

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BAZI GEOFİT EKSTRAKTLARININ FARKLI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

ÇİĞDEM AYDIN

DENİZLİ, ARALIK - 2016

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**BAZI GEOFİT EKSTRAKTLARININ FARKLI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

ÇİĞDEM AYDIN

DENİZLİ, ARALIK - 2016

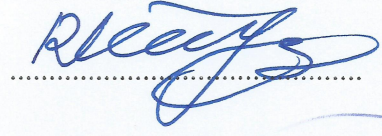
KABUL VE ONAY SAYFASI

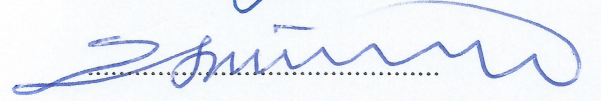
Çiğdem AYDIN tarafından hazırlanan “Geofit Ekstraktlarının Farklı Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 23.12.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

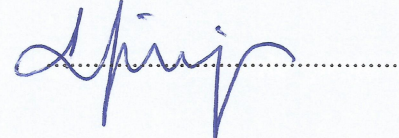
Jüri Üyeleri


İmza

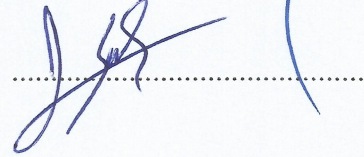
Danışman
Prof.Dr. Ramazan MAMMADOV
Pamukkale Üniversitesi
Üye
Prof. Dr. Atila YANIKOĞLU
Akdeniz Üniversitesi
Üye
Doç. Dr. Hüseyin ÇETİN
Akdeniz Üniversitesi
Üye
Doç. Dr. Vildan CANER
Pamukkale Üniversitesi
Üye
Doç. Dr. Serdar DÜŞEN
Pamukkale Üniversitesi



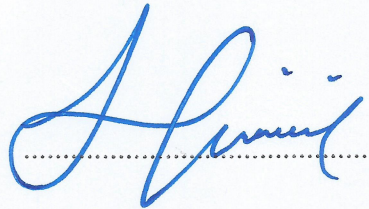








Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~25/01/2017~~ tarih ve ~~04/12/2016~~ sayılı kararıyla onaylanmıştır.

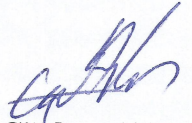


Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez alışması PAÜ-BAP tarafından 2014FBE033 nolu proje ile desteklenmiştir.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.


ıgdem AYDIN

ÖZET

**BAZI GEOFİT EKSTRAKTLARININ FARKLI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI
DOKTORA TEZİ
ÇİĞDEM AYDIN
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. RAMAZAN MAMMADOV)
DENİZLİ, ARALIK - 2016**

Bu çalışmada *Allium reuterianum* Boiss., *Cyclamen coum* Miller, *Hyacinthella lineata* (Steudel) Chouar, *Ornithogalum umbellatum* L. ve *Sternbergia clusiana* Ker-Gawl. geofit türlerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının antioksidan, antibakteriyel, sitotoksik, insektisit, antihelmint aktiviteleri ile fenolik bileşen kompozisyonları araştırılmıştır. Etanol, metanol ve aseton çözücülerıyla gerçekleştirilen ekstraksiyonlar sonucunda en yüksek ekstraksiyon verimleri metanol ekstraksiyonlarında gözlenmiştir. Etanollü, metanollü ve asetonlu ekstraksiyonlarının antioksidan aktivitelerini belirlemek için DPPH, FRAP, ABTS, β -karoten-linoleik asit yöntemleri kullanılmıştır. Ekstraktlar içerisinde en yüksek toplam antioksidan aktiviteye sahip *S. clusiana* toprak altı metanol ekstraktı (%85.91) olmuştur. Ayrıca toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları belirlenmiştir. Bulunan toplam fenolik ve flavonoid miktarları ekstraktların antioksidan aktiviteleri ile uyumlu bulunmuştur. Bitkilerin fenolik bileşenleri HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir. Metanol ekstraktlarının antibakteriyel etkisi ise iki farklı bakteri ile mikrodilüsyon metoduyla MIC değerleri belirlenmiştir. *A. reuterianum* türü her iki bakteri türüne karşı daha etkili olmuştur. Metanol ekstraktların sitotoksik etkisi, Brine shrimp (*Artemia salina*) genel toksisite testi ile belirlenmiş ve letal konsantrasyon (LC_{50}) değeri toksik olarak bulunmuştur. İnsektisit aktivite için *Culex pipiens* (sivrisinek) ve *Musca domestica* (ev sineği) larvaları üzerindeki toksik etki araştırılmıştır. Uygulamalarda her bir ekstrakt için konsantrasyon arttıkça sivrisinekler için yaşama yüzdesinin azaldığı belirlenmiştir. Antihelmint aktivite testi parazit nematodlar ile üç farklı dozda yapılmıştır ve ölüm süreleri kaydedilmiştir. En etkili ekstrakt en kısa zamanda (20 dk) ölüm veren *S. clusiana* toprak altı ekstraktı olmuştur.

ANAHTAR KELİMELEER: Geofit, antioksidan kapasite, antibakteriyel, sitotoksisite, insektisit, antihelmint, HPLC

ABSTRACT

INVESTIGATION OF DIFFERENT BIOLOGICAL ACTIVITIES OF GEOPHYTE EXTRACTS

PH.D THESIS

ÇİĞDEM AYDIN

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF. DR. RAMAZAN MAMMADOV)

DENİZLİ, DECEMBER 2016

In this study antioxidant, antibacterial, cytotoxic, insecticidal and antihelmintic activities with phenolic component composition, of the underground and aboveground parts of *Allium reuterianum* Boiss., *Cyclamen coum* Miller, *Hyacinthella lineata* (Steudel) Chouar, *Ornithogalum umbellatum* L. ve *Sternbergia clusiana* Ker-gawl. were investigated. As a result of extractions carried out with ethanol, methanol and acetone solvent, the best extraction yield was observed in methanol extraction. DPPH, FRAP, ABTS, β -carotene-linoleic acid methods were used to determine antioxidant activity of extraction with ethanol, methanol and acetone. The highest total antioxidant activity among extracts were found *S. clusiana* underground methanol extract (85.91%). Total phenolic and flavonoid contents of each extract were also determined. Total phenolic and flavonoid amounts were found to be consistent with the antioxidant activities of the extracts. Phenolic compounds compositions of plants were determined by HPLC method. Antibacterial activity of methanol extracts is detected MIC values by microdilution method against two bacteria. *A. reuterianum* species are more effective against two bacterial strains. Cytotoxic effects of the extracts were determined by means of brine shrimp (*Artemia salina*) overall toxicity test, and lethal concentration (LC₅₀) value was found to be toxic. The toxic effect was investigated on *Culex pipiens* (mosquito) and *Musca domestica* (housefly) larvae for insecticidal activity. On the treatments it was found out that, when the concentration for all of the insecticides increased the survival percentage decreased for mosquito. Antihelmintic activity test was performed with parasitic nematodes in three different doses and death times of parasitic nematodes were recorded. The most effective extract was *S. clusiana* underground which gave death the shortest time (20 min).

KEYWORDS: Geophyte, antioxidant capacity, antibacterial, cytotoxic, insecticidal, antihelmintic, HPLC

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	viii
SEMBOL LİSTESİ.....	x
ÖNSÖZ.....	xi
1.GİRİŞ	1
1.1 Botanik Bilgiler.....	1
1.1.1 <i>Allium reuterianum</i> Boiss. Bitkisinin Özellikleri.....	1
1.1.2 <i>Cyclamen coum</i> Miller Bitkisinin Özellikleri.....	2
1.1.3 <i>Hyacinthella lineata</i> (Steudel) Chouard Bitkisinin Özellikleri.....	3
1.1.4 <i>Ornithogalum umbellatum</i> L. Bitkisinin Özellikleri.....	4
1.1.5 <i>Sternbergia clusiana</i> (Ker Gawl.) Ker Gawl. Spreng ex. Bitkisinin Özellikleri.....	5
1.2 Biyoaktif Fenolik Bileşikler.....	6
1.3 Serbest Radikaller ve Etkileri.....	9
1.4 Antioksidanlar.....	11
1.5 Antioksidan Aktivite ve Miktar Tayin Yöntemleri.....	12
1.5.1 β -Karoten Renk Açılım Yöntemi.....	13
1.5.2 DPPH Serbest Radikalı Giderim Aktivitesi Yöntemi.....	14
1.5.3 ABTS Yöntemi (Katyon Radikalı Giderim Aktivitesi).....	15
1.5.4 CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi).....	15
1.5.5 FRAP (Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü) Yöntemi.....	16
1.5.6 Ferrisiyanür İndirgeme Gücü Yöntemi.....	16
1.5.7 Toplam Fenolik Madde Tayini Yöntemi.....	17
1.5.8 Toplam Flavonoid Madde Tayini yöntemi.....	17
1.6 Bitkilerden Aktif Bileşenlerin İzolasyonu.....	17
1.7 Antimikrobiyal Ajanlar.....	19
1.7.1 Dilüsyon Yöntemi.....	20
1.7.2 Difüzyon Yöntemi.....	20
1.8 Brine-shrimp (<i>Artemia salina</i> L.) Lethalite (BSL) Testi.....	20
1.9 İnsektisit Aktivite.....	22
1.10 Antihelmint Aktivite.....	24
1.11 Çalışmanın Amacı ve Önemi.....	25
2. MATERYAL VE METOT.....	26
2.1 Materyal.....	26
2.1.1 Çalışmada Kullanılan Geofit Türleri.....	26
2.1.2 Bitkilerin Kurutulması.....	27
2.2 Yöntemler.....	27
2.2.1 Bitkilerin Ekstraksiyonu.....	27
2.2.2 Antioksidan Aktivite Aktivite Analiz Yöntemleri.....	28
2.2.2.1 Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	28
2.2.2.2 DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesinin	

Belirlenmesi.....	29
2.2.2.3 Demir (III) İndirgeme /Antioksidan Kuvvet (FRAP) Kapasitesi Tayini.....	30
2.2.2.4 ABTS Katyon Radikali Giderme Aktivitesi.....	30
2.2.3 Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi.....	31
2.2.3.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	31
2.2.3.2 Toplam Flavonoid Bileşik Miktarı.....	32
2.2.4 Bitki Ekstraktlarındaki Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Analizi.....	32
2.2.5 Brine Shrimp (<i>Artemia Salina</i>) Lethalite Yöntemi ile Sitotoksitate Belirlenmesi.....	33
2.2.6 Antibakteriyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	34
2.2.7 Bitki Ekstraktlarının Sivrisinek (<i>Culex pipiens</i>) Üzerindeki İnsektisit Etkilerinin Tespiti.....	35
2.2.7.1 Larvaların Toplanması.....	36
2.2.7.2 Denemelerde Kullanılan Ekstraktların Hazırlanması ve Uygulamalar.....	36
2.2.8 Bitki Ekstraktlarının Ev Sineği (<i>Musca domestica</i>) Üzerindeki İnsektisit Etkilerinin Tespiti.....	36
2.2.9 Bitki Ekstrelerinin Antihelmint Aktivitesinin Belirlenmesi.....	37
2.3 İstatistiki Hesaplamalar.....	37
3. BULGULAR.....	38
3.1 Ekstraksiyon Verimleri.....	38
3.2 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi.....	39
3.3 Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi.....	40
3.4 Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları.....	41
3.4.1 Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	41
3.4.2 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi.....	44
3.4.3 Demir İyonu İndirgeme Gücü Kapasitesi.....	48
3.4.4 ABTS Radikal Katyonu (ABTS•+) Giderme Aktivitesi.....	51
3.5 HPLC ile Fenolik Bileşiklerin Analiz Sonuçları.....	54
3.6 Brine Shrimp (<i>Artemia Salina</i>) Lethalite Testi Bulguları.....	56
3.7 Antibakteriyal Aktivite Test Sonuçları.....	57
3.8 İnsektisit Etki Sonuçları.....	58
3.8.1 Bitki Ekstraktlarının Ev Sineği (<i>Musca domestica</i>) Üzerindeki İnsektisit Etkisi Sonuçları.....	58
3.8.2 Bitki Ekstraktlarının Sivrisinek (<i>Culex pipiens</i>) Üzerindeki İnsektisit Etkisi Sonuçları.....	58
3.9 Antihelmint Aktivite Sonuçları.....	79
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	80
5. KAYNAKLAR.....	90
6. ÖZGEÇMİŞ.....	99

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: <i>Allium reuterianum</i> türü ve sistematığı.....	2
Şekil 1.2: <i>Cyclamen coum</i> türü ve sistematığı.....	3
Şekil 1.3: <i>Hyacinthella lineata</i> türü ve sistematığı.....	4
Şekil 1.4: <i>Ornithogalum umbellatum</i> türü ve sistematığı.....	5
Şekil 1.5: <i>Sternbergia clusiana</i> türü ve sistematığı.....	6
Şekil 1.6: Sekonder metabolitler sentez yolları.....	7
Şekil 1.7: Serbest radikallerin hücresel hedefleri.....	10
Şekil 1.8: Antioksidanların sınıflandırılması.....	12
Şekil 1.9: DPPH molekülünün antioksidan madde ile reaksiyonu.....	14
Şekil 1.10: ABTS.+ radikal katyonunun yapısı.....	15
Şekil 1.11: Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu.....	16
Şekil 1.12: HPLC cihazının şematik görünümü.....	18
Şekil 1.13: <i>Artemia salina</i>	22
Şekil 2.1: Bitkilerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının kurutma işlemi.....	27
Şekil 2.2: Ekstraksiyon aşamaları.....	28
Şekil 2.3: Gallik asit kalibrasyon grafiği.....	31
Şekil 2.4: Quercetin kalibrasyon grafiği.....	32
Şekil 2.5: <i>Artemia salina</i> yetiştirme ortamı.....	34
Şekil 2.6: <i>Culex pipiens</i> ' in 3. ve 4. evre larvaları.....	36
Şekil 2.7: Ekstraktların uygulandığı deney düzeneği ve helmint örnekleri.....	37
Şekil 3.1: Bitki ekstraktlarının çözücülere göre ekstraksiyon verimi (%).....	39
Şekil 3.2: Etanol ekstraktlarının β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%).....	42
Şekil 3.3: Metanol ekstraktlarının β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%).....	43
Şekil 3.4: Aseton ekstraktlarının β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%).....	43
Şekil 3.5: Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%).....	44
Şekil 3.6: Metanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%).....	45
Şekil 3.7: Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%).....	46
Şekil 3.8: Etanol ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak indirgeme kapasiteleri.....	48
Şekil 3.9: Metanol ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak indirgeme kapasiteleri.....	49
Şekil 3.10: Aseton ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak indirgeme kapasiteleri.....	50
Şekil 3.11: Etanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%).....	51
Şekil 3.12: Metanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%).....	52
Şekil 3.13: Aseton ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%).....	53

Şekil 3.14: Fenolik Standartların HPLC kromatogramı.....	55
Şekil 3.15: <i>A. reuterianum</i> toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	60
Şekil 3.16: <i>A. reuterianum</i> toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	60
Şekil 3.17: <i>A. reuterianum</i> toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	60
Şekil 3.18: <i>A. reuterianum</i> toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	61
Şekil 3.19: <i>A. reuterianum</i> toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	62
Şekil 3.20: <i>A. reuterianum</i> toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	62
Şekil 3.21: <i>C. coum</i> toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği..	63
Şekil 3.22: <i>C. coum</i> toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği..	64
Şekil 3.23: <i>C. coum</i> toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği..	64
Şekil 3.24: <i>C. coum</i> toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği	65
Şekil 3.25: <i>C. coum</i> toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği	66
Şekil 3.26: <i>C. coum</i> toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	66
Şekil 3.27: <i>H. lineata</i> toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	67
Şekil 3.28: <i>H. lineata</i> toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	68
Şekil 3.29: <i>H. lineata</i> toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	68
Şekil 3.30: <i>H. lineata</i> toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	69
Şekil 3.31: <i>H. lineata</i> toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	70
Şekil 3.32: <i>H. lineata</i> toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	70
Şekil 3.33: <i>O. umbellatum</i> toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	71
Şekil 3.34: <i>O. umbellatum</i> toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	72
Şekil 3.35: <i>O. umbellatum</i> toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	72
Şekil 3.36: <i>O. umbellatum</i> toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	73
Şekil 3.37: <i>O. umbellatum</i> toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	74
Şekil 3.38: <i>O. umbellatum</i> toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	74
Şekil 3.39: <i>S. clusiana</i> toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	75
Şekil 3.40: <i>S. clusiana</i> toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	76
Şekil 3.41: <i>S. clusiana</i> toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	76

Şekil 3.42: <i>S. clusiana</i> toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	77
Şekil 3.43: <i>S. clusiana</i> toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	78
Şekil 3.44: <i>S. clusiana</i> toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği.....	78

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo1.1: Gıdalardaki başlıca fenolik madde grupları.....	9
Tablo1.2: In vitro koşullarda uygulanan antioksidan aktivite tayin metodları.....	13
Tablo1.3: Farklı türlerden elde edilen bitkisel insektisitler ve bitki kaynakları.....	23
Tablo 2.1: Bitki materyallerinin toplanma lokaliteleri.....	26
Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan geofit türlerinin ekstraksiyon % verimlilikleri.....	38
Tablo 3.2: Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları (mg/mLGAE).....	39
Tablo 3.3: Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları (mgQE/g).....	40
Tablo 3.4: Ekstraktların β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%).....	41
Tablo 3.5: Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	45
Tablo 3.6: Metanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi.....	46
Tablo 3.7: Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi.....	47
Tablo 3.8: Bitki türlerine ait IC ₅₀ değerleri (mg/ml).....	47
Tablo 3.9: Etanol ekstraktlarının indirgeme kapasiteleri.....	49
Tablo 3.10: Metanol ekstraktlarının indirgeme kapasiteleri.....	50
Tablo 3.11: Aseton ekstraktlarının indirgeme kapasiteleri.....	51
Tablo 3.12: Etanol ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%).....	52
Tablo 3.13: Metanol ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%).....	53
Tablo 3.14: Aseton ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%).....	54
Tablo 3.15: Bitki özütlerindeki fenolik bileşen madde miktarları.....	55
Tablo 3.16: Fenolik asit standart bileşenlerin dalga boyları, alıkonma zamanları, alan ve konsantrasyonları.....	56
Tablo 3.17: Metanol özütlerinin Brine Shrimp Lethalite testi sonuçları.....	57
Tablo 3.18: Metanol özütlerinin bakterilere karşı MİK değerleri (μ g/mL).....	58
Tablo 3.19: <i>A. reuterianum</i> türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	59
Tablo 3.20: <i>A. reuterianum</i> türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	61
Tablo 3.21: <i>C.coum</i> türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	64
Tablo 3.22: <i>C. coum</i> türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	65
Tablo 3.23: <i>H.lineata</i> türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	67

Tablo 3.24: <i>H. lineata</i> türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	69
Tablo 3.25: <i>O. umbellatum</i> türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	71
Tablo 3.26: <i>O. umbellatum</i> türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	73
Tablo 3.27: <i>S. clusiana</i> türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	75
Tablo 3.28: <i>S. clusiana</i> türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının <i>Culex pipiens</i> 'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri.....	77
Tablo 3.29: Metanol özütlerine ait antihelmint aktivite testi sonuçları.....	79

SEMBOL LİSTESİ

DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
SOR	:	Serbest Oksijen Radikalleri
DPPH	:	1,1-difenil-2-pikril hidrazil
IC₅₀	:	%50 İnhibisyon Konsantrasyonu
ABTS	:	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
CUPRAC	:	Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite
FRAP	:	Demir İyonu İndirgeme Antioksidan Gücü
BHA	:	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	:	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
HPLC	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
TCA	:	Trikloroasetik asit
GAE	:	Gallik Asit Eşdeğeri
QE	:	Kuersetin Eşdeğeri
MIC	:	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
BSLT	:	Brine Shrimp Letalite Testi
LC₅₀	:	Letal Konsantrasyon
TA	:	Toprak Altı
TÜ	:	Toprak Üstü
mL	:	Mililitre
mg	:	Miligram
%	:	Yüzde
nm	:	Nanometre
β	:	Beta
dH₂O	:	Distile Su
ppm	:	Milyonda bir (mikro)
µl	:	Mikrolitre

ÖNSÖZ

“Bazı Geofit Ekstraktlarının Farklı Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması” adlı doktora tez çalışmamda hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen danışmanım, her zaman bilgisini ve desteğini aldığım sayın Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV’a, Tez İzleme Komitesi toplantılarında bilgi ve desteklerini benden esirgemeyen ve tez süresince insektisit deneyleri kapsamında bilgisinden faydalandığım sayın hocam Doç. Dr. Hüseyin ÇETİN’e, antibakteriyal aktivite deneylerinde yardımlarından dolayı Doç. Dr. Vildan CANER’e, antihelmint aktivite çalışmalarına imkan veren Doç. Dr. Serdar DÜŞEN’e, lisansım ve yüksek lisansım boyunca verdikleri emeklerden dolayı tüm bölüm hocalarıma, insektisit deneylerinde yardımlarını asla esirgemeyen Yeşim POLAT’a, tez deneylerinde yardımlarından dolayı arkadaşlarım Hesna YAKA GÜL’e, Murat TURAN’a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmayı maddi yönden destekleyen Pamukkale Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Başkanlığı’na teşekkürlerimi sunarım. Bu tezin hazırlanmasında bana her zaman maddi ve manevi en büyük desteği sağlayan aileme sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

1. GİRİŞ

Türkiye, coğrafi konumu, jeolojik ve jeomorfolojik yapısı, farklı topoğrafik yapılara ve toprak gruplarına sahip oluşu, değişik iklim tiplerinin etkisi altında kalması ve üç farklı fitocoğrafik bölgenin birleştiği yerde olması yönünden zengin bir flora ve çok farklı vejetasyon tiplerine sahiptir. Biyolojik zenginliklerimiz içerisinde yer alan bitki gruplarından her biri ayrı bir güzellikte çiçeğe sahip olan türlerin yer aldığı yumrulu ve soğanlı bitkiler (geofitler) grubudur. Geofit bitkiler, gövdesi toprak altında oluşan ve değişime uğrayarak besin depo etme özelliği kazanmış, soğanlı, tuberli ve rizomlu bitkilere verilen genel isimdir. Türkiye florasında, 73 cinse bağlı 816 geofit türü doğal olarak yetişmektedir (Sargın ve diğ. 2013).

Ülkemizin bitki florası yönünden böyle bir potansiyele sahip olması ve özellikle de endemik türlerin ve geofitlerin çokluğu alternatif tıba yönelik çalışmaları teşvik etmektedir (Vaziri 2009, Tınmaz ve diğ. 2002). TUBİVES kayıtlarına göre, Türkiye’de halen 11 familyada 73 cinse ait 816 geofit taksonu tespit edilmiştir. Bu bitkiler genel olarak Güneybatı Ege, Karadeniz Bölgesi, Akdeniz Bölgesi ve Toroslarda yayılış göstermektedir (Şekeroğlu ve diğ. 2012). Geofit bitkiler genel olarak Liliaceae, Amaryllidaceae, Ranunculaceae, Iridaceae, Primulaceae, Araceae, Geraniaceae ve Orchidaceae familyalarında yer almakta ve büyük çoğunluğu, ekonomik ve tıbbi önemi olan türler içermektedir (Başköşe ve diğ. 2012, Baytop 1999). Geofitlerin en önemli özelliklerinden biri soğan, yumru ve rizomlarının içerdikleri etken maddeler sayesinde tedavi maksatlı kullanılmasıdır. Geofitlerle tedavi çok eski zamanlara dayanmaktadır (Demirhan 2001).

1.1 Botanik Bilgiler

1.1.1 *Allium reuterianum* Boiss. Bitkisinin Özellikleri

Allium cinsi Amaryllidaceae (sin. Alliaceae) familyasının geniş bir cinsidir ve yaklaşık 750 doğal türü kuzey yarım kürede yayılmıştır. Çoğu Akdenizde bulunan 110 türünden fazlası Avrupa kıtasında bulunmasına rağmen, birçok türünün

Asya ve Kuzey Amerika'da kendi yayılış alanları vardır. Cinsin yeryüzünde 600 kadar, yurdumuzda ise 196 taksonu vardır. Yurdumuzda yetişen türlerin 65'i (%40) endemiktir. Türkiye'de yetişen *Allium* türlerinin tamamı 13 seksiyon altında toplanmış iken endemik türlerin bulunduğu seksiyon adedi 8'dir (Koyuncu 1994). Son yayınlanan *Allium ertugrulii* (Demirelma ve Uysal 2008) ile Türkiye'deki toplam *Allium* türü sayısı 169'a ulaşmıştır (Baktır ve Karagüzel 2004). *Allium reuterianum* Boiss. türü genel özellikleri şunlardır; çok yıllık, soğanlı, tipik soğan veya sarımsak kokulu, skapus taşıyan otsu bitkilerdir. Soğanlar kabukludur. Yapraklar tabanda veya skapus üzerinde; tabanda sarı, filiform, çoğunlukla borumsudur. Çiçekler tepede bir umbella durumunda, açmadan önce bir brakte (spata) içindedir. Spata tam iki veya daha çok parçalı, düşücü veya kalıcıdır. Stamenler 6, serbest veya tabanda bir halka şeklinde birleşik, periant segmentlerinin tabanında başlar ve bazen tabanlarına bağlıdır. Filamentler çoğunlukla basit, bazen içteki ucu trikuspitat; anterler elipsoid-oblong, dorsifiks, içe dönüktür. Ovaryum üç gözlü, her göz iki veya çok ovüllü; stilus 1, filiform, ginobazik; stigma tam, punktiform veya kapitat, nadiren kısa, 3 lobludur. Meyva lokulusit kapsüle, her gözde 1-2 (nadiren çok) tohumlu; tohumlar siyah, basık, üç köşeli, nadiren yuvarlaktır. İçerdikleri kükürtlü, uçucu bileşiklerden ileri gelen özel soğan ve sarımsak kokuları en karakteristik özellikleridir. Çoğu türlerin keskin soğan veya sarımsak kokusu vardır (Davis 1984).



Kingtom	Plantae
Subkingtom	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Class	Liliopsida
Subclass	Liliidae
Order	Asparagales
Family	Amaryllidaceae
Genus	<i>Allium L.</i>
Species	<i>Allium reuterianum</i>

Şekil 1.1: *Allium reuterianum* türü ve sistematigi

1.1.2 *Cyclamen coum* Miller Bitkisinin Özellikleri

Primulaceae familyasında bulunan *Cyclamen* cinsinin ülkemizde doğal halde bir kısmı ilkbaharda bir kısmı ise sonbaharda çiçek açar. Bu cinsteki bitkiler yumrulu

çok yıllık otsu bitkilerdir. Çiçekleri tek ve öne doğru eğilir şekildedir. Çiçek sapları uzundur ve genellikle spiral şeklinde kıvrılarak olgunlaşır. Kaliks tam, 5 lobludur. Stamenler 5 adet olup korolla'nın tabanındadır. Flamentler çok kısa, anterler çok geniştir ve koni oluşturarak birbirine yaklaşmaktadır. Tohumlar yumuşak, ıslak ve genellikle tek tektir (Davis 1984).



Kingtom	Plantae
Subkingtom	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Order	Primulales
Family	Primulaceae
Genus	<i>Cyclamen</i>
Species	<i>Cyclamen coum</i>

Şekil 1.2: *Cyclamen coum* türü ve sistematigi

1.1.3 *Hyacinthella lineata* (Steudel) Chouard Bitkisinin Özellikleri

Çalışma materyalini oluşturan *Hyacinthella* Schur cinsi Asparagaceae familyasında içinde yer alır. *Hyacinthella* dünyada 17 türle, ülkemizde 12 taksonla temsil edilir. Bu türlerden dokuz tanesi ülkemiz için endemiktir (Atayeter 2007). *Hyacinthella lineata* türü de endemik türlerden biridir. Çok yıllık otsu endemik bir bitkidir. Bitki çok yıllık, 10-18 cm boyundadır. Soğan yumurtamsı, oval, üzerinde 1-2 tabakalı kirlili beyaz ve zarımsı yapıda tunika bulunur. Kökler açık kahverenkli. Yapraklar 3 adet, damarları belirgin, kenarları hafifçe içeri kıvrık, skapayı dıştan kuşatan 2 yaprak lanseolattır. Skapa 8-15 cm boyunda, taban kısmı beyaz, üstlere çıkıldıkça mavimsi-yeşil tonlarda ve tüysüzdür. Çiçek durumu rasem, 10-26 çiçekli, brakte çok küçük, zarımsıdır. Perigon mavi-eflatun renkli, çan şeklinde, 6 tepalli ve lobludur. Ovaryum üst durumludur. Genel olarak yayılışı Kumlu-tınlı gevşek topraklar, eğimli açık alanlar; çam, meşe ve ardıç toplulukları arasındaki taşlık yerlerdir.




Kingtom	Plantae
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Order	Aspargales
Family	Asparagaceae
Genus	<i>Hyacinthella</i>
Species	<i>Hyacinthella lineata</i>

Şekil 1.3: *Hyacinthella lineata* türü ve sistematığı

1.1.4 *Ornithogalum umbellatum* L. Bitkisinin Özellikleri

Asparagaceae familyasında yer alan *Ornithogalum* cinsi soğanlı çok yıllık otsulardır. Soğanlar beyaz, yuvarlaktır. Yapraklar kaidede, linear. Çiçekler beyaz, korimboz ve uzamış bir eksen üzerinde rasemus durumundadır. Periant parçaları serbest veya kaidede birleşik, stamenler 6 tane, meyva lokulusit kapsula şeklindedir. Avrupa, Afrika ve Akdeniz Bölgesi'nde yayılış gösterir ve 100'den fazla türü vardır. Ülkemizde 26 kadar türü bulunur. *O. umbellatum* L. en geniş yayılışı olan türdür. *Ornithogalum* cinsi kardiyak glikozitleri içermektedir. *O. umbellatum*' un rizomlarından en az yedi adet cardenolid'in olduğu tespit edilmiştir. Zehirlilik etkisi bitkinin içerdiği bu glikozitlerden kaynaklanmaktadır (Frohne and Pfander 2005).

Yumrular Dioscorides döneminden beri kusturucu ve çıban açıcı olarak tanınmıştır. Taze veya pişmiş yumru çıban üzerine sarılır ve çıbanın olgunlaşp açılması sağlanır. Anadolu'da 30 kadar *Ornithogalum* türü bulunmaktadır.

	Kingtom	Plantae
	Subkingtom	Tracheobionta
	Division	Magnoliophyta
	Class	Magnoliopsida
	Order	Aspargales
	Family	Asparagaceae
	Genus	<i>Ornithogalum</i>
	Species	<i>Ornithogalum umbellatum</i>

Şekil 1.4: *Ornithogalum umbellatum* türü ve sistematığı

1.1.5 *Sternbergia clusiana* (Ker Gawl.) Ker Gawl. Spreng ex. Bitkisinin Özellikleri

Amaryllidaceae familyasında yer alan, *Sternbergia* Waldst. & Kit. türleri Doğu Akdeniz'den Kafkasya'ya kadar yayılış gösteren 8 tür ile temsil edilmektedir (Kaya 2011). Soğan kahverengi zar ve siyahımsı tuniklerle çevrilidir. Yapraklar linear ya da dar lanseolat, yapraklar çiçeklerle birlikte ya da onlardan sonradır, hepsi tabanda bulunur. Çiçekler tek, genellikle sarı, autumnal ya da vernal, bir yere bağımlı değil ya da kısa pedisellidir. Ovaryum subterranean ya da havai, kapsül silindirik, elipsoid ya da hemen hemen tüylü, tohumlar geniş çok sayıda, koyu kahverengi ya da siyahımsı ara sıra taze strofillidir. *Sternbergia* türleri üzerinde yürütülen izolasyon çalışmalarında başta alkaloidler olmak üzere lektinler, fenolik asitler, çeşitli pigment maddeleri ve uçucu bileşenler elde edilmiştir. (Tanker 1996, Abdalla 1993, Saito 1997, Nikolova 2005, Calabrese 1972, Kükcüoğlu 2010).



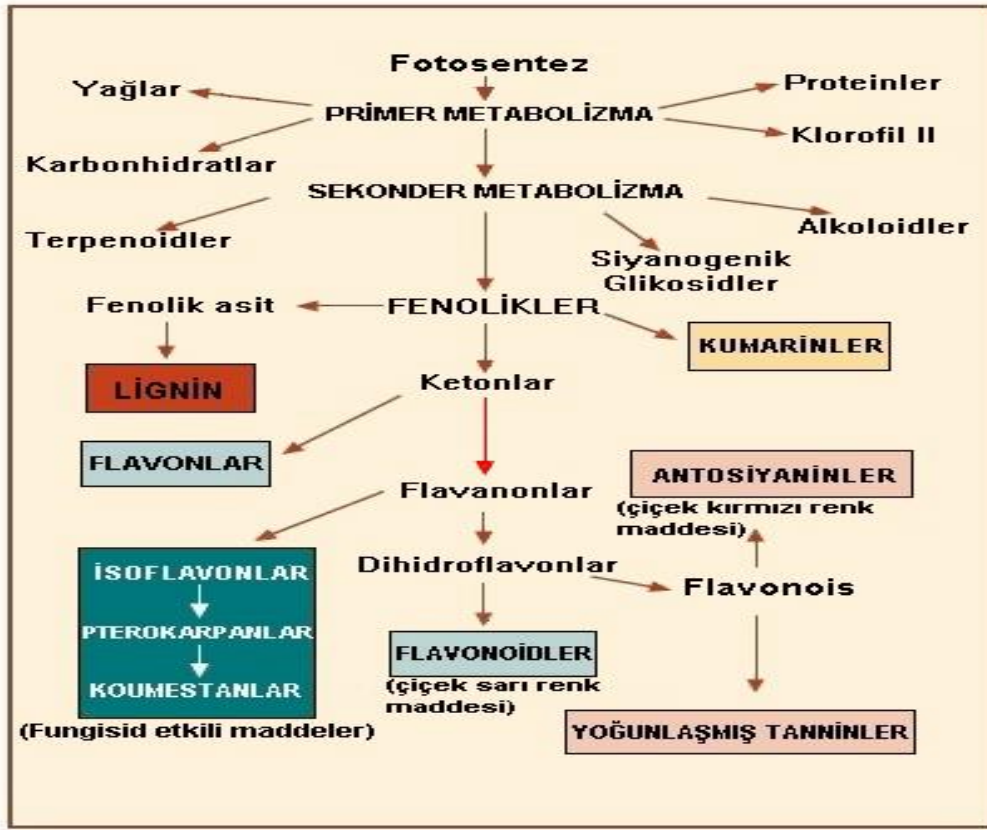
Kingtom	Plantae
Subkingtom	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Order	Aspargales
Family	Amaryllidaceae
Genus	<i>Sternbergia</i>
Species	<i>Sternbergia clusiana</i>

Şekil 1.5: *Sternbergia clusiana* türü ve sistematığı

1.2 Biyoaktif Fenolik Bileşikler

Bitkiler üzerinde yapılan araştırmalarda bitkilerin ekosistemle olan ilişkisinde, savunma, korunma, ortama uyum, hayatta kalma, biyolojik aktiviteleri ve nesillerini devam ettirme gibi önemli olaylarda çeşitli avantajlar sağlayan sekonder metabolit olarak tanımlanan oldukça karmaşık mekanizmaların ürünleri olan kimyasal maddeler içerdikleri saptanmıştır (Bourgaud ve diğ. 2001). Bitkiler tarafından sentezlenen bu moleküller; karbohidratlar, proteinler ve yağların sentezinden sonra ikincil metabolizma ürünleri olup, mikroorganizmalara karşı insektisit ve herbisit olarak serbest radikallere karşı koruyucu rol oynarlar. Sekonder metabolitler bitkilerin çevreyle adaptasyonunu sağlamak, koruma, taşınma üreme gibi faaliyetlerden sorumlu olan organik moleküllerdir. Bunlar "fitokimyasallar" olarak da adlandırılırlar. Fitokimyasallar, özellikle sebze ve meyvelerdeki fenolikleri, flavonoidleri ve karotenoidleri kapsarlar.

Bitkilerde bulunan yaygın sekonder metabolitler ise fitosteroller, terpenler, terpenoidler, alkaloidler, fenolikler ve flavonoidlerdir. Günümüzde birçok sektörde hammadde olarak kullanılan sekonder metabolitler bitkinin temel yaşamsal işlevleriyle doğrudan ilişkisi olmamasına karşılıklı en az primer metabolitler kadar önemlidir.



Şekil 1.6: Sekonder metabolitler sentez yolları

Çok büyük yapısal çeşitliliğe sahip olan sekonder metabolitler, bitkide sekonder metabolizma yollarının ara ürünlerinden, özel yollarla üretilmektedirler. Sekonder metabolitler üzerinde yapılan araştırmalarda bu bileşiklerin bitkiler tarafından çok az miktarlarda üretildiğinde belirlenmiştir. Buna karşılık doğal gıda ve ilaç ham maddeleri (farmasötikler, gıda katkı maddeleri, tatlandırıcılar, boyalar, koku vericiler, yapıştırıcılar, insektisitler, pestisitler vb.) bulmak üzere bu metabolitler üzerinde yapılan araştırmalar gün geçtikçe artmakta ve bunun sonucunda da ekonomik olarak önem kazanmaktadır (Başer 1990, Baytop 1999, Ahıskalıoğlu 2007). Bitkilerden izole edilen ve biyolojik aktivitesi belirlenmiş en önemli molekül grupları; polisakkaritler, flavonoidler, terpenoidler, alkaloidler, fenoller, amino asitler ve saponinlerdir (Shanker ve Solanki 2000, Zahran ve diğ. 2005).

Biyolojik olarak aktif olan fitokimyasalların büyük çoğunluğu gıda olarak kullanılan çeşitli bitkilerden izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Lampe 1999, Karadayı 2010). Bitkisel gıdalar yönünden zengin olan diyetler, yapılarında bulunan pozitif etkiye sahip fitokimyasallar ve çeşitli bitkisel maddeler ile bireylerin sağlık durumlarının korunmasına yardımcı olur. Bu bağlamda geniş ölçüde meyve, sebze ve baharatları kapsayan doğal besinlere; kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığa

karşı olan koruyucu etkilerinden dolayı hem halk hem de bilimsel çevre tarafından büyük ilgi gösterilmektedir (Shukla ve Singh 2007, Karadayı 2010).

Fenolik bileşikler altı üyeli aromatik halkaya direkt bağlı bir hidroksil grubu (-OH) içeren ve bu hidroksil grubundan bir hidrojen kaybetmeye meyilli, zayıf asidik, aromatik bileşiklerdir. Fenolik bileşikler antioksidan olarak, insan vücudundaki çeşitli nedenlerle oluşmuş serbest radikalleri temizleme kabiliyetine sahiptirler. Ayrıca, ağır ve radyoaktif metalleri şelatlama ve otooksidasyonu önleme konusunda fenolik bileşikler oldukça etkilidirler. Diğer bir deyişle bunlar, çeşitli reaktif oksijen türlerini (serbest oksijen peroksinitrit ve hidrojen peroksiti) hücrelerden uzaklaştırarak metabolizmayı zinde tutarlar (URL-1 2006).

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılabilir. Bunlar çok önemli antioksidanlar olup, bitkisel gıdaların tüketilmesiyle sağlığa olan pozitif etkileri artırılabilir. Fenolik asitler yaygın olarak bitki taç kısmında bulunur ve antioksidan karaktere sahiptir. Başlıca fenolik asitler gallik asit, protokatekuik asit, p-hidroksibenzoik asit ve vanilik asit gibi hidroksibenzoik asitler ve ferulik asit, kafeik asit ve kumarik asit gibi hidroksi sinnamik asitleri içerir. Flavonoidler insanlar tarafından sentezlenemeyen bitki fitokimyasallarıdır. Flavonoidler, özellikle meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan fenolik maddelerin (renk maddelerinin) C6-C3-C6 çatısına sahip olanlarına verilen addır.

Bitkilerde tedavi edici özelliği veren sekonder maddeler kimyasal yapılarına göre sınıflandırılabilirler. Bunlar;

Glikozitler: Enzim veya seyreltik asit etkisiyle şeker olmayan bir kısım ile bir veya birden fazla glikoz molekülüne ayrılabilen bileşiklerdir.

Organik Asitler: Bitkilerde karbohidratların oksidasyonu ile meydana gelen organik bileşiklerdir.

Tanenler: Özellikle kabuklu bitkilerde bulunan fenol yapılı suda çözünebilen maddelerdir.

Alkoloidler: Yapılarında azot bulunan bazik yapılı, katı ve genellikle renksiz maddelerdir.

Sabit Yağlar: Gliserin ile yağ asitlerinin estereleşmesiyle meydana gelen bileşiklerdir.

Uçucu Yağlar: Genellikle sıvı olan terpen yapılı bileşiklerdir.

Reçineli Bileşikler: Suda çözünmeyen ama organik çözücülerde çözünebilen kompleks yapılı bileşikleridir (Baytop 1999).

Tablo1.1: Gıdalardaki başlıca fenolik madde grupları

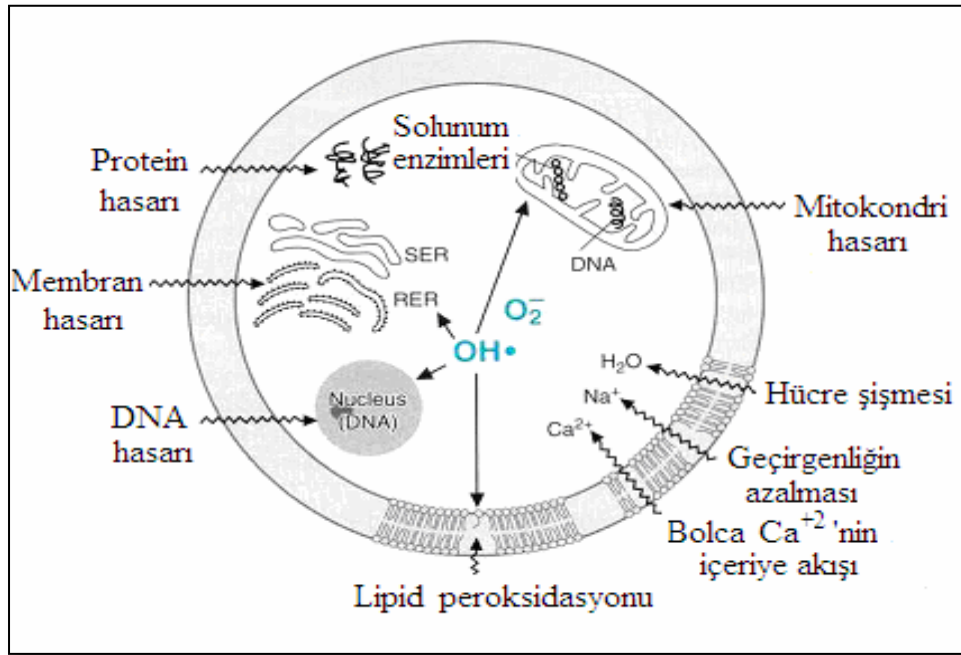
Grup Adı	1.Fenolik Asitler Başlıcaları	Grup Adı	2.Flavanoidler
1.2. Hidroksibenzoik asitler (C6-C1)	Salisilik asit m-hidroksibenzoik asit p- hidroksibenzoik asit o-prokateşuik asit β-rezorsilik asit Gentisik asit Vanilik asit İzovanilik asit Sirinjik asit	2.2. Kateşinler	(+) Kateşin (-) Epikateşin (+) Gallokateşin (-) Epigallokateşin
1.3.Hidroksisinamik asit türevleri	Klorojenik asit Neoklorojenik asit Kritoklorojenik asit İzoklorojenik asit p-kumaroilquinik asit Kaftarik asit Kutarik asit	2.3.Löykoantosiyanidinler 2.4.Flavonoller 2.5.Flavonlar 2.6.Flavanonlar 2.7.Prosiyanidinler 2.8.Dihidrokalonlar 2.9.Auronlar	Löykosiyanidin Löykodelfinidin Kamferol Kuersetin Mirisetin İzoramnetin Apigenin Luteolin Narincenin Hesperitin Eriyodiktol İzosakuranetin Prosiyandin dimer Prosiyandin oligomer Prosiyandin dimer Floridzin Floretin

1.3 Serbest Radikaller ve Etkileri

Oksijen, yaşam için vazgeçilmez bir molekül olmasına rağmen aynı zamanda vücut içinde reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Reaktif oksijen türleri metabolizmaya zarar verebilecek bir dizi reaksiyonu başlatır ve bunlar canlı

için aynı zamanda bir tehdit unsuru haline gelmektedir. Serbest radikallerin oluşumu organizmada oksijen kullanımı sırasında ortaya çıkmaktadır. Eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller hücrelerin zarar gördüğü reaksiyonlar dizisini başlatır.

Organizmada serbest radikaller gerek normal metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak, gerekse radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasalların etkisi ile oluşmaktadır. (Gökpınar 2006). Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu atom veya moleküller en dış elektron kabuğundan bir elektron kaybetmiş olduklarından bu elektron açığını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşma eğilimindedirler. Serbest radikaller oldukça reaktif moleküllerdir. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler. En temel etkileri, lipid peroksidasyonu, proteinler arasında disülfid bağı oluşumu ve DNA hasarıdır (URL-3 2007).



Şekil 1.7: Serbest radikallerin hücresel hedefleri (Burnaz 2007)

Serbest radikal oluşturan kaynaklar radyasyon, virüsler, UV ışınları, X-ışınları, ozon kozmik ışınlar, hava kirliliğini yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, otomobil egzoz gazları, sanayi atıkları, enfeksiyonlar, stres, hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları ve birçok başka etkenlerdir (Ahıskalıoğlu 2007).

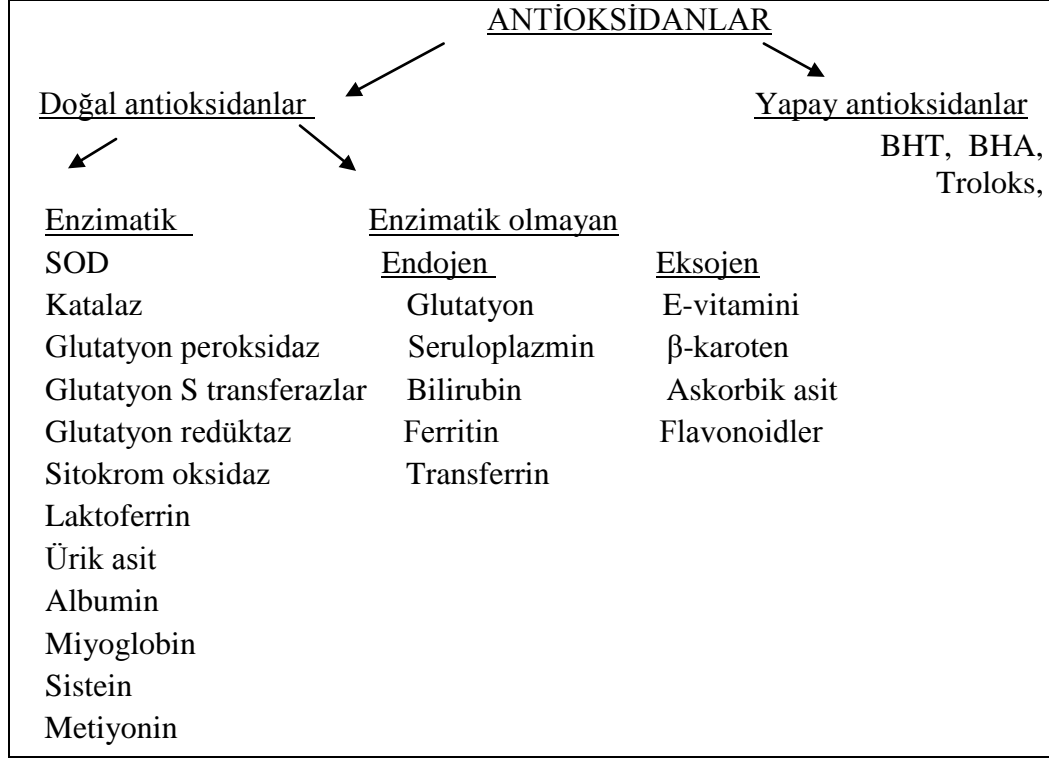
Serbest radikal saldırısının devamı, hücre zarının yapısında bulunan lipitlerin parçalanmasına, bitki zarının yırtılmasına ve hücre bileşenlerinin dağılmasına sebep olur. Hücre içi bileşenlerin hücre dışına akması etraftaki dokulara da zarar verir. Serbest radikal saldırısı ve hücre zarının tahribatı "Oksidatif Zarar" olarak adlandırılır. Serbest radikallerin hücredeki bu etkileri sonucu pek çok hastalığın oluşabildiği düşünülmektedir. Vücudumuz serbest radikalleri tanıyan ve etkisiz hale getiren bir sisteme sahiptir. Bu sistem, 'antioksidan savunma sistemi' olarak bilinir (Burnaz 2007).

1.4 Antioksidanlar

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek oksidasyonunu engelleyen, yavaşlatan, durduran bileşiklerdir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid oksidasyonunu inhibe ederler (Halliwell 1992). Antioksidan savunma mekanizmaları oldukça çeşitli olup bunlardan bazılarını şöyle özetlemek mümkündür:

1. **Temizleme etkisi:** Mitokondriyal sitokrom oksidaz gibi bir enzim tarafından oksidan molekülleri zayıf bir moleküle çevirme şeklinde etki gösterirler.
2. **Baskılama etkisi:** Flavonoidler, α -tokoferol, askorbik asit, metiyonin, ürik asit, β -karoten, indirgenmiş glutatyon, mukus gibi, oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde etki gösterirler.
3. **Onarma etkisi:** Nükleik asitler gibi SOR ile yıkılmış biyomolekülleri onarırlar. DNA onarım enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz bu gruba dâhil edilir.
4. **Zincir koparma etkisi:** Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleme şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır (Memişoğulları 2005).

Antioksidanları öncelikle doğal antioksidanlar ve yapay antioksidanlar (ilaçlar) şeklinde sınıflandırmak daha doğru olacaktır. Doğal antioksidanlar, endojen ve eksojen antioksidanlar olarak iki gruba ayrılabilir (Şekil 1.7).



Şekil 1.8: Antioksidanların sınıflandırılması

Doğal antioksidanlar bitkilerin bütün kısımlarında doğal bir şekilde meydana gelmektedir. Doğal antioksidanlar; karotenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, ve glutatyonudur. Bitkisel kaynaklı antioksidanlar singlet ve triplet oksijen süpürücü, serbest radikal giderici, peroksit parçalayıcı, enzim inhibitörleri ve sinerjistler olarak fonksiyon görürler (Larson 1988). Sebze ve meyveler de birçok antioksidan içerirler (Cao ve diğ. 1996). Doğal antioksidan bileşikler; sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda bulunmaktadır (Pratt ve Hudson 1990). En önemli doğal antioksidanlar arasında askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler ve skualen sayılabilir (Haşimi 2012).

1.5 Antioksidan Aktivite ve Miktar Tayin Yöntemleri

Oksidatif stres koşullarında serbest radikaller biyolojik makromoleküllerle etkileşerek çeşitli hastalıklara yol açtığından özellikle risk grubundaki bireylerin aldığı gıdalarda, bu serbest radikalleri gideren organizma tarafından sentezlenen ya da dışarıdan besinlerle alınan, antioksidanların toplamsal tayini önemlidir.

Antioksidan aktivite tayin metodları, kimyasal reaksiyonlarına göre iki gruba ayrılırlar:

Birincisi; hidrojen atomu transferine (HAT) dayanan metodlar ve ikincisi; bir tek elektron transferine (ET) dayanan metodlardır. Bu temellere dayanan metodların hedefi; koruyucu antioksidan kapasitesi yerine, oksidan giderici kapasiteyi ölçmektir. Tablo 1.2' de bu metodlar özetlenmiştir.

Tablo 1.2: In vitro koşullarda uygulanan antioksidan aktivite tayin metodları

HAT-temelli metodlar $ROO\cdot + AH \rightarrow ROOH + A\cdot$ $ROO\cdot + LH \rightarrow ROOH + L\cdot$	Oksijen radikalini absorblama kapasitesi (ORAC) Linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu (TRAP) LDL oksidasyonunun inhibisyonu (TRAP) Crocini ağartma metodu
ET-temelli metodlar $M^n + e^- (AH'den) \rightarrow AH + M^{(n-1)}$	Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC, ABTS) Fe (III) iyonu indirgeme gücü (FRAP) DPPH radikali giderme aktivitesi FCR ile toplam fenolik bileşik tayini Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC)
Diğer metodlar	Tiyobarbitürik asit ile oksidasyon ürünlerinin tayini (TBARS) Peroksit değeri (POV) Ransimat metodu Çeşitli serbest radikalleri yakalama metodları

Maddelerin bu amaçla kullanılabilirliğini belirlemek için birçok antioksidan tayin yöntemi geliştirilmiştir. Bunlar arasında en yaygın kullanılanları burada özetlenecektir.

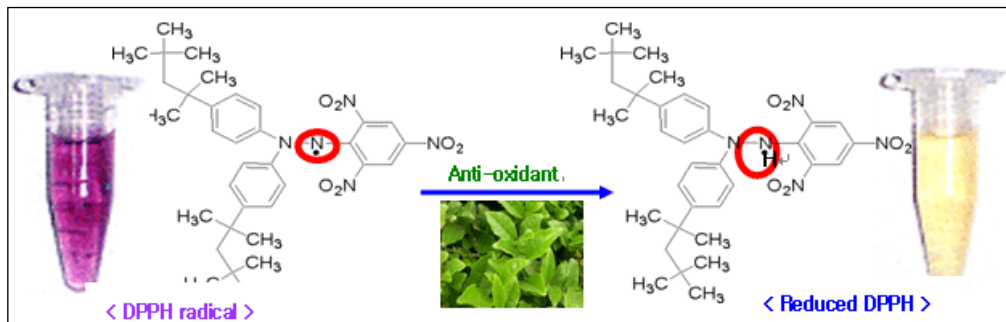
1.5.1 β _Karoten Renk Açılım Yöntemi

Bu yöntemde önceden oksijen ile doyurulmuş suya linoleik asit ve β -karoten koyulur. Linoleik asitten oluşan radikaller ($\cdot OH$, $\cdot OR$, $\cdot OOR$, vs.), 490 nm dalga boyunda maksimum absorban veren β -karoteni parçalayarak renginin açılmasına neden olurlar. Antioksidanlar, oluşan radikalleri söndürerek β -karotenin renginin

açılmasını önlerler (Miller 1971, Huang ve diğ. 2005). Yüksek absorbans düşük antioksidan aktiviteyi, düşük absorbans ise yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Ortamda bir antioksidan maddenin varlığında lipid peroksit ürünü oluşmaz ve konsantrasyonu, dolayısıyla absorbansı düşük çıkar (Burnaz 2007). Bu yöntem hidrofilik, hidrofobik ve emülsiyonların oksidasyonunu ölçmek için kullanılır (Miller 1971).

1.5.2 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

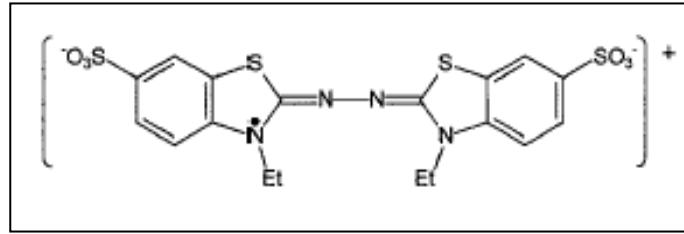
Bu yöntem, antioksidanların serbest radikali giderme kabiliyetlerini belirleyen hızlı, pratik ve güvenilirliği yüksek olan bir yöntemdir. DPPH (1,1–difenil–2– pikrilhidrazil) kararlı yapıda bir azot radikalidir. DPPH’ın etanoldeki çözeltisi mor renklidir ve 517 nm dalga boyunda absorbansı ölçülür. DPPH çözeltisine antioksidanların ilave edilmesiyle söz konusu dalga boyundaki absorbansa düşüş meydana gelir ve çözeltinin rengi sarıya doğru kayar. Farklı numune konsantrasyonlarıyla muamele edilen DPPH’ın absorbansındaki değişim ölçülerek, absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlarla grafik çizilmekte; grafikteki $y=ax+b$ denkleminde DPPH•konsantrasyonunu yarıya düşüren numune miktarı $\mu\text{g/mL}$ cinsinden belirlenmekte ve IC_{50} değeri olarak ifade edilmektedir. Bu yöntemin önemli bir dezavantajı, büyük antioksidan moleküllerin sterik engellenmeye maruz kalmaları nedeniyle inaktif olarak test edilmeleridir. Bu yöntemde, antioksidan molekülün yapısı ve boyutu test sonucunu etkilemektedir. Bu yöntem, radikal temizleme aktivite tayinlerinde kolaylığı ve kısa sürmesi nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır. DPPH ve antioksidan madde arasındaki reaksiyon Şekil 1.9.’de gösterilmiştir (Blois 1958).



Şekil 1.9: DPPH molekülünün antioksidan madde ile reaksiyonu (Blois 1958)

1.5.3 ABTS Yöntemi (Kasyon Radikali Giderim Aktivitesi)

Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi olarak ifade edilen TEAC/ABTS yöntemi, ilk olarak Miller ve diğ. tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemde 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (ABTS) $K_2S_2O_8$, MnO_2 , H_2O_2 gibi güçlü yükseltgenler ile tepkimeye sokulup $ABTS^{+\bullet}$ oluşturulur. Bu radikal 2 gün karanlıkta oda sıcaklığında kararlıdır. 660, 734 ve 820 nm dalga boylarında maksimum absorbans veren radikal, konjuge çifte bağlı antioksidanların aktivitesini ölçmede yararlıdır. Antioksidan ile tepkimeye sokulduğunda, $ABTS^{+\bullet}$ 'nin absorbansındaki düşme antioksidanın aktif olduğunu gösterir. Geliştirilen bu yöntemin en büyük avantajı hem hidrofilik hem de lipofilik sistemlerde kullanılabilmesidir (Re ve diğ. 1999).



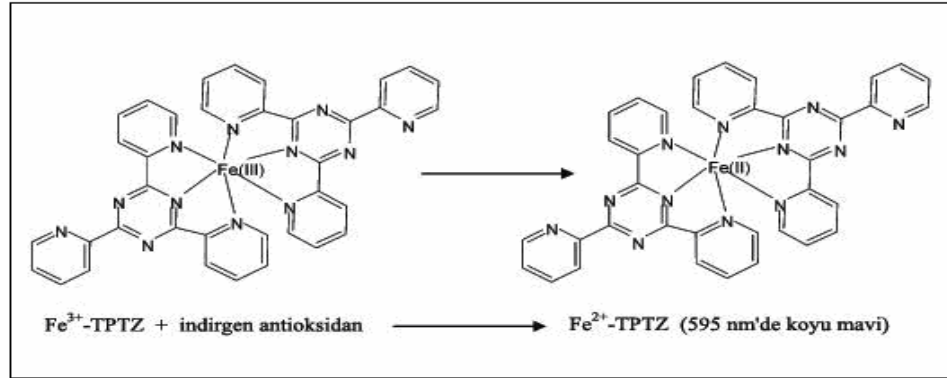
Şekil 1.10: $ABTS^{+\bullet}$ radikal kationunun yapısı

1.5.4 CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi)

Bu yöntemde 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neokuproin) ve $Cu(II)$ aynı ortama koyulur. Antioksidanın $Cu(II)$ 'yi indirgemesi sonucu oluşan $Cu(I)$ 'in Neokuproin ile yaptığı kompleks 450 nm dalga boyunda maksimum absorbans verir (Apak ve diğ. 2004). Bu yöntemde absorbansı yüksek çıkan maddeler antioksidan aktivite gösterirler. Bu yöntem hem hidrofilik hem de lipofilik sistemlere uygulanabilir, kolaydır ve pratiktir.

1.5.5 FRAP (Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü) Yöntemi

FRAP yöntemi, demir (III)'ün indirgenmesi yoluyla antioksidanların aktivitelerinin belirlenmesine dayanır. Oyaizu (1986) tarafından ortaya konan yöntemde göre indirgeme kuvveti özütün dolaylı olarak toplam indirgeme potansiyelini göstermekte olup $Fe^{+3} \rightarrow Fe^{+2}$ indirgenmesi ile meydana gelen renk değişimi 595 nm'de takip edilerek belirlenir. Güncel olarak kullanılan FRAP yönteminde 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ)'in Fe(III) tuzu kullanılmaktadır. Düşük pH'larda Fe (III), tripiridiltriazin (TPTZ) ile reaksiyona girerek [Fe(III)-TPTZ] kompleksini oluşturur. Fe (III)'ün antioksidan tarafından indirgenmesiyle [Fe(II)-TPTZ] kompleksi meydana gelir, 593 nm dalga boyunda maksimum absorptans veren bu kompleksin rengi koyu mavidir (Benzie ve Strain 1996). Basit ve ucuz bir yöntem olan FRAP metodu renkli bir bileşik oluşturmak üzere antioksidanların indirgeyebilme yeteneğini ölçmektedir.



Şekil 1.11: Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu

1.5.6 Ferrisiyanür İndirgeme Gücü Yöntemi

Fosfat tamponuyla hazırlanmış pH'ı 6.6 olan $K_3[Fe(CN)_6]$, antioksidan madde ile birlikte inkübasyona tutulduktan sonra asitlendirilir. Trikloroasetik asit ile düşük pH sağlandıktan sonra Fe (III) ile muamele edilir. Oluşan Prusya mavisi rengindeki $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ kompleksinin 700 nm dalga boyunda absorptansı okunur. Bu yöntemde absorptansı yüksek çıkan maddelerin antioksidan aktivitesi de yüksektir (Oyaizu 1986).

1.5.7 Toplam Fenolik Madde Tayini Yöntemi

Bu yöntem Singleton ve diğ. tarafından antioksidanların toplam fenolik içeriğini ölçmek için geliştirilmiştir. Yöntemde kullanılan CuSO_4 (bakır(II) sülfat) alkali ortamda protein veya antioksidanla kompleks yapar. Folin fenol reaktifi (fosfo-molibdikfosfotungstik reaktif) eklendiğinde, folin reaktifi proteine bağlanır. Protein veya antioksidanla Cu(II) 'nin reaksiyonundan açığa çıkan Cu(I) olasılıkla molibdatotungstat reaktifini heteropoli mavisine indirger ve rengi sarıdan maviye dönüşür. Reaksiyon tamamlanınca 750 nm'de örnek absorbansları ölçülür. Bu yöntem, suda ve diğer organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin Folin reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. (Slinkard ve Singleton 1977). Adı bunu yansıtmamasına rağmen, bu yöntem aslında numunenin indirgeme kapasitesini ölçer.

1.5.8 Toplam Flavonoid Madde Tayini Yöntemi

Bitkilerde bulunan flavonoidler bitki sekonder metaboliti olan ve antioksidan kapasiteye katkıda bulunan en önemli bileşiklerdendir (Matkowski 2006). Flavonoid tayini bitkisel ekstraktların toplam flavonoid madde içeriğini ortaya koymaktadır. Kullanılan bu yöntem, flavonoid alüminyum oluşumuna dayanmaktadır ve 415nm' de UV- visible spektrofotometrede maksimum absorbansa sahiptir. Flavonoid içerik g başına mg rutine eşdeğer (RE) olarak ifade edilir (Arkan 2011).

1.6 Bitkilerden Aktif Bileşenlerin İzolasyonu

Bitki bileşiklerinin ayrıştırılması ve saflaştırılması için tek başına ya da birlikte kullanılan genellikle dört farklı kromatografi tekniği bulunmaktadır. Kromatografi biri sabit diğeri hareketli olmak üzere iki farklı faz arasında karışımdaki maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak ayrılması tekniğidir. Seçilecek teknikler, çoğunlukla çözünme özellikleri ve ayrışan bileşenlerin uçuculuğuna bağlı olarak değişmektedir. Bu teknikler:

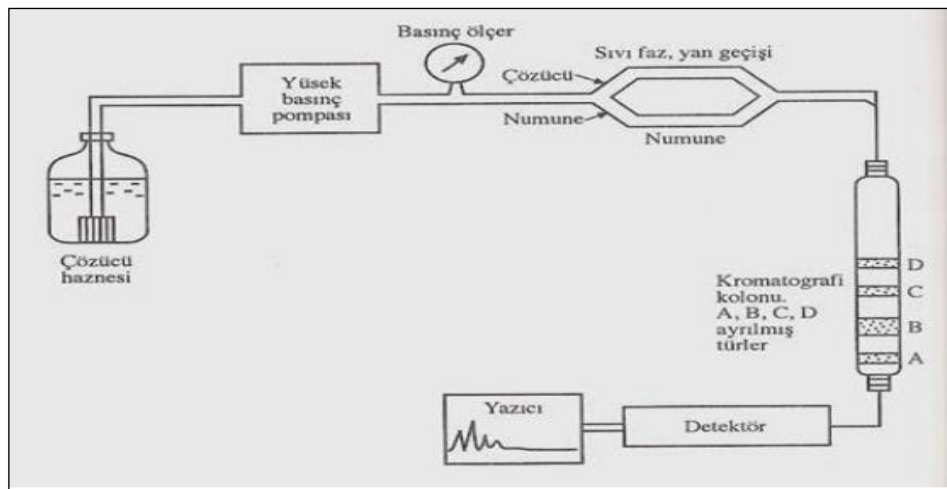
- **Kağıt kromatografisi (PC);** karbohidrat, amino asit, nükleik asit, organik asit ve fenolik bileşikler gibi suda çözünebilen bitki bileşenlerinin belirlenmesinde kullanılır.

- **İnce kolon kromatografisi (TLC);** yağda çözünebilir lipitler, steroidler, karotenoidler ve basit kinon ve klorofil gibi bitki bileşenlerinin ayrışmasında kullanılır.

- **Gaz-sıvı kromatografisi (GLC);** yağ asitleri, mono ve seskuterpenler, hidrokarbon ve sülfür bileşikleri gibi uçuculuğu yüksek bitki içeriklerinin ayrışması ve izolasyonunda kullanılmaktadır.

- **Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC);** uçuculuğu az olan bileşikler için kullanılmaktadır. Bu yöntemle amino asitlerin, proteinlerin, nükleik asitlerin, hidrokarbonların, yağ asitlerin, karbohidratların, fenollerin, pestisitlerin ve antibiyotiklerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Burada taşıyıcı sıvı, sisteme yaklaşık 400 atm basınçta verilir. Bazen kolon öncesinde bir ön kolon bulunabilir. HPLC' de analitik kolondan çıkan numuneler detektörde tutulur ve tayin edilerek kaydedilir. Ölçüm aralığının hassasiyetine ve tespit edilecek bileşiğin türüne göre uygun taşıyıcı solvent, kolon ve detektör tasarımı yapılmalıdır. Kullanılan çözücüler su, hekzan veya metanol olabilir (Konanç 2013).

Kromatografi yöntemlerinin yanında bitki bileşenlerinin ayrıştırılması ve saflaştırılmasında “**kapiler elektroforezis**” de kullanılan yöntemlerden bir tanesidir (Harborne, 1998).



Şekil 1.12: HPLC cihazının şematik görünümü (Konanç 2013)

1.7 Antimikrobiyal Ajanlar

Genel olarak bakteri ve mantar türlerini öldüren veya üremelerini önleyen bileşiklere antimikrobiyal maddeler adı verilir. Mikroorganizmaları öldürücü maddelere mikrobisit etkili maddeler ve mikroorganizmaların üremesini durdurucu etki gösterirler maddelere ise mikrobiyostatik etki adı verilir. Antibiyotiklerle benzer özelliklere sahip olan, tümüyle sentetik (kimyasal yolla sentez edilen) olan maddelere de kemoterapötik maddeler denir. Bakteriler prokaryot canlılar, memeli hücreleri ise ökaryotik canlılardır. Prokaryot hücrede var olan, ancak ökaryot hücrede bulunmayan bir molekülü hedefleyen antimikrobiyal maddeler (örneğin; penisilinler, sefalosporinler, sülfonamidler) yüksek derecede seçici toksisiteye sahiptirler (Ahıskalıoğlu 2007).

Mikroorganizmaların sebep oldukları çeşitli hastalıkların tedavisi için insanlar genellikle antimikrobiyal etkili ilaçlar kullanmaktadır. Ancak bu ilaçlara karşı mikroorganizmaların direnç kazanması bu ilaçların kullanımını kısıtlamaktadır. Geçen yüzyıl içerisinde mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı gösterdiği direnç mekanizmalarından dolayı antimikrobiyal etkili bitkisel ürünlerin önemi artmıştır (Martin-Bettolo 1980). Bitki özütleri ve uçucu yağlar antimikrobiyal bileşiklerin doğal kaynağını oluşturmaktadır (Tepe ve diğ. 2005). Uçucu yağlar ve antimikrobiyal etkili sekonder metabolitler, yiyeceklerde oluşan mikroorganizmaların gelişimini önleyebilmektedirler. Dolayısıyla yiyeceklerin raf ömrü uzamaktadır (Burt 2004). Fitokimyasallar içerisinde önemli antimikrobiyal aktivite gösteren gruplar; alkaloidler, flavonoidler, tanenler, kumarinler, terpenler ve fenilpropenlerdir.

Antimikrobiyal bir maddede olması gereken en önemli özellik seçici toksisitedir. Kemoterapide kullanılan antimikrobiyal madde düşük konsantrasyonlarda bile etkili olup çok az toksik olmalıdır. Böyle bir etkinin ortaya çıkabilmesi için antimikrobiyal maddenin hedef olarak memeli hücrelerinden çok mikroorganizmalar seçilmelidir. Bakteriler prokaryot, memeli hücreler ökaryottur. Antibakteriyel maddeler bakteriler üzerine beş farklı yoldan etki eder:

1. Hücre duvarı sentezinin inhibe edenler (Beta-laktam antibiyotikler, penisilinler, glikopeptid antibiyotikler)
2. Sitoplazma zarının fonksiyon ve yapısının bozulmasına neden olanlar (Polimiksinler)

3. Protein sentezinin inhibisyonuna neden olanlar (Amino glikozidler, tetrasiklinler, kloramfenikol, makrolid antibiyotikler)
 4. Nükleik asit sentez ve fonksiyonlarının bozulması (Kinonlar, rifamisin, nitrofurantoin)
 5. Kimyasal yapılardaki benzerlik yolu ile metabolizmanın bozulmasına neden olanlar (Sülfonamidler) (Burnaz 2007).
- Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılığı temelde iki farklı yöntem ile belirlenebilir.

1.7.1 Dilüsyon Yöntemi

Antibiyotiklerin sıvı veya katı (agarda dilüsyon) besiyerlerinde bir seri halinde seyreltilmesi ve her bir seyreltme ortamına, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilmesidir. Deney serileri uygun sıcaklıkta (35-37°C'de) ve bakterinin üremesi için uygun süre (16-20 saat) bekletildikten sonra sonuçlar ile bakterinin üremesini durduran en az antibiyotik miktarı belirlenir (Ahıskaloğlu 2007).

1.7.2 Difüzyon Yöntemi

Yöntemin esası belirli konsantrasyondaki antibiyotiklerin katı besiyerine difüze olması yani yayılmasıdır. Antibiyotikler genellikle kağıt disklerle belli konsantrasyonlarda emdirilir ve bunlar antibiyotik kaynağı olarak kullanılır. Bu yöntem disk-difüzyon yöntemi olarak adlandırılır. Dilüsyon yönteminden farkı antimikrobiyal maddelerin bir tek konsantrasyonunun etkinliği denenir. Disk-difüzyon yöntemine benzeyen, minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) belirlenmesini sağlayan E-testi (Dereceli antibiyotik şeridi yöntem) kantitatif yöntem olarak kullanılır (Ahıskaloğlu 2007).

1.8 Brine-shrimp (*Artemia salina* L.) Lethalite (BSL) Testi

Bitkilerde bulunan fitokimyasalların biyolojik aktiviteleri ile bitki bileşiklerini taramak için geliştirilmiş basit biyo-testler, bitki ekstraktları için bir

klavuz olarak kullanılabilir. Biyo-testlerin pratik kullanımında seçilecek olan canlı modelin yaşam döngüsünün herhangi bir aşamasının olası kontaminantlara karşı dayanıklı olması, kolay elde edilebilir olması ve kolay kültüre edilebilmesi gerekmektedir (Wells 1999).

Bilinen bütün kimyasalların yan etkileri, aslında toksik etkileridir. Kimyasallar belirli bir dozdan sonra öldürücü etki gösterebilirler. Kimyasal maddelerin insan ve hayvanlarda oluşturduğu toksik etkiler akut ve kronik olarak gelişir. Bazı araştırmacılar akut toksisiteyi, tek ya da birkaç dozun 48 saat içinde deney hayvanlarında veya kaza sonucu insanlarda oluşturduğu etki olarak tanımlamaktadırlar. Akut toksisite saptanmasında başvurulan deneylerin amacı biyolojik sistemlerde kimyasal maddelerin toksik etkilerini belirlemek ve doz-yanıt ilişkisinde karakteristik veriler elde etmektir. Toksikolojide akut toksisite deneyleri; ilaç, kozmetik, bitkisel ekstraktlar, hijyenik maddeler ve çeşitli amaçlarla kullanılan diğer kimyasal maddelerin toksik etkilerini belirlemek için yapılmaktadır. Bir maddenin ne kadar toksik olduğunu yani toksisite derecesini ifade etmek için, akut toksisite letalite birimi olan LD₅₀ (Letal Doz) ifadesi kullanılır (Sharififar ve diğ. 2009). Bu veriler, yeni ilaçların kliniğe uygulanmasındaki olabilirlik derecesini ortaya koymaktadır.

Bitkisel ilaçların olası advers (yan) etkilerinin hızlı sonuç veren bir belirteci olarak Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethalite (BSLA) testi, uygun bir test yöntemidir. Brine shrimp (*Artemia salina*), kültürünün kolay yapılabilmesi, kısa jenerasyon zamanı, kozmopolit yayılım ve ticari olarak dormant yumurtalarının elde edilebilmesi nedeniyle kısa süreli toksisite testi için bir test organizması olarak popülaritesini arttırmıştır (Persoone ve diğ. 1989). *Artemia salina* Crustacea alt şubesi, Branchiopoda sınıfı, Anostraca takımına bağlı primitif kabuklular arasında yer alan, doğada tropik ve ılıman bölgelerde 500'ün üzerinde doğal ve yapay tuz gölünde yaşayan bir kabuklu türüdür (Şekil 1.13). *Artemia salina* larvaları, günümüzde biyolojik aktiviteleri araştırılan örneklerin sitotoksik etkilerinin tayininde, oldukça geniş bir şekilde kullanılmaktadır ve toksik maddelerin in-vivo olarak *Artemia salina* larvalarına olan öldürücü etkisi, hızlı ve basit bir yöntem olarak "Brine-Shrimp Lethality Assay"ın kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Choudhary ve Thomsen 2001).



Şekil 1.13: *Artemia salina*

1.9 İnektisit Aktivite

Vektör kökenli hastalıklar her yıl dünyada milyonlarca insanı etkilemekte ve vektör organizmalar ve zararlı organizmalar ile mücadelede en büyük payı sentetik insektisitler almaktadır. Ancak sentetik insektisitlerin çevre ve hedef dışı organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle, çevreye uyumlu alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi zorunluluk halini almıştır. Değişik biyolojik aktiviteye sahip olan bitkilerden, geçmişte doğal insektisit olarak da yararlanılmıştır (Sener ve diğ. 1998). Örneğin Romanyalılar *Veratrum album* ve *Veratrum nigrum* bitkilerini fareler üzerinde tıbbi olarak kullanmalarının yanında insektisit olarak da kullanmıştır. Romanyalılar ilk zamanlarından 20. yüzyıla kadar tütün, piretrum ve helleboru insektisit olarak kullanmıştır (Jacobson 1983). Bitkiler kendilerini predatörleri ve parazitleri olan zararlı organizmalara karşı savunmak için bazı maddeler sentezlerler. Çoğu ikincil metabolizma ürünü olan bu maddeler, bitkilerde zararlının türüne özelleşmiş olabildiği gibi, birçok farklı organizmayı da etkileyebilmektedir. Bu nedenle ikincil metabolitleri kullanarak özel bir zararlıyla mücadelede, o türe özgü bir savunma geliştirme olasılığı mevcuttur. Bu bileşiklerden bazıları alkaloidler, glikozitler, fenoller, terpenoidler, taninler ve saponinlerdir. Bitkisel kökenli maddelerin zararlılarla mücadelede çevrede yarattıkları olumsuzluk, sentetik olarak üretilen insektisitlere göre oldukça az, ancak etkinlikleri sentetik insektisitler kadar fazladır. Doğal insektisitler üzerine yapılan bilimsel çalışmalara olan ilgi ülkemizde de her geçen gün artmaktadır. Bu bağlamda ülkemizde yayılış gösteren birçok bitki türünden elde edilen ekstre ve sekonder metabolitlerin değişik böcek türlerine karşı insektisidal etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Çetin ve diğ.

2006). Bitkisel ekstrakt ve uçucu yağlar gelecekte böcek öldürücü olarak kullanılan kimyasalların yoğun olarak kullanımını azaltacak ve alternatif bir mücadele yöntemi olacaktır. Böylece bitkisel böcek öldürücüler doğada çabuk bozunmaya uğrayacak, klasik böcek öldürücülerin neden olduğu doğadaki kalıntı miktarının azalmasına, seçici doğal böcek öldürücülerinin artmasına ve daha iyi bir çevrenin gelişmesine neden olacaktır (Regnault 1997). Tablo 1.3’ de doğal insektisit maddeler ve bunların bitkisel kaynakları gösterilmiştir (Singh and Saratchandra 2005).

Tablo 1.3: Farklı türlerden elde edilen bitkisel insektisitler ve bitki kaynakları

Madde ismi	Kimyasal Grup	Bitki Kaynağı
Azadirachtin	Alkaloit	<i>Azadirachta indica</i>
Nicotine	Alkaloit	<i>Nicotiana tabacum, N. Rustica</i>
Anabasine	Alkaloit	<i>Anabasis aphylla</i>
Piperine	Alkaloit	<i>Piper nigrum</i>
Veratine	Alkaloit	<i>Schoenocaulon officinale, Veratrum album, Veratrum viride</i>
Ryanodine	Alkaloit	<i>Ryania speciosa</i>
Wilfordine	Alkaloit	<i>Tripteryglum wilfordii</i>
Quassin, Neoquassin	Diterpen	<i>Quassia amara, Lactones excelsa</i>
Picrasmin	Diterpen	<i>Quassia amara, Lactones excelsa</i>
Sesamin	Lignan	<i>Sesamum indicum</i>
Rotenone (ellipton)	Rotenoid	<i>Deguella elliptica</i>
Pyrethrin I	Piretrin	<i>Chrysanthemum cinerari</i>
Pyrethrin II	Piretrin	<i>C. roseum, C. carreum</i>

Sivrisinekler, bulaşıcı hastalıklara aracılık eden canlılar arasında biyolojik potansiyelleri en yüksek olanlardır. Dünyanın her yerinde yaygın olarak bulunan sivrisinekler sıtma infeksiyonuna vektörlük yapmaktadırlar. İnsanla birlikte sıcakkanlı ve soğukkanlı birçok hayvan grubundan kan emmelerinin yanı sıra, dünya üzerinde kutuplar hariç her anakarada hemen hemen tüm zoocoğrafik bölgelerde bulunmaları, hızlı üremeleri, çok sayıda verimli yumurta oluşturabilme yetenekleri, aktif uçucu olmaları ve larval evrelerinin çok geniş bir habitat hoşgörüsü olması gibi nedenlerden dolayı, böcekler içerisinde 38 cins altında 3357 tür ve alttür ile temsil edilirler. Bugüne kadar Türkiye’de 50 sivrisinek türünün tanımlanarak varlığı bildirilmiştir. Bu türler, *Anopheles* (10 tür), *Aedes* (3 tür), *Ochlerotatus* (15 tür), *Culex* (13 tür), *Culiseta* (6 tür), *Coquillettidia* (1 tür), *Orthopodomyia* (1 tür) cinslerinde yer almaktadır (Ramsdale ve diğ. 2001).

1.10 Antihelminth Aktivite

Helminthler (solucanlar) hücreleri, dokular ve organlar yapmak üzere özelleşmiş bilateral simetrik kasları çizgisiz eklemli eklemli bulunmayan hayvanlardır. Annelida, Nematoda, Nematomorfa, Acanthocephala, Plathelminthes gibi şubelere ayrılırlar. Helminthler farklı sinir sistemi ve organları ile kompleks çok hücreli organizmalardır. İnsanlar için patojen olan parazitik helminthler yuvarlak (nematodlar) ve yassı kurtlar olarak sınıflandırılır. Yassı kurtlar ayrıca yaprağımsılar (trematodlar) ve şeritler (cestodlar) olmak üzere iki tipe ayrılır (Korkmaz 2006). Solucanlar insan ve hayvanların vücudunda parazit olarak yaşarlar ve bunlarla ilgili hastalıklara neden olurlar. Sindirim sisteminde bulunan parazitlerin kontrol edilmesi için genellikle antihelminthik ilaçlar kullanılmaktadır (Jackson 1993). Antihelminthikler solunum yolları, karaciğer, göz, kalp, sindirim kanalı gibi yerlerde bulunan iç parazitlere etki eden ilaçlardır. Bu nedenle dış parazitlere etki eden ilaçlardan farklıdır. Parazit nematodlarla savaş yöntemleri içinde kimyasal savaşın uygulamada önemli bir yeri olmasına rağmen, kullanılan sentetik nematisitlerin yüksek toksisiteleri sebebiyle çevre, doğal yaşam ve insan sağlığına olumsuz etkileri olduğu belirlenmiştir (Stirling 1991). Entomolojik araştırmalar kapsamında yüksek öldürücü ya da beslenmeyi engelleyici etkide bulunan bazı bitkisel kökenli maddelerin, nematisit etkilerinin de bulunduğu belirlenerek alternatif yöntemler olarak ön plana çıkmıştır.

Doğada yetişen birçok bitki, içerdiği zengin biyoaktif fitokimyasallar sebebiyle, sentetik nematisitlere alternatif potansiyel olarak düşünülmektedir (Tan 2011). Bitkiler alemi pestisit olarak kullanılacak biyokimyasal yapıdaki birçok maddeyi kapsayan zengin bir depo gibidir. Bitkilerdeki biyokimyasal olaylardan sonra sentezlenen sekonder metabolitler, bitki-zararlı ilişkilerinde önemli rol oynarlar. Shanker ve Solanki (2000) sekonder metabolitlerden en önemlilerinin alkaloidler, glikozidler, fenoller, terpenoidler, taninler, saponinler olduğunu belirtmiştir. Nematisit etki gösteren temel yağların major kimyasal bileşikleri thymol, carvacrol, pulegone, limonene, anethole, geranial ve artemisia ketone olarak bilinmektedir (Oka ve diğ. 2000).

1.11 Çalışmanın Amacı ve Önemi

Günümüzde kullanılan ilaçların çoğunun kaynağına bakıldığında bitki kaynaklı olduğu görülmektedir. Bunun sebebi bitkilerin yapısında bulunan farmakolojik özelliklere sahip olan bileşikler ve biyoaktif maddelerdir. Bitkilerin yapısında glikozit, organik asit, tanen, alkaloid, saponin, kumarin, flavon türevli bileşikler tıbbi kullanımı olan bileşiklerdir. Bu bileşikler birçok hastalığın sebebi olan vücuttaki zararlı serbest radikalleri etkisiz hale getiren antioksidan özelliğe sahiptirler. Yapılan çalışmalarda bitkilerin yapısında bulunan ilaç hammaddesi olan birçok biyoaktif madde izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bu çalışmada; Ege Bölgesi'nde yayılış gösteren *Allium reuterianum* B., *Cyclamen coum* M., *Hyacinthella lineata* (S.) C., *Ornithogalum umbellatum* L. ve *Sternbergia clusiana* K-G. bitkilerinin etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının içermiş olduğu fitokimyasal maddeleri belirlemek, antioksidan aktivitelerini, metanol ekstraktlarının antibakteriyal, sitotoksik, insektisit ve antihelmint aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu yol ile bu ekstraktların tıbbi önemini ortaya koymak, bu biyolojik aktiviteleri ile özelliklerinin ilk kez bu çalışmayla araştırılıyor olması çalışmanın özgün değerini arttırmaktadır.

2. MATERİYAL VE METOT

2.1 Materyal

2.1.1 Çalışmada Kullanılan Geofit Türleri

Tez çalışması kapsamında materyal olarak Ege Bölgesi'nde yayılış gösteren Denizli ve Muğla İllerinden toplanan *Allium reuterianum* B., *Cyclamen coum* M., *Hyacinthella lineata* (S.) C., *Ornithogalum umbellatum* L. ve *Sternbergia clusiana* K.-G. olmak üzere 5 geofit türü kullanılmıştır. Bu türlerden 2 tanesi endemiktir. Bitki örnekleri, Mart-Eylül aylarında toplanıp botanik tanımlama ve adlandırılması Türkiye Florası'na (Davis 1984) ve Checklist göre yapılmıştır. Çalışmada yararlanılan bitkilerin adları ve toplandıkları lokaliteler aşağıda Tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo 2.1: Bitki materyallerinin toplanma lokaliteleri

Bitki türleri ve familya	Çiçeklenme zamanı	Toplandığı lokalite	Rakım
<i>H. lineata</i> C. (Asparagaceae)	Şubat-Nisan	Denizli: Pamukkale Üniversitesi kampüs alanının güneybatı yakası, kireçtaşlı kayalık alanlar Endemik	500-600 m
<i>O.umbellatum</i> L. (Asparagaceae)	Şubat-Mayıs	Denizli: Pamukkale Üniversitesi kampüs alanı, Eçerkaya Tepesi, kireçtaşlı kayalık, Honaz Dağı	500-1000 m
<i>A. reuterianum</i> B. (Amaryllidaceae)	Temmuz-Ağustos	Denizli: Boz Dağ Muğla: Köyceğiz, Sandras Dağı Endemik	1000-1800 m
<i>C. coum</i> M. (Primulaceae)	Şubat-Nisan	Muğla: Dalyan, Marmarlı	30-50 m
<i>S. clusiana</i> K.-G. (Amaryllidaceae)	Eylül-Ekim	Muğla: Göktepe, Kavaklıdere	500-1000 m

2.1.2 Bitkilerin Kurutulması

Çiçeklenme dönemlerine göre buldukları bölgelerden toplanan bitkiler laboratuara getirildikten sonra temizlenmiş ve yıkanmıştır. Temizlenip, yıkanan bitkilerin toprak altı ve toprak üstü kısımları ayrıldıktan sonra, doğrudan güneş ışığı almayan havadar laboratuvar ortamında kurutulmuştur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Bitkilerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının kurutma işlemi

2.2 Yöntemler

2.2.1 Bitkilerin Ekstraksiyonu

Toplanan bitkiler gölgede, laboratuvar ortamında kurutulduktan sonra toprak altı ve üstü kısımlar blender ile parçalandıktan sonra çalkalamalı su banyosunda (Mommert, SV 1422) 55°C' de 6 saat süresince etanol, metanol ve aseton çözücülerini kullanarak ekstrakte edilmiştir. Bunun için toplam 200 g kuru bitki örneği kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi iki kere tekrarlanmıştır. Ekstraksiyonun ardından

sıvı kısım süzgeç kağıdı ile süzülerek alınmıştır. Elde edilen ekstraktların çözücü kısımları rotary evaporatörde (IKA RV 10D) 45-50° C’ de uzaklaştırıldıktan sonra yapılarındaki su ise liyofilizatörde (Labconco FreeZone) dondurularak çekilmiştir (Mammadov 2009). Elde edilen ham ekstraktlar çalışmalarda kullanılmak üzere koyu renkli cam şişelere alınarak -20°C’de muhafaza edilmiştir ve ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır.



Şekil 2.2: Ekstraksiyon aşamaları

2.2.2 Antioksidan Aktivite Analiz Yöntemleri

2.2.2.1 Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Total antioksidan aktivite, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin ve uçucu organik bileşiklerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenmiştir (Amin ve diğ. 2004). Bu metod linoleik asidin ısı ve hava oksidasyonu ile serbest radikal zincir reaksiyonu sonucu oluşan alkil peroksitler tarafından β -karotenin renk açılımının izlenmesi temeline dayanır (Wang ve diğ. 2006). Reaksiyon mekanizması;

β -karoten stok çözeltisi, 2 mg β -karotenin 10 mL kloroformda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu çözeltinin 1 mL, 40 mg linoleik asit ve 400 mg Tween 20 ilave edilmiştir. Kloroform rotary evaporatörde buharlaştırıldıktan sonra 100 mL dH₂O ile karıştırılmıştır. Bu emülsiyonunun 4.8 mL 0.2 mg örnek içeren 0.2 mL ekstrakt çözeltileri bulunan test tüplerine ilave edilmiştir. Emülsiyon test tüplerine ilave edilir

edilmez spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japon) kullanılarak başlangıç absorbansları 470 nm' de ölçülmüştür. Tüpler 50°C'de inkübasyona bırakılmış ve β-Karotenin rengi kayboluncaya kadar inkübasyona devam edilmiştir (120 dakika). Bu test sisteminde BHA pozitif kontrol olarak kullanılmıştır Toplam antioksidan aktivite aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$AA: [1 - (A_0 - A_t / A_0^0 - A_t^0)] \times 100$$

Burada A_0 örneğin ilk absorbansı, A_t kontrolün ilk absorbansı, A_0^0 örneğin 120 dk sonraki absorbansı, A_t^0 kontrolün 120 dk sonraki absorbansıdır (Amin ve diğ. 2004).

2.2.2.2 DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesinin Belirlenmesi

Ekstraktların serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir. Bu test yöntemi, kararlı serbest radikal DPPH'in elektron veya hidrojen atomları veren antioksidan kimyasalların varlığında, bu kimyasallar tarafından süpürülmesi (temizlenmesi) ile karakteristik, mor rengin açılmasının spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanır (Wu ve diğ. 2006). DPPH'in %0.004'lük (w/v) metanolik çözeltisinin 4 mLsi, ekstraktların 1 mL (0.2-1.0 mg)'si ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında karanlık ortamda 30 dakika süresince inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda örneklerin absorbansı spektrofotometrede 517 nm'de ölçülmüştür. Absorbans değerleri kullanılarak serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlikten faydalanılarak hesaplanmıştır:

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

Burada; A_0 kontrolün absorbansı ve A_1 örneğin absorbansıdır.

Elde edilen % inhibisyon değerleri, mg/mL olarak belirlenen özüt derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir. Bu değerlerden ve DPPH'in kalibrasyon eğrisinden faydalanarak her bir bitki için DPPH serbest radikalinin yarısının süpürüldüğü andaki bitki ekstresi konsantrasyonu (IC_{50}) değerleri hesaplanmıştır. IC_{50} değeri ile antioksidan aktivite arasında ters orantı vardır. IC_{50} değeri ne kadar düşükse antioksidan aktivite o kadar yüksektir (Burnaz 2007).

IC_{50} değerlerinin bulunması için farklı konsantrasyonlarda çalışmak gereklidir. Bu nedenle çalışmalarımızda beş veya sekiz konsantrasyonda ölçüm yapılmıştır. Numunelerin yeterli miktarda farklı konsantrasyonları hazırlanıp;

absorbans ölçümleri yapılır ve absorbanslar konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilir. Maksimum absorbansın yarısına karşılık gelen konsantrasyon miktarı IC_{50} değerini verir. Pozitif kontrol olarak BHA (sentetik antioksidan) kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrar halinde yapılmıştır.

2.2.2.3 Demir (III) İndirgeme /Antioksidan Kuvvet (FRAP) Kapasitesi Tayini

Bitki ekstraktlarının indirgeme gücü Oyaizu metoduna göre değerlendirilmiştir (Oyaizu 1986). Ortamdaki indirgen madde Fe_3^+ iyonlarını Fe_2^+ iyonlarına indirger ve $FeCl_3$ ilavesiyle oluşan Prusya mavisi rengindeki kompleksin absorbansı ölçülür. Yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme kapasitesinin göstergesidir. Standart ve numunelerin çözücü içindeki farklı derişimlerine (0.4, 0.8 ve 1 mg/mL) fosfat tamponu (2.5 mL, 0.2 M, pH 6.6) ve potasyum ferrik siyanür [$K_3Fe(CN)_6$] (2.5 mL, %1) ilave edildi. Bu karışım 50 °C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, bu karışıma TCA (2.5 mL, % 10) ilave edildikten sonra 10 dakika 3000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Karışımdan 2.5 mL alınarak distile su (2.5 mL) ve $FeCl_3$ (0.5 mL, % 0.1) ilave edilmiştir. Elde edilen son karışımın absorbansları 700 nm'de kaydedilmiştir. Yüksek absorbans yüksek indirgeme olarak değerlendirildi. Ekstraktların konsantrasyonlarına karşı absorbans grafiği çizilmiştir. Ölçümler üç tekrar olarak yapılmış sonuçlar absorbans olarak verilmiştir.

2.2.2.4 ABTS Katyon Radikali Giderme Aktivitesi

ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak belirlenmiştir (Re ve diğ. 1999). $ABTS^{\bullet+}$ radikali, 7mM ABTS çözeltisi ve 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi arasındaki reaksiyonla oluşturulmuştur. 12 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Kullanmadan önce fosfat tamponuyla (0.1M, pH=7.4), absorbans 734 nm'de 0.7 ± 0.025 olacak şekilde seyreltilmiştir. 1 mL ABTS çözeltisi, 3mL standart çözeltilerine ve ekstraktlara (10, 20 ve 40 mg/mL) eklenmiştir. 30 dk sonra 734 nm'de absorbans okunmuştur. Aşağıdaki denkleme göre, % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır:

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

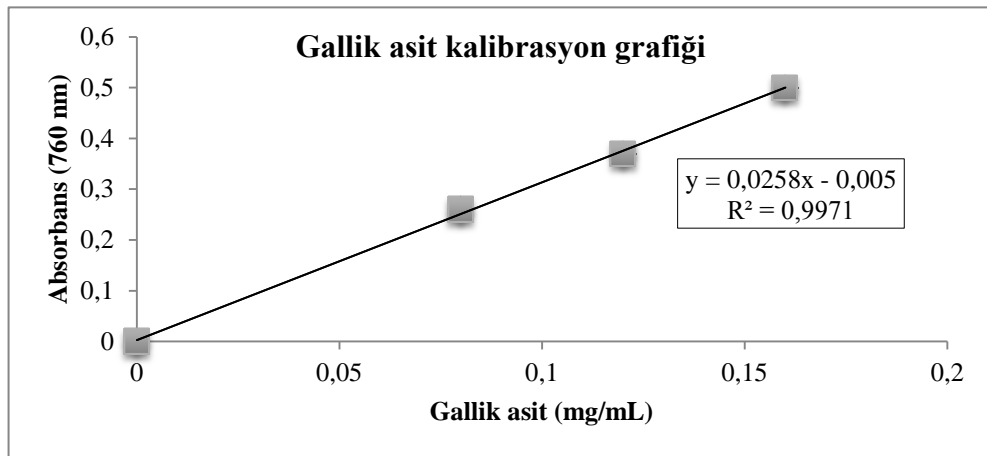
A0 = Kontrol absorbans değeri A1 = Örnek veya standardın absorbans değeri

2.2.3 Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi

2.2.3.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı

Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR) kullanılarak gallik asite eşdeğer olarak (mg/mL GAE) belirlenmiştir (Slinkard ve Singleton 1977). Metot, suda ve diğer organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin folin reaktifile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan mor menekşe renkli kompleks 700 nm’de maksimum absorbans oluşturur. Bu metota göre, 1 mg ekstrakt 1 mL metanolde çözülmüştür. 46 mL dH₂O ve 1 mL FCR ekstrakt ile karıştırıldıktan 3 dk. sonra %2’lik Na₂CO₃’dan 3 mL eklenmiştir. 2 saat süresince oda sıcaklığında inkübasyona bırakılıp periyodik aralıklarla çalkalanmıştır. Süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV Spektrofotometresi’nde 760 nm’de okunarak toplam fenolik madde miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{Absorbans} = 0.0258 \text{ gallik asit (mg/mL) } - 0.005 \text{ (R}^2 : 0,9967)$$

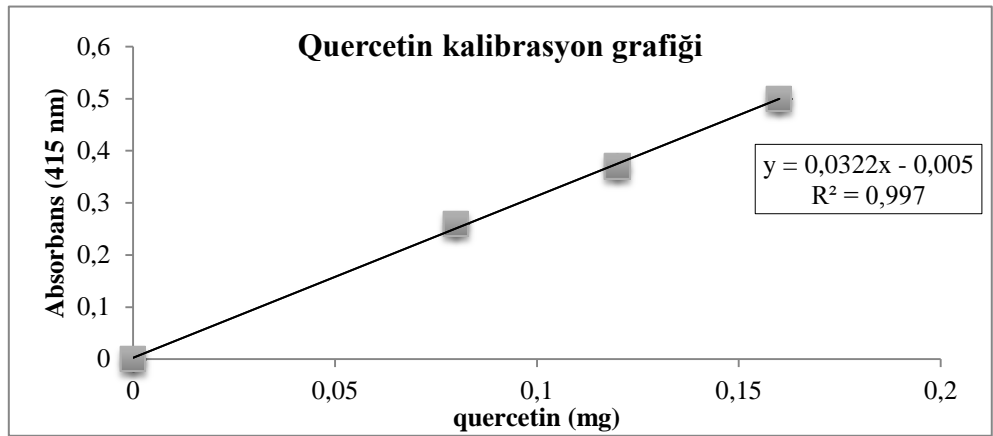


Şekil 2.3: Gallik asit kalibrasyon grafiği

2.2.3.2 Toplam Flavonoid Madde Miktarı

Ekstraktların toplam flavonoid bileşik miktarları Arvouet-Grand ve diğ. (1994) tarafından belirlenen yöntem kullanılarak quercetin'e eşdeğer olarak olarak belirlenmiştir. İçerisinde 1.0 mL özüt çözeltisi (2.0 mg/mL) bulunan test tüplerine % 2.0'lik 1 mL metanolde hazırlanmış $AlCl_3$ çözeltisi ilave edilip oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Kör örnek 1.0 mL özüt çözeltisi (2.0 mg/mL) ve 1.0 mL metanol içermektedir. Absorbans ölçümleri 415 nm'de gerçekleştirilmiştir. Sonuçta ekstraktların toplam flavonoid madde içerikleri kuersetine eşdeğer (mgQE/g) olarak verilmiştir. Özütlerin toplam flavonoid bileşik miktarları standart quercetin grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{Absorbans} = 0.0322 \text{ quercetin (mgQE/g)} - 0.005 \text{ (R2: 0.997)}$$



Şekil 2.4: Quercetin kalibrasyon grafiği

2.2.4 Bitki Ekstraktlarındaki Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Analizi

Kromatografi biri sabit diğeri hareketli olmak üzere iki farklı faz arasında karışımdaki maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak ayrılması tekniğidir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), en yaygın olarak kullanılan analitik tekniklerden bir tanesidir (Tomruk 2005). Bitki ekstraktlarındaki fenolik madde analizleri HPLC kullanılarak Gomes ve diğ., (1999)'ne göre tespit edilmiştir. Fenolik bileşiklerin HPLC analizi için öncelikle 9 farklı fenolik bileşikler standardının ayrı ayrı kalibrasyon grafiği çizilerek analiz metodu geliştirilmiştir. Örneklere ait kromatogramlar üzerindeki piklerin hangi fenolik bileşiğe ait olduğu

esas olarak standart fenolik maddelerin geliş zamanları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

Kullanılan standart fenolik maddeler: Gallik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit, 4-hidroksi benzoik asit, klorojenik Asit, Vanilik Asit, Kafeik Asit, P-kumarik Asit, Ferulik Asit ve sinamik Asit. Standartlara ait kromatogram bilgileri Tablo 3.16'da verilmiştir. HPLC'de fenolik bileşik analizleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Laboratuvarı'nda hizmet alımı ile yaptırılmıştır. HPLC ile ilgili koşullar aşağıda sunulmuştur:

CBM: 20ACBM

Dedektör: DAD (SPD-M20A) (280 nm dalga boyunda çalışılmıştır)

Kolon Fırını: CTO-10ASVp

Pompa: LC20-AT

Autosampler: SIL- 20ACHT

Bilgisayar Programı: LC Solution

Mobil Faz (Hareketli faz): A: %3 Formik asit B: Metanol Numune hazırlama işleminde ekstraktlardan 0.2 g tartılmış, metanolde çözülmüş, 0,45 µm filtreden geçirilip HPLC sistemine enjekte edilmiştir.

2.2.5 Brine Shrimp (*Artemia Salina*) Lethalite Yöntemi ile Sitotoksisite Belirlenmesi

Brine shrimp sitotoksisite testi, LD₅₀ (test edilen populasyonun yarısını öldürmek için gereken doz) düzeyinin tespitinde de kullanılan toksisite testlerindedir. *Artemia salina* larvaları, günümüzde biyolojik aktiviteleri araştırılan örneklerin ve bitkisel içeriklerin sitotoksisitesinin belirlenmesinde etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Sharififar ve diğ. 2009). Deney, dört farklı konsantrasyonda (100, 250, 750 ve 1000 mg/mL) yapılmıştır. *A. salina* yumurtaları, içerisinde 2 litre yapay deniz suyu bulunan 5 litre hacmindeki plastik, şeffaf, ağzı açık bir tank içerisine 2 g tartılarak serpilmiştir. Tank içerisindeki yapay deniz suyu, çift çıkışlı bir hava motoru ile çift hortum kullanılarak sürekli havalandırılmıştır. Ayrıca, tank içerisindeki su sıcaklığı 28°C sabit olacak şekilde termostat ile ısıtılmıştır. Tank, masa üstü bir ışık kaynağının yanında yaklaşık 48 saat süre ile aydınlıkta bırakılarak *A. salina* larvalarının (nauplii) yumurtalardan çıkması beklenmiştir. *A. salina*

larvaları, yumurtadan çıktıktan sonra ışığın yoğun olduğu bölgeye doğru su içerisinde göç etmektedir (Choudhary ve Thomsen 2001). *A. salina* larvaları, yumurtadan çıktıktan sonra pastör pipet yardımıyla 10 adet seçilmiş ve 4.5 mL deniz suyu içeren deney tüplerine alınmıştır. Her bir tüpe 0.5 mL bitki ekstraktı da eklendikten sonra nauplii'ler ışık altında ve oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Işık altında geçen 24 saat sonunda bir büyüteç yardımıyla canlı ve ölü (hareketsiz olmalarına göre ölü olarak tanımlanmıştır) larvaların adedi sayılmıştır. Bitki ekstraktı olmayan (kontrol grubu) düzenekteki yaşayan nauplii'ler ile deney grubu karşılaştırılmıştır. Bütün uygulamalar için % ölüm oranları hesaplanmıştır ve LC₅₀ değerlerinin tespit edilmesinde EPA Probit Analiz Programı (Version 1.5) kullanılmıştır.



Şekil 2.5: *Artemia salina* yetiştirme ortamı

2.2.6 Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

Bu çalışmada antibakteriyel aktiviteyi belirlemek için broth (sıvı) mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Broth mikrodilüsyon metodunun, çok sayıda test örneğinin Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK)'unun belirlenmesinde potansiyel olarak faydalı bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Mikrobiyolojide MİK, bir gecelik inkübasyondan sonra mikroorganizmaların gözle görülebilir üremesini inhibe edecek olan antimikrobiyal maddelerin en düşük konsantrasyonudur (Dask ve diğ. 2010).

Antibakteriyel aktivite tayininde test bakterileri olarak bir adet Gram pozitif; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve bir adet Gram negatif; *Escherichia coli*

(ATCC 25922) olmak üzere iki adet bakteri suşu kullanılmıştır. Bu test için U tabanlı 96 kuyucuklu mikrodilüsyon plakları kullanılmıştır. Bu amaçla yukarıda belirtilen bakteri kültürlerinin her birinin konsantrasyonu OD₆₀₀=1 olacak şekilde ayarlandı ve Broth Mikrodilüsyon yönteminde konsantrasyonları ayarlanan bakteri kültürleri kullanıldı. Çalışmada kullanılacak olan saf bakteri kültürleri Nutrient broth'a ekilerek 35°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonu biten kültürler önce 0.5 McFarland (108 cfu/ml)'a ayarlanmış ve ardından 1:10 oranında yeniden dilüe edilerek 107 cfu/ml olacak şekilde standardize edilmiştir. Standardize edilen 2 bakteri kültürü 96 kuyucuklu mikrolatellere 90 µl olarak aktarılmış ve üzerine Birinci kuyulara 100 µL ekstre çözeltisi eklenip 10. kuyuya kadar seri dilüsyonlar yapıp 10. kuyudan 100 µL dışarı atılmıştır. Bakteri süspansiyonundan 12. kuyu hariç tüm kuyulara 100 µL dağıtılmıştır. 11. (üreme kontrolü) ve 12. (besiyeri kontrolü) kuyular kontrol amacıyla kullanılmıştır. 35°C'de 12 saat statik inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda Elisa mikrolak okuyucuda 610 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. Test bakterilerinin duyarlılıklarını tespit etmek için deneylere paralel olarak Gentamicin ve Oxacillin antibiyotiklerinin MİK değerleri de tespit edilmiştir. Bu süre sonunda üreme görülmeyen en düşük antibiyotik ve bitki ekstrakt konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edilmiştir.

2.2.7 Bitki Ekstraktlarının Sivrisinek (*Culex pipiens*) Üzerindeki İnsektisit Etkilerinin Tespiti

2.2.7.1 Larvaların Toplanması

Bu çalışmanın materyali olan *Culex pipiens* (Linne) (Şekil 2.6) türlerine ait larvalar (3. ve 4. evre) doğal ortamlarından (Antalya Akdeniz Üniversitesi kampüsü) larva yakalama kepçeleriyle toplanmıştır.



Şekil 2.6: *Culex pipiens*' in 3. ve 4. evre larvaları

2.2.7.2 Denemelerde Kullanılan Ekstraktların Hazırlanması ve Uygulamalar

Bu çalışmada 100, 250, 500, 1000 mg/mL olmak üzere 4 farklı konsantrasyonda çalışılmıştır. Bunun için bitkilerin metanol ekstraktlarından toprak altı ve toprak üstü ayrı olmak üzere üç tekrarlı dH₂O ile konsantreler hazırlanmıştır. Doğal ortamlardan toplanan larvalar içlerinde ekstrak çözeltisi bulunan 30 ayrı kaba 10'ar adet olarak aktarılmışlardır. Her uygulama grubu için bir de kontrol grubu denemeye alınmıştır. Ölümler 24-, 48-, 72- saat olmak üzere kayıt altına alınmıştır. Her deney 3 defa tekrar edilmiştir. Bu ölümlere bakılarak, STATPLUS Pro 5.9.8 programında LC₅₀ (min), LC₅₀ (max), LC₅₀, LC₉₀ ve ki-kare (x²) değerleri hesaplanmıştır.

2.2.8 Bitki Ekstraktlarının Ev Sineği (*Musca domestica*) Üzerindeki İnsektisit Etkilerinin Tespiti

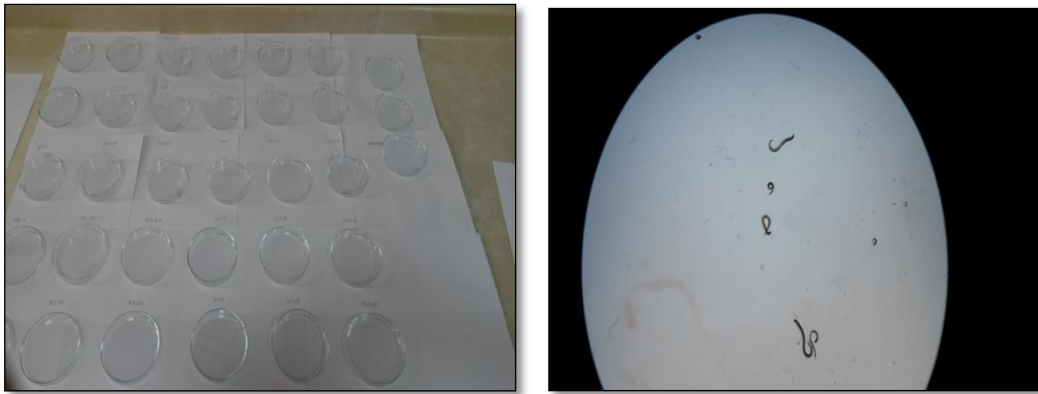
Bitkilere ait ekstraktların larvasidal aktiviteleri; Kristensen ve Jespersen (2003) yöntemi modifiye edilerek araştırılmıştır. Bu çalışmada ev sineği (*Musca domestica*) kullanılmıştır. *Musca domestica* kültürü için süt ve şeker kullanılıp karışım 1:3 ve 50 g olarak hazırlanmıştır. 10'ar adet ev sinekleri yumurtalarından alınarak ekstrakt ve nem içeren besiyeri kaplarına aktarılmıştır. 24-36 saat sonra yumurtalar açılmaya başlamıştır ve larvalar çıkmıştır. 3 haftalık süre içinde larvasit etki kayıt altına alınmıştır. Larvasit etki 12:12 fotoperiyodunda, 26°C' de laboratuvar

ortamında gerçekleştirilmiştir. Ekstrakt denemesi için 2 farklı konsantrasyon (1000 ve 5000 mg/mL) hazırlanmış olup tüm deneyler 3 kez gerçekleştirilmiştir.

2.2.9 Bitki Ekstraktlarının Antihelminthik Aktivitesinin Belirlenmesi

Antihelminthik aktivite deneyi için helmint (nematod vd.) örneklerinin toplanması için canlı hayvandaki (kurbağa) parazit helmintler seçilmiştir. Bunun için 'Bazı Kurbağa Türlerinin Embriyonik, Histolojik ve Fizyolojik Olarak Karşılaştırılması' konulu PAUHDEK-2012/033 nolu çalışma kapsamındaki kurbağalar (*Pelophylax bedriagae*) seçilmiş ve bunlar parazitoloji laboratuvarında disekte edilerek iç organlarındaki parazit nematod örnekleri (*Cosmocerca* sp.) ayrılmıştır. Metanol ekstraktlarının üç farklı konsantrasyonu 20 mL olacak şekilde (5, 10 ve 20 mg/mL) petri kaplarına hazırlanmıştır.

Disekte edilen örneklerden alınan 6' şar adet nematod canlı olarak petri kaplarına koyulmuştur. Kontrol olarak serum fizyolojik su kullanılmıştır. Her konsantrasyon için bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Daha sonra süre tutularak ölüm zamanı dakika olarak kaydedilmiştir.



Şekil 2.7: Ekstraktların uygulandığı deney düzeneği ve nematod örnekleri

2.3 İstatistiksel Hesaplamalar

Bitki ekstraktlarının verilerini doğru yorumlamak için istatistik hesaplamalar IBM SPSS Statistics 23 programında Tek Yönlü ANOVA/Duncan testi ile yapılmıştır.

3. BULGULAR

3.1 Ekstraksiyon Verimleri

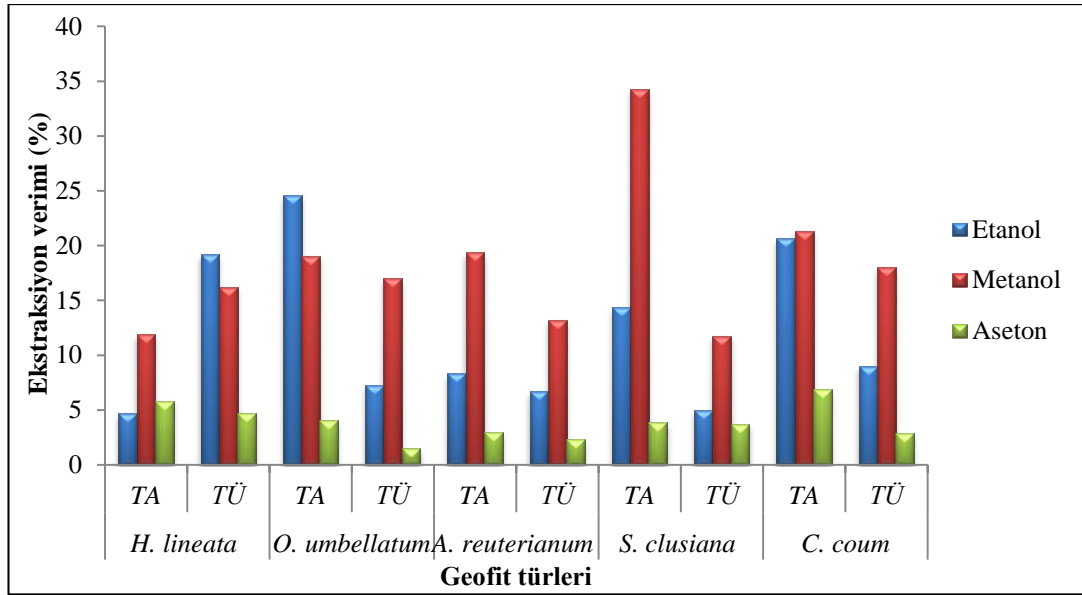
Bitkilerin etanol, metanol ve aseton çözücülerine ait özütleri hazırlandıktan sonra % ekstraksiyon verimlilikleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır ve Tablo 3.1’de verilmiştir.

$$\% \text{Ekstraksiyon verimi} = \frac{\text{Elde edilen ham ekstrakt (g)}}{\text{Kullanılan kuru bitki örneği (g)}} \times 100$$

Tablo 3. 1: Çalışmada kullanılan geofit türlerinin ekstraksiyon % verimlilikleri

Geofit Türleri	Kısımlar	Etanol	Metanol	Aseton
<i>Hyacinthella lineata</i>	Toprak altı (TA)	4.64	11.86	5.80
	Toprak üstü (TÜ)	19.2	16.15	4.73
<i>Ornithogalum umbellatum</i>	Toprak altı (TA)	24.57	19.03	4.03
	Toprak üstü (TÜ)	7.29	16.99	1.50
<i>Allium reuterianum</i>	Toprak altı (TA)	8.36	19.36	2.96
	Toprak üstü (TÜ)	6.73	13.14	2.30
<i>Sternbergia clusiana</i>	Toprak altı (TA)	14.34	34.24	3.83
	Toprak üstü (TÜ)	4.98	11.76	3.72
<i>Cyclamen coum</i>	Toprak altı (TA)	20.68	21.34	6.85
	Toprak üstü (TÜ)	8.95	18.01	2.86

Farklı çözücüler ile yapılan ekstraksiyon aşamasında en yüksek verim çözücüler arasında metanol çözücüsü ile elde edilmiştir. En düşük verim ise aseton çözücüsünde görülmüştür. Geofit türleri arasında ise en yüksek verim *S. clusiana* türünün toprak altı kısmında (TA) metanol çözücüsü (%34.24) ile elde edilirken en düşük verim ise *O.umbellatum* türünün toprak üstü (TÜ) kısmında aseton çözücüsü (%1.50) ile elde edilmiştir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.1). Bitkilerden farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarının birbirlerinden farklı ekstraksiyon verimleri ve antioksidan aktivite göstermesinin sebebi olarak çözücülerin polariteleri gösterilebilir.



Şekil 3.1: Bitki ekstraktlarının çözücülere göre ekstraksiyon verimi (%)

3.2 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Toplam fenolik madde tayini Folin-Ciocalteu metoduna göre yapılmıştır. Standart olarak kullanılan gallik asit ve bitki ekstraktlarının çözeltileri metanol, etanol ve aseton içerisinde hazırlanmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisi için, gallik asidin beş farklı konsantrasyonda metanol çözeltileri hazırlanmıştır. Bu standart grafikten elde edilen doğru denklemi kullanılarak örneklerin toplam fenolik madde miktarları gallik aside eşdeğer olarak (mg/mL GAE) hesaplanmıştır ve Tablo 3.2’ de sunulmuştur.

Tablo 3.2: Geofit türlerinin toplam fenolik madde miktarları (mg/mL GAE)

Geofit Türleri	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg/mL GAE)					
	Etanol		Metanol		Aseton	
	TA	TÛ	TA	TÛ	TA	TÛ
<i>A.reuterianum</i>	9.46±2.025	6.48±3.012	4.81±2.014	5.04±1.018	3.42±1.013	2.33±3.024
<i>C.coum</i>	4.69±3.002	8.99±3.010	3.57±4.016	8.84±4.021	1.90±3.003	1.56±2.032
<i>H.lineata</i>	8.07±3.023	6.98±3.026	4.05±2.024	6.56±3.027	2.29±1.042	3.76±1.027
<i>O.umbellatum</i>	4.31±4.013	6.83±2.018	4.11±2.014	4.85±2.012	2.80±3.031	3.22±3.015
<i>S.clusiana</i>	9.77±1.021	9.31±1.011	4.41±2.011	3.96±2.015	3.37±4.018	2.78±4.013

Tablo 3.2' de verilen sonuçlara göre metanol ekstraktı aseton ekstraktına yüksek miktarda fenolik madde içerdiği gözlenmiştir. Bunun sebebi metanolün yüksek polaritesi bitkiden yüksek derecede fenolik bileşimin ve flavonoid madde ekstrakte edilmesini sağlamıştır. Aseton ise metanolden daha düşük polariteye sahip olmasından dolayı daha düşük miktarda fenol ve flavonoid ekstraksiyonu ile sonuçlanmıştır. Toplam fenolik madde tayini yöntemi *S.clusiana* etanol ekstraktı için olumlu sonuç vermiştir (9.77 ± 5.021 mg/mL GAE).

Fenolik yapılu maddeler en önemli antioksidan bileşiklerdir. Fenollerin yapısı bakımından bakıldığında fonksiyonel grupların etkinliğinden dolayı elektron ve hidrojen verebilirler bu da radikalleri ve oksitleyici grupları elimine eder. Fenolik gruplar OH grubunca zengindir, bu gruplar ona polar olma özelliği katar ve antioksidan özelliğini artırır. Daha önce yapılan çalışmalarda fenolik bileşiklerin lipid peroksidasyonunu stabilize edilmesinde önemli etkileri olduğu saptanmıştır (Yen ve diğ. 1993).

3.3 Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi

Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı, bir flavonoid madde olan quercetin kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Bu eğri üzerinden yapılan hesaplamalar sonucunda quercetin'e eşdeğer (mgQE/g) olarak belirlenmiştir (Tablo 3.3).

Tablo 3.3: Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları (mgQE/g)

Geofit Türleri	Toplam Flavonoid Madde Miktarı (mgQE/g)					
	Etanol		Metanol		Aseton	
	TA	TÜ	TA	TÜ	TA	TÜ
<i>A.reuterianum</i>	42.16±1.025	10.55±1.032	48.22±2.071	25.47±2.059	6.51±3.042	5.21±2.052
<i>C.coum</i>	54.66±3.042	44.38±2.074	54.53±1.022	43.75±2.081	26.97±1.091	17.71±1.033
<i>H.lineata</i>	83.45±2.031	97.48±3.032	40.73±4.025	96.93±1.072	20.51±2.017	35.12±2.051
<i>O.umbellatum</i>	11.79±3.021	30.04±2.034	88.61±2.015	85.07±2.033	21.95±3.065	53.08±3.055
<i>S.clusiana</i>	89.92±2.052	79.90±1.051	87.73±1.013	80.76±3.056	25.78±1.043	21.81±2.024

Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları karşılaştırıldığında en fazla flavonoid madde miktarı *H.lineata* türünün toprak üstü etanol ekstraktında gözlenmiştir (97.48±5.032 mgQE/g). En az ise *A. reuterianum* türünün toprak üstü aseton ekstraktından elde edilmiştir (5.21±4.052 mgQE/g).

3.4 Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları

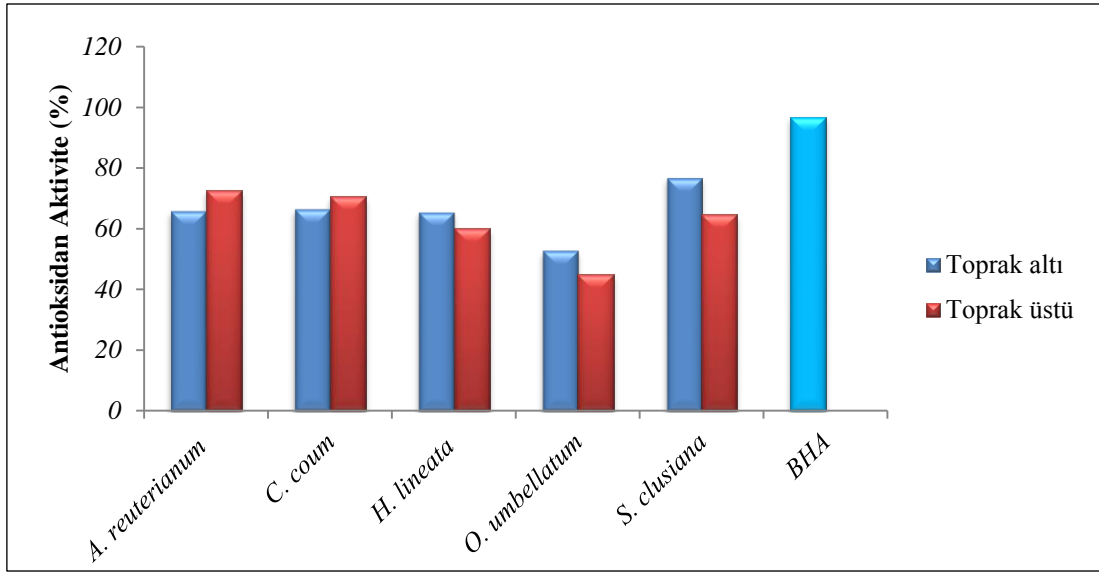
3.4.1 Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

β -Karoten-lineolik asit sistemi yöntemi, emülsiyondaki lineoik asit oksidasyonu sonucu oluşan serbest radikallerin β -karoten'le reaksiyonundan oluşan sarı rengin zaman içerisinde kaybolmasına dayanmaktadır. Antioksidan varlığı rengin açılmasını önlemektedir (Kulisic 2004). β -karoten lineolik asit sisteminde test süresi 120 dakika boyunca sarı rengin solmasını önlenmesi yüksek potansiyel antioksidan varlığını göstermektedir. Bu yöntemle bitki türlerinin etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ölçülüp, sentetik antioksidan olan BHA'nın antioksidan aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 3.4: Ekstraktların β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%)

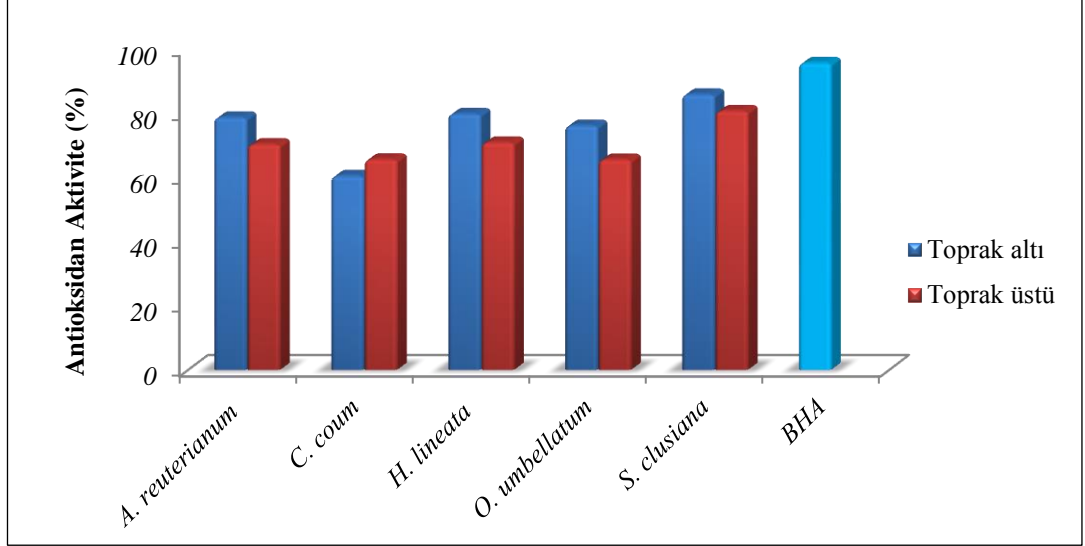
Geofit Türleri	Antioksidan Aktivite (%)					
	Etanol		Metanol		Aseton	
	TA	TÜ	TA	TÜ	TA	TÜ
<i>A.reuterianum</i>	65.77±1.06	72.64±0.08	72.74±0.05	70.42±0.08	45.77±1.05	42.64±0.07
<i>C.coum</i>	66.43±2.04	70.58±0.07	60.54±0.03	65.71±0.06	76.43±3.02	70.58±1.03
<i>H.lineata</i>	65.41±0.07	59.97±0.04	79.87±1.04	70.98±0.05	65.41±2.08	59.97±0.09
<i>O.umbellatum</i>	52.76±0.02	44.91±1.03	76.23±0.06	65.68±2.02	52.76±0.03	54.91±4.08
<i>S.clusiana</i>	76.68±0.05	64.63±0.07	85.91±0.09	80.78±0.07	66.68±0.09	59.62±0.06
BHA	96.76±0.010		98.73±0.02		95.62±0.01	

Yapılan β -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemi yönteminde bitki ekstraktlarının metanol özütleri asetona göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuç bize metanol daha yüksek antioksidan molekül içerdiği yönde fikir verir. Ekstraksiyon sırasında metanolün daha çok antioksidan molekülü ekstra ettiği, asetonun ise daha az antioksidan molekül ekstra ettiği görülmüştür (Tablo 3.4). β -karoten-linoleik asit sisteminde en yüksek antioksidan aktivite metanol ekstraktında gözlenmiş olup, bunu etanol ve aseton ekstraktları takip etmiştir.



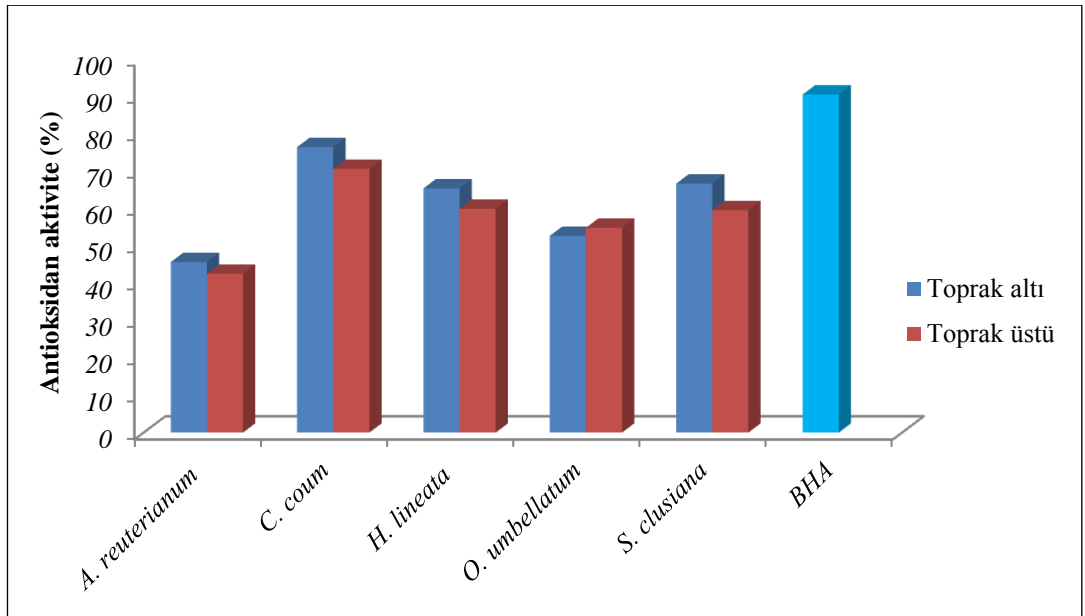
Şekil 3.2: Etanol ekstraktlarının β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%)

Etanol ekstraktların β -karoten/Linoleik asit testinde toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında en yüksek aktivite *S. clusiana* türünün toprak altı kısmında (%76.68) tespit edilmiştir. En düşük aktivite ise *O. umbellatum* türünün toprak üstü kısmında (%44.91) elde edilmiştir.



Şekil 3.3: Metanol ekstraktlarının β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%)

Metanol ekstraktların β -karoten/Linoleik asit testinde toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında en yüksek aktivite *S. clusiana* türünün toprak altı kısmında (%85.91) tespit edilmiştir. En düşük aktivite ise *C. coum* türünün toprak altı kısmında (%60.54) elde edilmiştir.

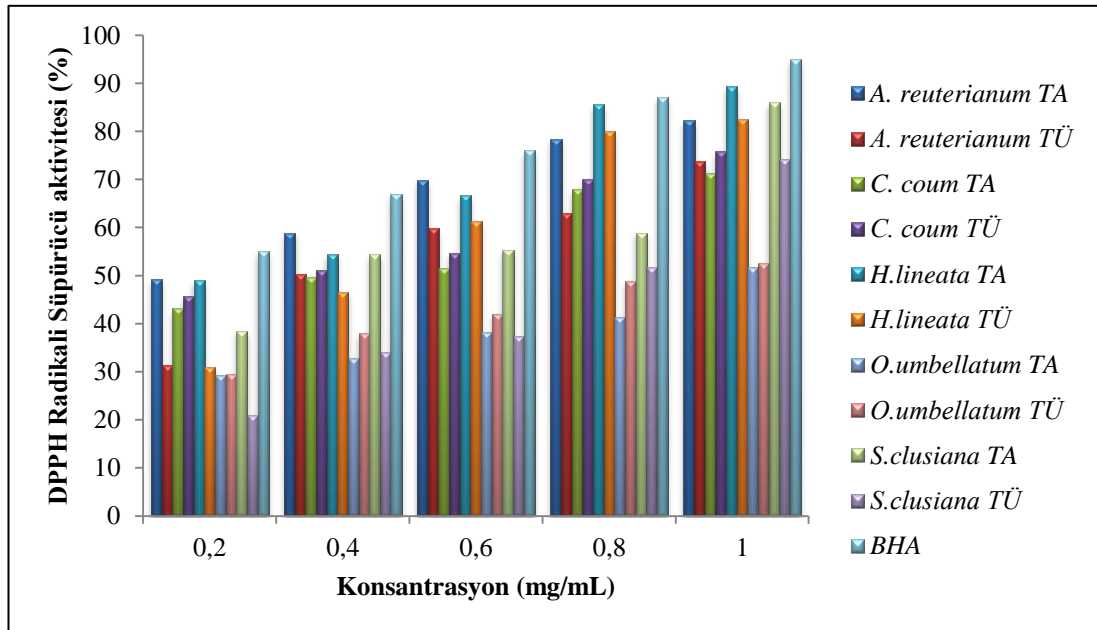


Şekil 3.4: Aseton ekstraktlarının β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%)

Aseton ekstraktların β -karoten/Linoleik asit testinde toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında en yüksek aktivite *C. coum* türünün toprak altı kısmında (%76.43) tespit edilmiştir. En düşük aktivite ise *A. reuterianum* türünün toprak üstü kısmında (%42.64) elde edilmiştir.

3.4.2 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi

Bu metotun temeli hidrojen veren gruplara sahip antioksidan maddelerin DPPH• radikalini indirgemesine dayanmaktadır. DPPH• radikali uzun ömürlü bir azot radikalidir. Antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini belirtmek için en sık kullanılan bileşiklerdendir (Özçelik ve diğ. 2003). Geofit bitkilerinden hazırlanan etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemine göre antioksidan aktiviteleri beş farklı konsantrasyonda (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1 mg/mL) belirlenmiştir. Bu çalışmada ekstraktlar arasında en yüksek DPPH serbest radikal giderim kapasitesine sahip *H.lineata* TÜ metanol ekstraktında 1 mg/mL konsantrasyonda (%91.15), en düşük serbest radikal giderim aktivitesi *H.lineata* TÜ aseton ekstraktında 0.2 mg/mL (%10.86) konsantrasyonda gözlenmiştir (Şekil 3 ve 3.7).

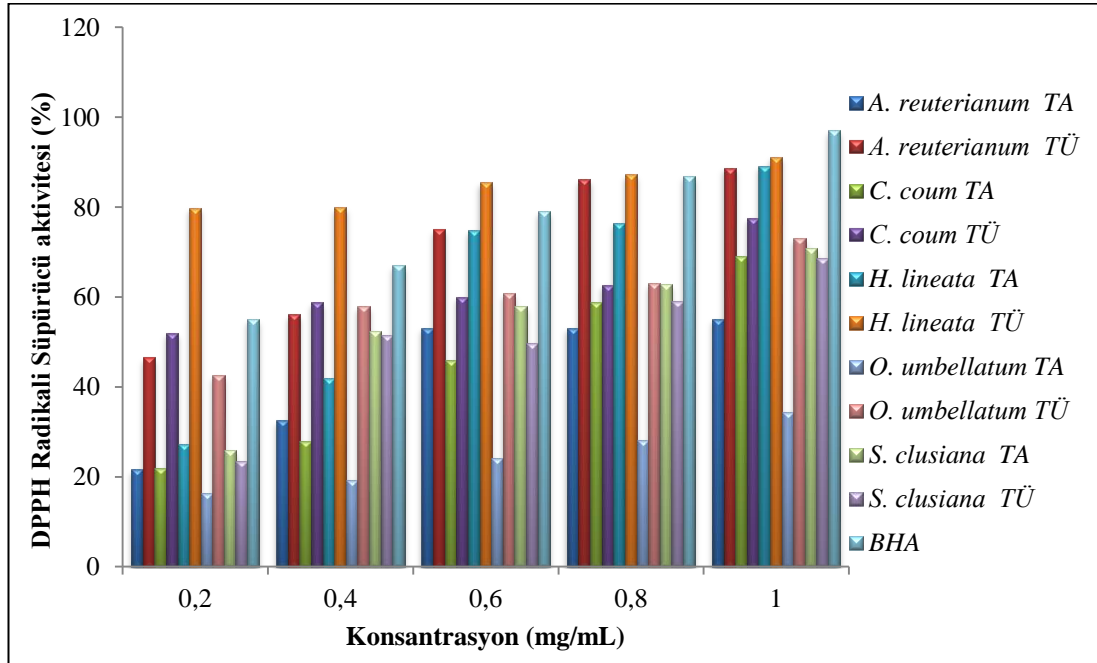


Şekil 3.5: Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Tablo 3.5: Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri (%)

Ekstraktlar		0.2 mg/mL	0.4 mg/mL	0.6 mg/mL	0.8 mg/mL	1 mg/mL
<i>A.reuterianum</i>	TA	49.24	58.8	69.9	78.4	82.3
	TÜ	31.29	50.3	59.86	62.93	73.68
<i>C. coum</i>	TA	43.19	49.71	51.48	67.89	71.32
	TÜ	45.65	50.97	54.68	69.98	75.84
<i>H.lineata</i>	TA	48.99	54.43	66.71	85.6	89.26
	TÜ	30.82	46.64	61.16	80.05	82.53
<i>O.umbellatum</i>	TA	29.16	32.71	38.14	41.33	51.72
	TÜ	29.52	38.02	42.04	48.88	52.54
<i>S.clusiana</i>	TA	38.49	54.43	55.26	58.8	86.07
	TÜ	20.9	34.01	37.43	51.72	74.15
BHA		82.68	83.95	85.74	90.87	95.54

Bitki özütlerinin DPPH serbest radikal giderim kapasitesi sisteminde artan derişim düzeylerine bağılı olarak aktivitede artış gözlenmiştir. 1 mg/ml konsantrasyonunda çalışılan türlerin etanollü ekstreleri içerisinde *H.lineata* TA (%89.26) en yüksek aktiviteye sahip iken *O.umbellatum* TA (%51.72) en düşük aktiviteye sahiptir.

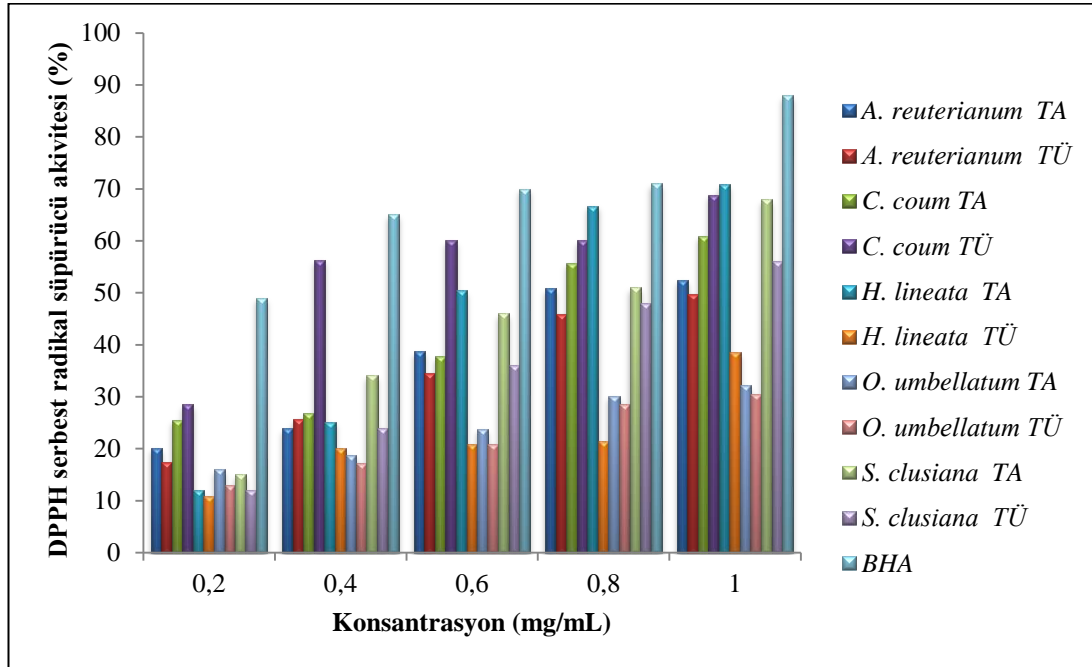


Şekil 3.6: Metanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Tablo 3.6: Metanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Ekstraktlar		0.2 mg/mL	0.4 mg/mL	0.6 mg/mL	0.8 mg/mL	1 mg/mL
<i>A.reuterianum</i>	TA	21.69	32.55	53.16	53.16	55.12
	TÜ	46.53	56.15	75.15	86.15	88.76
<i>C. coum</i>	TA	22.04	27.94	45.87	58.91	69.06
	TÜ	52.04	58.81	60.02	62.71	77.61
<i>H.lineata</i>	TA	27.36	41.87	74.87	76.45	89.15
	TÜ	79.83	79.98	85.48	87.28	91.15
<i>O.umbellatum</i>	TA	16.34	19.29	24.15	28.13	34.45
	TÜ	42.59	57.94	60.87	63.04	73.08
<i>S.clusiana</i>	TA	25.85	52.33	57.92	62.76	70.97
	TÜ	23.48	51.44	49.78	58.97	68.71
BHA		55.20	67.47	79.23	87.74	97.50

Bitki özütlerinin DPPH serbest radikal giderim kapasitesi sisteminde artan derişim düzeylerine bağılı olarak aktivitede artış gözlenmiştir. 1 mg/mL konsantrasyonunda çalışılan türlerin metanollü ekstreleri içerisinde *H.lineata* TÜ (%91.15) en yüksek aktiviteye sahip iken *O.umbellatum* TA (%34.45) en düşük aktiviteye sahiptir.



Şekil 3.7: Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Tablo 3.7: Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Ekstraktlar		0.2 mg/mL	0.4 mg/mL	0.6 mg/mL	0.8 mg/mL	1 mg/mL
<i>A.reuterianum</i>	TA	20.14	23.83	38.71	50.76	52.47
	TÜ	17.31	25.72	34.48	45.78	49.76
<i>C. coum</i>	TA	25.48	26.76	37.76	55.73	60.97
	TÜ	28.52	56.32	60.12	60.07	68.83
<i>H.lineata</i>	TA	12.03	25.11	50.48	66.73	70.85
	TÜ	10.86	19.97	20.75	21.34	38.43
<i>O.umbellatum</i>	TA	16.02	18.71	23.76	30.15	32.13
	TÜ	12.93	17.13	20.87	28.45	30.48
<i>S.clusiana</i>	TA	15.01	34.42	46.31	51.72	68.74
	TÜ	12.07	24.21	36.53	48.54	56.09
BHA		49.70	65.47	70.23	75.74	88.75

Bitki özütlerinin DPPH serbest radikal giderim kapasitesi sisteminde artan derişim düzeylerine bağlı olarak aktivitede artış gözlenmiştir. 1mg/mL konsantrasyonunda çalışılan türlerin asetone ekstreleri içerisinde *H.lineata* TA (%70.85) en yüksek aktiviteye sahip iken *O.umbellatum* TÜ (%30.48) en düşük aktiviteye sahiptir.

Dört farklı polariteye sahip ekstraksiyon türü ve BHA standardı için uygulanan DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi testinde absorbansa karşı çizilen konsantrasyon grafiği yardımıyla % 50 inhibisyon olarak bilinen IC₅₀ değerleri hesaplanmış tablodan (Tablo 3.8) da anlaşılacağı gibi; ekstraktlarda antioksidan kuvveti oldukça iyidir, başlangıç konsantrasyonunu oldukça fazla düşürmüştür.

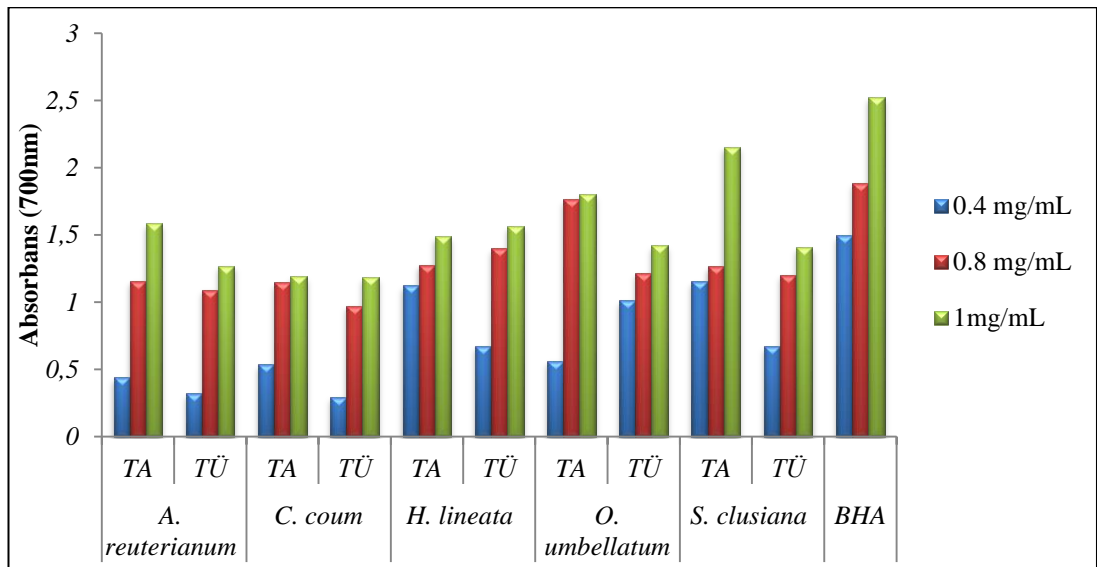
Tablo 3.8: Bitki türlerine ait IC₅₀ değerleri (mg/mL)

Ekstraktlar		Etanol	Metanol	Aseton
<i>A.reuterianum</i>	TA	0.331	0.573	2.165
	TÜ	0.604	0.754	3.095
<i>C. coum</i>	TA	0.576	0.363	2.968
	TÜ	0.648	0.472	2.974
<i>H.lineata</i>	TA	0.471	0.705	1.087
	TÜ	0.346	0.654	1.080
<i>O.umbellatum</i>	TA	0.819	0.603	1.543
	TÜ	0.705	0.472	1.407
<i>S.clusiana</i>	TA	0.289	0.479	0.973
	TÜ	0.487	0.654	0.986
BHA		0.030	0.025	0.036

Çalışılan bitkilerin etanollü ekstreleri içerisinde *S.clusiana* TA (0.289 mg/mL) en yüksek antiradikal aktiviteye sahip iken, metanollü ekstreleri içerisinde *C. coum* TA (0.363 mg/mL), aseton ekstreleri içerisinde ise *S.clusiana* TA (0.973 mg/mL) en yüksek antiradikal aktiviteye sahiptir.

3.4.3 Demir İyonu İndirgeme Gücü Kapasitesi

Bir maddenin indirgeme gücü onun antioksidan aktivitesinin bir ölçüsüdür. Oyaizu (1986) metoduna göre yapılan bu analizde sarı renkteki çözeltinin rengi, bitki özütlerinde bulunan antioksidan maddelerin indirgeme aktivitelerinden dolayı yeşil ve tonlarına dönüşmektedir. Ekstraktların ortamdaki Fe^{3+} ü indirgeme kapasitesini tayin etmek üzere değişen ekstrakt ve standart konsantrasyonlarında çalışılmıştır ve oluşan komplekslerin absorbansları 700 nm’de ölçülmüştür. Her bir ekstrakt için konsantrasyon-absorbans grafikleri çizilmiştir (Şekil 3.8 ve 3.10). Ekstrelerin ferri iyonu redükleme antioksidan gücünün konsantrasyona bağlı olarak arttığı saptandı. Çalışmada kullanılan ekstraktların indirgeme kapasitesi konsantrasyonun artması ile doğru orantılı olarak artmaktadır. İndirgeme kuvveti 0.4, 0.8 ve 1 mg/mL konsantrasyonundaki çözeltilerin absorbansları ölçülerek belirlenmiştir. En yüksek indirgeme kapasitesi *S.clusiana* TA metanol özütünde (2.476), en düşük indirgeme kapasitesi *A. reuterianum* TÛ aseton özütünde (0.111) absorbans değerleri ile elde edilmiştir.

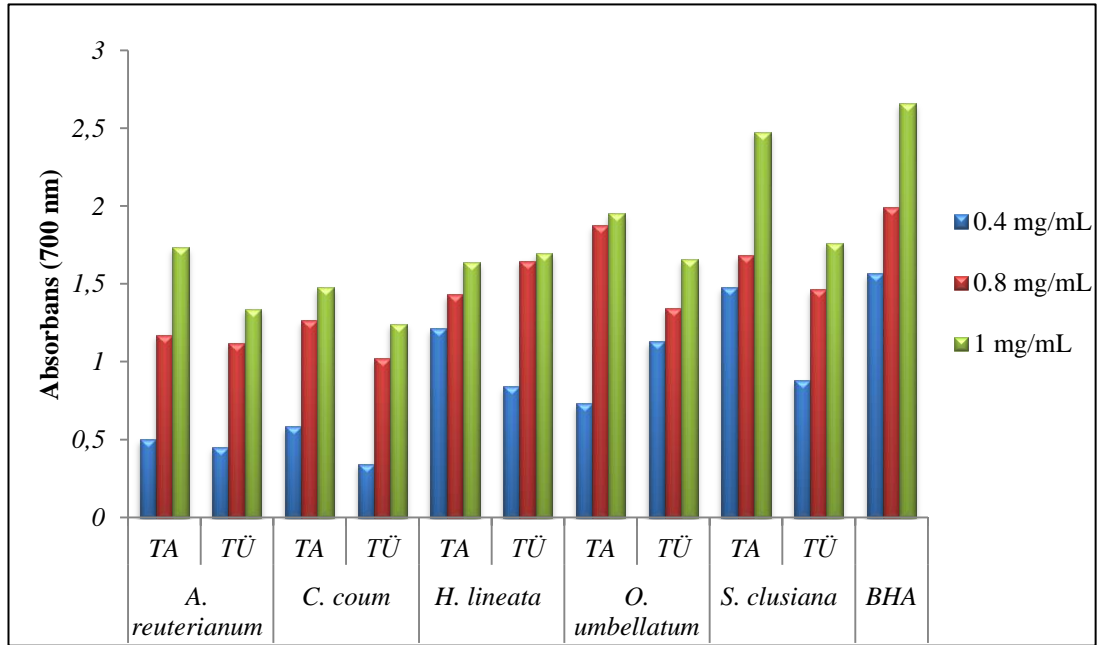


Şekil 3.8: Etanol ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak indirgeme kapasiteleri

Tablo 3.9: Etanol ekstraktlarının indirgeme kapasiteleri

Ekstrakt	Kısım	0.4 mg/mL	0.8 mg/mL	1mg/mL
<i>A. reuterianum</i>	TA	0.440	1.157	1.586
	TÜ	0.321	1.092	1.271
<i>C. coum</i>	TA	0.535	1.145	1.194
	TÜ	0.296	0.973	1.186
<i>H. lineata</i>	TA	1.124	1.278	1.488
	TÜ	0.676	1.401	1.563
<i>O. umbellatum</i>	TA	0.563	1.762	1.802
	TÜ	1.012	1.217	1.424
<i>S. clusiana</i>	TA	1.155	1.263	2.020
	TÜ	0.671	1.202	1.408
BHA		1.496	1.887	2.522

Etanol özütlerinin indirgeme güçleri incelendiğinde artan derişimle doğrusal olarak indirgeme güçlerinin de arttığı gözlenmiştir. Buna göre 1mg/mL konsantrasyonda *S. clusiana* TA (2.020) ekstraktı en yüksek indirgeme gücüne dolayısıyla antioksidan aktiviteye sahip bulunmuştur. En düşük indirgeme gücü ise *C. coum* TÜ (1.186) ekstraktında tespit edilmiştir.

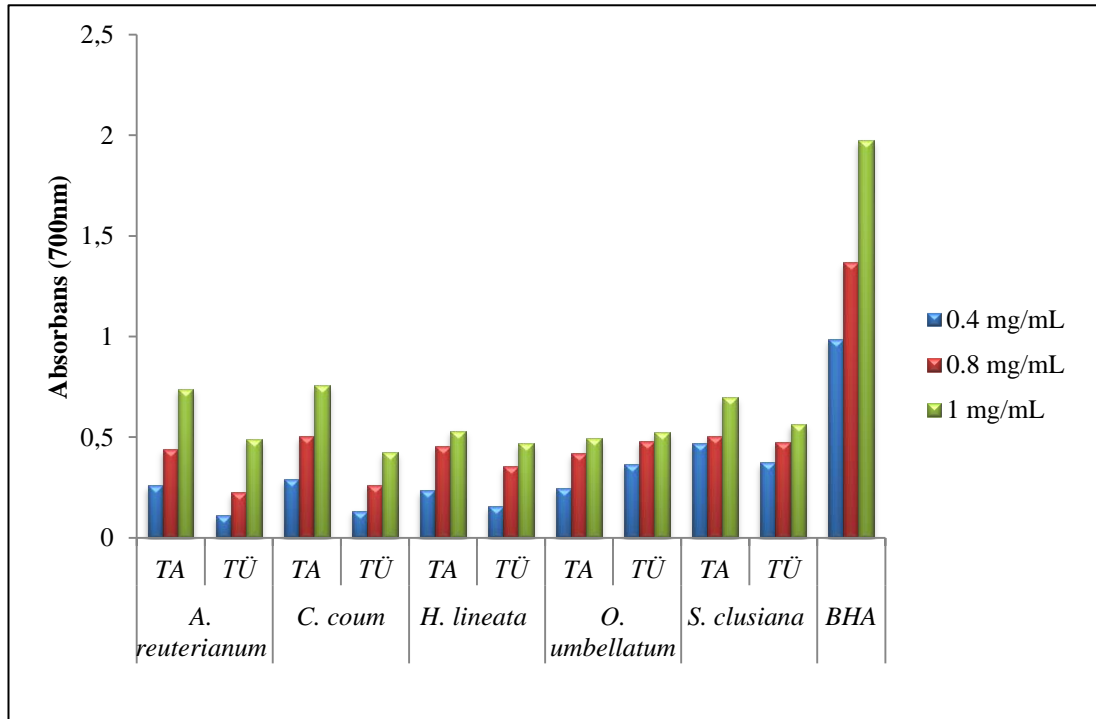


Şekil 3.9: Metanol ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak indirgeme kapasiteleri

Tablo 3.10: Metanol ekstraktlarının indirgeme kapasiteleri

Ekstraktlar	Kısım	0.4 mg/mL	0.8 mg/mL	1 mg/mL
<i>A. reuterianum</i>	TA	0.503	1.174	1.732
	TÜ	0.452	1.121	1.341
<i>C. coum</i>	TA	0.583	1.267	1.479
	TÜ	0.345	1.023	1.243
<i>H. lineata</i>	TA	1.215	1.432	1.636
	TÜ	0.843	1.648	1.698
<i>O. umbellatum</i>	TA	0.731	1.878	1.954
	TÜ	1.132	1.342	1.657
<i>S. clusiana</i>	TA	1.476	1.683	2.476
	TÜ	0.879	1.465	1.764
BHA		1.567	1.989	2.658

Tablo 3.10'a göre metanol özütlerinin indirgeme güçleri incelendiğinde 1mg/mL konsantrasyonda *S. clusiana* TA (2.476) ekstaktı en yüksek indirgeme gücüne sahip bulunmuştur. En düşük indirgeme gücü ise *C. coum* TÜ (1.243) ekstaktında tespit edilmiştir.



Şekil 3.10: Aseton ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak indirgeme kapasiteleri

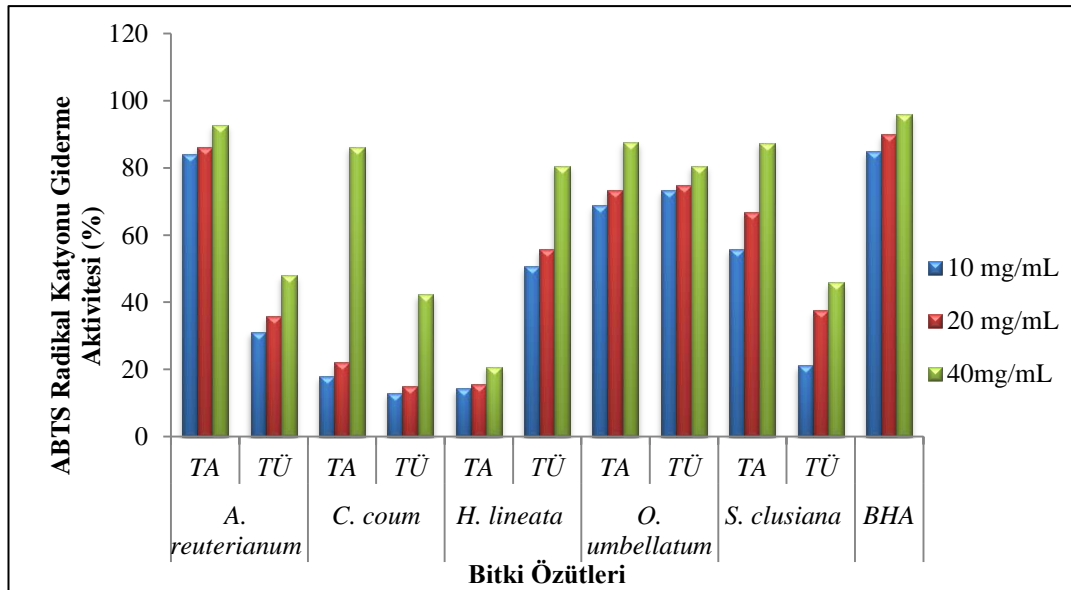
Tablo 3. 11: Aseton ekstraktlarının indirgeme kapasiteleri

Ekstraktlar	Kısım	0.4 mg/mL	0.8 mg/mL	1 mg/mL
<i>A. reuterianum</i>	TA	0.260	0.440	0.759
	TÜ	0.111	0.225	0.490
<i>C. coum</i>	TA	0.291	0.504	0.741
	TÜ	0.134	0.263	0.424
<i>H. lineata</i>	TA	0.236	0.456	0.531
	TÜ	0.157	0.354	0.468
<i>O. umbellatum</i>	TA	0.246	0.421	0.495
	TÜ	0.365	0.478	0.524
<i>S. clusiana</i>	TA	0.468	0.506	0.698
	TÜ	0.375	0.477	0.564
BHA		0.987	1.368	1.975

Aseton özütlerinin indirgeme güçleri incelendiğinde 1mg/mL konsantrasyonda *A. reuterianum* TA (0.759) ekstraktı en yüksek indirgeme gücüne sahip bulunmuştur. En düşük indirgeme gücü ise *C. coum* TÜ (0.424) ekstraktında tespit edilmiştir.

3.4.4 ABTS Radikal Katyonu (ABTS•+) Giderme Aktivitesi

Ekstrelerin katyon radikali giderim aktivitesi yöntemine göre antioksidan aktiviteleri farklı konsantrasyonlarda (10, 20 ve 40 mg/mL) belirlenmiştir.

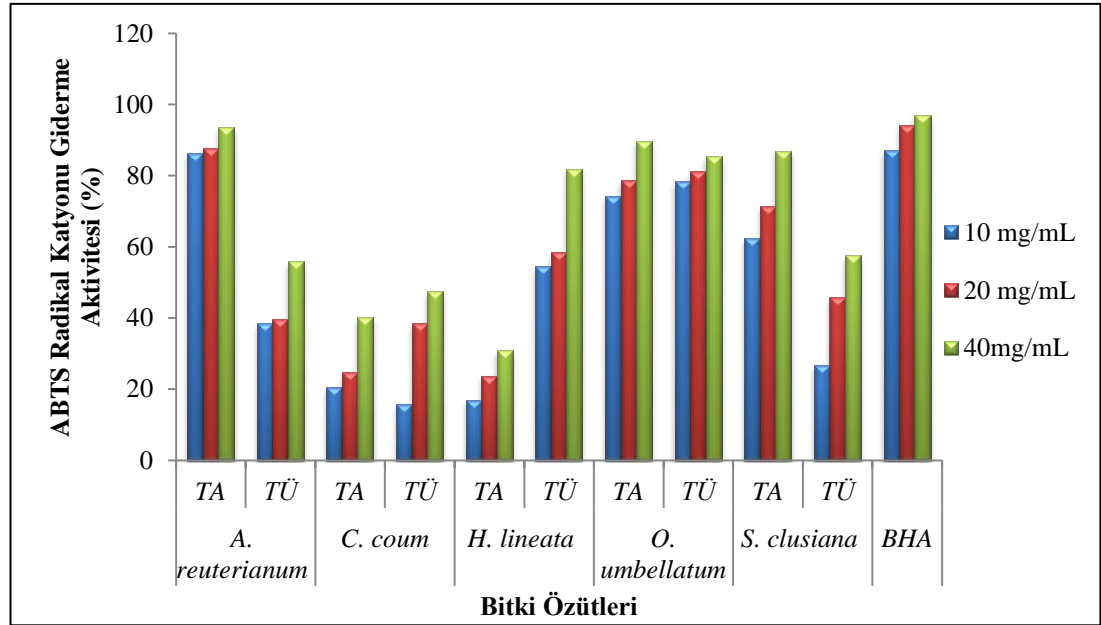


Şekil 3.11: Etanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%)

Tablo 3.12: Etanol ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%)

Ekstraktlar	Kısım	10 mg/mL	20 mg/mL	40 mg/mL
<i>A. reuterianum</i>	TA	84.2	86.3	92.8
	TÜ	31.2	35.8	48
<i>C. coum</i>	TA	18	22.1	86.3
	TÜ	13	15	42.3
<i>H. lineata</i>	TA	14.3	15.5	20.8
	TÜ	50.6	55.8	80.6
<i>O. umbellatum</i>	TA	68.9	73.4	87.7
	TÜ	73.4	74.7	80.6
<i>S. clusiana</i>	TA	55.8	66.9	87.5
	TÜ	21.2	37.5	45.8
BHA		85.1	90.3	96.4

ABTS radikali giderme aktivitesi yönünden etanol ekstraktları incelendiğinde;10-40 mg/mL konsantrasyon aralığındaki özütler arasında katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek *A. reuterianum* TA (%92.8) özütünden, en düşük radikal giderim aktivitesi ise *H. lineata* TA (%20.8) özütünden elde edilmiştir.

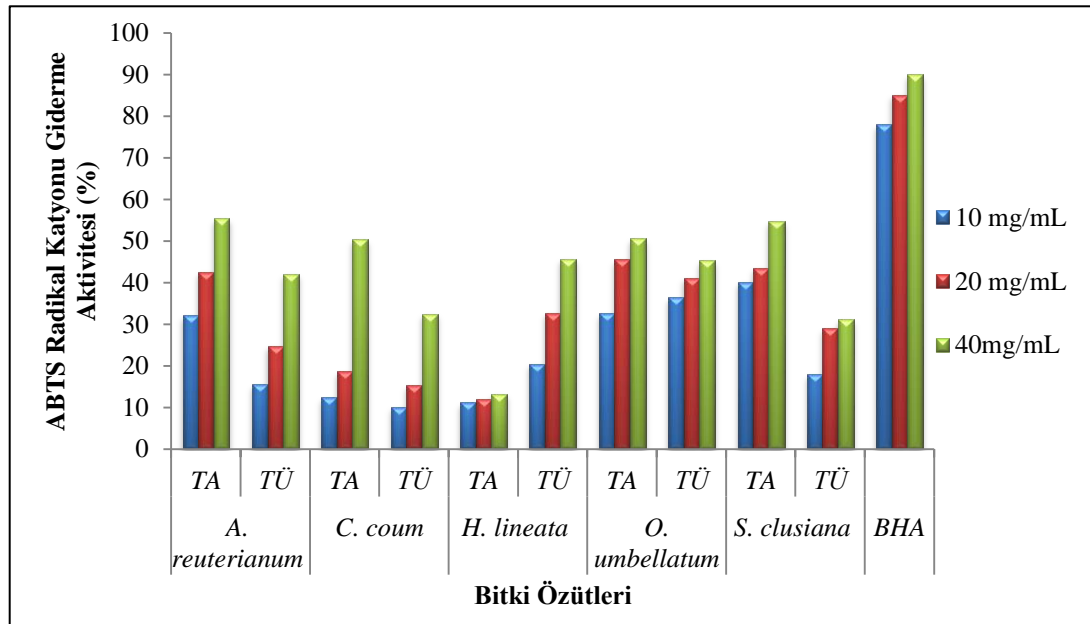


Şekil 3.12: Metanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%)

Tablo 3.13: Metanol ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%)

Ekstraktlar	Kısım	10 mg/mL	20 mg/mL	40 mg/mL
<i>A. reuterianum</i>	TA	86.3	87.8	93.5
	TÜ	38.4	39.6	55.8
<i>C. coum</i>	TA	20.6	24.7	40.3
	TÜ	15.8	38.6	47.5
<i>H. lineata</i>	TA	16.7	23.6	30.8
	TÜ	54.5	58.4	81.8
<i>O. umbellatum</i>	TA	74.3	78.7	89.8
	TÜ	78.4	81.1	85.4
<i>S. clusiana</i>	TA	62.4	71.3	86.9
	TÜ	26.8	45.7	57.5
BHA		87.2	94.5	97.3

Metanol ekstraktlarının katyon radikal giderim aktivitesi incelendiğinde;10-40 mg/mL konsantrasyon aralığındaki özütler arasında katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek *A. reuterianum* TA (%93.5) özütünden, en düşük radikal giderim aktivitesi ise *H. lineata* TA (%30.8) özütünden elde edilmiştir.



Şekil 3.13: Aseton ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%)

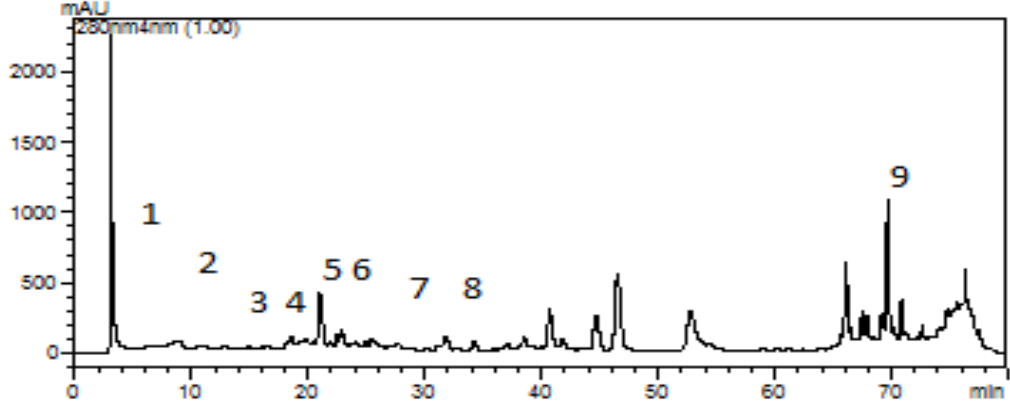
Tablo 3.14: Aseton ekstraktlarının konsantrasyona bağı olarak ABTS radikal katyonu giderme aktivitesi (%)

Ekstraktlar	Kısım	10 mg/mL	20 mg/mL	40 mg/mL
<i>A. reuterianum</i>	TA	32.1	42.5	55.4
	TÜ	15.6	24.7	42.1
<i>C. coum</i>	TA	12.4	18.6	50.3
	TÜ	10.1	15.3	32.4
<i>H. lineata</i>	TA	11.2	12	13.2
	TÜ	20.4	32.7	45.7
<i>O. umbellatum</i>	TA	32.6	45.5	50.5
	TÜ	36.4	41.1	45.2
<i>S. clusiana</i>	TA	40.1	43.5	54.6
	TÜ	17.9	28.9	31.2
BHA		78.1	85.4	90.5

Aseton ekstraktlarının katyon radikal giderim aktivitesi incelendiğinde;10-40 mg/mL konsantrasyon aralığındaki özütler arasında katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek *A. reuterianum* TA (%55.4) özütünden, en düşük radikal giderim aktivitesi ise *H. lineata* TA (%13.2) özütünden elde edilmiştir.

3.5 HPLC ile Fenolik Bileşiklerin Analiz Sonuçları

Antioksidan kapasitesi çeşitli metodlarla belirlenen ekstraktların antioksidan özellik sağlayan fenolik bileşikleri ve flavonoidlerden bazıları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilmiştir. Analizi yapılan bu bileşenlerin metanol ekstraktında her birinden ne kadar bulunduğu Tablo 3.15’de verilmiştir. Tüm standartların analizine ilişkin kromatogram ise Şekil 3.14’de verilmiştir. Sonuç olarak ekstraktlarda analizlenen tüm antioksidan özellik gösteren standartlar ekstraktların antioksidan kapasitesine katkıda bulunmuştur. En büyük katkı ise yüksek oranda bulunan gallik asit, sinamik asit, ferulik asit ve benzoik asit’ tir.



Şekil 3.14: Fenolik Standartların HPLC kromatogramı: 1. gallik asit, 2. 3,4-dihidroksi benzoik asit, 3. 4-hidroksi benzoik asit, 4. klorojenik Asit, 5. Vanilik asit, 6. Kafeik asit, 7. p-Kumarik asit, 8. Ferulik asit, 9. Sinamik asit

Tablo 3.15: Bitki özütlerindeki fenolik bileşen madde miktarları

Ekstraktlar	Gallik asit (µg/g)	3,4di-hidroksi asit (µg/g)	4-hidroksi asit (µg/g)	Chloro jenik asit (µg/g)	Vanilic asit(µg/g)	Caffeic asit (µg/g)	p-Coumaric asit (µg/g)	Ferulic asit (µg/g)	Cinnamic asit (µg/g)
<i>H. lineata</i>	421.9	378.7	219.3	188.4	91.4	237.2	38.9	64.9	16.1
<i>C.coum</i>	119.6	39.6	344.1	67.9	42.4	34.3	6.6	3.2	411.6
<i>S. clusiana</i>	77.7	15.1	20.5	139.0	87.6	159.4	30.6	2739.6	385.5
<i>O.umbellatum</i>	124.0	33.9	535.1	351.6	200.0	138.8	119.7	507.1	237.2
<i>A.reuterium</i>	32.1	166.2	140.2	62.2	26.6	74.4	17.4	38.5	115.0

Çalışılan geofit türleri üzerinde yapılan HPLC analizlerinden de görülebileceği gibi geofit türlerinin fenolik yapıli bileşikler bakımından zengin olduğu söylenebilir. 9 standart fenolik bileşik üzerinden yapılan HPLC analizlerinde incelenen bütün türlerde incelenen standart fenolik bileşiklere farklı miktarlarda rastlanmıştır.

Tablo 3. 16: Fenolik asit standart bileşenlerin dalga boyları, alıkonma zamanları, alan ve konsantrasyonları

Özellikler	Standart fenolik bileşenler								
	Gallik asit	3,4d-ihidroksi asit	4-hidroksi asit	Chlorojenik asit	Vanilic asit	Caffeic asit	P-Coumaric asit	Ferulic asit	Cinnamic asit
LOD (ppm)	0.19	0.027	0.036	0.017	0.019	0.019	0.022	0.021	0.016
Dalga Boyu	280	280	280	320	320	280	320	320	280
RT(Alıkonma Zamanı dk)	7.8	12.2	16.9	19.4	21.7	24	29.3	34.7	70.7

3.6 Brine Shrimp (*Artemia Salina*) Lethalite Testi Bulguları

Bitki metanol ekstralarının Brine Shrimp (*Artemia salina*) larvaları üzerindeki akut toksisitesini belirleyebilmek için, toksisite verileri hesaplanmış ve LC₅₀ değerleri ortaya konulmuştur. Test sonucunda elde edilen veriler EPA Probit Analiz Programı ile değerlendirilmiş ve %95 güvenirlilik sınırları içinde LC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen yüzde ölüm oranları ve LC₅₀ değerleri Tablo 3.17’de gösterilmiştir. Tabloya göre en yüksek sitotoksik aktiviteyi 44.023 mg/mL ile *S.clusiana* TA ekstraktı gösterirken, en düşük sitotoksik aktiviteyi ise 242.226 mg/mL ile *C.coum* TÜ ekstraktı göstermiştir.

Tablo 3.17: Metanol özütlerinin Brine Shrimp Lethalite Testi sonuçları

Bitki ekstraktları	Ölüm Yüzdeleri (24 sa)						
	Kısımlar	0	100	250	750	1000	LC ₅₀
<i>A. reuterianum</i>	TA	20.5	56.6	66.6	76.5	96.5	73.981
	TÜ	20.5	46.7	56.6	66.6	76.5	107.695
<i>C.coum</i>	TA	20.5	50.3	60.5	75.5	80.2	76.125
	TÜ	20.5	45.7	53.7	65.8	75.8	242.226
<i>H.lineata</i>	TA	20.5	45.9	55.9	70.4	80.6	202.596
	TÜ	20.5	50.2	55.8	60.3	65.7	145.568
<i>O.umbellatum</i>	TA	20.5	75.7	80.8	84.5	90.1	51.051
	TÜ	20.5	70.3	76.5	80.8	87.7	45.065
<i>S.clusiana</i>	TA	20.5	78.3	80.5	83.9	96.2	44.023
	TÜ	20.5	65.8	70.7	75.9	87.9	56.584

3.7 Antibakteriyal Aktivite Test Sonuçları

Geofit metanol ekstraktlarının antibakteriyal aktivitesi broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Ekstraktların standart ve bakterilere karşı MİK değerleri Tablo 3.18’de verilmiştir. Tablodan görüldüğü üzere *A. reuterianum* ekstraktı 25 µg/mL MİK değerine sahip olmakla hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler üzerinde etkili olmuştur. Diğer ekstraktların MİK değerleri genel olarak 100 µg/mL ve 100 µg/mL’ den büyük olduğu için *A. reuterianum* türü kadar etkili değildir. Buradan türün içeriğindeki doğal antibiyotik bileşen olan kükürtlü bileşenler olan alliin ve aliisin bileşenlerin etkili olduğunu tespit edebiliriz.

Tablo 3.18: Metanol özütlerinin bakterilere karşı MİK değerleri

	MİK değerleri (µg/mL)		
	Bakteri Suşları		
Bitki ekstraktları	Kısımlar	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
<i>A. reuterianum</i>	TA	25	25
	TÜ	50	25
<i>C.coum</i>	TA	100	100
	TÜ	> 100	> 100
<i>H.lineata</i>	TA	> 100	> 100
	TÜ	> 100	> 100
<i>O.umbellatum</i>	TA	100	100
	TÜ	> 100	> 100
<i>S.clusiana</i>	TA	50	100
	TÜ	> 100	> 100
Gentamicin		-	3,09
Oxacillin		1,01	-

3.8 İsektisit Etki Sonuçları

3.8.1 Bitki Ekstraktlarının Ev Sineği (*Musca domestica*) Üzerindeki İsektisit Etki Sonuçları

Musca domestica üzerinde yapılan isektisit deneyinde istatistiksel anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Ekstraktların larvalara uygulanması sonucunda karasineklerin daha dirençli olduğu görülmüştür.

3.8.2 Bitki Ekstraktlarının Sivrisinek (*Culex pipiens*) Üzerindeki İsektisit Etki Sonuçları

Culex pipiens (L.) III. ve IV. evre larvaları üzerinde yapılan metanol ekstraktlarının larvasit etkisi deneyinde, deney 4 farklı konsantrasyonda (100, 250, 500,

1000 mg/mL) yapılmıştır, her bir örnek için deney başlangıcında 10 adet larva kullanılmış ve başlangıçtan itibaren 24-, 48-, 72- saat sonra ölen larvalar sayılarak ölüm oranları kaydedilmiştir. Ön biyolojik testler sonunda larvalar üzerinde %50 ve üzerinde ölüme neden olan ekstraktların LC_{50} ve LC_{90} değerlerini belirlemek için biyolojik testler yürütülmüştür. Sonuç olarak ölüm oranlarının $LC_{50}(\min)$, $LC_{50}(\max)$, LC_{50} ve LC_{90} değerleri ve ki-kare değerleri hesaplanmıştır.

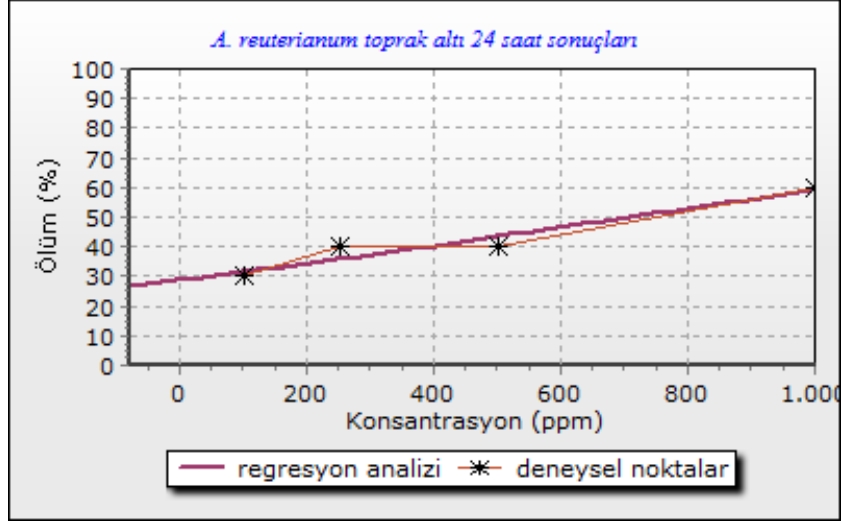
Tablo 3.19: *A. reuterianum* türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH (standart hata) ve istatistik değerleri

<i>A.reuterianum</i> toprak altı	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	23.33 \pm 5.77 a ^x , B ^y	33.33 \pm 5.77 a, B	46.66 \pm 5.77 b, B
250 mg/mL	33.34 \pm 5.77 a,C	53.33 \pm 5.77 b,C	73.34 \pm 5.77 c, C
500 mg/mL	36.67 \pm 5.77 a, C	66.67 \pm 5.77 b, D	83.33 \pm 5.77 c, D
1000 mg/mL	63.33 \pm 5.77 a, D	90.0 \pm 10.0 b, E	96.66 \pm 5.77 b, E
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC_{50min}	128.31	7.74	7.21
LC₅₀	634.46	203.05	114.12
LC_{50max}	3137.05	441.93	211.78
LC₉₀	2.32	1.05	679.42
x²	0.15	0.35	0.10

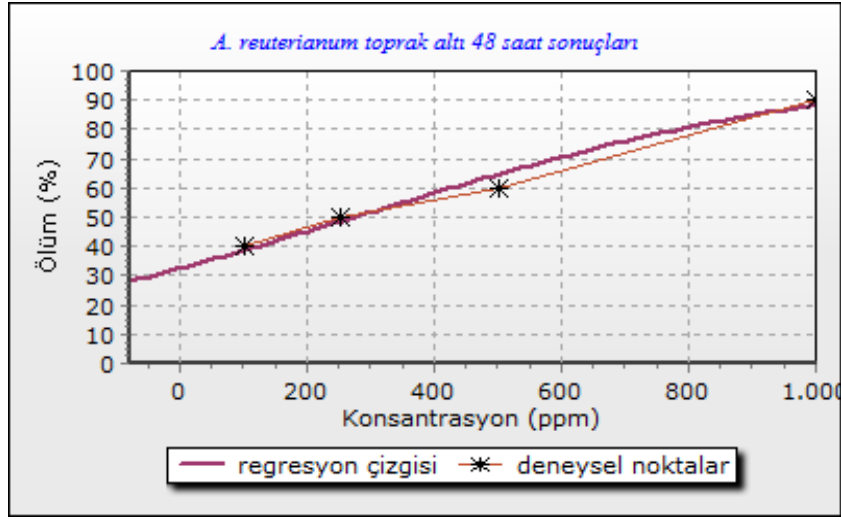
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

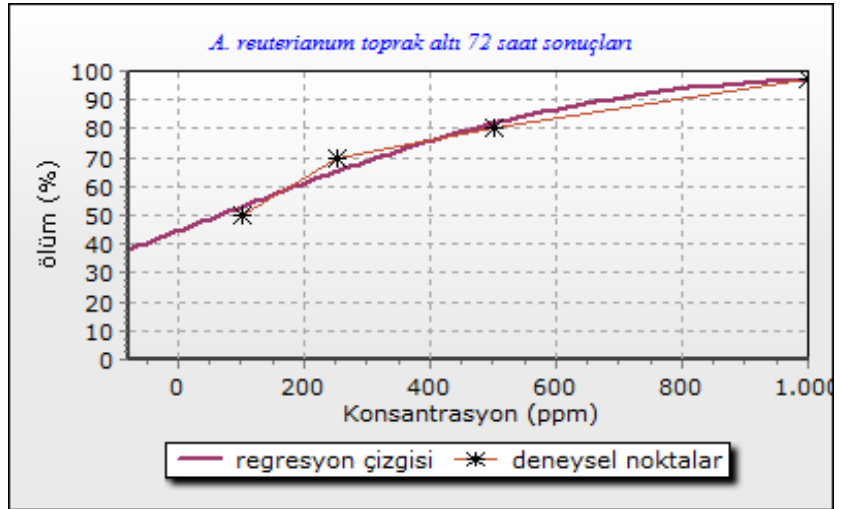
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.15: *A. reuterianum* toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.16: *A. reuterianum* toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.17: *A. reuterianum* toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

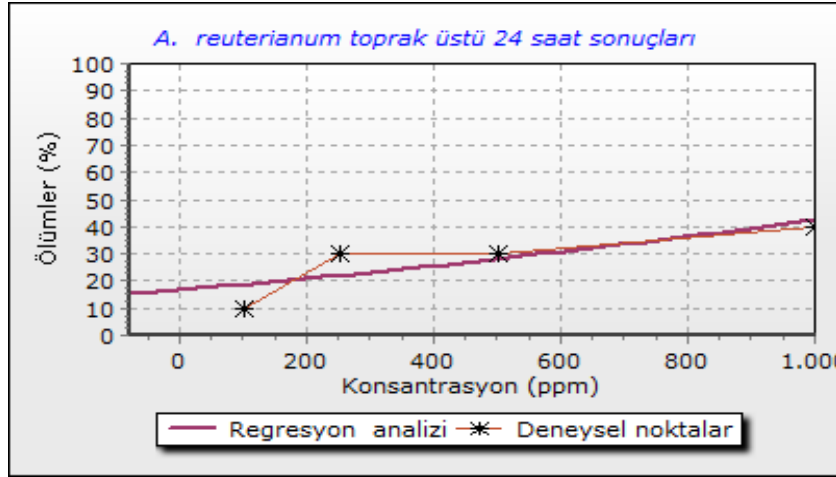
Tablo 3.20: *A. reuterianum* türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri

<i>A.reuterianum</i> toprak üstü	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	3.33 \pm 5.77 a ^x , A ^y	6.66 \pm 5.77 a, A	10.0 \pm 0.0 a, B
250 mg/mL	10.0 \pm 5.77 a,A	13.33 \pm 5.77 a,A	16.66 \pm 5.77 a,B
500 mg/mL	36.66 \pm 5.77 a, B	43.33 \pm 5.77 a, B	46.66 \pm 5.77 a, C
1000 mg/mL	46.66 \pm 5.77 a, B	63.33 \pm 5.77 b, C	76.66 \pm 5.77 c, D
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC _{50min}	286.35	175.16	14.89
LC ₅₀	1678.44	756.13	293.22
LC _{50max}	9838.03	5771.29	1267.54
LC ₉₀	2226.71	1869.43	1347.28
χ^2	0.38	0.07	0.27

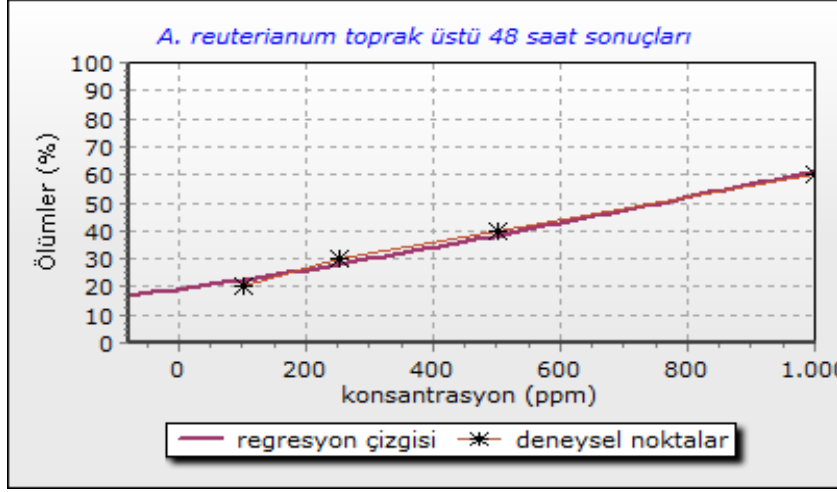
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

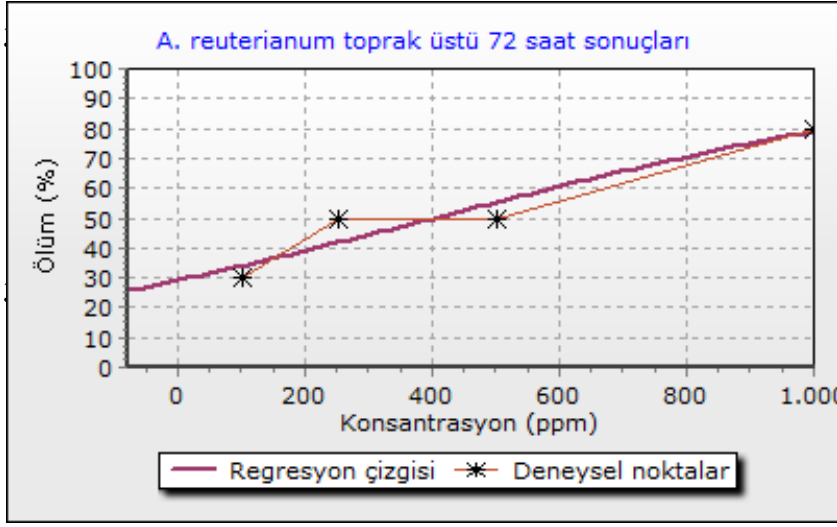
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.18: *A. reuterianum* toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.19: *A. reuterianum* toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.20: *A. reuterianum* toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

Allium reuterianum türünün toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının 100-1000 mg/mL arasında değişen dozlarda 24-72 saat arasında değişen sürelerde *Culex pipiens* larvalarına uygulanmış ve elde edilen bulgular tablo halinde verilmiştir. Sonuçlara göre *A. reuterianum* türünün toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının sivrisinek larvaları üzerindeki aktivitelerinin zaman aralığının ve konsantrasyonun artmasıyla ölüm oranının artış gösterdiği tespit edilmiştir. 24 saat süre sonundan itibaren doz artışına bağlı olarak larva ölüm oranları (%) kaydedilmiştir. Uygulama dozunun artışı larvaların ölüm oranında istatistiki olarak önemli artışa neden olmuştur ($P<0.05$). Toprak altı kısmında istatistiksel olarak doz açısından değerlendirildiğinde, tüm dozlarda 24, 48, 72 saatlerin her biri arasındaki öldürücülük etkisinde sırasıyla anlamlı bir fark bulunmuştur.

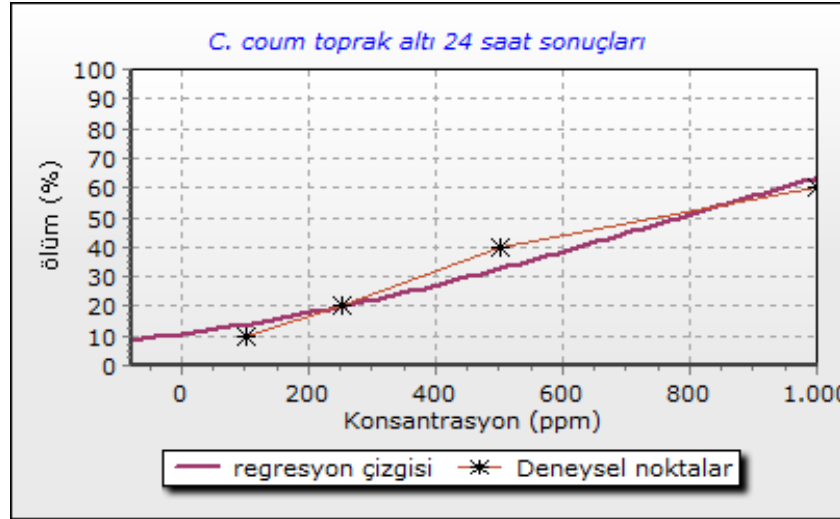
Tablo 3.21: *C.coum* türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri

<i>C. coum</i> toprak altı	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	3.33 \pm 5.77 a ^x , A ^y	26.66 \pm 5.77 b, B	33.33 \pm 5.77 b, B
250 mg/mL	26.66 \pm 5.77 a, B	36.66 \pm 5.77 a, B	46.66 \pm 5.77 b, C
500 mg/mL	46.66 \pm 5.77 a, C	56.66 \pm 5.77 a, C	66.66 \pm 5.77 b, D
1000 mg/mL	56.66 \pm 5.77 a, D	60.0 \pm 10.0 a, C	80.0 \pm 10.0 b, E
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC _{50min}	389.53	231.84	64.32
LC ₅₀	724.83	582.62	296.80
LC _{50max}	9651.43	11520.32	829.90
LC ₉₀	1595.10	1797.57	1250.09
χ^2	0.06	0.06	0.16

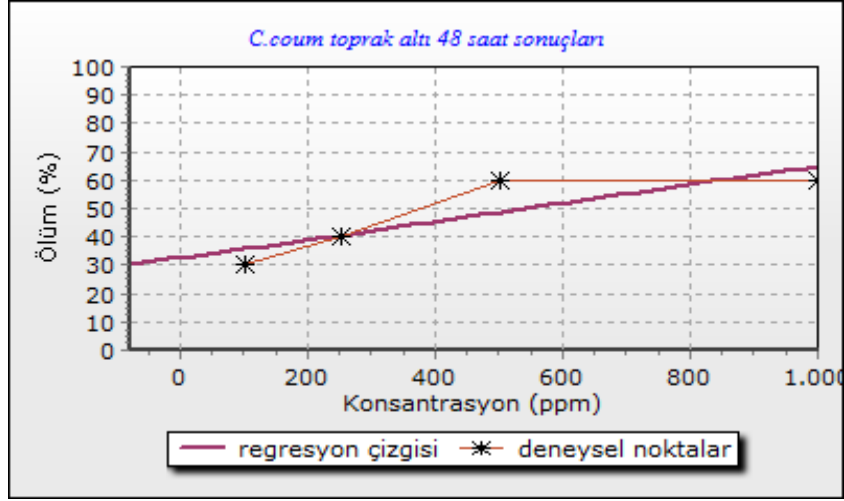
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

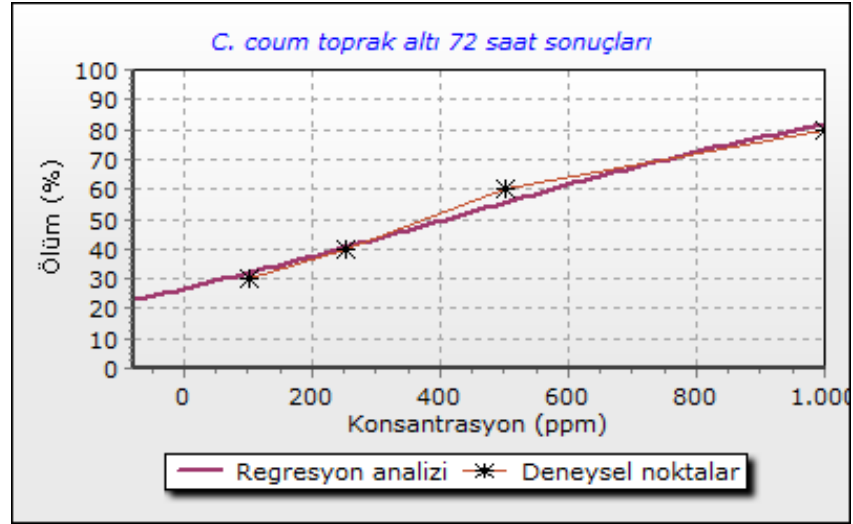
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.21: *C. coum* toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.22: *C. coum* toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.23: *C. coum* toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

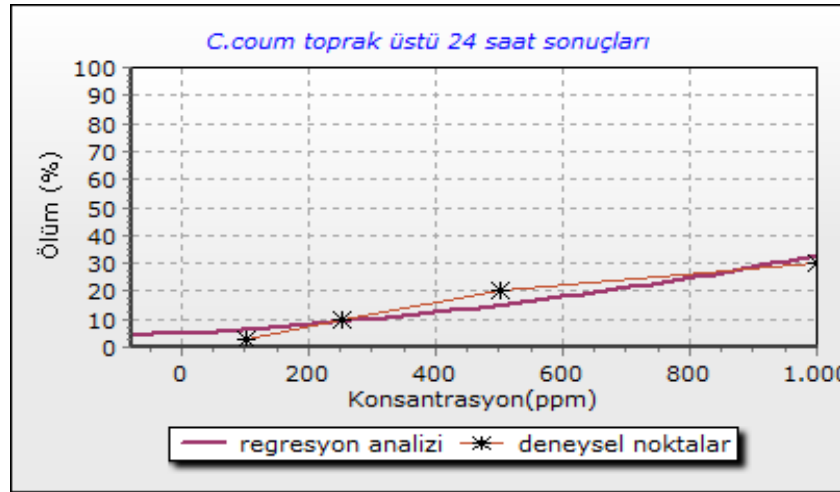
Tablo 3.22: *C. coum* türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri

<i>C. coum</i> toprak üstü	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	0 a ^x , A ^y	3.33 \pm 5.77 a, A	13.33 \pm 5.77 a, B
250 mg/mL	3.33 \pm 5.77 a, A	23.33 \pm 5.77 b, B	30.0 \pm 0 b, C
500 mg/mL	23.33 \pm 3.33 a, B	33.33 \pm 5.77 a, C	43.33 \pm 5.77 b, D
1000 mg/mL	30 \pm 0 a, C	50 \pm 10.0 b, D	76.66 \pm 5.77 c, E
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC _{50min}	417.99	496.04	310.66
LC ₅₀	1821.59	1107.63	561.95
LC _{50max}	7938.47	80623.91	2266.92
LC ₉₀	2478.85	1967.36	1411.91
χ^2	0.18	0.04	0.13

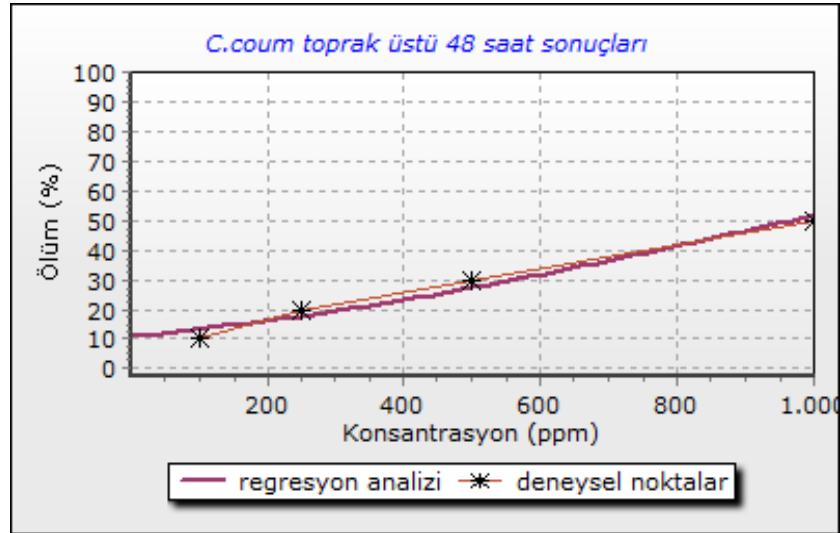
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

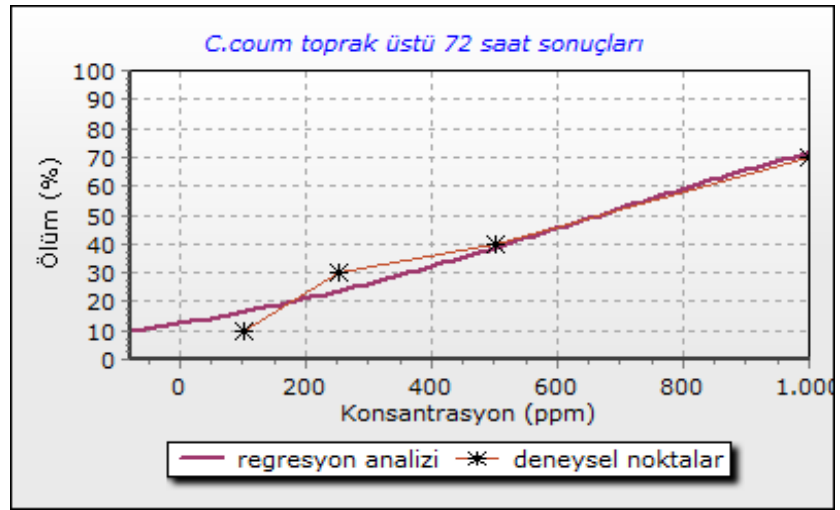
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.24: *C. coum* toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.25: *C. coum* toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.26: *C. coum* toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

C. coum türünün toprak altı kısmının 48 saat sonunda elde edilen ölümler değerlendirildiğinde 100 ve 250 mg/mL ile 500 ve 1000 mg/mL derişimleri arasında istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır. 24 ve 72 saat sonunda elde edilen ölümler değerlendirildiğinde dozlar arasında istatistiksel farklılıklar görülmüştür. Saat bazında etki sürelerine göre değerlendirildiğinde, 100 mg/mL hariç diğer dozlarda 48 saatten sonrası her biri arasında anlamlı bir fark vardır. Toprak üstü kısmında ise 1000 mg/mL derişimde %50 ölüm meydana getirmiştir. İstatistiksel olarak dozlar değerlendirildiğinde 24 saat sonrası 500 mg/mL ile 1000 mg/mL, 48 ve 72 saat sonrasında dozlar arasında anlamlı fark bulunmuştur.

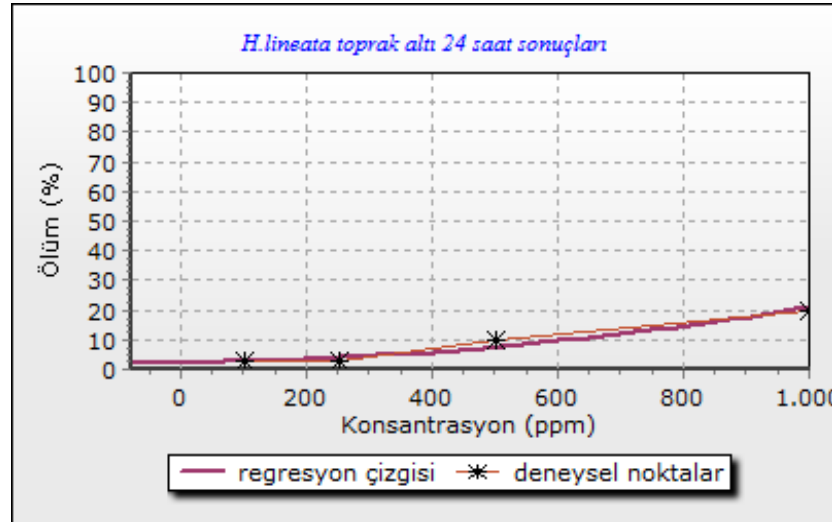
Tablo 3.23: *H.lineata* türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri

<i>H.lineata</i> toprak altı	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	0 a ^x , A ^y	3.33 \pm 5.77 a, A	6.66 \pm 5.77 a, A
250 mg/mL	6.66 \pm 5.77 a, A	10 \pm 1.73 a, B	20.0 \pm 10.0 a, B
500 mg/mL	10.0 \pm 10.0 a, A	16.66 \pm 5.77 a, B	23.33 \pm 5.77 a, B
1000 mg/mL	23.33 \pm 5.77 a, B	33.33 \pm 5.77 a, C	43.33 \pm 5.77 b, C
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC _{50min}	773.07	460.22	459.99
LC ₅₀	2048.11	1636.81	1263.50
LC _{50max}	9134.47	2513.38	2066.01
LC ₉₀	2663.97	2556.50	2028.29
χ^2	0.95	0.63	0.21

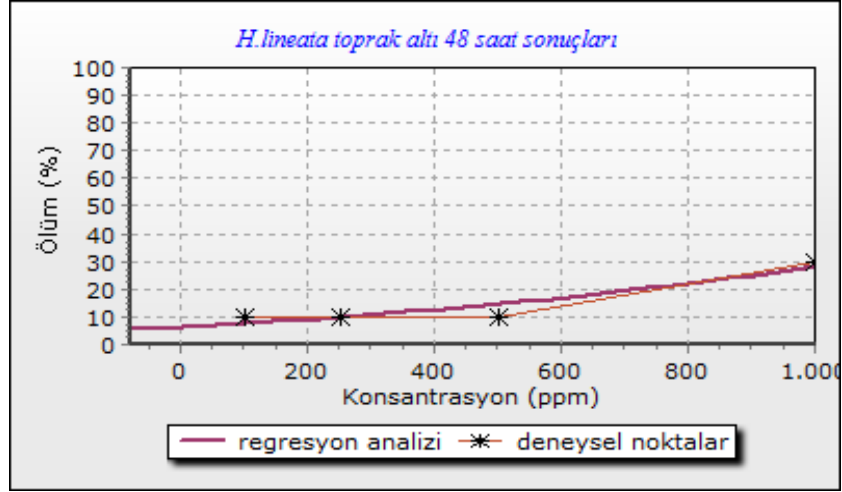
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

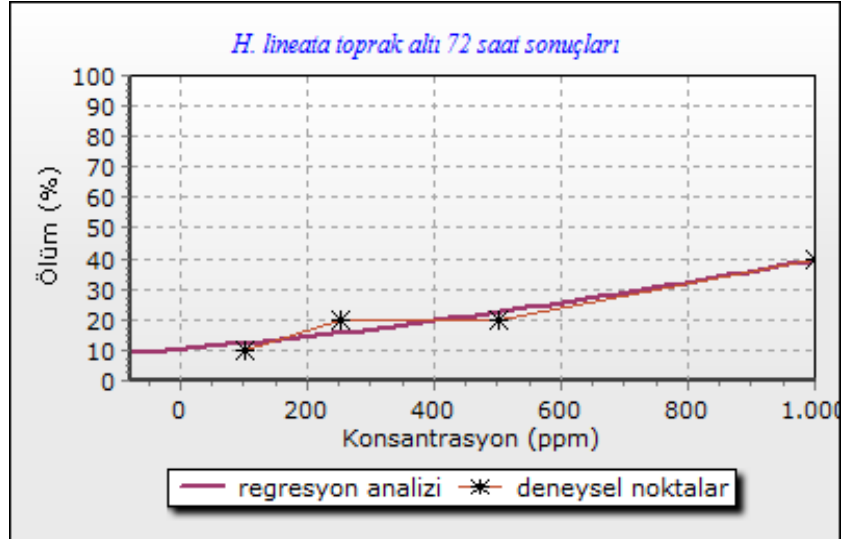
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.27: *H. lineata* toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.28: *H. lineata* toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.29: *H. lineata* toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

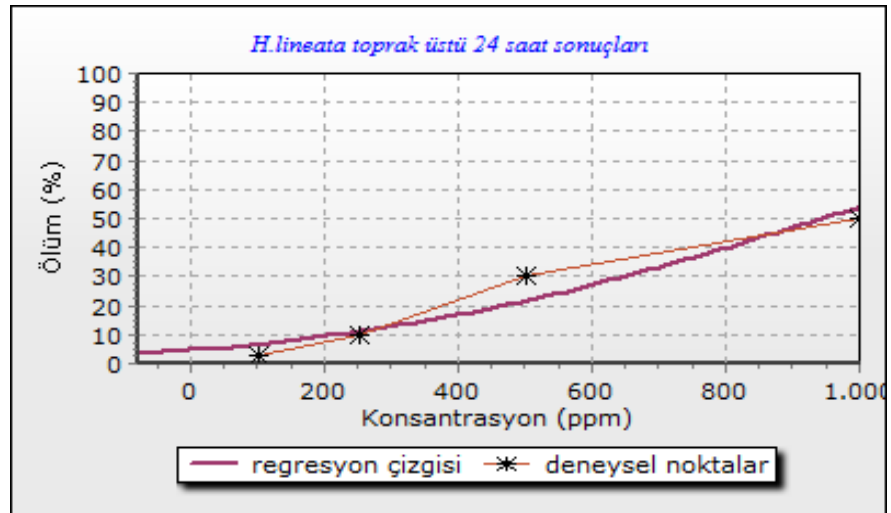
Tablo 3.24: *H.lineata* türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri

<i>H.lineata</i> toprak üstü	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	0 a ^x , A ^y	3.33 \pm 5.77 a, A	6.66 \pm 5.77 a, A
250 mg/mL	3.33 \pm 5.77 a, A	6.66 \pm 5.77 a, A	20.0 \pm 0 a, B
500 mg/mL	36.66 \pm 5.77 a, B	46.66 \pm 5.77 a, B	53.33 \pm 5.77 b, C
1000 mg/mL	56.66 \pm 5.77 a, C	73.26 \pm 5.77 b, C	83.25 \pm 5.77 b, D
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC _{50min}	570.70	388.98	291.79
LC ₅₀	925.96	646.54	477.86
LC _{50max}	6098.90	2143.58	964.18
LC ₉₀	1672.79	1323.82	1142.22
x ²	0.24	1.06	0.37

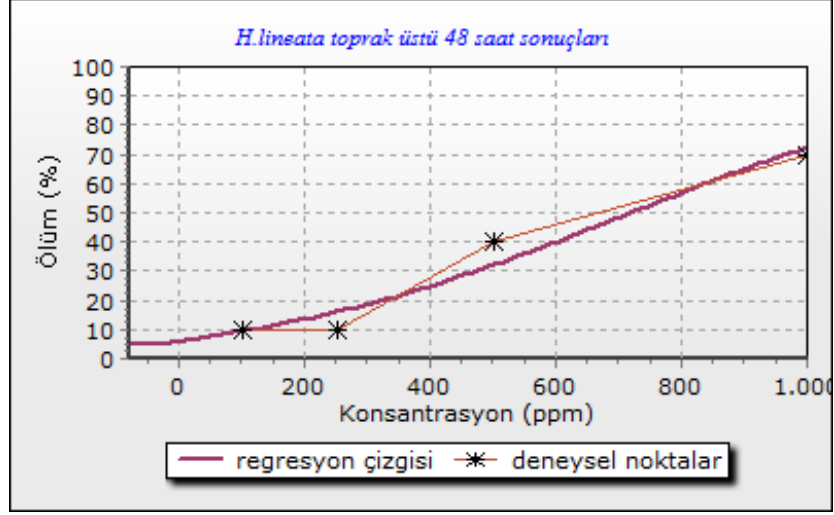
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

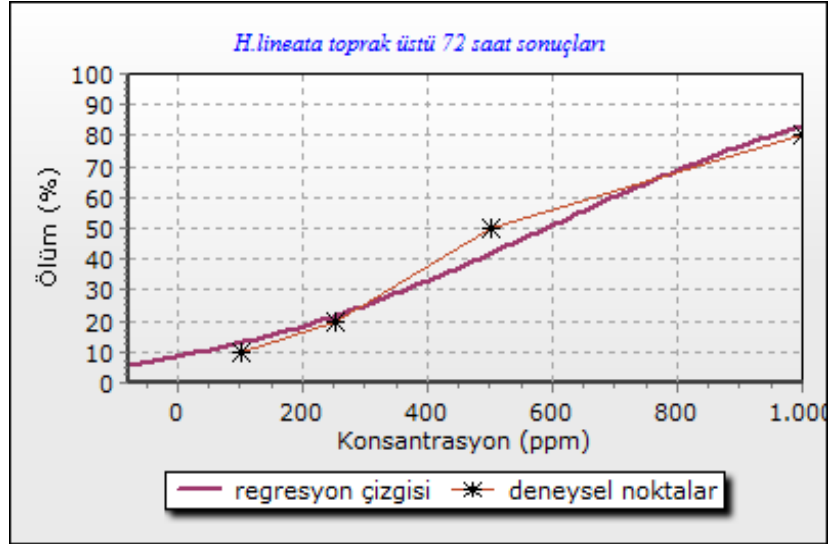
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.30: *H. lineata* toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.31: *H. lineata* toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.32: *H. lineata* toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

H. lineata türünün toprak altı kısmı doz açısından değerlendirildiğinde, 24 saat sonunda 500 mg/mL ve altı derişimde istatistiksel bir farklılık bulunmamaktadır. 48 ve 72 saat sonrasında 250 mg/mL ve üstü derişimler arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır. 72 saat sonunda 1000 mg/mL de %43 ölüm meydana gelmiştir. Saat bazında etki sürelerine göre değerlendirildiğinde 1000 mg/mL'de 48 saat sonrasında anlamlı fark vardır. Toprak üstü kısmı değerlendirildiğinde ise 24 ve 48 saat sonunda elde edilen ölüm oranları arasında 500 ile 1000 mg/mL derişimleri istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır. 72 saat sonunda 1000 mg/mL de %83 olarak ölüm kaydedilmiştir.

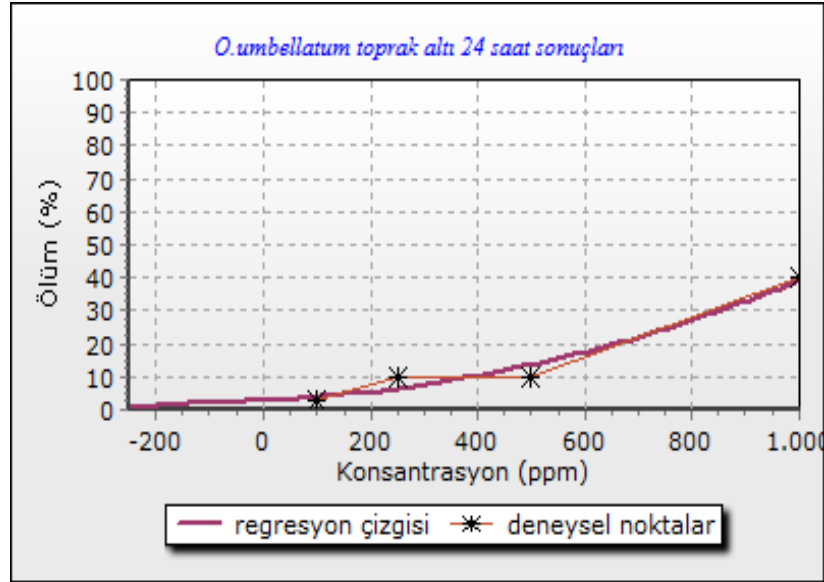
Tablo 3.25: *O. umbellatum* türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri

<i>O. umbellatum</i> toprak altı	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	0 a ^x , A ^y	3.33 \pm 5.77 a, A	6.66 \pm 5.77 a, A
250 mg/mL	3.33 \pm 5.77 a, A	13.32 \pm 1.15 a, B	13.32 \pm 1.15 a, B
500 mg/mL	30 \pm 0 a, B	53.33 \pm 5.77 b, C	76.66 \pm 5.77 c, C
1000 mg/mL	46.66 \pm 5.77 a, C	73.26 \pm 5.77 b, D	96.57 \pm 5.77 c, D
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC _{50min}	755.49	316.84	258.14
LC ₅₀	1434.58	543.46	394.55
LC _{50max}	1855.89	1540.97	609.28
LC ₉₀	1952.11	1325.16	905.79
χ^2	1.06	0.20	2.25

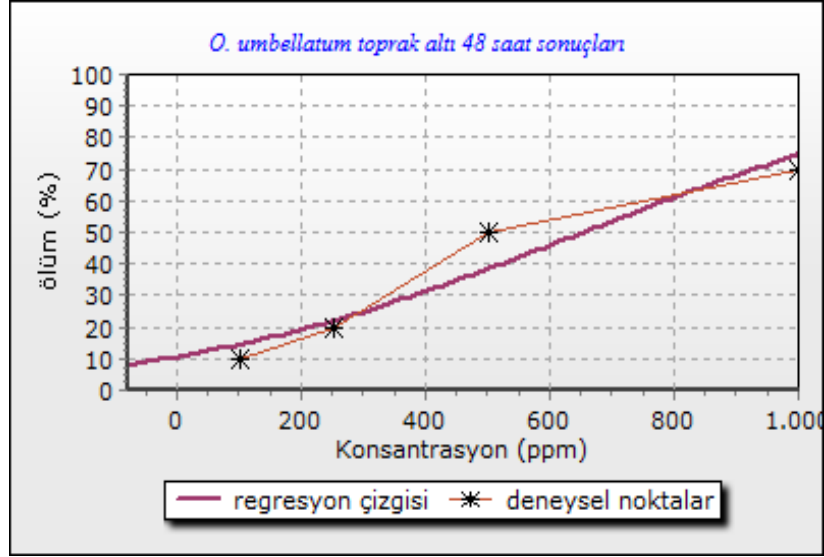
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

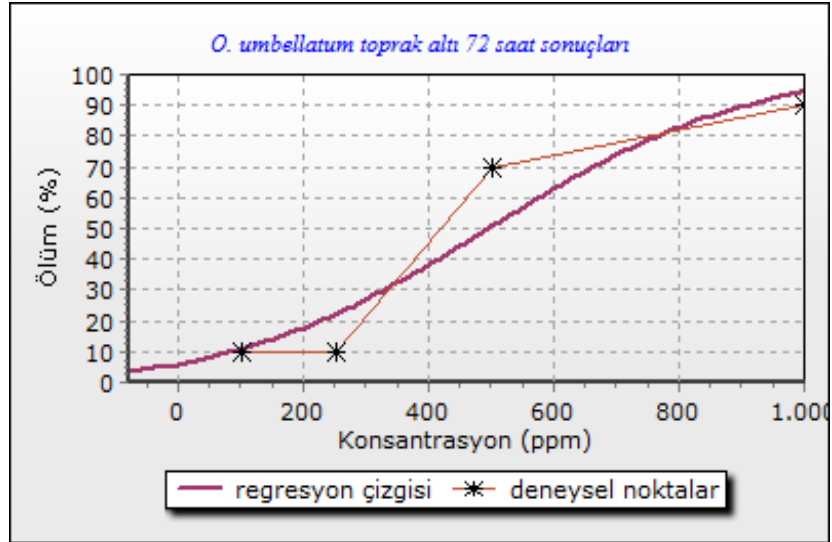
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.33: *O. umbellatum* toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.34: *O. umbellatum* toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.35: *O. umbellatum* toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

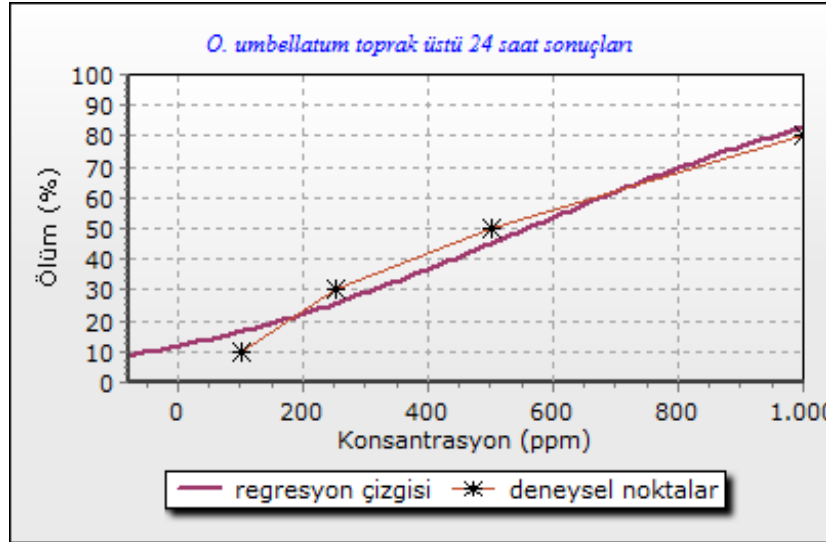
Tablo 3.26: *O. umbellatum* türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) ± SH ve istatistik değerleri

<i>O. umbellatum</i> toprak üstü	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	3.33±5.77 a ^x , A ^y	26.66±5.77 b, B	40.0±0 b, B
250 mg/mL	30.0±0 a, B	36.66±5.77 a, B	46.66±1.15 b, C
500 mg/mL	46.66±5.77 a, C	73.26±5.77 b, C	76.66±5.77 b, D
1000 mg/mL	83.33±5.77 a, D	90.0±0 b, D	100±0 c, E
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC _{50 min}	259.47	92.82	57.13
LC ₅₀	442.55	248.06	172.33
LC _{50 max}	908.98	451.13	285.37
LC ₉₀	1161.83	947.19	706.55
x ²	0.06	0.37	0.53

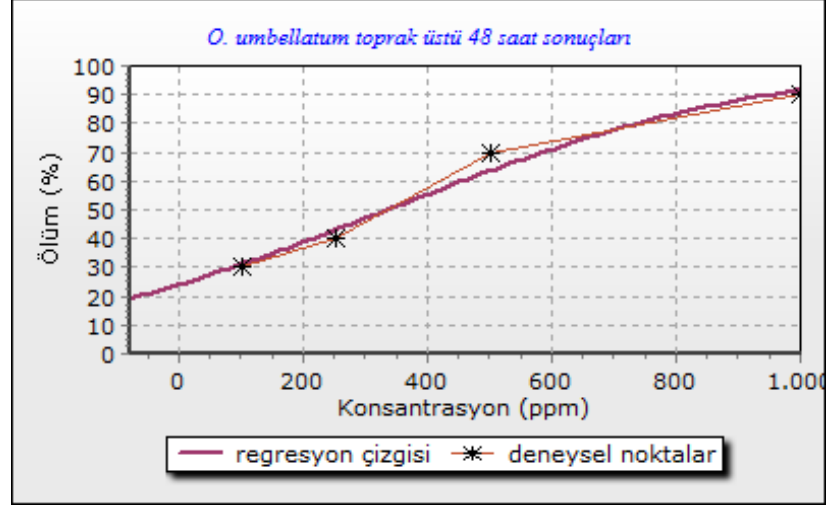
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

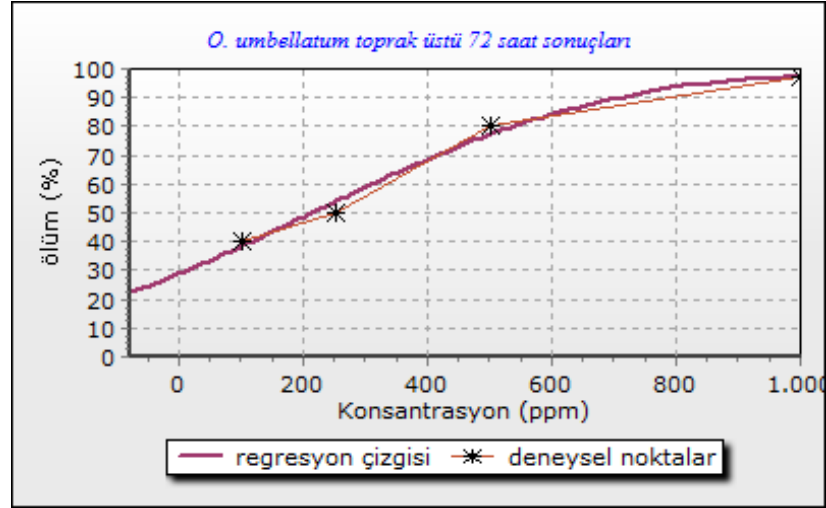
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.36: *O. umbellatum* toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.37: *O. umbellatum* toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.38: *O. umbellatum* toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

O. umbellatum türünün toprak altı kısmı 250 mg/mL de 48 saat sonunda %53 ölüm meydana getirmiştir. 100 mg/mL ve 250 mg/mL derişimlerde, saat bazında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktur. 48 ve 72 saat sonunda dozlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır. Toprak üstü kısmı değerlendirildiğinde ise 72 saat sonunda 1000 mg/mL derişimde %100 ölüm meydana getirmiştir. Doz arttıkça ölüm oranında da artışlar meydana gelmiştir. 72 saat sonunda her bir doz arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır.

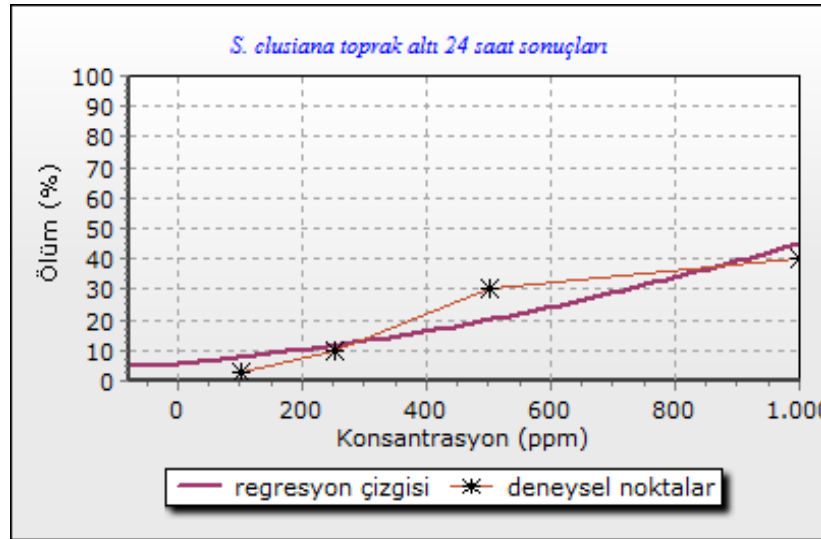
Tablo 3.27: *S. clusiana* türünün toprak altı kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri

<i>S. clusiana</i> toprak altı	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	0 a ^x , A ^y	10.0 \pm 1.0 a, B	10.0 \pm 1.0 a, B
250 mg/mL	13.33 \pm 1.52 a, B	23.33 \pm 2.5 b, C	30.0 \pm 2.0 c, C
500 mg/mL	36.66 \pm 5.77 a, C	46.66 \pm 5.77 a, D	56.66 \pm 5.77 b, D
1000 mg/mL	40.0 \pm 0 a, C	50.0 \pm 1.0 a, D	60.0 \pm 1.0 a, D
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC _{50 min}	635.01	391.58	271.74
LC ₅₀	1147.32	785.88	521.77
LC _{50 max}	7450.92	1366.54	2383.34
LC ₉₀	1991.15	1884.89	1594.63
χ^2	0.28	0.43	0.39

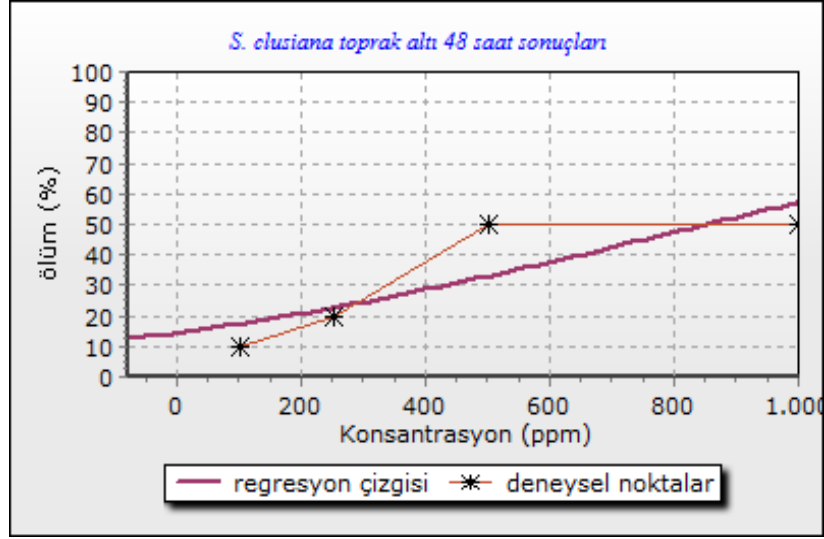
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

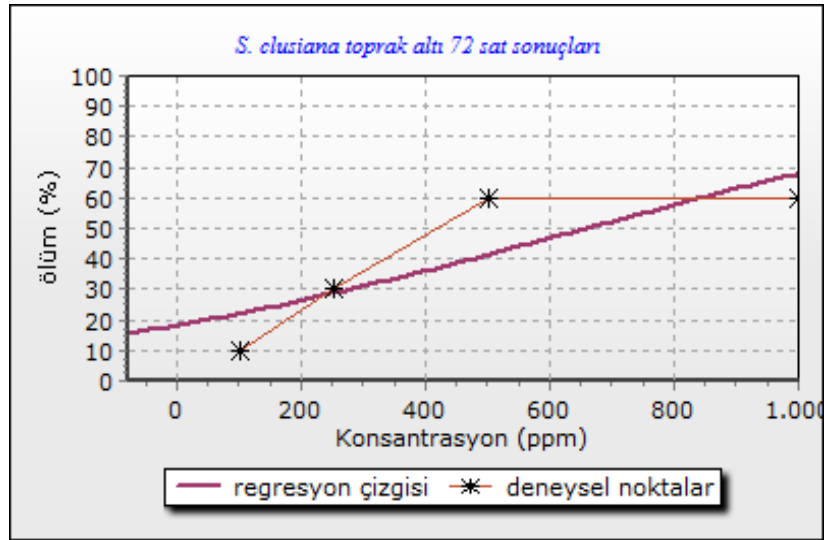
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.39: *S. clusiana* toprak altı kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.40: *S. clusiana* toprak altı kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.41: *S. clusiana* toprak altı kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

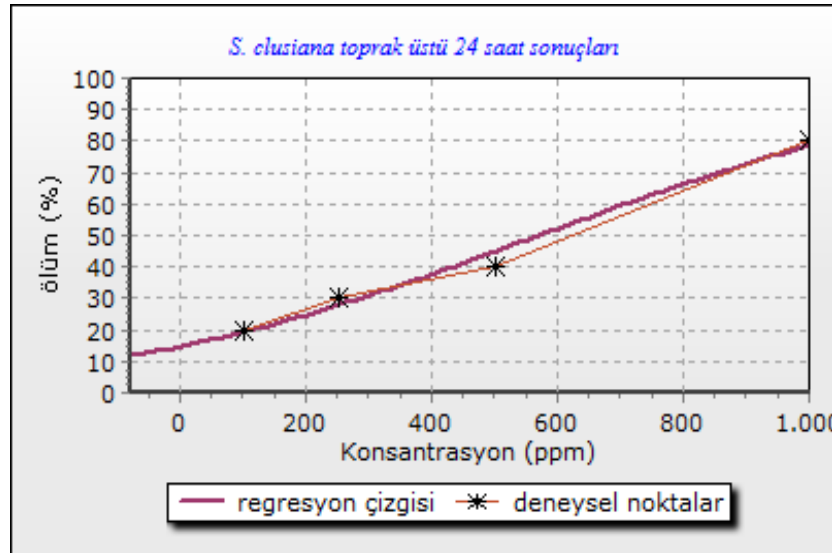
Tablo 3.28: *S. clusiana* türünün toprak üstü kısmı konsantrasyonlarının *Culex pipiens*'e karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) \pm SH ve istatistik değerleri

<i>S. clusiana</i> toprak üstü	24 saat sonra	48 saat sonra	72 saat sonra
100 mg/mL	23.33 \pm 5.77 a ^x , B ^y	33.33 \pm 5.77 a, B	46.66 \pm 5.77 a, B
250 mg/mL	36.66 \pm 5.77 a, C	46.66 \pm 5.77 b, C	60.0 \pm 1.0 c, C
500 mg/mL	46.66 \pm 5.77 a, D	56.66 \pm 5.77 a, D	73.26 \pm 5.77 b, D
1000 mg/mL	80.0 \pm 0 a, E	83.33 \pm 5.77 a, E	100 \pm 0 b, E
Kontrol	0 a, A	0 a, A	0 a, A
LC _{50 min}	228.07	26.64	37.02
LC ₅₀	46.30	261.70	164.69
LC _{50 max}	1696.66	692.46	287.23
LC ₉₀	1270.33	1272.08	775.86
χ^2	0.65	0.03	0.27

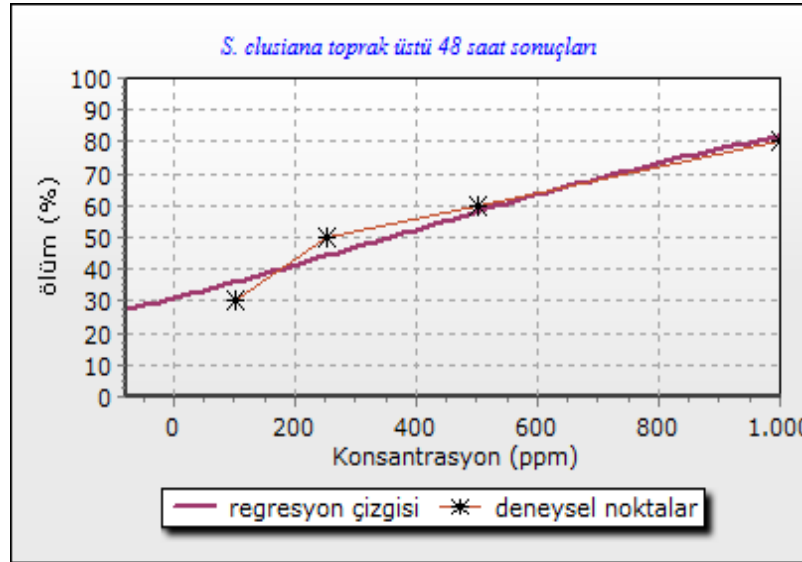
Kontrol: dH₂O

x: Bir satırda küçük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).

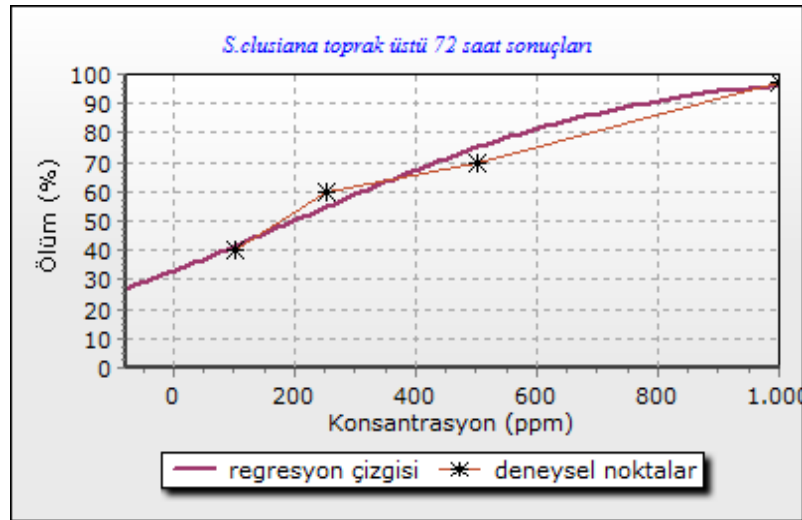
y: Bir sütunda büyük harfler aynı ise istatistiksel bir farklılık yoktur ($p \leq 0.05$).



Şekil 3.42: *S. clusiana* toprak üstü kısmının 24 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.43: *S. clusiana* toprak üstü kısmının 48 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.44: *S. clusiana* toprak üstü kısmının 72 saatlik yüzde ölüm oranı grafiği

S. clusiana türünün toprak altı kısmı doz açısından değerlendirildiğinde 100 ve 250 mg/mL derişimler arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark var iken 500 ile 1000 mg/mL derişimler arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark görülmemiştir. 1000 mg/mL derişimde %60 ölüm meydana gelmiştir. Toprak üstü kısmı değerlendirildiğinde uygulanan dozlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır. 1000 mg/mL derişimde %100 ölüm meydana gelmiştir.

3.9 Antihelmint Aktivite Sonuçları

Antihelmint aktivite testi için kurbağadaki helmint grubu olan nematod örnekleri kullanılmıştır. Bunun için 3 farklı konsantrasyondaki metanol özütlerine 6'şar tane nematod örnekleri (*Oswaldocruzia filiformis*, *Rhabdias bufonis*, *Cosmocerca ornata*) eklenmiş ve ölüm süreleri dakika olarak kaydedilmiştir. En kısa zamanda ölüm gösteren özüt en yüksek antihelmint aktiviteye sahip olarak kabul edilmiştir. Bununla ilgili sonuçlar Tablo 3. 29' da verilmiştir. Antihelmint aktivite sonuçlarına göre nematodlar üzerinde en etkili özüt 20 dk ile en kısa zamanda ölüme neden olan *S. clusiana* TA özütü olmuştur.

Tablo 3.29: Metanol özütlerine ait antihelmint aktivite testi sonuçları

Bitki ekstraktları	Ölüm zamanı (Dakika)			
	Kısımlar	Konsantrasyonlar (mg/mL)		
		5 mg/mL	10 mg/mL	20 mg/mL
<i>A. reuterianum</i>	TA	57	38	30
	TÜ	66	45	35
<i>H. lineata</i>	TA	120	100	80
	TÜ	98	95	90
<i>O. umbellatum</i>	TA	115	105	100
	TÜ	130	120	105
<i>S. clusiana</i>	TA	48	35	20
	TÜ	55	40	30
<i>C. coum</i>	TA	78	60	47
	TÜ	65	58	46
Su (kontrol)	-	-	-	-

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda *Allium reuterianum* Boiss., *Cyclamen coum* Miller, *Hyacinthella lineata* (Steudel) Chouar, *Ornithogalum umbellatum* L. ve *Sternbergia clusiana* Ker-Gawl. bitkilerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol, metanol ve aseton ekstralarının bazı biyolojik aktiviteleri belirlenmiştir. Bitkiden beklenen etkinin tam olarak alınabilmesi için bitkiye uygulanacak ekstraksiyon yöntemi ve varsa bu yöntemde kullanılacak uygun çözücünün seçimi çok önemlidir. Bizim çalışmamızdaki ekstraksiyon verimi verileri ise çözücülere göre metanol>etanol>aseton şeklindedir (Tablo 3.1). Bitkilerden elde edilen ekstralarda kuru bitki üzerinden hesaplanan en fazla ekstraksiyon verimi; *S. clusiana* TA metanol ekstresinden (%34.24) elde edilmiş en düşük verim ise *O. umbellatum* TÜ aseton ekstresinden (%1.50) elde edilmiştir.

Farklı ekstralardan elde edilen ekstre verimindeki farklılıklar, bitkinin sahip olduğu kimyasal kompozisyonundan, bitki ekstraksiyonu yapılırken ekstraksiyonda kullanılan maddeden ve yöntemdeki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Hayouni ile Özcan ve diğ. (2007) farklı yöntemler ve farklı polariteye sahip çözücüler kullanarak yaptıkları araştırmalar sonucunda, % ekstrakt miktarları üzerine polar çözücülerin apolar çözücülerden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Metanol, aseton ve hekzana göre daha güçlü polar bir çözücü olduğu için hekzan ve asetonun çözebileceğinden daha fazla flavonoid ve polifenol bileşiği çözüldüğünden dolayı yüksek radikal süpürme etkisi göstermiştir.

Fenolik bileşikler bitkiler aleminin önemli doğal bileşenleridir ve son yıllarda gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin incelenmesi giderek önem kazanmaktadır (Nehir El ve diğ. 1999). Hidroksil grupları bulunduklarından fenoller, radikal yok etme yetenekleri nedeniyle çok önemli bitki bileşenleridir (Hatano ve diğ. 1989). Aynı zamanda fenolik bileşikler doğrudan doğruya antioksidan aktiviteye katkıda bulunabilirler (Duh ve diğ. 1999). Polifenolik bileşikler, potansiyel bir antioksidant olduğu için antioksidant aktivite belirlemede, toplam fenolik madde miktarlarının bilinmesi önemlidir.

Folin-Ciocalteu yöntemi gıda ve tıbbi bitkilerde fenolik madde miktarını belirlemek için kullanılan en eski yöntemlerden biridir. Fenolik bileşikler bazik

koşullar altında Folin-Ciocalteu ayırıcı ile reaksiyona girer. Fenolik protonun ayrılması ile fenolat anyonu oluşur ve buda Folin ayırıcını indirgeyebilir. Test sisteminde oluşan mavi renki molibdenyum oksit 750 nm’de maksimum absorbans verir. Oluşan mavi rengin yoğunluğu test örneğindeki fenolik bileşiklerin toplam miktarını yansıtmaktadır (Abdel-Hameed 2009).

Çalışmamızda bitki ekstraktlarındaki toplam fenoliklerin miktarı FCR ile tayin edilerek ekstraktlardaki miktarlar genel standart olarak kabul edilen gallik asit cinsinden hesaplanmıştır. *S.clusiana* TA etanol ekstraktı (9.77 ± 5.021 mg/mL GAE) en yüksek toplam fenolik madde miktarına sahip iken *C. coum* TÛ aseton ekstraktı (1.56 ± 2.032) en düşük toplam fenolik madde miktarına sahiptir. Ekstraktlar flavonoid miktarı açısından değerlendirildiğinde ise en yüksek flavonoid madde miktarı *H.lineata* TÛ etanol ekstraktında (97.48 ± 5.032 mgQE/g) gözlenirken en düşük flavonoid madde miktarı ise *A. reuterianum* TÛ aseton ekstraktından (5.21 ± 4.052 mgQE/g) elde edilmiştir.

Antioksidan aktivite testleri literatürde yer alan çeşitli metodlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bitki ekstrelerinin, farklı fonksiyonel gruplara sahip onlarca bileşiğin karışımı halinde olması sebebiyle içerdiği bileşiklerin polarite ve kimyasal davranışlarına bağlı olarak; ekstreler uygulanan test sisteminde farklı sonuçlar verebilmektedirler. Bu nedenle ekstrelerin antioksidan potansiyellerinin değerlendirilmesinde birden fazla test sonucuna göre değerlendirme yapılması gereklidir. Bu çalışmada antioksidan aktivite β -karoten linoleik asit, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, ABTS (katyon giderim aktivitesi) ve FRAP yöntemi olmak üzere dört farklı testle belirlenmiştir.

Bitki özütlerinin toplam antioksidan aktiviteleri, β -karoten linoleik asit model sistemiyle belirlenmiştir. Bu sistem, linoleik asidin inkübasyonu sırasında oluşan peroksit ürünlerinin β -karotenin karakteristik sarı rengini tepkime vererek gidermesi ve bu renk gideriminin spektroskopik olarak takip edilmesi temeline bağlıdır. Sistemde antioksidanların bulunması ya da sisteme antioksidan içerikli özütlerin ilave edilmesi, linoleik asitten oluşan peroksit ürünlerinin bu antioksidanlarla nötralize edilmesini sağlar ve bunun sonucu olarak da β -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur. β -karoten lineolik asit emülsiyon sistemi yöntemin sonuçlarına bakıldığında ekstraktların linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme oranları %42.64-85.91 arasında dağılım göstermektedir. Türler arasında en yüksek antioksidan aktivite *S.clusiana* TA metanol ekstraktından (85.91 ± 0.09), en düşük antioksidan

aktivite ise *A. reuterianum* TÜ aseton ekstraktından (42.64±0.07) elde edilmiştir. BHA'nın inhibisyon oranları sırasıyla %96.76, %98.73 ve %95.62 olarak tespit edilmiştir.

Özen ve diğ (2010) yaptıkları çalışmada *O. umbellatum* türünün de içinde bulunduğu antioksidan aktivite incelemesinde total antioksidan kapasitesilerini, DPPH serbest radikal giderim aktivitesini araştırmışlardır. Ayrıca toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin de bulmuşlardır. Sonuç olarak serbest radikal giderim aktivitesini %60 iken antioksidan aktivitesini α -tokoferole eşdeğer olarak 7000 μ mol/g olarak tespit etmişlerdir.

Antioksidan maddelerin antioksidan özelliklerinden bir tanesi de, ortamda oluşan radikalleri süpürmeleridir. Radikaller eşleşmemiş elektron içeren atom ya da moleküllerdir. Örneğin, hidroksil (OH•), süperoksit (O₂•-), peroksil (RO₂•), alkoksil (RO•) radikalleri gibi. Radikalle bu eşleşmemiş elektronlarını eşleştirme eğiliminde oldukları için reaktiftirler. Bu sebeple radikaller çevrelerindeki atom ya da moleküllerden elektron kopararak onların yapılarını bozabilirler. Birçok antioksidan, aynı zamanda anti-radikaldir. Bu antioksidanlar radikallerin elektronlarını eşleyerek, onları etkisiz hale getirirler. Ekstrelerimizin anti-radikal özelliklerinin olup olmadığını belirleyebilmek için 517 nm'de maksimum absorbans veren DPPH radikali kullanılmıştır. DPPH konsantrasyonu azaldıkça, absorbans da azalmaktadır. Bu nedenle antioksidan maddeler, 517 nm'de DPPH absorbansında azalmaya neden olurlar. DPPH radikalının ortamdaki miktarının azalması ile absorbansın azalması belli bir antioksidan derişimine kadar doğru orantılıdır. Absorbansın düşmesinin sebebi, radikal ile antioksidan moleküllerin reaksiyonu sonucu hidrojen bağlanması ile radikalın giderilmesidir. DPPH radikalının % 50'sinin oluşumunu engelleyen madde miktarı IC₅₀ olarak tanımlanır ve düşük IC₅₀ değeri yüksek radikal temizleme aktivitesini gösterir. Buna göre IC₅₀ değeri en düşük olan *S.clusiana* TA etanol ekstraktı (0.289 mg/mL) en yüksek antiradikal aktiviteye sahip iken *C. coum* TÜ aseton ekstraktı (2.974 mg/mL) en düşük antiradikal aktiviteye sahiptir.

C. mirabile ile yapılan bir çalışmada bitkinin tuber etanol ve metanol ekstraktlarının antioksidan kapasitesi DPPH (DPPH serbest radikali süpürücü aktivitesi) deneyi ile belirlenmiştir. 60 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan ekstraktlarda etanol ekstraktının inhibisyon değeri %87 iken metanol ekstraktının inhibisyon değeri %77 olarak tespit edilip etanol ekstraktlarının daha güçlü aktiviteye sahip olması ile sonuçlandırılmıştır (Okmen 2014).

Zengin ve diğ. (2015) *O. narbonense* L. türü ile yaptıkları çalışmada etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini ve fenolik içeriklerini araştırmışlardır. En yüksek fenolik madde miktarı etil asetatlı ekstraktlarda $21.05 \pm 0.33 \text{ mgGAE/g}$ olarak tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite DPPH, ABTS, FRAP yöntemleri ile değerlendirilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite ABTS yönteminde troloks eşdeğeri $30.32 \pm 1.62 \text{ mg TE/g}$ olarak tespit edilmiştir.

Bir redoks reaksiyonu olan ve kısaca demir indirgeme kuvveti (FRAP) olarak adlandırılan test, biyolojik materyallerin toplam antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Biyoaktif bileşiklerin indirgeme gücünü yansıtan, elektron verme kapasitesinin antioksidan aktivite ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Arabshahi-Delouee ve Urooj 2006). Bir bileşiğin ya da ham ekstraktın indirgeme kapasitesi $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{+3}$ 'nin $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{+2}$ 'ye indirgenmesiyle ölçülebilir. İndirgenmiş ürüne Fe^{3+} 'ün ilavesiyle 700 nm 'de güçlü absorbansa sahip olan Prussian mavisi renginde bir kompleks olan $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ meydana gelir. Absorbansdaki artış, kompleksin oluşumundan kaynaklanan artışı ve dolayısıyla artan indirgeme kapasitesini göstermektedir.

İndirgeme gücünde absorbansın artması ile antioksidan kapasite doğru orantılıdır. En yüksek absorbansa sahip *S.clusiana* TA metanol özütünde (2.476), en düşük indirgeme kapasitesi *A. reuterianum* TÜ aseton özütünde (0.111) absorbans değerleri ile elde edilmiştir.

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi gibi $\text{ABTS}^{\bullet+}$ giderme aktivitesi de sulu karışımların, içeceklerin, ekstrelerin veya saf maddelerin radikal giderme aktivitelerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Miller ve diğ. 1996, Gülçin ve diğ. 2007). Ekstrelerin katyon radikali giderim aktivitesi ABTS yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yöntemle göre katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek ekstrakt *A. reuterianum* TA metanol ekstraktı (%93.5) iken en düşük katyon radikal giderim aktivitesi *H. lineata* TA aseton ekstraktından (%13.2) elde edilmiştir.

İçerisinde *C. persicum* türünde bulunduğu antioksidan aktivite çalışmasında metanol ve su ekstraktlarının ABTS ve Folin–Ciocalteu kolorimetrik yöntemleri ile antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Yapılan analizlere göre metanol ekstraktlarının daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır (Tawaha 2007).

Çalışmada metanolik ekstraktlarda var olan fenolik bileşikleri belirlemek amacıyla 9 ayrı saf fenolik standart kullanılarak HPLC ile ayırma ve tanımlamalar

yapıldı. Bu amaçla yapılan HPLC içerik analizi ile ekstraktlarda gallik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit, 4-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinamik asit kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilmiştir.

Elde edilen kromatogramlardan ekstraktlarda total miktarı ile en fazla bulunan gallik asit, sinamik asit, ferulik asit, 4-hidroksi benzoik asit ve ardından 3,4-dihidroksi benzoik asit takip etmektedir.

Godevac ve diğ., (2008) *Allium ursinum* L. türünün uçucu yağının GC-MS analizinde toplam yirmi adet bileşik kaydedip bu bileşiklerin sülfür grubu bileşenler olduğunu tespit etmişlerdir.

Kyung, (2011) yapmış olduğu çalışmada farklı *Allium* türlerinde genel olarak sülfürlü bileşenlerin olduğu (aliin, metil sülfoksit, allisin) ortaya koymuştur. Genel olarak *Allium* cinsinin aktivitesine içeriğindeki kükürtlü bileşenlerin katkıda bulunduğunu saptamıştır.

Sternbergia türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda Amarylidaceae alkaloidleri başta olmak üzere, lektinler ve fenolik asitler elde edilmiştir (Nikolova ve Gevrenova 2005) .

S.clusiana'nın kimyasal bileşenlerinin araştırıldığı bir çalışmada; metilheksadekanoat, oktadekanoik asit, heksadekanoik asit gibi yağ asitleri ve esterleri ile *N*-(p-hidroksi-β-feniletıl)-phidroksi- trans sinnamamit, β-sitosterol ve glikozidinin de izole edildiği bildirilmiştir (Al-Khalil ve diğ. 1997).

Delazar ve diğ (2009) *O. procerum* türü ile yaptığı çalışmada Soxhlet cihazı ile metanol ekstraksiyonu elde etmiştir. GC-MS içerik analizi çalışmasında toplam 23 bileşik belirlemiştir. Bu bileşiklerden en fazla bulunanlar arasında phenylacetaldehyde (%7.57), hexahydrofarnesyl acetone (%8.13), docosan (%5.52) and 5-methyl octadecane olarak belirlemiştir.

Bitkilerde bulunan fitokimyasalların biyolojik aktiviteleri ile bitki bileşiklerini taramak için geliştirilmiş basit biyo-testler, bitki ekstraktları için bir kılavuz olarak kullanılabilir. Biyo-testlerin pratik kullanımında seçilecek olan canlı modelin yaşam döngüsünün herhangi bir aşamasının olası kontaminantlara karşı dayanıklı olması, kolay elde edilebilir olması ve kolay kültüre edilebilmesi gerekmektedir (Wells 1999). Bitkisel ilaçların olası yan etkilerinin hızlı sonuç veren bir belirteci olarak Brine Shrimp Letalite Testi (BSLT), uygun bir test yöntemidir. Brine shrimp (*A. salina*); kültürünün kolay yapılabilmesi, kısa jenerasyon zamanı,

kozmpolit yayılım ve ticari olarak dormant yumurtalarının elde edilebilmesi nedeniyle kısa süreli toksisite testi için uygun bir test organizması olarak popularitesini arttırmıştır (Persoone ve diğ. 1989). BSLA, LC₅₀ düzeyinin tespitinde de kullanılan toksisite testlerindedir. Bu larvalar, günümüzde biyolojik aktiviteleri araştırılan örneklerin ve bitkisel içeriklerin sitotoksitesinin belirlenmesinde etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Sharififar ve diğ. 2009). Yapılan Brine Shrimp Letalite Testi (BSLT) sonuçlarına göre metanol ekstraktları içinde en yüksek sitotoksik aktiviteyi 44.023 mg/mL LC₅₀ değeri ile *S.clusiana* TA gösterirken en düşük sitotoksik aktiviteyi ise 242.226 mg/mL LC₅₀ değeri ile *C.coum* TÜ göstermiştir.

A. salina'nın kullanıldığı bazı akuatik toksisite testleri ile, rodentlerin (fare veya rat) kullanıldığı toksisite testleri arasında bir korelasyon olup olmadığını anlamak üzere bazı çalışmalar yapılmış ve ümit verici sonuçlar elde edilmiştir. Her iki testten elde edilen LD₅₀ değerleri, aynı kimyasalların insanlar için geçerli olan akut oral letalite verileriyle kıyaslandığında, sonuçlar arasında genellikle iyi bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. Benzer olarak, bu kimyasalların, oral akut toksisite potansiyellerinin test edilip, insanlar için geçerli olan akut dozlarla kıyaslandığında; akuatik testlerin, rodent testlerine nispeten biraz daha iyi sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Ancak akuatik toksisite testlerinin, suda çözünebilir maddelerin toksisite değerlerinin saptanmasında daha uygun olduğuna da değinilmiştir (Calleja ve Persoone 1992, Lagarto ve diğ. 2001). Yine başka bir çalışmada ise, *A. salina* ile yapılan bu testin modifiye edilmiş şekli ile alınan sonuçlar, memeli hücre kültürleri ile yapılan toksisite testlerinde alınan sonuçlarla karşılaştırılmış ve birbiriyle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir (Lewan ve diğ. 1992). Bütün bu veriler göz önüne alındığında toksik maddelerin in-vivo olarak *A. salina* larvalarına olan öldürücü etkisi, hızlı ve basit bir yöntem olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Choundhary ve Thomsen, 2001).

Günümüzde enfeksiyon hastalıkları, enfeksiyon etkeninin duyarlı bulunduğu en uygun antimikrobiyal madde ile tedavi edilir. Bunun için de, o hastalıkta etken mikroorganizmanın antibiyotiklere karşı gösterdiği duyarlılık deneyi sonuçlarından faydalanılır. Bitki özütlerinin antibakteriyal aktivitelerini tayin etmek amacıyla broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Bunun için bir adet Gram pozitif; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve bir adet Gram negatif; *Escherichia coli* (ATCC 25922) olmak üzere iki adet bakteri suşu kullanılmıştır. Test bakterilerinin

duyarlılıklarını tespit etmek için deneylere paralel olarak Gentamicin ve Oxacillin antibiyotiklerinin MİK (minimal inhibisyon konsantrasyonu) değerleri de tespit edilmiştir. Sonuçlara genel olarak bakıldığında *A. reuterianum* ekstraktı 25µg/mL MİK değerine sahip olmakla hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler üzerinde etkili olmuştur.

Lazarevic ve diğ., (2010) *A. sphaerocephalon* L. subsp. *sphaerocephalon* türünün antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Antioksidan aktivitesinin (160 000 ± 111 µmol) α-tokoferol asetata eşdeğer olarak bulunduğu antimikrobiyal aktivitesi için ise beş bakteri türüne (*P.aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* ve *S. abony*) ve iki mantar (*A. niger* ve *C. albicans*) türüne karşılık MIC yöntemiyle test edilmiş olup sonuç olarak MIC değerlerinin 0.08 and 0.63 mg ml⁻¹ arasında değiştiğini saptamıştır.

C. coum türünün bütanol çözücüsü ile elde edilmiş tuber ekstraktların *P. aeruginosa* suşlarına karşı antibakteriyal aktivitesi agar kuyu difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Testin sonucunda MIC değerinin (74 µg/mL) çıkması ile antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Shafiei ve diğ. 2014).

Mnayer ve diğ. (2014), yaptığı çalışmada *Alliaceae* familyasına ait bazı türlerin (*A.sativum*, *A.cepa*, *A.porrum*, *A. tuberosum*, *A.ascalonicum* ve *A.schoenoprasum*) antibakteriyal aktivitelerini disk difüzyon metodu ile incelemişlerdir. Bunun için iki Gram-pozitif *S. aureus* (ATCC 25923), *L. monocytogenes* (ATCC 19115) ve üç Gram-negatif *S. typhimurium* (ATCC 14028), *E. coli* (ATCC 8739) ve *C. jejuni* (ATCC 33291) bakteri suşlarını kullanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre *A.sativum* türünün en büyük inhibisyon zon çapıyla (23 mm) diğer türlere göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

C.coum ve *C. mirabile* türlerinden izole edilen saf saponinlerin maya benzeri mantarlara (vajinal enfeksiyonlara sebep olan) ve bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesi mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. *Candida* türlerine karşı daha etkili olduğu saptanmıştır ve antifungal etkileri açısından MİK değeri 80-160µg/mL bulunmuştur (Çalış ve diğ. 1996).

Sentetik insektisitlerin, tarımsal üretimde (modern tarımda) yerini almasından 20 yıl sonra, yaygın çevresel kirlenmeler yaşanmış ve hedef olmayan organizmalar ve insanlar üzerinde olumsuz etkiler görülmüştür. Bu etkiler alternatif doğal yöntemlerin (genellikle bitkisel ürünleri içeren) yeniden doğmasına neden olmuştur (Regnault-Roger ve diğ. 2005). Mahsul ve depolanmış ürünlerin zararlı böceklerden

korunmasında, bitkilerin, bitkisel materyallerin ve ham bitki ürünlerinin (botaniksel böcek öldürücüler) kullanılması muhtemelen ürün korumanın kendisi kadar eskidir (Thacker 2002). Günümüzdeki alternatif stratejilerin çoğunun amacı klasik böcek öldürücülerin kullanımını azaltmaya yöneliktir. Ekokimyasal kontrol yöntemi bitki-böcek ilişkisine dayanan en ümit verici stratejilerden biridir. Bitkilerdeki biyokimyasal olaylardan sonra sentezlenen sekonder metabolitler, bitki-zararlı ilişkilerinde önemli rol oynar.

Vektör kökenli hastalıklar her yıl dünyada milyonlarca insanı etkilemekte ve vektör organizmalar ve zararlı organizmalar ile mücadelede en büyük payı sentetik insektisitler almaktadır. Ancak sentetik insektisitlerin çevre ve hedef dışı organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle, çevreye uyumlu alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi zorunluluk halini almıştır. Sivrisinekler, bulaşıcı hastalıklara aracılık eden canlılar arasında biyolojik potansiyelleri en yüksek olanlardır. *Culex pipiens* (L.) III. ve IV. evre larvaları üzerinde yapılan metanol ekstraktlarının larvasit etkisi çalışmasında, deney 4 farklı konsantrasyonda (100, 250, 500, 1000 mg/mL) yapılmıştır. LC₅₀ değeri bir populasyonun yüzde ellisini, LC₉₀ değeri ise bir populasyonun yüzde doksanını öldüren konsantrasyon değeridir ve bu değer ne kadar düşük olursa o kullanılan maddenin öldürücülüğü o kadar fazladır.

A. reuterianum türünün 72 saat sonunda LC₅₀ değeri açısından değerlendirildiğinde, toprak altı kısmı daha çok toksik etki göstermiştir (*A. reuterianum* toprak altı kısmı LC₅₀ değeri: 114.12 mg/mL, *A. reuterianum* toprak üstü kısmı LC₅₀ değeri: 293.22 mg/mL). Genel olarak *A. reuterianum* toprak altı kısmı daha çok toksik aktivite göstermiş bulunmaktadır.

C.coum türünün 72 saat sonunda LC₅₀ değeri açısından değerlendirildiğinde toprak altı kısmı daha çok toksik etki göstermiştir (*C.coum* toprak altı kısmı LC₅₀ değeri: 296.80 mg/mL, *C.coum* toprak üstü kısmı LC₅₀ değeri: 561.95 mg/mL). Genel olarak *C.coum* toprak altı kısmı daha çok toksik aktivite göstermiş bulunmaktadır.

H.lineata 72 saat sonunda LC₅₀ değeri açısından değerlendirildiğinde, toprak üstü kısmı daha çok toksik etki göstermiştir. (*H.lineata* toprak üstü kısmı LC₅₀ değeri: 477.86 mg/mL, *H.lineata* toprak altı kısmı LC₅₀ değeri: 1263.50 mg/mL). Genel olarak *H.lineata* toprak üstü kısmı daha çok toksik aktivite göstermiş bulunmaktadır.

O. umbellatum 72 saat sonunda LC₅₀ değeri açısından değerlendirildiğinde, toprak üstü kısmı daha çok toksik etki göstermiştir. (*O. umbellatum* toprak üstü kısmı LC₅₀ değeri: 172.33 mg/mL, *O. umbellatum* toprak altı kısmı LC₅₀ değeri: 394.55 mg/mL). Genel olarak *O. umbellatum* toprak üstü kısmı daha çok toksik aktivite göstermiş bulunmaktadır.

S. clusiana 72 saat sonunda LC₅₀ değeri açısından değerlendirildiğinde, toprak üstü kısmı daha çok toksik etki göstermiştir. (*S. clusiana* toprak üstü kısmı LC₅₀ değeri: 164.69 mg/mL, *S. clusiana* toprak altı kısmı LC₅₀ değeri: 521.77 mg/mL). Genel olarak *S. clusiana* toprak üstü kısmı daha çok toksik aktivite göstermiş bulunmaktadır.

Türler arasında LC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında larvalara karşı en yüksek insektisit etkiyi *A. reuterianum* türünün toprak altı kısmı (LC₅₀: 114.12 mg/mL) göstermiştir.

Allium sativum ile yapılan bir çalışmada, sarımsağın çiğ veya kuru ekstraksiyonlarının *Culex* cinsi sivrisinek larvalarına karşı %90 toksik olduğu bildirilmiştir (Claire 1999).

Oz ve arkadaşlarının (2013) yaptığı *Cyclamen* türlerinin larvasidal etki deneyinde, *Cyclamen alpinum* türünün yer altı kısmının etanol çözücüsüyle elde edilen ekstratın 3. ve 4. evre sivrisinek larvalarında 72 saat sonrasında LC₉₀ değeri 493.8 ppm bulmuşlardır.

Böceklerle mücadelede sentetik kimyasalların kullanılması durumunda biyolojik parçalanma sürelerinin doğal kimyasallara nazaran uzun olmasından dolayı çevresel sorunlara neden olmaktadır (Isman 2006). Bu nedenle son zamanlarda zararlılarla mücadelede alternatif, doğal insektisitlerin geliştirilmesi konusunda çalışmalar yaygınlaşmıştır (Murray ve diğ. 1999, Scott ve diğ. 2003, Gokce ve diğ. 2006, Atanasov ve Gerasimova 2007). Bitkilerden elde edilen ekstre ve saf maddelerin zararlılara karşı toksik, uzaklaştırıcı, beslenmeyi engelleyici, gelişmeyi ve çoğalmayı engelleyici etkileri olduğu rapor edilmiştir (Singh ve diğ. 1989, Shukla ve diğ. 1989, Mwangi ve diğ. 1992, Shaaya ve diğ. 1993, Schmitt 1994, Ndungu ve diğ. 1995). *Derris* spp., *Lonchocarpus* spp. ve *Tephrosia* spp. bitkilerinin köklerinden elde edilen "rotenon" bileşiği 1930'lu yıllardan beri *Leptinotarsa decemlineata*'ya karşı ticari bir insektisit olarak kullanılmaktadır (Duke 1990).

Çetin ve arkadaşları (2006) beş Labiatae (lamiaceae) türünün (*Teucrium divaricatum* Sieber, *Mentha longifolia* (L.) Huds., *Melissa officinalis* L., *Salvia*

sclarea L. *Mentha pulegium* L.) yer üstü kısmında *Culex pipiens*'e karşı larvasidal etki deneyinde LC₅₀ değerleri sırasıyla 18.6, 26.8, 39.1, 62.7 ve 81.0 ppm değerleri olarak belirlemiş ve en toksik türü *Teucrium divaricatum* olarak bulmuştur.

Cyclamen hederifolium ile yapılan çalışmada yumruları dövülüp belli bir miktar suyun içine konularak, daha sonra süzülüp suyu tütün fideliğine verilerek zararlı böcekleri öldürücü olarak kullanılmıştır (Tuzlacı 2004). İçeriğindeki saponinlerin böceklere karşı olan toksitesinin, bitkiyi böcek saldırılarına karşı koruduğunu göstermektedir.

Tarımsal üretimde gizli düşman olarak kabul edilen ve önemli ürün kayıplarına sebep olan parazit nematodlarla savaşmada kullanılan birçok sentetik nematisitin üründe bıraktığı kalıntı miktarları ve çevresel kirlenmeye yol açmaları, araştırmacıları düşük riskli ve doğa dostu olan biyopestisitlerin kullanımı düşüncesine sevk etmiştir. Nematisit etkili olduğu bilinen veya potansiyel olduğu düşünülen bazı bitkilerden alternatif tarımsal savaşım yöntemleri olarak yararlanılmaktadır.

Bitkilerde bulunan toksik bileşiklerden olan sekonder metabolitlerin, sentezlendiği bitkide primer fizyolojik süreçte çok az derecede öneme sahip olsa da nematisit etkileri bakımından önemleri bulunmaktadır (Tan 2011). Antihelmint aktivite testi için helmint grubu olan nematod örnekleri kullanılmıştır. Nematodlara metanol ekstraktları uygulanmış ve nematodların ölüm süreleri takip edilmiştir. Yapılan test sonucunda 20 dakika süre ile en kısa zamanda ölüm göstererek antihelmint aktivite gösteren ekstrakt *S.clusiana* TA ekstraktı olmuştur. Literatürde bu tez çalışmasında kullanılan bitkilerin antihelmint aktivitelerini kıyaslamak için aynı bitkilerle yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Sonuç olarak; geofit türlerinin biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı bu tez çalışmasında sonuçlar umut vadeci kabul edilmektedir. Bu çalışma sonuçlarının gıda, eczacılık, tıp ve doğal tedavi başta olmak üzere birçok alanda doğal bileşiklerin kullanılmasına yönelik artan çalışmalara katkı sağlayacağına inanılmaktadır. Daha sonraki çalışmalarda biyoaktiviteye sahip etken bileşiklerin izolasyonu, saflaştırılması ve yapısının aydınlatılması çalışmaları gerçekleştirilebilir. Çalışılan bazı bitkilerin (*A. reuterianum* ve *H. lineata*) endemik bitkiler olmasıyla çalışmamız sahip olduğumuz doğal zenginliğin çok yönlü kullanımını ortaya koymasından önem taşımaktadır. Çalışılan bitkilerin söz konusu biyolojik özelliklerinin ilk kez bu çalışmayla araştırılıyor olması, çalışmanın özgün değerini arttırmaktadır.

5. KAYNAKLAR

Abdalla, S., Abu Zarga, M., Sabri, S., “Alkaloids of *Sternbergia clusiani* and Effects Lycorine on Guinea-pig Isolated Pulmonary Artery and Heart”, *Fitoterapia*, 64(6), 518-523, (1993).

Abdel-Hameed, E.S.S., “Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples”, *Food Chemistry*, 114 (4), 1271-1277, (2009).

Ahıskalıoğlu, A., “*Anemone Narcissiflora* Bitkisinin Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, (2007).

Al-Khalil, S., Sabri, S., Al-Dwairi, W., El-Aisawi, D., Abuzarga, M., Voelter, W., Zeller, K.P., “Chemical Constituents of *Sternbergia clusiana*”, *Alexandria Journal Pharmaceutical Sciences*, 11(2), 65-69, (1997).

Amin, I., Zamaliah, M.M., Chin, W.F., “Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables”, *Food Chemistry*, 87, 581-586, (2004).

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. “Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method”, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 52, 7970–7981, (2004).

Arabshahi-Delouee, S., Urooj, A., “Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves”, *Food Chemistry*, 102, 1233-1240, (2006).

Arkan, T., “*Daphne oleoides* Subsp. *oleoides* ve *Daphne sericea*’ nın Farklı Çözücülerle Antioksidan Özellikleri”, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Konya, (2011).

Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., ve Legret, P., “Standardisation d’un extrait de propolis et identification des principaux constituants”, *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49, 462-468, (1994).

Atanasov, A. and Gerasimova, N., “Determination of the quantity of biologically active substance from *Nicotiana tabacum* L. and *Veratrum album* L. Insecticidally active against species from the *Pseudococcus* genus (Homoptera:Pseudococcidae)”, *Plant Science*, 44(3), 248-251, (2007).

Atayeter, E., “Bazı Endemik *Hyacinthella* Schur (Liliaceae) Taksonlarının Morfolojik Ve Anatomik Özellikleri”, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Konya, (2007).

Baktır, İ., Karagüzel, Ö., “Antalya Yöresinde Süs Bitkisi Olarak Kullanılabilecek Endemik *Allium* Türlerinin Kültüre Alınması ve Çoğaltılabilmesi Üzerine Araştırmalar”, Tübitak-Tarp-2538, Antalya, (2004).

Başer, K.H.C., “Tıbbi Bitki ve Baharatların Dünyada ve Türkiye’deki Ticareti ve Talep Durumu”, *Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Dergisi*, 53, 18-22, (1990).

Başköşe, İ., Paksoy, M.Y., Selvi, S., “Geophytic Plants Around The Akkaya Dam Lake (Niğde-Turkey) ”, XI.International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials, Antalya, Turkey, 28 March-1 April, (2012).

Baytop, T., “Türkiye’de bitkiler ile tedavi”, Nobel Tıp Kitapevi, Ankara, (1999).

Blois, M. S., “Antioxidant determination by the use of a stable free radical”, *Nature*, 181, 1199-1200, (1958).

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E., “Production of Plant Secondary Metabolites a Historical Perspective”, *Plant Science*, 16, 839-851, (2001).

Burnaz, N.A., “*Viburnum Opulus* Ve *V. Orientale* Bitki Ekstraktlarının Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri”, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon, (2007).

Burt, S., “Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods”, 94, 3, 223–253, (2004).

Calabrese, G., Stefanizzi, L., “*Sternbergia lutea* lipidsoluble pigments during some phases of its biological cycle”, *Giornale Botanico Italiano*, 106(3), 135-149, (1972).

Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., “Antioxidant capacity of tea and common vegetables”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3426-3431, (1996).

Cetin, H., Yanikoglu, A., “A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey” *Journal Vector Ecology*, 31, 118-22, (2006).

Choudhary, I. M., Thomsen, W.J., “Bioassay Techniques For Drug Development”, Harwood Academic Publishers, 8-10, (2001).

Claire J.T, Amanda, C., “The use of garlic (*Allium sativa*) and lemon peel (*Citrus limon*) extracts as *Culex pipiens* larvacides: Persistence and interaction with an organophosphate resistance mechanism”, *Chemosphere*, 39(4), 2489-2496, (1999).

Çalış, İ., Yürüker, A., Şatana, M.E., Tanker, N., Alaçam, R., Demirdamar, R., Sticher, O., “*Cyclamen coum* ve *C. mirabile*’den elde edilen saponozitler ve antimikrobiyal, uterokontraktif etkileri”, Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, A.Ü. Eczacılık Fakültesi, Ankara, 22-24 Mayıs, (1996).

Çetin, H., Cinbilgel, İ., Yanıkoğlu, A., Gökçeoğlu, M., “Larvicidal Activity of Some Labiate (Lamiaceae) Plant Extracts from Turkey”, *Phytotherapy Research*, 20, 1088-1090, (2006).

Dask, K., Tiwari, R. K. S., Shrivastava, D. K., “Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends”, *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 104-111, (2010).

Davis, P.H., “Flora of Turkey and the East Aegean Islands”, *Edinburgh Univ. Press*, Edinburgh, 8, (1984).

Delazar, A., Nazifi, E., Movafeghi, A., Nahar, L., Nazemiyeh, H., Moghadam, S.B., Asnaashari, S., Sarker, S.D., “GC-MS analysis of *Ornithogalum procerum*”, *DARU*, 17, 1, (2009).

Demirelma, H., Uysal, T., “*Allium ertugrulii* sp. nov. (Alliaceae) from southern Turkey”, *Nordic Journal of Botany*, 25,5-6, 315–317, (2007).

Duh, P.D., Tu, Y.Y., Yen, G.C., “Antioxidant activity of water extract of harn jyr (*Chrysanthemum morifolium* Ramat)”, *LWT Food Science Technology*, 2, 269–277, (1999).

Duke, O.S., “Natural Pesticides from Plants”, *Advances in New Crops* <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings> (24/03/2012), (1990).

Frohne, D. and Pfander, H.J., “Poisonous Plants. Translated by: Inge Alford, Cambridge”, *Manson Publishing*, Sh. 469, (2005).

Godevac, D., Vujisic, L., Mojovic, M., Ignjatovic, A., Spasojevic, I. ve Vajs, V., “Evaluation of antioxidant capacity of *Allium ursinum* L. volatile oil and its effect on membrane fluidity”, *Food Chemistry*, 107, 1692–1700, (2008).

Gokce, A., Isaacs, R. and Whalon, M.E., “Behavioural response of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) larvae to selected plant extracts”, *Pest Management Science*, 62(11), 1052-1057, (2006).

Gomes, A. T. B., Bastos, C. G., Afonso, C. L., Medrado, B. F., Andrade, Z. A., “How variable are hydroxyproline determinations made in different samples of the same liver?” *Clinical Biochemistry*, 39, 1160-1163, (2006).

Gökpinar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., “Algal Antioksidanlar”, *Ege Üniversitesi. Su ürünleri Dergisi*, 23, (1/1), 85-89, (2006).

Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L., “Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.), European”, *Food Research and Technology*, 223, 759-767, (2007).

Halliwell, B., Gutteridge, J. M., and Cross, E.C., “Free Radical, Antioxidants, And Human Disease: Where are we now?”, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119, 6, 598-620, (1992).

Harborne, J.B., “Phenolic compounds. In J. B. Harborne, *Phytochemical methods; a guide to modern techniques of plant analysis*”, Chapman and Hall, London, (1998).

Haşimi, N., “*Ajuga vestita* ve *Ajuga xylorrhiza* Bitkilerinin Petrol Eteri, Aseton Ve Metanol Ekstrelerinin Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi”, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, (2012).

Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, E., “Effect of interaction of tannins with co-existing substances VI. Effectsof tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical”, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37, 2016–2021, (1989).

Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., “The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities iv vitro of Tunisian *Quercus coccifera* and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts.” *Food Chemistry* 105(3), 1126-1134, (2007).

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., “The chemistry behind antioxidant capacity assays”, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 53, 1841–1856, (2005).

İşbilir, Ş.S., “Yaprakları salata ve baharat olarak kullanılan bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne, (2008).

Jackson, F. “Antihelmintic resistance - the state of play”, *British Veterinary Journal*, 149(2), 123-138, (1993).

Jacobson, M., “Botanical Insecticides. Past, Present and Future. In: *Insecticides of Plant Origin*. Ed. By Arnason, J:T., Philogene, B.J.R., Morand”, *P. Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* 387, 1-10, (1983).

Karadayı, M. “*Origanum vulgare* L. ssp.vulgare’den Elde Edilen Bazı Etken Maddelerin Ames/*Salmonella* ve *E. coli* Wp2 Test Sistemleri ile Mutajen ve Antimutajen Özelliklerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, (2010).

Kaya, G.İ., “*Sternbergia* Waldst. & Kit. türlerinin kimyasal bileşikleri ve biyolojik aktiviteleri”, *Marmara Eczacılık Dergisi*, 15, 52-57, (2011).

- Konaç, M.U., “Fenollerin Spektrofotometrik Hplc Tayinleri”, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Samsun,(2013).
- Korkmaz, M., “Barsak Helmintleri”, *Ankem Derg.*, 20(Ek 2), 170-176, (2006).
- Koyuncu, M., Geofitler. Bilim ve Teknik Tübitak Yayınları Cilt 27, Sayı 321, Pro-Mat Basın Yayını, A.S. Ankara, (1994).
- Kristensen, M., Jespersen, J.B., “Larvicide resistance in *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) populations in Denmark and establishment of resistant laboratory strains”, *Journal of Economic Entomology*, 96, 1300-1306, (2003).
- Kulisic,M., “Antioxidant properties of thyme (*Thyme vulgaris L.*) and wild thyme (*Thyme serpyllum L.*) essential oils”, *Italian Journal of Food Science*, 17(3), 315-324, (2004).
- Kükcüoğlu, M., Baser, K.H.C., “Headspace Volatiles of Three Turkish Plants”, *J Essent Oil Res*, 22, 389-392, (2010).
- Kyung, K.H., “Antimicrobial properties of *Allium* species”, *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 1–6, (2011).
- Lampe, J.W., “Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies”, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70 (3), 475-490, (1999).
- Larson, R.A., “The Antioxidants of Higher plants”, *Pytochemistry*, 27 (4), 969- 978, (1988).
- Mammadov, R., Düşen, O., Uysal (Demir), D. and Köse, E.. “Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from tubers and leaves of *Colchicum balansae* Planchon.”, *Journal Medicinal Plants Research*, 3(10), 767-770, (2009).
- Martin-Bettolo, G.B. “Present Aspects of the use of medicinal plants in traditional medicine”, *Journal of Ethnopharmacology*, 2, 5-7, (1980).
- Memişoğulları, R., “Diyabette Serbest Radikallerin Rolü Ve Antioksidanların Etkisi”, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3:30-39, (2005).
- Miller, H.M., “A simplified method for the evaluation of antioxidants”, *J Am Oil Chem Soc.*, 48, 91, (1971).
- Mwangi, J. W., Addae-Mensah, I., Muriuki, G., Munavu, R., Lwande, W. and Hassanali, A., “Essential oils of *Lippia* Species in Kenya IV: Maize Weevil (*Sitophilus zeamais*) Repellency and Larvicidal Activity”, *International Journal of Pharmacognosy*, 30(1), 9-16, (1992).

Ndungu, M., Lwande, W., Hassanali, A., Moreka, I. and Chabra, S.C., “*Cleome monophylla* Essential Oil and its Constituents as Tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and Maize Weevil (*Sitophilus zeamais*) Repellents”, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 76(3), 217-222, (1995).

Nehir, El S., Karakaya, S., Taş, A.A., “Bazı gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin in vitro koşullarda saptanması”, TÜBİTAK Projesi No: TOGTAG-1698, İzmir. (1999).

Nikolova, M., Gevrenova, R., “Determination of phenolic acids in Amaryllidaceae species by high performance liquid chromatography”, *Pharmacology Biology*, 43(3), 289-291, (2005).

Oka, Y., Nacar, S. Putievsky, E., Ravid, U. Yaniv, Z. and Spiegel, Y., “Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematodes”, *Journal Phytopathology*, 90, 710–715, (2000).

Okmen, G., Erdal, P., Isik, D. ve Bayrak, D., “The antibacterial activities against mastitis pathogens of *Cyclamen mirabile* Hildebr. tubers and its non-enzymatic antioxidant activities”, *European Journal of Experimental Biology*, 4(2), 370-374, (2014).

Oyaizu, M., “Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine”, *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315, (1986).

Oz, E., Koc, S., Dinc Dusen, O., Mammadov, R., Cetin, H., “Larvicidal activity of *Cyclamen* (Myrsinaceae) extracts against the larvae of West Nile virus vector *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae)”, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 449-452, (2013).

Özcan, M.M., Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., “Türkiye’de ticari açıdan önemli Lamiaceae familyasına ait baharat veya çesni olarak kullanılan bitkilerin fenolik bileşenleri ile antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi.” TÜBİTAK Projesi, No: TOGTAG-3319, Konya, (2007).

Özçelik, B., Lee, J.H., Min, D.B., “Effects of light, oxygen and pH on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method to evaluate antioxidants”, *Journal of Food Science*, 68, 487–490, (2003).

Özen, T., “Antioxidant Activity Of Wild Edible Plants In The Black Sea Region Of Turkey” *Grasas Y Aceites*, 61 (1), 86-94, (2010).

Persoone, G., Van De Vell, A., Van Steergem, M., Nayer, B., “Predictive value for laboratory test with aquatic invertebrates. Influence of experimental condition” *Aquatic Toxicology*, 14, 149-166, (1989).

Pratt, D.E., Hudson, B.J.F., “Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants”, *Elsevier*, 17-192, Amsterdam, (1990).

Ramsdale, C.D., Alten, B.S., Çağlar, S.S., Özer, N., “A revised annotated checklist of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Turkey”, *Journal of the European osquito Bulletin*, 9, 18-28, (2001).

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay”, *Free Radical Bio Med*, 26, 1231-1237, (1999).

Regnault-Roger, C., “The potential of botanical essential oils for insect pest control” *Integrated Pest Manag Rev.*, 2, 15–34, (1997).

Saito, K., Misaki, A., Goldstein, I.J., “Purification and characterization of a new mannose-specific lectin from *Sternbergia lutea* bulbs”, *Glycoconjugate J.*, 14(8),889-896, (1997).

Sargın, S.A., Selvi, S., Akçiçek, E., “Alaşehir (Manisa) ve Çevresinde Yetişen Bazı Geofitlerin Etnobotanik Açıdan İncelenmesi”, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 29 (2),170-177, (2013).

Schmitt, A., “Plant Extracts as Pest and Disease Control Agents”, *Proceedings of the International Meeting*, Trento, (1994).

Scott, I.M., Jensen, H., Scott, J.G., Isman, M.B., Arnason, J.T. and Philogene, B.J.R., “Botanical insecticides for controlling agricultural pests: Piperamides and the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* say (Coleoptera: Chrysomelidae)”, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 54(4), 212-225, (2003).

Sener, B., Bingol, F., Erdogan, I., Bowers, W.S. and Evans, P.H., “Biological activities of some Turkish medicinal plants”, *Pure and Applied Chemistry*, 70(2), 403-406, (1998).

Shanker, C. and K.R. Solanki, “Botanical insecticides: A historical perspective”, *India, Asian Agrihistory*, 4(2), 21-30, (2000).

Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Kostjukovsky, M., Menasherov, M. and Plotkin, S., “Essential oils and their Components as Active Fumigants against Several Species of Stored Product Insects and Fungi”, *ISHS Acta Horticulturae International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants*, Ed: D. Palevitch, and E. Putievski. Tiberias on the Sea of Galilee, Israel, 131-137, (1993).

Shafiei, M., Ali, A.A., Shahcheraghi, F., Saboora, A. and Noghabi, K.A., “Eradication of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms Using the Combination of *n*-

butanolic *Cyclamen coum* Extract and Ciprofloxacin Jundishapur”, *Journal Microbiology*, 7(2), e14358, (2014).

Sharififar, F., Moshafi, M. H., Dehghan-Nudehe, G., Ameri, A., Alishahi, F., Pourhemati, A., “Bioassay screening of the essential oil and various extracts from 4 spices medicinal plants”, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22(3), 317-322, (2009).

Shukla, H.S., Upadhyay, P.D. and Tripathi, S.C., “Insect Repellent Property of Essential Oils of *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum* and Anethole”, *Pesticides*, 23(1), 33-35, (1989).

Shukla, Y., Singh, M., “Cancer preventive properties of ginger: A brief review”, *Food and Chemical Toxicology*, 45, 683-690, (2007).

Singh, R.N. and Saratchandra, B., “The Development of Botanical Products with Special Reference to Seri-Ecosystem”, *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 3(1), 1-8, (2005).

Slinkard, K., Singleton, V.L., “Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods”, *Am J Enol Viticult*, 28, 49–55, (1977).

Stirling, G.R., “Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes. CAB”, *International, Wallingford, UK*, pages 282, (1991).

Şekeroğlu, N., Aydın, K., Gözüaçık, H.G., Kulak, M., “Kilis ilinde yetişen geofitler”, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(1), 199-201, (2012).

Tan, A.N., “Nematisit Etkili Bitkiler ve Bitki Ekstraktları”, *Ege Univ. Ziraat Fak. Derg.*, 48 (2), 165-173, (2011).

Tanker, N., Çitoğlu, G., Gümüsel, B., Şener, B., “Alkaloids of *Sternbergia clusiana* and Their Analgesic Effects”, *Int J Pharm.*, 34(3), 194-197, (1996).

Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T., “Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species”, *Food Chemistry*, 104, 1372–1378, (2007).

Tepe, B.T, Sokmen, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Polissiou, M. and Sokmen, A., “Antimicrobial and Antioxidative Activity of The Essential Oil And Various Extracts of *Cyclotrichium Origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng.”, *Journal of Food Engineering*, 66 447-454, (2005).

Tomruk, E., “Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İçin Hidrofilik Destek Materyal Sentez ve Kromatografik Karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara, (2005).

Tuzlacı, E., “Datça Yarımadası (Muğla) Florası Ve Bu Yörede Halkın Yararlandığı Bitkiler”, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir, Eds. K.H.C.Başer ve N.Kırimer, (2004).

URL-1, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Polifenol>, 14.04.(2006).

URL-3, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.doc>, (2007).

Vaziri, P.A., “Endemik *Muscari aucheri*’nin *In Vitro* Klonal Çoğaltımı Üzerine Araştırmalar”, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara, (2009).

Wang, S.P., Leong, L.P. and Koh J.H.W., “Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants”, *Food Chemistry*, 99, 775-783 (2006).

Wells, P. G., “Biomonitoring the health of coastal marine ecosystems – The role and challenges of microscale toxicity tests”, *Mar. Pollut. Bull.*, 39, 39-47, (1999).

Wu, C., Chen, F., Wang, X., ve diğ., “Antioxidant constituents in fewerfew (*T. parthenium*) extract and their chromatographic quantification”, *Food Chemistry*, 96, 220-227, (2006).

Yen, G.C., Duh, P.D., Tsai, C.L., “Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls ”, *Journal Agric. Food Chem.*, 41, 67-70, (1993).

Zengin, G., Uysal, S., Ceylan, R., Aktumsek A., “Phenolic constituent, antioxidative and tyrosinase inhibitory activity of *Ornithogalum narbonense* L. from Turkey: A phytochemical study”, *Industrial Crops and Products*, 7, 1-6, (2015).

6. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Çiğdem AYDIN
Doğum Yeri ve Tarihi	: Denizli, 09/04/1986
Lisans Üniversite	: Pamukkale Üniversitesi
Y. Lisans Üniversite	: Pamukkale Üniversitesi
Elektronik posta	:cdem.86@hotmail.com
İletişim Adresi	:Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, B Blok, Bodrum kat, Sekonder Metabolit Laboratuvarı

Yayın Listesi

Uluslar Arası Hakemli ve SCI Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. H. Metin, C. Aydın, C. Ozay and R. Mammadov (2013). Antioxidant Activity of the Various Extracts of *Cyclamen graecum* Link Tubers and Leaves from Turkey. *J.Chem.Soc.Pak.*, 35, 5, 1332-1336.
2. R. Mammadov, E. Erciyes, C. Özay, G. Taşdelen, Ç. Aydın (2014).The Antioxidant Activity and the Effects of *Convolvulus Aucheri* (Convolvulaceae) Extract on Biochemical Indices in Rats. *International Journal of Secondary Metabolite*, 1,(1),30-45.
3. Ç. Aydın, C. Özay, R. Mammadov (2014). “Türkiye’de Yayılış Gösteren *Cyclamen* L. Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar”, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 34(2), 96-112.
4. Ç. Aydın, A. Ermiş, R. Mammadov (2015). Phenolic Contents and Antioxidant Properties of *Sternbergia lutea* (L.) Ker-Gawl. Ex Sprengel Ethanol Extract. *International Journal of Secondary Metabolite*, 2,1, 25-50.
5. Ç. Aydın, C. Özay, R. Mammadov (2015). Determination of Antioxidant Activities of Two Endemic *Allium* Species From Turkey: *A. sibthorpiatum* and *A. stylosum*, *Journal of Applied Biological Sciences*, 9(2), 31-36.
6. Ç. Aydın, C. Özay, R. Mammadov. Antioxidant and Antibacterial Activities of Two Endemic *Allium* L. Taxa from Turkey, *International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences (IJCEBS)*, 3 (1), 10-13 (2015).
7. R. Mammadov, C. Ozay, O. Dusen, C. Aydın, H. Yaka, S. Dusen (2016). Evaluation Of Antioxidant, Antimicrobial And Cytotoxic Activities Of *Muscari Muscarini* Medik. Bulb And Flower Extracts From Turkey, *Fresenius Environmental Bulletin*, 25, 5,1679-1684.

8. Ç. Aydın, G. Taşdelen Özcan, M. Turan, R. Mammadov (2016). Phenolic Contents and Antioxidant Properties of *Echinops ritro* L. and *E. tournefortii* Jaup. Et. Spach Extract *Int. J. Sec. Metabolite*, 3,2, pp. 74-81.
9. Ç. Aydın, R. Mammadov (2017). İnsektisit Aktivite Gösteren Bitkisel Sekonder Metabolitler ve Etki Mekanizması. *Marmara Pharmaceutical Journal* 21(1):30-37.
10. C. Aydın, R. Mammadov (2016). Phenolic Composition, Antioxidant, Antibacterial, Larvacidal Against *Culex pipiens* and Cytotoxic Activities of *Hyacinthella lineata* Steudel Extracts. *International Journal of Food Properties* DOI:10.1080/10942912.2016.1236271.
11. S. Dusen, C. Aydın, H. Yaka Gul, C. Ozay, O. Dusen, R. Mammadov (2016). *In Vitro* Cytotoxic Activities of *Cyclamen* L. (Primulaceae) Ethanol Extracts From Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 25(12a):6224-6228.

Konferans Listesi

Uluslar Arası Konferans, Sempozyum ve Toplantılarda Sunulan Tebliğ ve Bildiriler

1. Mammadov R., Metin H., Taştelen G., Aydın Ç., Yarım E. Onopordum tauricum Wild.: Extracts on the effects of hepatocyte replication and checal composition. "1st Symposium Secondary Metabolites: Chemical, Biological and Biotechnological Properties (ISSMET2011)", Denizli, 12-15 September 2011.
2. Aydın, Ç., Mammadov R., Kara, Y. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Allium stylosum* O. Schwarz. "1st Symposium Secondary Metabolites: Chemical, Biological and Biotechnological Properties (ISSMET2011)", Denizli, 12-15 September 2011.
3. Aydın, Ç., Mammadov, R. Antioxidant and DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) free radical scavenging activities of *Allium sibthorpiatum* Schultes & Schultes fil extracts. International Scientific Conference "Actual problems in the use of useful plants" Institute of Botany of the Azerbaijan National Academy of Sciences. 25-28 October 2011.
4. C. Aydın, R. Mammadov, H. Metin, C. Ozay. (2012) Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds of *Allium stylosum* O. Schwarz, Endemic to Turkey, XV. International Scientific and Practical Conference "Modern Technologies in Agricultural Production", 15-19th May, Grodno State Agrarian University, Grodno/BELARUS, p. 319-321 .
5. R. Mammadov, G. Tasdelen, C. Ozay, C. Aydın, H. Metin. (2012) The Effects of *Crataegus eriantha* Pojark. Extract on Liver Regeneration in Rats, The International Scientific Conference "Molecular, Membrane and Cellular Basis of Functioning Biosystems", 19-21th June, Belarusian State University, Minsk/BELARUS, Proceedings, Vol.2, p. 415-417 (Poster sunum).

6. Ç.Aydın, R.Mammadov. (2012) Antioxidant and DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) free radical scavenging activities of *Allium sibthorpiatum* Schultes & Schultes fil extracts. International Scientific Conference “Actual problems in the use of useful plants” Institute of Botany of the Azerbaijan National Academy of Sciences. 25-28 October 2012 (Poster sunum).
7. Ç.Aydın, A.Ermiş, D.Tıraş, E. R Karagür., R.Mammadov (2013). Antioxidant Activity And Total Phenolic Content of *Sternbergia lutea* Ethanol Extract. Information Conference BSU Plant Cell Biology. Minsk, 13-15 February.
8. R. Mammadov, H. Metin, C. Ozay, G. Tasdelen, C. Aydın. (2013) Histological Effects of *Silybum marianum* (L.) Gaertner Seed Extracts on the Stomach Mucosa in Rats, International Conference “Plant Cell Biology and Biotechnology”, February 13-15, Belarusian State University, Minsk/BELARUS, Proceedings, p. 222 (Poster sunum).
9. S. Dusen, R. Mammadov, O. Dusen, H. Yaka, C. Ozay, C. Aydın (2013). Brine Shrimp (*Artemia Salina* L.) Lethality Bioassay Of Some Geophyte Species From Turkey. The International Conference On Environmental Science And Technology(ICOEST’2013-Cappadocia), June 18-21 Ürgüp, Nevşehir, Turkey.
10. R. Mammadov, S. Dusen, C. Ozay, H. Yaka, C. Aydın. (2013) Assessment of Cytotoxic Activities on Some *Alyssum* L. taxa from Turkey, using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Lethality Assay, International Conference on Environmental Science and Technology (ICOEST’2013 – Cappadocia), June 18-21, Ürgüp, Nevşehir/TURKEY, p. 707-708 (Poster sunum).
11. R. Rammadov, E. Erciyes, C. Ozay, G. Tasdelen, C. Aydın. (2014) The Antioxidant Activity and the Effects of *Convolvulus aucheri* (Convolvulaceae) Extract on Biochemical Indices in Rats, II. International Symposium “Secondary Metabolites: Chemistry, Biology and Biotechnology” ISSMET 2014, 19-23 May 2014, Moscow/RUSSIA, p. 17 (Poster sunum).
12. B. Dinc, C. Aydın, C. Özay, M. Turan, E. Erciyes, R. Mammadov The effects of *Convolvulus phrygius* Bornm. (Convolvulaceae) extract on biochemical indices in rats From Turkey. 2nd International Symposium "Secondary Metabolites: Chemistry, Biology and Biotechnology ISSMET 2014, Moskova/Rusya.
13. R. Mammadov, E. Erciyes, C. Özay, G. Taşdelen, Ç. Aydın (2014) “In Vitro Antioxidant Activity of Various Extracts of Whole Plant of *Convolvulus phrygius* Bornm. Endemic to Turkey”, XVII. International Scientific and Practical Conference “Modern Technologies in Agricultural Production”, 16th May, Grodno State Agrarian University, Grodno/BELARUS, p. 142-144 (Poster sunum).
14. S. Koç, E. Öz, Ö. Ser, Ç. Aydın, C. Özay, R. Mammadov, H. Çetin. (2014) *Prospero autumnale* (Asparagaceae) Bitkisinin Soğanından Elde Edilen Etanol Ekstraktının *Culex pipiens* Üzerindeki Larva Öldürücü Etkisi, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Eskişehir, syf: 922 (Poster sunum).

15. C. Aydın ve R. Mammadov (2015). Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents of Leaf and Bulb Extracts from the Endemic *Hyacinthella lineata* Steudel in Anatolia. Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB) 01-05 June Baku, Azerbaijan (Poster sunum).
- 16.C. Aydın, A. Rakhimzhanova, R. Mammadov(2015). Antioxidant and Total Phenolic Contents Of *Cyclamen hederifolium* Tuber and Leaves From Turkey. Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB) 01-05 June Baku, Azerbaijan (Poster sunum).
17. N.Hakverdi, B. Gurcan, O.Gul, C. Aydın, S. Dusen, O. Dusen, R. Mammadov (2015) Radical Scavenging, Antioxidant and Cytotoxic Activity of Ethanol and Acetone Leaf Extract of *Adiantum capillus-veneris* Medik. from Turkey. Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB) 01-05 June Baku, Azerbaijan (Poster sunum).
18. Satybaldiyeva D., Aydın C., Mammadov T., Mammadov R. and Kalashnikova E. Antioxidant Activities And Total Phenolic Contents Of Leaf And Bulb Extracts From The Endemic *Allium reuterianum* Boiss. İn Anatolia. *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2015) 01-05 June 2015, Baku, AZERBAIJAN.*
19. Deniz N. Aydın Ç., Kılınçarslan Ö., Mammadov R. Determination Of Some Biological Activity Of *Crocus Cancellatus* Spp.*Mazziracus* 'S Extracts. *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2015) 01-05 June 2015, Baku, Azerbaijan.*
20. Aydın,Ç.,Mammadov,R. Antioxidant Activities and Chemical Composition of Leaf and Bulb Extracts from the Endemic *Hyacinthella lineata* Steudel in Anatolia. Symposium on EuroAsian Biodiversity-23-27 May 2016, Antalya, Turkey.

Ulusal Konferans, Sempozyum ve Toplantılarda Sunulan Tebliğ ve Bildiriler

- 1.C. Özay, Ç. Aydın, R. Mammadov. (2013) Denizli İlinde Yayılış Gösteren Bazı *Crocus* L. Taksonlarının Bitki ve Toprak İlişkileri, V. Süs Bitkileri Kongresi, 06-09 Mayıs, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yalova, syf: 93 (Poster sunum).
- 2.S. Koç, E. Öz, Ö. Ser, Ç. Aydın, C. Özay, R. Mammadov, H. Çetin (2014) “*Prospero autumnale* (Asparagaceae) Bitkisinin Soğanından Elde Edilen Etanol Ekstraktının *Culex pipiens* Üzerindeki Larva Öldürücü Etkisi”, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir (Poster sunum).