

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEMATİK HÜCRELERİ ÜZERİNE  
*VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L.'UN ANTİMUTAJENİK ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ebru BAYRAK**

**HAZİRAN 2012**

**TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEMATİK HÜCRELERİ ÜZERİNE  
*VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L.'UN ANTİMUTAJENİK ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Ebru BAYRAK**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde  
"YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)"  
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 15.05.2012**

**Tezin Savunma Tarih : 11.06.2012**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sema AYAZ**

**Trabzon 2012**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji Anabilim Dalında**

**Ebru BAYRAK tarafından hazırlanan**

***ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEMATİK HÜCRELERİ ÜZERİNE  
*VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L.'UN ANTİMUTAJENİK ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 15/ 05 / 2012 gün ve 1456/2 sayılı  
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. Hüseyin İNCEER** .....

**Üye : Prof. Dr. Sema AYAZ** .....

**Üye : Doç. Dr. Nagihan SAĞLAM ERTUNGA** .....

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

“*Allium cepa* L. Kök Meristematik Hücreleri Üzerine *Vaccinium arctostaphylos* L.’un Antimutajenik Etkisinin Araştırılması” adlı bu tez çalışması, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmanın konusunun seçiminde, çalışmanın planlanması ve değerlendirilmesi aşamasında çok değerli bilgi birikimlerini benden esirgemeyen, her türlü yardımı gördüğüm, her türlü konuda beni destekleyen sayın danışman hocam Prof. Dr. Sema AYZ’ a teşekkür ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Yüksek lisans süresince her konuda bana yardımcı olan, bilgi birikim ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocam sayın Prof. Dr. Hüseyin İNCEER’e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca tezimle ilgili yardımlarından dolayı sayın Prof. Dr. F. Ahmet AYZ’a, Arş. Gör. Nesrin ÇOLAK’a her türlü konuda bana yardımcı olan Arş. Gör. Nurşen AKSU’ya, her zaman yanımda olan, beni destekleyen sevgili aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu çalışma KTÜ-BAP 8900 nolu proje ile desteklenmiştir. KTÜ-BAP Yönetim Kurulu’na teşekkür ederim.

Ebru BAYRAK  
Trabzon 2012

## TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Allium cepa* L. Kök Meristematik Hücreleri Üzerine *Vaccinium arctostaphylos* L.’un Antimutajenik Etkisinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Sema AYAZ sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/ yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 15/05/2012

Ebru BAYRAK

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ .....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET .....	VII
SUMMARY .....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ .....	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Literatür Özeti .....	2
1.2.1. Bakır Metali ve Özellikleri.....	3
1.2.2. Antosiyaninler ve Özellikleri .....	5
1.2.3. <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L.'un Genel Özellikleri.....	7
1.2.4. <i>Allium</i> Testi .....	8
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	10
2.1. Materyal Temini .....	10
2.2. Antosiyanin (ASY) Özütünün Elde Edilmesi .....	10
2.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	10
2.4. Soğan Köklerinin Büyütülmesi .....	10
2.5. Bakır Sülfat ve Antosiyanin Muamelesi .....	11
2.6. Fiksasyon ve Saklama .....	11
2.7. Hidroliz.....	11
2.8. Boyama ve Preparat Hazırlama.....	11
2.9. Sitogenetik İncelemeler.....	12
2.10. İstatistiksel Analiz .....	12
3. BULGULAR .....	13
3.1. Mitotik İndeks Üzerine Bakır Sülfatın ve ASY'nin Etkisi .....	13
3.2. Bölünmenin Farklı Safhalarında Bakır Sülfatın ve ASY'nin Etkisi .....	14

4.	TARTIŞMA .....	24
5.	SONUÇLAR .....	29
6.	ÖNERİLER .....	30
7.	KAYNAKLAR.....	31
	ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

*ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEMATİK HÜCRELERİ ÜZERİNE *VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L.'UN ANTİMUTAJENİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Ebru BAYRAK

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Sema AYZAZ  
2012, 41 Sayfa

Bu çalışmada, Doğu Karadeniz’de doğal olarak yetişen *Vaccinium arctostaphylos* L.’un antosiyanince zengin özütünün, *Allium cepa* L. kök meristem hücreleri üzerine bakıra karşı antimutajenik etkisi araştırıldı. *Allium cepa* kökleri önce 50 ve 100 mg/L bakır sülfat çözeltisi ile daha sonra *Vaccinium arctostaphylos*’tan elde edilen antosiyanin ile 12 ve 24 saat süre ile muamele edildi. Sitogenetik incelemeler sonunda mitotik indeks ve kromozomal anormallikler belirlendi. Uygulanan bakır sülfatın tüm uygulama gruplarında mitotik indeksi kontrole göre azalttığı ve çeşitli kromozomal anormalliklere sebep olduğu tespit edildi. Bakır sülfat uygulanan gruplarda daha sonra antosiyanin uygulandığında ise 50+ASY gruplarında mitotik indeks değerinin arttığı ve toplam anormallik oranının ise azaldığı gözlemlendi. İlk defa bu çalışma ile *Vaccinium arctostaphylos*’tan elde edilen antosiyaninin bakıra karşı antimutajenik etkisi ortaya koyuldu.

**Anahtar Kelimeler:** *Vaccinium arctostaphylos*, *Allium cepa*, Bakır, Antosiyanin, Antimutajen



Master Thesis

SUMMARY

INVESTIGATION OF ANTIMUTAGENIC EFFECT OF *VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L. ON MERISTEMATIC CELLS OF *ALLIUM CEPA* L.

Ebru BAYRAK

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Biology Graduate Program  
Supervisor: Prof. Dr. Sema AYAZ  
2012, 41 Pages

In this study the antimutagenic effect of anthocyanin-rich extract obtained from *Vaccinium arctostaphylos* L. growing naturally in Eastern Black Sea was investigated on meristematic cells of *Allium cepa* L. roots exposed to copper. Root tips of *Allium cepa* were first treated with 50 and 100 mg/L copper sulphate and then treated with anthocyanin rich extract for 12 and 24 hours. Mitotic index and various chromosomal aberrations were determined at the end of cytogenetic examinations. It was found that copper sulphate reduced the mitotic index in all experimental groups when compared with control groups and induced chromosomal abnormalities. Also, it was observed that anthocyanin treatment after copper sulphate treatment increased mitotic index in 50+ASY groups and reduced total abnormality rate. With the present study, the antimutagenic effect of *Vaccinium arctostaphylos*'s anthocyanin-rich extract against to copper concentrations was determined.

**Key Words:** *Vaccinium arctostaphylos*, *Allium cepa*, Copper, Anthocyanin, Antimutagen

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1.	Bakır sülfat ve ASY uygulanan kök ucu hücrelerinde farklı zamanlarda mitotik indekste gözlenen değişimler .....	17
Şekil 2.	Bakır sülfat ve ASY uygulanan kök ucu hücrelerinde farklı zamanlarda görülen toplam anormallik oranları.....	17
Şekil 3.	12 saatlik uygulamada mitoz bölünmede görülen anormalliklerin yüzdesi.....	18
Şekil 4.	24 saatlik uygulamada mitoz bölünmede görülen anormalliklerin yüzdesi.....	18
Şekil 5.	Mitoz bölünmenin normal profaz safhası .....	19
Şekil 6.	Mitoz bölünmenin normal metafaz safhası .....	19
Şekil 7.	Mitoz bölünmenin normal anafaz safhası .....	20
Şekil 8.	Mitoz bölünmenin normal telofaz safhası.....	20
Şekil 9.	Mitoz bölünmenin metafaz safhasında görülen c-metafaz.....	21
Şekil 10.	Mitoz bölünmenin anafaz safhasında görülen kromatid köprüsü .....	21
Şekil 11.	Mitoz bölünmenin metafaz safhasında görülen yapışıklık .....	22
Şekil 12.	Mitoz bölünmenin metafaz safhasında görülen geri kalan kromozom .....	22
Şekil 13.	Mitoz bölünmenin anafaz safhasında görülen geri kalan kromatid .....	23
Şekil 14.	Mitoz bölünmenin anafaz safhasında görülen kromatid düzensizliği.....	23

## TABLULAR DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Tablo 1. <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde MI ve mitoz bölünmede görülen anormallik oranları .....	15
Tablo 2. <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde mitoz bölünmede görülen anormallik çeşitleri .....	16

## SEMBOLLER DİZİNİ

ASY	: Antosiyenin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
gr	: Gram
L	: Litre
mg	: Miligram
MI	: Mitotik indeks
SD	: Standart sapma
vd.	: Ve diğerleri
$\mu\text{m}$	: Mikrometre
$\mu\text{M}$	: Mikromolar

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Son yıllarda teknoloji ve sanayinin hızla gelişmesi, çevre sorunlarının artmasına sebep olmaktadır. Plansız endüstrileşme ve tarımda kimyasal maddelerin bilinçsizce kullanılmasıyla birlikte insan ve doğal kaynaklı olarak ağır metaller çevreye yayılmakta ve toprakta birikmektedir. Bitkiler tarafından alınan ağır metaller özellikle köklerde toksik etkiye neden olur. Bitkinin yapısında biriktirilen bu toksik metaller, besin zinciri yolu ile insan sağlığını tehdit eder hale gelmektedir (Uriu-Adams ve Keen, 2005).

Bakır, kobalt, civa, kurşun, kadmiyum, demir, nikel, çinko ve alüminyum gibi ağır metaller fizyolojik açıdan tehlikeli özellikleri bulunan ve aşırı miktarları çevre kirliliğine sebep olan element ya da bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Ross, 1994; Hill, 1997; Agrawal ve Agrawal, 1999; Kıran ve Munzuroğlu, 2004). Bu ağır metallerin en önemlilerinden biri olan bakır, düşük konsantrasyonda mikroelement iken yüksek konsantrasyonda toksik olabilmektedir. Bakır toksisitesi çoğu bitkide mitozda hasarlara, hücre döngüsünde bozulmalara ve mitotik indekste azalmalara neden olmaktadır (İnceer ve Beyazoğlu, 2000; İnceer vd., 2003). Bitkiler bu toksik etkilerden korunmak, yaşamlarını sürdürebilmek; (büyüme, gelişme ve diğer metabolik olaylarını düzenleyebilmek) ve çevresel stres etmenlerinden korunabilmek için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Mckersie ve Leshem, 1994; Dixon ve Paiva, 1995; Chalker-Scott, 1999; Mittler, 2002, 2006).

Çevresel stres koşullarına karşı bitkilerin korunumunda rolü olan antosiyaninler flavonoidler alt grubuna dahil olan fenolik bileşiklerdir (Hradzina, 1982; Iwashina, 2000). Bunlar doğada yaygın olarak bulunmakta ve insan sağlığı açısından pozitif etkiler göstermektedir.

Antosiyaninler (ASY) antimitojenik, antigenotoksik, antihipertansiyon, anti-tümör faktörlere ve antioksidatif potansiyele sahiptir (Moure vd., 2001). Bu özellikler ASY'in antioksidan özelliğiyle alakalıdır. Antioksidanlar serbest radikalleri uzaklaştırmada kullanılan doğal bileşiklerdir. ASY'in bakır gibi ağır metale maruz kalan organizmaları koruduğu ve bakırın sebep olduğu sitolojik hasarları önlemekle kalmayıp aynı zamanda iyileştirdiği de bilinmektedir (Posmyk vd., 2009).

Doğu Karadeniz’de doğal olarak yayılış gösteren *Vaccinium arctostaphylos* L. (yaban mersini) Ericaceae familyasına ait bir bitkidir. Son zamanlarda, yaban mersini, antosiyanin içeriğinin araştırılmaya başlanması ve sağlık açısından pek çok yararının ortaya koyulması ile ön plana çıkan bir meyve olmuştur. Karadeniz’de bölge halkı tarafından bir orman meyvesi olarak tüketilen bu meyve aynı zamanda zengin antosiyanin kaynağı olarak da bilinmekte ve son yıllarda gıda sektöründeki kullanımını giderek artmaktadır. Bitkinin taze meyvelerinden; reçel, dondurma, meyve suyu, meyveli yoğurt ve konserve, yapraklarından ve kurutulmuş meyvelerinden ise çay yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarla fenolik asitleri, antosiyanin içeriği ve antidiabetik etkisi ortaya koyulan yaban mersininin antimutajenik etkisi hakkında çalışmaya rastlanmamıştır.

İlk defa yapılan bu çalışma ile Doğu Karadeniz bölgesinde yayılış gösteren *Vaccinium arctostaphylos* L. (yaban mersini) bitkisinin, antosiyanince zengin meyve özütünün, bakır ile muamele edilen *Allium cepa* L. kök meristematik hücreleri üzerindeki antimutajenik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 1.2. Literatür Özeti

Günümüzde ekolojik sistemlerin bozulması ve çevreye bırakılan çeşitli kirleticiler vasıtasıyla, canlılar üzerinde olumsuz etkiler meydana gelmektedir (Berkes ve Kışlalıoğlu, 1990). Endüstri bölgelerinin çevre kirleticileri arasında yer alan bakır, çinko, civa, kurşun ve kadmiyum gibi ağır metallerin yanı sıra, zirai mücadele de kullanılan çeşitli kimyasal maddeler de hem bitki hem de hayvanların büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkilemektedir (Grover ve Tyagi, 1980; Njagi ve Gopalan, 1981; El-Khodary vd., 1989). Bu endüstriyel atıklar, çeşitli kromozomal anormalliklere sebep, olarak genetik sistemleri etkilemektedir (İnceer vd., 2003). Son yıllarda sanayileşme ve hızlı nüfus artışı ile oluşan su ve toprak kirliliği ciddi boyutlarda tehlike oluşturmaktadır. ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA)’nın hazırladığı bir rapora göre ağır metaller, çevre kirleticilerinin en önemli gruplardan birini oluşturmaktadır. Volkanik faaliyetler, maden eritme ve işleme tesislerinin katı atıkları, fabrika ve termik santrallerin bacasından çıkan uçucu küller, atık su arıtma çamurları, otoyollarda araçlardan salınan benzin, balata ve lastik kökenli atıklar, tarım ilaçları ve gübreler, pil vb. endüstri ürünlerinin gelişi güzel atılması ağır metal kirliliğinin nedenleri arasında yer alır (Aksoy, 2009).

Ağır metallerin çevrede yaygın bir şekilde birikmesi; başta bitki, hayvan ve insanlar olmak üzere hemen her çeşit organizma üzerinde boyutları giderek artan bir tehlike arz etmektedir (Bell ve Treshow, 2002; Skelly, 2003; Hayat vd., 2005; Lerche ve Glaesser, 2006; Ahsan vd., 2007). Günümüzde ağır metallerin yol açtığı çevre kirliliği tüm dünyanın dikkatini çeken bir konu olmuştur (Agrawal ve Agrawal, 1999; Prasad, 2004; Lerche ve Glaesser, 2006). Bu nedenle çalışmaları bu yöne kaydırılmış çok sayıda araştırma yapılmıştır (Zenk, 1996; Hill, 1997; Agrawal ve Agrawal, 1999; Ware, 2000; Kıran ve Munzuroğlu, 2004). Çevre kirliliğine neden olan ağır metallere en çok çalışılanlarından biri de bakırdır.

### 1.2.1. Bakır Metali ve Özellikleri

Atmosfer koşullarında kırmızımsı renkte görünen bakır, M.Ö. 5000 yılından beri tanınmaktadır ve adını ilk bulunduğu yer olan Kıbrıs'ın Latince'sinden (aes cyprium = Kıbrıs cevheri, cyprium ve daha sonra cuprum) almıştır. Bakır, periyodik tablonun IB serisinde yer alan bir geçiş (transisyon) elementidir. Doğal ortamda kayalarda, toprakta, suda ve havada bulunmaktadır. Bakırın canlılar üzerindeki etkileri, elementin kimyasal formuna ve canlının büyüklüğüne göre değişmektedir (Lamb ve Tollefson, 1973; Beinert, 1991). Bakır küçük ve basit yapıları için zehir özelliği gösterirken (Lamb ve Tollefson, 1973), büyük ve daha gelişmiş canlılar için temel yapı bileşeni olarak görev yapmaktadır (Beinert, 1991). Bu nedenle bakır ve bileşikleri fungusit, biyosit, antibakteriyel madde ve böcek zehiri olarak tarım zararlılarına ve yumuşakçalara karşı yaygın olarak kullanılmaktadır (Lee ve Johnston, 2007). Bu yaygın kullanımın sonucunda da toprakta bakır birikmekte ve canlılar için tehlikeli boyutlara ulaşmaktadır.

Kökler topraktaki bakırla ilk temas eden yapılar olduklarından genellikle gövdeden daha fazla metal içermekte (Paivöke, 1983; Nishizono, 1987; Tukendorf, 1987; Lin vd., 2003) ve bakır iyonları kök dokularında tutularak gövde boyunca ilerlemeleri çeşitli yollarla engellenmeye çalışılmaktadır (Nishizono, 1987; Lin vd., 2003; Panou- Filotheou ve Bosabalidis, 2004). Bundan dolayı kökler ağır metalleri depolama ve inaktive etme yerleri olarak görev yapmaktadır (Tukendorf, 1987; Lin vd., 2003; Panou-Filotheou ve Bosabalidis, 2004; Lou vd., 2004).

Bakır bir geçiş elementi olması nedeniyle bitkilerde oksidan strese sebep olan etmenlerin başında yer almaktadır (Aust vd., 1985, Elstner vd., 1988; Dat vd., 2000;

Azevedo vd., 2007). Oksijen radikallerinin fazla yapımının sonucu ‘oksidan stres’ oluşur (Akkuş, 1995; Foote, 1995; Van Montague ve Inze, 2002; Halliwell, 2006; Mittler, 2006). Oksidan stres ayrıca antioksidan savunma sistemi ile serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak da tanımlanabilmektedir (Mittler, 2002; Eryılmaz, 2007).

Vücudumuzdaki hücreleri hasara uğratan, yaşlılığa ve birçok hastalığın ortaya çıkmasına sebep olan serbest radikaller yüksek düzeyde tahrip edici etkiye sahiptirler. Oksidan maddelerin kanser, kalp hastalığı, artrit, katarak, hafıza kaybı ve yaşlanma yapma etkileri vardır. Aşırı bakır uygulamaları toksik oksijen türlerinin miktarında artışa yol açarak hücrelerin yapı ve işlevlerinde ciddi zararlar meydana getirebilmekte (Pompella, 1997; Demirevska-Kepova vd., 2004; Sgherri vd., 2007), büyümenin gerilemesinden organizmanın ölümüne kadar varabilen pek çok değişime neden olabilmektedir (Chen vd., 2000; Gechev vd., 2006; Azevedo vd., 2007).

Bakırın proteinlerdeki sülfidril (-SH) gruplarına bağlanarak hücre yapısında bozulmalar ve kromozom lezyonları meydana getirdiği de saptanmıştır (Tukendorf, 1987; Palma vd., 2002; Ahsan vd., 2007; Zhang vd., 2007). Bakır klorürün *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray kök ucu hücreleri üzerine sitogenetik etkileri araştırılmış ve bakır klorürün mitoz bölünmeyi önemli derecede baskıladığı, doz ve zaman artışına bağlı olarak kromozom anormalliklerine sebep olduğu ve mitotik indeksi azalttığı görülmüştür (İnceer ve Beyazoğlu, 2000).

Endüstriyel faaliyetler sonucu su ve toprağa karışan bakır, besin zinciri yoluyla da organizmalara geçerek toksik etki yapmaktadır (Türkiye'nin Çevre Sorunları, 1991). Bitkiler bu toksik etkilerden korunmak, yaşamlarını sürdürebilmek; büyüme, gelişme ve diğer metabolik olaylarını düzenleyebilmek ayrıca çevresel stres etmenlerinden korunabilmek üzere çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Mckersie ve Leshem, 1994; Dixon ve Paiva, 1995; Chalker-Scott, 1999; Mittler, 2002, 2006). Bunun için sentezledikleri kimyasal bileşikler ‘sekonder metabolitler’ olarak adlandırılmaktadır. Polifenoller içerdikleri 8000’den fazla sayıda fenolik bileşik ile sekonder bitki metabolizmasının en geniş dağılım gösteren yapılarıdır (Eryılmaz, 2007). Fenolikler; serbest radikal temizleyici ve antioksidan kapasiteleri (Chimi vd., 1991; Ferreira vd., 2007), metal iyonu şelatlayıcı özellikleri (Lavid vd., 2001; Son ve Lewis, 2002; Esparza vd., 2004, 2005; Maillard vd., 2007), gen ekspresyonunu düzenleyici etkileri (Mol vd., 1998) ile pek çok biyolojik ve tıbbi nitelikler taşımaktadır.



### 1.2.2. Antosiyaninler ve Özellikleri

Fenolik bileşikler olan antosiyaninler (Yunanca anthos=çiçek, kyanos=mavi) yüksek bitkilerin çeşitli kısımlarının özellikle kırmızı, mor ve mavi renklerinden sorumlu olan pigmentlerdir. Yapılan araştırmalara göre doğada 400'den fazla antosiyanin olduğu tahmin edilmektedir (Kong vd., 2003). Bitkinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyve gibi organlarında bulunabilmektedirler. Bitkilerdeki generatif organlar antosiyaninler aracılığı ile sahip oldukları göz alıcı renkleriyle böcek ve kuş gibi tozlaştırıcıların çekimlenmesini sağlamaktadır. Bu nedenle antosiyaninler tozlaşma olayı ve tohumların yayılmasında önemli ekolojik rollere sahiptir (Harborne ve Williams, 2000; Williams vd., 2004).

Antosiyaninler, bitki aleminde suda çözünebilen en yaygın pigmentlerdir. Antosiyaninlerin renkleri yapıya ve meyvenin asitliğine de bağlıdır. Çoğu antosiyanin asidik ortamda kırmızı olurken, bazik ortamda maviye döner. Bu özelliklerinden dolayı antosiyaninler, asit-baz indikatörü olarak da kullanılmaktadır (Ovando vd., 2009).

Antosiyaninler, antioksidan, antikanser, antibakteriyal ve antiinflamator gibi biyolojik etkilerinin yanında (Kowalczyk vd., 2003), gıda boyası, saç boyası ve son yıllarda güneş pillerinde hassaslaştırıcı olarak da kullanılmaktadır (Fernando ve Senadeera, 2008). Bu özelliklerinden dolayı günümüzde antosiyaninlere karşı olan ilgi artmıştır.

Antosiyaninler, neredeyse tüm bitki familyalarında bulunur. Bunların ana kaynağı, böğürtlen, üzüm, yaban mersini gibi küçük sulu ve taneli meyveler, avokado, portakal ve patlıcan, zeytinler, kırmızı soğan, tatlı patates gibi bazı sebzelerdir (Kantar, 2010).

Antosiyaninler fenolik yapıda olduklarından antioksidan potansiyele sahiptirler. Antioksidan kapasite bakımından kıyaslandığında, antosiyaninlerin, 150 flavonoidin antioksidan gücüne sahip olduğu rapor edilmiştir (Hou vd., 2004; Cooke vd., 2006; Zafra-Stone vd., 2007; Wang ve Stoner, 2008). Antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek onların hücrelere zarar vermelerini önlemektedirler.

Antioksidanların yaşlanmanın önüne geçtiği gerçeği, bu maddelerin en önemli aktivitesidir. Antioksidanlar, DNA moleküllerine zarar veren ve kansere yol açan serbest oksijen radikallerini nötralize ederken (Rauha, 2001), Alzheimer ve diğer yaşlılıktan kaynaklanan hastalıkları engellemektedirler (Marianne ve Engelhart, 2002). Antosiyaninlerin ve onların türevlerinin birçok yaygın üründe bulunduğu ve bunların çok sayıda mekanizmada oksidanlara karşı koruma görevi üstlendiği bilinmektedir. Antosiyaninler büyük ve küçük kan damarlarını oksidatif hasardan korurken, aynı zamanda

diyabetik hastalarda komplikasyonlara neden olan yüksek kan şekeri seviyesinin yol açtığı kılcal damarlardaki hasarı azaltır (Lätti vd., 2009). Bansal vd. (2005) delfinidinin beyin dokularındaki lipid oksidasyonunu engellediğini ve kalp damar hastalıklarını azalttığını kanıtlamışlardır (Andriambelosen, 1998). Yapılan laboratuvar çalışmalarında tümör hücrelerinin antosiyaninlerle inhibe edilebileceği bulunmuştur. Meiers (2001) siyanidinin ve delfinidinin kanser hücrelerinde epidermal büyüme faktör reseptörlerini inhibe ettiğini, malvidinin ise daha az etkili olduğunu belirtmiştir.

Antosiyaninlerin diğer bir önemli antioksidan özelliği demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları ile çeşitli bağlar kurup kompleks yapılar oluşturarak, bu metal iyonlarının serbest radikal üretimini engellemektir (Rice-Evans, 1995). Bu durum flavonoidlerin şelatlayıcı özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Üzerinde çalışıldıkça yeni özellikleri keşfedilen antosiyaninlerin bilinen antioksidanlardan birisi olan askorbattan (C vitamini) birçok kez daha aktif olduğu da belirtilmektedir (Eryılmaz, 2007).

Antosiyaninlerin normal ve kanserli hücreler üzerine antiproliferatif etkileri karşılaştırılmış, antosiyaninin seçici olarak kanserli hücrelerin büyümesini engellerken normal hücrelerin büyümesine ise çok az ya da hiç etki etmediği sonucu ortaya konulmuştur (Hakimuddin vd., 2004; Galvano, 2004 ). Antosiyaninlerin, kanserli hücrelerle normal hücrelerin büyümesi üzerindeki bu seçici etkisinin mekanizması bilinmemektedir (Wang ve Stoner, 2008).

Antosiyaninlerin ağır metale maruz kalmış organizmaları koruduğu bilinmektedir. Fareler üzerinde yapılan bir deneyde antosiyaninin kadmiyumun (Cd) zararlı etkisini azalttığı görülmektedir (Kowalczyk vd., 2003). Yine kırmızı lahanadan elde edilen antosiyaninin *A. cepa* kök meristem hücrelerinde kurşun (Pb) depolamış olan hücre sayısını azalttığı tespit edilmiştir (Glinska vd., 2007). Antosiyaninin de içinde bulunduğu fenolik bileşikler farmakolojik işlevlere, antimutajenik ve antitümör faktörlere sahiptir (Gasirowski vd., 1997). Antimutajen terimi mutasyona sebep olan zararlı ajanların frekansını ya da oranını değişik mekanizmalarla kendiliğinden azaltan yararlı ajanlar olarak tanımlanmaktadır (Water vd., 1996). Mutajenik ve karsinojenik (kanserojen) ajanlar insanın bulunduğu hemen her yerde her zaman mevcuttur ve bütün bu zararlı ajanları tamamen ortadan kaldırmak pek mümkün değildir (Gasirowski vd., 1997). Bu sebeple mutajenik ve karsinojenik faktörlerin genotoksik etkisini azaltmak için düzenli olarak antimutajenik ajanlar alma ihtiyacı ortaya çıkmaktadır (Gasirowski vd., 1997). Bu antimutajenik ajanlara verilebilecek en iyi örnek ise doğal gıdalardır (Gasirowski vd.,

1997). Hem koruma hem de tedavi amaçlı olarak özellikle de antioksidan bakımından zengin bir çok meyve ve sebze bu açıdan araştırma konusu olmuştur.

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda bir çok gıda maddesinin antimitojenik ve antikarsinogenik özelliğe sahip bileşiklerden oluştuğu ortaya koyulmuştur (Block vd., 1992; Wattenberg vd., 1985; Stavric, 1994; Water vd., 1996). Kırmızı lahanadan elde edilen antosiyanince zengin özütün *A. cepa* meristem hücrelerinde ağır metallere karşı etkisinin araştırılması sonucunda bu özütün ağır metallere karşı koruyucu etkisi olduğu kanaatine varılmıştır (Glinska vd., 2007). Posmyk vd., (2008) kırmızı lahanadan elde edilen özütteki antosiyaninin, bakırın sebep olduğu hasarların sayısını azalttığı sonucuna varmıştır. Kırmızı lahana ile yapılan bir başka çalışmada elde edilen antosiyanince zengin özütün bakırın sebep olduğu sitolojik hasarları önlemekle kalmayıp aynı zamanda iyileştirdiği de ortaya koyulmuştur (Posmyk vd. 2009). *Capparis spinosa* L. bitkisinin tomurcuklarından alınan özütün *A. cepa* meristem hücreleri üzerine genotoksik ve antimitojenik etkileri araştırılmış ve fenolikler bakımından zengin olan bu bitki özütünün genotoksik olmadığı ve antimitojenik potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Aslantürk ve Çelik, 2009).

Choi vd. (2007) *Vaccinium myrtillus* L.'tan elde edilen antosiyanince zengin özütün farelerde oral yoldan alınımının, kemik iliği baskılanmasına sebep olan 5-fluorourasile karşı koruyucu olduğunu ve 5-FU'in kemoterapötik etkisini artırdığını rapor etmişlerdir. Fenolik bileşikler bakımından zengin olan *Hibiscus rosa-sinensis* L. bitkisinden elde edilen özütün *A. cepa* üzerinde hücre bölünmesini durduran antimitotik bileşenler içerdiği tespit edilmiştir (Özmen, 2010).

### 1.2.3. *Vaccinium arctostaphylos* L.'nin Genel Özellikleri

Çoğunlukla kuzey yarımkürede yayılış gösteren *Vaccinium* (Ericaceae) cinsi (Morazzoni ve Bombardelli, 1996) Türkiye Florası'nda 4 türle temsil edilmektedir. Bunlar *V. arctostaphylos* L., *V. vitis-idea* L., *V. uliginosum* L. ve *V. myrtillus* L.'dir. *Vaccinium arctostaphylos* (yaban mersini) bu cinsin ülkemizde özellikle Doğu Karadeniz'de yayılış gösteren bir türüdür. *V. arctostaphylos* Doğu Karadeniz'de orman meyvesi olarak tüketilmekte ve bu türe bölge halkı tarafından çay üzümü, likapa, ligarba, ayı üzümü, kaskanaka, motsvi, dal likapası, lifos, çalı çileği, çela v.s. gibi yöresel isimler verilmektedir. Çok yıllık çalı formunda bir bitkidir, çiçeklenme zamanı 5-7 aylardır. Seyrek kayın ve köknar ormanları arasında, çoğunlukla *Rhododendron* L. çalılıkları ile birlikte orman altı

bitkisi olarak yaşamaktadır. Bitkinin boyu 1-6 m arasındadır ve 0-1830 m yükseklikte yayılış gösterir. Mor-siyah ya da maviye çalan etli meyveleri yenmektedir (Stevens, 1978).

Yaban mersini meyveleri taze olarak tüketildiği gibi gıda sektöründe meyve suyu, reçel, meyveli yoğurt ve dondurma olarak da işlenmektedir. Yapraklarından ve kurutulmuş meyvelerinden çay yapılmakta ve çeşitli yiyeceklerde kullanılmaktadır (Seyis, 2011). Bitkinin çeşitli kısımlarından ilaç sektöründe faydalanılmaktadır. Yaban mersini bir orman meyvesi olmasının yanı sıra peyzaj uygulamalarında süs bitkisi olarak değerlendirilmektedir (Seyis, 2011). Yaban mersini meyvesinin çok çeşitli kullanım alanları olmasına rağmen üretimi ülkemizde pek yaygın olmadığından tam olarak bilinmemektedir. Dünya üzerinde üretim ve tüketimi gittikçe artan yaban mersini ülkemiz genelinde yeni tanınmaktadır ve halen tüketilen miktarın büyük bir kısmı yurt dışından ithal edilmektedir. Karadeniz Bölgesi'ndeki doğal asitli topraklarda mükemmel performans gösteren ve kaliteli ürün veren yaban mersini (maviyemiş-likapa) özellikle çay ve fındık gibi monokültür tarımın hakim olduğu Doğu Karadeniz Bölgesi'nde ürün desenine çeşitlilik katmaya başlamıştır (Çelik, 2006).

*Vaccinium arctostaphylos*'un meyveleri antosiyaninler bakımından zengin ve diğer mavi yemiş "blue-black berries" lerden %41 düzeyindeki delfinidin bakımından farklıdır ve buna ilaveten özellikle sambubiozid varlığı *V. arctostaphylos*'u diğer *Vaccinium* türlerinden kesin olarak ayırmaktadır (Lätti vd., 2009). *V. arctostaphylos* bitkisinde baskın olan antosiyanidinler; delfinidin (%41), petunidin (%19) ve malvidin (%19) dir (Lätti vd., 2009). Delfinidin Kafkas yaban mersinlerinde en fazla bulunan antosiyanidin olarak aydınlatıldı (Lätti vd., 2009). Delfinidin vücutta önemli bir oksidan kaynağı olan hidroksil radikallerini engellediği bilinmektedir (Noda, 2000). *V. arctostaphylos* meyvesinin fenolik asit yönünden iyi bir besin kaynağı olduğu ortaya koyulmuştur (Ayaz vd., 2005) ve yaban mersininin antioksidan etkisinin vitamin C ve BHT (butil hidroksi toluen)'den fazla olduğu tespit edilmiştir (Wang ve Jiao, 2000).

*Vaccinium arctostaphylos*'un yapılan çalışmalarda birçok özelliği aydınlatılmasına rağmen ağır metallere karşı etkisi hakkında herhangi bir çalışma yoktur.

#### **1.2.4. Allium Testi**

*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 (Fiskeşjö, 1985). *Allium* testiyle mitozdaki anormallikler ve kromozom hasarları belirlenmektedir. *A. cepa* kromozom hasar testi için kullanılır, sitotoksisite ve genotoksisite için standart bir testtir ve toksik materyallerin etkisini çalışmak için rutin olarak kullanılmaktadır (Fiskeşjö, 1985). *Allium* Testi'nin uygulaması kolay ve maliyeti düşüktür. *A. cepa*'nın kromozomları sayıca az fakat yapı bakımından büyüktür. Bu test memeli test sistemleriyle iyi korelasyon gösterir ve kimyasalların çevre üzerindeki genotoksik potansiyelini belirlemede etkili bir sistemdir (Chauhan, 1986). Elde edilen sonuçlarla mitotik indeks (MI) ve kromozom anormallikleri incelenebilmektedir. MI hücre döngüsündeki toplam bölünen hücre sayısını verir. MI'deki hem artış hem de azalış çevresel kirlenmeyi görüntülemeye özellikle de toksik ve sitotoksik kirleticilerin değerlendirilmesinde önemli bir indikatördür (Hoshina, 2002).

Fiziksel veya kimyasal ajanlara maruz kalındığında oluşan kromozom hasarları kromozomun yapısında veya toplam sayısında olabilmektedir (Russel, 2002). DNA kırılmaları, DNA sentezinin inhibisyonu, tahrip edilmiş DNA'nın replikasyonu gibi faktörler yapısal kromozom değişimlerine sebep olurlar. Poliploidi ve anöploidi gibi sayısal kromozom anormallikleri kendiliğinden ya da anöjenik ajanların etkisiyle oluşan kromozomların anormal segregasyonunun bir sonucudur (Ferguson, 2001).

Son yıllarda artan ağır metal kirliliği ve bunun canlılar üzerindeki zararlı etkisi çalışmaları bu yöne kaydırmıştır. Bilim adamları ağır metallerin canlılar üzerinde oluşturduğu mutasyonlar ve bu mutasyonların sonucunda oluşan kanser gibi pek çok zararlı etkiye karşı bitkilerden ve onların antioksidan savunma sistemlerinden cevap üretmeye çalışmaktadır. Bu çalışmada ise bakırın toksik etkisine karşı antosiyanin kaynağı olarak Doğu Karadeniz'de doğal olarak yetişen *V. arctostaphylos* bitkisinin özütü kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda güçlü bir antosiyanin kaynağı olarak gösterilen *V. arctostaphylos*'un antimutajenik etkisi hakkında henüz bilgi yoktur. İlk defa bu çalışma ile *V. arctostaphylos*'un bakır metaline karşı antimutajenik etkisi araştırılarak literatürdeki bu eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır.

## **2. YAPILAN ÇALIŞMALAR**

### **2.1. Materyal Temini**

Çalışmada kullanılacak olan *V. arctostaphylos* bitkisi doğal olarak yetiştiği Doğu Karadeniz bölgesinden vejetasyon döneminde toplandı. Toplanan bitki örnekleri preslenerek kurutuldu ve herbaryum materyali haline getirildi. Bitkinin meyveleri derin dondurucuda saklandı.

### **2.2. Antosiyanin (ASY) Özütünün Elde Edilmesi**

30 gr yaban mersininden antosiyaninler %80 metanol kullanılarak 3 kez özüt elde edildi. Tüm özütler biriktirildi ve evaporatörde kuruyuncaya kadar uçuruldu. Daha sonra kuru özüt suda çözüldü ve faz-faz, katı-faz ekstraksiyonuyla fraksiyonlandı. Organik fazlar uçurulduktan sonra geri kalan antosiyanin fraksiyonu tekrar evaporatörde kuruyuncaya kadar uçuruldu ve toz haline getirildi. Uygun konsantrasyonu bulabilmek için yapılan denemeler sonucunda 25µM'lık antosiyanin çözeltileri hazırlandı. Antosiyanin özütünün elde edilmesi Lätti vd.'e (2009) göre yapıldı.

### **2.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması**

Çalışmada 12 ve 24 saatlik deney setleri oluşturuldu. 50 ve 100 mg/L'lik bakır sülfat çözeltileri saf su ile hazırlandı. Kontrol grubunda ise saf su kullanıldı.

### **2.4. Soğan Köklerinin Büyütülmesi**

Araştırmada test materyali olarak ticari amaçlı satılan *A. cepa* kullanıldı. Test denemelerinden hemen önce soğanlar akan su altında bir süre yıkandı, tabana yakın dış kabuklar soyuldu ve kurumuş kök kalıntıları uzaklaştırıldı. Sağlıklı ve eşit büyüklükte 10 adet soğan seçildi ve saf suyla dolu eşit hacimli kaplarda oda sıcaklığında karanlıkta

çimlenmeye bırakıldı. Daha sonra homojen kök büyümesi gösteren soğanlar seçildi (İnceer ve Beyazoğlu, 2000).

### **2.5. Bakır Sülfat ve Antosiyanin Muamelesi**

Saf suyla çimlendirilen soğanlardan homojen kök uzaması gösterenler, 12 ve 24 saat süreyle sırasıyla 50 ve 100 mg/L'lik bakır sülfat çözeltisine maruz bırakıldı. Uygulama süresinin sonunda aktif kök uçları alınarak aynı soğanlar 25 µM'lık antosiyanin ile 12 ve 24 saat süre ile muamele edildi ve tekrar soğanlardan kök uçları alındı. Antosiyanin muamelesi Glinska vd. (2007)'e göre yapılmıştır.

### **2.6. Fiksasyon ve Saklama**

Soğanlardan alınan aktif kök uçları 3:1 oranında alkol-asetik asit çözeltisinde bir gece 4°C'de bekletildi. Fiksasyondan sonra materyalin daha uzun süre saklanması amacıyla kökler %70'lik alkole alındı. Daha sonra materyaller stok halde 4°C'de buzdolabında muhafaza edildi (Jones ve Rickards, 1990).

### **2.7. Hidroliz**

Mitoz preparatlarının hazırlanması için %70'lik etil alkolden alınan kök uçları saf su ile yıkandıktan sonra hücre çeperinin yumuşaması ve hücrelerin serbest duruma geçmesi için 1 N HCl'de, 60°C'de, 8-10 dk hidroliz edildi (Jones ve Rickards, 1990).

### **2.8. Boyama ve Preparat Hazırlama**

Hidroliz aşamasını takiben kökler saf suyla yıkandı ve Schiff-Reagent'a alındı. 1-2 saatlik muamelenin ardından kök uçlarının boyanması sağlandı. Boyama sonunda daha belirgin hale gelen kök uçlarının meristematik kısımları kesilerek lam üzerine alındı ve bir damla % 45'lik asetik asit ile ezme preparatları yapıldı. Bu şekilde hazırlanan preparatlar saf etil alkol konulan şalede 4°C'de bir gece bekletildi. Bu işlemin sonunda preparatlar Entellan ile daimi hale getirildi (Elçi, 1994).

## 2.9. Sitogenetik İncelemeler

Her bir uygulama grubunda hazırlanan 3 preparatın her birinden tesadüfi olarak seçilen 5 bölgedeki hücreler sayıldı. Mitoz bölünmenin değişik safhalarındaki hücreler incelenerek, kromozomal anormallik çeşitleri belirlendi (İnceer ve Beyazoğlu, 2000). Daha sonra her bir grup için bölünen hücrelerin toplam hücrelere oranı olarak tanımlanan mitotik indeks hesaplandı. Mitotik indeks yüzde (%) olarak şu formül ile hesaplanmaktadır;

$$\text{Mitotik İndeks (\%)} = \frac{\text{Bölünen Hücre Sayısı} \times 100}{\text{Toplam Hücre Sayısı}}$$

Her bir uygulama grubu için mitozun her bir safhasındaki hücrelerin oranı belirlendi. Her safhadaki anormal hücrelerin oranı ve bu anormalliklerin neler olduğu saptandı. En sık görülen anormalliklerin fotoğrafları çekildi. Normal ve anormal hücrelerin oranı aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Kara vd., 1994).

Normal hücreler için:

$$\% = \frac{\text{Profazdaki Hücre Sayısı} \times 100}{\text{Toplam Mitotik Hücre Sayısı}}$$

Anormal hücreler için:

$$\% = \frac{\text{Profazdaki Anormal Hücre Sayısı} \times 100}{\text{Profazdaki Toplam Hücre Sayısı}}$$

## 2.10. İstatistiksel Analiz

Kontroller ve uygulama grupları arasındaki farklılıklar, Statistica (versiyon 7.0) bilgisayar programında Dunnett t-test (2 yönlü) yapılarak değerlendirilmiştir (P=0,05).



### 3. BULGULAR

Bakır sülfat çözeltisinin 50 ve 100 mg/L'lik dozlarının ve yaban mersininden elde edilen ASY'in 12 ve 24 saat süre ile *A. cepa* kök ucu hücrelerine uygulanması sonucu elde edilen veriler Tablo 1-2'de gösterilmiştir. Kontrol gruplarında gözlenen mitozun normal safhaları Şekil 5-8'de bakır sülfat uygulaması sonucu oluşan kromozom anormallikleri ise Şekil 9-14'de verilmiştir.

#### 3.1. Mitotik İndeks Üzerine Bakır Sülfatın ve ASY'nin Etkisi

Yapılan incelemeler sonucunda 12 ve 24 saat süre ile 50 ve 100 mg/L bakır sülfat uygulanan tüm gruplarda MI oranının doz artışına bağlı olarak kontrole göre azaldığı tespit edilmiştir. Çalışma gruplarında ASY uygulandıktan sonra ise MI oranında artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 1).

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda 12 ve 24 saatlik uygulama periyodunda 50 ve 100 mg/L bakır sülfat uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasındaki MI farkının istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1).

12 ve 24 saat süreyle 50 mg/L bakır sülfat uygulandıktan sonra ASY uygulandığında MI değerinin arttığı tespit edilmiştir. 12 ve 24 saatlik uygulama periyodunda 50+ASY grubu ile kontrol arasındaki MI farkı istatistiksel açıdan önemsizdir. ASY uygulamasının iyileştirme yaparak MI değerini kontrol grubunun değerine yaklaştırdığı tespit edilmiştir. Bu durum *V. arctostaphylos*'tan elde edilen antosiyanince zengin özütün antimutajenik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Her iki uygulama periyodunda 100 mg/L bakır sülfat uygulanan gruplarda ASY uygulaması MI değerini kontrol değerine yaklaştırmaya çalışmıştır ancak meydana gelen hasar çok fazla olduğundan iyileştirme yetersiz kalmıştır. 100+ASY uygulanan grupların MI değeri ile kontrol gruplarının MI değeri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir (Tablo 1).

### 3.2. Bölünmenin Farklı Safhalarında Bakır Sülfat ve ASY'in Etkisi

Bakır sülfat uygulanan *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitoz bölünmenin farklı evrelerinde çeşitli kromozomal anormallikler meydana gelmiştir (Tablo 2). Bu anormallikler; profazda düzensiz kromatin dağılımı; metafazda yapışıklık (Şekil 11), c-metafaz (Şekil 9), geri kalan kromozom (Şekil 12) ve düzensiz kromozom dağılımı; anafaz-telofaz safhalarında ise köprü oluşumu (Şekil 10), yapışıklık, geri kalan kromatid (Şekil 13) ve düzensiz kromatid dağılımı şeklindedir (Şekil 14).

Bölünmenin farklı safhalarında bakır sülfat ve ASY'in etkisini incelemek için her safhada normal ve anormal hücreler sayılarak anormallik yüzdeleri hesaplandı (Tablo 1). Kök ucu hücrelerinin mitoz bölünmelerinde görülen anormallik oranı kontrol grubu ve diğer gruplar ile birlikte Tablo 1'de gösterilmiştir. Tablodan da görülebileceği gibi anormallik oranı kontrol grubunda yok denecek kadar azdır.

Profaz safhasına bakıldığında 50 ve 100 mg/L bakır sülfat uygulamasından sonra ASY uygulandığında profaz oranının arttığı belirlenmiştir (Tablo 1). Metafaz ve anafaz-telofaz oranında ASY uyguladıktan sonra azalma olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak 12 ve 24 saat süreyle 50 ve 100 mg/L bakır sülfat uygulanan gruplarda anormallik oranı doz artışına paralel olarak artış göstermektedir. En yüksek anormallik oranının her iki uygulama periyodunda 100 mg/L bakır sülfat grubunda ve metafaz safhasında olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber en fazla yapışıklık ve köprü oluşumu gibi kromozomal anormalliklere rastlanmıştır. Uygulamada en nadir görülen anormallik tipi düzensiz kromozom dağılımıdır.

12 ve 24 saat süreyle 50 ve 100 mg/L bakır sülfat uygulanan gruplar ASY ile muamele edildiğinde toplam anormallik oranının azaldığı saptanmıştır (Tablo 2, Şekil 2).

Tablo 2'den görülebileceği gibi 12 saat 100 mg/L grubunda metafaz safhasında yapışıklık yüzdesi ve 24 saat 100 mg/L grubunda anafaz-telofaz safhasında köprü oluşumu yüzdesi en yüksek değere ulaşmıştır (Şekil 3-4).

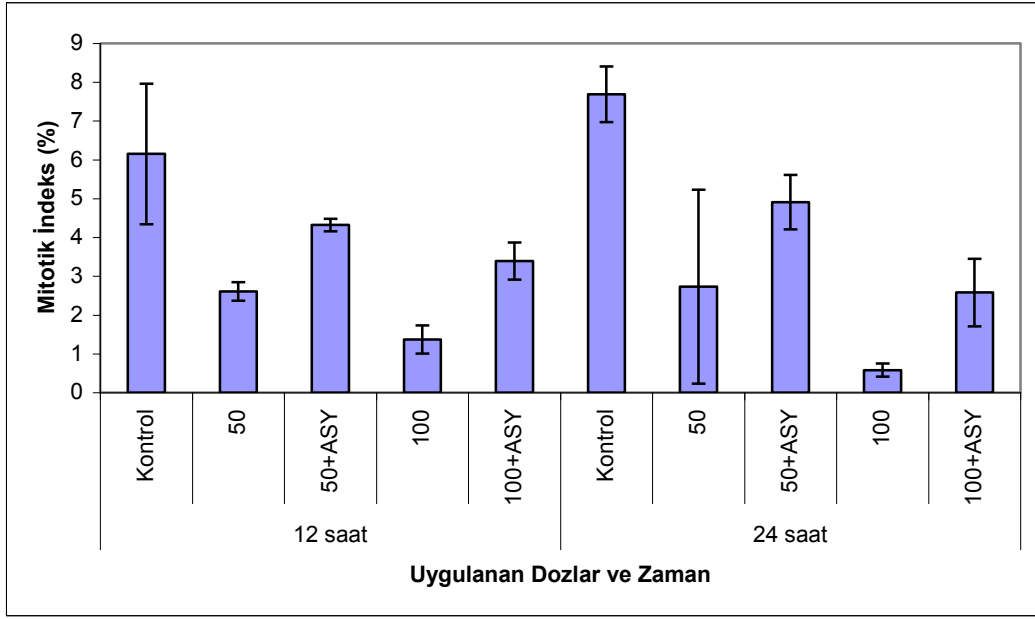
Tablo 1. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde MI ve mitoz bölünmede görülen anormallik oranları

Uygulama Saati	Konsantrasyon mg/L	Toplam Hücre	Bölünen Hücre	MI ± SD	Profaz Toplam %	Profaz Anormal %	Metafaz Toplam %	Metafaz Anormal %	Anafaz-Telofaz Toplam %	Anafaz-Telofaz Anormal %
12	Kontrol	1822	112	6,15±1,81	43,75	-	22,32	8,00	33,93	-
	50	2835	74	2,61±0,24*	20,27	-	36,49	88,89	43,24	65,63
	50+ASY	3429	148	4,32±0,16	47,30	1,43	26,35	66,67	26,35	10,26
	100	2845	39	1,37±0,36*	23,08	33,33	17,95	100,00	58,97	69,57
	100+ASY	2716	92	3,39±0,48*	58,70	5,56	15,22	57,14	26,09	12,50
24	Kontrol	1924	148	7,69±0,72	39,19	1,72	20,95	25,81	39,86	5,08
	50	2163	59	2,73±2,50*	37,29	-	37,29	63,64	25,42	33,33
	50+ASY	2853	140	4,91±0,70	60,71	-	20,00	13,57	19,29	37,04
	100	3608	21	0,58±0,17*	28,57	-	52,38	90,91	19,05	50,00
	100+ASY	2593	67	2,58±0,87*	31,34	-	50,75	85,29	17,91	16,67

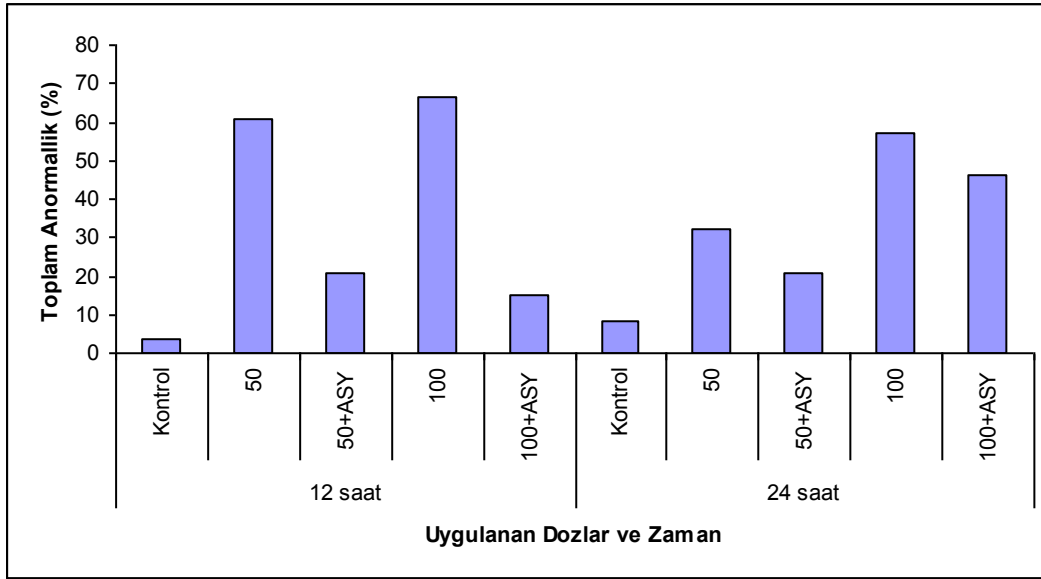
\* P=0.05 derecesinde önemlidir

Tablo 2. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitoz bölünmede görülen anormallik çeşitleri

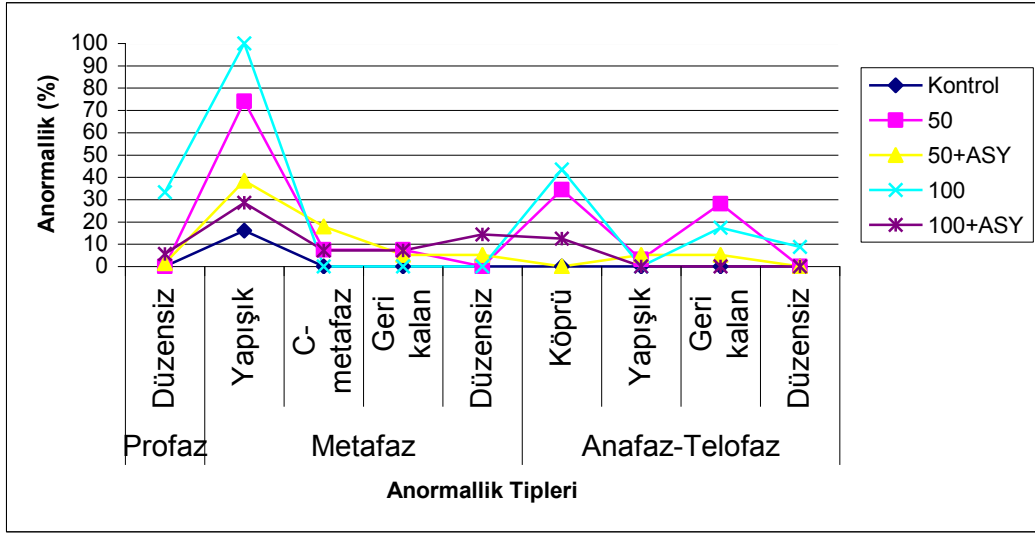
		PROFAZ	METAFAZ				ANAFAZ-TELOFAZ				
Uygulama Saati	Konsantrasyon mg/L	Düzensiz Kromatin Dağılımı(%)	Yapışık (%)	C-metafaz (%)	Geri Kalan Kromozom (%)	Düzensiz Kromozom Dağılımı(%)	Köprü (%)	Yapışık (%)	Geri Kalan Kromatid (%)	Düzensiz Kromatid Dağılımı(%)	Toplam Anormallik (%)
12	Kontrol	-	16,00	-	-	-	-	-	-	-	3,57
	50	-	74,07	7,41	7,41	-	34,38	3,13	28,13	-	60,81
	50+ASY	1,43	38,46	17,95	5,13	5,13	-	5,13	5,13	-	20,95
	100	33,33	100,00	-	-	-	43,48	-	17,39	8,70	66,67
	100+ASY	5,56	28,57	7,14	7,14	14,29	12,50	-	-	-	15,22
24	Kontrol	1,72	22,58	-	3,23	-	5,08	-	-	-	8,11
	50	-	54,55	4,55	-	4,55	20,00	6,67	6,67	-	32,20
	50+ASY	-	42,86	21,43	3,57	-	25,93	7,41	3,70	-	20,71
	100	-	72,73	18,18	-	-	50,00	-	-	-	57,14
	100+ASY	-	70,59	5,88	8,82	-	-	16,67	-	-	46,27



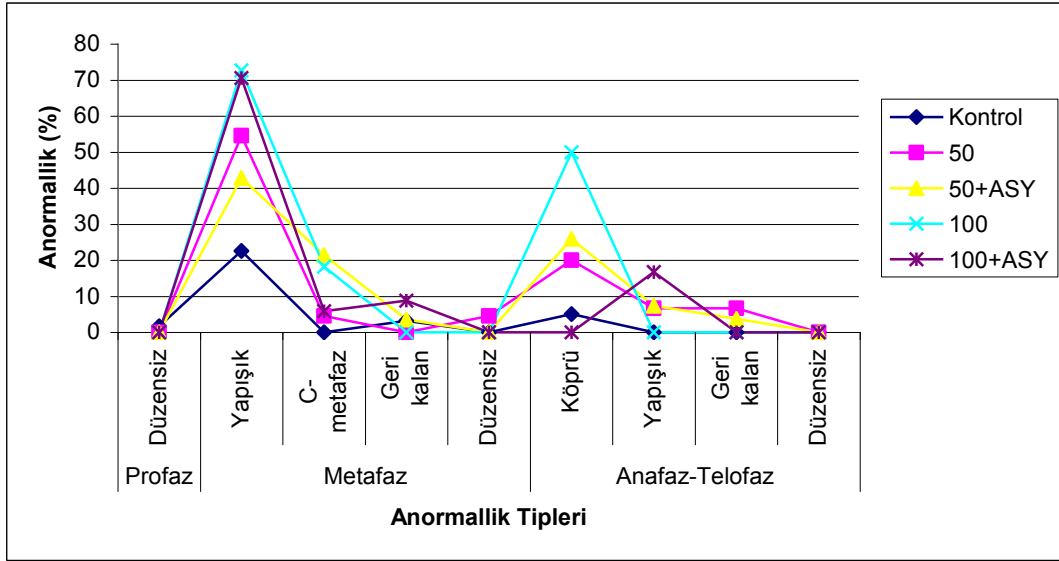
Şekil 1. Bakır sülfat ve ASY uygulanan kök ucu hücrelerinde farklı zamanlarda mitotik indekste gözlenen değişimler



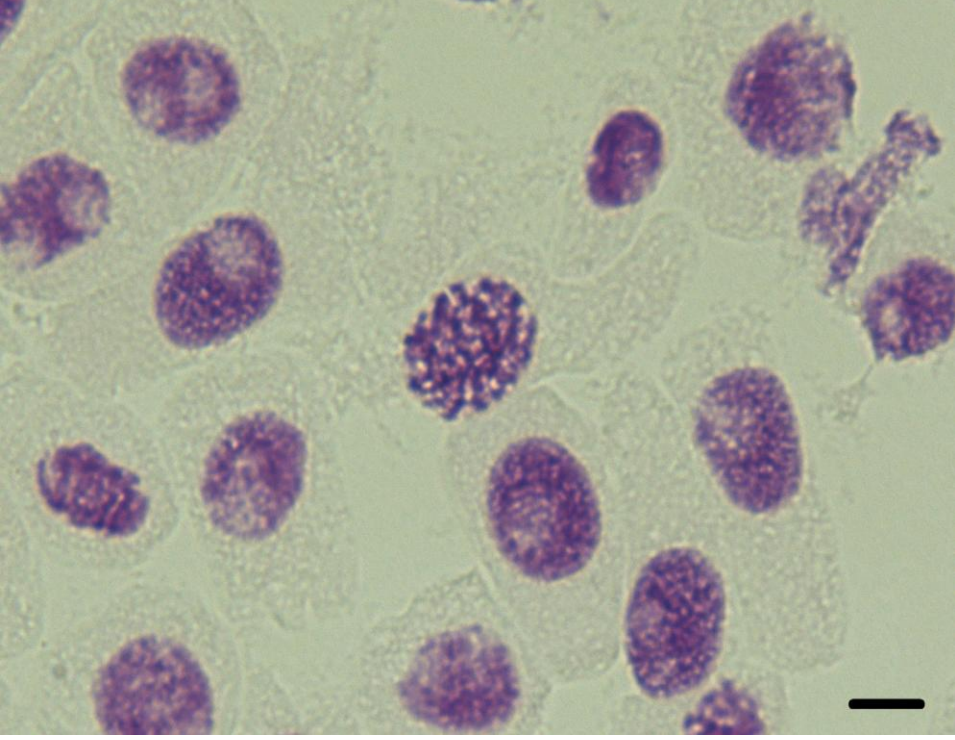
Şekil 2. Bakır sülfat ve ASY uygulanan kök ucu hücrelerinde farklı zamanlarda görülen toplam anormallik oranları



Şekil 3. 12 saatlik uygulamada mitoz bölünmede görülen anormalliklerin yüzdesi



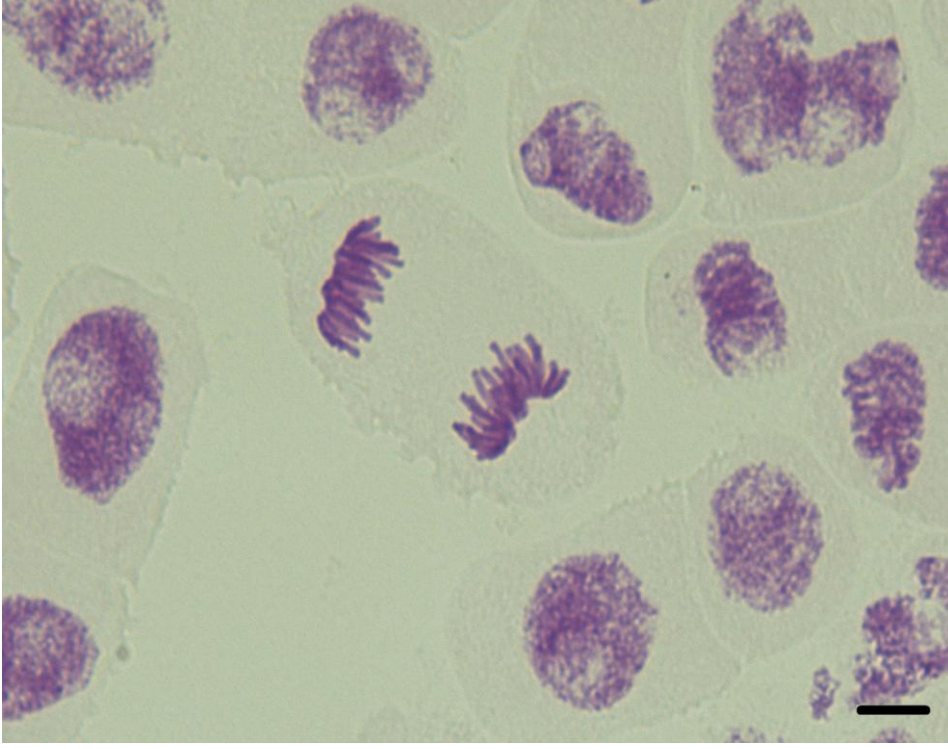
Şekil 4. 24 saatlik uygulamada mitoz bölünmede görülen anormalliklerin yüzdesi



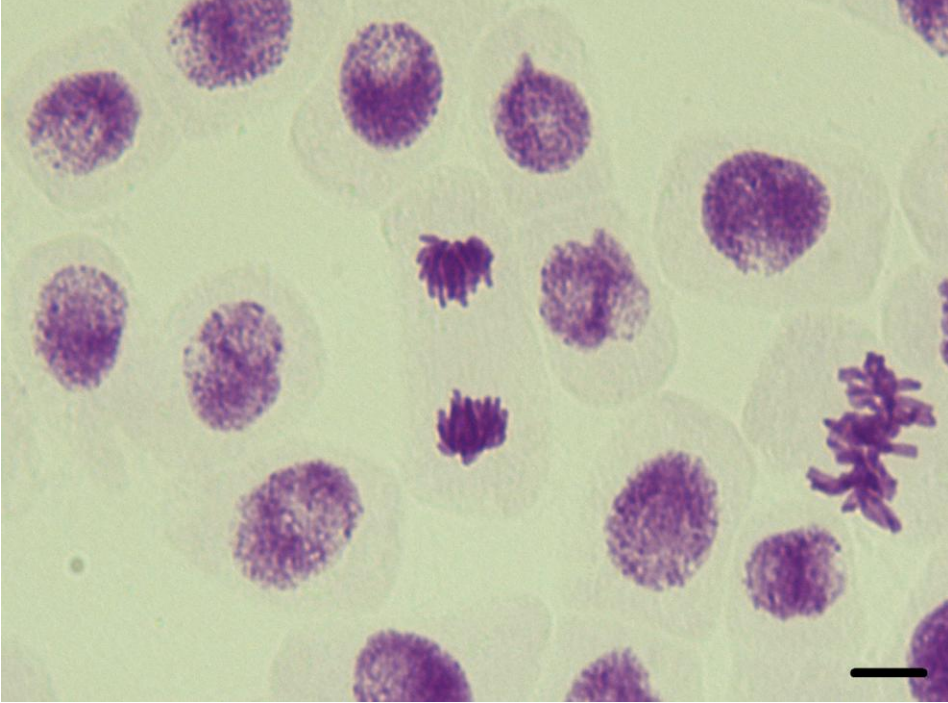
Şekil 5. Mitoz bölünmenin normal profaz safhası (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )



Şekil 6. Mitoz bölünmenin normal metafaz safhası (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )

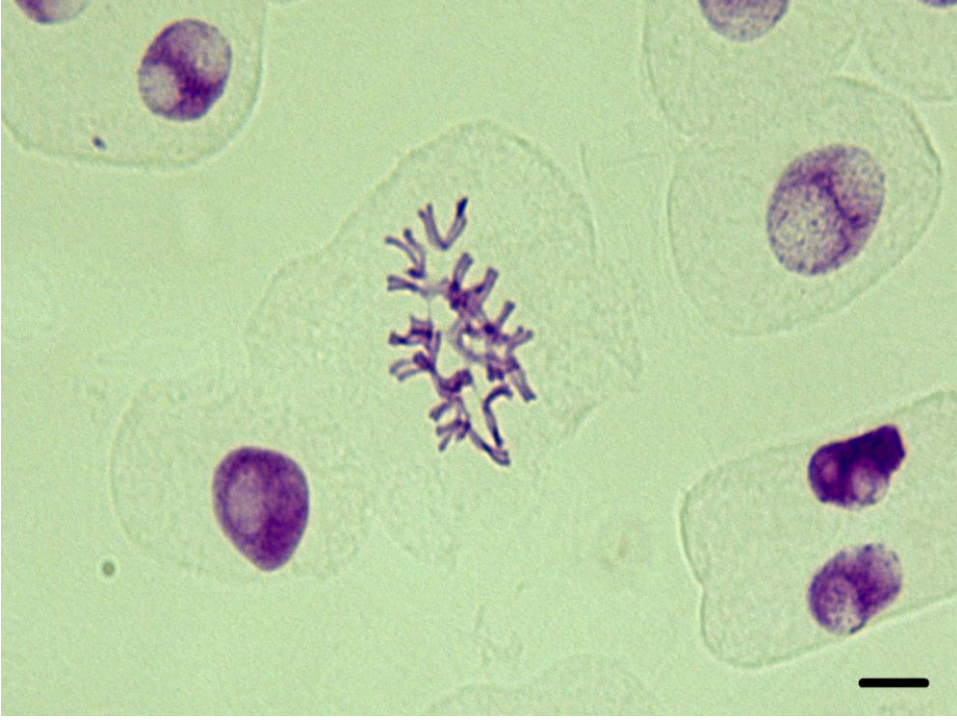


Şekil 7. Mitoz bölünmenin normal anafaz safhası (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )

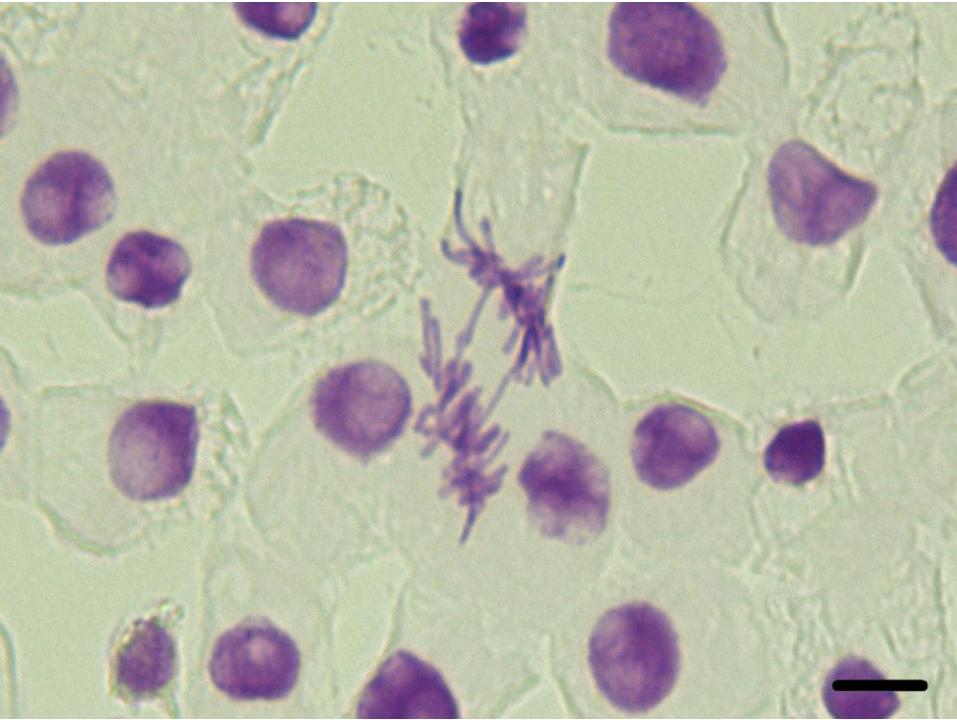


Şekil 8. Mitoz bölünmenin normal telofaz safhası (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )

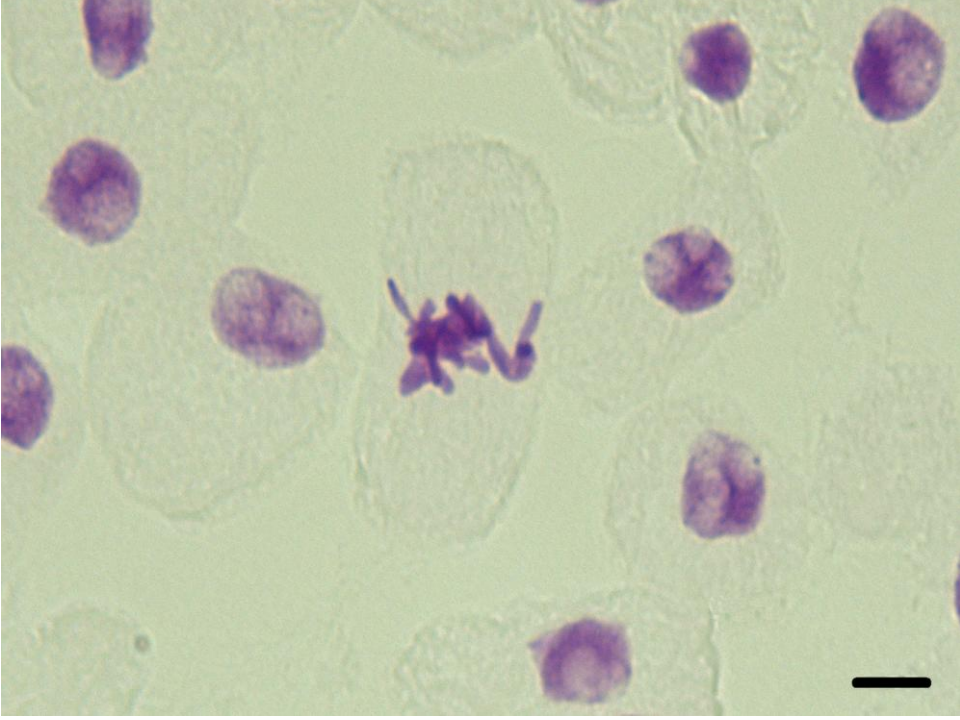




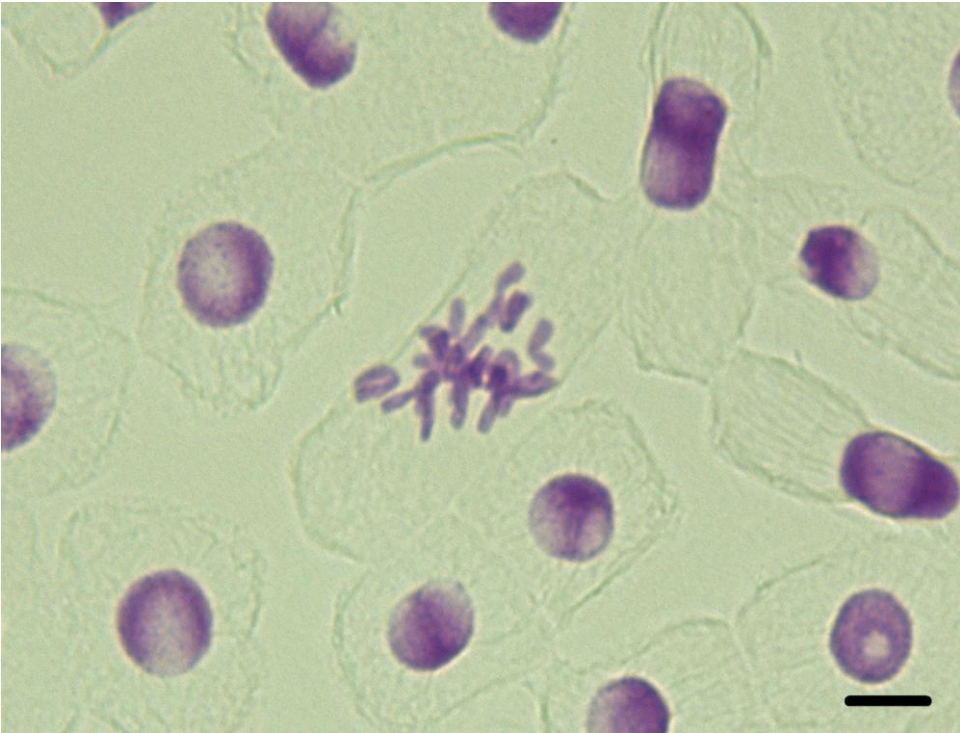
Şekil 9. Mitoz bölünmenin metafaz safhasında görülen c-metafaz (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )



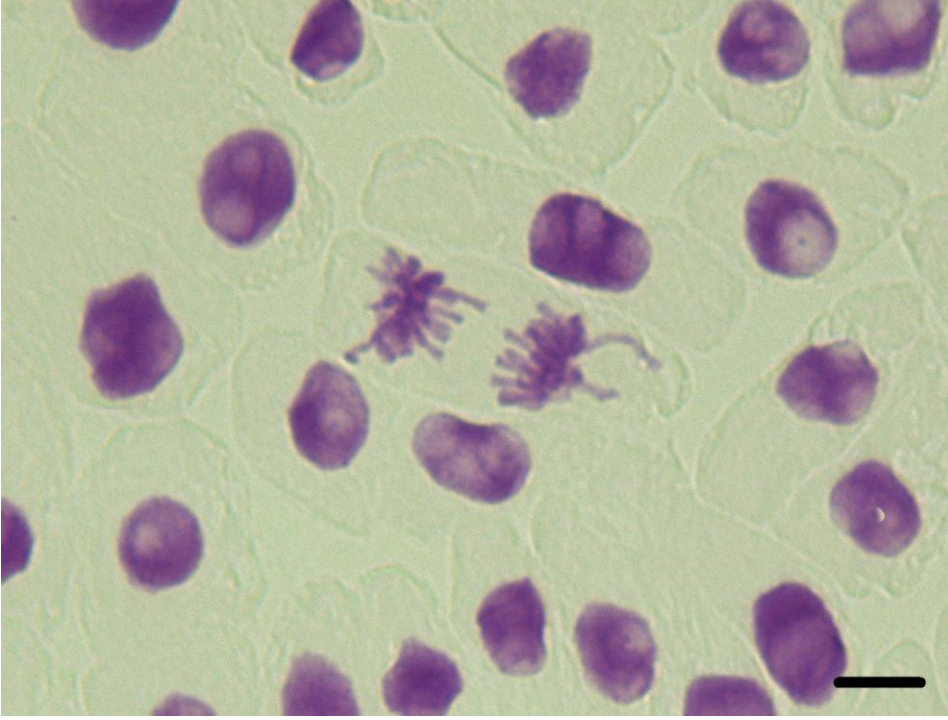
Şekil 10. Mitoz bölünmenin anafaz safhasında görülen kromatid köprüsü (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )



Şekil 11. Mitoz bölünmenin metafaz safhasında görülen yapışıklık (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )



Şekil 12. Mitoz bölünmenin metafaz safhasında görülen geri kalan kromozom (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )



Şekil 13. Mitoz bölünmenin anafaz safhasında görülen geri kalan kromatid (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )



Şekil 14. Mitoz bölünmenin anafaz safhasında görülen kromatid düzensizliği (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )

#### 4. TARTIŞMA

Bu çalışmada *A. cepa* kök meristematik hücreleri üzerine *V. arctostaphylos*'un antimitotik etkisi incelenmiştir. Kromozomal anormallik ile toplam anormallik oranı Tablo 1'de, mitotik indeks değeri ise Tablo 2'de verilmiştir. Mitoz bölünmede görülen anormallik tipleri Şekil 9-14'de gösterilmiştir.

Tablo 1'de görüldüğü gibi, bakır sülfat uygulanan tüm gruplarda MI oranının doz artışına bağlı olarak kontrole göre azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum literatür verileri ile uygunluk göstermektedir. Benzer sonuçlar *Vicia faba* L. kök meristem hücrelerinde (Posmyk vd., 2008) ve *Zea mays* L. hücrelerinde bakır uygulandığında (Jiang vd., 2001) ve *Helianthus annuus* L. kök hücrelerinde bakır klorür uygulandığında (İnceer vd., 2003) gözlenmiştir.

Mitotik indeksteki azalma muhtemelen bakırın hücre döngüsünde yarattığı hasardan kaynaklanmaktadır. Çünkü metal ve DNA arasındaki etkileşim kromatinin işlem bozukluğuna sebep olmaktadır (Glinska vd., 2007). Hücre döngüsünün inhibisyonu büyümenin inhibisyonuna neden olan temel bir durumdur (Maksymiec, 2007). Van't Hof (1968) hücre siklusunda G2 fazının bloke olması veya uzaması ile hücrenin mitoz girme engellendiğini veya geciktiğini bunun da mitotik indeksi azalttığını belirtmektedir.

Kimyasal bir madde bir kez hücrelerle temas edip, kritik konsantrasyonlarda hücre içinde kalırsa, hücre döngüleri arasında bozulmalara neden olan aktif bir form oluşturabilir. Test materyaline uygulanan bakır miktarının fazla olması ROS (Reaktif Oksijen Türleri) oluşumuna sebep olmaktadır. Oluşan serbest radikaller de DNA, protein ve lipid gibi biyolojik makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olmaktadır (Chen vd., 2002; Tewari vd., 2006). Çalışmamızda uyguladığımız bakır sülfatın benzer etkiyi yaratması sonucu MI değerinin azaldığını ve mitozda anormalliklerin oluştuğunu söylemek mümkündür.

Bakır sülfat uygulanan gruplarda elde edilen sonuçlara göre ASY uygulandıktan sonra tüm gruplarda MI oranında artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 1). Bu durum test edilen özütün bakırın neden olduğu sitotoksik hasarı engellediğini ya da tamir ettiğini göstermektedir. 12 ve 24 saatlik uygulama periyodlarında 50+ASY grupları ile kontrol arasındaki MI değeri farkı istatistiksel açıdan önemsizdir. Kullanılan antosiyanin iyileştirme yaparak MI değerini kontrol grubunun MI değerine yaklaştırmıştır. Her iki uygulama periyodunda 100+ASY grubunda MI değerinde artış olmasına rağmen kontrol grubunun MI değeri ile arasındaki fark

büyüktür. Bu fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P=0.05$ ). 100 mg/L gruplarında bakırın yarattığı hasar çok fazla olduğundan ASY uygulaması bu gruplarda iyileştirmede yetersiz kalmıştır. 50+ASY grubunda bakırın toksik etkisinin azalmasının nedeni bu metalin ASY ile kompleks oluşturmasından kaynaklanmaktadır (Posmyk, 2008). Antosiyaninlerin serbest radikal temizleyici özellikleri antimitojenik kapasitelerinin en önemli unsuru olarak görülmektedir. ASY'in antimitojen olması elektrofilik metabolitlerle reaksiyona girmesinden ya da DNA'nın nükleofilik merkezini maskeleyerek DNA'yı korumasından ileri gelmektedir (De Flora, 1998). Doğal kaynaklardan elde edilen antosiyanin, metalin sebep olduğu genotoksik zararı engellemektedir. Çalışmamızda uyguladığımız antosiyaninin MI değerini artırmasını ve toplam anormallik oranını azaltmasını aynı nedene bağlayabiliriz.

Mevcut çalışmada kullandığımız antosiyaninin MI değerini arttırması ve toplam anormallik oranını azaltması iyileşme gerçekleştiğinin göstergesidir. ASY ile yapılan çalışmalarda benzer iyileşme sonuçlarına ulaşılmıştır. Çelik ve Aslantürk, (2006) *Plantago lanceolata* L. bitkisinin sulu özütünün *A. cepa* üzerine hidrojen peroksite karşı koruyucu etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada ASY fare karaciğer ve böbreklerinde Cd birikmesini azaltmıştır ve bu organları metal toksisitesinden korumuştur (Kowalczyk vd., 2003). Yine kırmızı lahanadan elde edilen antosiyanince zengin özütün *Vicia* L. meristematik hücreleri üzerine yararlı etkisi bakırın insan lenfositleri üzerine sitotoksik etkilerini azaltma yönünde olmuştur (Posmyk, 2009). Glinska vd. (2007) kırmızı lahanadan elde edilen antosiyanince zengin özütün *A. cepa* kök meristem hücrelerini kurşun, kadmiyum ve kromun toksisitesinden koruduğunu rapor etmiştir. ASY ile yapılan iyileştirme çalışmalarında elde edilen sonuçlar bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Çalışmamızda bakırın toksik etkisine karşı kullandığımız ASY toplam anormallik oranını düşürmüştür. Bu etki kullandığımız antosiyaninin antioksidan özelliğinden kaynaklanmaktadır. Bu özüt özellikle delfinidin bakımından zengindir. Siyanidin ve delfinidin C ve E vitamininden 4 kat daha fazla antioksidan kapasiteye sahiptir (Rice-Evans vd., 1997). Dolayısıyla toksik metallere karşı koruyucudurlar (Hale vd., 2001; Kidd vd., 2001). Lazzé vd., (2003) delfinidinin tert-butil hidroperoksidin sebep olduğu tek zincir kırılmalarına karşı DNA'yı koruduğunu belirtmektedir. Bu sonuç mevcut çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçları destekler niteliktedir.

Yaptığımız bu çalışmada, bakır uygulamasının mitozdaki toplam anormallik miktarını kontrole göre arttırdığı, aynı gruplarda ASY uygulanınca toplam anormallik miktarını azalttığı

tespit edilmiştir. Profaz safhasına bakıldığında tüm gruplarda bakır uygulamasından sonra ASY uygulandığında profaz oranının arttığı belirlenmiştir. Metafaz ve anafaz-telofaz oranında ise azalma olduğu tespit edilmiştir. Mitotik safhalardaki değişimler, kullanılan kimyasal maddenin dozlarına bağlı olarak S fazındaki DNA sentezinin inhibisyonuna bağlanabilir. Yine kullanılan maddenin doz ve uygulama süresine bağlı olarak iğ ipliği formasyonunun bloke olması da bu safhaların oranlarında değişimlere neden olabilir (Erdoğan, 2008).

Çalışmamızda gözlemlediğimiz c-metafaz oranları Tablo 2 ve Şekil 9'da verilmiştir. C-metafaz ilk kez Levan (1938) tarafından *A. cepa* kök uçlarında gözlenmiştir. Kullanılan kimyasal maddenin etkisi kolşisine benzemektedir ve iğ ipliklerinin yapısını bozmaktadır. Bu durum turbogenik etkinin bir göstergesidir (Shahin ve El-Amoodi, 1991). Buna bağlı olarak da sentromer bölünmesi gecikmekte ve kromozomlar replike olmuş fakat birbirlerinden ayrılmamış olarak hücre içinde dağınık durumda kalmaktadırlar. Metafazdaki bu tip bir anormallik mitotik indeksin de azalmasına neden olabilmektedir. Dönbak vd. (2002) *A. cepa*'da borik asitin sitogenetik etkisini, İnceer vd. (2009) cypermethrin insektisitinin ayçiçeği kök meristemi üzerine genotoksik etkisini, Türkoğlu (2007) *A. cepa* üzerine 5 gıda koruyucunun genotoksitesini test ettiği çalışmalarda c- metafaza rastlamıştır.

Çalışmamızda gözlediğimiz bir diğer anormallik tipi anafaz köprüsüdür (Şekil 10). Kromozom köprüleri genellikle metafazda kromozomların yapışması veya kullanılan kimyasal maddelerin klastojenik etkisi sonucu kromozomların kırılıp sonra yeniden birleşmesi sonucu meydana gelebilmektedir (Tomkins ve Grant, 1972; Badr, 1988). Kromozom segmentlerinin düzensiz translokasyon veya inversiyonları da kromozom köprülerine neden olabilmektedir (Gömürgen, 2005). Klastojenik veya toksik etkiler sonucu oluşan kromozom köprüleri genellikle geri dönüşümsüzdür (Liu vd., 1996). Kromozom köprüleri veya kromatidler arası bağlantılar metafazda kardeş kromatidlerin birleşimi sonucu oluşan kromatin fiberleri tarafından meydana getirilirler ve bu kromatidler geç anafaz veya telofaza kadar bir arada kalırlar. Eğer bu bağlantılar çok gerilirse, kromatidler anafazdaki birleşme noktalarından veya bu noktalara yakın yerlerden kırılabilirler. Bu kırılmalar kardeş kromatidlerin her ikisinde de ayrı noktada meydana gelebilir ve sonuçta kromozom benzeri yapılar olan fragmentlerin oluşumuna neden olabilirler. Bakır sülfat ve kobalt klorürün *A. cepa* kök hücreleri üzerine genotoksik etkisinin (Yıldız vd., 2009), *Erythrina velutina* Willd.'un *A. cepa* kök meristem hücreleri üzerine sito-genotoksitesinin (Silva vd., 2011) ve

kadmiumun genotoksik etkisinin (Seth vd., 2008) araştırıldığı çalışmalarda bu anormallik tipine rastlanmıştır.

Mevcut çalışmada en fazla gözlenen anormallik tiplerinden birisi de yapışkanlıktır (Şekil 11). Mikroskopik incelemeler sonunda gözlenen kromozom yapışkanlıkları kromozomların nükleik asitleri üzerine bu kimyasal maddelerin depolimerizasyon etkilerini göstermektedir. Patil ve Bhat (1992) kromozom yapışkanlığını çoğunlukla kromatin materyalinin protein matriksini içine alan fizyolojik bir adezyon tipi olarak tanımlamışlardır. Yapışkanlık DNA'daki fosfat grupları ile komplekslerin formasyonu üzerine veya DNA, protein veya her ikisinin fiziko-kimyasal özellikleri üzerine kimyasal maddelerin etkisi olarak kabul edilebilir (Vallee ve Ulmer, 1972). Osterberg vd. (1984) krom iyonlarının DNA'yı yoğunlaştırdığını ve bunun kromozomlarda yapışkanlıklara neden olabileceğini belirtirken, Patil ve Bhat (1992) yapışkanlığın kromatid içi ve kromatidler arası bir formasyon sonucu olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yapışkanlık kromozomlardaki toksik etkinin yaygın bir göstergesidir, muhtemelen geri dönüşümsüzdür ve hücrenin ölümüne neden olur (Fiskesjö ve Levan 1993; Liu vd., 1995). Yapışkanlık kromatid tipi anormallik olarak kabul edilir. Darlington ve Mc-Leish (1951) kromozom yapışkanlığının kromozomal DNA'nın degradasyonu ve depolimerizasyonu sonucu oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Yapışıklık olayı, kromozom fragmentlerine ve anafaz-telofaz safhasında köprülere sebep olmaktadır (Yüzbaşıoğlu vd., 2003). Badr ve İbrahim (1987), Glean herbisitinin *A. cepa* ve *V. faba* kök meristeminde mitoz, kromozomlar ve nükleik asit üzerine etkisinin incelediği çalışmada ve Kumari vd. (2011) çinko oksit nanopartiküllerinin *A. cepa* kök hücreleri üzerine sitotoksik ve genotoksik etkisini incelediği çalışmada bu tip kromozom anormalliğine sıklıkla rastlamıştır.

Geri kalan kromozomlar çalışmamızda rastladığımız diğer anormallik tipidir ve Şekil 12'de gösterilmiştir. Geri kalan (kalgın) kromozomlar genellikle kromozomların kutuplara çekilirken başarısız olmalarından kaynaklanmaktadır (Tkalec vd., 2009). Geri kalan kromozomlar sadece iğ ipliklerinin görevini yerine getirmemesi sonucu değil aynı zamanda kromozomların kinetokorlarıyla toksik maddelere bağlanmasıyla da oluşabilmektedir (Brinkley vd., 1985). Kalgın kromozomların uygulanan kimyasalların iğ ipliklerini etkilemesi sonucu oluşabileceği düşünülmektedir. İnceer vd (2000) *A. cepa* kök ucu hücreleri üzerine bakırın sitogenetik etkisi, Erdoğan (2008) çeşitli gıda katkı maddelerinin *A. cepa* 'da mitoz bölünme, kromozomlar ve DNA miktarı üzerine etkileri adlı çalışmasında geri kalan kromozoma rastlamıştır.

Çalışmamızda tespit ettiğimiz diğer anormallik tipi düzensiz kromozom dağılımıdır (Şekil 14). İğ iplikleri üzerindeki herhangi bir bozukluk kromozomların düzensiz dağılmasına neden olabilir. Bu tip anormalliğe farklı kimyasal maddeler ile muamele edilen çeşitli test sistemlerinde rastlanmıştır. Inceer ve Beyazoğlu (2000) bakır klorürün *Vicia hirsuta* kök ucu hücreleri üzerine sitogenetik etkilerini, Gömürgen (2005) potasyum metabisülfid ve potasyum hidrat gıda koruyucularının *A. cepa* kök ucu üzerine sitolojik etkilerini araştırdığı çalışmalarda düzensiz kromozom dağılımı gözlemlemişlerdir.

Bu çalışma ile *Vaccinium arctostaphylos*'un meyvelerinden elde edilen ASY'in, bakır sülfat uygulandıktan sonra meristematik hücrelerdeki MI değerinin artması ve toplam kromozomal anormallik oranının düşmesi üzerine iyileştirici rolü olduğu ortaya konmuştur. Bu etkinin yaban mersininden elde edilen antosiyaninlerin antioksidan özelliğinden kaynaklandığını söylemek mümkündür.



## 5. SONUÇLAR

1. Bu çalışmayla *V. arctostaphylos*'un antosiyanince zengin meyve özütünün *A. cepa* kök meristem hücreleri üzerine antimutajenik etkisi incelendi.
2. *Allium cepa* kök meristem hücrelerine uygulanan bakır sülfatın MI değerinin kontrole göre düşmesine neden olduğu görüldü. Aynı köklere uygulanan *V. arctostaphylos*'tan elde edilen özütün MI değerini kontrol değerine yaklaştırarak iyileştirme yaptığı tespit edildi.
3. Bakır sülfat uygulanan *A. cepa* kök meristem hücrelerinde kromozomal anormallikler tespit edildi. *V. arctostaphylos*'tan elde edilen ASY ile muamele edilen köklerde toplam anormallik oranının azaldığı görüldü.
4. İlk defa bu çalışma ile *V. arctostaphylos*'tan elde edilen antosiyanince zengin özütün, bakırın yarattığı toksik etkiye karşı antimutajenik olduğu tespit edildi. Bu şekilde genotoksik çalışmalara katkı sağlandı.
5. Elde edilen verilerle *V. arctostaphylos*'un sahip olduğu antosiyanin içeriğinin antioksidan etkisi ortaya konuldu.

## 6. ÖNERİLER

Bu çalışma ile Doğu Karadeniz’de doğal olarak yayılış gösteren *V. arctostaphylos*’un bakıra karşı antimitojenik etkisi incelendi. Bu antimitojenik etki hakkında daha kesin sonuçlara ulaşmak için Flow sitometri ve Comet assay gibi test sistemleri kullanılarak daha fazla çalışma yapılmalıdır.

Yaban mersininden elde edilen özütün yararlı özellikleri daha geniş alanda tanıtılmalıdır. Yaban mersini ağır metallerin çevrede yarattığı kirlilik sonucu oluşan tehlikeli hastalıkların riskini azaltan fonksiyonel bir yiyecek ve antioksidan kaynağı olarak sunulmalıdır.

Antosiyanin bakımından zengin ve antimitojenik olan bu bitkinin Karadeniz’de tarımda alternatif bir ürün olarak yetiştirilmesi teşvik edilmelidir. Bitkinin sağlık açısından yararlı özelliklerinden daha fazla insanın faydalanabilmesi için gıda endüstrisindeki kullanımı genişletilmelidir. Bu ürünün tüketimi daha ucuz ve daha kolay ulaşılabilir hale getirilmelidir.

Bölgemizde doğal olarak yetişen bu bitkinin farmasötik ve kozmetikteki kullanımı araştırılmalıdır.

## 7. KAYNAKLAR

- Agrawal, S., B. ve Agrawal, M., 1999. Environmental Pollution and Plant Responses, CRC Press, Boca Raton FL.
- Ahsan, N., Lee, D.-G., Lee, S.-H., Kang, K., Y., Lee, J., J., Kim, P., J., Yoon, J.-S. ve Lee, B.-H., 2007, Excess Copper Induced Physiological and Proteomic Changes in Germinating Rice Seeds, Chemosphere, 67, 1182-1193.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya, 38, 5, 42-45.
- Aksoy, D., 2009. Patlıcan (*Solanum melongena*) Tohumlarında Bakır (cu) Stresi ile Oluşan DNA Değişikliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Andriambelison, E., 1998. Natural Dietary Polyphenolic Compounds Cause Endothelium-dependent Vasorelaxation in Rat Thoracic Aorta, Journal of Nutrition, 128, 12, 2324-33.
- Aslantürk, Ö., S. ve Çelik, T., A., 2009. Genotoxic and Antimutagenic Effects of *Capparis spinosa* L. on the *Allium cepa* L. Root Tip Meristem Cells, Caryologia, 62, 114-123.
- Aust, S., D., Marehouse, C., E. ve Thomas, C., E., 1985. Role of Metals in Oxygen Radical Reactions, Journal of Free Radical and Biological Medicine, 1, 1-3.
- Ayaz, F., A., Hayırlıoğlu-Ayaz, S., Gruz, J., Novak, O. ve Strnad, M., 2005. Separation, Characterization, and Quantitation of Phenolic Acids in a Little-known Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.) Fruit by HPLC-MS, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 8116-8122.
- Azevedo, M., M., Carvalho, A., Pascoal, C., Rodrigues, F. ve Cássio, F., 2007. Responses of Antioxidant Defenses to Cu and Zn Stress in Two Aquatic Fungi, Science of the Total Environment, 377, 233-243.
- Badr, A. ve İbrahim, A., G., 1987. Effects of the Herbicide Glean on Mitosis, Chromosomes and Nucleic Acids in *Allium cepa* and *Vicia faba* Root Meristems, Cytologia, 52, 293-302.
- Badr, A., 1988. Cytogenetic Activities of Some Fungicides, Cytologia, 53, 635-640.
- Bansal, A., K., Bansal, M., Soni, G. ve Bhatnagar, D., 2005b. Protective Role of Vitamin E Pre-treatment on N-nitrosodiethylamine Induced Oxidative Stress in Rat Liver, Chemico-Biological Interactions, 156, 2-3, 101-111.

- Beinert, H., 1991. Copper in Biological Systems. A Report From the 6th Manzianna Conference, 23–27 September, Journal of Inorganic Biochemistry, 44 173-218.
- Bell, J., N., B. and Treshow, M., Eds. 2002. Air Pollution and Plant Life, 2nd Edition. John Wiley & Sons, Chichester.
- Berkes, F. ve Kışlalıoğlu, M., 1990. Ekoloji ve Çevre Bilimleri, İstanbul, 171s.
- Block, G., Patterson, B. ve Subar, A., 1992. Fruit, Vegetables and Cancer Prevention: A Review of Epidemiological Evidence, Nutrition and Cancer, 18, 1-29.
- Brinkley, B., R., 1985. Microtubule Organizing Centers, Annual Review Cell and Developmental Biology, 1, 145-172.
- Chalker-Scott, L., 1999. Environmental Significance of Anthocyanins in Plant Stress Responses, Photochemistry and Photobiology, 70, 1-9.
- Chauhan, L., K., S., 1986. Dikshith, T., S., S. ve Sundararaman, V., Effect of Deltamethrin on Plantcells, I. Cytological Effect on the Root Meristem Cells of *Allium cepa*., Mutation Research, 171, 25-30.
- Chen, L., M., Lin, C., C. ve Kao, C., H., 2000. Copper Toxicity in Rice Seedlings: Changes in Antioxidative Enzyme Activities, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Level, and Cell Wall Peroxidase Activity in Oats, Botanical Bulletin of Academia Sinica, 41, 99-103.
- Chen, E., L., Chen, Y., A., Chen, L., M. ve Liu, Z., H., 2002. Effect Copper on Peroxidase Activity and Lignin Content in *Raphanus sativus*, Plant Physiology and Biochemistry, 40, 439-44.
- Chimi, H., Cillard, J., Cillard, P. ve Rahmani, M., 1991. Peroxyl and Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Some Natural Phenolic Antioxidants, Journal of American Oil Society, 68, 307-312.
- Choi, E., H., Ok, H., E., Yoon, Y., Magnuson, B., A., Kim, M., K. ve Chun, H., S., 2007. Protective Effect of Anthocyanin-rich Extract from Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Against Myelotoxicity Induced by 5-fluorouracil, BioFactors, 29, 55-65.
- Cooke, D., Schwarz, M., Boocock, D., Winterhalter, P., Steward, W., P., Gescher, A., J. ve Marczylo, T., H., 2006. Effect of Cyanidin-3-Glucoside and an Anthocyanin Mixture from Bilberry on Adenoma Development in the ApcMin Mouse Model of Intestinal Carcinogenesis – Relationship with Tissue Anthocyanin Levels, International Journal of Cancer, 119, 2213-2220.
- Çelik, H., Maviyemiş (Likapa) (*Vaccinium corymbosum* L.). [www.maviyemislikapa.com.tr](http://www.maviyemislikapa.com.tr) 4 Mart 2012.
- Çelik, T., A. ve 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.

- Darlington, C., D. ve Mc-Leish, L., 1951. Action of Maleic Hydrazide on the Cell, Nature, 167, 407-408.
- Dat, J., Vandenbeebe, S., Vranova, E., Van Montegue, M., Inze, D. ve Van Breusegm, F., 2000. Dual Action of the Active Oxygen Species During Plant Stress Responses, Cellular Molecular Life Sciences, 57, 779-795.
- De Flora, S., 1998. Mechanisms of Inhibitors of Mutagenesis and Carcinogenesis, Mutation Research, 402, 151-158.
- Demirevska-Kepova, K., Simiva-Stoileva, L., Stoyanova, Z., Hölzer, R. ve Feller, U., 2004. Biochemical Changes in Barley plants After Excessive Supply of Copper and Manganase, Environmental and Experimental Botany, 52, 3, 253-266.
- Dixon, R., A. ve Paiva, N., L., 1995. Stress-induced Phenylpropanoid Metabolism, Plant Cell 7, 1085-1097.
- Dönbak, L., Rencüzoğulları, E. ve Topaktaş, M., 2002. The Cytogenetic Effects of the Food Additive Boric Acid in *Allium cepa* L., Cytologia, 67, 153-157.
- Elçi, Ş., 1994. Sitogenetikte Araştırma Yöntemleri ve Gözlemler, 100. Yıl Üniversitesi Yayınları, Van, 238 s.
- El-Khodary, S., Habib, A. and Haliem, A., 1989. Cytological Effect of the Herbicide Garlon-4 on Root Mitosis of *Allium cepa*, Cytologia, 54, 465-472.
- Elstner, E., F., Wagner, G., A. ve Schütz, W., 1988. Activated Oxygen in Green Plants in Relation to Stress Situation, Current Topics Plant Biochemistry Physiology, 7, 159-187.
- Erdoğan, Y., 2008. Çeşitli Gıda Katkı Maddelerinin *Allium cepa* L. 'de Mitoz Bölünme, Kromozomlar ve DNA Miktarı Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- Eryılmaz, F., 2007. Bakır (Cu) Uygulanmış Mısır (*Zea mays* L.) Fidelerindeki Antioksidan Aktivitelerin Fizyolojik ve Anatomik Yönden İncelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Esparza, I., Salinas, Í., Caballero, I., Santamaría, C., Calvo, I., García-Mina, J., M. ve Fernández, J., M., 2004. Evolution of Metal and Polyphenol Content over a 1-Year Period of Vinification: Sample Fractionation and Correlation Between Metals and Anthocyanins, Analytica Chimica Acta, 524, 215-224.
- Esparza, I., Salinas, Í., Santamaría, C., García-Mina, J., M. ve Fernández, J., M., 2005. Electrochemical and Theroretical Complexation Studies for Zn and Cu with Individual Polyphenols, Analytica Chimica Acta, 543, 267-274.

- Ferguson, L., R., 2001. Role of Plant Polyphenols in Genomic Stability, Mutation Research, 475, 89–111.
- Fernando, J., M., R., C. ve Senadeera, B., K., R., 2008. Natural Anthocyanin as Photosensitizer of Dye-sensitized Solar Divices, Current Science, 95, 5, 663-666.
- Ferreira, I., C., F., R., Barros, L., Soares, M., E., Bastos, M., L. ve Pereira, J., A., 2007. Antioxidant Activity and Phenolic Contents of *Olea europaea* L. Leaves Sprayed With Different Copper Formulations, Food Chemistry, 103, 1, 188-195.
- Fiskesjö, G., 1985. The *Allium* Test as a Standart in Environmental Monitoring, Hereditas, 102, 99-112.
- Fiskesjö, G. ve Levan, A., 1993. Evaluation of the First Ten MEIC Chemicals in the *Allium* Test, The American Theological Library Association, 21, 139-14.
- Foote, C., S., 1995. Active Oxygen in Chemistry, Springer, Science.
- Galvano, F., La Fauci, L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni, A., Ciappellano, S., Battistini, N., C., Tavazzi, B. ve Galvano, G., 2004. Cyanidins: Metabolism and Biological Properties, The Journal of Nutritional Biochemistry, 15, 2-11.
- Gasiorowski, K., Szyba, K., Brokos, B., Kolaczynka, B., Jankowiak-Wlodarczyk, M. ve Oszmianski, J., 1997. Antimutagenic Activity of Anthocyanins Isolated from *Aronia melanocarpa* Fruits, Cancer Letters, 119, 37-46.
- Gechev, T., S., Van Breusegem, F., Stone, J., M., Denev, I. ve Laloi, C., 2006. Reactive Oxygen Species as Signals That Modulate Plant Stress Responses and Programmed Cell Death, BioEssays, 28, 1091-1101.
- Glinska, S., Bartczak, M., Oleksiak, S., Wolska, A., Gabara, B., Posmyk, M., M. ve Janas, K., 2007. Effects of Anthocyanin-rich Extract from Red Cabbage Leaves on Meristematic Cells of *Allium cepa* L. Roots Treated with Heavy Metals, Ecotoxicology and Environmental Safety, 68, 343-350.
- Gömürgen, A., N., 2005. Cytological Effect of the Potasium Metabisulphite and Potasium Hitrate Food Preservative on Root Tips of *Allium cepa* L., Cytologia, 70, 119-128.
- Grover, I., S. ve Tyagi, P., S., 1980. Chromosomal Aberrations Induced by Pesticides in Meiotic Cells of Barley, Caryologia, 33, 251-259.
- Hakimuddin, F., Paliyath, G. ve Meckling, K., 2004. Selective Cytotoxicity of a Red Grape Wine Flavonoid Fraction Against MCF- 7 Cells, Breast Cancer Research Treatment, 85, 65-79.
- Hale, K., L., McGrath, S., P., Lombi, E., Stack, S., M., Terry N, Pickering, I., J., George, G., N. ve Pilon-Smits, E., A., H., 2001. Molybdenum Sequestration in *Brassica* Species. A Role for Anthocyanins? Plant Physiology, 126, 1391-1402.

- Halliwell, B., 2006. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life, Plant Physiology, 141, 312-322.
- Harborne, J., B. ve Williams, C., A., 2000. Advances in Flavonoid Research since 1992, Phytochemistry, 55, 481-504.
- Hayat, S., Iqbal, A. ve Pichtel, J., 2005, Heavy Metal Contamination of Soil, Science Publishers, Technology & Industrial Arts.
- Hill, M., K., 1997. Understanding Environmental Pollution, Cambridge University Press.
- Hoshina, M., M., 2002. Evaluation of a Possible Contamination of the Waters of the Claro River-Municipality of Rio Claro, Part of the Corumbataí River Basin, with the Mutagenicity Tests Using *Allium cepa*., State University of São Paulo, Rio Claro.
- Hou, D., Fujii, M., Terahara, N. ve Yoshimoto, M., 2004. Molecular Mechanisms Behind the Chemopreventive Effects of Anthocyanidins. Journal of Biomedicine Biotechnology., 5, 321-325.
- Hradzina, G., 1982. Anthocyanins, In: Harborne, J.B., Mabry, T., J., Eds. The Flavonoids: Advances in Research, John Wiley & Sons, Chichester.
- Iwashina, T., 2000. The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants, Journal of Plant Research, 113, 287-299.
- İnceer, H. ve Beyazoğlu, O., 2000. Bakır Klorür'ün *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray Kök Ucu Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri, Turkish Journal of Biology, 24, 553-559.
- İnceer, H., Beyazoğlu, O. ve Ergul, H., A., 2000. Cytogenetic Effects of Wastes of Copper Mine on Root Tip Cells of *Allium cepa* L., Pakistan Journal of Biological Sciences, 3, 3, 376-377.
- İnceer, H., Ayaz, S., Beyazoğlu, O. ve Şentürk, E., 2003. Cytogenetic Effects of Copper Chloride On the Root Tip Cells of *Helianthus annuus* L., Turkish Journal of Biology, 27, 43-46.
- İnceer, H., Hayırlıoğlu-Ayaz, S. ve Özcan, M., 2009. Genotoxic Effects of the Insecticide Cypermethrin on the Root Meristem Cells of Sunflowers (*Helianthus annuus* L.), Bulletin of Environmental Contamination Toxicology, 83, 652-656.
- Jiang, W., Liu, D. ve Liu, X., 2001. Effects of Copper on Root Growth, Cell Division, and Nucleolus of *Zea mays*, Biol Plant, 44, 105-109.
- Jones, R., N. ve Rickards, G., K., 1990. Practical Genetics, Open University Press, Buckingham.
- Kantar , Ö., 2010. Antosiyaninlerin Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.

- Kara, M., Şanda, M., A. ve Ateş, A., 1994. Cytogenetic Effects of the Insecticide Cypermethrin on the Root Meristems of *Allium cepa* L. Turkish Journal of Biology, 18, 323-331.
- Kıran, Y. ve Munzuroğlu, Ö., 2004. Mercimek (*Lens culinaris* Medik.) Tohumlarının Çimlenmesi ve Fide büyümesi Üzerine Kurşunun Etkileri, Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16, 1, 1-9.
- Kidd, P., S., Llugany, M., Poschenrieder, C., Gunsé, B. ve Barceló, J., 2001. The Role of Root Exudates in Aluminium Resistance and Silicon-Induced Amelioration of Aluminium Toxicity in Three Variety of Maize (*Zea mays* L.), Journal of Experimental Botany, 52, 1339-1352.
- Kong, J., M, Chia, L., S., Goh, N., M., Chia, T., F. ve Brouillard, R., 2003. Analysis and Biological Activities of Anthocyanins, Phytochemistry 64, 923-933.
- Kowalczyk, E., Kopff, A., Fijalkowski, P., Kopff, M., Nidworok, J., Blaszczyk, J., Kedziora, J. ve Tyslerowicz, P., 2003. Effect of Anthocyanins on Selected Biochemical Parameters in Rats Exposed to Cadmium, Acta Biochimica Polonica, 50, 543-548.
- Kowalczyk, E., Krzesinski, P., Kura, M., Szmigel, B. ve Blaszczyk, J., 2003. Anthocyanins in Medicine, Pohsh Journal of Pharmacology, 55, 699-702.
- Kumari, M., Khan, S., S., Pakrashi, S., Mukherjee, A. ve Chandrasekaran, N., 2011. Cytogenetic and Genotoxic Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Root Cells of *Allium cepa* Journal of Hazardous Materials, 190, 613-621.
- Lamb, A. ve Tollefson, E., L., 1973. Toxic Effects of Cupric, Chromate and Chromic Ions on Biological Oxidation, Water Research, 7, 4, 599-604.
- Lavid, N., Schwartz, A., Yarden, O. ve Tel-or, E., 2001. The Involvement of Polyphenols and Peroxidase Activities in Heavy-metal Accumulation by Epidermal Glands of the Waterlily (Nymphaeaceae), Planta, 212, 323-331.
- Lätti, A., K., Kainulainen, P., S., Hayırlıoğlu-Ayaz, S., Ayaz, F., A. ve Riihinen K., R., 2009. Characterization of Anthocyanins in Caucasian Blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* L.) Native to Turkey, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57, 5244-5249.
- Lazzé, M., C., Pizzala, R., Savio, M., Stivala, L., A., Prospero, E. ve Bianchi, L., 2003. Anthocyanins Protect Against DNA Damage Induced by Tert-butyl-hydroperoxide in Rat Smooth Muscle and Hepatoma Cells, Mutation Research, 535, 103-155.
- Lee, K., M. ve Johnston, E., L., 2007. Low Levels of Copper Reduce the Reproductive Success of a Mobile Invertebrate Predator, Marine Environmental Research, 64, 3, 336-346.



- Lerche, I. ve Glaesser, W., 2006, Environmental Risk Assessment: Quantative Measures, Antropogenic Influences, Human Impact, Environmental Studies, Springer.
- Levan, A., 1938. The Effect of Colchicine on Root Mitoses in *Allium*, Hereditas, 24, 471.
- Lin, J., Jiang, W. ve Liu, D., 2003. Accumulation of Copper by Roots, Hypocotyls, Cotyledons and Leaves of Sunflower (*Helianthus annuus* L.), Bioresource Technology, 86, 151-155.
- Liu, D., H, Jiang, W., S., Wang, W. ve Zhai, L., 1995. Evaluation of Metal Ion Toxicity on Root Tip Cells by the *Allium* Test, Israel Journal of Plant Sciences, 43, 125-133.
- Liu, D., H., Jiang, W., S. ve Wang, C., L., 1996. Effect of Zn<sup>2+</sup> on Root Growth, Cell Division and Nucleoli of *Allium cepa* L., Journal of Environmental Sciences, 8, 21-27.
- Lou, L., Q., Shen, Z., G. ve Li, X., D., 2004. The Copper Tolerance Mechanisms of *Elsholtzia haichowensis*, a Plant from Copper-Enriched Soils, Environmental and Experimental Botany, 51, 2, 111-120.
- Maillard, M., N., Billaud, C., Chow, Y., N., Ordonaud, C. ve Nicolas, J., 2007. Free Radical Scavenging, Inhibition of Polyphenoloxidase Activity and Copper Chelating Properties of Model Maillard Systems, Food Science and Technology, 40, 1434-1444.
- Maksymiec, W., 2007. Signalling Responses in Plants to Heavy Metal Stres, Acta Physiol Plant, 29, 177-187.
- Marianne, L. ve Engelhart, M., D., 2002. High Intakes of Antioxidant Vitamins C and E May Lower the Risk of Alzheimer's Disease. Journal of the American Medical Association, 287, 24, 3223.
- Meiers, S., 2001. The Anthocyanidins Cyanidin and Delphinidin are Potent Inhibitors of the Epidermal Growth-factor Receptor, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49, 2, 958-62.
- McKersie, B., D. and Leshem, Y., Y., Eds. 1994. Chilling Stress. In Stress and Stress Coping in Cultivated Plants, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 79–100.
- Mittler, R., 2002. Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance, Trends in Plant Sciences, 7, 405-410.
- Mittler, R., 2006. Abiotic Stress, the Field Environment and Stress Combination, Trends in Plant Sciences, 11, 15-19.
- Mol, J., Grotewold, E. ve Koes, R., 1998. How Genes Paint Flowers and Seeds, Trends in Plant Sciences, 3, 212-217.

- Moure, A., Cruz, J., M., Franco, D., Dominiquez, J., M., Sineiro, J., Dominiquez, H., Nunez, M., J. ve Parajo, C., J., 2001. Natural antioxidants from residual sources, Food Chemistry, 72, 145-171.
- Morazzoni, P. ve Bombardelli, E., 1996. *Vaccinium arctostaphylos* L. Fitoterapia 67, 3-29.
- Njagi, C., D., E. and Gopalan, H., N., B., 1981. Mutagenicity Testing of Herbicides, Fungicides and Insecticides 1.Chromosomal Aberrations in *Vicia faba*, Cytologia, 46, 169-172.
- Nishizono, H., 1987. The Role of the Root Cell Wall in the Heavy Metal Tolerance of *Athyrium yokoscense*, Plant Soil, 101, 15-20.
- Noda, Y., 2000. Antioxidant Activity of Nasunin, an Anthocyanin in Eggplant Peels, Toxicology, 148, 2-3, 119-23.
- Ovando, A., C., Hernandez, M., P., Hernandez, E., P., Rodriguez, J. ve Vidal, C., G., 2009. Chemical Studies of Anthocyanins: A Review, Food Chemistry, 113, 859-871.
- Österberg, R., Persson, D. ve Bjursell, G., 1984. The Condensation of DNA by Chromium (111) Ions, Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2, 285-290.
- Özmen, A., 2010. Cytotoxicity of *Hibiscus rosa-sinensis* Flower Extract, Caryologia, 63, 2, 157-161.
- Paivöke, A., 1983. Anatomical Response of the Roots of Pea Seedlings to Lead and Arsenate Ions, Annales Botanici Fennici, 20, 307-315.
- Palma, J., M., Sandalino, L., M., Corpas, F., J., Romero Puertas, M., C., McCarthy, I., ve Del Rio, L., A., 2002. Plant Proteases, Protein Degradation and Oxidative Stress: Role of Peroxisomes, Plant Physiology and Biochemistry, 40, 521-530.
- Panou-Filotheou, H. ve Bosabalidis, A., M., 2004. Root Structural Aspects Associated with Copper Toxicity in Oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*), Plant Science, 166, 6, 1497-1504.
- Patil, B., C. ve Bhat, T., G., I., 1992. A Comparative Study of MH and EMS in the Induction of Chromosomal Aberrations on Lateral Root Meristem in *Clitoria termata* L., Cytologia, 57, 259-264.
- Prasad, M., N., V., 2004. Heavy Metal Stress in Plants, from Biomolecules to Ecosystems 2nd Edition, Springer, Berlin.
- Pompella, A., 1997. Biochemistry and Histochemistry of Oxidant Stress and Lipid Peroxidation, International Journal for Vitamin and Nutrition Research, 67, 289-297.

- Posmyk, M., M., Kontek, R. ve Janas, K., M., 2008. Red cabbage extract limits copper stress injury in meristematic cells of *Vicia faba*, Acta Physiol Plant, 30, 481-491.
- Posmyk, M., M., Kuran, H., Marciniak, K. ve Janas, K., M., 2008. Presowing Seed Treatment with Melatonin Protects Red Cabbage Seedlings Against Toxic Copper Ion Concentrations, Journal of Pineal Research, 45, 24-31.
- Posmyk, M., M., Janas, K., M. ve Kontek, R., 2009. Red Cabbage Anthocyanin Extract Alleviates Copper-induced Cytological Disturbances in Plant Meristematic Tissue and Human Lymphocytes, Biometals, 22, 479-490.
- Rauha, J., P., 2001. The Search for Biological Activity in Finnish Plant Extracts Containing Phenolic Compounds, Department of Pharmacy University of Helsinki Academic Dissertation, 71 p.
- Rice-Evans, C., A., 1995. The Relative Antioxidant Activities of Plant-Derived Polyphenolic Flavonoids, Free Radical Research, 22, 4, 3785-3793.
- Rice-Evans, C., A., Miller, N., J. ve Paganga, G., 1997. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds, Trends in Plant Sciences, 2, 152-159.
- Ross, M., S., 1994. Sources and Form of Potentially Toxic Metals in Soil-plant Systems, In: Ross, M., S., Ed., Toxic Metals in Soil-Plant Systems, John Wiley, Chichester.
- Russel, P., J., 2002. Chromosomal Mutation, In: Cummings, B., Ed., Genetics, 595-621, Pearson Education Inc., San Francisco.
- Seth, C., S., Misra, V., Chauhan, L., K., S. ve Singh, R., R., 2008. Genotoxicity of Cadmium on Root Meristem Cells of *Allium cepa*: Cytogenetic and Comet Assay Approach, Ecotoxicology and Environmental Safety, 71, 711-716.
- Seyis, E., 2011. Ayı Üzümü (*Vaccinium arctostaphylos*)'un Çelikle Üretilmesi Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Sgherri, C., Quartacci, M., F. ve Navari-Izzo, F., 2007. Early Production of Activated Oxygen Species in Root Apoplast of Wheat Following Copper Excess, Journal of Plant Physiology, 164, 9, 1152-1160.
- Shahin, S., A. ve El-Amoodi, K., H., H., 1991. Induction of Numerical Chromosomal Aberrations During DNA Synthesis Using the Fungicides Nimrod and Rubigan-4 in Root Tips of *Vicia faba* L., Mutation Research, 261, 169-176.
- Silva, D., S., B., S., Garcia, A., C., F., S., Mata, S., S., De Oliveira, B., Estevam, C., S., Scher, R. ve Pantaleao, S., M., 2011. Genotoxicity and Cytotoxicity of *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae, on the Root Meristem Cells of *Allium cepa*, Brazilian Journal of Pharmacognosy, 21, 1, 92-97.

- Skelly, J., M., 2003. Native Plants as Bioindicators of Air Pollutants: Contributed Papers to Symposium Held in Conjunction with the 34th Air Pollution Workshop, Environmental Pollution, 125, 1-2.
- Son, S. ve Lewis, B., A., 2002. Free Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Caffeic Acid Amide and Ester Analogues: Structure-Activity Relationships, Journal of Agricultural Food Chemistry, 50, 468-472.
- Stavric, B., 1994. Role of Chemopreventers in Human Diet, Clinical Biochemistry, 27, 319-332.
- Stevens, P., F., 1978. "*Vaccinium* L." In: Davis, P., H., Ed., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 6, 100-104.
- Tewari, R., Kumar, P. ve Sharma, P., N., 2006. Antioxidant Responses to Enhanced Generation of Superoxide Anion Radical and Hydrogen Peroxide in the Copper-stressed Mulberry Plants, Planta, 223, 6, 1145-1153.
- Tkalec, M., Malaric, K., Pavlica, M., Pevalek-Kozlina, B. ve Vidakovic-Cifrek, Z., 2009. Effects of Radiofrequency Electromagnetic Fields on Seed Germination and Root Meristematic Cells of *Allium cepa* L., Mutation Research, 672, 76-81.
- Tomkins, D., J. ve Grant, W., F., 1972. Comparative Cytological Effects of Pesticides Menazon, Metrobromuron and Tetrachloro Isophthalo Nitrile in *Hordeum* and *Tradescantia*, Canadian Journal of Genetics and Cytology, 14, 245-256.
- Tukendorf, A., 1987. Copper Binding in Roots by Cytosol Proteins in Vitro, Journal of Plant Physiology, 130, 201-209.
- Türkiye Çevre Sorunları Vakfı, 1991. Türkiye'nin Çevre Sorunları, Ankara, 87s.
- Türkoğlu, S., 2007. Genotoxicity of Five Food Preservatives Tested on Root Tips of *Allium Cepa* L., Mutation Research, 626, 4-14.
- Uriu-Adams, J., Y. ve Keen, C., L., 2005. Copper, Oxidative Stress, and Human Health, Molecular Aspects of Medicine, 26, 4-5, 268-298.
- Valle, B., L. ve Ulmer, D., D., 1972. Biochemical Effects of Mercury, Cadmium and Lead, Annual Review of Biochemistry, 41, 92-128.
- Van Montague, M. ve Inze, D., 2002. Oxidative Stress in Plants, CRC Press, Boca Raton FL.
- Van't Hof, J., 1968. The Action of IAA and Kinetin on the Mitotic Cycle of Proliferative and Stationary Phase Excised Root Meristem, Experimental Cell Research, 51, 167-176.
- Wang, L-S. ve Stoner, G., D., 2008. Anthocyanins and Their Role in Cancer Prevention, Cancer Letters, 269, 281-290.

- Wang, S., Y. ve Jiao, H., 2000. Scavenging Capacity of Berry Crops on Superoxide Radicals Hydrogen Peroxide, Hydroxyl Radicals, and Singlet oxygen, Journal of Agricultural Food Chemistry, 48, 11, 5677-84.
- Ware, G., W., 2000, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Springer Publishing.
- Water, M., D., Stack, H., F., Jackson, M., A., Brockman, H., E. ve De Flora, S., 1996. Activity Profiles of Antimutagens: in Vitro and in Vivo Data, Mutation Research, 350, 109-129.
- Wattenberg, L., W., 1985. Chemoprevention of Cancer, Cancer Research, 45, 1-7.
- Williams, R., J., Spencer, J., P., E. ve Rice-Evans, C., 2004. Flavonoids: Antioxidants or Signalling Molecules? Free Radical Biology & Medicine, 36, 838-849.
- Yıldız, M., Ciğerci, İ., H., Konuk, M., Fidan, A., F. ve Terzi, H., 2009. Determination of Genotoxic Effects of Copper Sulphate and Cobalt Chloride in *Allium cepa* Root Cells by Chromosome Aberration and Comet Assays, Chemosphere, 75, 934-938.
- Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Sancak, C. ve Kasap, R., 2003. Cytological Effects of Herbicide Racer 'fluorochloridone' on *Allium cepa*, Caryologia, 56, 97-105.
- Zafra-Stone, S., Yasmin, T., Bagchi, M., Chatterjee, A., Vinson, J., A. ve Bagchi, D., 2007. Berry Anthocyanins as Novel Antioxidants in Human Health and Disease Prevention, Molecular Nutrition & Food Research, 51, 675-683.
- Zenk, M., H., 1996. Heavy Metal Detoxification in Higher Plants- A Review. Gene, 179, 21-30.
- Zhang, F., Q., Wang, Y., S., Zhi-Ping Lou, Z., P. ve Dong, J., D., 2007. Effect of Heavy Metal Stress on Antioxidative Enzymes and Lipid Peroxidation in Leaves and Roots of Two Mangrove Plant Seedlings (*Kandelia candel* ve *Bruguiera gymnorhiza*), Chemosphere, 67,1, 44-50.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1984 yılında Tonya'da doğdu. 2003 yılında Vakfikebir Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 2004 yılında Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü'nde başladığı lisans öğrenimine 2006 yılından itibaren Karadeniz Teknik Üniversitesi Fatih Eğitim Fakültesi'nde devam etti ve 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Programı'na başladı. Yabancı dili İngilizcedir.