücre bozuklukları tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Achillea teretifolia*, *Allium cepa*, bitki ekstresi, mitotik indeks, mitotik anormallikler

**CYTOGENETIC EFFECTS OF AQUEOUS EXTRACT OF *ACHILLEA  
TERETIFOLIA* ON THE ROOT MERISTEM CELLS OF *ALLIUM CEPA* L.**

**(MSc Thesis)**

**SEDAT OKTAY**

**AFYON KOCATEPE UNIVERSITY**

**GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**2011**

**SUMMARY**

In this study, the effects of aqueous extract from aerial part of *Achillea teretifolia* on mytosis and chromosomes of *Allium cepa* root tip meristematic cells were investigated. In the pre experiment, 50 g/L aqueus concentration was determined as EC<sub>50</sub>. Root tip cells of *Allium cepa* were subjected to different concentratinos of *Achillea teretifolia* aqueus extract (25, 50 and 100 g/L) and MMS was used as positive control. Distilled water was also used as negative control. Since *Allium cepa* cell cycle is 24 hours, the application process was carried out as 12, 24, 48, 72 and 96 h.

Mitotic index and mitotic phase frequencies were calculated separately for each dose introduced. The data obtained from the study was subjected to statistical analyses by using SPSS 15.0 package program and Duncan test was performed in the comparisons. The differences in the mitotic index were observed to be increasing in all the doses and the applications when compared to the control. The rates of increment were found to be statistically meaningful. The most observed abnormalities were: remained chromosome, stickness and disturbed anaphase-telophases. In addition to these, c-metaphase, prometaphase, anaphase bridge and poliploidy were also observed. In the interphase, binuclear cells were also observed.

**Keywords :** *Achillea teretifolia*, *Allium cepa*, plant extract, mitotic index, mitotic abnormalities

## TEŞEKKÜR

Kendisini tanıdığım ilk günden itibaren, akademik ve bilimsel önderliğinin dışında birçok konuda bana ışık olan, güvenini, sevgisini ve sabrını esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Muhsin KONUK'a,

Çalıőmalarımın her aşamasında yardımını esirgemeyen, yol gösteren, emeğini ve hakkını ödeyemeyeceğim değerli hocam Sayın Dr. Recep LİMAN'a,

Laboratuvar çalıőmalarımın önemli bir kısmında katkıları bulunan değerli arkadaşlarım; Alperen DEDEOĞLU, Mehmet AKINCI, Pınar ARSLAN ve Hasan ACAR'a,

Bütün maneviyatlarıyla her an yanımda olan sevgili aileme,

Sonsuz teşekkür ediyorum.

Sedat OKTAY  
Afyonkarahisar 2011

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	i
<b>SUMMARY</b> .....	ii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI</b> .....	3
2.1. <i>Achillea</i> .....	3
2.1.1 <i>Achillea</i> Türlerinin Terapatik Etkileri.....	3
2.1.2 <i>Achillea teretifolia</i> Willd.....	6
2.1.2.1 <i>Achillea teretifolia</i> Willd. Sistematığı.....	7
2.1.2.2 <i>Achillea teretifolia</i> Bitkisinin Uçucu Yağ Bileşenleri.....	7
2.2 Mutajenik Çalışmalarda Bitki Test Sistemlerinin Kullanılması.....	9
<b>3. MATERİYAL METOT</b> .....	12
3.1 Materyal .....	12
3.1.1 Bitki Materyali .....	12
3.1.2 Test Materyali .....	12
3.1.3 Feulgen Boyasının Hazırlanışı.....	12
3.1.4 Çalışmada Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	13
3.2 Metot .....	14
3.2.1 LD <sub>50</sub> Değerinin Belirlenmesi.....	14
3.2.2 Feulgen Boyası İle Preparatların Hazırlanışı.....	15
3.2.3 Bitki Ekstresinin Hazırlanması.....	16

	<u>Sayfa</u>
<b>4. SONUÇ VE TARTIŞMA</b> .....	17
4.1 Sonuçlar .....	17
4.1.1 Büyüme Engelleme Testi .....	17
4.1.2 Mitotik İndeks ve Mitotik Faz Frekansları .....	19
4.1.3 <i>Achillea teretifolia</i> Bitkisinden Elde Edilen Ekstrenin Neden Olduğu Anormalliklerin Tipleri ve Oranları .....	21
4.2 Tartışma .....	25
<b>5. KAYNAKLAR</b> .....	39
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	45



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
µg	Mikrogram
µL/mL	Mikrolitre bölü mililitre
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
cm <sup>3</sup>	Santimetreküp
EC <sub>50</sub>	% 50 etkili konsantrasyon (EC = Effective Concentration)
g	Gram
g/L	Gram bölü litre
HCl	Hidroklorik asit
kg	Kilogram
l	Litre
LC <sub>50</sub>	% 50 etkili konsantrasyon (LC = Lethal Concentration)
LD <sub>25</sub>	Çalışmalarda negatif kontrol grubuna göre % 25 etkili yada ölümcül konsantrasyon (LD = Lethal Dose)
LD <sub>50</sub>	Kök uçlarının büyümesini negatif kontrol grubuna göre % 50 azaltan konsantrasyon
m	Metre
mg	Miligram
mg/kg	Miligram bölü kilogram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
N	Normal
ppm	Milyonda bir (Parts Per Million)
µmol	Mikromol

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 <i>Achillea teretifolia</i> Willd.....	6
4.1 <i>Achillea teretifolia</i> bitkisinin sulu ekstralarının büyüme engellemenin testi.....	17
4.2 <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde <i>Achillea teretifolia</i> sulu ekstresi konsantrasyonuna bağlı olarak değişen ortalama kök uzunlukları.....	18
4.3 <i>Achillea teretifolia</i> bitkisinden elde edilen ekstre ile muamele edilen <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde metafazda görülen anormallikler.....	23

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 <i>Achillea</i> taksonlarında, uçucu yağların bileşenleri ve bazı <i>Achillea</i> türlerinde uçucu yağ miktarları: relatif %.....	4
2.2 <i>Achillea teretifolia</i> Bitkisinin % Uçucu Yağ Oranları-1.....	7
2.3 <i>Achillea teretifolia</i> Bitkisinin % Uçucu Yağ Oranları-2 .....	8
4.1 <i>Achillea teretifolia</i> bitki ekstresinin büyüme engelleyici etkileri .....	18
4.2 <i>Achillea teretifolia</i> bitkisinden elde edilen sulu ekstrenin farklı konsantrasyonlarda, <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme üzerine etkileri.....	20
4.3 <i>Achillea teretifolia</i> bitki ekstresinin neden olduğu anormalliklerin tipleri ve oranları .....	24

## 1. GİRİŞ

Bitkilerin tedavi amacıyla kullanılmaları çok eski yıllardan beri süregelen bir uygulamadır. Dünya ülkelerinde olduğu gibi, ülkemizde de, deneme yanılma yöntemiyle bulunmuş halk arasında "şifalı bitkiler" olarak anılan birçok bitki, hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Benli 2005). Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın 91 ülke üzerinde yaptığı araştırmaya göre, tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20000 civarındadır. Bunlardan 500 kadarının üretiminin yapıldığı kaydedilmektedir. Ayrıca değişik amaçlarla kullanılan bitkilerin çok azı farmakopilerde (kodeks) kayıtlıdır. Örneğin: Türk kodeksinde kayıtlı bitki sayısı 140 civarındadır. Hâlbuki halk arasında tıbbi amaçla kullanılan bitki sayısı çok daha fazladır (Kırbağ 1999).

Tıbbî bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar, 1980'lerden itibaren bütün dünyada artan bir ivme göstermiştir (Aboolenein 1982). Günümüzde mevcut ilaçların 1/4'ü bitkisel kökenlidir (Cassileth 1998).

Bitkilerin tedavi amacıyla kullanılmalarındaki temel sorun, milyonlarca insanın bitkilere bu kadar rahat güvenmesidir. Bu güven sonucu ortaya çıkan bilinçsiz yaygın kullanım, toplum sağlığını tehlikeye atacak pek çok soruna yol açabilmektedir. Bitkisel ürünler doğal oldukları için sıklıkla güvenli olarak algılanır. Fakat doğal olan, her zaman güvenli olan demek değildir. Bitkiler potent biyoaktif maddeler içerir. Pek çok bitki yüksek derecede toksiktir ve diğer tamamlayıcı tedavi yöntemleri içinde bitkisel tedavi, yan etki ve toksisite yönünden çok daha fazla risk taşır. Bitkisel ürünlerin kullanımında bitkinin doğrudan toksik etkileri, alerjik reaksiyonlar, kontaminasyona bağlı etkiler, ilaç ve diğer bitkilerle olan etkileşimler nedeniyle tehlikeli ve öldürücü yan etkileri görülmüştür. Sonuç olarak bitkilerle tedavi tüm dünyada ve ülkemizde yaygın olarak kullanılmakta, ancak bazen çok ciddi sağlık sorunlarına da yol açabilmektedir (Sarışen vd. 2005).

Değişik kimyasal veya özütlerin etkilerinin belirlenmesinde farklı test sistemleri kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanlarından birisi de Allium testidir. Allium testi ilk defa Levan tarafından 1938 yılında kolşisinin etkisini

belirlemek amacıyla yapılmıştır. 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. Ayrıca prokaryotik veya ökaryotik canlılarla yapılan diğer, alternatif kısa dönem toksisite test sistemleriyle iyi bir korelasyon göstermektedir (Fiskesjö 1985, Marco et al. 1986).

Bu çalışmada, *Achillea teretifolia* bitkisinin kök üzeri kısımlarından elde edilen sıvı ekstrenin, *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks ve fâz indeks üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

### 2.1 *Achillea* (Astraceae)

*Achillea* mitolojik bir geçmişe sahiptir. Çeşitli belgelerden günümüze kadar gelen bilgilere göre; *Achillea* generu, ismini İlyada Destanı kahramanı, savaşıçı Achilles'den almıştır. Achilles, Truva Savaşları boyunca, kanamalarını durdurmaları ve yaralarını iyileştirmeleri için askerlerine bu bitkilerden dağıtmıştır. Achilles'ten dolayı bu generu geçmiş çağlardan bu yana *Achillea* adı ile bilinmektedir (Könemen 1999). *Achillea* generu; Avrupa, Ortadoğu ve Türkiye'de çoğu endemik olan yaklaşık 85 türden oluşur. Türkiye florası içindeki 42 türün 23'ü endemiktir (Huber-Morath 1975).

#### 2.1.1 *Achillea* Türlerinin Terapötik Etkileri

İlginç olarak bazı *Achillea* türleri etnofarmakolojik özelliklidir. Yapılan çeşitli araştırmalarla bu türlerin, antispazmodik, analjezik, antiinflamatuvar, antipiretik, kolagog ve hemostatik etkilere sahip olduğu saptanmıştır (Kastner et al. 1995, Newal et al. 1996). Bazı türler, kozmetikte güzel koku üretiminde kullanılır. Anadolu'da yıllardır yara iyileştirici olarak ve hemoroid tedavisinde kullanılmaktadır. Halk arasında bitki çayı olarak kullanılan *Achillea* türleri; diüretik, karın ağrısı için, gaz söktürücü ve ishale karşı tedavi edici özellikleri ile bilinmektedirler. (Akkol vd. 2009). Bu nedenle çeşitli *Achillea* taksonları, özellikle Avrupa'da bazı farmasötik preparatların ve tıbbi çay karışımlarının bileşimine girmektedir (Baytop 1999, Gruenwald et al. 2000).

Karamenderes ve arkadaşları (2002) bazı *Achillea* türlerinin uçucu yağ bileşenlerini araştırmışlardır. 1,8-sineol, kamfor ve borneol, araştırmada kullanılan bitkilerdeki en fazla bulunan uçucu yağ bileşenleri olduğu rapor edilmiştir (Çizelge 2.1). *Achillea* türleri, uçucu yağlar, flavonoidler, seskiterpenoidler ve alkoloidler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içermektedirler (Kastner et al. 1995). *Achillea nobilis*'in topraküstü kısımlarının flavonoid içerdiği saptanmıştır. *Achillea nobilis* ekstrelerinin fare deudeumunda güçlü antispazmodik etki yaptığı anlaşılmıştır (İnt.K yn.1)

Bileşik	<i>A.millefolium</i> subsp. <i>pannonica</i> (% Oran)	<i>A. millefolium</i> subsp. <i>millefolium</i> (% Oran)	<i>A.crithmifolia</i> (% Oran)	<i>A.kotschyi</i> subsp. <i>kotschyi</i> (% Oran)
thujene	-	-	+	+
$\alpha$ -pinene	0.8	+	1.2	2.3
camphene	1.9	+	1.1	+
$\beta$ -pinene	0.6	0.1	+	2.7
yomogi alcohol	0.1	17.7	-	-
$\alpha$ -terpinene	0.4	-	12.0	1.8
1,8-cineole	43.3	4.6	5.7	20.8
artemisia keton	11.9	-	3.5	-
$\gamma$ -terpinene	-	-	-	1.0
artemisia alcohol	0.7	37.2	-	-
terpinolene	0.4	-	-	-
linalool	-	-	2.7	-
$\alpha$ -thujon	-	-	-	1.4
chrysanthenone	-	-	13.5	
camphor	10.4	-	18.8	4.9
camphene hydrate	-	3.8	-	4.1
cis-chrysanthenol	-	-	-	3.9
borneol	16.9	2.5	1.7	2.0
terpinene-4-ol	3.1	-	2.3	4.5
$\alpha$ -terpineol	2.3	-	-	2.6
myrtenol	-	-	-	1.4
cis-ascaridole	-	-	27.2	-
bornyl acetate	0.7	8.8	-	-
cis-jasmone	-	-	0.5	-
$\beta$ -caryophyllene	-	-	0.6	1.0
elemol	-	2.9	-	-
(E)-nerolidol	-	1.7	-	5.2
caryophyllene oxide	1.9	2.5	1.8	7.4
10-epi- $\lambda$ -eudesmol	0.4	-	-	-
$\beta$ -eudesmol	-	2.3	-	-
$\alpha$ -bisabolol oxide B	-	-	-	3.9
dihidro-eudesmol	0.7	-	-	3.2
$\beta$ -bisabolol	1.4	1.5	-	4.1
(Z)-nerolidolol acetate	-	3.6	-	4.7
germacrone	-	1.6	-	-

**Çizelge 2.1** *Achillea* taksonlarında, uçucu yağların bileşenleri ve bazı *Achillea* türlerinde uçucu yağ miktarları: relatif % (Karamenderes vd. 2002)

Yurdumuzda halk arasında “Ayvadana” adı ile tanınan *Achillea nobilis* subspecies *sipylea*, Batı Anadolu’da karın ağrısına karşı çay şeklinde hazırlanarak kullanılmaktadır. Bazı flavonoidlerin memelilerin çeşitli dokularında antispazmotik etki gösterdiği bilinmektedir.

Halk arasında yıllardır yara iyileştirici ve ağrı kesici özellikleri ile bilinen, beş *Achillea* türünün (*Achillea phrygia*, *Achillea wilhelmsii*, *Achillea setacea*, *Achillea sipikorensis*, *Achillea vermicularis*), folklorik kullanımını araştırılmıştır. Bu amaçla, bitkilerin etanolik ve sulu ekstraları hazırlanmıştır. Araştırmada, *Achillea* türlerinin ağrı kesici özelliklerinin belirlenebilmesi için, erkek İsveç albino farelerinde, p-benzokinon kullanılarak kıvrınma testi uygulanmıştır. Bitkilerin, anti-inflamatuvar aktivitelerinin anlaşılması için, farelere karragen uygulanarak arka ayak ödemi testine tabii tutulmuştur. Araştırma sonucunda, *A. wilhelmsii*, *A. setacea* ve *A. vermicularis*’ten hazırlanan etanollü ekstrat 500 mg/kg dozda herhangi bir akut toksisite ve gastrik hasar oluşturmaksızın kuvvetli antinosiseptif ve anti-inflamatuvar aktivite göstermiştir. *A. phrygia* sadece kuvvetli antinosiseptif aktivite gösterirken, *A. sipikorensis*’te ise herhangi bir anti-inflamatuvar ve antinosiseptif aktivite belirlenmemiştir (Küpeli et al. 2007).

*Achillea* genusunun, halk arasında en fazla tanınan ve birçok rahatsızlığın tedavisinde ilaç olarak yaygın kullanılan türü; *Achillea millefolium*’dur. Anadolu’da oldukça yaygın yetişen *Achillea millefolium* folklorik olarak, ağrı kesici, kas gevşetici, sindirimi kolaylaştırıcı, iştetici, antiseptik, kanamayı durdurucu, yumuşatıcı, ağrı kesici, yara iyileştirici ve hemoroid tedavisinde uzun yıllardır kullanılmaktadır.

*Achillea millefolium* anti-inflamatuvar etkisi sebebi ile halk arasında yara iyileştirici olarak kullanılmıştır. Ayrıca hemoroid, gastrit, böbrek ve karaciğer bozukluklarına karşı oldukça etkilidir. Bitki içerisinde bulunan achillein isimli acı madde, kanamayı durdurucu etki gösterir ve yapraklarından elde edilen ekstre, patojenlerin gelişimini engellemektedir (Popovic et al. 2002).



*Achillea* genusunda bulunan 14 laktonik seskiterpen; tümöral, antitümöral, antibakteriyal, antiallerjik, büyüme teşvik edici ve engelleyici özellikleri olan maddelerdir (Yürekli vd. 1982).

### 2.1.2 *Achillea teretifolia* Willd.

Ömürleri iki yıllık olan, boyu 20-40 cm arasında değişen *Achillea teretifolia* bitkisinin; göet alesi yuvarlak, boyuna çizgili, tüyleri yatık-tomentoz biçimli veya tüysüz özelliktedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 *Achillea teretifolia* Willd (Fotoğraf: Turan ARABACI)

Yaprakları; dağmık tüylü, şeritsi-ipliksi şekilde, orta yapraklar ise 15-30 x 0.5-1 mm, tüysü parçalı, parçaları kiremitvari dizili, bölünmemiş veya nadiren 3 loblu, 0.5 x 0.3 mm ebatlarında ve diskçikli biçimdedir.

Kapitulalar (başçık şeklindeki çiçek durumu), 10-40 adet ve korimboz şekilde dizili olup korimboz 3-7 cm enindedir. Kapitula sapı 4-13 mm boyundadır. Involukrum (brakte topluluğu) şekli yuvarlağımsı, tabanda çukurcuklu olup, boyu ve eni 3-5 mm arasındadır. Fillariler; yumurtamsı-mızraksı şekilde, hafifçe sivri veya kör uçlu, tüyleri

dağınık biçimde olup iç fillariler, darca ve şeffaf kenarlıdır. Dilsî çiçekleri; 5-7 adet, 2-3 mm ebatlarında, beyaz renklidir. Tüpsü çiçekleri ise 20-45 adet ve sarı renklidir. Çiçeklenme zamanı haziran ve ağustos ayları arasındadır.

Rakımı 900-2150 m yükseklikteki, taşlık steplerde, kayalık yamaçlarda, iğne yapraklı ormanlar ve subalpin çayırlarda bulunur. Türkiye’de; İç Anadolu, Güney ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde endemiktir. *Achillea teretifolia* İran-Turan elementi olan bir bitkidir (Ertekin 2002).

#### **2.1.2.1 *Achillea teretifolia* Willd. Sistematığı**

Regnum	: Plantae
Subregnum	: Tracheobionta
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Magnoliopsida
Subclassis	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Family	: Asteraceae
Genus	: <i>Achillea</i>
Species	: <i>Achillea teretifolia</i> (İnt.K yn.2)

#### **2.2.4 *Achillea teretifolia* Bitkisinin Uçucu Yağ Bileşenleri**

*Achillea teretifolia* bitkisindeki uçucu yağ miktarlarına dair iki farklı çalışmada iki farklı sonuç bulunmuştur. Ünlü ve arkadaşları (2002) yaptıkları çalışmada, ökalıptol, borneol, kamfor ve kamfeni bitkide başlıca bulunan yağ asitleri olduklarını rapor etmişlerdir (Çizelge 2.1). Hacıoğlu (2005) çalışmasında, krizantenil asetatın bitkideki diğer yağ asitlerine oranla oldukça baskın olduğunu göstermiştir (Çizelge 2.2).

<b>Bileşik</b>	<b>% Oran</b>
$\alpha$ -Pinene	1.2
Camphene	1.5
Sabinene	4.7
$\alpha$ -Phellandrene	1.1
$\alpha$ -Terpinene	1.2
Eucalyptol	19.9
$\gamma$ -Terpinene	1.2
trans -Sabinene hydrate	0.9
Linalool	-
Nonanal	-
Thujone	5.1
Isothujone	2.3
cis -Menth-2-en-1-ol (para)	2.3
trans -Pinocarveol	-
Camphor	11.1
3,6-dimethyl-2,3,3a,4,5,7a-hexahydrobenzofuran	0.5
Pinocarvone	0.3
Borneol	11.9
Terpinen-4-ol	3.4
$\alpha$ -Terpineol	2.5
cis -Piperitol	0.8
Myrtenol	-
trans -Piperitol	2.8
7-Methyl-3-methylene-6-octen-1-ol	1.0
3,7-Dimethyl-3,6-octadien-1-ol (Z)	1.0
Bornyl acetate	0.5
Lavandulyl acetate	-
Thymol	0.7
Eugenol	0.6
Caryophyllene	1.4
Germacrene D	-
Nerolidol	2.6
Caryophyllene oxide	1.1
Caryophylla-4(14),8(15)-dien-5beta-ol	-
$\beta$ -Eudesmol	1.0
Bisabolol oxide B	-
Bisabolone oxide	-

**Çizelge 2.1** *Achillea teretifolia* Bitkisinin % Uçucu Yağ Oranları-1 (Ünlü vd. 2002)

<b>Bileşenler</b>	<b>% Oran</b>
krisantenil asetat	81,95
L-kamfor	7.28
$\alpha$ -pinen	4,73
(+)-2-karen	1.27
Valeranon	0,98
$\beta$ -pinen	0.61
cis-jasmon	0.53
Piperiton	0.47
$\gamma$ -kadinen	0.47
$\gamma$ -eudesmol	0,46
karyofillen oksit	0.33
$\gamma$ -terpinen	0.23
$\alpha$ -terpinen	0.23
bornil asetat	0,22
$\beta$ -karyofillen	0.14
$\alpha$ -kopaen	0.1

**Çizelge 2.2** *Achillea teretifolia* Bitkisinin % Uçucu Yağ Oranları-2 (Hacıoğlu 2005)

## 2.2 Mutajenik Çalışmalarda Bitki Test Sistemlerinin Kullanılması

Bitkiler, kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin belirlenmesinde çok uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Modern genetiğin birçok temel kavramı yüksek yapılı bitkilerle yapılan çalışmalar sonucu elde edilmiştir. Mutasyon terimi ilk defa Hugo de Vries tarafından 1909 yılında *Oenothera lamarckiana* bitkisinde meydana gelen kalıtsal değişiklikleri tanımlamak için kullanılmıştır (De Vries 1909).

Mutajenite çalışmalarında bitkilerin kullanımı, ilk defa Levan (1938) tarafından, kolşisinin *Allium cepa* kök hücrelerinde iğ ipliklerinin dağılmasına ve poliploidiye yol açtığını göstermesiyle başlamıştır. Bu test sistemine ek olarak kimyasalların kromozomlar üzerindeki etkisi araştırmak için *Vicia faba* (Amer et al. 1983),

*Tradescantia paludosa* (Dryanosvka 1987), *Hordeum vulgare* (Kluge et al. 1985), *Pisum sativum* (Amer et al. 1999) ve *Crepis capillaris* (Dimitrov 1994) gibi pek çok bitki türü yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bakteriler, düşük yapılı bitkiler, böcekler ve memeli hücrelerinde yapılan mutajenite çalışmalarının artmasıyla birlikte kimyasalların muhtemel mutajenik etkilerinin çalışılmasında yüksek yapılı bitki test sistemlerinin kullanılmasına olan ilgi de azalmaya başlamakla birlikte günümüzde halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü yüksek yapılı bitkilerde; kromozomlar kolay gözlemlenir. Kromozom analizleri basittir. Maliyetleri oldukça ucuzdur. Çok fazla kök ucu oluşur ve bu kök uçları test maddeleri ile direkt etkileşim halinde bulunmaktadır (Fiskesjö 1985, Grant 1992).

Yabancı bileşiklerin, moleküler düzeyde metabolizma üzerindeki etkilerinin henüz tam bilinmemesinden dolayı, elde edilen sonuçların, memeli test sistemleriyle değerlendirilmesi zordur. Bununla birlikte, bitki test sistemlerinin kullanımında aşılması gereken bazı zorluklar da vardır. Bilindiği gibi bitki ve hayvan hücreleri arasında temel yapısal farklılıklar vardır. Bitkilerdeki sıkı hücre duvarı belirli kimyasalların hücre içerisine girmesini etkilemekte ve bunun sonucunda memeli ve bitki hücreleri arasında etkiler bakımından farklılıklar olabilmektedir. Bunlara rağmen bitki ve hayvan hücrelerinde DNA yapısal ve fonksiyonel olarak benzerlik göstermektedir ve protein sentezi de aynıdır.

Kimyasal maddelerin mutajenitesinin çalışılmasında çok sayıda yüksek yapılı bitki türü kullanılmaktadır. Mitotik kromozom değişimleri arpa, fasulye ve soğan gibi bitkilerin kök uçlarındaki somatik hücrelerde ve polen tüplerinde kolaylıkla gözlemlenmektedir. Birçok türde bulunan polen ana hücresi gibi mayotik hücreler kimyasal olarak indüklenen kromozom aberasyonlarını belirlemek için uygundur. Spesifik lokuslarda meydana gelen gen mutasyonları mısır ve soya fasulyesinde, multilokus mutasyonları ise arpa ve mısırdaki incelenmektedir. Kromozom sistemleri kromozom hasar yapısının, kromozom ayrılmalarının ve genel mitoz olaylarının incelenmesine imkân vermektedir. Bitki kromozomları morfolojik olarak memeli ve diğer ökaryotlarla benzerlik göstermekte ve mutajenlere karşı cevapları da benzerdir (İnt.Kyn.3).

Constantin ve ekibinin (1982) US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program bünyesinde yapmış oldukları çalışmada, çeşitli kimyasal sınıftaki 350 bileşiğin bitkilerdeki mutajenik aktivitesini araştırmışlar ve diğer test sistemleriyle karşılaştırmışlardır. Bitki ve memeli kültür hücrelerinde yapılan deneyler sonucunda elde edilen verilerin bakteri ve Drosophila ile yapılan deneylerle elde edilen sonuçlarla korelasyon gösterdiklerini iddia etmişlerdir. Bitki kök uçlarındaki pestisitlerin deney sonuçları ile memeli hücrelerindeki kromozom aberasyonları büyük bir oranda benzerlik göstermiştir. Buna rağmen bazı pestisitlerin neden olduğu kromozom hasarları memeli hücreleriyle yapılan deneylerle elde edilen sonuçlarla uyuşmadığını belirtmişlerdir.

Toksisitenin izlenmesi için uygun test sistemleri arasında, Allium testi çok iyi bilinen ve birçok laboratuarda yaygın olarak kullanılan testtir. Çünkü soğanların saklanması ve kullanılması oldukça kolaydır ve kök ucu hücreleri makroskobik (büyüme, EC<sub>50</sub>) ve mikroskobik parametreler (c-mitoz, yapışıklık, kromozom kırıkları) için uygun bir sistem oluştururlar. Ayrıca Allium testinin sonuçları ökaryotik ve prokaryotik diğer test sonuçları ile yukarıda da değinildiği gibi iyi bir korelasyon göstermektedir. (Fiskesjö 1985).

### **3. MATERİYAL METOT**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Bitki Materyali**

Bu çalışmada büyük, kolay gözlenebilen ve az sayıda kromozomlarının olması, çimlenme ve elde edilmesinin ucuz olmasından dolayı materyal olarak *Allium cepa* ( $2n=16$ ) kullanılmıştır.

##### **3.1.2 Test Materyali ve İstatistiksel Analiz**

Araştırmada materyal olarak Doç. Dr. Mustafa Kargıoğlu ve Doç. Dr. Ahmet Serteser tarafından Afyonkarahisar ili Kumalar Dağı civarından toplanmış ve herbaryum ortamında saklanan, *Achillea teretifolia* bitkisinin sulu ekstresi çalışılmıştır. Negatif kontrol grubu olarak ise saf su ve pozitif kontrol grubu olarak metilmetanosülfonat (MMS) kullanılmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesi SPSS 15.0 for Windows paket programında Duncan testi ile yapılmıştır.

##### **3.1.3 Feulgen Boyasının Hazırlanışı**

Preparatların hazırlanmasında feulgen boyası kullanılmıştır. Feulgen çok fazla kullanıma yeri olan bir boyadır. Kromozom morfolojisi ve sayımı için kök uçlarında, embriyonik yaprak ve tomurcuklardaki bitki dokularında elverişli bir şekilde kullanılır. Feulgen boyası, bazik fuksinden, aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

1g kristal halinde fuksin bazik (parafuksin) alınır. Bu fuksin bazik, küçük bir havanda veya 8-10 cm çapında bir saat camı içinde ezilir. 500 cm<sup>3</sup>'lük bir erlenmayerin dip

kısmına, kabın etrafına bulaştırmadan bu ezilmiş, toz haline getirilmiş fuksin bazık konulur. Bir başka erlenmayerde 200 cm<sup>3</sup>'lük damıtık su kaynatılır. Toz halindeki fuksin bazık üzerine bu kaynamış damıtık su, yavaş yavaş dökülür. Bir yandan da cam çubuk ile boya devamlı olarak karıştırılır. Boyayı 50 °C'a kadar soğuyuncaya değin karıştırmaya devam edilir. 20 cm<sup>3</sup> N HCl ilave edilir. Oluşan karışım süzülür. 2g potasyum metabisülfid (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) ilave edilir. Boya ağzı iyice kapatılmış bir şişeye koyulur. En az bir gece olmak üzere 24 saat kadar, karanlık bir yerde dolapta bekletilir. Böylece vişneçürüğü rengindeki boya, açık çay rengini alır. Boya 4°C'da buzdolabında muhafaza edilir (Elçi, 1982).

### **3.1.4 Çalışmada Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması**

**1 N HCl Çözeltisinin Hazırlanması (25ml):** 2,1 ml dH<sub>2</sub>O üzerine 22,9 ml %37'lik saf HCl eklenir.

**%45'lik Glasiyal Asetik Asidin Hazırlanması (100 ml):** 55 ml dH<sub>2</sub>O üzerine 45 ml %100'lük saf glasiyal asetik asit eklenir.

**%70'lik Etil Alkolün Hazırlanması (100 ml):** %96'lık etil alkolden 72,9 ml alınır ve üzeri dH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanır.

**Pozitif Kontrol Çözeltisinin Hazırlanması:** 10 ppm metilmetanosülfonat çözeltisi hazırlamak için; 0.005 g metilmetanosülfonat tartılıp üzeri 500 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanmıştır.



## 3.2 Metot

### 3.2.1 LD<sub>50</sub> Değerinin Belirlenmesi

*Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen sulu ekstrenin sitogenetik etkilerinin incelenmesinde kullanılacak dozları belirlemek amacıyla önce büyüme engellemen testi yapılmıştır. Bunun için önce LD<sub>50</sub> değeri belirlenmiştir. LD<sub>50</sub> değeri belirlemek için aynı büyüklükteki soğanlar (3-4 cm çapında) alınarak dış kabukları çıkarılmış ve kök primordialarına zarar vermeyecek şekilde çimlenmiş olan köklerinden temizlenmiştir. *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen sulu ekstreden, 80, 60, 40, 20 ve 10 g/L'lik konsantrasyonları hazırlanmıştır. Negatif kontrol grubu olarak ise saf su kullanılmıştır. Her bir konsantrasyon ve kontrol grubunda 5'er adet soğan kullanılmıştır. Oda sıcaklığında (21°C ± 4 °C) dört gün çimlendirilen soğanlardan her bir konsantrasyon ve kontrol grubu için aynı soğan yumrusundan en iyi filizlenmiş 10'ar adet kök alınarak ortalama kök uzunlukları bulunmuştur. Bu süre zarfında çimlenen soğanların bulunduğu ortamdaki çözeltiler azaldıkça gerekli ilaveler yapılmıştır.

LD<sub>50</sub> değeri belirlemek için kök uçlarının büyümesini negatif kontrol grubuna göre % 50 azaltan doz esas alınmıştır. Tahmini LD<sub>50</sub> değeri, uygulanan 40 ve 60 g/L'lik uygulamaların ortalaması, 50 g/L'lik konsantrasyon esas alınmıştır. Uygulama dozlarının belirlenmesinde 2xLD<sub>50</sub>, LD<sub>50</sub> ve 1/2xLD<sub>50</sub> değerleri kullanılmıştır. Buna bağlı olarak *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen sulu ekstrenin 100, 50 ve 25 g/L'lik dozları kullanılmıştır. Saf su ise negatif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. *Allium cepa*'nın hücre döngüsü 24 saat olduğu için uygulama süresi 12, 24, 48, 72 ve 96 saat olarak belirlenmiştir.

*Allium cepa* kök uçlarına *Achillea teretifolia* sulu ekstresinin yukarıda verilen konsantrasyonlarını belirlenen sürelerde uygulamak için, her bir konsantrasyon için 5'er soğan 2 gün boyunca saf suda çimlenmeye bırakılmıştır. Bütün kök uçları aynı gün sabah saat 8<sup>30</sup>'da alınmıştır.

Bütün uygulamalardan sonra alınan kök uçları ayrı ayrı tüplere alınarak absöüt alkol: glasial asetik asit (3:1) fiksatif i içerisinde buzdolabında +4 °C'de 1 gece bekletilerek tespit edilmiştir. Daha sonra kök uçları % 70'lik alkol içerisinde alınarak +4 °C'de buzdolabında depolanmıştır. Mitotik indeks ve mitoz bölünmedeki anormalliklerin belirlenmesinde bu kök uçları kullanılmıştır.

Mitotik anormalliklerin, mitotik indeks (mitotik hücre sayısı/sayılan toplam hücre sayısı X 100) ve faz frekanslarının belirlenmesi için her dozun uygulama süreleri için farklı soğanlardan 5'er kök ucu alınarak ezme preparatlar hazırlanmıştır.

### **3.2.2 Feulgen Boyası İle Preparatların Hazırlanışı**

% 70'lik alkolden çıkarılan kök uçları % 45'lik asetik asit içerisinde alınmıştır. Bu çalışmada boyama ile hidroliz birlikte yapılmıştır. Bunun için kök uçları hızlı bir şekilde kurutma kâğıdında kurutulduktan sonra saat camı içerisinde alınarak bir miktar feulgen boyası ilave edilmiştir. Üzeri kapatılarak ışık geçirmeyen, karanlık bir ortamda 45 dakika bekletilmiştir. Boyama işlemi gerçekleştirildikten sonra kök uçlarının koyu boyanan kısımları 1-2 mm uzunluğunda kesilerek bir lamın üzerine 1 damla % 45'lik asetik asit konularak jiletle parçalanmıştır. Daha sonra üstleri lamelle kapatılarak ezme preparatları hazırlanmıştır. Lamellerin etrafı tırnak cilası ile kapatılarak preparatlar yarı daimi hale getirilmiştir.

Her bir preparatta 100 hücre sayılarak her bir dozun tek bir süresi için yapılan 10 preparatta toplam 1000 hücre, BX50 Olympus Araştırma mikroskobunda incelenmiştir. İncelemeler; negatif kontrol grubu, tüm uygulama grupları ve süreleri için gerçekleştirilmiştir. Daha sonra mitotik indeks belirlenerek mitozun her bir safhasındaki hücrelerin oranı belirlenmiştir. Mitotik anormallikler saptanarak en sık görülen anormalliklerin fotoğrafları x40 objektifte çekilmiştir.

### 3.2.3 Bitki Ekstresinin Hazırlanması

Çalışmamızda Afyonkarahisar ili Kumalar Dağları civarından toplanan *Achillea teretifolia* bitkisinin sulu ekstresi kullanılmıştır. Bitki ekstresi hazırlarken; herbaryum ortamında saklanmış bitki örneklerinden parçaları eksiksiz, çeşitli nedenlerden dolayı uzuvları kopmuş yada zarar görmemiş bitkiler seçilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız ekstrede toprak üstü organları (gövde, çiçek, yaprak, meyve) kullandığımızdan dolayı örneklerin kök kısımları bıçak yardımı ile kesilmiştir. Bir havanın içine, bitkiler teker teker bıçak yardımı ile küçük parçalar halinde doğranmıştır. Doğranan parçalar sıvı azot yardımı ile havanda dövülerek toz haline getirilmiştir. Elde edilen bitki tozundan 25 g hassas tartı ile tartılmıştır. 25 g bitki tozunun üzerine 250 ml su ilave edilerek 80 °C'lik sıcak su banyosunda 30 dakika demlendirilmiştir. Demlendirilmiş ekstre filtre kağıdı süzümüştür. Geriye kalan tortu steril gazlı bez içerisine alınarak iyice sıkılmıştır. Bu işlemler sonrasında elde edilen ekstreye 10 ml kalıncaya kadar 65 °C' de evaporasyon işlemi uygulanmıştır. 10 ml'lik ekstrede 25, 50 ve 100 g/L'lik uygulama dozları elde edilmiştir.

## 4. SONUÇ VE TARTIŞMA

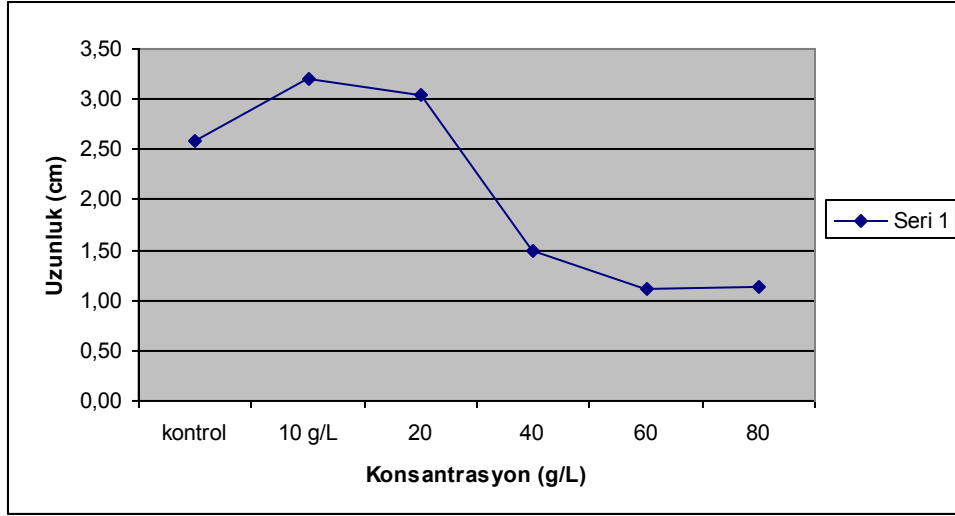
### 4.1 Sonuçlar

#### 4.1.1 Büyüme Engelleme Testi

*Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrenin LD<sub>50</sub> değerinin belirlenmesi için büyüme engelleme testi yapılmıştır. *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrenin 10, 20, 40, 60 ve 80 g/L'lik konsantrasyonları hazırlanmış, negatif kontrol grubu olarak da saf su kullanılmıştır (Şekil 4.1). Her bir konsantrasyon ve negatif kontrol grubu için 5'er adet soğan kullanılmıştır. Soğanlar 4 gün boyunca çimlendirilmiş olup azalan konsantrasyonlara ilaveler yapılmıştır. 4. gün sonunda her bir konsantrasyon için her bir soğandan en iyi filizlenmiş 10 kök alınarak toplam 50 kök ucundan her bir konsantrasyon için ortalama kök uzunluğu bulunmuştur (Şekil 4.2). Negatif kontrolde çimlendirilen soğanların ortalama kök uzunluğu olan 2.60 cm uzunluğunun yarısı olan 1.30 cm veya buna en yakın olan 40 ile 60 g/L konsantrasyonları arasında, (LD<sub>50</sub>) 50 g/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).



**Şekil 4.1** *Achillea teretifolia* bitkisinin sulu ekstrelerinin büyüme engelleme testi. Dozlar soldan sağa doğru negatif kontrol, 10, 20, 40, 60 ve 80 g/L.



**Şekil 4.2** *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde *Achillea teretifolia* sulu ekstresi konsantrasyonuna bağlı olarak değişen ortalama kök uzunlukları

Dozlar (g/L)	Ortalama uzunluk (cm)	% Büyüme	% Büyümede artma (+) ve azalma (-)
Kontrol	2.60	100	0.00
10	3.19	122.69	+22.69
20	3.05	117.30	+17.30
40	1.50	57.69	-42.30
60	1.11	42.69	-57.30
80	1.13	43.46	-56.53

**Çizelge 4.1** *Achillea teretifolia* bitki ekstresinin büyüme engelleyici testi sonuçları

Çizelgeye (4.1) bakıldığı zaman 10 ve 20 g/L'lik konsantrasyonlarla muamele edilen soğanlarda kök uzunlukları, kontrol grubuna göre daha uzun olduğu gözlemlenmiştir. 20 g/L'den itibaren konsantrasyon arttıkça saçak köklerin renklerinin koyulaştığı, kalınlıklarının arttığı ve jelatinimsi bir yapı kazandıkları gözlemlenmiştir.

#### 4.1.2 Mitotik İndeks ve Mitotik Faz Frekansları

*Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen sulu ekstrenin *Allium cepa* kök uçlarına uygulanmasıyla mitotik indekste meydana getirdiği değişimler Duncan çoklu dağılım testi ile incelenmiştir. Kullanılan ekstrenin doz ve uygulama süreleri, mitotik indeksi değişik şekilde etkilemişlerdir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3). En düşük mitotik indeks pozitif kontrol grubunun 96 saatlik uygulamasında en yüksek mitotik indeks ise 100 g/L'lik ekstrakt konsantrasyon grubunun 96 saatlik uygulamasında elde edilmiştir. Mitotik indeks konsantrasyon artışı ile doğru orantılı olarak artmıştır. Bütün konsantrasyon gruplarında mitotik indeks kontrol grubuna göre artmış olup bu artmalar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur.

*Achillea teretifolia* mitotik faz frekanslarına etkisi incelendiğinde profaz frekanslarının 25 g/L'lik uygulamalarda kontrole göre, 24 saatlik ve 72 saatlik gruplarda gözlenen değişimlerde istatistiksel olarak bir fark bulunmazken, 12, 48 ve 96 saatlik gruplarda gözlenen artış istatistiksel olarak anlamlıdır. Profaz frekansının, 50 ve 100 g/L'lik ekstrakt uygulamalarında, oranları artış şeklinde olup, bu iki konsantrasyonun (50 ve 100 g/L) kendi aralarında profaz frekansına etkileri istatistiksel olarak aynıdır. Metafaz frekansları, 25 g/L'lik ekstrakt uygulamasının 24 ve 96 saatlik gruplarında, kontrol grubuna göre oranı istatistiksel olarak farksızdır. Diğer konsantrasyon grupları (50 ve 100 g/L) ise kontrol grubuna göre azalış göstermiştir. Anafaz frekanslarında, genel olarak konsantrasyon uygulamaları kontrol grubuna göre düşüş göstermiş olup sadece 24 saatte 25 g/L'lik uygulama grubu kontrol grubuna göre artmış ve 72 saatte ise istatistiksel olarak herhangi bir farklılık göstermemiştir. 24 saatlik 25 g/L'lik ekstrakt uygulama grubunda telofaz frekansı oranı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemsiz görülürken, diğer bütün uygulama konsantrasyonlarında ise kontrol gruplarına göre düşüşler şeklinde olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

Konsantrasyon (g/L)	Sayılan Hücre	Mitotik İndeks ± Stantard hata*	Mitotik Faz Safhaları (%) ± Stantard hata*			
			Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz
<b>Kontrol- 12 saat</b>	5078	36.08± 0.54a	69.55±2.91a	12.88±0.83a	11.61±2.83a	5.96±1.39a
<b>Pozitif kontrol</b>	5131	25.95±3.49b	96.39±0.7b	2.21±0.08b	0.89±0.05b	0.51±0.06b
<b>25</b>	5037	41.52 ± 0.74c	80.24±4.52c	10.1±1.05c	6.28±2.97ab	3.38±0.69c
<b>50</b>	5138	44.37±0.72d	93.08±0.65b	4.23±0.46b	0.93±0.21b	1.76±0.62bc
<b>100</b>	5109	56.92±1.75e	91.15±0.98b	6.96±1.85d	1.35±0.35b	0.54±0.11b
<b>Kontrol- 24 saat</b>	5136	35.71±0.6a	84.21±2.15a	5.83±0.85a	3.45±0.5a	6.51±1.07a
<b>Pozitif kontrol</b>	5114	25.55±0.84b	89.38±1.32b	5.85±0.47a	3.52±0.6a	1.25±0.27b
<b>25</b>	5122	44.88±0.61c	82.01±2.32a	6.68±0.71a	5.24±0.67b	6.07±1.17a
<b>50</b>	5190	53.59±0.4d	94.30±0.19c	3.48±0.12b	1.57±0.09c	0.65±0.07b
<b>100</b>	5062	58.36±0.55e	96.8±0.33c	2.7±0.13b	0.27±0.1c	0.23±0.06b
<b>Kontrol- 48 saat</b>	5200	36.57±0.32a	85.70±1.21a	6.25±0.34a	4.5±0.39a	3.55±0.58a
<b>Pozitif kontrol</b>	5252	30.08±1.41b	84.68±0.53a	8.88±0.32b	5.25±0.42a	1.19±0.19b
<b>25</b>	5186	45.07±0.49c	91.54±0.78b	4.79±0.33c	2.52±0.28b	1.15±0.24b
<b>50</b>	5164	55.1±0.6d	95.76±0.3c	2.38±0.29d	1.16±0.05c	0.7±0.07b
<b>100</b>	5138	58.34±0.6e	94.79±0.55c	4.12±0.55c	0.79±0.15c	0.3±0.08b
<b>Kontrol-72 saat</b>	5244	34.38±0.94a	84.42±0.77a	7.22±0.39a	5.24±0.32a	3.12±0.26a
<b>Pozitif kontrol</b>	5027	29.3±1b	81.29±2.19b	11.23±1.03b	4.54±0.81a	2.94±0.48a
<b>25</b>	5168	46.05±0.89c	87.86±1.12a	6.52±0.64ac	4.03±0.24a	1.58±0.29b
<b>50</b>	5220	55.89±0.64d	93.16±0.38c	5.54±0.18c	1.27±0.15b	0.42±0.13c
<b>100</b>	5203	59.78±0.34e	93.01±0.45c	5.31±0.26c	1.49±0.19b	0.19±0.03c
<b>Kontrol- 96 saat</b>	5102	39.97±0.4a	82.14±0.33a	8.84±0.55a	5.22±0.32a	3.8±0.18a
<b>Pozitif Kontrol</b>	5176	24.9±1.08b	76.64±1.76b	11.37±0.66b	7.66±1.18b	4.33±0.16b
<b>25</b>	5213	41.32±0.62c	87.44±0.88c	7.57±0.62a	3.17±0.3c	1.84±0.13c
<b>50</b>	5115	54.95±0.86d	95.65±0.53d	3.54±0.49c	0.56±0.09d	0.25±0.04d
<b>100</b>	5124	61.46±2.01e	98.13±0.11d	1.49±0.06d	0.29±0.06d	0.09±0.04d

Çizelge 4.2 *Achillea teretifolia* bitkisinin sulu ekstresinin farklı konsantrasyonlarda, *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme üzerine etkileri \*Sütunlardaki farklı küçük harfler p< 0.05 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. Kontrol grubuna göre değişimler anlamlıdır. (Duncan çoklu dağılım testi)

### 4.1.3 *Achillea teretifolia* Bitkisinden Elde Edilen Ekstrenin Neden Olduğu Anormalliklerin Tipleri ve Oranları

*Achillea teretifolia* ekstresinin neden olduğu anormalliklerin tipleri ve oranları çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Mitotik anormallik değerleri Duncan çoklu dağılım testi ile değerlendirilmiştir. En fazla anormallik olayına *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrenin 100 g/L'lik konsantrasyonun 72 saatlik uygulanmasında, en az anormallik olayına ise 25 g/L'lik konsantrasyonun 24 saatlik uygulanmasında rastlanılmıştır. *Achillea teretifolia* bitki ekstresinin bütün konsantrasyon ve uygulama sürelerinde en fazla görülen anormallikler c-mitoz, prometafaz ve bozulmuş anafaz-telofazdır. C-mitoz en fazla görülen anormallik olup % 45.54 oranında tespit edilmiştir. Bunu % 13.3 oranında prometafaz ve % 9.34 oranında bozulmuş anafaz-telofaz izlemektedir. Bunların dışında yapışıklık (% 8.97), kalgın kromozom (% 3.96), anafaz köprüsü (% 2.69) ve poliploidi (% 2.32) anormallikleri de belirlenmiştir. İnterfaz safhasında ise çekirdek bozukluğu (% 21.48), mikrotüküs (% 12.63) ve binükleer hücre (% 11.81) tipleri gözlenmiştir.

*Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrenin uygulanan bütün doz ve süreleri kolşisin benzeri etki göstererek kromozomların metafazda dağılmasını sağlayarak c-mitoza yol açmıştır (Şekil 4.4).

Prometafaz olayına (Şekil 4.4) en fazla kontrol grubunun 24 saatlik uygulanmasında, en az kontrol grubunun 12 saatlik uygulamasında rastlanmıştır. Uygulama sürelerinin 12 saatlik pozitif kontrol grubu ve 24 saatlik uygulamalar haricinde, bütün uygulama dozu ve sürelerinde prometafaz olayı kontrol grubuna göre artış göstermiştir.

*Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrenin neden olduğu diğer bir anormallikte bozulmuş anafaz-telofazdır (Şekil 4.5). 12 saatlik uygulamanın 50 g/L'lik ve 24 saatlik uygulamanın 100 g/L'lik konsantrasyonları haricinde, uygulanan bütün doz ve sürelerde bozulmuş anafaz-telofaz olayı kontrol gruplarına göre artış göstermiştir.



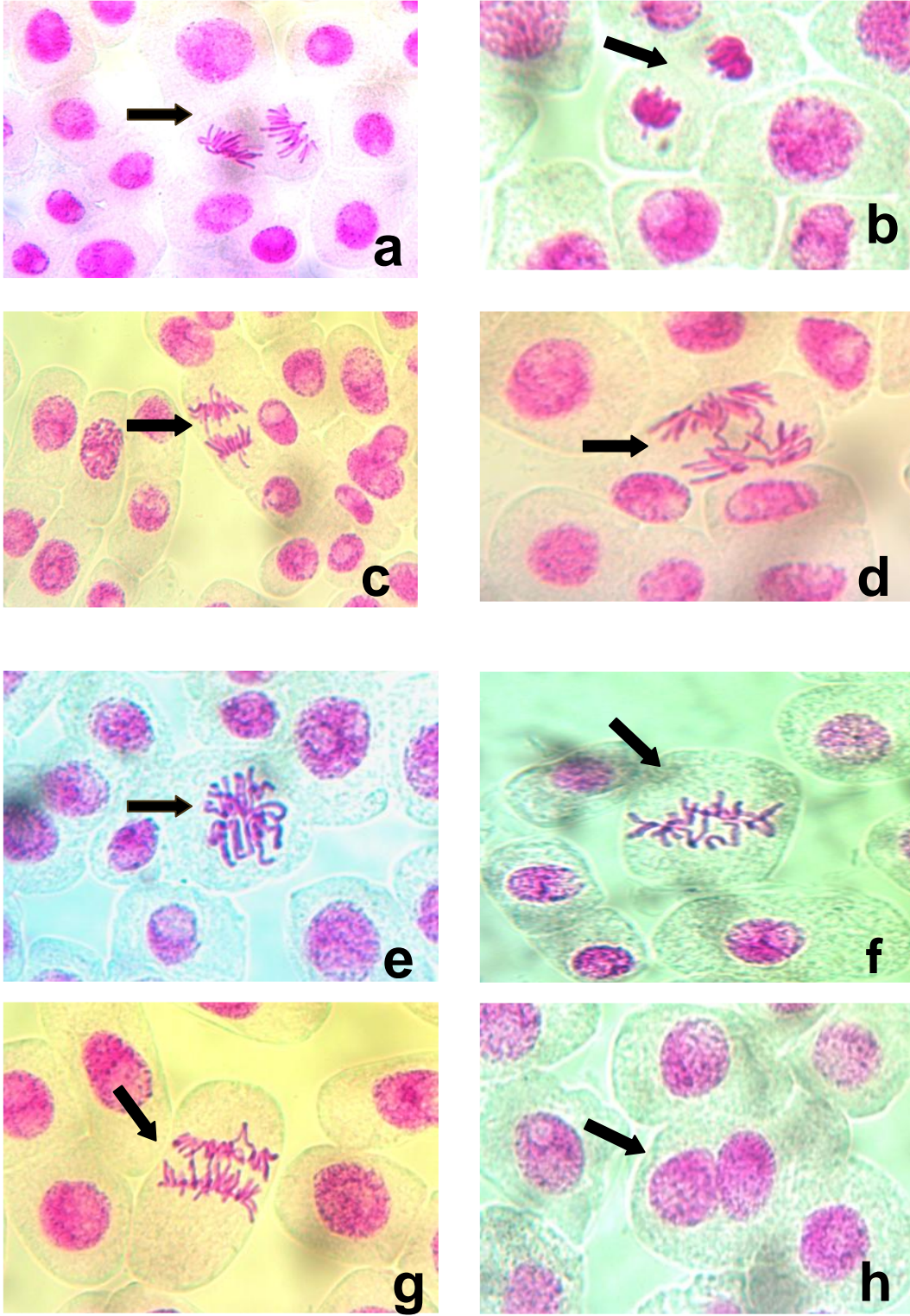
Yapışıklık olayı en yüksek 96 saatlik uygulamanın 100 g/L'lik dozunda, en düşük 12 saatlik uygulamanın 25 g/L'lik dozunda görülmüştür.

Diğer anormalliklerden kalgın kromozom olayına en yüksek oranda 24 saatlik uygulamanın 100 g/L'lik dozunda, en düşük oranda ise 12 saatlik uygulamanın 50 g/L'lik dozunda rastlanmıştır.

Anafaz köprüsü (Şekil 4.5), 12 saatlik uygulamanın 25 ve 50 g/L'lik dozları haricinde bütün uygulama süreleri ve dozlarında kontrol grubuna göre artmıştır.

Poliploidi olayına (Şekil 4.4) ise 12 saatlik pozitif kontrol grubunda rastlanmamıştır. 12 saat 50 g/L, 24 saat 100 g/L, 96 saatlik 25 ve 100 g/L'lik uygulamalar dışında bütün doz ve sürelerde kontrol grubuna göre arttığı gözlenmiştir.

Binükleer hücre oluşumuna (Şekil 4.6) 12 saatlik pozitif kontrol grubu ve 96 saatlik uygulamanın 100g/L'lik dozunda rastlanmamıştır. Diğer uygulama zamanı ve dozlarda kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında artışlar ve azalışlar şeklinde olduğu görülmüştür.



Şekil 4.3 *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstre ile muamele edilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde görülen anormallikler (x40' lık büyütme) a- bozulmuş anafaz telofaz b- yapışıklık c- kalgın kromozom d- anafaz köprüsü e- prometafaz f- c mitoz g- poliploidi h- binükleer hücre

Konsantrasyon (g/L)	İncelenen Hücre Sayısı	Anafaz-telofazdaki Anormallikler (%)					Diğer Anormallikler (%)					
		Yapışkanlık	Anafaz köprüsü	Kalın kromozom	Bozulmuş anafaz-telofaz	Toplam Anormallikler (%± S.H)	Sayılan hücre sayısı	C-metafaz	prometafaz	Poliploidi	Binükleer Hücre	Toplam (%± S.H)
Kontrol-12 saat	500	4	4	6	7.20	<b>20.2±2.26a</b>	5078	0.37	0.38	0.28	0.6	<b>1.08±0.11a</b>
Pozitif kontrol	54	17.27	10.3	13.11	26.74	<b>67.42±10.86b</b>	5131	0.21	0.35	-	-	<b>0.56±0.04a</b>
25	418	1.67	1.2	5.02	8.13	<b>16.06±0.23a</b>	5037	0.4	0.72	0.36	0.26	<b>1.74±0.87b</b>
50	340	2.35	1.18	2.06	4.12	<b>9.79±0.98a</b>	5138	0.12	0.92	0.18	0.55	<b>1.77±0.12b</b>
100	142	4.93	4.23	12.68	16.2	<b>38.35±3.26c</b>	5109	0.42	1.95	0.39	0.29	<b>2.99±0.6c</b>
Kontrol-24 saat	500	2.4	2	4.4	5.8	<b>14.6±1.24a</b>	5136	0.16	2.29	0.08	0.2	<b>1.67±0.11a</b>
Pozitif kontrol	291	4.41	3.48	5.47	6.28	<b>19.63±1a</b>	5114	0.29	0.63	0.16	0.08	<b>1.15±0.08b</b>
25	500	2.4	3.2	8	7.6	<b>21.2±0.96a</b>	5122	0.35	1	0.14	0.08	<b>1.56±0.09a</b>
50	222	4.55	2.51	4.34	8.88	<b>20.27±2.1a</b>	5190	0.31	1.25	0.14	0.04	<b>1.73±0.1a</b>
100	74	2.26	2.36	8.12	5.12	<b>17.95±3.54a</b>	5062	0.16	1.42	0.08	0.2	<b>1.86±0.23a</b>
Kontrol- 48 saat	500	1.8	2.8	3.2	4	<b>11.8±0.73a</b>	5200	0.46	0.58	0.12	0.15	<b>1.3±0.17a</b>
Pozitif kontrol	286	3.76	3.28	9.66	9.17	<b>25.86±0.59b</b>	5252	0.53	0.65	0.13	0.17	<b>1.48±0.05a</b>
25	386	4.9	4.9	13.96	12.16	<b>35.91±1.34c</b>	5186	0.8	1.14	0.24	0.17	<b>2.34±0.03bc</b>
50	206	3.88	8.25	9.37	16.39	<b>37.89±0.69c</b>	5164	0.68	1.53	0.21	0.15	<b>2.57±0.07c</b>
100	66	5.84	14.79	26.17	30.7	<b>75.51±3.89d</b>	5138	0.49	1.41	0.15	0.05	<b>2.09±0.19b</b>
Kontrol- 72 saat	500	4.2	4	5	5.2	<b>18.4±1.72a</b>	5244	0.50	0.74	0.08	0.13	<b>1.45±0.09a</b>
Pozitif kontrol	299	14.95	6.89	10.39	10.4	<b>42.62±2.41b</b>	5027	s	0.85	0.16	0.06	<b>1.76±0.1a</b>
25	362	5.75	7.97	14.87	14.17	<b>45.72±1.54b</b>	5168	0.91	1.29	0.25	0.25	<b>2.7±0.19b</b>
50	156	4.89	9.19	14.17	18.71	<b>46.96±2.09b</b>	5220	0.82	1.88	0.29	0.4	<b>3.39±0.15c</b>
100	81	10.17	28.76	18.8	24.84	<b>82.56±2.69c</b>	5203	1.9	2.11	0.13	1.63	<b>4.47±0.18d</b>
Kontrol- 96 saat	500	4.2	4	5.2	6.4	<b>19.8±3.1a</b>	5102	0.67	0.61	0.1	0.06	<b>1.42±0.11a</b>
Pozitif kontrol	320	18.09	9.19	12.43	12.67	<b>52.37±2b</b>	5176	1.88	2.11	0.27	0.15	<b>4.4±0.27b</b>
25	390	14.58	5.65	13.09	17.20	<b>50.51±1.53b</b>	5213	1.13	1.26	0.08	0.06	<b>2.52±0.05c</b>
50	160	21.94	16.9	15.7	13.78	<b>68.32±7.01c</b>	5115	0.72	1.35	0.19	0.02	<b>2.28±0.26c</b>
100	62	32.51	11.14	16.84	17.46	<b>77.96±2.47c</b>	5124	1.54	1.78	0.08	-	<b>3.39±0.1d</b>

Çizelge 4.3 *Achillea teretifolia* bitki ekstresinin neden olduğu anormalliklerin tipleri ve oranları \* Sütunlardaki farklı küçük harfler p< 0.05 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. Kontrol grubuna göre değişimler anlamlıdır. (Duncan çoklu dağılım testi)

## 4.2 Tartışma

Mutajenite çalışmalarında bitkilerin kullanımı ilk defa Levan (1938) tarafından kolşisinin *Allium cepa* kök hücrelerinde iğ ipliklerinin dağılmasına ve poliploidiye yol açtığını göstermesiyle başlamıştır. Bu test sistemine ek olarak kimyasalların kromozomlar üzerindeki etkisi araştırmak için *Vicia faba* (Amer ve Ali 1983), *Tradescantia paludosa* (Dryanosvka 1987), *Hordeum vulgare* (Kluge et al. 1985), *Pisum sativum* (Amer et al. 1999) ve *Crepis capillaris* (Dimitrov 1994) gibi pek çok bitki türü yaygın olarak kullanılmaktadır.

Toksisitenin izlenmesi için uygun test sistemleri arasında, *Allium* testi çok iyi bilinmekte olup birçok laboratuarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Fiskesjö 1985, Grant 1992, Kara et al. 1994, Smaka-Kincl et al. 1996, Rank et al. 2002, Evseeva et al. 2003, Yüzbaşıoğlu et al. 2003). Çünkü soğanların depo edilmesi ve kullanılması oldukça kolay olup, kök ucu hücrelerinde makroskobik (büyüme, EC<sub>50</sub>) ve mikroskobik parametreler (c-mitoz, yapışıklılık, kromozom kırıkları) için uygun bir sistem oluşturmaktadır. Ayrıca *Allium* testinin sonuçları ökaryotik ve prokaryotik diğer test sonuçları ile iyi bir korelasyon göstermektedir (Fiskesjö 1985).

Bu çalışmada *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen sulu ekstrenin *Allium cepa* kök ucu hücrelerine olan etkileri araştırılmıştır. *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen sulu ekstrenin *Allium cepa* kök ucu hücrelerine olan etkilerini araştırmada kullanılacak doz miktarlarını belirlemek için büyüme engelleme testi uygulanarak LD<sub>50</sub> değeri tespit edilmiştir. LD<sub>50</sub> değerini belirlemek için kök uçlarının büyümesini kontrole göre % 50 oranında azaltan doz esas alınmaktadır (Fiskesjö 1988, Rank et al. 1994, Ateeg et al. 2002, Rank et al. 2002, Yüzbaşıoğlu et al. 2003). Bu çalışmada *Achillea teretifolia* sulu ekstresinin LD<sub>50</sub> değeri 50 g/L olarak bulunmuştur. Ancak etkileri araştırılacak maddelerin LD<sub>50</sub> değerinin belirlenmediği çalışmalar da bulunmaktadır (Panda et al. 1985, Evseeva et al. 2003).

LD<sub>50</sub> değerini belirlemek için kullanılan *Achillea teretifolia* ekstresinin konsantrasyonu 50 g/L'den itibaren konsantrasyon azaldıkça büyümenin kontrol grubuna göre arttığı, buna karşın 50 g/L'den itibaren artan konsantrasyona bağlı olarak saçak köklerin

renklerinin koyulaştığı, kalınlıklarının arttığı, jelatinimsi bir yapı kazandıkları ve kök uçlarındaki büyümenin kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. 10 g/L'de büyümedeki artış kontrol grubuna göre % 23 iken, 80 g/L'deki büyüme kontrol grubuna göre % 56 oranında azalmıştır. Bu sonuç *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrenin, düşük dozlarda bitkilerin normal gelişmesi için faydalı olduğunu fakat 50 g/L'den yüksek dozları ile bitkilerin büyüme ve gelişmesini olumsuz etkilediği görüşünü desteklemektedir.

Soğan kök uçlarındaki büyümenin kontrol grubuna göre % 45'den daha fazla azalması, bitkiler üzerinde büyük bir olasılıkla subletal etkiye sahip toksik maddelerin varlığına işaret etmektedir (Fiskesjö 1985, Wierzbicka 1988, Hidalgo et al. 1989, Antonsiewicz 1990). Bu bilgiye dayanarak *Achillea teretifolia* bitkisinin 60 ve 80 g/L'lik sulu ekstre konsantrasyonlarının, *Allium cepa* kök uçlarına subletal etkisinin olduğu sonucunu söyleyebiliriz.

Hacıoğlu (2005) yaptığı çalışmalarda, *Achillea teretifolia* uçucu yağında ana bileşen olarak % 81.95 oranında krisantenil asetat tespit etmiştir (Çizelge 2.1). *Achillea teretifolia*'da krisantenil asetatın tek başına ana bileşen olarak belirlenmesi ve bu kadar yüksek oranda gözlenmesi araştırma sırasında dikkati çeken bir durum olmuştur. Krisantenil asetat çalışılan diğer örneklerden sadece *A. spinulifolia* türünde % 1.34 oranında görülmüştür. Yapılan değerlendirmeler sonucunda; krisantenil asetatın kamforun öncü molekülü olması nedeniyle, bitki örneğinin toplanma periyodu sırasında henüz kamfor hidrolizini tamamlamamış olduğu düşüncesini akla getirmiştir.

Ünlü vd. (2002) *Achillea teretifolia* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, bitkinin ana bileşenleri olarak; 1,8 sineol (% 19.9), kamfor (% 11.1) ve borneol (% 11.9) belirlenmiştir (Çizelge 2.2). (Ünlü et al. 2002).

Yukarıda belirtilen iki çalışmada da *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrelerin uçucu yağ bileşenlerinin ve miktarlarının birbirinden farklı olduğu göze çarpmaktadır. Ünlü ve arkadaşları (2002), *Achillea* ekstrelerinin uçucu yağlarında görülen önemli kantitatif farklılıkların başlıca nedeninin; çevresel faktörler, bitkinin

toplandığı lökasyon, bitkinin kısımları (kök, göet ale, meyve, çiçek, yaprak vb.) ve ekstrenin hazırlanma yöntemi (çay, dekoksiyon, demlenme) olabileceğini belirtmişlerdir.

Hacıoğlu (2005) yaptığı çalışmaların sonucunda *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrede en fazla bulunan uçucu yağın krisantenil asetat olduğunu ve diğer bileşenlere oranla daha yüksek miktarda bulunduğunu belirlemiştir (Çizelge 2.1). Ünlü ve arkadaşları (2002) ise, *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrede en fazla bulunan uçucu yağın kamfor olduğunu bulmuşlardır (Çizelge 2.2). Yapılan değerlendirmeler sonucunda; krisantenil asetatın kamforun öncü molekülü olması nedeniyle, bitki örneğinin toplanma periyodu sırasında henüz kamfor hidrolizini tamamlamamış olduğu düşüncesini akla getirmiştir (Hacıoğlu 2005).

Yapılan çalışmalarda, 1,8 sineol, borneol ve kamfor'un antimikrobiyal özelliklere sahip oldukları belirlenmiştir (Prudent et al. 1993, Aligiannis et al. 2000, Tabanca et al. 2001). Yine daha önce yapılan çalışmalarda; kamfen, e-pinen ve piperitonun da antimikrobiyal aktivite gösterebileceği ile ilgili bilgilere de rastlanmaktadır (Sökmen et al. 2003, Alma et al. 2004, Santoyo et al. 2005). Bu bileşiklerden özellikle kamfor, 1,8 sineol, borneol, kamfen, piperiton ve e-pinen *Achillea* türlerinin ana bileşenleri olarak belirlenmiştir (Çizelge 2.1). Dolayısı ile çeşitli araştırmalarda *Achillea* taksonlarıyla ilgili çalışmalardan elde edilen, özellikle antibakteriyel aktivite sonuçları bu bileşiklerden birinin ya da birkaçının etkisi sonucu ortaya çıkmış olabilir. Bunun yanında, *Achillea* taksonlarının esansiyel yağlarındaki temel bileşenlerle yapılmış çalışmalarda; antibakteriyel, antifungal ve antiviral özelliklerinin bulunduğu da rapor edilmiştir (Crippa et al. 1989, Sivropoulou et al. 1996, Demirci 2000).

Ünlü ve arkadaşları (2002), Sivas'dan topladıkları *A. teretifolia* ile yaptıkları bir araştırmada; ana bileşenler olarak 1,8 sineol (% 19.9), kamfor (% 11.1) ve borneol'ü (% 11.9) belirlemişlerdir.

Kotan ve arkadaşları (2010), ekonomik önemi olan çeşitli tohum ve bitkiler için hastalık etkeni olan bazı bakteri türleri üzerine *Achillea millefolium*'un etkileri incelenmiştir.

Araştırmalar sonucunda, *Achillea millefolium* bitkisinden elde edilmiş ekstrenin *A. piechaudii* RK-155, *B. pumilus* RK-106, *C. violaceum* RK-231, *E. rhapontici* RK-208, *Flavobacter* sp. RK-299, *P. agglomerans* RK-84, *P. huttiensis* RK-260, *P. syringae* pv. *syringae* RK-204, *P. syringae* pv. *tomato* RK-Ps-tom, *X. axonopodis* pv. *malvacearum* RK-Xa-mal, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* Xcv110c, *X. campestris* pv. *raphani* RK-Xc-rap, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* RK-Xcv761, *X. axonopodis* pv. *vitians* Xa-vit, *X. campestris* pv. *zinniae* Xc-zin ve *X. axonopodis* pv. *pelargonii* RK-Xa-pel gibi çeşitli tohum ve bitkilerde patojen olan bakteriler için önemli düzeyde antimikrobiyal etkisi olduğu görülmüştür. Araştırmada, *Achillea millefolium* bitkisinden elde edilen bazı temel bileşenlerin 1,8- sineol, -cadinol ve karyofilen oksit olduğu anlaşılmıştır.

*Achillea gypsicola* ve *Achillea biebersteinii* bitkilerinden elde edilmiş esensiyal yağlar ve n-hekzan ekstresinin antifungal ve herbisidal etkileri üzerine araştırmalar yapılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, *Achillea gypsicola* ve *Achillea biebersteinii* bitkilerinden elde edilmiş hekzan ekstrakt benzer antifungal etkiler göstermişlerdir. Her iki bitkininde hekzan ekstresi, *Botrytis* sp., *F. oxysporum*, *Monilinia* sp. and *R. Solani*'e karşı zayıf fungitoksik etki göstermişlerdir. İki ekstre de *F. equiseti* and *F. graminearum* bitkilerinde güçlü bir şekilde büyüme ve gelişmeye pozitif etkileri görülmüştür. (Kordali et al. 2009)

zbek (2006) yaptığı çalışmasında, Ames/*Salmonella* mikrozom test sistemi kullanılarak *Achillea millefolium* bitkisinin mutejenik etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, *Achillea millefolium*'un doza bağlı olarak sadece TA 1535 suşunda, 5µg/petri dozunda ve %37 inhibisyon etkiyle orta derecede antimutajenik etki gösterdiği anlaşılmıştır.

*Achillea clavennae* ile yapılan çalışmalarda, spektroskopik metodlarla bitkinin kimyasal bileşenleri belirlenmiştir. Bitkide bulunan flavanol, guainolidler ve apressin; HeLa, K562 ve Fem-X insan kanser hücrelerinde oldukça güçlü sitotoksik etki göstermiştir. En yüksek sitotoksosite değeri; bilim dünyasında sitotoksik etkisi oldukça iyi bilinen flavanol, centareidinde saptanmıştır (Trifunovic 2006).

İnsan lenfositlerinde, miyomisin ve sitozin- $\beta$ -arabin-furanositin neden olduğu kromozom hasarlarında, bitki ekstrelerinin aktivitesi araştırılmıştır. Hücreler 72 saat *Achillea millefolium* ekstresi ile muamele edilmiştir. Çalışmalar sonucunda, *Achillea millefolium* ekstresine tabii tutulan hücreler ile negatif kontrol grubuna tabii tutulan hücreler arasında önemli bir fark görülmemiştir. Bununla birlikte, miyomisin tatbiki ardından *Achillea millefolium* ekstresiyle muamele edilmiş hücrelerde kromozom bozuklukları önemli ölçüde artmıştır (Roncada et al. 2004).

Saeidinia ve ekibi (2006), Brine Shrimp sitotoksosite testi ile *Achillea talagonica* ve *Achillea tenuifolia* türlerinden elde edilen ekstraktların, *Artemia Salina* yumurtaları üzerindeki sitotoksitelerini belirlemişlerdir. Sonuç olarak, sitotoksosite testinde en yüksek etki *A. talagonica* ( $LC_{50}=413\mu M$ ) bitkisinde görülmüştür.

Medikal önemi olan *Artemisia annua* L. ve *Achillea millefolium* bitkilerin, tarım alanlarında zarara sebep olan *Pieris rapae* L üzerindeki biyolojik etkileri ve haşere önleyici özellikleri çalışılmıştır. Çalışmalar sonucunda, *Achillea millefolium*'un *Pieris rapae* L. için  $LD_{50}$  değeri % 4.19,  $LD_{25}$  değeri ise % 1.69 olarak belirlenmiştir (Masoumeh et al. 2011).

*Achillea teretifolia* bitkisinin bağlı olduğu *Asteraceae* familyasının bir başka üyesi olan, *Vernonia amygdalina* bitkisinin yapraklarından elde edilen sulu ekstrenin *Allium ceja* L. kök meristem hücrelerinde mitotik indeks üzerine etkileri araştırılmıştır. Bitki yapraklarından elde edilen ekstrenin 200, 400 ve 500 g/L'lik konsantrasyonları hazırlanmıştır. Çalışmaların sonucunda kontrol grubu ve 100 g/L'lik uygulama grubunda kromozom anormallikleri görülmemiştir. Konsantrasyon arttıkça kromozomal anormalliklerde artıp, mitotik indeks azalmıştır (Adegbite ve Sanyaolu 2009).

Bagatini ve arkadaşları (2008), *Asteraceae* familyasının bir başka üyesi olan *Solidago microglossa* bitkisinden elde edilen ekstrenin *Allium cepa* kök meristem hücrelerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bitki ekstresinden 1.75 mg/mL ve 14 mg/mL'lik konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Araştırmalar sonucunda, 14 mg/mL'lik



konsantrasyonun mitotik indeks üzerinde önemli ölçüde düşüş meydana getirdiği gözlenmiştir.

Brezilya’da halk arasında tedavi amaçlı olarak yaygın kullanılan, *Asteraceae* familyasının iki üyesi *Baccharis trimera* ve *Baccharis articulata* bitkilerinin *Allium cepa* kök meristem hücrelerindeki etkileri belirlenmiştir. Bitkilerden 15 mg/mL ile 75 mg/mL’lik sulu ekstre çözeltileri hazırlanmıştır. Her iki bitkinin de sulu ekstreleri mitotik indekste azalma meydana getirmiştir. Çalışmanın sonucunda, *Baccharis trimera* ve *Baccharis articulata* bitkilerinin antiproliferatif ve mutajenik etkileri olduğu anlaşılmıştır (Fachinnetto ve Tudesco 2009).

Halk arasında sindirim sistemi hastalıkları ve inflamasyon tedavisinde kullanılan *Asteraceae* familyasına ait *Achyrocline saturoides* bitkisinin *Allium cepa* kök meristem hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmada 5 ve 20 mg/mL’lik çay yöntemi ile hazırlanmış bitki ekstresi kullanılmıştır. Bitki ekstresinin konsantrasyonu arttıkça antiproliferatif etkinin de arttığı belirlenmiştir (Fachinnetto et al. 2007).

Sousa ve Viccini (2011) *Achillea millefolium* sulu ekstresinin *Lactuca sativa* bitkisinin meristematik kök hücreleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada *Achillea millefolium* bitkisinden elde edilen sulu ekstreten 5, 10, 20 ve 30 mg/mL’lik çözeltiler hazırlanmıştır. Araştırmalar sonucunda, *Achillea millefolium* sulu ekstresinin konsantrasyonu arttıkça, mitotik indeksin önemli ölçüde azaldığı ve kromozom bozukluklarının arttığı gözlenmiştir.

*Achillea millefolium*’un sulu ekstresinden hazırlanan 3.5 mg/mL’lik ve 35 mg/mL’lik çözeltilerin, *Allium cepa* L. kök meristem hücrelerinde mitotik indeks üzerine etkileri araştırılmıştır. Düşük konsantrasyonlu ekstrakt uygulamasında, hücrelerde herhangi bir sitotoksik etki gözlenmezken, yüksek konsantrasyonlu çözeltide mitotik indeksteki düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır. *Achillea millefolium*’un düşük konsantrasyonlu ekstrelerinde, sitotoksisite veya kromozomlar üzerinde herhangi bir deformasyon görülmemesi, *Achillea millefolium* bitkisinin fitoterepatik amaçlı kullanılabilirliğini

göstermektedir (Teixeria et al. 2003). Bu çalışmadan elde edilmiş sonuçlar bizim çalışmamızla da paralellik göstermektedir.

Yavaşoğlu ve ekibi (2007), *Achillea nobilis*. subsp. *Neilreichii* bitkisinin etanol ekstresinin ağrı kesici, anti inflamatuvar özellikleriyle akut toksisitesini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda; fareler için *Achillea nobilis*. subsp. *Neilreichii* bitkisinin etanol ekstresinin LD<sub>50</sub> değeri 4456 mg/kg olarak belirlenmiştir.

*Achillea millefolium*'un etanolik ve hidroalkolik ekstrelerinin spermatogenez üzerine etkileri araştırılmıştır. *Achillea millefolium*'un yapraklarından elde edilen 200 mg/kg'lık etanolik ekstre 20 gün boyunca intraperitoneal injeksiyonla ve 300 mg/kg'lık hidroalkolik ekstre 30 gün boyunca oral yoldan İsveç farelerine her gün tatbik edilmiştir. Ekstrelerin tatbik süreleri sonunda, spermatogenez safhalarında hücrelerin morfolojik karakterleri elektron ve ışık mikroskopunda incelenmiştir. Araştırmalar sonucunda; olgunlaşmamış eşey hücrelerinin eksfolyasyonu, eşey hücrelerinin nekrozu, seminifer tübülde vakuolasyon gözlenmiştir (Montanari et al. 1998).

Başka bir çalışmada, İran'ın Golestan şehrinde anti-inflamatuvar etkisinden dolayı geleneksel ilaç olarak kullanılan *Achillea santolina* bitkisinden elde edilen hidroalkolik ekstrenin farelerdeki spermatogenesis olayına etkileri araştırılmıştır. *Achillea santolina*'nın 300 mg/kg'lık hidroalkolik ekstresi 30 gün boyunca intraperitoneal yolla farelere injeksiyon yapılmıştır. Araştırmalar sonucunda; olgunlaşmamış eşey hücrelerinin eksfolyasyonu, eşeysel hücrelerin nekrozu ve seminifer tübüllerin germinal epitelinde alışılmamış şekilde metafazı artırdığı gözlenmiştir (Golalipour et al. 2004).

Sant'Anna'nın (2009) yaptığı çalışmada, *Achillea millefolium* bitkisinde bulunan azulen (42.15%), sabinen (19.72%), terpin-4-ol (5.22%),  $\beta$ -caryofilen (4.44%) ve ökaliptol (3.10%) gibi esansiyel yağ asitlerinin, diploit hücreli *Aspergillus nidulans* üzerindeki antimikrobiyal etkilerini çalışmışlardır. Yağ kompleksinin genotoksik aktivitesi, 0.13  $\mu$ L/mL, 0.19  $\mu$ L/mL ve 0.25  $\mu$ L/mL konsantrasyonlarda, heterozigot diploit *Aspergillus nidulans*'taki A757//UT448 olarak bilinen zincirde meydana gelmektedir. Kompleksin

genotoksisitesi, mitotik non-disjunction görevinde veya crossing-over olayında gerçekleşmiştir.

Graf ve arkadaşlarının (1994) yaptıkları bir çalışmada, *Achillea millefolium* bitkisinden elde edilen ekstrenin, somatik mutasyon ve rekombinasyon test yöntemi kullanılarak, “multiple wing hair” (mwh) ve “flare” (flr<sup>3</sup>) markırlarıyla *Drosophila melanogaster* ‘deki genotoksisitesi belirlemişlerdir. *Drosophila melanogaster* üç günlük trans heterozigot larva halindeyken, mwh ve flr<sup>3</sup> markırlarındaki genotoksisiteyi belirlemek için *Achillea millefolium* ekstresi ile beslenir. Sonuçta, *Achillea millefolium* bitkisinden elde edilen ekstrenin düşük düzeyde genotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

*Achillea millefolium* bitkisinden elde edilen ekstrenin d-galaktozamin (d-GAIN) ve lipopolisakkaritlerin (LPS) karaciğere verdikleri hasarların üzerine etkilerini araştırılmıştır. d-GAIN’in 700 mg/kg ve LPS’in 1 µg/kg’ı fareler için % 100 öldürücü etki göstermektedir. Bu ölçülerde GAIN ve LPS kullanımı; kan plazmasında, karaciğer markırları olarak bilinen alanin transferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzimlerini oldukça önemli derecede artırmaktadır. *Achillea millefolium* bitkisinden elde edilen ekstrenin 150 – 600 mg/kg’lık öncü uygulamasının ardından, GAIN ve LPS muamelesinde farelerde ölümler % 40 oranında azaltılmaktadır (Yaesh et al. 2006).

*Achillea teretifolia* bitkisi ile yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile çalışmamızın sonuçları paralellik göstermektedir. Çalışmamızda, *Achillea teretifolia* bitkisinin yüksek dozlardaki sulu ekstreleri sitotoksik etki göstererek, soğan kök hücrelerinin mitotik indeksini artırdığı halde profaz sonrasındaki safhaları baskılayıp, toplamda bölünen hücre sayısını azaltmaktadır (Çizelge 4.2). Özellikle *Achillea teretifolia* bitkisinden elde edilen ekstrelerin, *Saccharomyces cerevisiae*, *Alternaria brassicola* ve *Penicillium expansum* olan sitotoksik etkileri, ökaryotik hücre sistemini hedefleyen çalışmalar olduğundan dolayı, çalışmamızda kullandığımız *Allium cepa* kök hücrelerine olan etkileri ile paralellik gösterdiği düşünülebilir. Türkoğlu ve ekibi (2010), bu çalışmada kullanılan tüm ekstreleri, düşük sıcaklıkta evapasyon işlemlerini gerçekleştirmişlerdir. Bizim çalışmamızda evaporasyon işlemi daha yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmiştir.

Çalışmamızda *Allium cepa*'nın hücre döngüsünü 24 saatte tamamlamasından dolayı (Rank et al. 1994, Yüzbaşıoğlu et al. 2003) uygulama süresi olarak 12, 24 ve 48 saat seçilmiştir. Ancak literatürde farklı uygulama sürelerine de rastlanılmaktadır. 6 ve 24 saat (Kara et al. 1994), 2 ve 4 gün (Fiskesjö 1988), 4 gün (Ateeq et al. 2002), 5 gün (Rank et al. 1993) ve 7 gün (Smaka-Kincl et al. 1996) gibi değişik uygulama süreleri kullanılmış birçok çalışma bulunmaktadır.

LD<sub>50</sub> değeri 50 g/L olarak belirlendikten sonra uygulama dozlarının belirlenmesinde 2xLD<sub>50</sub>, LD<sub>50</sub> ve 1/2xLD<sub>50</sub> değerleri kullanılmıştır. Buna bağlı olarak *Achillea teretifolia* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrenin 100, 50 ve 25 g/L'lik dozları kullanılmıştır. Saf su ise negatif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Seçilen bu dozlar *Allium cepa* kök uçlarına 12, 24, 48, 72 ve 96 saat uygulanarak mitotik indeks belirlenmiştir. En düşük mitotik indeks 25 g/L'nin 96 saatlik uygulamasında en yüksek mitotik indeks ise 100 g/L'nin 96 saatlik uygulamasında elde edilmiştir. Mitotik indeksteki değişiklikler kontrole göre ekstre uygulama gruplarında artış şeklinde olup, sadece pozitif kontrol gruplarında azalış görülmüştür. Bu artış ve azalışlar istatistiksel açıdan anlamlıdır.

Çalışmamızda, mitotik indekste dozla birlikte bir artış söz konusu olsa da metafaz safhasına geçen hücrelerde önemli bir azalış görülmektedir. Bu sonuç, test edilen maddenin mitodepresif etki yaptığını göstermektedir. Test maddesinin interfaza geçen hücrelerin sayısını azaltarak hücre siklusunun normal işleyişini bozmaktadır (Badr et al. 1987). Mitotik aktivitenin azalması S safhasındaki DNA sentezinin engellenmesiyle de meydana gelmektedir (Sadia et al. 1994). Hücre döngüsünün baskılanmasıyla, proteinler test maddesine hedef olmakta, böylece hem DNA sentezi için gerekli olan DNA polimeraz enzimi hem de iğ oluşumuyla ilgili olan birçok enzim baskılanmaktadır. Bu durum antimitotik etki olarak açıklanmaktadır (Hidalgo et al. 1989, Yüzbaşıoğlu et al. 2003). Ayrıca bu olay, ATP miktarının azalması ve enerji üretim merkezi fonksiyonun baskılanması sonucunda da olabilmektedir (Jain et al. 1988).

*Achillea teretifolia* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrenin mitotik faz frekanslarına olan etkisi kontrole göre incelendiğinde, profaz frekanslarının; 25 g/L'lik dozun, 24 ve 72

saatlik uygulamaları ve pozitif kontrol grubunun 48, 72, 96 saatlik uygulamaları hariç arttığı görülmüştür. Telofaz frekanslarının 25 g/L'lik uygulamanın 24 saat, pozitif kontrol grubunun 72 saatlik ve 96 saatlik uygulamaları hariç, azaldığı gözlemlenmiştir. Metafaz ve anafaz frekansları da kontrol grubuna göre artış ve azalış şeklinde değişiklikler göstermektedir. Uygulanan tüm doz ve sürelerdeki mitotik fazlardan alınan sonuçlar kontrol gruplarına göre istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.

*Achillea teretifolia* bitkisinden hazırlanan sulu ekstresinin neden olduğu kromozom anormallikleri genellikle anafaz-telofaz safhalarında görülmüştür (Çizelge 4.3). Bütün konsantrasyon ve uygulama sürelerinde en fazla görülen anormallikler bozulmuş anafaz-telofaz, yapışkanlık ve kalgın kromozomdur. Bozulmuş anafaz-telofaz en fazla görülen anormallik olup % 12.37 oranında tespit edilmiştir. Bunu % 10.32 oranında kalgın kromozom ve % 7.91 oranında yapışkanlık izlemektedir. Bunların dışında anafaz köprüsü (% 7.5), prometafaz (% 1.29), binükleer hücre (% 0.21) ve poliploidi (% 0.15) anormallikleri de belirlenmiştir. Toplamda en fazla anormallik, 100 g/L dozluk uygulamanın, 72 saatlik periyodunda (% 82.56) görülmüştür.

C-mitoz olayı, *Achillea teretifolia* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrenin iğ ipliklerinin yapısını bozmasıyla ortaya çıkmaktadır. Bazı durumlarda c-mitoz, anöploidi ile sonuçlanmaktadır (Fiskeşjö 1988).

Çalışmada görülen diğer bir anormallik, prometafaz olayıdır. Bazı hücrelerde metafaz kromozomlarının profaz safhasındaymış gibi düzenlendikleri görülmüş olup, bu durum prometafaz olarak adlandırılmaktadır (Amer et al. 1983).

Çalışmamızda en yaygın olarak görülen anormallik bozulmuş anafaz-telofaz olayına en fazla 100 g/L'nin 48 saatlik uygulaması sonucunda rastlanılmıştır. Bazı hücrelerde uygulanan doz miktarları, iğ ipliklerinin yapısını etkileyerek kromozomların kutuplara doğru çekilmelerinde düzensizlik yapmış olabilirler.

*Achillea teretifolia* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrenin neden olduğu diğer bir anormallik de yapışıklıktır. Yapışkanlığın; kromozomlar arasındaki subkromatit

bağlantılardan oluşabileceği açıklanmıştır (McGill et al. 1974). Kromozomlardaki yapışıklık durumu; *Achillea teretifolia* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrenin kromozom hareketinin engellenmesi sonucunda da oluşabilir. Böylece kromozomlar kutuplara ulaşamaz, ortada kalırlar ve yoğunlaşarak yapışık bir görüntü sergilerler (Ajay ve Sarbhoy 1988). Ayrıca yapışıklık, kromatinin proteince yoğun içeriğinin bir tip fiziksel adezyonu olarak açıklanmıştır (Patil ve Bhat 1992). Yapışıklık olayı, kromozom fragmentlerine ve anafaz-telofaz safhasında köprülere sebep olmaktadır (Yüzbaşıoğlu et al. 2003). Yapışıklık ve fragmentlerin, kromozom yapısında değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (El-Ghamery et al. 2000). Ayrıca yapışıklık, kullanılan maddenin toksik olmasının göstergesi olarak kabul edilmekte ve hücrenin ölümüne yol açtığı düşünülmektedir (Fiskesjö 1985).

Çalışmamızda görülen diğer bir anormallik kalgın kromozomdur. Kalgın kromozomların uygulanan kimyasalların iğ ipliklerini etkilemesi sonucu oluşabileceği düşünülmektedir.

Köprü olayı, en fazla 100 g/L'lik dozun 72 saatlik uygulanmasında gözlemlenmiştir. Bunlar genelde tekli olmakla birlikte, daha az sayıda ikili ve üçlü köprülere de rastlanılmıştır. Kromatin köprüleri, eşit olmayan karşılıklı kromozom değişimlerinden veya disentrik kromozomlardan kaynaklanabilmektedir. Aynı lokusta kırıkların oluşması ve bunların lateral olarak birleşmesi, disentrik kromozomların oluşmasına neden olmaktadır. Bu disentrik kromozomlarda, karşılıklı kutuplara aynı anda çekilirken köprüler meydana gelmektedir (Sax, 1940). Köprü ve fragmentlerin kromozomların yapısında değişikliklere yol açtığı kabul edilmektedir (El-Ghamery et al. 2000).

Bazı durumlarda kromozomlar sadece bir kutba çekilip poliploidiye yol açmaktadır. Bu durum sonucunda, normal bireylerden daha fazla kromozom bulunduran ve çeşitli anormalliklere sahip bireyler oluşmaktadır. Chauhan ve Sundararaman'ın (1990) yaptıkları çalışmada, mikronükleusların mitoz bölünme sonucunda anöploidi ve poliploidiye yol açtıklarını belirtmişlerdir.

İnterfaz safhasında gözlemlenen diğer bir bozukluk da binükleer hücre oluşumudur. Binükleer hücre oluşumu normal sitokinez olayının engellediğinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Ateeq et al. 2002).

Soğan kök uçlarındaki büyümenin kontrol grubuna göre % 45'den daha fazla azalması, büyük bir olasılıkla bitkiler üzerinde subletal etkiye sahip toksik maddelerin varlığına işaret etmektedir (Fiskeşjö 1985, Hidalgo et al. 1989, Wierzbicka 1988, Antonsiewicz 1990). Mitotik aktivitenin inhibisyonu, sitotoksik maddelerin varlığına işaret etmektedir (Linnainmaa et al. 1978). Araştırma sonucunda *Achillea teretifolia* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrenin *Allium cepa* kök uçlarında c-mitoz, prometafaz, bozulmuş anafaz-telofaz, yapışıklık, kalgın kromozom gibi mitotik anormalliklere neden olmuştur. Bunlardan özellikle yapışıklık, kullanılan kimyasalın toksik olduğunu göstermektedir (Fiskeşjö 1985). C-mitoz, poliploidiye yol açmakta (Fiskeşjö 1985, Chauhan et al. 1990), köprüler kromozomların yapısında değişikliklere yol açmaktadır (El-Ghamery et al. 2000). Bu sonuçlara göre, *Achillea teretifolia* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrenin genotoksik etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, eski çağlardan bugüne kadar halk arasında pek çok hastalığın tedavisi için geleneksel ilaç olarak kullanılan *Achillea* taksonları, günümüze kadar yapılan *in vivo* ve *in vitro* deneylerin bazılarında negatif sonuç, bazılarında ise pozitif sonuç vermiştir. Bu bulgular *Achillea teretifolia* bitkisinden hazırlanan ekstreler için daha fazla ve farklı sistemlerde araştırma yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

## KAYNAKLAR

- Aboolenein A. A., 1982, "Back to medicinal plants therapy", *Hamdard Medical Journal*, 40, (1-4).
- Adegbite A. E., Sanyaolu E. B., 2009, "Cytotoxicity testing of aqueous extract of bitter leaf(*Vernonia amygdalina* Del.) using the *Allium cepa* chromosome aberration assay", *Scientific Research and Essay*, 4:11, (1311-1314)
- Akkol Küpeli E., Koca U., Pesin I., Yılmaz D., 2009, "Evaluation of the Wound Healing Potantial of *Achillea biebersteinii* Afan. (Astraceae) by in vivo Excision and Incision Models", *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 10.1093, (1-7).
- Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Chinou, I. B., Mitakou, S., Gikas, E., and Tsarbopoulos, A., 2000, "Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of *Sideritis* from Greece", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 811.
- Alma, M. H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F. T., Yilmaz, N., 2004, "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (*Pistacia vera* L.)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16, 2, 3911.
- Amer, S.M. and Ali, E.M., 1983, "Cytological effects of pesticides XVII. Effects of the insecticide dichlorvas on root mitosis of *Vicia faba*", *Cytologia*, 51:21-25.
- Amer, S.M., Mohammed F.I. and Ashry, Z.M., 1999, "Cytogenetic effects of the fungicide benomyl on *Vicia faba* and *Pisum saivum*", *Bulletin of the National Research Center* 24(4): 481-494.
- Antonsiewicz, D., 1990, "Analysis of the cell cycle in root meristem of *Allium cepa* under the influence on Ledakrin", *Folia Histochem., Cytobiology*, 28: 79-86.
- Ateeq, B., Abul Ferah, M., Niamat Ali M. and Ahmad W., 2002, "Clastogenicity of pentachlorophenol, 2,4-D and butachlor evaluated by *Allium* root tip test", *Mutation Research*, 514: 105-113.



- Badr, A. and İbrahim, A.G., 1987, "Effect of herbicide Glean on mitosis, chromosomes and nucleic acids in *Allium cepa* and *Vicia faba* root meristems", *Cytologia*, 52: 293-302.
- Bagatini M. D., Fachinetto J. M., Ferreira Da Silva A. C., Tedesco S. B., 2008, "Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*" *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19:2B, 632-636.
- Baytop T., 1999, "Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi", 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.Şti, (176-177), İstanbul.
- Benli, M., Yigit, N., 2005, "Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi", *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, (3-8).
- Cassileth, B.R., 1998, "The Alternative Medicine Handbook", W.W. Norton&Company, London, pp: 86-99
- Chauhan, L.K.S. and Sundararamab, V., 1990, "Effects of substituted ureas on plant cells. I. Cytological effects of isoproturon on the root meristem cells of *Allium cepa*", *Cytologia*, 55: 91-98.
- Constantin, M.J. and Owens, E.T., 1982, "Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays: a report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program", *Mutation Research*, 99: 1-12.
- De Vries H., 1909, "The Mutation Theory", The Open Court Publication Company, Chicago
- Demirci, F., 2000, "Biyoaktif Monoterpenlerin Mikrobiyal Transformasyonu", Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognosi Anabilim Dalı, Eskisehir.
- Dimitrov, B., 1994, "Types of chromosomal aberrations induced by seed aging in *Crepis capillaris* L.", *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 37: 199-209
- Dryanosvka, O.A., 1987, Mutagenic of the herbicide alachor during meiosis in *Tradescantia paludosa*, *Bulgarian Academy of Sciences.*, 40: 73-76.

- El-Ghamery, A.A., El-Nahas, A.I. and Mansour, M.M., 2000, "The action of atrazine herbicide as an indicator of cell division on chromosomes and nucleic acid content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*", *Cytologia*, 65: 277-287.
- Elçi, Ş., 1982, "Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri", Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları, Uğurel Matbaası, No:3, 166s. Elazığ
- Ertekin S., 2002, "Karacadağ Bitki Çeşitliliği" Sürdürülebilir Kırsal ve Kentsel Kalkınma Derneği, (58), Diyarbakır.
- Evseeva, T., Geras'kin, S.A. and Shuktomova, I.I., 2003, "Genotoxicity and toxicity assay of water sampled from a radium production industry storage cell territory by means of *Allium*-test", *Journal Of Environmental Radioactivity*, 68: 235-248.
- Fachinetto J. M., Tedesco S. B., 2009, "Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera*, (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*" *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, vol.11, no:4, 360-367
- Fiskesjö, G., 1985, "The *Allium* test as standart in enviromental monitoring", *Hereditas*, 102: 99-112.
- Fiskesjö, G., 1988, "The *Allium* test-an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions", *Mutation Reseach*, 197: 243-260.
- Golalipour M. J., Khori V., Azarhoush R., Nayeypour M., Azadbakht M., 2004, "Effect Of *Achillea santolina* On Mice Spermatogenesis", *Daru Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 12, No. 1, 36-39.
- Graf U., Moraga A. A., Castro R., Carrillo E. D., 1994, "Genotoxicity testing of different types of beverages in the drosophila wing somatic mutation and recombination test", *Food and Chemical Toxicology*, 32:5, 423-430
- Grant, W.F., 1992, "Cytogenetics studies of agricultural chemicals in plants In *Genetic Toxicology AnAgricultural Perspective* (R. Fleck and A., Hollaender eds.)", *Plenum Press, Newyork*, 335-378.
- Gruenwald J., Brendler T., Jaenicke C., 2000, "PDR for Herbal Medicines", *Medical Economics Company Inc.*, (833-835), Montvale.

- Hacıoğlu Ö., 2005, "Achillea (Anthemideae) cinsi Filipendulinae ve Santolinoidea seksiyonlarına ait yedi türün uçucu yağ kompozisyonları ve antimikrobiyal aktivite özellikleri", Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, (59)
- Hidalgo, A., Gonzales, J.A., Navas, P. and Garcia-Herdugo, G., 1989, "Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by protham and chlorprotham", *Cytobios*, 57: 7-17.
- Huber-Morath A., 1975, "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", Davis, P. H., 5, University Press, (1), Edinburg.
- Jain, A.K. and Andsorbhoy, R.K., 1988, "Cytogenital studies on the effects of some chlorinated pesticides III. Concluding Remarks", *Cytologia*, 53: 427-436.
- Kara, M., Sanda, M.A., ve Ateş, A., 1994, "Cytogenetics effect of the insecticide cypermethrin on the root meristems of *Allium cepa* L.", *Turkish Journal of Biology.*, 18(4): 323-331.
- Karabey-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., Karabay N. Ü., Zeybek U., 2002, *Achillea millefolium* L., *A. crithmifolia* Waldst. & Kitts. ve *A. kotschyi* Boiss. Subspes. *kotschyi*'nin Uçucu Yağ bileşenleri ve Antimikrobiyal Etkileri, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, ISBN 975-94077-2-8, Eskişehir.
- Kastner U., Glasl S., Jurenitsch J., 1995, *Zeitschrift für Phytoterapie* 16, (34-39)
- Kırbağ, S., 1999, "*Hypericum perforatum* L.'un Degisik Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkileri", *Journal of Qafqaz University*, 2(1), 102-108
- Kluge, R. and Podlesak, W., 1985, "Plant critical levels for the evaluation of boron toxicity in spring barley (*Hordeum vulgare* L.)", *Plant Soil*, 83: 381-388.
- Kordali S., Cakir A., Aytas Akcin T., 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., Dadasoğlu F., Aydın T., Cakmakci R., Ozer H., Kordali S., Mete E., Dikbas N., 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, 90, 145-160.
- Könemen, E. W., 1999, "Botanica: The Illustrated A-Z of Over 10000 Garden Plants and How to Cultivate Them" Gordon Cheers Publication, (51), Hong Kong.
- Küpeli E., Orhan İ., Küsmenoğlu Ş., Yeşilada E., 2007, "Evaluation of Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activity of Five Anatolian *Achillea* Species", Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences., 4 :2, (89-99).
- Levan, A., 1938, "The effect of colchicine on root mitosis in *Allium*", Hereditas 24: 471-486.
- Linnainmaa, K., Meterska, M., Sorsa and Vainio H., 1978, "Cytogenetic effect of styrene and styrene oxide", Mutation Research/Genetic Toxicology, 58: 277-286.
- Marco, A.D., Romanelli, M., Stazi, A. and Vitagliano, E., 1986, "Introduction of micronucleated cells in *Vicia faba* and *Allium cepa* root tips treated with nitrilotriacetic acid (NTA)", Mutation Research/Genetic Toxicology, 171: 145-184.
- Masoumeh Hasheminia S., Sendi J. J., Jahromi K. T., Moharramipour S., 2011, "The effects of *Artemisia annua* L. and *Achillea millefolium* L. crude leaf extracts on the toxicity, development, feeding efficiency and chemical activities of small cabbage *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae)", Pesticide Biochemistry and Physiology, 99:3, 244-249.
- Mc-Gill, M., Pathak, S. and Hsu T.C., 1974 "Effects of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: A possible maternal basis chromosomes stickiness", Chromosoma, 47: 157-167.
- Montanari T, De Carvalho JE, Dolder H. (1998), "Antispermatic effect of *Achillea millefolium* L. in mice", Contraception. 58: 309-313.
- Newall C.A., Anderson L.A., Phillipson J.D. 1996, "Herbal Medicines", The Pharmaceutical Press, (271-273), London.

- Özbek T., 2006, "Doğuanadolu Tıbbı Bitkilerine Ait Bazı Türlerin Ames/*Salmonella* Mikrozoim Testi Kullanılarak Antimutajenik Özelliklerinin Saptanması" Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Panda, B.B. and Sahu, U.K., 1985, "Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of *Allium cepa* by the organophosphorus insecticide fensulfothion", *Cytobios*, 42: 147-155.
- Papovic M., Jakovljevic V., Bursac M., Mitic R., Raskovic A., Kauronovic R., 2002, "Biochemical investigation of yarrow extracts (*Achilles millefolium* L.)", *Oxydation communications*, 25.3, (469-475)
- Patil, B.C. and Bhat, G.I., 1992, "A comparative study of MH and EMS in the induction of chromosomal aberrations on lateral root meristem in *Clitoria ternata* L.", *Cytologia*, 57: 259-264
- Prudent, D., Perineau, F., Bessiere, J. M., Michel, G. and Bravo, R., 1993, "Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of the atoumau from Martinique (*Alpinia speciosa*)", *Journal of Essential Oil Research*, 5, 255.
- Rank, J., Lopez, L.C., Nielsen, M.H. and Moretton, J., 2002, "Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in *Allium cepa* root cells performed by two laboratories", *Hereditas*, 136: 13-18.
- Rank, J. and Nielsen M.H., 1994, "Evaluation of *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater", *Mutation Research*, 312: 17-24.
- Roncada T., Vicentini V.E.P., Mantovani M.S., 2004, "Possible Modulating Actions of Plant Extracts on the Chromosome Breaking Activity of MMC and Ara-C in Human Lymphocytes in vitro" *Toxicology in Vitro*, 18, 617-622.
- Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J., Reglero, G., 2005, "Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction", *Journal of Food Protection.*, 68, 4, 790.

- Sant'Anna J. R., Da Silva Franco C. C., Miyamoto C. T., Cunico M. M., Miguel O. G., Côcco L. C., Yamamoto C. I., Junior C. C., De Castro-Prado M. A. A., 2009, "Genotoxicity of *Achillea millefolium* Essential Oil in Diploid Cells of *Aspergillus nidulans*", *Phytotherapy Research*, 23, 231–235
- Sadia, K.B. and Vahidy, A.A., 1994, "Cytotoxic effect of herbicide ronstar on meristamic cells of *Allium cepa*, L.", *Pakistan Journal of Botany*, 26: 69-74.
- Saeidinia S., Gouhari A. D., Gouhari M. R., Moradi F., Lotfi M. F., Haji A. A., 2006, "Investigation of Cytotoxic Activity For *Achillea Talagonica* and *A. tenuifolia*", *Journal Of Mazandaran University Of Medical Sciences*, 16(50), (1-6)
- Sarışen, Ö., Çalışkan, D., 2005, "Fitoterapi: Bitkilerle Tedaviye Dikkat", *Türk Tabipler Birliği Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 14(8), 182-187.
- Sax, K., 1940, "An analysis of X-ray induced chromosomal aberrations in *Tradescantia*", *Genetics*, 25: 41-68.
- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M. and Toman, M.J., 1996, "The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure", *Mutation Research*, 368: 171-179.
- Sousa S. M., Viccini L. F., 2011, "Cytotoxic and genotoxic activity of *Achillea millefolium* aqueous extracts", *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21:1, 98-104.
- Sökmen, A., Ünlü, G. V., Deférrera, D., Sökmen, M. and Dönmez, E., 2003, "Antimicrobial activity of oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor.", *Phytotherapy Research*, 17, 9, 1005
- Tabanca, N., Krimer, N., Demirci, F., Baser, K. H. C., 2001, "Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. *phyrgia* and Enantiomeric Distribution of Borneol", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4300.
- Teixeira R. O., Camparoto M. L., Mantovani M. S., Vicentini V. E. P., 2003, "Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in *in vitro* and *in vivo* assays", *Brazilian Society of Genetics*, 26.4, (551-555).

- Trifunovic S., Vajs V., Juranic Z., Zizak Z., Tesevic V., Macura S., Milosavljevic S., 2006, "Cytotoxic constituents of *Achillea clavennae* from Montenegro", *Phytochemistry*, 67, (887–893)
- Ünlü, M., Deferera, D., Dönmez, E., Polissiou, M., Tepe, B. and 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)
- Wierzbicka, M., 1988, "Mitotic disturbances induced by low doses of inorganic lead", *Caryologia*, 41: 143-163.
- Yaesh S., Qamar Jamal, Khan A., 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
- Yürekli, A. K., Gürol, B., 1982, "*Achillea* Genusunda Bulunan Laktonik Seskiterpenler" IV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, (27-29), Eskişehir
- Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Sancak C. and Kasab, R., 2003, "Cytological effects of herbicide racer flurochloridone on *Allium cepa*", *Caryologia*, 56: 97-105.

#### **İnternet Kaynakları / Erişim Tarihi**

1. <http://documents.anadolu.edu.tr/bihat/e-kitap/ckaramenderes2pdf.pdf> 07.09.2010
2. <http://biow.tubitak.gov.tr/present/taxonForm1.jsp> 21.09.2010
3. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc51.htm#SectionNumber:2.6/> 12.05.2004

## 6. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

**Adı Soyadı** : Sedat OKTAY  
**Doğum Yeri** : Bingöl  
**Doğum Tarihi** : 04.11.1980  
**Medeni Hali** : Bekar  
**Yabancı Dili** : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

**Lisans** : Afyon Kocatepe Üniversitesi (2001-2007)  
**Yüksek Lisans** : Afyon Kocatepe Üniversitesi (2008-2011)

### Çalıştığı Kurumlar ve Yıl

Amorium Excavation Project (Asistant) 2001-2003  
A.N.S. Araş. ve Uyg. Hastanesi Biyokimya Lab. (Yarı zamanlı öğrenci) 2008- 2010  
İhsaniye Anadolu Sağlık Meslek Lisesi (Tıbbi Lab. Öğretmeni) 2010-2011  
A.N.S. Araş. ve Uyg. Hastanesi Biyokimya Lab. (Biyolog) 2011

### Yayınları

Konuk M., Oktay S., 2007, “Biyolojik Sistemlerde Uygulamalara Yeni Bir Yaklaşım:Nanoteknoloji ve Nanomateryaller”, Gıda Teknolojisi Elektronik Dergisi, vol.3, 23-34.