



T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI SORBİTOL DOZLARI UYGULANAN ASPİRDE (*Carthamus tinctorius* L.) TOTAL FENOLİK, TOTAL FLAVANOİD MADDE MİKTARLARI VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTENİN GELİŞME DÖNEMLERİNE GÖRE DEĞİŞİMİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALPER DİLEK

TEMMUZ

ALPER DİLEK

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

TEMMUZ 2022

FARKLI SORBİTOL DOZLARI UYGULANAN ASPIRDE (*Carthamus tinctorius* L.) TOTAL FENOLİK, TOTAL FLAVANOİD MADDE MİKTARLARI VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTENİN GELİŞME DÖNEMLERİNE GÖRE DEĞİŞİMİ

Alper DİLEK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ebru BATI AY

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2022

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

(İmza)

Alper DİLEK

(Tarih)

FARKLI SORBİTOL DOZLARI UYGULANAN ASPİRDE (*Carthamus tinctorius* L.)
TOTAL FENOLİK, TOTAL FLAVANOİD MADDE MİKTARLARI VE
ANTIOKSİDAN AKTİVİTENİN GELİŞME DÖNEMLERİNE GÖRE DEĞİŞİMİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Alper DİLEK

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2022

ÖZET

Bitkilerde bulunan sekonder metabolitlerin biyotik ve abiyotik stres koşullarında birçok parametreden etkilendiği ve miktarca değişkenlik gösterebildiği bilinmektedir. Bu tez çalışması, Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) farklı dönemlerde (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme dönemi, çiçeklenme sonrası) yapraktan püskürtme yoluyla farklı dozlarda sorbitol uygulamalarının total fenolik, total flavonoid ve antioksidan aktivite üzerine etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışma, Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksekokulu Yerleşkesinde bulunan sera alanında bir yıl süre ile yürütülmüştür. Araştırmada materyal olarak Olein çeşidi kullanılmıştır. Denemede beş farklı sorbitol dozu (0, 5 g/L, 25 g/L, 50 g/L, 100 g/L) yapraktan püskürtme yoluyla uygulanmıştır. Sorbitol dozları üç farklı gelişme döneminde (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme, çiçeklenme sonrası) uygulanmıştır. Hasat işlemi tamamlandıktan sonra tüm örneklerden elde edilen drogların total fenolik madde miktarı, total flavonoid madde miktarı ve DPPH serbest radikal giderme aktivitesi incelenmiştir. Farklı gelişme dönemlerinde uygulanan artan sorbitol dozlarının ve total fenolik total flavonoid madde miktarına ve DPPH serbest radikal giderme aktivitesi üzerine etkisinin istatistiki olarak önemsiz olduğu gözlenmiştir. Ancak total fenolik madde içeriğinde sorbitol dozları x farklı gelişme dönemleri interaksiyonu önemli çıkmıştır. Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.), total fenolik madde miktarı en yüksek bitkinin çiçeklenme öncesi dönemde 133,00 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Total flavonoid madde miktarı, en yüksek bitkinin çiçeklenme öncesi dönemde 24,46 mg QE/g olarak tespit edilmiştir. DPPH serbest radikal giderme aktivitesinde ise en yüksek bitkinin çiçeklenme sonrası dönemde %92,86 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yürüttüğümüz çalışmayı aspirde farklı gelişme dönemlerine göre değerlendirdiğimizde, total fenolik madde miktarı ve total flavonoid madde miktarları için gelişme dönemlerini çiçeklenme öncesi> çiçeklenme dönemi> çiçeklenme sonrası şeklinde sıralayabiliriz. Antioksidan aktiviteyi ise çiçeklenme sonrası > çiçeklenme dönemi> çiçeklenme öncesi şeklinde sıralayabiliriz.

Sayfa Adedi	: 32
Anahtar Kelimeler	: Aspir, sorbitol dozları, gelişme dönemleri
Danışman	: Dr. Öğr. Üyesi Ebru BATI AY

CHANCE OF TOTAL PHENOLIC, TOTAL FLAVONOID AMOUNTS AND
ANTIOXIDANT ACTIVITY ACCORDING TO DEVELOPMENT PERIODS IN
SAFFLOWER (*Carthamus tinctorius* L.) APPLIED DIFFERENT SORBITOL DOSES

(M. Sc. Thesis)

Alper DİLEK

AMASYA UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2022

ABSTRACT

It is known that secondary metabolites in plants are affected by many parameters under biotic and abiotic stress conditions and can vary in quantity. This thesis study was carried out to determine the effects of sorbitol applications at different doses at different periods (pre flowering, flowering period, after flowering) by spraying from the leaves on total phenolic, total flavonoid and antioxidant activities in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). The study was carried out for one year in the greenhouse area in the Suluova Vocational School Campus of Amasya University. Olein variety was used as the material in the study. In the experiment, five different sorbitol doses (0,5 g/L, 25 g/L, 50 g/L, 100 g/L) were applied by foliar spraying. Sorbitol doses were applied at three different growth stages (pre flowering, flowering period, after flowering). After the harvest was completed, the total phenolic substance content, total flavonoid substance content and DPPH free radical scavenging activity of the drugs obtained from all samples were examined. It was observed that the effects of increasing sorbitol doses applied in different growth periods and total phenolic total flavonoid substance amount and DPPH free radical scavenging activity were statistically insignificant. However, the interaction of sorbitol doses x different development periods in total phenolic substance content was significant. In safflower (*Carthamus tinctorius* L.), the highest total phenolic content was determined as 133,00 mg GAE/g in the pre-flowering period. The highest total flavonoid substance content was determined as 24,46 mg QE/g in the pre-flowering period of the plant. The highest DPPH free radical scavenging activity was determined as 92,86% in the after-flowering period of the plant. As a result, when we evaluate our study according to different development periods in safflower, we can rank the development periods for total phenolic substance content and total flavonoid substance amounts as pre flowering > flowering period > after flowering. On the other hand, we can list the antioxidant activity as after flowering > flowering period > pre flowering.

Number of pages : 32

Keywords : Safflower, sorbitol doses, development periods

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Ebru BATI AY

ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez konusunun seçiminde ve tez hazırlama süreci boyunca fikirleri ve manevi desteğiyle beni yönlendiren danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Ebru BATI AY'a, bu süreç içerisinde benden desteklerini esirgemeyen Biyoteknoloji ABD öğretim üyelerine ve bana bu zamana kadar her zaman maddi ve manevi olarak yanımda bulunan ailem'e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışmasını FMB-BAP 21-0496 No'lu proje ile destekleyen Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ve üyelerine teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1. Materyal	12
3.2. Kullanılan Ekipmanlar	13
3.3. Yöntem.....	13
3.3.1. Araştırma denemesi	13
3.3.2. Ekstraksiyon yöntemi.....	15
3.3.3. Toplam fenolik madde miktarı yöntemi	16
3.3.4. Toplam flavonoid madde miktarı yöntemi	16
3.3.5. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi yöntemi	16
3.3.6. İstatiksel analiz.....	17
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	18
4.1. Total Fenolik Madde Miktarı.....	18
4.2. Total Flavonoid Madde Miktarı.....	20
4.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	22
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	24

	Sayfa
KAYNAKLAR	26
ÖZGEÇMİŞ	32



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Farklı dönemlerde ve farklı dozlarda sorbitol uygulanan asperde (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) total fenolik madde miktarı varyans analiz sonuçları	18
Çizelge 4.2. Farklı dönemlerde ve farklı dozlarda sorbitol uygulanan asperde (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) total fenolik madde miktarı (mg GAE/g).....	19
Çizelge 4.3. Farklı dönemlerde ve farklı dozlarda sorbitol uygulanan asperde (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) total flavonoid madde miktarı varyans analiz sonuçları.....	20
Çizelge 4.4. Farklı dönemlerde ve farklı dozlarda sorbitol uygulanan asperde (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) total flavonoid madde miktarı (mg QE/g)	21
Çizelge 4.5. Farklı Dönemlerde ve Farklı Dozlarda Sorbitol Uygulanan asperde (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) DPPH serbest radikal giderme aktivitesi varyans analiz sonuçları.....	22
Çizelge 4.6. Farklı dönemlerde ve farklı dozlarda sorbitol uygulanan asperde (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) DPPH serbest radikal giderme aktivitesi (%inhibisyon).....	22

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Aspir (<i>Carthamus tinctorius</i>) Olein çeşidi.....	12
Şekil 3.2. Aspir deneme planı görünümü (a), bitkinin çıkış görüntüsü (b), çiçeklenme öncesi sorbitol uygulamaları.....	13
Şekil 3.3. Hasat olgunluğuna gelen bitkilerden görünüm (a, b).....	14
Şekil 3.4. Bitkinin methanol eklenmiş cam kavanozda görüntüsü (a), bitkinin methanol ile ultrasonik banyoda ekstrakte edilmesi (b), süpernatant rotary evaporator cihazından görüntüsü (c).....	15
Şekil 3.5. DPPH Serbest radikal giderme aktivitesinin belirlenmesi için ekstraktların mikropate ekim görüntüsü (a), ekstraktların spektrofotometrede okunması (b).....	17

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, yanda açıklamaları verilmek üzere aşağıda listelenmiştir.

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
AlCl ₃	Alimünyum klorür
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütillenmis Hidroksi Toluen
G	Gram
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
M	Molar
Mg	Milligram
mL	Mililitre
NaNO ₂	Sodyum Nitrit
NaOH	Sodyum Hidroksit
µg	Mikrogram
mg/l	Miligram/Litre
g/l	Gram/Litre
mg/mL	Miligram/Mililitre
QE	Kuersetin eşdeğeri
DPPH	1,1-difenil-2-pikril hidrazil
MS	Murashige ve Skoog
<	Küçük
>	Büyük

HPLC

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi



1. GİRİŞ

Dünyada ve ülkemizde nüfusun artmasıyla birlikte gıda maddelerinin tüketimi de artmaktadır. Bu artış ile bitkisel yağlara olan talep de artmaktadır. Yağların üretimi için hammadde kaynağı olan yağ bitkilerinin önemi de ortaya çıkmaktadır. Hayvansal kaynaklı yağların pahalı ve temininin zor olması aynı zamanda insan sağlığı üzerine bazı olumsuz etkilerinin olması bitkisel yağların tüketimini ve talebinin gün geçtikçe artmasına neden olmaktadır (Okcu ve diğerleri, 2010). Ülkemizde tarımı yapılan yağlı tohumlar grubunda ayçiçeği, pamuk (çiğit), susam, yerfıstığı, soya, haşhaş ve kolza bitkilerinin yanısıra aspir bitkisi de ülkemizde önemli bir potansiyele sahip yağ bitkisidir. Diğer yağ bitkilerinin üretiminde yaşanan güçlüklerden dolayı aspir, alternatif yağ bitkileri arasında yerini almıştır (Okcu ve diğerleri, 2010).

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) *Asteraceae* veya *Compositae* familyasına ait önemli bir endüstri bitkisidir. *Carthamus* cinsinin dünya üzerinde 25 yabani türü yetişmektedir ve ülkemizde 8 tür ile temsil edilmektedir (Akman ve diğerleri, 2007; Babaoğlu, 2006). Aspir, ilk olarak Asya kıtasının güneyinde, Orta Doğu'da ve Akdeniz ülkelerinde yetiştirilmiş ve buradan dünyaya yayılmıştır (Singh ve Nimbkar, 2006). Ekonomik olarak Dünya'da birçok ülkede yetiştirilmektedir. Özellikle ABD, Hindistan, Kazakistan ve Arjantin bu ülkelerin başında yer almaktadır. 2017-2018 Ekim mevsiminde, dünyadaki aspir tohum üretiminin 690 846 ton olduğu rapor edilmiştir. Kazakistan, dünyanın en büyük aspir üreticisi olarak birinci sırada bulunurken, onu Rusya, ABD, Meksika ve Türkiye takip etmektedir (Faostat, 2018). Türkiye, ekolojik şartlar bakımından aspir üretimine elverişli bir konumdadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre Türkiye'de, 2019 yılında 15 860 hektar alanda, 21 883 ton aspir üretilmiş olup, ortalama 1380 kg/ha verim elde edilmektedir. Türkiye 'de aspir tarımı yapılan bazı iller ise özellikle Ankara, Konya, Eskişehir ve Şanlıurfa'dır. Türkiye'de genel olarak bakıldığında ise en fazla aspir üretimi Orta Anadolu bölgesinde yapılmaktadır. Türkiye'de aspir üretimi diğer yağ bitkilerine kıyasla düşük tohum yağ verimi, yeni çeşitlerin adaptasyonu, ıslahı ve yetiştirme teknikleri ile ilgili araştırmaların eksikliği nedeniyle Türkiye'de aspir üretimi sınırlı kalmıştır (Keleş ve Öztürk, 2012).

Aspir bitkisi, tek yıllık, 80-110 cm boylanabilen uzun gün bitkisidir. Vejetasyon süresi ortalama olarak 110-140 gün arasında değişmektedir (Singh ve Nimbkar, 2006). Yazlık karakterde ve kuraklığa dayanıklıdır. Aspir bitkisinin dikenli ve dikensiz formları bulunmaktadır. Dikensiz formları dikenli formlarına göre daha az yağ içermektedir. Aspir kırmızı, beyaz, turuncu ve sarı gibi farklı renklerde çiçeklere sahip olabilmektedir. Taneleri krem ve beyaz renktedir. Taneleri üzerinde kahverengi çizgiler bulunur. Toprağın derinlerine kadar inebilen kazık köklü bir yapıya sahiptir. Aspir bitkisinin çiçekleride tekstil ve gıda sanayinde boya olarak kullanılmaktadır. Aspir tohumlarında %30-50 arasında yağ bulunur. Yağı açık renktedir. Aspir yağında, yağ sanayinde önemli bir yere sahip olan linoleik asit içermesi nedeniyle yağlı tohumlu bitkiler arasında önemli bir yere sahiptir. Bitkinin yağı çıkarıldıktan sonra geriye kalan küspesinde %25 ham protein bulundurması nedeniyle hayvanlar için son derece önemli bir yem kaynağıdır (Farran ve diğerleri, 2010). Linolenik asit oranının yüksek olması sebebiyle aspir yağları mükemmel kuruma özeliği ile buruşmaya ve nem zararına dayanıklı boya, mürekkep, vernik, koruyucu aklit reçinelerin üretiminde ve sabun sanayinde kullanıldığı bilinmektedir (Corleto ve diğerleri, 1997). Aspir tohumlarının önemli bir kullanımı alanı ise kuşyemi olarak kullanılmasıdır. Aspir taç yapraklarından elde edilen ve suda erimeyen kırmızı renkli '*Carthamin*' ve suda eriyebilen sarı renkli '*Carthamidin*' maddeleri tekstil sanayinde kumaş boyası ve gıda boyası olarak kullanılabilir (Nagaraj, 2009). Ülkemizin bazı yörelerinde aspir bitkisinin taç yaprakları yalancı safran olarak yemeklere renk ve çeşni katmak amacıyla kullanılmaktadır (Özel ve diğerleri, 2004). Güney Amerika'da, bazı Avrupa ülkelerinde ve Japonya'da, dikensiz tipler kesme ve kuru çiçekçilikte de kullanılmaktadır.

Aspir Dünya'da çok eski zamanlardan itibaren birçok ülkede farklı amaçlar doğrultusunda üretimi yapılmasına rağmen, bu amaçlar içerisinde önemli olarak tıbbi olarak üretilerek kullanılma amacıdır. Aspir özellikle son dönemde pek çok araştırmaya konu olmuş, özellikle Ortadoğu ülkelerinde çay olarak yaygın kullanılan bir bitkidir. Doğal antioksidan kaynakları arasında olan *Compositaea* familyasının bir üyesi olan Aspir (*Carthamus tinctorius*. L) önemli bir tıbbi ve aromatik bitkidir. Vücutta varolan antioksidan sistemler vücudu serbest radikal oluşumuna karşı korumakta ve hastalıkların oluşumunu engellemektedir. Sebze ve meyvelerde oldukça yoğun miktarlarda bulunan ve antioksidan özellik gösteren A, C, E vitaminleri, karotenoid maddeler ve fenolik bileşikler insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Bitkilerde yaygın olarak bulunan doğal

antioksidanlar polifenoller, karetonoidler, askorbik asit, fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler ve fenolik asitler), nitrojen bileşikleri (alkoloitler, klorofil türevleri, amino asitler ve aminler) ve selenyumdur (Larson, 1988; Hudson, 1990; Hall ve Cuppertt, 1997). Doğal antioksidanların pek çoğu özellikle de flavonoidler antiviral, antibakterial, antiinflamatuvar, antialerjik ve antitrombotik gibi geniş bir biyolojik etki alanı sergilerler (Cook ve Samman, 1996). Flavonoidler, bitki fizyolojisi ve ekolojisinde çeşitli işlevlere sahip önemli sekonder metabolitlerdir (Ren ve diğerleri, 2019). Aspir tohumları, doymamış yağ asitlerince ve çiçekleri ise insan sağlığı için oldukça yararlı olan flavonoidlerce zengindir. Hydroxysafflor yellow A (HYSA), aspir çiçeklerinin petallerinde bulunan en önemli flavonoidlerden biridir ve flavonoidlerin farmakolojik etkilerinde önemli bir rol oynamaktadır (Feng ve diğerleri, 2013; Wang ve diğerleri, 2013). Aspir bitkisinin çiçeklenme ve özellikle renk değişimi ile ilgili süreçlerde flavonoidler önemlidir (Tanaka ve diğerleri, 2010). Sarı ve kırmızı pigment veren flavonoidler aspir bitkisinin temel aktif bileşenidir. Flavonoidlerin içeriği ve bileşeni aspirin kalitesini doğrudan etkiler. Bu nedenle, flavonoidlerin biyosentezinin düzenlenmesi ile ilgili çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır (Ren ve diğerleri, 2019).

Stres, bitkilerin düzenli işleyen biyolojik ve fizyolojik sistemlerini ve normal fonksiyonlarını kısıtlayan veya engelleyen koşullardır (Mahajan ve Tuteja, 2005). Bitkilerde meydana gelen stres biyotik ve abiyotik olmak üzere iki gruba ayrılır. Biyotik stresi, biyolojik kaynaklı bitki hücre duvarlarından oluşan polisakkaritler (dextran, glucan, kitin, pektin ve selüloz) ve mikro organizmalar (maya ekstraktı, mantarlar ve bakteriler) oluşturur. Abiyotik stres ise biyolojik kökenli olmayan fiziksel, kimyasal ve hormonal faktörlerdir. Fiziksel stres faktörleri; ışık, ultraviyole ışık (UV, UV A, UV B ve UV C), osmotik (sorbitol, prolin ve polietilen glikol) stres, kuraklık, tuzluluk ve termal strestir. Mannitol veya sorbitol gibi ozmotikler, hücrelerden mineral alımını engellerler. Bu nedenle bitkilerin büyüme ve gelişmesi yavaşlar ve olumsuz etkilenir (Dodds ve Roberts, 1985; Thompson ve diğerleri, 1986). Yapay kuraklık stresi oluşturmak amacıyla polietilen glikol (PEG) veya sorbitol kullanıldığına dair birçok çalışma bulunmaktadır. Sorbitol bitkiler tarafından metabolize edilmeyen bir çözeltidir. Buna ilaveten besin ortamının ozmotik potansiyelini azaltır ve bitkiler tarafından metabolize edilmeyen su stresini oluşturur (Rai ve diğerleri 2011; Bidabadi ve diğerleri 2012; Placide ve diğerleri, 2012; Vanhove ve diğerleri, 2012). Bitkinin kuraklık stresine olan dayanıklılığı strese maruz kalma süresine göre değişmekle birlikte, strese maruza kaldığı döneme görede değişmektedir.

Aspir bitkisinde bulunan sekonder yapıdaki maddelerin; çeşit, ekim zamanı, ekim sıklığı, gübreleme, sulama, gelişme dönemleri, hasat zamanı, çevresel stres durumları gibi birçok parametreden etkilenmektedir. Bu parametrelerin sekonder yapıdaki maddelerde miktarca değişkenliklere yol açtığı çalışmalarla tespit edilmiştir (Kizil ve diğreleri, 2008; Mohammadi ve Tavakoli., 2015; Caliskan ve Caliskan., 2018). Aynı zamanda aspride farklı hasat zamanlarının da bitkinin sekonder metabolit içeriğini önemli ölçüde değiştirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Salem ve diğreleri, 2011). Ancak aspride yapraktan püskürtme yoluyla oluşturulan stres etmenlerinin bitkinin kimyasal bileşimine etkisiyle ilgili çok fazla çalışmaya rastlanılamamıştır.

Bu gerekçelerin ışığı altında, bu tez çalışması, Aspride (*Carthamus tinctorius*) farklı gelişme dönemlerinde (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme dönemi, çiçeklenme sonrası) ve yapraktan spreyleme yoluyla farklı dozlarda sorbitol uygulamalarının total fenolik, total flavonoid madde miktarları ile DPPH serbest radikal giderme aktivitesini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Abu-Romman (2010) çalışmasında hıyar tohumlarına sorbitol kaynaklı ozmotik strese neden olarak besin alımı, prolin birikimi, kallus büyümesi, ozmotik potansiyeli ve protein içeriği incelenmiştir. Taze kalluslar, 2 mg L⁻¹ BA ve 0,2 mg L⁻¹ NAA içeren Murashige ve Skoog (MS) katı ortamına aktarılmıştır. Ortama farklı konsantrasyonlarda (0,0, 25, 50, 75 ve 100 mM) sorbitol eklenerek kuraklık stresi incelenmiştir. Taze ve kuru ağırlık ve TTC azaltma kapasitesi yüksek sorbitol seviyeleri ile önemli ölçüde azalırken kallus büyümesi ve canlılığı ozmotik stresten olumsuz etkilenmiştir. Sorbitol kaynaklı ozmotik stresin, kallus hücresi özsü ozmotik potansiyelini azalttığı (daha negatif) belirlenmiştir. Toplam protein içeriği, sorbitol konsantrasyonunun artmasıyla önemli ölçüde azalırken, prolin daha fazla birikmiştir. Klorür içeriği ozmotik stresten etkilenmezken Na, K, Ca ve P alımı önemli ölçüde azalmıştır.

Albiski, Najla, Sanoubar, Alkabani ve Murshed, (2012) on sekiz Suriye patates hatlarını (*Solanum tuberosum L.*), in vitro ortamda sürgün ve kök büyümesi ölçülerek kuraklık toleransı açısından incelenmişlerdir. Kuraklık stresi Murashige-Skoog ortamına %2, 4, 6, 8 ve %10 (a:h) sorbitol eklenerek kontrolle (%0) karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ortamın su potansiyeli -0,58 MPa ile -2,5 MPa arasında değişmektedir. Kültür ortamında kuraklık stresi bitki büyümesini olumsuz etkilemiş ve genotiplerin tepkileri farklılık göstermiştir. Bitki boyu ve gövde kalınlığı, yaprak alanı, kök uzunluk ve kalınlığı, bitki yaş ve kuru ağırlıkları ile bitki su içeriği ölçülmüş ve tümü kuraklık stresi nedeniyle azalmıştır. Kuraklığa tepkileri açısından hatların küme analizine göre gruplanmasına göre; (1) altı patates hattı toleranslı bir grup, (2) yedi patates hattı orta derecede toleranslı grup (3) beş hat ise duyarlı bir grup olarak belirlenmiştir.

Eryiğit, (1998), asperde farklı hasat zamanlarının (H1: 30 Eylül, H2: 15 Ekim, H3: 30 Ekim, H4: 15 Kasım) verim ve kalite özellikleri üzerine etkisini belirlemek için yaptığı çalışmada, 5-118 asper çeşidinde danede ham yağ oranı miktarı ilk hasat tarihinden son hasat tarihine doğru bir azalma (30 Eylül hasadı, %25,46; 15 Ekim hasadı, %25,44; 30 Ekim hasadı, %23,33; 15 Kasım hasadı, %22,28) gösterdiğini bildirmiştir. Ham yağ oranı en yüksek 15 Ekim tarihinde yapılan hasat döneminden %32,29 olarak elde edilmiştir. Çeşidin ortalama ham yağ oranı %24,12, ortalama ham yağ oranı ise %28,09 olarak tespit edilmiştir.

Kırıcı, (1998), Aspir bitkisi çeşitlerinde bitkinin rozet ve sapa kalkma dönemlerinde uygulanan farklı konsantrasyonlardaki gibberellik asit (0, 50, 100 ve 150 ppm) dozlarının bitkinin verimine ve çiçekteki boyar madde oranı üzerine etkisini araştırdığı bir çalışmada, düşük dozlarda uygulanan gibberellik asitin bitkide verim öğelerini arttırdığını bildirmişlerdir. Bunun aksine yüksek dozlarda gibberellik asit uygulamalarının boyar madde oranını arttırdığını tespit etmiştir.

Baydar, (2000), Dinçer, Yenice, 5-154 aspir çeşitlerine rozet, sapa kalkma ve tomurcuklanma dönemlerinde artan dozda beş gibberellik asit dozunu (0, 50, 100, 200 ve 300 ppm) uygulamıştır. Bunun sonucunda ise, yağ asitleri sentezi üzerinde uygulamaların istatistiki olarak önemli bir etkisinin olmadığını tespit etmiştir. Ancak yağ sentezini tomurcuk döneminde uygulanan 300 ppm gibberellik asidi dozunun 1,14 kat oranında artırdığını tespit etmiştir.

Brito, Costa, Fonseca ve Santos, (2003) İn vitro şartlarda *Olea europaea* spp. Maderensis sürgünlerini Driver ve Kuniyuki Ceviz ortamında 2 ay süreyle yetiştirmiştir. Sürgünler Driver ve Kuniyuki Ceviz ortamında sorbitol uygulanarak strese maruz bırakılmıştır. Şiddetli kuraklık seviyesi (0,2 M) sürgün gelişimini azaltırken, orta dereceli kuraklık seviyesinin (0,1 M) sürgün gelişimini etkilemediği ve K içeriğini yükselterek ozmotik düzenlemeye teşvik ettiği gözlemlenmiştir. Şiddetli kuraklık seviyesi (0,2 M) sorbitol konsantrasyonunda lipid peroksidasyonun arttığı, buna karşın çözünebilir protein miktarı ile suyun düştüğü belirtilmiştir. Her iki sorbitol dozunda da sürgünlerdeki Mg ve Zn miktarı düşük bulunmuştur. Aynı zamanda şiddetli kuraklık stresinde de K ve Cu içeriğinin azaldığı belirtilmiştir.

Bündig ve diğerleri, (2017) yaptıkları çalışmada on sekiz patates genotipini ve iki yabancı türününü in vivo ve in vitro koşullarında kuraklık stresine karşı toleransını araştırmışlardır. MS ortamına sorbitol ilave etmeden ve 0,2 M sorbitol ilave ederek kuraklık stresi meydana getirmişlerdir. İn vitro şartlarda hem on sekiz genotipte hemde yabancı türlerde kök yaş ve kuru ağırlığı ve sürgün büyümesi ve bitki büyümesi, azaldığını tespit etmişlerdir. Yabancı türlerle genotipleri kıyasladığımızda kuru ağırlıkta en fazla azalma genotiplerde olmuştur.

Geçgel, Demirci, Esendal ve Taşan, (2007), İki farklı aspir çeşidinin yağ asiti içeriklerini belirlemek için yaptıkları bir çalışmada, aspirin yazlık-kışlık olarak ekmişler ve hasat

işlemini üç farklı dönemde gerçekleştirmişlerdir. Aspir tohumlarının nem içerikleri çiçeklenme döneminden itibaren 6,8 kat düştüğünü bildirmişlerdir. Yağ oranlarının ise çiçeklenme dönemi ile tam olum dönemi arasında çok hızlı bir artışla iki kat arttığını tespit etmişlerdir.

Gopal ve Iwama (2007), bu araştırmada 3 farklı patates genotiplerinin kuraklığa dayanımını belirlemeyi hedeflemişlerdir. İn vitro şartlarda MS ortamına farklı dozlarda sorbitol ve polietilen glikol (PEG) ilave edilerek kök ve sürgün büyümeleri araştırılmıştır. Tüm genotiplerde sorbitol konsantrasyonundaki artışla birlikte bitki boyu azaldığını bildirmişlerdir. Denemede patatesin kısıtlı su-stresi şartlarında in vitro taranmasının, tarla koşullarında beklenen kök kütle üretimine yönelik genotipleri etkili bir biçimde belirlemek amacıyla, bir sistem sağlayabileceği neticesine varılmıştır.

Hassan ve Bekheet (2008), ozmotik stres ortamının, in vitro yetiştirilen çilek kültürlerinin orta vadeli depolanması üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. MS ortamına (0,1, 0,2 ve 0,4 M) mannitol ve sorbitol ilave edilerek ozmotik stres oluşturulmuş, hayatta kalma yüzdesi (%), sürgün sayısı ve eksplant başına kök sayısı 4, 6, 10, 14 ve 15 aylık depolamadan sonra incelenmiştir. En yüksek hayatta kalma yüzdesi 0,2 M sorbitol ortamında gözlenirken, sürgün sayısı 10 aylık depolamadan sonra artmıştır. Sürgün üzerindeki kök sayısı 0,1 ve 0,2 M sorbitol konsantrasyonlarında gözlenmiştir ve tüm diğer uygulamalarda ise sürgün üzerinde kökler gözlenmemiştir.

Kiełkowska (2017), Farklı sorbitol dozları (100, 200 ve 360 mM) ve NaCl'nin (100, 200 ve 300 mM) dozlarının *Allium cepa* L.'da kök meristem hücreleri üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Çekirdek hacminin ve kesit alanının ozmotik stres altında azaldığını bildirmiştir.

Lim, Hwang, Yoon ve Paik, (2007), Aspir bitkisinin çiçeklerindeki antioksidan aktiviteyi belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, antioksidan yöntem olarak ABTS radikali giderme yöntemini seçmişlerdir. Çalışma sonucu EC50 olarak $14,4 \pm 0,22 \mu\text{M}$ olarak tespit edilmiştir.

Marssaro, Lucymeire, Jailson, Silva Ledo ve Santos-Serejo, (2017) iki farklı muz çeşidinin kuraklığa dayanıklılığını belirlemek için *in vitro* ortamda yapılan çalışmada, MS ortamına

15, 30, 45 ve 60 g L-1 PEG6000 ve 18,2, 36,4, 54,6 ve 72,8 g L-1 sorbitol ekleyerek ve ederek kuraklık stresi meydana getirmişlerdir. Sorbitol ve PEG dozlarının büyüme durduramadığı, ancak kontrol ile kıyaslandığında yüksek bir büyüme sergilemediğini bildirmişlerdir. Ayrıca sorbitol içinde yetiştirilen çeşitlerin PEG yetiştirilenlerden daha az bir azalma gösterdiği tespit edilmiştir. 15 g L-1 PEG ve 36,4 g L-1 sorbitol dozlarının ise in vitro su stresi simülasyonu için en etkin dozlar olduğu bildirilmiştir.

M. Harun-Or-Rashid, Miah ve Islam, (2021) yerli ve yabancı olmak üzere 16 patates genotipinde artan dozlarda altı farklı sorbitol (0, %2, %4, %6, %8 ve %10) uygulanarak stres toleransı özellik indeksi (STTI), temel bileşen analizi (PCA) ve kümeleme analizi (CA) kullanılarak kuraklık toleransının belirlenmesi amaçlamışlardır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, Arun, Granola, Surjomukhi, Sheelbilati, Jamal, Chollisha, Patnai ve Dohazari çeşitleri temel bileşen analizinde kuraklığa dayanıklılık açısından diğerlerinden daha yüksek değerler göstermiştir. Kümeleme analizi için ise Arun, Granola ve Surjomukhi çeşitleri kuraklığa karşı yüksek tolerans göstermiştir. Sorbitol uygulamasına bağlı olarak analiz edilen genotiplerde sürgün uzunluğu ve kalınlığı, yaprak ve kök sayısı, kök uzunluk ve kalınlığı, yaş ve kuru ağırlık ve su içeriğinin azaldığını bildirmişlerdir.

Salem ve diğerleri, (2011) bu çalışmada, değişen polaritelere sahip ekstraksiyon çözücü sisteminin polifenol, flavonoid ve proantosyanidin içerikleri ve DPPH süpürücü aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. Elde edilen sonuçlar, fenolik içeriklerin ve antioksidan aktivitelerin solvent polaritesinin fonksiyonuna göre önemli ölçüde değiştiğini göstermektedir. En yüksek çiçek polifenol içeriği (15,09 mg GAE/g DW) Aseton/su (2:8) ile ekstraksiyonundan elde edilmiştir. Ayrıca, DPPH'e karşı antiradikal kapasiteler, şelatlama gücü ve lipid peroksidasyon analizi çiçeğin aseton/suda (2:8) ekstraktında maksimumdur. *Carthamus tinctorius* çiçeklerinin farklı gelişim evreleri arasında antioksidan özelliklerinde önemli farklılıklar gözlenmiş; en yüksek antioksidan aktivite evre III'te (tam çiçeklenme) gözlenirken fenolik bileşim maksimum seviyeye evre II'de (çiçek oluşumu) ulaşmıştır. Gallik asit, yaklaşık 102,57 ($\mu\text{g/g}$ DW) ile *C. tinctorius* portakal çiçeklerinde belirlenen en bol bulunan fenolik bileşik olmuştur. Sonuçlar *C. tinctorius* çiçeklerinin tüketilmesinin sağlık açısından potansiyel yararlarının altını çizmekte ve değerli aroma olarak kullanılabileceğini önermektedir.

Shi ve ark. (2007), Tanshinone terpenini artırmak amacıyla *Salvia miltiorrhiza*'da kök tüyü kültürlerine maya ve sorbitol ilave etmişlerdir. Uygulama sonuçlarına göre, toplam tanshinone miktarının maya ve sorbitol uygulamaları ile birlikte 10 kat yükseldiğini saptamışlardır.

Sorkheh, Shiran, Khodambshi, Rouhi ve Ercisli, (2010) *in vitro* koşullarda sorbitol ve polietilenglikol uygulayarak 8 yerli İran bademi türünü kuraklığa dayanıklılık yönünden araştırmışlardır. Araştırma sonucunda aynı su potansiyelinde sorbitolün PEG' den daha düşük yan etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

0,2 M sorbitol ve 0,003 M PEG dozlarında yetişen 'Spartoides' toplam kök uzunluğu, kök hacmi olarak diğer badem türlerinden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Özdemir ve ark. (2011), yaptığı bir araştırmada aspir bitkisinin gövde, yaprak ve çiçeklerindeki okside ve redükte glutatyon, A, C, E vitaminleri ve β -karoten miktarlarını Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile incelemişlerdir. Bitkinin yapraklarında okside (1203,37 $\mu\text{g/g}$) ve redükte glutatyon (358,23 $\mu\text{g/g}$), A (5,59 $\mu\text{g/g}$), E (14,41) $\mu\text{g/g}$ vitaminleri ve β -karoten (73,59 $\mu\text{g/g}$) miktarlarının yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. Yalnızca yaprak örneklerinin C vitaminin düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Patil ve diğerleri, (2013), Kültür ortamlarına sorbitol, mannitol, salisilik asit ve KCl elisitörleri uygulayarak *Digitalis purpurea* türünde yaptıkları çalışmanın sonucunda, digitoxin birikiminin kontrol gruplarına göre, sorbitol uygulamasında 3,47 kat, salisilik asit uygulamasında Çalışma sonunda başlangıç kültürlerine göre salisilik asit uygulamasında 2,19 kat, mannitol uygulamasında 2,61 kat ve son olarak KCl uygulamasında 7,71 kat arttığını bildirmişlerdir.

Yu ve diğerleri, (2013), Aspir tohumlarının toplam fenolik, toplam flavonoid madde miktarlarını belirlemek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışma sonuçlarına göre aspir tohumlarının total flavonoid madde miktarı $62,2 \pm 1,9$ mg QE/g olarak bulunmuştur. Çalışmada toplam fenolik madde miktarının ise $126,0 \pm 2,4$ mg GAE/g olduğunu bildirmişlerdir.

Coşge Şenkal, Kırılan ve Ramadan, (2015), Farklı ekim ve hasat zamanlarının bazı aspir çeşitlerinde oluşturduğu etkiyi araştırdıkları bir çalışmada, ekim zamanının aspir

tohumlarının nem içeriğini oldukça etkilediğini bildirmişlerdir. Çalışmanın devamında ise hasat zamanına paralel aspir tohumlarındaki yağ oranının da arttığını tespit etmişlerdir.

Kuşoğlu (2015), Yaptığı çalışmada aspir bitkisinin yaprak, tohum ve çiçek gibi farklı organlarının toplam fenolik, toplam flavonoid içerikleri ile farklı yöntemler kullanarak antioksidan aktivitesini incelemiştir. Elde ettiği sonuçlara göre, en yüksek total fenolik madde içeriği ve en yüksek total flavonoid içeriğinin sokslet yaprak ekstresinde olduğunu bildirmiştir. Buna karşılık, en yüksek DPPH radikali giderme aktivitesi çiçek ekstresinde %96 olarak bulunmuştur. Sokslet yaprak ekstresinin DPPH radikali giderme aktivitesi sonucu çiçek ekstresinin sonucundan daha düşük ve %89 olduğu tespit edilmiştir.

Zaker ve diğerleri, (2015) tanshinone birikimini artırmak için *Perovskia abrotanoides* türünde yaptıkları bir çalışmada, kök kültürlerine sorbitol, gümüş nitrat (AgNO_3) ve maya ekstraktı uygulamışlardır. Tanshinone miktarı kontrol kültürüne göre gümüş nitrat uygulamasıyla 2,98 kat, maya elisitör uygulamasıyla 3,63 kat ve son olarak sorbitol uygulamasıyla 1,85 kat arttığını tespit etmişlerdir.

Gautam, Anjani ve Srivastava (2016) yaptıkları çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100 μM) bakır uygulamalarının aspir bireylerinin gelişimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu uygulamada 20 gün boyunca bitkilere bakır stresi uygulanmış ve etkiler incelenmiştir. Uygulama sonunda bakır konsantrasyonlarının artmasına bağlı olarak aspir bireylerinde bitki büyümesi, taze ve kuru ağırlıklarda azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca, enzimatik olmayan antioksidanlarda (flavonoidler ve polifenol) önemli derece artış meydana geldiği ve yapraklarda prolin birikiminin arttığı saptanmıştır. Bitkiler tarafından kullanılan bakırın bitkide meydana getirdiği toksik etki ve değişikliklerin bakır miktarına ve maruz kalma süresine bağlı olarak değiştiği sonucuna ulaşılmıştır.

B. Singh, Sahu ve Sharma, (2017) Pyrroloquinazoline alkaloidlerinin artırılması için *Adhatoda vasica* türünde ortama dextran, sorbitol, glucan ve kitosan uygulamışlardır. Dextran, sorbitol, glucan ile kitosan uygulamalarının tamamının pyrroloquinazoline alkaloidlerinin artırılmasında olumlu sonuçlara ulaşmışlardır. Sorbitol uygulamasının vasicine birikimini 8,3 kat, vasicinone birikimini ise 10,1 kat artırdığını bildirmişlerdir.

Yang ve diğerkleri (2017), yaptıkları çalışmada camptothecin biyosentezini artırmak için *Camptotheca acuminata* türünde hücre süspansiyon kültürlerine salisilik asit, sorbitol ve metal tuzları uygulamışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, sorbitol uygulamasının kontrol kültürüne göre camptothecin biyosentezini 500 kat artırdığını ve sorbitol uygulamasının salisilik asit ve metal tuzları uygulamalarından daha etkin olduğunu bildirmişlerdir.

Li ve diğerkleri, (2020), yaptıkları çalışmada sorbitol şelatlı kalsiyumun patates verimini arttırdığını tespit etmişlerdir. İnorganik kalsiyum gübresi ile karşılaştırıldığında, sorbitol şelatlı kalsiyumun, topraktaki ana besinlerin emilimini ve kullanımını etkili bir şekilde teşvik etėini ve patateslerin kalitesini iyileştirdiğini bildirmişlerdir.

Yolci, R. Tunçtürk ve M. Tunçtürk, (2022), üç farklı hasat zamanında bitkileri hasat edip, saf su, etanol, metanol ve aseton gibi farklı çözücüler kullanarak aspir bitkisinin antioksidan aktivitesine olan etkisini araştırmışlardır. Araştırmada, antioksidan aktivite yöntemi olarak FRAP seçilmiş, ayrıca toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarları değişimlerini de belirlemişlerdir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı 132,30 mg GA/100g olarak çiçeklenme başlangıcından iki hafta sonra yapılan hasatta olduğu belirlenmiştir. En yüksek toplam antioksidan aktivite (20,30 mg TE/g) ve toplam flavonoid madde miktarları (19,15 mg QE/100g) ise çiçeklenme başlangıcından bir hafta sonra yapılan hasattan elde edildiğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu tez çalışması; Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksekokulu Yerleşkesinde bulunan Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü sera alanında 2021 yılı üretim döneminde yürütülmüştür. Materyal olarak; ticari bir firmadan temin edilen Olein çeşidi kullanılmıştır.

Olein; Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi tarafından 2019 yılında tescil edilmiştir. Dikenli, parlak beyaz tohum renkli ve kırmızı çiçekli bir çeşittir. 70-90 cm boylanabilen ve yatmaya dayanıklı bir çeşittir. *OLEİK* tip yağ asidi içerir. Yağ oranı %31-35 olup ortalama %33'tür. Bin tane ağırlığı ortalama 40 g 'dır. Doymamış (omega) yağ asitleri %90 üzeridir. Bu yönüyle insan tüketiminde en kaliteli yağlardan biridir. Tohum verimi 125-325 kg/da'dır. Ülkemizde önemli bir aspir tohumluk firması olan UTEK Tarım Ltd. Şti. tarafından tohum üretim yapılmaktadır.



Şekil 3.1. Aspir (*Carthamus tinctorius*) Olein çeşidi

3.2. Kullanılan Ekipmanlar

Yapılan çalışmada Thermo Scientific- Evolution 201 spektrofotometre kullanılan ana ekipmandır. Bunun yanında Lab Companion- BS 06 su banyosu, Rotary Evaporator RE300, DENVER- S1234 analitik terazi, IKA- KS 501 shaker çalkalayıcı, Memmert Inc 153 med CO2 etüv, ISOLAB mikropipetler analizlerin yürütülmesinde kullanılan başlıca ekipmanlardır.

3.3. Yöntem

3.3.1. Araştırma denemesi

Deneme Tesadüf parselleri deneme desenine göre, farklı gelişme dönemleri (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme dönemi, çiçeklenme sonrası) ve 5 farklı sorbitol dozu (0, 5 g/L, 25 g/L, 50 g/L, 100 g/L) dikkate alınarak altı tekerrürlü olarak 19.03.2021 tarihinde kurulmuştur. 22,5 cm derinlik, 25 cm çapında Sterilize edilmiş plastik saksılara, kum, tarla toprağı ve yanmış ahır gübresi karışımı ile doldurulduktan sonra aspir tohumları ekilmiştir. Tohumlar her saksıya 10 tane olacak şekilde 3-5 cm derinliğe ekilmiştir. 06.04.2021 tarihinde bütün saksılardan çıkışların gerçekleştiği tespit edilmiştir. Seyreltme işlemi çıkışlar gerçekleştikten sonra benzer görünümlü 5 bitki kalacak şekilde yapılmıştır. Çalışma boyunca saksıların tamamında toprak yüzeyi kurduğunda sulama yapılarak toprağın nemli kalması sağlanmıştır. Bitkilerin çiçeklenme döneminden önce 20 kg/da olacak şekilde hesaplama yapılarak saksılara amonyum Sülfat gübresi verilmiştir.



Şekil 3.2. Aspir deneme planı görünümü (a), bitkinin çıkış görüntüsü (b)

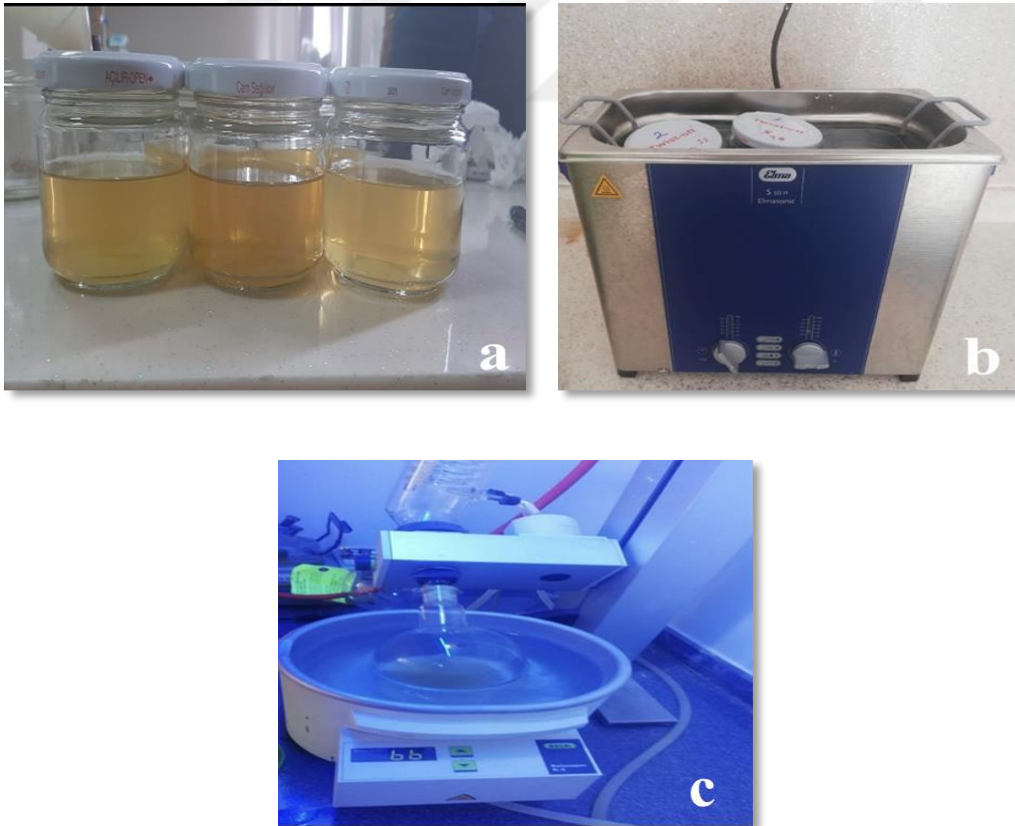
Çiçeklenme öncesi sorbitol uygulamaları 23.04.2021 tarihinde yapraktan spreyleme yöntemi ile yapılmıştır. Çiçeklenme dönemi ve çiçeklenme sonrası sorbitol uygulamaları ise sırasıyla 18.06.2021, 02.07.2021 tarihlerinde yine yapraktan spreyleme olarak yapılmıştır. Bitkiler hasat olgunluğuna geldiğinde 19.07.2021 tarihinde hasat edilmiştir.



Şekil 3.3. Hasat olgunluğuna gelen bitkilerden görüntüler (a, b)

3.3.2. Ekstraksiyon yöntemi

Hasat tamamlandıktan sonra örnekler el değirmeninde parçalanmıştır. Parçalanmış bitki örnekleri 50 mL'lik falkonlar içine alınmış ve 25 °C saklanmıştır. Falkon tüpler içerisindeki bitki numunelerinin ekstraksiyonunda, analitik terazide bitkilerden 5'şer g tartılmıştır. Daha sonra kapaklı cam kavanozlar içerisinde bitki numuneleri koyulmuş ve bunların üzerine 200 ml metanol eklenerek shaker yardımıyla karıştırılmıştır. Elde edilen karışımlar ultrasonik-destekli ekstraksiyon yöntemiyle 2 saat süre ile ekstrakte edilmiştir. Ultrasonik-destekli ekstraksiyon metodu; yüksek verimli, hızlı, ve düşük sıcaklıklarda uygulandığından ekstraktların zararlanmasını önleyerek biyoaktif bileşiklerin yapısal ve moleküler özelliklerinin korunumunda etkili bir yöntem olması nedeniyle tercih edilmiştir. Ekstraksiyon süresinin sonunda elde edilen süpernatant filtre edilmiştir. Son ürün olan süpernatant Rotary Evaporator cihazından geçirilmiş ve çözücü ortamdan uzaklaştırılmıştır.



Şekil 3.4. Bitkinin metanol eklenmiş cam kavanozda görüntüsü (a), Bitkinin metanol ile ultrasonik banyoda ekstrakte edilmesi (b) süpernatant Rotary Evaporator cihazından görüntüsü (c)

3.3.3. Toplam fenolik madde miktarı yöntemi

Toplam fenolik madde miktarını belirlemek için Folin-Ciocalteu Yöntemi kullanılmıştır (Folin ve Ciocalteu, 1927). 1mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan ekstrelerden 0,1'er mL tüplere alınmıştır. Üzerine 4,5 mL distile su ilave edilmiştir. 0,1 mL Folin-Ciocalteu ayırıcı ve 0,3 mL %2 sodyum karbonat çözeltisi ilave edildikten sonra tüpler karıştırılmış ve 2 saat karanlıkta bekletilmiştir. Köre karşı (distile su) 760 nm'de ölçülmüştür (Slinkard ve Singleton, 1997). Fenolik madde miktarı gallik asit olarak ifade edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinde gallik asit ile karşılaştırma yapılmıştır. Sonuçlar kurutulmuş numunede mg gallic acid/g (mg GAE/g) olarak verilmiştir.

3.3.4. Toplam flavonoid madde miktarı yöntemi

Total flavonoid madde miktarı, Park ve ark., (2008) tarafından geliştirilen yöntemle göre kuersetin standart çözeltisi ile belirlenmiştir. Bitki ekstraktı 1 mL'lik test tüpleri içine koyulmuştur. Üzerine 2 mL distile su, 0,15 mL 0,5M NaNO₂ ve 0,15 mL 0,3 M AlCl₃ reaktifi ilave edilmiştir. 5 dakika sonra bekledikten sonra 1 mL NaOH ilave edilerek spektrofotometrede ile 510 nm'de absorpsiyon ölçümü yapılmıştır.

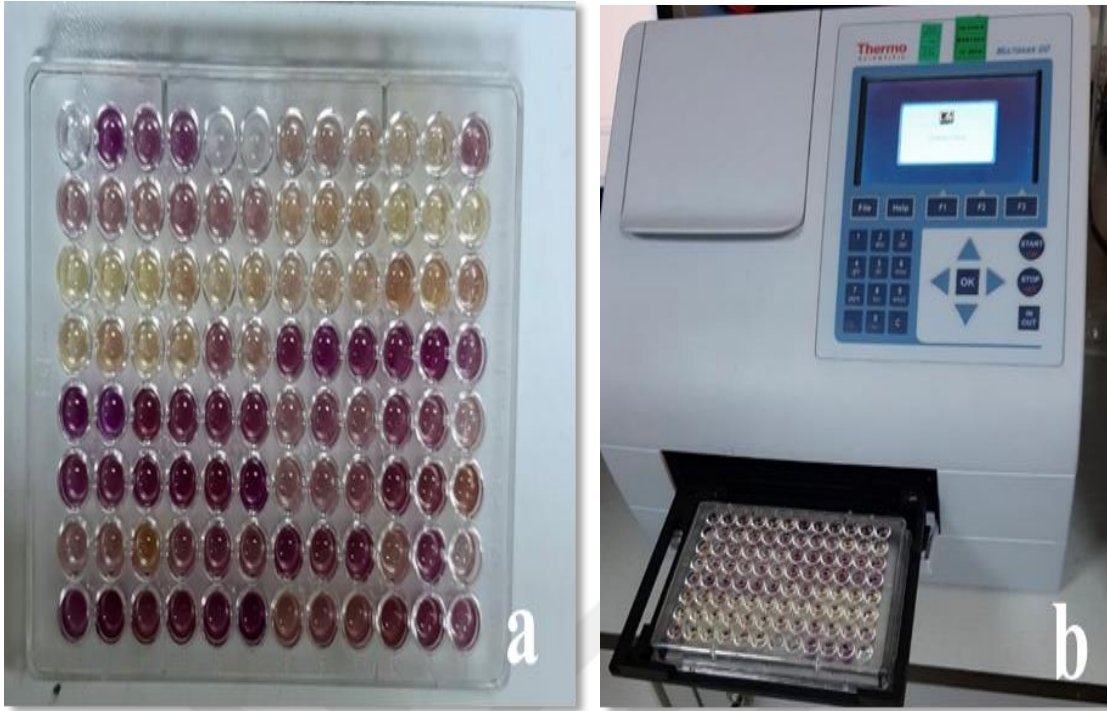
Kalibrasyon eğrisi kuersetin ile karşılaştırılmıştır. Toplam flavonoid madde miktarı kurutulmuş numunede g başına kuersetin (mg QE/g) eşdeğerleri mg olarak tanımlanmıştır.

3.3.5. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi yöntemi

Bu tez çalışmasında antioksidan aktivite DPPH Serbest Radikal Giderim yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda (25-400 µg/mL) hazırlanmış bitki çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden, 0,5 mL alınıp üzerine 3mL etanol ve 300 mL 20 mg /L DPPH çözeltisi eklenmiştir. Bu çözeltiye butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) ve trolox (100–500 µg/mL) ilave sonra, karışım kuvvetlice çalkalanarak ve 517 nm'de absorbansta ölçüm yapılmıştır. Numune yerine 0,75 mL su kontrol olarak kullanılmıştır. Yüzde inhibisyon aktivitesi, aşağıda verilen denklem yoluyla hesaplanmıştır.

Serbest Radikal Giderme aktivitesi % = $[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$.

(A₀ = kontrol absorbansı ve A₁ = örnek çözeltisi absorbansı)



Şekil 3.5. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin belirlenmesi için ekstraktların mikropate ekim görüntüsü (a), ekstraktların spektrofotometrede okunması (b)

3.3.6. İstatiksel analiz

Deneyler altı tekerrürlü olarak yapıldı ve sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak sunuldu. Veriler, istatistiksel analiz sistemi yazılımı (SPSS) sürüm 22,0 kullanılarak varyans analizine (ANOVA) tabi tutuldu. Anlamlı farklılıklar, en küçük anlamlılık farkı (Tukey) kullanılarak hesaplandı ve farklılıklar, $P < 0,05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar, asperde aspirin farklı gelişme dönemlerinde (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme dönemi, çiçeklenme sonrası) ve farklı dozlarda (0, 5 g/L, 25 g/L, 50 g/L, 100 g/L) uygulanan sorbitol dozlarının total fenolik, total flavonoid madde miktarları ve antioksidan aktiviteye olan etkisine göre her özellik için ayrı başlıklar altında tartışılmıştır.

4.1. Total Fenolik Madde Miktarı

Farklı gelişme dönemlerinde (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme dönemi, çiçeklenme sonrası) ve farklı dozlar uygulanan Asperde (*Carthamus tinctorius* L.) total fenolik madde miktarına ait varyans analizi Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelge 4.2 ‘de total fenolik madde miktarları verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, farklı sorbitol dozlarının ve farklı gelişme dönemlerinin Asperde (*Carthamus tinctorius* L.) total fenolik madde içeriğine etkisinin önemsiz olduğu anlaşılmaktadır. Diğer taraftan, farklı gelişme dönemlerinde sorbitol uygulamalarının total fenolik madde içeriğinde sorbitol dozları x farklı gelişme dönemleri etkileşimi %5 düzeyinde önemli çıkmıştır. Sorbitol dozları x farklı gelişme dönemleri etkileşiminin önemli çıkmış olması, uygulanan sorbitol dozlarının total fenolik madde içeriğine etkisinin bitkinin gelişme dönemlerine göre değiştiğini ifade etmektedir.

Çizelge 4.1 Farklı Dönemlerde ve Farklı Dozlarda Sorbitol Uygulanan Asperde (*Carthamus tinctorius* L.) Total Fenolik Madde Miktarı Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D	K. T	F
Dönem	2	6854,48	0,0006
Doz	4	1544,02	0,4608
Dönem*Doz	8	8768,74	0,0147

Çalışmada en yüksek total fenolik madde miktarı çiçeklenme öncesi dönemde 133,00 mg GAE/g ile 5 g/L sorbitol uygulamasında olduğu görülmektedir. Total fenolik madde miktarı en düşük çiçeklenme sonrası dönemde 79,21 mg GAE/g ile 50 g/L sorbitol uygulamalarından elde edilmiştir. Artan sorbitol dozlarının ve farklı gelişme dönemlerinin ayrı ayrı total fenolik madde miktarına istatistiksel olarak önemli bir etkisi gözlenmemiştir.

Çizelge 4.2 Farklı Dönemlerde ve Farklı Dozlarda Sorbitol Uygulanan Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) Total Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g)

Gelişme Dönemleri	Sorbitol Dozları (g/L)					Ortalama
	0	5	25	50	100	
Çiçeklenme öncesi	123,69± 1,75abc	133,00 ±2,20a	92,42± 1,55de	127,39± 3,10ab	107,64± 0,95bd	116,82± 1,00
Çiçeklenme dönemi	92,03± 0,90de	96,79± 2,15de	100,31± 1,30cde	96,50± 1,80de	106,68± 1,08bd	98,46± 2,20
Çiçeklenme sonrası	108,00± 2,00bcd	98,06± 1,00de	102,41± 1,65cde	79,21± 0,78e	103,17± 1,70cd	98,17± 1,72
Ortalama	107,90± 2,34	109,28± 1,74	98,38± 0,85	101,03± 1,44	105,83± 1,60	

*Aynı harf ile gösterilen ortamlar arasında istatistiki olarak önemli fark yoktur.

Yapılan çalışmada farklı sorbitol dozlarının total fenolik madde üzerine bir etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır. Ancak farklı büyüme dönemlerinin bitkinin total fenolik madde miktarı üzerine etkisinin oldukça önemli olduğu görülmektedir. Daha önce yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, bitkilerde toplam flavonoid, fenolik, ve antioksidan aktivite miktarlarının farklı gelişme dönemlerine ve hasat zamanlarına göre değişime uğradıkları anlaşılmaktadır. Bu farklılıkların nedenlerinin; kullanılan çeşit veya popülasyonların 19enetic farklılığı, bitkinin gelişim aşaması, hasat saatleri, hangi organdan örnek alındığı, lokasyon ve çevresel stres durumları gibi etkenler olduğu anlaşılmıştır. Yolci ve diğerleri, (2021), farklı hasat dönemlerinde aspir bitkisini hasat ederek bu dönemlerdeki bitkinin toplam fenolik madde miktarında meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı (132,30 mg GA/100g) ile 2. Çiçeklenme başlangıcından iki hafta sonra olan hasat zamanından elde edilmişlerdir. Kuşoğlu (2015), yaptığı çalışmada, aspir bitkisi ekstrelerinin toplam fenolik madde içeriği gallik asit ekivalanı olarak 35,33-276 mg/Ml aralığında olduğunu bildirmiştir. *Asteraceae* familyasından olan eşek diken (Echinops orientalis Trautv.) bitkisinin yapraklarında toplam fenolik madde miktarı 45 µg GAE/mg olarak bulunmuştur (Yılmaz, 2012). *Vaccinium vitisidaea* L. bitkisinde yapılan bir çalışmada farklı zamanlarda kök, yaprak, meyve hasatı yapılmış, hasat zamanının uzamasına bağlı olarak yaprak örneklerinde toplam fenol ve toplam antioksidan aktivitede azalmalar tespit etmişlerdir. Ancak kök ve meyvede herhangi bir değişim olmadığını bildirmişlerdir (Bujor, Ginies, Popa ve Dufour, 2018). Yine *Lycopus lucidus* bitkisinde yapılan bir çalışmada, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitenin hasat zamanlarının gecikmesine bağlı olarak azaldığı, fenolik içerikler bakımından ise bazı değerlerin artarken bazı değerlerin ise azaldığını bildirmişlerdir (Lu ve diğerleri, 2015). Yapılan bazı

çalışmalarda ise toplam fenol, flavonoid ve antioksidan aktivitenin hasat zamanının uzaması yada kısalmasıyla değişmediğini, ancak dalgalı sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir (Nemeth – Zamborine, Seidler-Łożykowska ve Szabo, 2019; Ribeiro ve diğerleri, 2020). Yaptığımız çalışmada da görüldüğü gibi en yüksek fenolik madde miktarı çiçeklenme döneminde tespit edilmişken, bitkinin olgunlaşma dönemi olan çiçeklenme sonrası dönemde ise en düşük olarak tespit edilmiştir. En yüksek total fenolik madde miktarını 133,00 mg GAE/g tespit etmiş olmamız önceki çalışma verileri ile sonuçlarımızın uyumlu olduğunu göstermektedir.

4.2. Total Flavonoid Madde Miktarı

Farklı gelişme dönemlerinde (ieklenme öncesi, çiçeklenme dönemi, çiçeklenme sonrası) ve farklı dozlar uygulanan Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) total flavonoid madde miktarına ilişkin varyans analizi izelge 4.3’de, flavonoid madde miktarları ise izelge 4.4’de verilmiştir. Varyans analizi Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) farklı dozlarda sorbitol uygulamalarının total flavonoid madde miktarına etkisinin önemsiz olduğunu ortaya koymuştur. Diğer taraftan, farklı gelişme dönemlerinin total flavonoid madde miktarına etkisi %5 düzeyinde önemli çıkmıştır. Sorbitol dozları x farklı gelişme dönemleri interaksyonunun ise total flavonoid madde miktarına etkisi istatistiki olarak önemsizdir.

Çizelge 4.3 Farklı Dönemlerde ve Farklı Dozlarda Sorbitol Uygulanan Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) Total Flavonoid Madde Miktarı Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D	K. T	F
Dönem	2	258,25	0,0424
Doz	4	180,44	0,3767
Dönem*Doz	8	229,71	0,7059

Çizelge 4.4 incelendiğinde en yüksek total flavonoid madde miktarı çiçeklenme öncesi dönemde 24,46 mg QE/g ile 5 g/L sorbitol uygulamasında olduğu görülmektedir. Buna karşılık, en düşük total flavonoid madde miktarı çiçeklenme sonrası dönemde 16,09 QE/g ile 50 g/L sorbitol uygulamalarından elde edilmiştir. Diğer taraftan izelge 4.4’ te farklı gelişme dönemlerinin total flavonoid madde miktarına etkisinin önemli olduğu gözlenmektedir.

Çizelge 4.4 Farklı Dönemlerde ve Farklı Dozlarda Sorbitol Uygulanan Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) Total Flavonoid Madde Miktarı (mg QE/g)

Gelişme Dönemleri	Sorbitol Dozları (g/L)					
	0	5	25	50	100	Ortalama
Çiçeklenme öncesi	17,48± 0,30	24,46± 0,30	17,55± 1,00	18,02± 0,45	22,92± 0,32	20,08± 0,78ab
Çiçeklenme dönemi	20,06± 0,72	24,02± 0,62	21,63± 0,50	23,35± 1,12	23,73± 1,00	22,55± 1,10a
Çiçeklenme sonrası	18,33± 0,16	17,74± 0,78	20,87± 0,90	16,09± 0,48	19,16± 0,10	18,43± 0,60b
Ortalama	18,62± 0,20	22,07± 0,70	20,01± 0,30	19,15± 0,88	21,93± 0,15	

Aynı harf ile gösterilen ortamlar arasında istatistikî olarak önemli fark yoktur.

Yapılan çalışmada farklı sorbitol dozlarının total fenolik madde üzerine bir etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır. Ancak farklı büyüme dönemlerinin bitkinin total flavonoid madde miktarı üzerine etkisinin oldukça önemli olduğu görülmektedir. Yolci ve diğerleri, (2021). Yaptıkları çalışmada, farklı dönemlerde hasat edilen aspir bitkisinde toplam flavonoid madde miktarı en yüksek çiçeklenme başlangıcından bir hafta sonra olan dönemde ve 19,15 mg QE/100g olduğunu bildirmişlerdir. Kuşoğlu, (2015) yaptığı çalışmada aspir bitkisi yaprak ekstrelerinin toplam flavonoid madde miktarının $97,41 \pm 2,13 \mu\text{g}$ kateşin / mg olduğunu tespit etmiştir.) aspir tohumlarının toplam flavonoid madde miktarının belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, toplam flavonoid madde miktarı $62,2 \pm 1,9 \text{ mg QE/g}$ olarak belirlenmiştir (Yu ve diğerleri, 2013). Aspirde flavonoid yapıdaki kartamidin maddesi üzerine farklı haftalarda yapılan çiçek hasadının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise, çiçeklenme başlangıcı ile üçüncü haftaya kadar yapılan hasatlarda kartamidin miktarının gittikçe arttığı, üçüncü haftadan sonraki hasatlarda ise gittikçe düşüşler gözlemlendiği tespit edilmiştir (Steberl, Hartung, Munz ve Graeff-Hönniger, 2020). Literatürde görüldüğü gibi bitkilerde flavonoid madde miktarları hasat zamanlarına göre değişim göstermiştir. Yaptığımız çalışmada da farklı gelişme dönemlerinin flavonoid madde miktarı üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Çiçeklenme öncesi dönemde en yüksek flavonoid madde miktarı gözlenirken, çiçeklenme sonrası dönemde flavonoid madde miktarının 1,5 kat azaldığı tespit edilmiştir. Yapılan önceki çalışmalarla kıyaslandığında, gelişme dönemi ilerledikçe flavonoid madde miktarının azalması yönüyle çalışmamızın literatür ile uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir.

4.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Antioksidan aktivitenin artırılması amacıyla farklı gelişme dönemlerinde uygulanan farklı sorbitol dozlarının Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.5’de ve bu uygulamalardan elde edilen % DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi değerleri Çizelge 4.6’da verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, farklı sorbitol dozlarının DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesine etkisinin önemsiz olduğu anlaşılmaktadır. Aynı zamanda. Sorbitol dozları x farklı gelişme dönemleri interaksyonunda DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesine etkisinin istatistiki olarak önemsiz olduğu görülmektedir. Buna karşılık aspir bitkisinde farklı gelişme dönemlerinin DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesine üzerine etkisi istatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli çıkmıştır.

Çizelge 4.5 Farklı Dönemlerde ve Farklı Dozlarda Sorbitol Uygulanan Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D	K. T	F
Dönem	2	3559,23	0,0019
Doz	4	313,62	0,8770
Dönem*Doz	8	2207,15	0,4029

Çalışmada en yüksek DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi çiçeklenme sonrası dönemde %92,86 ile 5 g/L sorbitol uygulamasında olduğu görülmektedir. Buna karşılık, DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin en düşük olduğu dönem çiçeklenme öncesi dönem %64,49 ile 100 g/L sorbitol uygulamalarından elde edilmiştir. Artan sorbitol dozlarının DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesine istatistiksel olarak önemli bir etkisi gözlenmemiştir.

Çizelge 4.6 Farklı Dönemlerde ve Farklı Dozlarda Sorbitol Uygulanan Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (%inhibisyon)

Gelişme Dönemleri	Sorbitol Dozları (g/L)					
	0	5	25	50	100	Ortalama
Çiçeklenme öncesi	69,12± 2,00	72,00± 0,80	77,47± 1,30	78,09± 1,28	64,49± 0,87	72,23b± 0,56*
Çiçeklenme dönemi	78,90± 0,90	71,93± 1,38	71,57± 2,35	86,56± 0,82	86,65± 2,00	79,12± 1,20b
Çiçeklenme sonrası	88,47± 1,75	92,86± 1,36	89,50± 1,42	85,01± 1,40	82,21± 1,16	87,61± 0,75a
Ortalama	78,83± 0,80	78,93± 0,96	79,51± 0,90	83,22± 1,10	77,78± 0,64	

*Aynı harf ile gösterilen ortamlar arasında istatistiki olarak önemli fark yoktur.

Çizelge 4.6' daki verilerden en yüksek DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi çiçeklenme sonrası dönemde görülmüyorken çiçeklenme öncesi dönemde bu değerin 1,5 kat daha az olduğu görülmektedir. Kuşoğlu (2015) yaptığı çalışmada aspir bitkisinin DPPH radikali giderme aktivitesi sonucunda en yüksek aktivite çiçek ekstresinde %96 olarak bulunmuştur. *Asteraceae* familyasından olan eşek dikeninin (*Echinops orientalis* Trautv.) DPPH aktivitesi tohum, yaprak ve gövde de sırasıyla %65, %70 ve %20 olarak bulunmuştur (Yılmaz, 2012). Bu değerler aspir ile kıyaslandığında aspir bitkisinden daha olduğu görülmektedir (Ay, Gül, Açıkgöz, Yarılgac ve Kara, 2018). *Galanthus elwesii* bitkisinde yaptıkları bir araştırmada, çiçek, yaprak, kök ve soğan kısımlarından çiçeklenme başlangıcı ve meyve olgunlaşma dönemlerinden hasat yapmışlar ve en yüksek antioksidant aktivitenin yaprakta ve meyve olgunlaşma döneminde olduğunu tespit etmişlerdir. Büyüme dönemlerinin antioksidan aktivite üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmalar ile bizim sonuçlarımızda en yüksek antioksidan aktivitenin olgunlaşma dönemlerinde tespit edilmiş olması yönüyle literatür ile uyum içinde olduğunu göstermektedir. Farklı bitkilerdeki DPPH serbest radikal giderme aktivitelerinin kuzukulağı %75, dereotu %82, roka %40, tere %23 ve alabaş bitkisinin yaprakların %67,5 olduğunu bildirmişlerdir (İşbilir,2008; Akagün, 2009). Tüm bu veriler kıyaslandığında aspir bitkisinin DPPH radikali giderme aktivitesinin diğer bitkilerin antioksidan aktivitesinden oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Doğal antioksidan kaynakları arasında olan *Asteraceae* familyasından olan Aspirde (*Carthamus tinctorius*. L), sekonder metabolit bileşenleri, miktarı, ve antioksidant aktivite farklı gelişme dönemlerine (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme dönemi, çiçeklenme sonrası) göre değişmektedir. Bu nedenle bitkilerde farklı zamanlarda toplanacak bitki örneklerinde önemli varyasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Bu tez çalışmasında, Aspirde (*Carthamus tinctorius*) farklı dönemlerde (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme dönemi, çiçeklenme sonrası) ve yapraktan püskürtme yoluyla farklı dozlarda sorbitol uygulamalarının total fenolik, total flavonoid ve DPPH serbest radikal giderme aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışma, Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksekokulu Yerleşkesinde bulunan Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü sera alanında 2021 yılı üretim döneminde yürütülmüştür. Araştırmada materyal olarak, Olein çeşidi kullanılmıştır. Denemede beş farklı sorbitol dozu (0, 5 g/L, 25 g/L, 50 g/L, 100 g/L) yapraktan püskürtme yoluyla uygulanmıştır. Sorbitol dozları üç farklı gelişme döneminde uygulanmıştır. Hasat işlemi tamamlandıktan sonra tüm örnekler el değirmeninde toz haline getirilen örneklerden droglar elde edilmiştir. Drogların total flavonoid madde miktarı, fenolik madde miktarı ve DPPH serbest radikal giderme aktivitesi incelenmiştir.

Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.), en yüksek total fenolik madde miktarı bitkinin çiçeklenme öncesi döneminde ve 133,00 mg GAE/g olduğu bulunmuştur. Bitkinin en düşük total fenolik madde miktarı ise çiçeklenme sonrası dönemde 79,21 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Her üç gelişme döneminde de artan sorbitol dozlarının ve farklı gelişme dönemlerinin ayrı ayrı total fenolik madde miktarına istatistiki olarak önemli bir etkisi gözlenmemiştir. Diğer taraftan, farklı gelişme dönemlerinde sorbitol uygulamalarının total fenolik madde içeriğinde sorbitol dozları x farklı gelişme dönemleri interaksyonu istatistiki olarak önemli çıkmıştır.

Bitkinin en yüksek total flavonoid madde miktarı, çiçeklenme öncesi dönemde 24,46 mg QE/g olarak bulunmuştur. Aspir bitkisinde total flavonoid madde miktarının en düşük olduğu dönem ise çiçeklenme sonrası dönem ve 16,09 QE/g olarak tespit edilmiştir. Her üç

gelişme döneminde de farklı dozlarda sorbitol uygulamalarının ve sorbitol dozları x farklı gelişme dönemleri interaksyonunun total flavonoid madde miktarına etkisinin önemsiz olduğu ortaya koyulmuştur. Diğer taraftan, farklı gelişme dönemlerinin total flavonoid madde miktarına etkisi %5 düzeyinde önemli çıkmıştır.

Aspirde en yüksek DPPH serbest radikal giderme aktivitesi bitkinin çiçeklenme sonrası dönemde %92,86 olarak bulunmuştur. DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin en düşük olduğu dönem çiçeklenme öncesi dönem ve %64,49 olarak tespit edilmiştir. Artan sorbitol dozlarının ve sorbitol dozları x farklı gelişme dönemleri interaksyonunun DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesine istatistiki olarak önemli bir etkisi gözlenmemiştir. Buna karşılık aspir bitkisinde farklı gelişme dönemlerinin DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesine etkisi %5 düzeyinde önemli çıkmıştır.

Yürüttüğümüz çalışmayı aspirde farklı gelişme dönemlerine göre değerlendirdiğimizde, total flavonoid madde miktarı ve total fenolik madde miktarının en yüksek çiçeklenme öncesi dönemde en yüksek olduğu görülmektedir. Total flavonoid miktarı ve Total fenolik madde miktarları için gelişme dönemlerini çiçeklenme öncesi> çiçeklenme dönemi> çiçeklenme sonrası şeklinde sıralayabiliriz. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesinde ise total flavonoid ve total fenolik madde miktarlarında görülen durumun tersine DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin en yüksek olduğu dönem çiçeklenme sonrası dönemdir. DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin gelişme dönemlerini ise çiçeklenme sonrası> çiçeklenme dönemi> çiçeklenme öncesi şeklinde sıralayabiliriz.

Sonuç olarak, Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) antioksidan aktivitenin bitkinin gelişme dönemlerine göre önemli ölçüde değiştiği tespit edilmiştir. Bu nedenle beklenen hedeflere bağlı olarak bitkinin gelişme döeminin optimize edilebileceği ve ortaya çıkan varyabiliteler dikkate alınarak en yüksek verim ve kalitede antioksidan aktivite elde edilecek dönemlerde stress faktörlerinin uygulanabileceği anlaşılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abu-Romman, S. (2010). Responses of Cucumber Callus to Sorbitol-Induced Osmotic Stress. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 8(2): 45-50.
- Akman, Y., Ketenoğlu, O., Kurt, L., Güney, K., Hamzaoglu, E. ve Tuğ, N., “*Angiospermae* (Kapalı Tohumlular)”, *Palme Yayınları*, İstanbul, 810 (2007).
- Albiski, F., Najla, S., Sanoubar, R., Alkabani, N. and Murshed, R. (2012). In vitro screening of potato lines for drought tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 18(4), 315-321.
- Ay, B. E., Gül, M., Açikgöz, M.A., Yarılgac, T., & Kara, Ş. M. (2018). Assessment of Antioxidant Activity of Giant Snowdrop (*Galanthus elwesii* Hook) Extracts with Their Total Phenol and Flavonoid Contents. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 52(Issue 4 (Suppl), 128-132.
- Babaoğlu, M., “Dünya ve Türkiye’de aspir bitkisinin tarihi, kullanım alanları ve önemi”, Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü, Edirne (2006).
- Baydar, H., 2000. Effects of Gibberellic Acid on Male Sterility, Seed Yield and Oil and Fatty Acid Syntheses of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turkish Journal of Biology*. 24: 159-168.
- Bidabadi, SS., Meon S., Wahab, Z., Subramaniam, S. and Mahmood, M. (2012). In vitro selection and characterization of water stress tolerant lines among ethyl methanesulphonate (EMS) induced variants of banana (*Musa spp.*, with AAA genome). *Australian Journal of Crop Science*, 6(3), 567-575.
- Brito, G., Costa, A., Fonseca, H. M., and Santos, C. V. (2003). Response of *Olea europaea* ssp. *maderensis* in vitro shoots exposed to osmotic stress. *Scientia Horticulturae*, 97(3-4), 411-417.
- Bujor, O. C., Ginies, C., Popa, V. I., and Dufour, C. (2018). Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods. *Food chemistry*, 252, 356-365.
- Bündig, C., Vu, T. H., Meise, P., Seddig, S., Schum, A., and Winkelmann, T. (2017). Variability in osmotic stress tolerance of starch potato genotypes (*Solanum tuberosum* L.) as revealed by an in vitro screening: role of proline, osmotic adjustment and drought response in pot trials. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(3), 206-218.
- Caliskan, S. and Caliskan. M.E, Row and plant spacing effects on the yield and yield components of safflower in mediterranean-type environment. *Turkish Journal of Field Crops*, 2018. 23: p. 85–92.

- Coşge Şenkal, B., Kıralan, M., and Ramadan, M.F., (2015). Impact of harvest times on the quality characteristics of oils recovered from different safflower (*Carthamus tinctorius*) cultivars sown in spring and autumn. *European Food Research and Technology*, 2015.
- Corleto, A., Alba, E., Polignano, G. B., and Vonghia, G., 1997. Safflower: A Multipurpose Species with Unexploited Potential and World Adaptability. The Research in Italy. IV th International Safflower Conference, (2-7 June), 23-31 Bari, Italy.
- Dodds, J. H., and Roberts, L. W. (1985). Experiments in plant tissue culture. International Potato Center.
- Eryiğit, T. (1998). *Farklı hasat zamanlarının aspir (Carthamus tinctorius L.)'in verim ve kalite özelliklerine etkileri üzerinde bir araştırma*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Sayfa, 57.
- Fan, L., and Guo, M., (2013). Progress of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Regeneration through Tissue Culture, *Journal of Medical Colleges of Pl.* 289-301.
- Faostat (2018) <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Accessed 8 Mar 2018
- Farran M, Barbour GW, Usayran NN, Kayouli C, 2010. Metabolizable energy and amino acid digestibility of decorticated extruded safflower meal. *Poultry Science*, 89:1962–1966. Doi: 10.3382/ps.2009-00559.
- Feng, Z. M., He, J., Jiang, J. S., Chen, Z., Yang, Y. N., and Zhang, P. C. (2013). NMR solution structure study of the representative component hydroxysafflor yellow A and other quinochalcone C-glycosides from *Carthamus tinctorius*. *Journal of natural products*, 76(2), 270-274.
- Gautam, S., Anjani, K., and Srivastava, N. (2016). In vitro evaluation of excess copper affecting seedlings and their biochemical characteristics in *Carthamus tinctorius* L.(variety PBNS-12). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 22(1), 121-129.
- Geçgel, Ü., Demirci, M., Esendal, E., Taşan, M., (2007). Fatty Acid Composition of the Oil from Developing Seeds of Different Varieties of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J Amer Oil Chem Soc* (2007) 84:47–54.
- Gopal, J. and Iwama, K. (2007). In vitro screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol. *Plant cell reports*, 26(5), 693-700.
- Hall, C.A., and Cuppett, S. L. (1997). Structure-activities of natural antioxidants. In *Antioxidant Methodology In Vivo and In Vitro Concepts* Aruoma, O. I., Cuppett, S. L., Eds.; AOCS Press: Champaign, IL, pp 2-29.
- Harun-Or-Rashid, M., Miah, MB., and Islam, SS. (2021). In vitro morphophysiological screening of drought-tolerant potato genotypes. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 57(3), 519-528.

- Hassan, NA., and Bekheet, SA. (2008). Mid-term storage and genetic stability of strawberry tissue cultures. *Egyptian Journal of Genetics And Cytology*, 37(2).
- Hudson, B. J. F., Ed. (1990). *Food Antioxidants*; Elsevier Applied Science: London
- İşbilir, Ş. S. (2008). Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. *Trakya Üniversitesi Kimya Ana Bilim Dalı Doktora Tezi Sayfa*, 132.
- Keleş, R., Öztürk, Ö. (2012). Farklı Ekim Zamanlarının Bazı Aspir Çeşitlerinde Verim ve Kalite Üzerine Etkileri. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(1), 112-117.
- Kırıcı, S., 1998. İki Aspir Çeşidinde Gibberellik Asidin (GA3) Agronomik Özellikler ve Çiçek Verimi ile Boyar Madde Oranına Etkileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 7 (1): 10-30.
- Kielkowska, A., Adamus, A., and Oleksyk, A. (2012). In vitro selection of *Allium cepa* for water stress. In VI International Symposium on Edible Alliaceae, 21-12 May, Fukuoka (Japan).
- Kizil, S., Çakmak, Ö., Kirici, S. A. L. İ. H. A., and İnan, M. (2008). A comprehensive study on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in semi-arid conditions. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 22(4), 947-953.
- Kuşoğlu, E. (2015). Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) bitkisinin fenolik bileşiklerinin ve antioksidan aktivitesinin tayini (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Larson, R. A., (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27(4), 969- 978.
- Li, B., Xu, X., Zhang, L., Han, J., Bian, C., Li, G., ... & Jin, L. (2020). Above-ground biomass estimation and yield prediction in potato by using UAV-based RGB and hyperspectral imaging. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 162, 161-172.
- Lim, S. Y., Hwang, J. Y., Yoon, H. R. Ve Paik, Y. S. (2007). Antioxidative Phenolics from the Petals of *Carthamus tinctorius*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. Cilt 50, sayı 4, Sf.304-307.
- Lu, Y. H., Huang, J. H., Li, Y. C., Ma, T. T., Sang, P., Wang, W. J., and Gao, C. Y. (2015). Variation in nutritional compositions, antioxidant activity and microstructure of *Lycopus lucidus* Turcz. root at different harvest times. *Food chemistry*, 183, 91-100.
- Mahajan, S., & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics*, 444(2), 139-158.
- Marssaro, AL., Lucymeire, SM., Jailson, LC., Silva Ledo, CA. Santos-Serejo, JA.(2017). Simulation of in vitro water deficit for selecting drought-tolerant banana genotypes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52 (12): 1301-1304.

- Mohammadi, M., and Tavakoli, A, Effect of harvest time of spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) florets on the production of red and yellow pigments. *Quality Assurance Safety of Crops and Foods*, 2015. 7: p. 581–588.
- Nagaraj, G. (2009). Oilseeds Properties, Processing, Products and Procedures. 2nd Ed. New India pub., New Delhi, India.
- Nemeth-Zamborine, E., Seidler-Łożykowska, K., and Szabo, K. (2019). Effect of harvest date on yield and secondary compounds of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*.
- Okcu, M., Tozlu, E., Dizikısa, T., Kumluay, A.M., Pehluvan, M., Kaya, C. 2010. Erzurum Sulu Koşullarında Bazı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinin Tarımsal Özelliklerinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 41 (1), 1-6.
- Özdemir, F. A., Aymelek F. ve Karataş, F. (2011). Aspir Bitkisinde Redükte, Okside Glutasyon ile A, C, E Vitamini ve β -karoten Miktarlarının Araştırılması. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, sayı 23, Sf.65-71.
- Özel, A., Demirbilek, T., Çopur, O., Gür, A., 2004. Harran ovası kuru koşullarında farklı ekim zamanları ve sıra üzeri mesafelerinin aspir (*Carthamus tinctorius* L.)’in taç yaprak verimi ve bazı bitkisel özelliklerine etkisi. Harran Ün. Z.F. Dergisi, 8(3/4):1-7.
- Patil, J.G., Ahire, M.L., Nitnaware, K.M., Panda, S., Bhatt, V.P., Kishor Kavi, P.B., Nikam, T.D. 2013. In vitro propagation and production of cardiogenic glycosides in shoot cultures of *Digitalis purpurea* L. by elicitation and precursor feeding. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(6): 2379-2393.
- Placide, R., Carpentier, S., and Swennen, R. (2012). Development of in vitro technique to screen for drought tolerant banana varieties by sorbitol induced osmotic stress. *African Journal of Plant Science*, 6(15), 416-425.
- Ren, S., Wu, Y., Liu, S., Zhou, M., and Ma, S. (2019). Explicit cross-lingual pre-training for unsupervised machine translation. arXiv preprint arXiv:1909.00180.
- Rai, MK., Kalia RK., Singh, R., Gangola, MP., and Dhawan, AK. (2011). Developing stress tolerant plants through in vitro selection - an overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany*, 71(1), 89-98.
- Ribeiro, D. A., Camilo, C. J., Nonato, C. D. F. A., Rodrigues, F. F. G., Menezes, I. R. A., Ribeiro-Filho, J., and da Costa, J. G. M. (2020). Influence of seasonal variation on phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Secondatia floribunda* A. DC.(Apocynaceae). *Food Chemistry*, 315, 126277.
- Salem, N., Msaada, K., Hamdaoui, G., Limam, F., & Marzouk, B. (2011). Variation in phenolic composition and antioxidant activity during flower development of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4455-4463.

- Shi, M., Kwok, K.W., Wu, J.Y. 2007. Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* Bunge (red or Chinese sage) hairy-root culture by hyperosmotic stress and yeast elicitor. *Biotechnology and applied biochemistry*, 46(4): 191-196.
- Singh, V., Nimbkar, N. (2006). Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Chapter, 6, 167-194.
- Singh, B., Sahu, P.M., Sharma, R.A. 2017. Effect of elicitors on the production of pyrroloquinazoline alkaloids by stimulating anthranilate synthase activity in *Adhatoda vasica* Nees cell cultures. *Planta*, 1-13.
- Sorkheh, K., Shiran, B., Khodambshi, M., Rouhi, V., and Ercisli, S. (2010). In vitro assay of native Iranian almond species (*Prunus* L. spp.) for drought tolerance. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 105(3), 395-404.
- Steberl, K., Hartung, J., Munz, S., and Graeff-Hönniger, S. (2020). Effect of row spacing, sowing density, and harvest time on floret yield and yield components of two safflower cultivars grown in southwestern Germany. *Agronomy*, 10(5), 664.
- Tanaka, T., Godin, B., Bhavane, R., Nieves-Alicea, R., Gu, J., Liu, X., and Ferrari, M. (2010). In vivo evaluation of safety of nanoporous silicon carriers following single and multiple dose intravenous administrations in mice. *International journal of pharmaceutics*, 402(1-2), 190-197.
- Thompson, MR., Douglas, TJ., Obata-Sasamoto, H., and Thorpe, TA. (1986). Mannitol metabolism in cultured plant cells. *Physiologia Plantarum*, 67(3), 365-369.
- Wang, C. Y., Liu, Q., Huang, Q. X., Liu, J. T., He, Y. H., Lu, J. J., and Bai, X. Y. (2013). Activation of PPAR γ is required for hydroxysafflor yellow A of *Carthamus tinctorius* to attenuate hepatic fibrosis induced by oxidative stress. *Phytomedicine*, 20(7), 592-599.
- Vanhove, AC., Vermaelen, W., Panis, B., Swennen, R., and Carpentier, SC. (2012). Screening the banana biodiversity for drought tolerance: can an in vitro growth model and proteomics be used as a tool to discover tolerant varieties and understand homeostasis. *Frontiers in Plant Science*, 3, 176.
- Yang, Y., Pu, X., Qu, X., Chen, F., Zhang, G., Luo, Y. 2017. Enhanced production of camptothecin and biological preparation of N1-acetylkynuramine in *Camptotheca acuminata* cell suspension cultures. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(10): 4053-4062.
- Yılmaz, S. (2012). *Echinops orientalis* Trautv. Bitkisindeki Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu, Yapı Tayini, Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Yolci, M. S., Tunçtürk, R., ve Tunçtürk, M. Farklı Ekstraksiyon Çözücüler ve Hasat Zamanlarının Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çiçeklerinin Toplam Fenol ve Flavonoid Miktarları ile Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkileri. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 5(1), 97-109.
- Yu, S. Y., Lee, Y. J., Kim, J. D., Kang, S. N., Lee, S. K., Jang, J. Y., Lee, H. K., Lim, J. H. and Lee, O. H. (2013). Phenolic Composition, Antioxidant Activity and Anti-

Adipogenic Effect of Hot Water Extract from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed. *Nutrients*. Cilt 5, sayı. 12, Sf. 4894-4907.

Zaker, A., Sykora, C., Gössnitzer, F., Abrishamchi, P., Asili, J., Mousavi, S.H., and Wawrosch, C. 2015. Effects of some elicitors on tanshinone production in adventitious root cultures of *Perovskia abrotanoides* Karel. *Industrial Crops and Products*, 67: 97-102.



ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Alper DİLEK

Bilimsel Faaliyetler (Yayınlar, Bildiriler, Katıldığı Projeler)

1-) MESMAP 7 (The 7th International Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants November 18-20, 2021), Sözlü Sunum, İzmir – TURKEY (Uluslararası).
The effect of sorbitol applications on antioxidant activity in some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars according to different growth stages).

2.) Bazı aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerinde sorbitol uygulamalarının bitki organlarına ve gelişme dönemlerine göre antioksidan aktiviteye etkisi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 2021-2022 (Ulusal)