

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

CLADONIA FOLIACAE LİKEN EKSTRAKTININ H₂O₂
TARAFINDAN HASAR GÖRMÜŞ *ALLIUM CEPA L.* KÖK UCU
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ROLÜ

MÜGE HİLOOĞLU

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Mustafa KOCAKAYA

Yozgat 2019

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

CLADONIA FOLIACAE LİKEN EKSTRAKTININ H₂O₂
TARAFINDAN HASAR GÖRMÜŞ *ALLIUM CEPA* L. KÖK UCU
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ROLÜ

MÜGE HİLOOĞLU

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Mustafa KOCAKAYA
İkinci Danışman
Prof. Dr. Dilek PANDIR

Bu çalışma, Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından 6601-FBE/17-114 Kodu ile Desteklenmiştir.

Yozgat 2019



YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
TEZ ONAY FORMU

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans/Doktora Programı 70110316005 numaralı öğrencisi Müge HİLOOĞLU'nun hazırladığı "*Cladonia foliacea* Liken Ekstraktının H₂O₂ Tarafından Hasar Görmüş *Allium cepa* L. Kök Ucu Hücreleri Üzerindeki Koruyucu Rolü" başlıklı tezi ile ilgili tez savunma sınavı, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri gereğince 01/08/2019 Perşembe günü saat 10.00'da yapılmış, tezin onayına oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Sedat PER

Jüri Üyesi (Danışman) : Dr. Öğr. Üyesi Mustafa KOCAKAYA

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Zekiye KOCAKAYA

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 07.../08.../19. tarih ve 36.. sayılı Enstitü Yönetim Kurulu Kararı ile onaylanmıştır.

07/08/2019


Prof. Dr. Mustafa SAÇMACI
Müdür

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	10
1.1. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) ile İlgili Genel Bilgiler.....	1
1.2. <i>Allium cepa</i> ile İlgili Genel Bilgiler.....	2
1.3. Likenler ile İlgili Genel Bilgiler.....	3
1.3.1. <i>Cladonia</i> Cinsi ile İlgili Genel Bilgiler.....	6
1.3.2. <i>Cladonia foliacea</i> (Huds.) Willd.	7
2. MATERYAL VE YÖNTEM	10
2.1. Liken Ekstraktının Preperasyonu	10
2.2. Kimyasallar	10
2.3. Sitogenetik Etki ve Mitotik İndeks (MI) Tayini	10
2.4. FRAP (Demir Azaltıcı Antioksidan Güç) ve TEAC (Troluks Eşdeğer Antioksidan Kapasite)Testleri.....	11
2.5. Canlılık Testi	11
2.6. Komet Testi ile DNA Hasarının Belirlenmesi	12
2.7. DNA İzolasyonu	12
2.8. RAPD-PCR Yöntemi	12
2.9. İstatistik	13
3. BULGULAR	14
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	25
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	37



**CLADONIA FOLIACAE LİKEN EKSTRAKTININ H₂O₂
TARAFINDAN HASAR GÖRMÜŞ ALLIUM CEPA L. KÖK UCU
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ROLÜ**

Müge HİLOOĞLU

**Yozgat Bozok Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

2019; Sayfa: 37

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mustafa KOCAKAYA

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, H₂O₂'nin farklı dozlarının *Allium cepa* L. kök meristematik hücreleri üzerine toksik etkisini araştırmaktır. Hücre ölümü, kromozom sapmaları, mitotik indeks, oksidatif stres ve DNA hasarı belirlenerek bir liken türü olan *Cladonia foliacea* (CF) (Huds)'nin koruyucu etkisi ortaya konulmuştur. Kontrol grubuna herhangi bir kimyasal uygulanmamıştır. Kökler 1 saat boyunca iki doz H₂O₂'ye (% 3 ve % 7) maruz bırakıldıktan sonra 24, 48 ve 72 saatlik zaman periyotları süresince farklı dozlarda CF ekstraktı (50 ve 100 µL) uygulanmıştır. Farklı uygulama sürelerinden sonra köklerin tüm gruplarda hücre ölümü, kromozom sapmaları ve mitotik indeksi ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Köklerin antioksidan kapasitesindeki değişimler FRAP ve TEAC testleri ile değerlendirilmiştir. DNA hasarı, komet yöntemi ve RAPD-PCR testleri ile belirlenmiştir. Kromozomlarda meydana gelen bozulmalar, artan konsantrasyonlarda ve uygulama sürelerinde kromozom köprüsü, vagrant, poliploidi şeklinde tespit edilmiştir. H₂O₂'nin artan dozlarının 72 saatlik muamelesinde mitotik indeks, TEAC ve FRAP değerlerinin azalmasına neden olmuştur. Kuyruk % DNA ve kuyruk uzunluğu, uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artmıştır. 72 saatlik süreçte H₂O₂'nin artan dozları *A. cepa* kök meristematik hücrelerinde RAPD-PCR sonuçlarına göre genotoksitenin artmasına neden olmuştur. CF ekstraktı

uygulanan gruplarda H₂O₂'nin artan dozlarının meydana getirdiği toksitenin önemli ölçüde kullanılan bu parametreleri değiştirdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan CF ekstraktının, H₂O₂'nin *A. cepa* kök meristematik hücreleri üzerindeki sitotoksik ve mutajenik etkilerine karşı koruyucu etki gösterdiği fakat tamamen koruyamadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *C. foliaceae*, DNA hasarı, RAPD-PCR, Genotoksisite, *Allium* test



**PROTECTIVE ROLE OF *CLADONIA FOLIACA*E LICHEN
EXTRACT DAMAGED BY H₂O₂ ON THE ROOT TIP CELLS OF
ALLIUM CEPA L.**

Müge HİLOOĞLU

**Yozgat Bozok University
Graduate School of Natural ve Applied Sciences
Department of Biology
Master of Science Thesis**

2019; Page: 37

Thesis Supervisor: Asst.Prof. Dr. Mustafa KOCAKAYA

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the toxic effect of H₂O₂'s different doses on the *Allium cepa* L. root meristematic cells. Cell death, chromosome deviations, mitotic index, oxidative stress and DNA damage were determined and the protective effect of *Cladonia foliaca* (CF) (Huds) as a lichen species was revealed. No chemicals have been applied to the control group. After the roots were exposed to two doses of H₂O₂ (3% and 7%) for 1 hour, the CF extract (50 and 100 µL) were applied at different doses during time periods of 24, 48 and 72 hours. After different application periods, cell death in all groups of roots, chromosome deviations and mitotic index were examined under light microscope. Changes in the antioxidant capacity of the roots were evaluated by FRAP and TEAC tests. DNA damage was determined by the comet method and RAPD-PCR tests. The distortions occurring in chromosomes have been identified in the form of chromosomal bridge, vagrant, polyploidy in increasing concentrations and application periods. Mitotic index, TEAC and FRAP values decreased in 72 hours with increased doses of H₂O₂. The tail % DNA and tail length have significantly increased in application groups compared to the control group. Increasing doses of H₂O₂ in the 72 hour period resulted in increased genotoxic results according to RAPD-PCR in the root meristematic cells of *A. cepa*. It has been determined that the toxicity of the

increased doses of H₂O₂ with the CF extract treatment groups have changed these parameters significantly. As a result, it has been determined that the CF extract used in this study has a protective effect on the cytotoxic and mutagenic effects of H₂O₂ on the root meristematic cells *A. cepa*, but cannot completely protect it.

Key words: *C. foliaca*, DNA damage, RAPD-PCR, genotoxicity, *Allium* test



TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam boyunca değerli bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olup yol gösteren yardımlarını esirgemeyen, kıymetli danışman Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Mustafa KOCAKAYA'ya ve ikinci danışmanım Sayın Hocam Prof. Dr. Dilek PANDIR'a çok teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Biyoloji Bölümündeki tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Ayrıca maddi manevi destekleriyle her zaman yanımda olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: 6601-FBE/17-114). Maddi desteklerinden dolayı Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. H₂O₂ (%3 ve %7) + CF ekstraktı (50 ve 100 µL) ile muamele edilen soğan kök hücrelerinin kromozom sapmalarının yüzdesi..... **18**

Tablo 3.2 Artan dozlarda H₂O₂ ve/veya CF ekstraktı uygulanan *A. cepa* köklerinden alınan hücrelerde DNA hasarının (±SD) % DNA, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momentinin ortalama değerler..... **23**



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 1.1.** *Cladonia foliacea* (huds.) willd..... 7
- Şekil 3.2.** H₂O₂ (%3 ve %7) + CF ekstraktı (50 ve 100 µL) uygulanmış *A. cepa* köklerinin histokimyasal boya ile canlılığının gösterilmesi..... 15
- Şekil 3.3.** %3 H₂O₂ uygulanan soğan kök hücrelerindeki kromozom anomalisi (A) Anafaz, (B) Metafaz, (C) Telofaz, (D) Kayıp kromozom, (E) Kırık kromozom, (F) Hüresel kromozom anomalisi, (G) Sitomiksis ve Çekirdek tomurcuklanması, (H) Geç anafaz, (I) Geç ayrılma, (J) Karışık metefaz, (K) Çoklu çekirdek lezyonu, (L) Çoklu kutuplaşma, (M) Poliploidi, (N) Yapışkanafaz, (O) Vagrant..... 16
- Şekil 3.4.** %7 H₂O₂ uygulanan soğan kök hücrelerinde kromozom anomalileri (A) Kromozom fragmentleri, (B) c-mitoz, (C) Anafaz köprüsü, (D) Kırık kromozom, (E) Poliploidi, (F) Yapışık Anafaz, (G) Çoklu çekirdek lezyonu, (H) Kromozom köprüsü ve anafaz kırıkları, (I) Sitomiksis ve çekirdek tomurcuklanması, (J) Yapışık metefaz, (K) Geç anafaz, (L) Kromozom köprüsü, (M) Vagrant, (N) Profazda çekirdek lezyonu, (O) Mikronükleus..... 17
- Şekil 3.5.** H₂O₂ (%3 ve %7) + CF ekstraktı (50 ve 100 µL) uygulanmış soğan kök hücrelerinin FRAP sonuçları..... 21
- Şekil 3.6.** H₂O₂ (%3 ve %7) + CF ekstraktı (50 ve 100 µL) uygulanmış soğan kök hücrelerinin TEAC sonuçları..... 21
- Şekil 3.7.** 72 saat H₂O₂ (%3 ve %7) + CF ekstraktı (50 ve 100 µL) uygulanan *A. cepa* köklerinden alınan hücrelerde Komet analizi (A) Kontrol (B) %3 H₂O₂, (C) %3 H₂O₂ + 50 µL CF ekstraktı, (D) %3 H₂O₂ + 100 µL CF ekstraktı, (E) %7 H₂O₂, (F) %7 H₂O₂ + 50 µL CF ekstraktı, (G) %7 H₂O₂ + 100 µL CF ekstraktı..... 22
- Şekil 3.8.** Artan dozlar uygulanana *A. cepa* köklerinden alınan hücrelerin OPB-14 primeri ile oluşturulmuş RAPD bantları. (1) %3 H₂O₂, (2) %3 H₂O₂ + 50 µL CF ekstraktı, (3) %3 H₂O₂ + 100 µL CF ekstraktı, (4) %7 H₂O₂, (5) %7 H₂O₂ + 50 µL CF ekstraktı, (6) %7 + 100 µL CF ekstraktı, (C) Kontrol, (M) Marker, (N) Negatif..... 24

KISALTMALAR LİSTESİ

CF	: <i>Cladonia foliacea</i>
A. cepa	: <i>Allium cepa</i>
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
MI	: Mitotik İndeks
RAPD	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
FRAP	: Demir Azaltıcı Antioksidan Güç
TEAC	: Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ANOVA	: Tek-Yönlü Varyans Analizi
HCL	: Hidroklorik Asit
SD	: Standart Sapma
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
SCE	: Kardeş Kromatid Değişimi

1. GİRİŞ

1.1. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ile İlgili Genel Bilgiler

Hidrojen peroksit; renksiz, kokusu keskin, berrak ve suya karışabilen bir bileşiktir. Hidrojen peroksit ve hidrojen peroksitin yüksek derişimli sulu çözeltileri, karboksilik asit gibi organik çözücülerde çözünebilir [1, 2]. H₂O₂ günlük hayatta, madencilikte, kozmetikte, ilaç sanayisinde, gıda paketlenme sektöründe, atık su arıtmada, tekstil sektöründe, kâğıt üretiminde ve beyazlatmasında, gıda sterilizasyonunda, tarım ilaçlarında ve tarım verimliliğinin artması gibi birçok alanda kullanılan esansiyel bir bileşiktir [3, 4].

H₂O₂, organizmaya dışarıdan girebileceği gibi kuraklık, üşüme, UV ışınlanması, yoğun ışığa maruz kalma, patojenlerin aktivasyonu gibi durumlarda; hücrelerde kloroplast, mitokondri, endoplazmik retikulum gibi organellerde ayrıca plazma membranı elektron taşıma sisteminde ve fotorespirasyon sırasında da üretilir [5]. H₂O₂ son derece güçlü bir oksidan olup çeşitli biyolojik moleküllere zarar veren güçlü bir oksitleyici potansiyele sahiptir [6]. H₂O₂'nin yüksek derişimleri, bakteri, bitki ve hayvan hücreleri için genotoksik ve sitotoksiktir. Bu etkiyi 10-100 µM dozları arasında göstermektedir [6-9]. H₂O₂'nin genotoksik ve sitotoksik etkisi konsantrasyonuna, etki ettiği yere ve maruz kaldığı süreye de bağlı olarak organizmalardaki toksisitesi farklı gözlemlenebilir [10].

H₂O₂'nin yarılanma ömrünün uzun olması, küçük boyutu, hücre zarları geçmesini ve farklı bölgelerde yer değiştirip ilerlemesini sağlar [11]. H₂O₂ lipitte çözünebilir ve biyolojik membranlardan geçerek, hücrelerin içine veya arasına kolaylıkla difüzlenererek veya su kanallarıyla taşınarak hasar oluşturabilmektedir [12, 13]. DNA'da da hasara neden olup bunlardan bazıları, baz hasarı ve nükleik asitlerde iplik kopmasıdır [14, 15].

H₂O₂ enzim inhibisyonuna ve çoğu biyolojik makro molekülün bozulmasına, örneğin lipidlerin peroksidasyonuna, şeker ve protein oksidasyonuna neden olmaktadır [16-19]. Hücrede nekroz ve apoptoza neden olur. Düşük konsantrasyonda apoptoza tetiklediği, yüksek konsantrasyonda ise nekroza yol açtığı yapılan çalışmalarda gözlenmiştir [20, 21].

Birçok çalışma, hidrojen peroksidin sitotoksosite ve tümör nekrozis gibi durumların neden olduğu apoptozda da çok önemli bir rol oynadığını göstermektedir [22-24].

1.2. *Allium cepa* L. ile İlgili Genel Bilgiler

Bitki kökleri biyolojik incelemeler yapmak için son derece uygun materyallerdir. Kökler doğada, toprakta ve suda yayılan kimyasallara maruz kalırlar. Bu kimyasalların etkisini belirlemek için kök ucu sistemi kullanılabilir. Hızlı büyümeye sahip olan kökler makroskobik ve mikroskobik düzeyde çalışmalar yapılarak hücre düzeyinde çalışmalar için niteliksel ve niceliksel veriler elde edilebilir [25].

Yüksek yapılı bitkiler, hayvanlarla kıyaslandığında çevre ile ilgili maddelerin sitotoksosite ve genotoksitenin değerlendirilmesinde; kolay elde edilebilir olmaları, analizlerinin basit ve hassas olmaları nedeniyle oldukça kullanışlı materyallerdir [26, 27]. Ayrıca, bitkilerin kullanıldığı test sistemlerinin güvenilir ve ucuz olmaları son zamanlarda yaygın olarak kullanılmalarında etkili olmuştur [28-30].

İlk olarak Levan [31] *Allium cepa* kök uçlarını kullanarak Kolşisinin etkisini araştırmıştır. 1980'lerde *A. cepa* deney materyali olarak kullanılmış ve Grant'ın [32] yaptığı literatür çalışmaları üzerine ABD çevre koruma ajansı genotoks programı raporunda *Allium* testinin, kimyasalların neden olduğu kromozomal hasarı değerlendirmek için rutin olarak kullanılan testler arasında yer alması önerilmiştir. Günümüze de *Allium* testi birçok laboratuvarında bilinen ve uygulanan bir metot haline gelmiştir.

Allium testi geniş bir uygulama alanına sahiptir. Çevre kirliliğinin ölçütü olarak kullanılan *Allium cepa*, çevresel kirlenmelerin zararlı etkilerini bulmak için *in vivo* bir model olarak tercih edilmektedir. Kimyasal ve biyotik maddelerden etkilenebilen kök yapısına sahiptir, açık ve sabit kromozom sayısına sahiptir, mitoz bölünme evreleri açıktır, herhangi bir etkiye maruz kalmadan oluşan kromozom hasarı çok ender görülür, kimyasallara hızlı cevap verir, kromozom morfolojisinde çeşitlilik vardır [32-34]. Ayrıca, çokça kök ucu oluşturur ve test materyali ile direkt etkileşimde bulunmaktadır. *A. cepa* düşük maliyetli bir test olarak karakterize edilir. Ayrıca *A. cepa* sistemi, bir maddenin genetik materyal üzerindeki kırılma, kopma ve/veya mutajen etkilerini değerlendirmek için önemli bilgiler sağlar [35].

1.3. Likenler ile İlgili Genel Bilgiler

Mantarların, alglerle veya siyanobakterilerle nadiren de bakterilerle birleşerek oluşturdukları morfolojik, fizyolojik ve anatomik olarak farklı, birbirlerini tamamlayan zorunlu simbiyotik yaşam birliktelikleri “liken” olarak tanımlanır [36]. Diğer bir deyişle likenler mikobiyont olarak adlandırılan bir mantar ile fotobiyont bir fotosentetik yeşil alg ve/veya siyanobakterilerin oluşturduğu kararlı ve sürekli ototrofik mutualistik ilişkidir [37, 38]. Likenler, yeryüzündeki ototrof ve heterotrofların birbirine tabi olduğunu ve birinin diğerine ihtiyaç duyan kaynakları sağladığını gösteren en iyi örnektir. Bu birliktelikten mantar daha çok yararlandığı için mutualizmden çok kontrollü parazitliğin örneği olduğu kabul görmektedir [39].

Ototrofik algler ile mantar hiflerinin tabakalar halinde oluşturduğu uzun ömürlü yavaş büyüyen, kök ve kütikulası olmayan ortak bir “tallus” oluşturur [40]. Yapıya katılan mantar ve algler sadece tallustan kesit alınıp mikroskop altında inceleme yapıldığında anlaşılabilirler [41].

Liken tallusunda her zaman iki ortak bulunmayabilir. Örneğin; iki fungus bir fotobiyontla birleşir ve ismine likenikol fungus denen yeni bir birliktelik ortaya çıkar. Poelt'e göre dört üyeli birliktelikler de mevcuttur. Bu birlikteliğe verilecek en iyi örnek likenikol likenlerdir (likenler üzerinde yaşayan likenler). Örneğin; *Lecidea insularis* Nyl. türü *Lecanora rupicola* (L.) Zahlbr. üzerinde yasar [42].

Liken birliklerinde mantar hifleri, tallusun ihtiyacı olan su, mineral madde ve CO₂ karşılamasının yanı sıra yüksek sıcaklık, aşırı nem gibi durumlara karşı da koruma sağlar, algler klorofilleri sayesinde sentezledikleri organik besini ve oksijeni, mantarların büyüebilmesi, hayatta kalması ve üreyebilmesi için verirler [43, 44].

Likenler çoğunlukla yüksek ışık yoğunluğuna sahip habitatlarda bulunurlar ve yoğun ışığın, fotobiyontun fotosentez sistemine zarar vermesini engellemek için mantarlar, parlak sarı, turuncu, gri ve kırmızı renkte metabolitler üretir ayrıca bu sayede farklı ortamlara adaptasyon yeteneklerini de artırırlar [37, 45, 46].

Likenler, dünyanın karasal ekosistemlerinin çoğunda geniş yüzey alanlarına sahiptir bununla birlikte deniz suyu ve tatlı su akıntılarında yaşam alanları mevcuttur ve binlerce yıla varan yaşam ömrüne sahiptirler [47, 48]. Liken yapıları yaşadıkları

ortamın çevre koşulları ve mineral zenginlikleri bakımından bilgi verirler. Nem ve sıcaklık bakımından sert koşullara dayanabilen canlılar olmalarına rağmen, hava kirliliği olan bölgelerde, likenlerin fotobiyontları zarar gördüğü için hayatta kalamazlar. Likenlerin hava kirliliğini gözlemlemek için en etkili biyomonitör olduğu kabul edilir [49-52].

Ortam (substrat) olarak, ağaç gövdeleri, çıplak kayalar, dağ tepeleri, kiremit, cam, ayakkabı üzerinde bile yaşayabilirler. Kuzey ülkelerinde özellikle tundralarda oldukça geniş alanları kaplayarak, bol miktarda yetişirler [53, 54]. Buna karşın bu bölgelerde liken florası pek zengin değildir. Tropik bölgelerde ise likenler geniş alanlar kaplamazlar fakat tür bakımından zenginlik gösterirler [55].

M.Ö. 371-284 yılları arasında “liken” terimini kullanan ilk botanikçi Theophrastus olmuştur, ancak likenleri ciğer otu olarak bilinen bitkiyle karıştırdığı sonradan fark edilmiştir. Theophrastus’tan sonra diğer botanikçiler liken terimini yosunlar için kullanmışlardır. 1803’de Eric Acharius likenlerde, izid, sored ve sifel gibi terimleri kullanarak eşsiz yapıları açıklamış ve likenolojinin babası olarak kabul edilmiştir [56]. 1852’de Tulasne fungusların hif iplikleri yapılarını tanımlamıştır. 1866 yılına kadar likenlerin aslında var olan ikili doğası fark edilememiştir. 1866’da De Barry ve 1867’de Schwendener tarafından likenlerin alg ve mantar gibi iki farklı organizmanın benzersiz bir bütün oluşturdukları sonucuna ulaşılmıştır. [53, 57, 58]. Yapılan araştırmalar sonucunda hücresel düzeyde alg hücrelerinin düzenli bir biçimde ve kontrollü olarak mantar tarafından parazitize edildiğini belirlemiştir [59].

Linne’nin, likenleri tek bir genus altında toplamasını takiben gerçek anlamda ilk sınıflandırmayı 1810 yılında Acharicus gerçekleştirmiştir [60]. Dünya üzerinde likenlerin 13.000-25.000 türü olduğu ve dünyanın karasal yüzeyinin % 8’den fazlasını kapladığı tahmin edilmektedir [40, 42, 61].

Mantarlar arasında en başarılı yaşam tarzlarından biri liken birlikteliği oluşturmaktır. Liken simbiyozuna katılan mantarlar büyük bir çoğunlukla Ascomycota üyesidir. Ascomycota üyelerine kıyasla düşük oranla da olsa Basidiomycota ve çok daha nadir olarak da Deuteromycetes üyeleri de liken oluşumuna katılabilirler [37, 59, 62]. Günümüz sınıflandırma sistemine göre likenler, taksonomik bir birim olarak değil

biyolojik bir birlik olarak kabul edilmekte ve isim likenin mantarına verilmektedir [63, 64]. Liken simbiyozuna katılan fotobiyont Cyanobacteria (siyanobakteriler) ve Chlorophyta (yeşil algler) üyeleridir. Bu fotobiyont iplikli veya bir hücreli olabilir. Örneğin; siyanobakteri üyelerinden *Nostoc* ve yeşil alg üyelerinden de *Trebouxia* cinslerinin bazı türleri ve *Protococcus* C. Agardh cinsinin türleri liken yapısına iştirak eder [36, 65].

Eşeyli ve eşeysiz çoğalabilen likenlerde eşeyli üreme, tallusunun meydana gelmesi ve çimlenen mantar sporunun alg hücresiyle birlikteliğine bağlıdır. Eşeyli üreme yapıları apotesyum ve peritesyumdur. Eşeysiz çoğalma izid ve soredlerle olur. Mantar hifi ile çevrelenmiş fotobiyont hücreleri içeren tallusun, küçük büyümeleri ile eşeysiz üreme gerçekleşir. Soredler, su, rüzgâr, ya da hayvanlar ile kolayca dağılır. Likenlerin hiçbir türünde alg zoospor ya da gamet oluşturmaz yani eşeyli üreme göstermez, eşeyli üreme yalnızca mantarlar tarafından yapılır [66, 67].

Likenler yaşadıkları ortama ve beraber yaşadıkları bitkilerin durumlarına göre morfolojik olarak 3 gruba ayrılırlar. Kabuksu (crustose) likenler, bu likenlerin thallusları yassıdır ve substratlarına hiflerini sokarlar, bu likenlere endolitik liken denir. Yapraksı (foliose) likenler, tallusları loblu veya küçüktür genellikle toprak üstü likenlerdir ve substratlarına renksiz, tüysü emici hifler uzatırlar. Dalsı-çalımsı (fruticose) likenlerin tallusları diktir ve genellikle ağaçlardan sarkar morfolojik olarak da çok büyük likenlerdir [68].

Likenler, dünya genelinde yüzlerce yıl boyunca insanlardaki hastalıkların tedavisinin yanı sıra hayvansal besin, parfüm ve alkol eldesi, boya, zehir, dekorasyon vb. amaçlarla kullanılmıştır [69, 70]. Eski zamanlarda likenlerin şekilleri baz alınarak tedavi yöntemleri uygulanmıştır ancak 20.yy'dan beri laboratuvar tekniklerinin gelişmesiyle birlikte likenlerin mikrobiyolojik ve farmakolojik özellikleri araştırılmaya başlanmış ve çeşitli hastalıkların tedavisine katkıda bulunulmuştur.

Chevallier [71] 1996 yılında şekli saçta banzediği için saçların dökülmesi veya güzelleştirilmesi, saç kıran gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan *Usnea* sp. Motyka yı oral ve farengeal mukozanın iltihaplanma tedavisinde kullanmıştır. Morfolojilerine uyumlu olarak hastalık tedavilerinde kullanılan likenlere

verilebilecek diğerk örnekler ise tallusu sarı renkli olan *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. sarılık tedavisinde, *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. alveollü tallus yüzeyi sebebiyle akciğerk hastalıkları tedavisinde kullanılmaktadır [58, 72]. Malhotra ve ark. [73] likenlerin çeşitli tıbbi besinlerde kullanıldığını belgelemiştirlerdir. *Cetraria islandica* (L.) Ach. (İzlanda Likeni); tüberküloz, kronik bronşit, dizanteri tedavisinde uzun yıllar önemini korumuştur. Bununla birlikte, ren geyiği besinini oluşturan bu liken çayının geçmişten günümüze öksürük ve üst solunum yolu enfeksiyonlarına iyi geldiği bilinmektedir [74,75].

1.3.1. *Cladonia* Cinsi ile İlgili Genel Bilgiler

Cladonia cinsi kozmopolit olup, dünya üzerinde yaklaşık 518'den fazla tür ile temsil edilmektedir. Bu cins, karayosunları, çürümüş odun, bazen ağaç diplerinde (epifitik), ağaç kabuklarının üzerinde gelişebilsede ağırlıklı olarak doğrudan toprak üzerinde yayılış gösterirler. Ender olarak kaya üzerinde gelişebilen türler de bulunmaktadır [76].

Cladonia cinsi, Cladoniaceae familyası, Lecanorales ordosu ve Ascomycota divizyosunda sınıflandırılmaktadır [77, 78]. *Cladonia* cinsinin sitematiğinde önemli olan karakterler; primer ve sekonder tallusun anatomisi ve morfolojisi, podesyumların yüzey anatomisi, dallanması ve morfolojisi, taşıdığı vejetatif propagüller, konidyum özellikleri ve içerdiği sekonder metabolitlerdir. *Cladonia* cinsi, primer tallusu olup olmaması, podesyum taşıyıp taşıması, podesyumunun dallanmış veya dallanmamış olması, uçların açılıp açılmaması, podesyumun korteks taşıyıp taşıması, podesyum yüzeyinin sorallerle kaplı olup olmaması ve bu sorallerin şekli, apotesyum taşıyıp taşıması ve taşıyorsa apotesyum rengi, piknidyumun yeri, şekli ve rengi, içerdiği onlarca farklı liken asitleri gibi özellikleri ile son derece polimorfik bir cinstir. *Cladonia* cinsi sistematik açıdan oldukça önemli olan çok çeşitli sayıda sekonder metabolitler (liken asitleri) içermektedir [79].

1.3.2. *Cladonia foliacea* (Huds.) Willd.



Şekil 1.1. *Cladonia foliacea* (huds.) willd.

Primer tallus pulsu-foliose, pullar 6-40 mm uzunluğunda, 1-5 mm genişliğinde, düzensiz bir şekilde loplul, genellikle kenar kısımlarında beyaz renkli dallanmamış rizinler mevcut, üst kısımlar sarımsı yeşil, soluk sarı, aşağı kısımlar ince araknoid. Podesyum çok nadir, 0.3-2 cm uzunluğunda, 0.5-3 mm genişliğinde, grimsi sarı, alt kısımlar soluk, kupa var; kupa açıklığı dar (1-2 mm). Apotesyum çok nadir, kupanın kenarları üzerinde, kahverengi, 4 mm çapında küme oluşturmuş. Pknidyum primer pullar üzerinde ya da kupanın kenarları üzerinde, sapsız, ovoid. K-, KC+ sarı, P+ kırmızı, usnik asit, fumar protostrarik asit kompleksi içerir [76, 80]. Genellikle kalkerli kaya ve açık topraklar üzerinde yayılış gösterir.

Kosanic ve ark. [81] liken *Cladonia furcata* (Huds.) Schrad., *Cladonia pyxidata* (L.) Hoffm. ve *Cladonia rangiferina* (L.) Weber, FH Wigg. ve bunların atranorin ve fumarprotostrarik asit terkiplerinin aseton özütlerinin *in vitro* antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser etkinliklerini araştırmışlardır. Başka bir çalışma da Kahraman ve ark. [82] Kuzey Ege Denizi'ndeki Gökçeda Adası'ndaki likenlerdeki çevresel kirlenmeyi *Cladonia foliacea* ve *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach. türleri ile belirlemişlerdir.

Bir diğerk çalışma da Emsen ve ark. [83] *Cladonia foliacea* (Huds.) Wild'un ekstraktının insektisit etkisini tahıl filizleri üzerinde oluşan böceklerle karşı denemişlerdir. Giordano ve ark. [84] liken *Cladonia foliacea*'nın tüm talusunun bazı yosunların büyümesi ve gelişimi üzerine indüklediğı etkiler incelenmiştir. Hepokur ve ark. [85] *Cladonia foliacea* ekstraktının antikanser ve yara iyileştirici etkisi üzerinde çalışmışlardır. Aslan ve ark. [86] *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum* (L.) Mann., *Everinia divaricata* (L.) Ach., *Evernia prunastri* (L.) Ach. ve *Neofuscella pulla* (Ach.) Essl.'nin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlardır. Ekstraktların ayrıca test edilen bazı bakterilere ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir.

A. cepa, köklerinin meristematik yapısı, kromozomlarının boyutları ve sabit kromozom sayısı ($2n=16$) nedeniyle olası kromozom hasarının kolayca tespit edilmesinde ve genotoksisitenin belirlenmesinde kullanılmaya elverişli sitogenetik bir materyaldir [87- 89].

FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Kapasitesi) yöntemi doğal ürünlerin ve bitki ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitenin ölçülmesinde en sık kullanılan yöntemlerden biri olup toplam antioksidan aktivite belirlemede uygulanan diğerk yöntemlere kıyasla basit, hızlı ve ucuzdur. Ayrıca sağıklı sonuç veren ve özel bir ekipman gerektirmeyen bir yöntemdir. Yöntem basit olarak Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenmesi esasına dayanır ve bu indirgeme reaksiyonu muhtemelen antioksidan özelliğıe sahip sulu bir ortamda bulunan demir (III) tuzlarının demir (II) tuzlarına indirgenmesi ile bir renk değışimine neden olur. Sonuçlar, indirgeme potansiyeli yüksek ve aynı zamanda standart bir antioksidan madde olan askorbik asit ile karşılaştırılmak suretiyle yorumlanır [90, 91].

ABTS/TEAC (2,2'-Azinobis (3-Ehtilbenzotiazolin-6-Sülfonik Asit) Diamonyum Tuzu) troloks-eşdeğerk antioksidan kapasite tayin yöntemi, uzun ömürlü radikal anyon ABTS 'ye karşı antioksidanların süpürme yeteneklerine dayanmaktadır. Bu radikal belirgin (yeşil/mavi) renge sahiptir ve antioksidan bileşiklerinin ABTS radikaliyle direkt olarak reaksiyona girmesi ve ABTS'nin rengini açmasına göre hesaplanır. Antioksidan bileşiklerinin toplam antioksidan kapasite değerkleri, standart Trolox'a kıyasla belirlenir. ABTS, madde karışımlarının antioksidan aktivitelerinin

ölçülmesini sağlar [92-96]. Bu testlerin en büyük avantajı, bir biyolojik numunenin (kan, idrar, dışkı), bitkisel ekstraktların, tıbbi bitkilerin, içeceklerin ve yiyeceklerin neredeyse tüm bileşenlerinin antioksidan kapasitesini ölçebilmesi, tekrarlanabilir, basit ve geniş kullanım alanının olmasıdır [97, 98].

DNA'da yapısal etki oluşturan çeşitli kimyasal ajanların, etkilerini belirlemek için hızlı ve kolay test yöntemlerinden biri Komet (kuyruklu yıldız) testidir [99, 100]. Bu yöntem, DNA hasarını direkt olarak göstermenin yanı sıra tek zincir kırıklarını ve tamamlanmamış DNA tamir bölgelerini de gösteren hızlı ve hassas bir genotoksikite testi olarak kullanılmaktadır [101-104]. Teknikte uygulanan bir elektrik akımının oluşturduğu DNA göçünün görüntüsü, baş ve kuyruğu andırması nedeniyle bir kuyruklu yıldız benzemektedir, bu nedenle kuyruklu yıldız deneyi terimi kullanılmaktadır [105].

RAPD-PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) bitkilerde ve hayvan gıdalarındaki toksik etkiyi belirlemek için moleküler araç olarak kullanılır. RAPD amplifikasyon prosedürü, esnek koşullar altında rastgele bir primerle başlatılan genomik bir kalıbın analizine dayalı PCR reaksiyonudur [106, 107].

A. cepa köklerinde CF'nin H₂O₂ kaynaklı toksisiteye karşı koruyucu etkisini gösteren herhangi bir çalışma yoktur. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı kök hücreleri üzerine H₂O₂'nin neden olduğu toksisite üzerine CF ekstraktının koruyucu ve antioksidan rolünü göstermektir. Bu çalışmayla, liken ekstraktının mitotik indeks (MI), hücre ölümü, kromozom deformasyonları, değişen antioksidan kapasite, DNA yapısı üzerine koruyucu etkisi ortaya konulmuştur. Böylelikle, CF ekstraktının genotoksik, sitolojik ve mutajenik değişimlerdeki etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Liken Ekstraktının Preperasyonu

CF, *Pinus sylvestris* (L.) Perterm (40 ° 11 '352, "K, 42 ° 38' 154" D 1590 m) ve *Picea orientalis* L. var. hamata Steven, ormanlarından (40 ° 42 '54 "K 37 ° 55' 55"D 1600 m) 2014 yılında toplanmıştır. Toplanan örnekler herbaryum'da preslenip kurutulmuş şekilde materyalin taksonomik bilgileri, lokaliteleri, örnek numaraları ve toplayanın ismi etiketlenerek saklanmıştır. Etiket bilgisi aşağıdaki gibidir:

CF. Kars, Sarıkamış, Sarıkamış-Kars ana yolu, Şehit Halit'in doğusunda, *P. sylvestris* ormanı, 1590 m. M. Kocakaya-2850, 2014.

Çalışmada kullanılan CF oda sıcaklığında kurutuldu. Kuruyan numuneden 5 gr tartılıp 100 ml saf su içinde, 60 °C'de 150 rpm'de 24 saat inkübe edildi. 24 saat sonunda inkübatörden alınan örnek 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar, Whatman no.1 0,22 µm kalınlığında filtre kağıdıyla iki kez süzüldü. Hazırlanan ekstakt otoklavlanabilir cam şişede buzdolabında +4 °C'de muhafaza edildi.

2.2. Kimyasallar

Allium testi için kullanılan soğan (*A. cepa* L. 2 n = 6), yerel bir pazardan satın alındı. Kullanılan kimyasallar Evans mavis (Himedia), N,N-dimetilformamid (EMPLURA), DMSO, ve diğer kimyasal maddeler Sigma'dan satın alınmıştır.

2.3. Sitogenetik Etki ve Mitotik İndeks (MI) Tayini

Kontrol ve uygulama grupları için sağlıklı altı soğan seçilip test tüplerinde çimlendirildi ve uygulama grupları H₂O₂ (% 3 ve % 7) ve/veya CF ekstresine (50 ve 100 µL) ile aynı laboratuvar koşullarında 24, 48 ve 72 saat süreyle maruz bırakıldı. Güneş ışığı alması sağlanarak maksimum mitotik aktivite döneminde 1–2 cm kökler toplandı ve 72 saat süreyle etanol:glasiyal asetik asit (3:1) içinde soğutulmuş Carnoy fiksatifine aktarıldı ve sonra 1 N HCL içinde 60 °C'de hidrolize edildi [108]. Sitogenetik değerlendirme için 4 saat süreyle asetokarmin ile boyama yapıldı ve % 45'lik asetik asit ile sağlıklı mikroskopik görüntü için boya uzaklaştırma işlemi yapıldı. Kontrol ve uygulama gruplarına ait altı farklı preparat hazırlanarak 40x ışık mikroskobu (Olympus BX53 DP72, Japonya) ile incelenmiştir.

Her konsantrasyonun %MI tespiti için beş slaytta yaklaşık 5000 hücre sayıldı. % MI = bölünmüş hücre sayısı/toplam hücre sayısı x 100 formülü ile hesaplanmıştır [108].

2.4. FRAP (Demir Azaltıcı Antioksidan Güç) ve TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) Testleri

Benzie ve Strain'in [109] FRAP analiz yöntemi ile ölçülen soğan kök ucu hücrelerinin redüksiyon kapasitesi belirlenmiştir. FRAP analizinin gerçekleşme prosedürü, renksiz oksitlenmiş Fe^{III} formundan, antioksidanların elektron vererek mavi renkli Fe^{II} -tripiryridiltriazine bileşiğine indirgenmesiyle ortaya çıkan demir tozu oksidan olarak kullanılmakta ve 593 nm'de absorban değışikliğinin belirlenmesi şeklinde hesaplanmaktadır. Bunun için 1 hacim TPTZ 2,4,6-tripiridil-s-triazin, 10 hacim asetat tamponu, pH=3,6 hidroklorik asit ve 1 hacim ferrik klorür bileşenleri kullanılarak oluşturulan yeni frap reaktifi 37 °C'ye kadar ısıtılmıştır. Hazırlanan bu reaktif içerisine örnekler ve saf su eklenerek 593 nm absorbansta ölçümler yapılmıştır.

Re ve ark. [110] yılında gıdaların antioksidan kapasitelerini belirlemek için yaptıkları çalışmalar sonucunda TEAC yöntemini geliştirmişlerdir. Bu çalışmada da antioksidan kapasitesi TEAC yöntemiyle belirlenmiştir. TEAC analizi, 734 nm dalga boyunda $ABTS^+$ radikalinin inhibisyonunun gözlenmesine dayanmaktadır. ABTS radikal oluşumu, ABTS stok çözeltisi ile potasyum persülfatın karanlıkta 30 °C'de 12 saatlik karışımı sonucunda elde edilmiştir. Biyolojik örnek, seyreltilmiş ABTS çözeltisine eklenerek inkübasyona bırakılmıştır. ABTS çözeltisi, pH=7.4 fosfat tamponu ile 734 nm'de 0.70 bir absorban olduğu belirlenerek hesaplamalar yapılmıştır.

2.5. Canlılık Testi

Hücre ölümlerini belirlemek için kontrol ve uygulama gruplarından eşit uzunlukta yaklaşık 10 mm soğan kökleri, 3 ml N,N-dimetilformamid içine oda sıcaklığında 1 saat boyunca bekletilmiştir. 3 ml N,N-dimetilformamid içinden alınan kökler, Baker ve Mock [111] prosedürüne göre Evans mavisinin % 0.25 (w/v) sulu çözeltisi içinde 15 dakika bekletildikten sonra kökler 30 dk boyunca musluk suyu ile yıkanmıştır. Canlı ve ölü hücrelerin kök renkleri, canlılıklarına göre sırasıyla renksiz veya mavinin tonlarında değışiklik göstermiştir. Köklerin bu görüntüleri stereo mikroskop ile makro fotoğraflanmıştır.

2.6. Komet Testi ile DNA Hasarının Belirlenmesi

Soğan kökleri, deney tüpleri içerisinde uygulama dozlarına 72 saat boyunca maruz bırakılmıştır. Her soğandan 10 kök kesilmiş ve bistüri yardımıyla ince parçalar halinde doğranmıştır. Kesilen kökler 5 dk, 500 rpm'de santrifüj edildikten sonra PBS içerisinde 20 dakika dinlendirilmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarından elde edilen süpernatant, % 0.65'lik agaroz ile karıştırılıp, önceden % 0.05'lik agaroz ile kaplanan lamaların üzerine hazırlanan süspansiyondan 75 µl'si aktarılmıştır. Hazırlanan preparatlar 200 V'da 5 dk elektroforez tamponunda yürütülmüştür. Elektroforez tamponundan çıkarılan preparatlar 1 saat boyunca soğuk lizis çözeltisinde bekletildikten sonra 5 dk saf su içerisinde yıkanmış akabinde 80 µl etidyum bromür ile boyanmıştır. Boyama sonrası görüntü analizi (BS 200 ProP, BAB Görüntüleme Sistemi) ile BS 200 ProP kullanılarak yapılmıştır. DNA hasarını gözlemlemek için floresan mikroskopta 40x'lik objektif kullanılıp, 50 komet hücresi için kuyruk DNA yüzdesi, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak hesaplanmıştır [112].

2.7. DNA İzolasyonu

A. *cepa* köklerine, 72 saat H₂O₂ (% 3 ve % 7) ve/veya CF (50 ve 100 µl) uygulandıktan sonra Qiagen DNeasy bitki mini kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak total genomik DNA ekstraksiyonu elde edilmiştir. Ekstraksiyon yöntemi kullanım talimatına göre gerçekleştirilmiştir. Spektrofotometrik ölçümler, optik yoğunluk (OD) ölçümleri, örneklenen DNA için 260 ve 280 nm'de (ACTGene Micro-Spectrophotometer) gerçekleştirilmiş ve DNA saflığı için OD₂₆₀/OD₂₈₀ kullanılmıştır. A₂₆₀/A₂₈₀ oranı DNA saflığını ve 1.8-2.0 değerleri "saf DNA" yı göstermektedir [113].

2.8. RAPD-PCR Yöntemi

Kontrol ve uygulama gruplarının ekstraksiyonu ve genomik total DNA'nın PCR uygulamaları, Per ve Ercan'nın [113] çalışmasına göre gerçekleştirilmiştir. 2 µl kalıp DNA, 1.5 µl 10x PCR tamponu [(NH₄)₂ SO₄, Fermentas], 0.5 µl 10 mM dNTP (Thermo), 2 µl rastgele primer [10 µM, OpB 14 (5' → 3' TCCGCTCTGG)] Tedeschi ve ark. (2014) [114], 0.25 µl Taq Polimeraz (5 U/µl, Fermentas), 1.5 µl MgCl₂ (25 mM stok solüsyonu, Fermentas), 1.2 µl BSA (10 mg/ml) ve son hacim 15 µl'ye

distile su ile tamamlanarak reaksiyon kurulmuştur. PCR koşulları: Başlangıç denatürasyonu 1 döngü 94 °C 2.5 dk, denatürasyon 94 °C 45 sn, primer bağlanma 35 °C 45 sn, uzama 72 °C 45sn, son uzama 72 °C 5 dk RAPD-PCR 45 döngü şeklinde yapılmıştır. PCR ürünleri % 1'lik agaroz jel (Tris asetik asit- EDTA- EtBr) ile 80 V 1.5 saat yürütülmüştür ve DNA bant profilleri UV ışığı altında görüntülenerek fotoğraflanmıştır.

2.9. İstatistik

Elde edilen tüm veriler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve istatistiksel önemi belirlemek için Tukey testi ile hesaplanmıştır. Ortalama değerler için standart sapma (SD) kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi için $p < 0.05$ seçilmiştir. Tüm ölçümler üçer kez yapılmış olup, sonuçlar ortalama \pm SD olarak verilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Canlılık Analizi

Ölü hücelere boyanın nüfuz etmesi temeline dayanan hücre ölümünü tespit etmek için Evans mavisi ile boyama yöntemi kullanılmıştır. H₂O₂ ve/veya CF ekstraktı uygulanan gruplarla, kontrol gruplarındaki kök hücrelerinin canlılık analizi bu yöntem ile karşılaştırılmıştır. Köklere boya uygulandığında boyanın kökleri boyaması için boyada bekletilmiştir. Canlı olmayan hücreler, Evans mavisini derinlemesine alırken, canlı hücreler bu boyayı çok az miktarda almış ya da hiç almamıştır. H₂O₂'nin neden olduğu hücre ölümü ve CF ekstraktının koruyucu etkisi uygulama dozlarına göre boyayı alıp almamasına göre belirlenmiştir. Sadece H₂O₂ (% 3 ve % 7) uygulanan gruplar ile (50 ve 100 µL) CF ekstraktı + H₂O₂ (% 3 ve % 7) uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, CF eklenen gruplarda renk değişiminin önemli miktarda azaldığı gözlenmiştir. H₂O₂ (% 3 ve % 7) ile birlikte 100 µL CF ekstraktı uygulanan gruplar ile H₂O₂'nin (% 3 ve % 7) ve 50 µL CF uygulanan ekstraktı karşılaştırıldığında boyamanın daha az olduğu ve kontrol gruplarına daha yakın bir renk aldığı gözlemlenmiştir. Bu da artan dozlarda CF ekstraktının meristematik kök hücreleri üzerindeki koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir (Şekil 3.2).

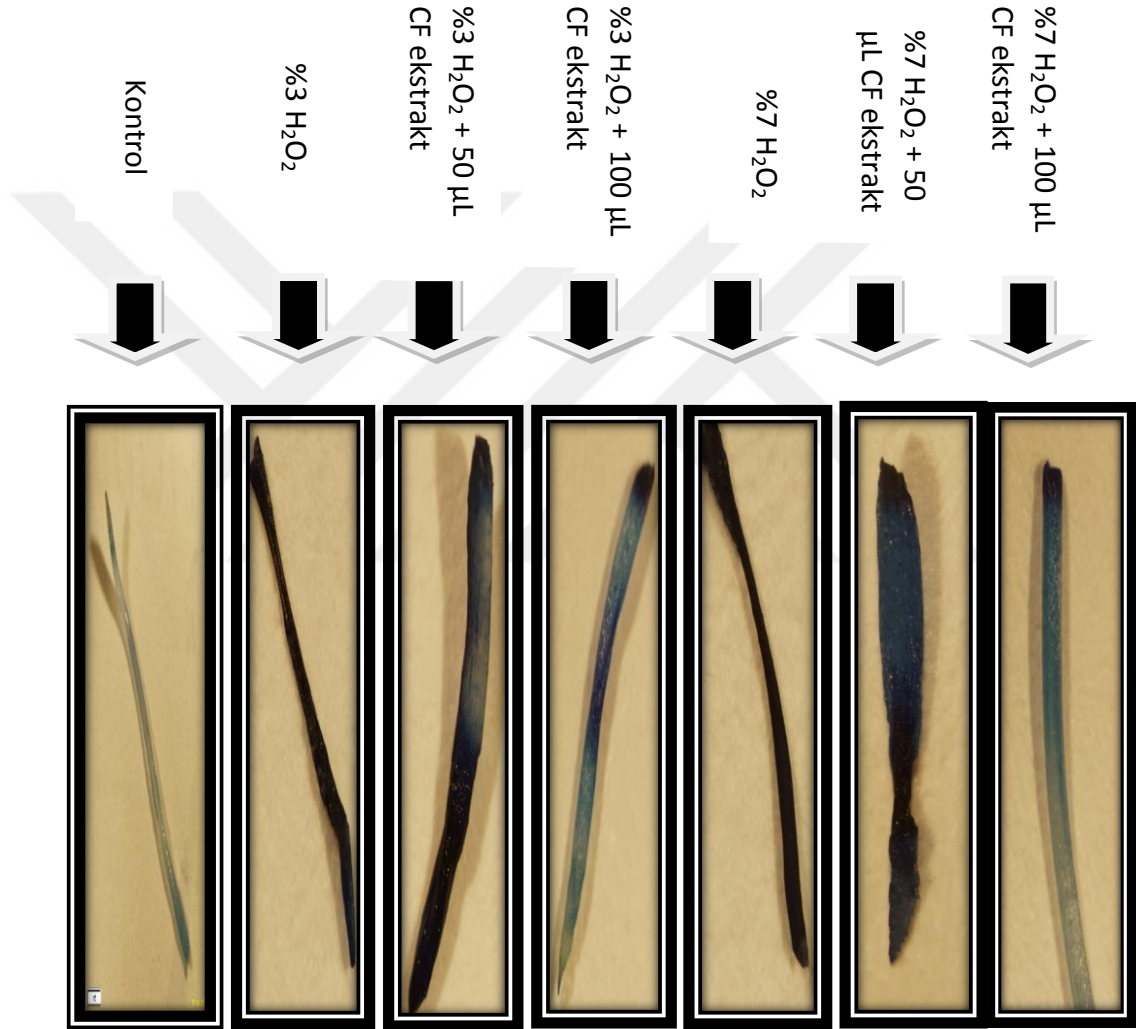
3.2. Kromozomal Bozulmalar

H₂O₂'nin % 3 ve % 7 uygulama gruplarında 72 saat sonunda farklı şekillerde kromozomal bozulmalar belirlenmiştir.

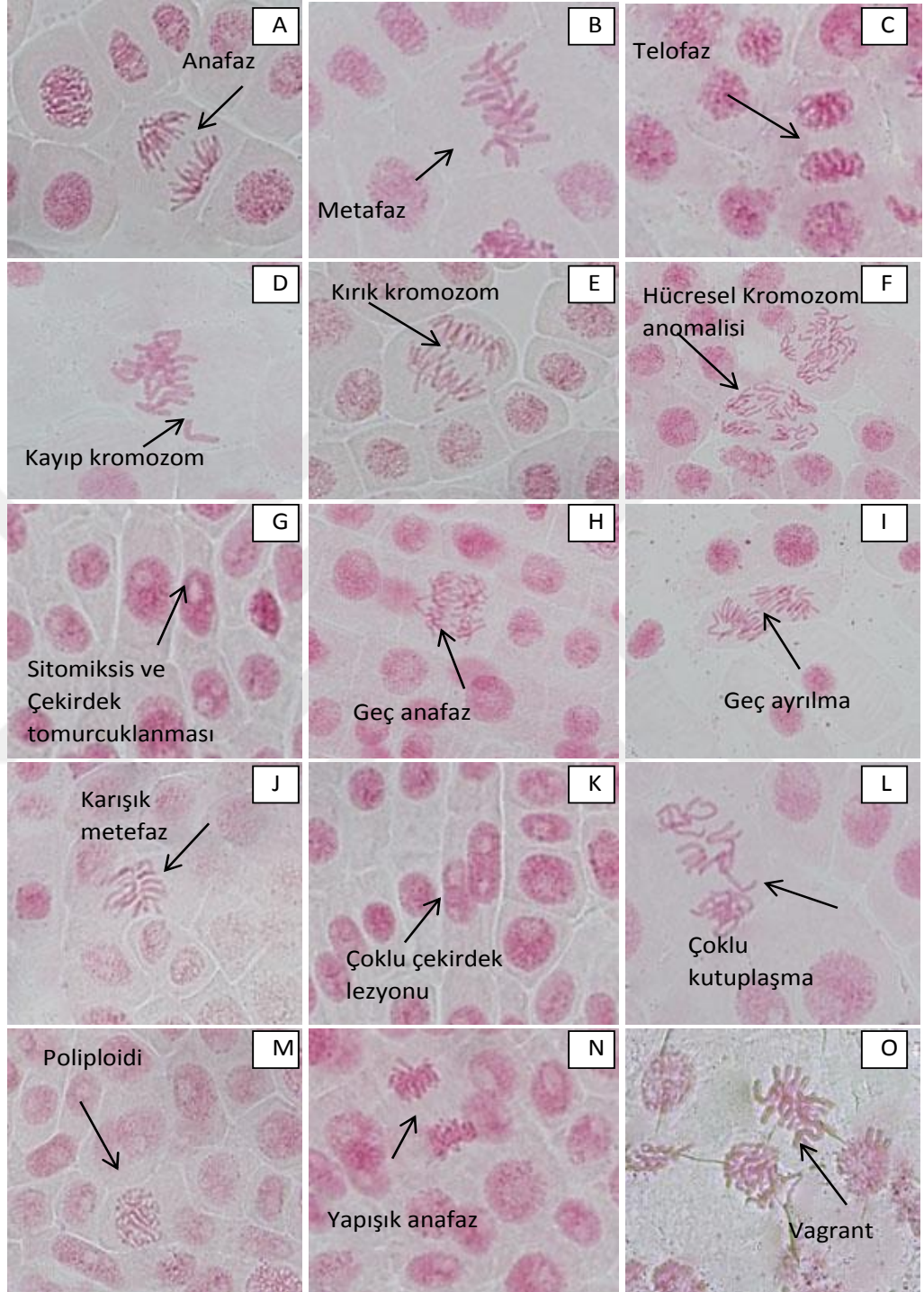
H₂O₂'nin % 3 konsantrasyonunda; anafaz, metafaz, telofaz, kayıp kromozom, kırık kromozom, kromozom anomalisi, çekirdek tomurcuklanması, geç anafaz, geç ayrılma, karışık metafaz, çoklu çekirdek lezyonu, çoklu kutuplaşma, poliploidi, yapışık anafaz, vargant gibi kromozomal değişimler gözlenmiştir (Şekil 3.3).

H₂O₂'nin % 7 konsantrasyonunda; kromozom fragmentleri, C-mitoz, anafaz köprüsü, kırık kromozom, poliploidi, yapışık anafaz, çoklu çekirdek lezyonu, kromozom köprüsü ve anafaz kırıkları, Sitomiksis ve çekirdek tomurcuklanması, yapışık metafaz, geç anafaz, kromozom köprüsü, vargant, profazda çekirdek lezyonu, mikronükleus gibi kromozomal değişimler saptanmıştır (Şekil 3.4).

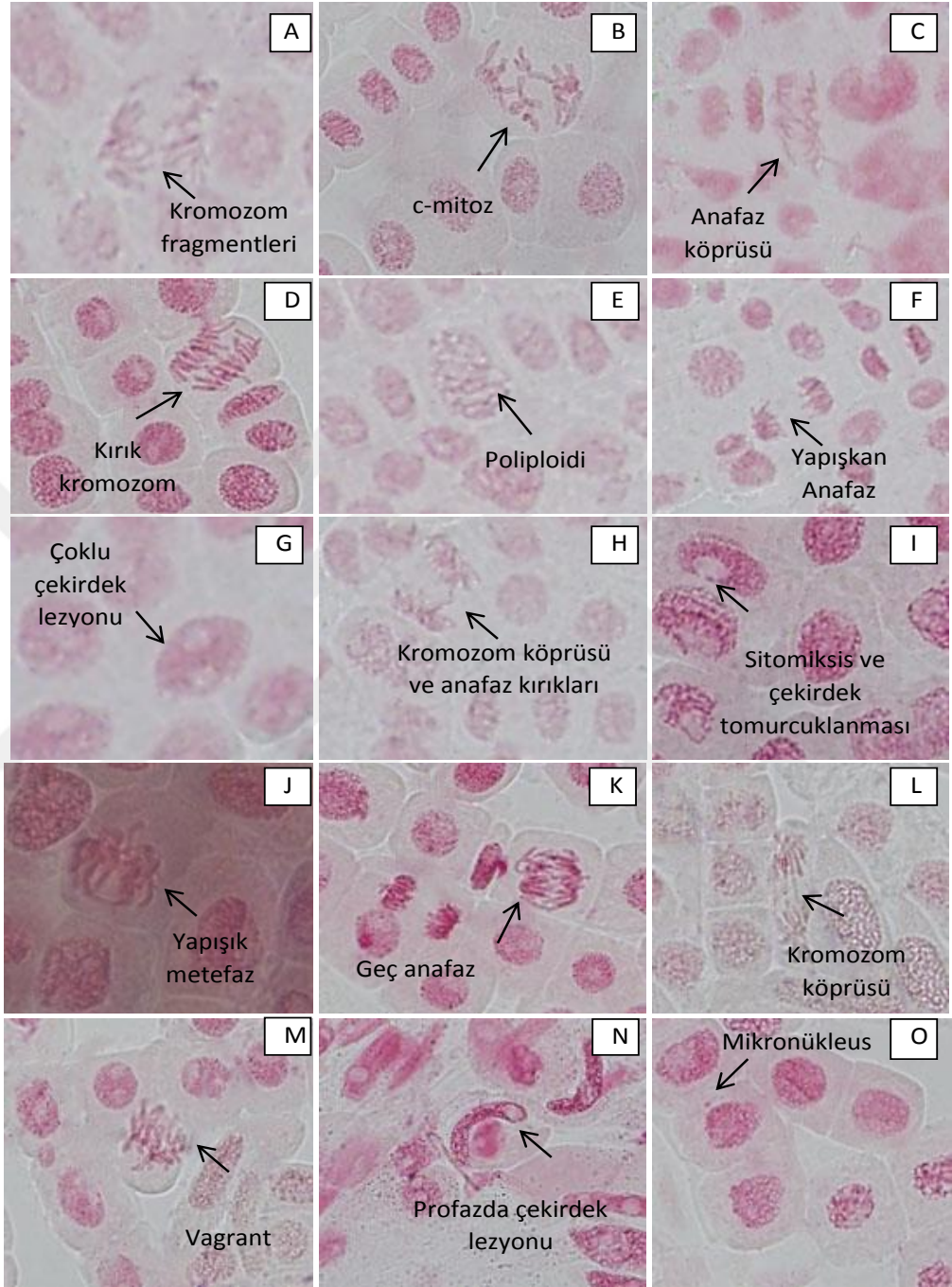
72 saatlik H_2O_2 'nin % 3'lük konsantrasyonunda % 68.4 anomaliler gözlenirken, % 7'lik konsantrasyonda % 71.4 anomaliler gözlenmiştir (Tablo 3.1). Bununla birlikte, 50 μ L CF ekstraktı ve 100 μ L CF ekstraktı uygulanan gruplarda kromozomal yapının değişimi azalmıştır ($p < 0.05$). Bu koruyucu etki, 100 μ L uygulanan CF ekstraktında 50 μ L uygulanan CF ekstraktına göre daha belirgindir.



Şekil 3.2. H_2O_2 (% 3 ve % 7) + CF ekstraktı (50 ve 100 μ L) uygulanmış *A. cepa* köklerinin histokimyasal boya ile canlılığının gösterilmesi.



Şekil 3.3. % 3 H₂O₂ uygulanan soğan kök hücrelerindeki kromozom anomali (A) Anafaz, (B) Metafaz, (C) Telofaz, (D) Kayıp kromozom, (E) Kırık kromozom, (F) Hüresel kromozom anomali, (G) Sitomiksis ve çekirdek tomurcuklanması, (H) Geç anafaz, (I) Geç ayrılma, (J) Karışık metafaz, (K) Çoklu çekirdek lezyonu, (L) Çoklu kutuplaşma, (M) Poliploidi, (N) Yapışık anafaz, (O) Vagrant.



Şekil 3.4. % 7 H₂O₂ uygulanan soğan kök hücrelerinde kromozom anomalileri (A) Kromozom fragmentleri, (B) C-mitoz, (C) Anafaz köprüsü, (D) Kırık kromozom, (E) Poliploidi, (F) Yapışık Anafaz, (G) Çoklu çekirdek lezyonu, (H) Kromozom köprüsü ve anafaz kırıkları, (I) Sitomiksis ve çekirdek tomurcuklanması, (J) Yapışık metafaz, (K) Geç anafaz, (L) Kromozom köprüsü, (M) Vagrant, (N) Profazda çekirdek lezyonu, (O) Mikronükleus

Tablo 3.1. H₂O₂'nin (% 3 ve % 7) + CF ekstraktı (50 ve 100 µL) ile muamele edilen soğan kök hücrelerinin kromozom sapmalarının yüzdesi

%3 H ₂ O ₂ 'nin konsantrasyonu	Kontrol	Mitotik indeks %±SD	Yapışık anafaz	Çoklu çekirdek lezyonu	Poliploidi	Kayıp kromozom	Kırık kromozom	Hüresel Kromozom anomalisi	Sitomiksis ve çekirdek tomurcuklanması	Geç Anafaz	Geç ayrılma	Toplam anomali (%)±SD
Kontrol-24	5100	12.5±2.53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%3 H ₂ O ₂	5250	8.77±1.52*	8.4	8.2	2.6	8	3.8	3.2	8.2	8.2	5.8	56.4±8.12
%3 H ₂ O ₂ 'nin +50 µL CF ekstraktı	5110	9.80±2.45*	6.2	7.9	2.2	7	2.6	2.8	6.8	4.6	5.2	45.3±7.41
%3 H ₂ O ₂ +100 µL CF ekstraktı	5200	10.16±2.23*	5.4	6.8	1.8	6	2.2	2.6	5.4	3.6	4.8	38.6±10.11
Kontrol-48	4820	11.76±2.55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%3 H ₂ O ₂	4700	7.84±1.86*	8.6	8.4	3.6	9	4.2	3.2	8.6	8.8	6.2	60.6±12.41
%3 H ₂ O ₂ +50 µL CF ekstraktı	5100	9.50±1.47*	6.8	7.8	2.2	7	2.6	2.6	6.2	4.2	5	44.4±9.55
%3 H ₂ O ₂ +100 µL CF ekstraktı	5150	10.34±2.35*	5.2	6.2	1.6	5	2.2	2.2	5.4	3.4	4.6	35.8±10.21
Kontrol-72	5100	12.06±3.45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%3 H ₂ O ₂	5250	6.89±1.85*	10.4	9.2	4.8	10	5	3.8	9.2	9.2	6.8	68.4±7.64
%3 H ₂ O ₂ +50 µL CF ekstraktı	5100	8.47±1.43*	7.2	7.6	2	6	2.4	2.2	6	4.2	4.8	42.4±9.87
%3 H ₂ O ₂ +100 µL CF ekstraktı	5200	10.71±2.36*	5.6	5.8	1.4	4	1.8	2	5.2	3.2	4.2	33.2±11.42

%7H ₂ O ₂ konsantrasyonu	Kontrol	Mitotik indeks%±SD	Yapışık anafaz	Çoklu çekirdek lezyonu	Poliploidi	Kromozom fragmentleri	Kırık kromozom	C-mitoz	Sitomiksis ve çekirdek tomurcuklanması	Geç anafaz	Mikronükleus	Toplam anomali (%±SD)
Kontrol-24	5000	11.86±2.43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%7 H ₂ O ₂	5150	8.62±1.02*	9.2	9.2	4.2	4.6	5.2	16.2	9.4	8.6	0.6	67.2±12.42
%7 H ₂ O ₂ +50 µL CF ekstraktı	5210	8.69±1.03*	8.2	8.6	3.6	4.2	4.4	15.6	8.2	7.8	0.5	61.1±10.23
%7 H ₂ O ₂ +100 µL CF ekstraktı	5250	10.34±1.45*	7.2	7.2	3.2	3.8	3.6	13.8	7.4	6.2	0.4	52.8±9.02
Kontrol-48	5220	12.5±2.68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%7 H ₂ O ₂	5100	7.31±1.02*	9	9.4	4.8	5.2	5.6	18.1	9.6	9.2	0.7	71.6±8.32
%7 H ₂ O ₂ +50 µL CF ekstraktı	5150	9.67±1.63*	7.8	8.2	3.2	4.2	4.2	15.2	7.4	6.6	0.5	57.3±5.14
%7 H ₂ O ₂ +100 µL CF ekstraktı	5250	10.60±1.45*	6.6	6.8	2.8	3.2	3.6	13.6	7.2	5.8	0.3	49.9±5.47
Kontrol-72	5200	12.12±1.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%7 H ₂ O ₂	5250	6.94±0.23*	11.2	10.2	5.4	5.6	5.8	19.2	10.4	9.6	0.7	78.1±14.23
%7 H ₂ O ₂ + 50 µL CF ekstraktı	5300	9.78±2.25*	7.4	7.8	2.8	3.8	4.2	15	6.8	6.4	0.5	54.7±9.63
%7 H ₂ O ₂ +100 µL CF ekstraktı	5150	10.86±1.20*	6.2	6.2	1.6	3.2	3.2	13.2	6.6	5.4	0.3	45.9±8.41

SD: Standart sapma kontrol ile belirgin farklılık (p<0.05)

3.2. Mitotik İndeks (MI)

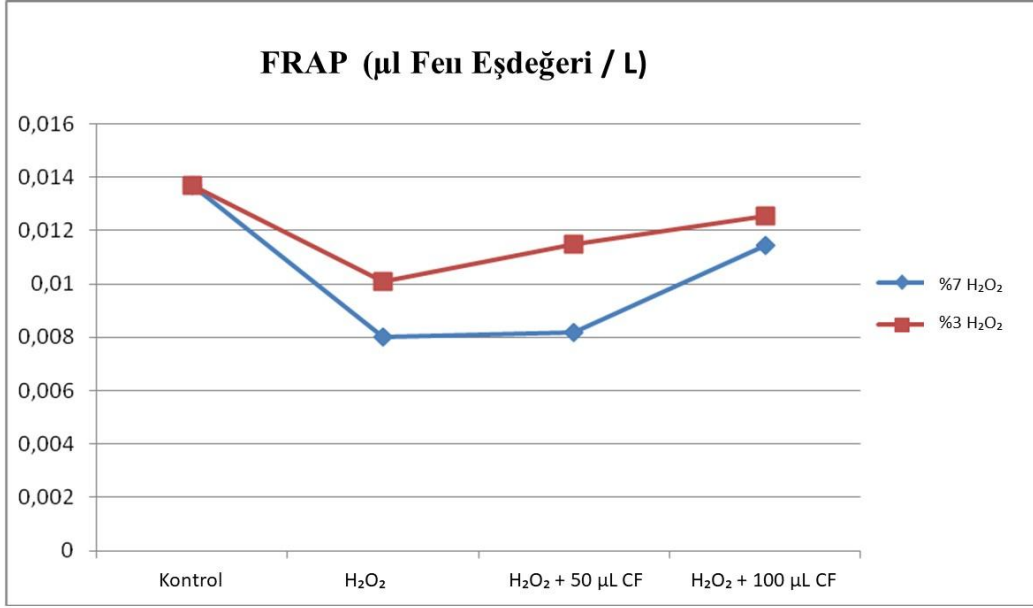
A. cepa kök meristem hücrelerinin (%) MI kontrol ve uygulama gruplarında belirlenmiştir. MI, kontrol grubuna kıyasla maruziyet sürelerine bağlı uygulama grubunun farklı konsantrasyonlarında belirgin şekilde azalmıştır. H₂O₂'nin en düşük % MI değerleri, sırasıyla, % 3 ve % 7'lik 72 saatlik uygulamalarında 6.89±1.85 ve 6.94±0.23 olarak elde edilmiştir. % 3 H₂O₂ ve % 7 H₂O₂ uygulanan grupta 72 saatin sonunda *A. cepa* kök meristem hücrelerinin % MI değerinde anlamlı bir düşüş gözlenirken, 50 µL ve 100 µL CF ekstraktı ile birlikte uygulandığında uygulama gruplarında anlamlı bir artış gözlenmiştir (P <0.05) (Tablo 3.1).

3.3. FRAP ve TEAC Sonuçlarının Değerlendirilmesi

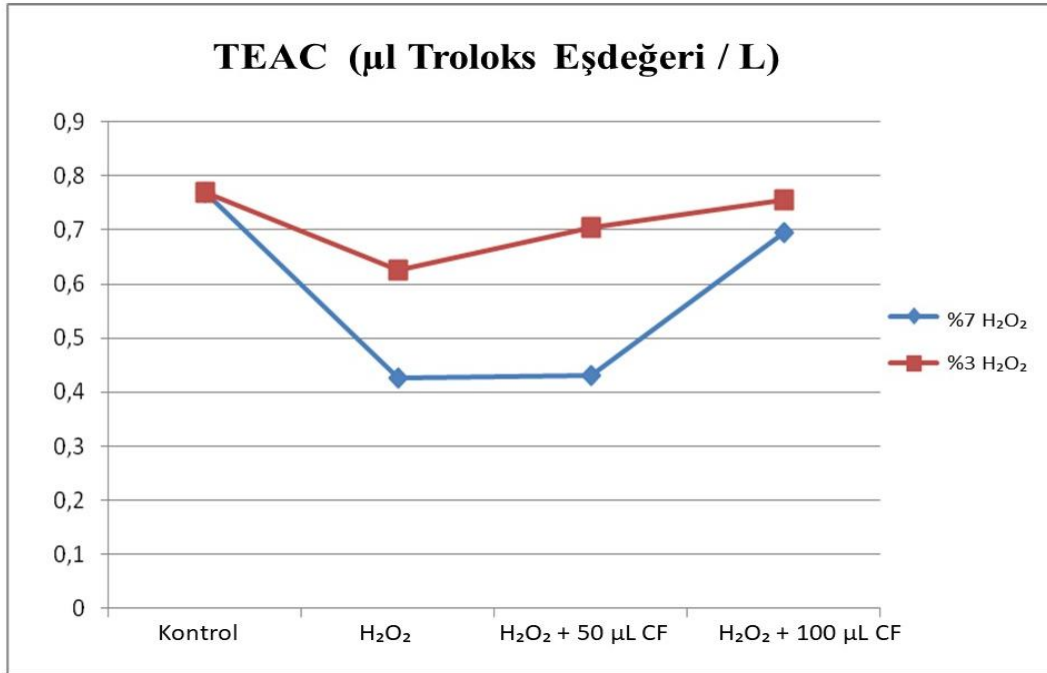
H₂O₂ (% 3 ve % 7) + CF ekstraktı (50 ve 100 µL) uygulanmış soğan kök hücrelerinin FRAP ve TEAC değerleri hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 3.5 ve 3.6'da sunulmuştur. H₂O₂ (% 3 ve % 7) ile muamelede, *A. cepa* kök antioksidan değerlerin kontrol grubuna kıyasla TEAC ve FRAP sonuçlarına göre önemli ölçüde azalmıştır. 72 saat boyunca, H₂O₂ (% 3 ve % 7) ve (50 µL ve 100 µL) CF ekstraktı uygulanan gruplarda FRAP ve TEAC değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir. H₂O₂ (% 3 ve % 7) ile 50 µL CF ekstrakt grubunu, H₂O₂ (% 3 ve % 7) ile 100 µL CF ekstraktı ile muamele edilen grup karşılaştırıldığında *A. cepa* köklerinin antioksidan kapasitesinin 100 µL CF ekstraktı uygulanan grupta daha çok artış olduğu gözlemlenmiştir.

3.4. Komet Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

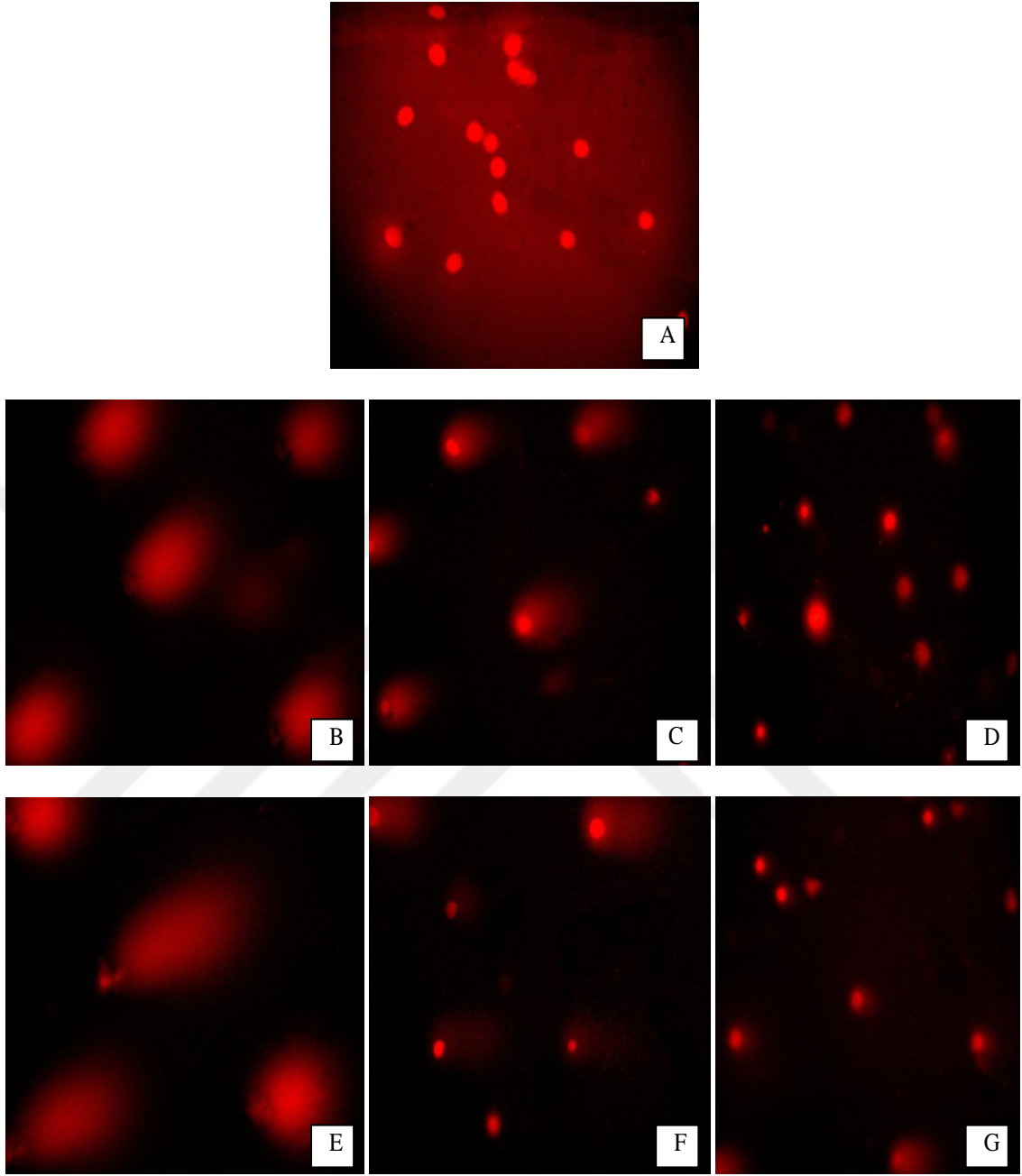
72 saat H₂O₂ ve/veya CF ekstraktı uygulanan *A. cepa* kök meristem hücrelerine, kuyruk % DNA, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti değişimleri belirlenmiştir (Şekil 3.7 ve Tablo 3.2). H₂O₂'ye maruz kalan gruplar ile H₂O₂ + CF ekstraktı uygulanan gruplar arasında artan konsantrasyonlara bağlı olarak çalışılan parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı (p <0.05) bir azalma olduğu belirlenmiştir. 100 µl CF + H₂O₂ uygulanan grupta 50 µL CF + H₂O₂ uygulanan gruba göre kuyruk % DNA'sı ve kuyruk uzunluğunun daha çok azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 3.5. H₂O₂ (% 3 ve % 7) + CF ekstraktı (50 ve 100 µL) uygulanmış soğan kök hücrelerinin FRAP değerleri.



Şekil 3.6. H₂O₂ (% 3 ve % 7) + CF ekstraktı (50 ve 100 µL) uygulanmış soğan kök hücrelerinin TEAC değerleri.



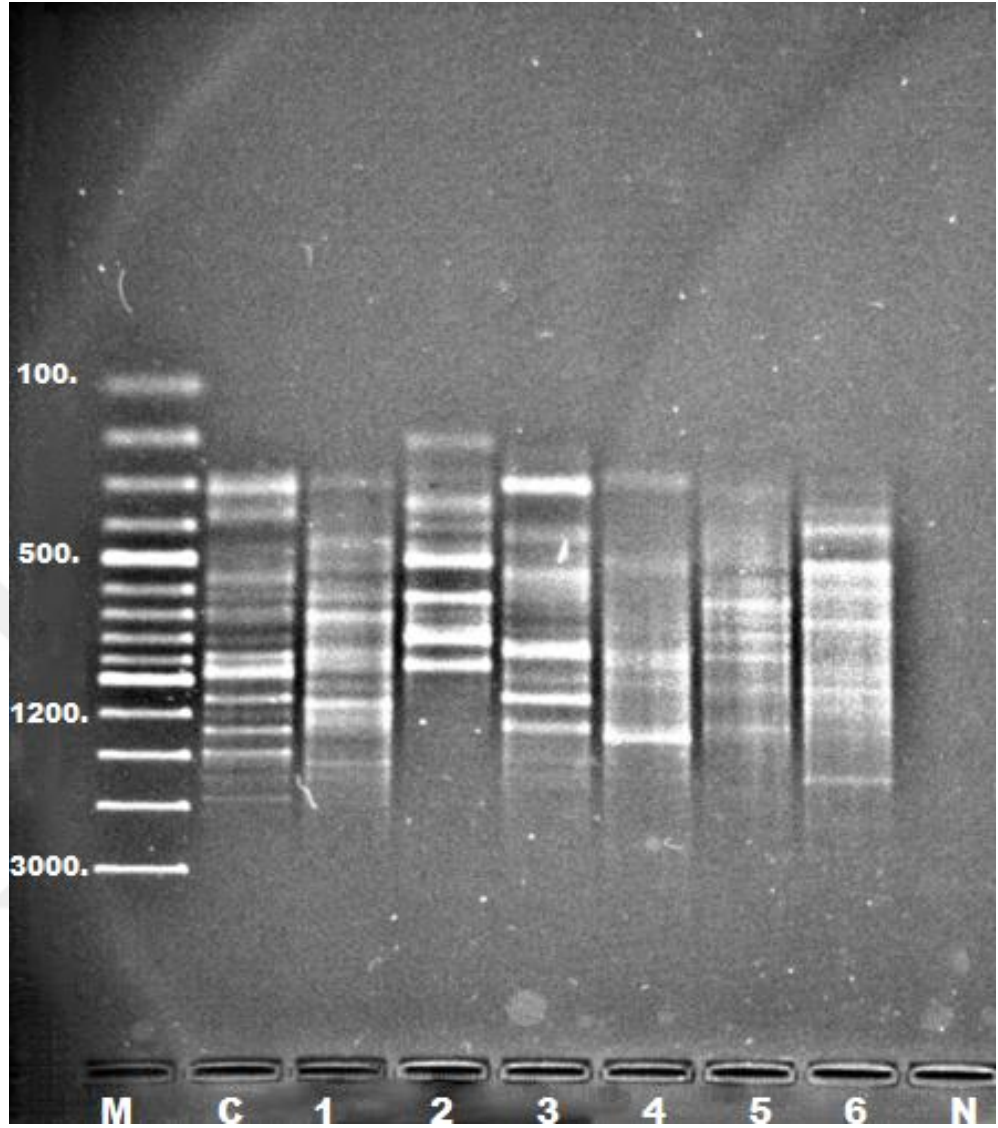
Şekil 3.7. 72 saat H_2O_2 (% 3 ve % 7) + CF ekstraktı (50 ve 100 μ L) uygulanan *A. cepa* köklerinden alınan hücrelerde Komet analizi (A) Kontrol (B) % 3 H_2O_2 (C) % 3 H_2O_2 + 50 μ L CF ekstraktı, (D) % 3 H_2O_2 + 100 μ L CF ekstraktı, (E) % 7 H_2O_2 (F) % 7 H_2O_2 + 50 μ L CF ekstraktı, (G) % 7 H_2O_2 + 100 μ L CF ekstraktı.

Tablo 3.2. Artan dozlarda H₂O₂ ve/veya CF ekstraktı uygulanan *A. cepa* köklerinden alınan hücrelerde DNA hasarının (\pm SD) % DNA, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momentinin ortalama değerleri.

Farklı konsantrasyonlarda H ₂ O ₂ ve/veya CF ekstraktı	Ortalama kuyruk % DNA \pm SD	Ortalama Kuyruk Uzunluğu \pm SD	Ortalama Kuyruk Momenti \pm SD
% 3 H₂O₂ için			
Kontrol	48.89 \pm 2.65 ^a	3.79 \pm 0.12 ^a	1.85 \pm 0.003 ^a
%3 H ₂ O ₂	98.61 \pm 5.44 ^b	88.14 \pm 4.42 ^b	86.91 \pm 0.240 ^b
%3 H ₂ O ₂ + 50 μ L CF ekstraktı	79.86 \pm 3.52 ^c	65.57 \pm 8.32 ^c	52.36 \pm 0.292 ^c
%3 H ₂ O ₂ + 100 μ L CF ekstraktı	59.12 \pm 3.12 ^d	23.12 \pm 2.65 ^d	13.66 \pm 0.082 ^d
% 7 H₂O₂ için			
Kontrol	49.98 \pm 5.87 ^a	4.65 \pm 0.14 ^a	2.32 \pm 0.008 ^a
%7 H ₂ O ₂	112.29 \pm 17.2 ^b	89.96 \pm 7.45 ^b	101.01 \pm 1.281 ^b
% 7 H ₂ O ₂ + 50 μ L CF ekstraktı	92.56 \pm 13.1 ^c	81.25 \pm 6.42 ^c	75.20 \pm 0.841 ^c
%7 H ₂ O ₂ + 100 μ L CF ekstraktı	79.19 \pm 9.64 ^d	61.16 \pm 5.32 ^d	48.43 \pm 0.512 ^d

3.5. RAPD-PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

% 3 H₂O₂ ve % 7 H₂O₂ uygulanan gruplarla kontrol grubu karşılaştırıldığında normal bantların kaybolduğu ve yeni bantların oluştuğu gözlemlenmiştir. 72 saat sonra, H₂O₂ (% 3 ve % 7) ile birlikte CF ekstraktı (50 ve 100 μ L) uygulanan grupların kök hücrelerinde sadece H₂O₂ uygulanan gruba kıyasla bant görünümünün kontrole daha yakın olduğu görülmüştür (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Artan dozlar uygulanana *A. cepa* köklerinden alınan hücrelerin OPB-14 primeri ile oluşturulmuş RAPD bantları. (1) % 3 H₂O₂ (2) % 3 H₂O₂+ 50 µL CF ekstraktı, (3) % 3 H₂O₂ + 100 µL CF ekstraktı, (4) % 7 H₂O₂ (5) % 7 H₂O₂+ 50 µL CF ekstraktı, (6) % 7 H₂O₂+ 100 µL CF ekstraktı, (C) Kontrol, (M) Markır, (N) Negatif.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Likenler, yüzyıllardır insanlar tarafından tıp, kozmetik, sanat ve dekorasyon kaynağı olarak çeşitli amaçlar için kullanılan önemli ekolojik özelliklere sahiptirler. Likenlerin tıpta kullanımını eski zamanlara dayanmaktadır. Geçmiş yıllarda tedavi metotları likenlerin morfolojik yapılarına göre uygulanırdı. Ancak gelişen teknoloji ve laboratuvar teknikleri sonucu likenlerin tıbbi kullanımları daha çok öneme sahip olmuştur.

Yapılan birçok çalışmada CF ekstresinin, antibakteriyel, antioksidan, antimikrobiyal, antitoksik, antienflamatuar, antifungal, antiviral, genotoksik ve sitotoksik olduğu belirlenmiştir [115-124].

Dokuz bakteri ve mantarlara karşı *Parmelia sulcata* Taylor, *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale, *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Hipogimnia physodes* (L.) Nyl., ve *Cladonia foliacea* (CF) nin, usnik asit, atranorin ve fumarprotoketrik asit bileşenlerinin kloroform, petrol eteri, dietil eter, aseton ve etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Test edilen tüm ekstraktlar Gram (+) bakterilerin büyümesi üzerinde güçlü inhibitör etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Likenler arasında en yüksek antimikrobiyal aktivite, CF ve *Hipogimya physodes* gösterilmiştir. Son olarak, liken ekstraktlarının antiproliferatif aktivitesi, MTT (3- [4,5-dimetiltiazol-2-il] -2,5-difeniltetrazolyum bromür) yaşayabilirlik canlılık testi ve akrinin turuncu/etidyum bromür boyama ile kolon kanseri, adenokarsinom hücre hattı HCT-116 üzerinde araştırılmıştır. Likenler arasında en yüksek antibakteriyel aktivite *Hypogymnia physodes* ve *Cladonia foliacea* tarafından gösterilmiştir. Kullanılan tüm liken türlerinin, HCT-116 hücrelerinde apoptozu indüklemeye yeteneği olduğu gösterilmiştir [125]. Bu nedenle, bu çalışmanın amaçlarından biri, H₂O₂ toksisitesi (% 3 ve % 7) nedeniyle *A. cepa* kök hücrelerinin hücre ölümü, kromozom sapmaları, mitotik indeks, antioksidan kapasite DNA hasarının değişimini belirlemek ve bu etkilerin CF özütü (50 ve 100 µL) ile birlikte düzeltilip düzeltilmeyeceğini ortaya koymaktır.

A. cepa testi, kirleticilerin sitotoksik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesi için duyarlılığı olan ve meristematik yapısının uygun olmasından dolayı yaygın kullanım alanlarına sahiptir [126, 127]. Ayrıca *A. cepa* ökaryotik ve prokaryotik hücrelerin

etkisini göstermede iyi bir korelasyona sahiptir [108, 128]. Bhagyanathan ve Thoppil [129], canlı ve canlı olmayan hücrelerin belirlenmesi için *A. cepa* köklerinde *Cynanchum sarcomedium* Meve&Liede kullanmışlardır. Bu çalışmada *A. cepa* köklerine, H₂O₂ farklı konsantrasyonlarının muamelesinden sonra Evans mavisi ile boyama yöntemi (canlılık testi) kullanılarak çok fazla hücre ölümüne neden olmuş ve son derece toksik bir madde olduğu gösterilmiştir. H₂O₂ uygulamasından sonra CF ekstraktı uygulanan gruplarda renk değişiminin önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. H₂O₂'nin neden olduğu hücre ölümü ve CF ekstaktının koruyucu etkisi köklerin uygulama dozlarına göre boyayı alıp almamasına göre tespit edilmiştir.

Anar ve ark. [130], CF metanol ekstraktının, genotoksik ve antigenotoksik etkilerini, WP2, Ames (TA1535 ve TA1537) ve kardeş kromatid değişimi (SCE) test sistemleri kullanılarak incelemişlerdir. CF, belirtilen test sistemlerinde antimutajenik özellik göstermiştir. Bu deneyin sonuçları, CF ekstraktının önemli bir antioksidan ve antigenotoksik etkiye sahip olduğunu açıkça göstermiştir. Bu çalışmada H₂O₂'nin köklere uygulanması, kök hücrelerinde kromozomal anomaliyi ciddi oranda arttırmıştır. Bununla birlikte, CF özütü ve H₂O₂ uygulanan grupların kök hücrelerindeki kromozomal değişikliklerin azaldığı tespit edilmiştir.

ABTS/TEAC yöntemi en sık kullanılan antioksidan aktivitedir. ABTS/TEAC yöntemi hem biyolojik sıvıya hem de gıdaya uygulanabilir [131]. FRAP yöntemi ise basit bir yöntemdir ve bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesini ölçmek için kullanılabilir [132]. FRAP ve TEAC testi, bitkilerin radikal süpürme kabiliyetini ölçmek için basit, hızlı, ucuz ve sağlam bir yöntemdir [133]. Mitrović ve ark. [134] liken ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikalleri süpürme ile belirlendiğini göstermiştir. Fenolik içeriği güçlü, DPPH radikal temizleme etkisi ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, CF özütünün H₂O₂ üzerinde koruyucu etkisi FRAP ve TEAC değerlerinde artışa neden olarak göstermiştir. H₂O₂'ye ek olarak CF ekstraktı uygulanan gruplar, kontrol grubuna yakın FRAP ve TEAC değerleri göstermiştir.

Genotoksik etkiye sahip ajanlar, prokaryotik ve ökaryotik organizmaların DNA'sında hasara neden olur. Bu hasar genellikle DNA'daki tek ve/veya çift sarmalda görülür. Genotoksik etkiye sahip ajanlar, kardeş kromatid değişimlerine, mikronükleusa,

hücre ölümüne ve mutasyonlara yol açan karsinogenezise veya kromozomal sapmalara neden olabilir [135]. Bazı çalışmalarda *Clodonia* türleri ekstraktının antioksidan, antimikrobiyal ve antiproliferatif potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir [136]. Bu çalışmada, maruz kalma süresinden sonra komet testi ile tek ve/veya çift iplikli DNA kopmaları belirlenmiştir. Tek ve/veya çift iplikli DNA kopmaları, kuyruk % DNA'sı, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti olarak ölçülmüştür. CF ekstresi (50 ve 100 µL), H₂O₂ (% 3 ve % 7) ile birlikte uygulamasıyla *A. cepa* kök hücreleri üzerine toksik etkileri değerlendirilmiştir. CF özütünün *in vivo* kök hücresinde DNA hasarı üzerine koruyucu etkisini gösteren bir çalışma yoktur. *A. cepa*'nın kök hücrelerinin kuyruk DNA'sı ve kuyruk uzunluğuna bakılarak H₂O₂'nin toksik etkileri belirlenmiştir. 72 saatin sonunda, % 7 H₂O₂ konsantrasyonu uygulanan gruplarda, özellikle kuyruk % DNA ve kuyruk uzunluğunun arttığı ve % 3 H₂O₂ konsantrasyonuna maruz kalan gruplardan daha yüksek oranda olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca farklı konsantrasyonlarda H₂O₂'ye maruz bırakılan gruplarda, 100 µL CF ekstresinin 50 µl CF ekstresinden daha çok koruyucu etkisi olduğu belirlenmiştir.

PCR-RAPD (polimeraz zincir reaksiyonu-rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA) genellikle moleküler belirteçler olarak genotoksisite değerlendirmesi için kullanılır. RAPD analizleri genetik materyalin hasarının nedenini veya hasar seviyesini ortaya koymamakla birlikte, RAPD parmak izleri farklılıkları DNA dizisi değişiklikleri olarak görülerek DNA hasarı, mutasyon veya DNA'nın yeniden düzenlenmesini gösterebilmektedir [137]. RAPD ile moleküler çalışmalar, birçok araştırmacı tarafından hem bitki hem de hayvansal gıdalarda toksik etki çalışmaları üzerine kullanılmıştır [138]. Aksakal ve ark. [139] herbisit 2.4-D RAPD testini kullanarak mısır kökünde genotoksik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Tedeschi ve ark. [138] belirli alanlarda yetiştirilen Tropea kırmızı soğanı (*A. cepa*) karakterize etmek için RAPD analizleri kullanmışlardır. Bu çalışmada da DNA hasarını azaltmak için CF ekstraktı kullanılmıştır. Bu nedenle, CF ekstraktı gibi koruyucu bir ajanın kullanımının, kök hücrelerini H₂O₂ (% 3 ve % 7) kaynaklı toksisiteye karşı koruyucu olduğu tespit edilmiştir. RAPD sonuçlarına göre, kontrol ile uygulama grubundaki bant yoğunluklarının azalması/artması, yeni bantların oluşması/kaybolması *A. cepa*

köklerinde genotoksisiteye neden olduğu ve ayrıca 100 µL CF ekstraktının DNA üzerinde 50 µL ekstraktından daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

CF ekstraktının *A. cepa* kökleri üzerindeki antisitotoksik, antigenotoksik ve antimutajenik etkileri daha önce araştırılmamıştır. Bulgularımız, H₂O₂'nin (% 3 ve % 7) kök meristematik hücreleri üzerindeki etkisinin konsantrasyona ve süreye bağılı olarak değiştini göstermiştir. Maruz kalma süresi arttıkça hücrelerin H₂O₂'ye duyarlılığı nedeniyle kök hücrelerde kromozomal değişimler ve DNA hasarı görülmüştür. 50 µL CF ekstraktı, incelenen parametrelere göre 100 µL CF ekstraktı sonuçları ile karşılaştırıldığında kök hücreler üzerinde daha az etki göstermiştir. Bununla birlikte, CF kullanımının sitolojik açıdan moleküler açıya kadar kök hücreler üzerinde koruyucu etkisini belirlemek için daha fazla araştırma yapılması gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Halliwell, B., et al., Hydrogen Peroxide In The Human Body, FEBS Letters, 14-5793, 2000.
2. Özyurt, C., Yeni İmmobilizasyon ve Ölçüm Tekniklerinin Kullanımıyla Hemoglobin Temelli Hidrojen Peroksit Biyosensörlerinin Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 2009.
3. Cantoni, O., et al, Cite As Role of Metal Ions In Oxidant Cell Injury, Biological Trace Element Research, 21 (1), 277–28, 1989.
4. Hidrojen Peroksit <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+7722-84-1> (Ocak 2018)
5. Sharma, P., et al., Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism In Plants Under Stressful Conditions, Journal of Botany, 2012, 26, 2012.
6. Halliwell, B., Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life, Plant Physiology, 141 (2), 312–322, 2006.
7. Imlay J.A., et al., Toxic DNA Damage by Hydrogen Peroxide Through The Fenton Reaction In Vivo and In Vitro, Science, 240 (4852), 640-2, 1988.
8. Hampton, B.M., Orrenius, S., Dual Regulation of Caspase Activity by Hydrogen Peroxide: Implications For Apoptosis, FEBS Letters, 414 (3), 552-556, 1997.
9. Burdon, H.R., Superoxide And Hydrogen Peroxide In Relation to Mammalian Cell Proliferation, Free Radical Biology and Medicine, 18 (4), 775-794, 1995.
10. Gechev, T.S., Hille, J., Hydrogen Peroxide As a Signal Controlling Plant Programmed Cell Death, Journal of Cell Biology, 168, 17–20, 2005.
11. Bienert, G.P., et al., Membrane Transport of Hydrogen Peroxide, Biochimica et Biophysica Acta, 1758, 994-1003, 2006.
12. Petrov, V.D., Breusegem, F.V., Hydrogen Peroxide a Central Hub For Information Flow In Plant Cells, AOB Plants, 14, 2012.
13. Foyer, C.H., et al., Hydrogen Peroxide and Glutathione- Associated Mechanisms of Acclimatory Stress Tolerance and Signalling, Physiologia Plantarum, 100 (2), 241-254, 1997.
14. Plaine, H.L., The Effect of Oxygen and Hydrogen Peroxide On The Action of a Specific Gene and On Tumour Induction In *Drosophila Melanogaster*, Genetics, 40,268–280, 1955.
15. Imlay, J.A., Linn, S., DNA Damage and Oxygen Radical Toxicity, Science, 240 (4857), 1302-1309, 1988.
16. Özcan, O., et al., Oxidative Stress and Its Impacts On Intracellular Lipids, Proteins and DNA, Journal of Clinical and Experimental Investigations, 6 (3), 331-336, 2015.

17. Shah, K., et al., Effect of Cadmium On Lipid Peroxidation, Superoxide Anion Generation and Activities of Antioxidant Enzymes In Growing Rice Seedlings, *Plant Science*, 161 (6), 1135–1144, 2001.
18. Mittler, R., Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance, *Trends in Plant Science*, 7, (9), 405–410, 2002.
19. Sharma, P., Dubey, R.S., Drought Induces Oxidative Stress and Enhances The Activities of Antioxidant Enzymes In Growing Rice Seedlings, *Plant Growth Regulation*, 46 (3), 209–221, 2005.
20. Lennon, S.V., et al., Dose- Dependent Induction of Apoptosis In Human Tumour Cell Lines by Widely Diverging Stimuli, *Cell Proliferation*, 24 (2), 203-214, 1991.
21. Dat, J., et al., Dual Action of The Active Oxygen Species During Plant Stress Responses, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57 (5), 779–795, 2000.
22. Bai, J., et al., Overexpression of Catalase In Cytosolic Or Mitochondrial Compartment Protects HepG2 Cells Against Oxidative Injury, *The Journal of Biological Chemistry*, 274, 26217-26224, 1999.
23. Satoh, T., et al., Free Radical Independent Protection by Nerve Growth Factor and BCL-2 of PC12 Cells From Hydrogen Peroxide-Triggered Apoptosis, *Journal of Biochemistry*, 120 (3), 540–546, 1996.
24. Mishra, S., et al., Arsenite Treatment Induces Oxidative Stress, Upregulates Antioxidant System, and Causes Phytochelatin Synthesis In Rice Seedlings, *Protoplasma*, 248 (3), 565–577, 2011.
25. Fiskesjö, G., The *Allium* Test--An Alternative In Environmental Studies, The Relative Toxicity Of Metal Ions, *Mutation Research*, 197 (2), 243-260, 1988.
26. Grant, W.F., Cytogenetics Studies of Agricultural Chemicals In Plants In Genetic Toxicology an Agricultural Perspective, Plenum Press, New York, 335–378, 1992.
27. Türkoğlu, Ş., Genotoxic Effects of mono-di, and Trisodium Phosphste on Mitotic Activity, DNA Content, and Nuclear Volume In *Allium cepa* L., *Caryologia*, 62 (3), 171–179, 2009.
28. Saxena, P.N., et al., Cytogenetic Effects of Commercial Formulation of Cypermethrin In Root Meristem Cells of *Allium sativum*: Spectroscopic Basis of Chromosome Damage, *Toxicology*, 216, 244-252, 2005.
29. Özkara, A., et al., Assessment of Cytotoxic and Genotoxic Potential of Pyracarblid by *Allium* Test and Micronucleus Assay, *Drug and Chemical Toxicology*, 38 (3), 337-341, 2014.
30. Konuk, M., et al., Determination of Genotoxic Effect of Boron on *Allium cepa* Root Meristematic Cells, *Pakistan Journal of Botany*, 39, 73–79, 2007.
31. Levan, A., The Effect of Colchicine on Root Mitoses In *Allium*, *Hereditas*, 24, 471–486, 1938.

32. Grant, W.F., Chromosome Aberration Assays In *Allium*. a Report of The U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program, *Mutation Research*, 99, 273-291, 1982.
33. Fiskesjö, G., The *Allium* Test In Wastewater Monitoring, *Environmental Toxicology*, 8 (3), 291-298, 1993.
34. Al-Sabti, K., Kurelec, B., Chromosomal Aberrations In Onion (*Allium cepa*) Induced By Water Chlorination By-Products, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 34 (1), 80–88, 1985.
35. Leme M.D., Marin-Morales, A., *Allium cepa* Test In Environmental Monitoring: a Review On Its Application, *Mutation Research*, 682 (1), 71 – 81, 2009.
36. Hodkinson, B.P., Lutzoni, F., a Microbiotic Survey of Lichen-Associated Bacteria Reveals a New Lineage From The Rhizobiales, *Symbiosis*, 49, 163–180, 2009.
37. Nash III TH., *Lichen Biology*, Cambridge: Cambridge University Press, 1996.
38. Hawksworth, D., The Variety of Fungal- Algal Symbioses, Their Evolutionary Significance, and The Nature of Lichens, *Botanical Journal of The Linnean Society*, 96 (1), 3-20, 1988.
39. Ahmadjian V., *Algal/Fungal Symbiosis*, *Progress In Phycological Research*, Elsevier Biomedical, 1, 79-233, 1982.
40. Ahmadjian V., *The Lichen Symbiosis*, New York: John Wiley and Sons, 1993.
41. Hale, M.E., *The Biology of Lichens*, London, Cambridge, 1-200, 1974.
42. Hawksworth, D.L., Hill, D.J., *The Lichen Forming-Fungi*, Glasgow: Blackie. Glasgow: Blackie Distributed In The USA by Chapman and Hall In Association With Methuen, New York, 1984.
43. Demmig-Adams, B., et al., Differences In The Capacity of Radiationless Energy Dissipation In The Photochemical Apparatus of Green and Blue-Green Algal Lichens Associated With Differences In Carotenoid Composition, *Planta*, 180, 9-582, 1990.
44. Yıldırım, A., Kerim, G., *Bitki Biyolojisi Botanik*, Palme Yayıncılık, Ankara 2006.
45. Blanco, O., et al., Major Clades of Parmelioid Lichens (*Parmeliaceae*, Ascomycota) and Their Evolution of Their Morphological and Chemical Diversity, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39, 52-69, 2006.
46. Ertl, L., Über die Lichtverhältnisse In Laubflechten, *Planta*, 39, 245-270, 1951.
47. Øvstedal, D.O., Lewis Smith, R.I., *Lichens of Antarctica and South Georgia: a Guide to Their Identification and Ecology*, Cambridge University Press, Cambridge, 2001.
48. Kershaw, K.A., *Physiological Ecology of Lichens*, Cambridge: Cambridge University Press, 1985.
49. Pignata, M.L., et al., Distribution of Atmospheric Trace Elements and Assessment of Air Quality In Argentina Employing The Lichen, *Ramalina celastri*, As a Passive Biomonitor: Detection of Air Pollution Emission Sources, *International Journal of Environmental Health Research*, 1, 29-46, 2007.
50. Conti, M.E., Tudino, M., Lichens As Biomonitors of Heavy-Metal Pollution, *Comprehensive Analytical Chemistry*, 73, 117–145, 2016.
51. Belnap, J., et al., Global Change and Biological Soil Crusts: Effects of Ultraviolet Augmentation Under Altered Precipitation Regimes and Nitrogen Additions, *Global Change Biology*, 14, 670-686, 2008.

52. Coxson, D.S., Marsh, J., Lichen Chronosequence (Postfire and Postharvest) In Lodgepole Pine (*Pinus Contorta*) Forests Of Northern Interior British Columbia, Canadian Journal of Botany, 79, 1449-1464, 2001.
53. Karamanoğlu, K., Türkiye'nin Önemli Liken Türleri, Ankara Eczacılık Fakültesi, Ankara, 1, 53-75, 1971.
54. Friedmann, E.I., Endolithic Microorganisms In The Antarctic Cold Desert, Science, 215, 1045–1053, 1982.
55. Lücking, R., Bernecker-Lücking, A., Distance, Dynamics and Diversity in Tropical Rainforests, An Experimental Approach Using Follicolous Lichens On Artificial Leaves. I. Growth Performance and Succession, Ecotropica, 8, 1–13, 2002.
56. Brodo, I.M., et al., Lichens of North American, Yale University Press, New Haven and London, 2001.
57. Hale, M.E., The Biology of Lichens In: Contemporary Biology, Editors, E. J. W., Bornington, F. R. S. and Wills, Clowe Sons, London, 1974.
58. Zeybek, U., Jhon, V., Likenler Kimyasal Bileşikleri ve Tıbbi Kullanımları, Pharmacia, 32(1), 37-48, 1992.
59. Hawksworth, D.L., The Fungal Partner. In: Galun M, ed., Handbook of Lichenology, Florida, USA, 35–38, 1988.
60. Ahmadjian, V., The Lichens, Chapter 18, Resynthesis of Lichens, 565-579, 1973.
61. Ahmadjian, V., Lichens Are More Important Than You Think, Bioscience, 45, 123–124, 1995.
62. De Priest P.T., Early Molecular Investigations of Lichen-Forming Symbionts: 1986-2001, Annual Review of Microbiology, 58, 273-301, 2004.
63. Yıldız, A., Yurdakulol, E., Likenler Tabiat ve İnsan, 6–11, 2002.
64. Muggia, L., Grube, M., Fungal Diversity In Lichens: From Extremotolerance To Interactions With Algae, Life (Basel), 8 (2), 15, 2018.
65. Honegger, R., The Lichen Symbiosis - What Is So Spectacular About It?, Lichenologist, 30, 193–212, 1998.
66. Bowler, P.A., Rundel, P. W., Reproductive Strategies In Lichens, Botanical Journal of the Linnean Society, 70 (4), 325–340, 1975.
67. Krishnamurthy, K.V., Upreti, D. K., Reproductive Biology of Lichens, Reproductive Biology of Plants, 7, 127-147, 2001.
68. Güner, H., et al., Tohumuz Bitkiler Sistematiği II (Mantarlar ve Likenler), Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, V. Baskı, II. Cilt, No. 138, 139-142, 1992.
69. Galun, M., CRC Handbook of Lichenology Volume III, CRC Press Inc., Florida, A.B.D., 1988.
70. Dobson, F.S., Lichens, An Illustrated Guide to The British and Irish Species, England, The Richmond Publishing, 2000.
71. Chevallier, A., The Encyclopedia of Medicinal Plants, Dorling Kindersley, London, 1996.
72. Bown, D., Encyclopedia of Herbs and Their Uses, London, Dorling Kindersley, 2001.
73. Malhotra, S., et al., Lichens Role In Traditional Medicine and Drug Discovery, The Internet Journal of Alternative Medicine, 5, 1–5, 2008.
74. Klosa, J., Über ein neues Antibiotikum aus Flechten, Pharmazie, 289-290, 1950.

75. Hein, W.H., Antibiotika aus Flechten Südd, Apoth Zt, 90, 315-318, 1950.
76. Ahti, T., Cladoniaceae, Flora Neotropica Monograph, 78, 1-362, 2000.
77. Miadlikowska, J., et al., New Insights Into Classification and Evolution of The Lecanoromycetes (Pezizomycotina, Ascomycota) From Phylogenetic Analyses of Three Ribosomal RNA and Two Protein-Coding Genes, Mycologia, 98, 1088-1103, 2006.
78. Lumbsch, H.T., Huhndorf, S.M., Myconet Volume 14. Part One. Outline of Ascomycota—2009. Part Two. Notes on Ascomycete Systematics, Nos. 4751–5113, Fieldiana Life ve Earth Sciences, 1, 1-64, 2010.
79. Huovinen, K., Ahti, T., Biosequential Patterns For The Formation of Depsides, Depsidones and Dibenzofurans In The Genus Cladonia (Lichen-Forming Ascomycetes), Annales Botanici Fennici, 19, 225-234, 1982.
80. Hepokur, C., TÜBİTAK (212T037), Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, In Press.
81. Kosanic, M., et al., *Cladonia* Lichens and Their Major Metabolites As Possible Natural Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer Agents, Journal of Food Science and Technology, 59, 518-525, 2014.
82. Kahraman, A., et al., Investigation of Environmental Contamination In Lichens of Gökçeada (Imbroz) Island In Turkey, Radiation Measurements, 44, 199-202, 2009.
83. Emsen, B., et al., Insecticidal Effect of The Extracts of *Cladonia foliacea* (Huds.) Willd. and *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale Against Adults of The Grain Weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), Egyptian Journal of Biological Pest Control, 22, 145-145, 2012.
84. Giordano, S., et al., Toxic Effects of The Thallus of The Lichen *Cladonia Foliacea* On The Growth and Morphogenesis of *Bryophytes*, Cryptogamie, 20, 35-41, 1999.
85. Hepokur, C., et al., Extracts of *Cladonia subulata* and *Cladonia folicea* Display Profound Anticancer Activity and Accelerate Wound Healing, In Press.
86. Aslan, A., et al., Antioxidant And Antimicrobial Properties of The Lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Evernia divaricata*, *Evernia prunastri* and *Neofuscalia pulla*, Pharmaceutical Biology, 44 (4), 247-252, 2006.
87. Ma, T.H., et al., Tradescantia Stamen Hair Mutation Bioassay, Mutation Research, 310, 211-220, 1994.
88. Fiskesjö, G., The Allium Test As A Standard In Environmental Monitoring, Hereditas, 102, 99-112, 1985.
89. Firbas, P., Amon, T., Chromosome Damage Studies In The Onion Plant *Allium Cepa* L., Caryologia, International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics, 67 (1), 25-35, 2014.
90. Benzie I.F, Strain, J.J., Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version For Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration, Methods Enzymology, 299, 15-27, 1999.
91. Moniruzzaman, M., et al., Advances In The Analytical Methods For Determining The Antioxidant Properties of Honey: a Review, African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 9 (1), 36- 42, 2012.

92. Miller, N.J., et al., Antioxidant Activities of Carotenes and Xanthophylls, *FEBS Letters*, 384, 240–242, 1996.
93. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Antioxidants-The Case For Fruit and Vegetables In The Diet, *British Food Journal*, 97, 35–40, 1995.
94. Rice-Evans C.A., et al., Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids, *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933–956, 1996.
95. Re R, et al., Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237, 1999.
96. Apak, R., et al., Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds With The CUPRAC Assay, *Molecules*, 12 (7), 1496-1547, 2007.
97. Awika JM et al., Screening Methods To Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (23), 6657–6662, 2003.
98. Miller, N.J., Rice-Evans C.A., Total Antioxidant Status In Plasma and Body Fluids, *Method Enzymology*, 234, 279–293, 1994.
99. Singh, N.P., et al., A Simple Technique For Quantitation of Low Levels of DNA Damage In Individual Cells, *Experimental Cell Research*, 175, 184-191, 1988.
100. Fairbairn, D.W., et al., The Comet Assay: A Comprehensive Review, *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 339, 37-59, 1995.
101. Ross, G.M., et al., The Single Cell Microgel Electrophoresis Assay (Comet Assay) Technical Aspects and Application. Report Of The Fifth LH Gray Trust Workshop, Institute of Cancer Research, *Mutation Research/DNA Repair*, 337, 57- 60, 1995.
102. Tice, R.R., Vazquez, M., Protocol For The Application of The pH>13 Alkaline Single Cell Gel (SCG) Assay to The Detection of DNA Damage In Mammalian Cells, *ILS*, 1-9, 1998.
103. Tice, R.R., et al., Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines For In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35, 206-221, 2000.
104. Sasaki, Y.F., et al., The Comet Assay With 8 Mouse Organs: Results With 39 Currently Used Food Additives, *Mutation Research*, 519 (1-2), 103-119, 2002.
105. Klaude, M., et al., The Comet Assay: Mechanisms and Technical Considerations, *Mutation Research*, 363, 89-96, 1996.
106. Murray, M.G., Thompson, W.F., Rapid Isolation of High Molecular Weight Plant DNA, *Nucleic Acids Research*, 8 (19), 4321–4325, 1980.
107. Williams, J.G.K., et al., DNA Polymorphism Amplified by Arbitrary Primers Are Useful As Genetic Markers, *Nucleic Acids Research*, 18, 6531-6535, 1990.
108. Fiskesjö, G., The Allium As A Standard In Environmental Monitoring, *Hereditas*, 102, 99–102, 1985.
109. Benzie IF, Strain, J.J., The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) As a Measure of Antioxidant Power Q The FRAP Assay, *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76, 1996.
110. Re, R., et al., Rice-Evans, C., Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237, 1999.

111. Baker, C.J., Mock, N.M., An Improved Method For Monitoring Cell Death In Cell Suspension and Leaf Disc Assays Using Evan's Blue, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 39, 7–12, 1994.
112. Özkan, D., et al., Evaluation of The Cytogenetic Damage İnduced by The Organophosphorous Insecticide Acephate, *Cytotechnology*, 59, 73–80, 2009.
113. Per, S., Ercan, F., Comparison of Three Methods of DNA Extraction From *Parachipteria willmanni* (Acari: Oribatida) Collected In Turkey, *Journal of Biotech Research*, 1, 16-20, 2015.
114. Tedeschi, P., et al., Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Fingerprint and Antioxidants Profile as Markers For Tropea Red Onion (*Allium Cepa* L.) Authenticity, *Journal of Food Composition and Analysis*, 36, 98–103, 2014.
115. Öztürk, S., Güvenç, S., Farklı Bölgelerde Toplanan Liken Örneği *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf var. *furfuracea*'nin Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması, *Turkish Journal of Botany*, 19, 145–148, 1995.
116. Aras, S., Cansaran, D., Isolation of DNA For Sequence Analysis From Herbarium Material of Some Lichen Specimens, *Turkish Journal of Botany*, 30, 449–453, 2006.
117. Yücel, O., et al., Antioxidant And Antimicrobial Properties of A Lichen Species, *Cladonia rangiformis* Growing in Turkey, *Turkish Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 4, 101–109, 2007.
118. Özen, T., Kınalıoğlu, K., Determination of Antioxidant Activity of Various Extracts of *Parmelia saxatilis*, *Biologia*, 63, 211–216, 2008.
119. Karagöz, A., et al., Antibacterial Activity of Some Lichen Extracts, *Journal of Medicinal Plant Research*, 3, 1034–1039, 2009.
120. Aydın, S., Kınalıoğlu, K., Antimicrobial Activity of The Lichen Extracts of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf var. *furfuracea* and *Parmelina tiliaceae* (Hoffm.), *Black Sea Journal of Health Science*, 1, 30–38, 2010.
121. Yalçın, E., et al., Biosorption of Cu²⁺ and Zn²⁺ by Raw and Autoclaved *Rocella phycopsis*, *JES*, 22, 367–373, 2010.
122. Sökmen, B.B., et al., Antioksidant and Antibacterial Properties of A Lichen Species *Diploschistes scruposus* (Schreb.) Norman, *European Journal of Biology*, 71, 43–51, 2012.
123. Yıldız, A., et al., Correlation Between Chlorophyll Degradation and The Amount of Heavy Metals Found in *Pseudevernia furfuracea* in Kayseri (Turkey), *Ekoloji*, 20, 82–88, 2011.
124. Yılmaz, M., et al., The Antimicrobial Activity of Extracts of The Lichen *Cladonia foliacea* and Its (-)-Usnic Acid, Atranorin, and Fumarprotocetraric Acid Constituents, *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung Tübingen*, 59, 249-54, 2004.
125. Mitrović, T., et al., Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Five Lichen Species, *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 5428–5448, 2011.
126. Panda, K.K., et al., In Vitro Biosynthesis and Genotoxicity Bioassay of Silver Nanoparticles Using Plants, *Toxicology in Vitro*, 25, 1097–1105, 2011.
127. Barberio, A., et al., Standardization of Bulb and Root Sample Sizes For The *Allium cepa* Test, *Ecotoxicology*, 20, 927–935, 2011.
128. Yıldız, M., et al., Determination of Genotoxic Effects of Copper Sulphate and Cobalt Chloride in *Allium cepa* Root Cells by Chromosome Aberration and Comet Assays, *Chemosphere*, 75, 934, 2009.

129. Bhagyanathan, N.K., Thoppil, J.E., Pre-Apoptotic Activity of Aqueous Extracts of *Cynanchum Sarcomedium* Meve & Liede on Cells of *Allium Cepa* and Human Erythrocytes, *Protoplasma*, 253, 1433–1438, 2016.
130. Anar, M., et al., The Antioxidant and Antigenotoxic Potential of Methanol Extract of *Cladonia foliacea* (Huds.) Willd, *Toxicology and Industrial Health*, 32, 721–729, 2016.
131. Villano, D., et al., The Antioxidant Activity of Wines Determined by The ABTS^{·+} Method: Influence of Sample Dilution and Time, *Talanta*, 64, 501–509, 2004.
132. Guo, C., Et Al., Antioxidant Activities of Peel, Pulp and Seed Fractions of Common Fruits as Determined by FRAP Assay, *Nutrition Research*, 23, 1719–1726, 2003.
133. Gliszczynska-Swigło, A., Antioxidant Activity of Water Soluble Vitamins in The TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) and The FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Assays, *Food Chemistry*, 96, 131–136, 2006.
134. Mitrović, T., et al., Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Five Lichen Species, *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 5428–5448, 2011.
135. Hirose, H., et al., Phosphorylation and Gene Expression of P53 Are Not Affected in Human Cells Exposed to 2.1425 Ghz Band Cw or W-Cdma Modulated Radiation Allocated to Mobile Radio Base Stations, *Bioelectromagnetics*, 27, 494–504, 2006.
136. Kosanic, M., et al., *Cladonia* Lichens and Their Major Metabolites as Possible Natural Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer Agents, *Food Science and Technology Research*, 59, 518–525, 2014.
137. De Wolf, H., et al., The Use of RAPD in Ecotoxicology, *Mutation Research*, 566, 249–262, 2004.
138. Tedeschi, P., et al., Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Fingerprint and Antioxidants Profile as Markers for Tropea Red Onion (*Allium cepa* L.) Authenticity, *Journal of Food Composition and Analysis*, 36, 98–103, 2014.
139. Aksakal, O., et al., Assessment of Genotoxic Effects of 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid on Maize by Using RAPD Analysis, *Industrial Crops and Products*, 42, 552–557, 2013.

ÖZGEÇMİŞ

10 Eylül 1989 tarihinde Hatay'da dünyaya gelen Müge HİLOOĞLU, 1996-2003 yılları arasında Güzelburç İlköğretim Okulu'nda ilkokulu, 2003-2007 yılları arasında Özbuğday Anadolu Lisesi'nde liseyi, 2009-2016 yılları arasında ise Yozgat Bozok Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimini tamamlamıştır. Lisans eğitimi devam ettiği dönemde, 2015 yılında Yozgat Bozok Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nde formasyon eğitimini başarıyla tamamlamıştır.

2016 yılında Yozgat Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda başladığı Yüksek Lisans öğrenimine devam etmektedir.

Yayın

Hilooglu M., Kocakaya M., Pandır D., 2018, Assessment of antisitotoxic effect of lichen *Cladonia foliaca* extract on *Allium cepa* root tips. Environmental Science and Pollution Research, 25 (32). 32478–32490.

Bildiriler

1. Per S., Bekdemir F.O., **Hilooğlu M.**, Pandır D. Toxicity effect of furan on the morphology of human erythrocytes. International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2017). 05-08 July 2017, Belarus.

2. Kocakaya M., Atpınar M.D., Alpaslan İ., **Hilooğlu M.**, A Second Record for Turkish Lichen Flora: non-lichenized *Opegrapha parasitica*. 9th Ecology Symposiums, 19-23 June, 2018, Kastamonu, Turkey.

Proje

Cladonia foliaca liken ekstraktının, H₂O₂ tarafından hasar görmüş *Allium cepa* L. kök ucu hücreleri üzerindeki koruyucu rolü. Bozok Üniversitesi BAP Projesi, 6601-FBE/17-114. Araştırmacı (7000,00 TL).