



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MELATONİN VE SPERMİN UYGULAMALARININ
TUZ STRESİ ALTINDAKİ FESLEĞEN (*Ocimum
basilicum* L.) BİTKİSİNİN FENOLİK BİLEŞİKLERE
VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

MERAL KARAÇOCUK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2019

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MELATONİN VE SPERMİN UYGULAMALARININ
TUZ STRESİ ALTINDAKİ FESLEĞEN (*Ocimum
basilicum* L.) BİTKİSİNİN FENOLİK BİLEŞİKLERE
VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNE ETKİSİ

MERAL KARAÇOCUK

Bu tez,
Biyoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2019

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Meral KARAÇOCUK tarafından hazırlanan “Melatonin ve spermin uygulamalarının tuz stresi altındaki fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkisinin fenolik bileşiklere ve antioksidan aktivitesine etkisi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 23/08/2019 tarihinde oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üy. Emel DIRAZ YILDIRIM (DANIŞMAN)
Biyoloji Bölümü
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Şengül KARAMAN (ÜYE)
Biyoloji Bölümü
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Dr. Öğr. Üy. Muhittin KULAK (ÜYE)
Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü
Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu
Iğdır Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YAZICI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Meral KARAÇOCUK



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynakgösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

MELATONİN VE SPERMİN UYGULAMALARININ TUZ STRESİ ALTINDAKİ FESLEĞEN (*Ocimum basilicum* L.) BİTKİSİNİN FENOLİK BİLEŞİKLERE VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNE ETKİSİ

MERAL KARAÇOCUK

ÖZET

Abiyotik stres faktörlerinden biri olan tuzluluk hem tarım yapılan topraklarda hem de tuzluluk tehdidi altındaki topraklarda yetişen bitkilerde pek çok olumsuzluklara neden olmaktadır. Tuzluluğun olumsuz etkilerine karşı bitkiler üzerinde ekzojen olarak hormon ve büyüme düzenleyici bileşikler denenmekte olup, bu çalışmada melatonin ve spermin uygulamaları ile tıbbi bir bitki olan fesleğende sekonder madde üretimini ve tuza dayanıklılığı arttırmak hedeflenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda melatonin (1 ve 10 μ M) ve spermin, (0,1 ve 1 mM) mor yapraklı fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) tohumlarına 24 sa süre ile emdirilmiş, ekimleri saksılara yapılarak iklim odasında uygun koşullarda yetiştirilmiştir. Bitkiler dört yapraklı boyuta geldiklerinde stres uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Artan tuz konsantrasyonu ile (25, 50, 75, 100 mM) birer hafta sulanarak çiçeklenme dönemi öncesi hasat edilmiştir. Bitki ekstraktlarının spektrofotometrik yöntemlerle DPPH antioksidan aktivite, toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları, HPLC cihazı ile fenolik asitleri analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucunda tüm analizlerde uygulamaların etkisi istatistikel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Analizler sonucunda tuz stresi altında DPPH antioksidan aktivitenin kontrol grubuna göre düşüş gösterdiği (% 98,37-% 91,19), toplam fenolik madde miktarının tuz stresi ile azaldığı (4,45-2,55 mg/g ekstrakt) fakat 10 μ M melatonin+tuz uygulamasının fenolik madde miktarını arttırdığı (5,30 mg/g ekstrakt), Spermin 0,1 mM uygulamasının da kontrole göre daha fazla (5,32 mg/g ekstrakt) fenolik madde içerdiği tespit edilmiştir. Toplam flavonoid miktarının fenolik madde miktarı ile benzer şekilde tuz stresi altında azalmış (0,31-0,18 mg/g ekstrakt), 10 μ M melatonin+tuz uygulamasında ise artış göstermiştir (0,39 mg/g ekstrakt). Çalışmamızda kafeik asit, şikorik asit ve rozmarinik asit ana fenolik bileşenler olarak tespit edilmiş, kafeik asit miktarının kontrol grubunda tuz stresi altında azaldığı (0,016-0,006 mg/g ekstrakt), melatonin ve spermin uygulamalarının hepsinde kontrollerine göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Şikorik asit miktarının ise tuz stresinde tüm uygulamalarda kontrollerine göre azalış görülürken, 10 μ M melatonin+tuz

uygulamasında kontrol grubuna göre artış (0,15-1,88 mg/g ekstrakt) görülmüştür. Rozmarinik asit miktarı tuz stresi altında kontrol grubunda tespit edilememiş, diğer uygulamalarda da azalışlar görülmüş, 10 µM melatonin+tuz uygulamasında ise kontrolüne göre artış (0,09-3,05 mg/g ekstrakt) belirlenmiştir. Sonuç olarak 10 µM melatonin uygulamasının tuz stresi altında sekonder madde miktarlarını arttırdığı görülmüş, fesleğen bitkisi için bu konsantrasyonun etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Fesleğen, tuz stresi, melatonin, spermine, antioksidan aktivite, fenolik asit.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Ağustos /2019

Danışman: Dr. Öğr. Üy. Emel DIRAZ YILDIRIM

Sayfa Sayısı: 74

**THE EFFECT OF MELATONIN AND SPERMIN APPLICATIONS ON
PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BASIL (*Ocimum
basilicum* L.) PLANT UNDER SALT STRESS**

(MASTER'S THESIS)

MERAL KARAÇOCUK

ABSTRACT

Salinity, which is one of the abiotic stress factors, causes many adversities both in the cultivated soils and the plants grown in the soils under the threat of salinity. Hormone and growth regulating compounds are tested exogenously on the plants against the negative effects of salinity. In this study, with the application of melatonin and spermine, it is aimed to increase the secondary substance production and salt resistance in basil which is a medicinal plant. At the different concentration of melatonin (1 and 10 μ M) and sperm (0.1 and 1 mM) were soaked into purple-leaf basil (*Ocimum basilicum* L.) seeds for 24 hours and cultivated in pots in favorable conditions in the climate room. When the plants reached four-leaf size, stress applications were carried out. It was harvested one week before the flowering period by irrigation with increasing salt concentration (25, 50, 75, 100 mM) at one week interval. DPPH antioxidant activity, total phenol and total flavonoid amounts of plant extracts were analyzed by spectrophotometric methods and phenolic acids were analyzed by HPLC. As a result of the study, the effect of applications was statistically significant in all analyzes ($p < 0,01$). As a result of the analysis, DPPH antioxidant activity decreased under salt stress when compared to the control group (98,37- 91,19%), total phenolic content decreased with salt stress (4,45-2,55 mg / g extract) but 10 μ M melatonin + salt application increased the amount of phenolic material (5,30 mg / g extract). It was determined that 0.1 mM application of spermine contained more phenolic substances (5,32 mg / g extract) than control group. Total flavonoid content showed similarity with total phenolics that decreased with salt stress (0,31-0,18 mg / g extract) and increased with 10 μ M melatonin + salt application (0,39 mg / g extract). In our study, caffeic acid, chicoric acid and rosmarinic acid were found to be the main phenolic components, and the amount of caffeic acid decreased under the salt stress (0,016-0,006 mg /g extract) in the control group, and it was determined that all treatments of melatonin and spermine increased compared to all their controls. The amount of chicoric acid decreased under salt stress compared to the controls in all applications, whereas 10 μ M melatonin + salt application

increased compared to the own control group (0,15-1,88 mg / g extract). The amount of rosmarinic acid could not be determined in the control group under salt stress and decreases were observed in other applications, but an increase was determined at 10 µM melatonin + salt application (0,09-3,05 mg/g extract). As a result, 10 µM melatonin application was found to increase the amount of secondary metabolites under salt stress, and this concentration was found to be effective for basil plant.

Key words: Basil, salt stress, melatonin, spermine, antioxidant activity, phenolic acid

Kahramanmaraş Sütçü İmam University
Institute for Graduate Studies in Science and Technology
Department of Biyoloji August / 2019

Supervisor: Asst. Prof. Emel DIRAZ YILDIRIM

Pages Numbers: 74

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması esnasında değerli bilgilerini ve zamanını benimle paylaşan, kendisine her danışmamda bana zamanını ayırıp, ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden geleni yapan, samimiyetini benden esirgemeyen ve azmini, başarısını ve samimiyetini her zaman örnek alacağım kıymetli hocam, Sayın Dr. Öğr. Üy. Emel DIRAZ YILDIRIM'a ve Prof. Dr. Şengül KARAMAN'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana destek olan Halime KAHVECİ, Nilgün BİLGİNER GÜZELSOY, Alican DİLBİRLİĞİ'ne teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda her zaman yanımda olan maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen öncelikle canım annem Gülseren KARAÇOCUK'a, kardeşim Pelin KARAÇOCUK'a ve yeğenim Mehmet Emin SULAR'a ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmamızda bitkilerin yetiştirildiği ve laboratuvar çalışmalarının yürütüldüğü KSÜ ÜSKİM Merkezi çalışanlarına çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Sekonder Metabolitler	3
1.1.1. Fenolik bileşikler	5
1.1.2. Flavonoidler	5
1.1.3. Fenolik asitler	6
1.1.3.1. Kafeik asit	8
1.1.3.2. Rozmarinik asit	8
1.1.3.3. Şikorik asit	9
1.2. Melatonin	10
1.3. Poliaminler	12
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	15
2.1. Fesleğinde Stres, Spermin ve Melatonin Uygulamalarına Ait Literatür Çalışmaları	15
2.2. Bazı Bitkilerde Stres, Spermin ve Melatonin Uygulamalarına Ait Literatür Çalışmaları	23
3. MATERYAL VE METOD	31
3.1 Materyal	31
3.2. Fesleğin (<i>Ocimum basilicum</i> L.) Bitkisinin Taksonomik Sınıflandırılması	31
3.3. Fesleğin (<i>Ocimum basilicum</i> L.) Bitkisinin Özellikleri	31
3.4 Kullanılan kimyasallar	32
3.5. Kullanılan cihazlar	32
3.6. Metod	32
3.6.1. Fesleğin tohumlarına BBD uygulama süreleri	32
3.6.2. Bitkilerin büyüme ortamları ve tuz stresi uygulamaları	33
3.6.3. Yaprakların ekstraksiyonu	34
3.7. Spektrofotometrik Yöntemler	34
3.7.1. DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayini	34
3.7.2. Toplam fenolik miktarı tespit	35

3.7.3. Toplam flavonoid miktarı tespiti	36
3.8. HPLC Yöntemleri	36
3.8.1. Fesleğen Bitkilerindeki Fenolik Asitlerin Tespiti	36
3.8.2. Kullanılan HPLC cihazı ve özellikleri	37
3.8.3. Kafeik asit, ve rozmarinik asit standartlarının hazırlanması	37
3.8.4. Standart çözeltilerin HPLC’de analizi	37
3.8.5. Rozmarinik asit standart eğrisinin oluşturulması	38
3.8.6. Kafeik asit standart eğrisinin oluşturulması	39
3.8.7. Şikorik asit standart eğrisinin oluşturulması	39
3.8.8. Fesleğen bitki denemelerine ait kromatogramlar	40
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	42
4.1. Melatonin ve Spermin Uygulanan ve Tuz Stresine Maruz Bırakılan Fesleğenlerde Antioksidan Aktivite Parametrelerinin Değerlendirilmesi	42
4.1.1. DPPH aktivite	42
4.1.2. Toplam fenolik miktarı	45
4.1.3. Toplam flavonoid miktarı	48
4.1.4. HPLC yöntemleri	50
4.1.4.1. Kafeik asit miktarı	50
4.1.4.2. Şikorik asit miktarı	52
4.1.4.3. Rozmarinik asit miktarı	54
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	61
ÖZ GEÇMİŞ	71

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ark.	: Arkadaşları
%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
mM	: Milimolar
µM	: Mikromolar
g	: Gram
GA	: Gallik asit
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
Mel	: Melatonin
Spm	: Spermin
SPSS	: Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı
BBD	: Bitki büyüme düzenleyicileri
HPLC	: High Pressure Liquid Chromatography
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
QE	: Kuersetin eşdeğeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Sekonder metabolitlerin biyosentez yolları.....	4
Şekil 1.2. Flavonoidlerin kimyasal yapısı	6
Şekil 1.3. Hidroksisinnamik ve hidoksibenzoik asitlerin iskelet yapıları	7
Şekil 1.4. Kafeik asit'in kimyasal yapısı.	8
Şekil 1.5. Rozmarinik asitin kimyasal yapısı	9
Şekil 1.6. Şikorik asitin kimyasal formülü	9
Şekil 1.7. Melatoninin kimyasal yapısı	10
Şekil 1.8. Bitkilerde poliamin sentez yolları	12
Şekil 3.1 İklimlendirme odasında yetiştirilen 4-5 gerçek yaprağa sahip fesleğen bitkileri.	34
Şekil 3.2. Gallik asit standart eğrisi.....	35
Şekil 3.3. Kuersetin standart eğrisi.....	36
Şekil 3.4. Rozmarinik asit standartının HPLC kromatogramı.....	37
Şekil 3.5. Rozmarinik asitin farklı konsantrasyonlardaki görünümü	38
Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlardaki rozmarinik asit piklerinin standart eğrisi.....	38
Şekil 3.7. Kafeik asitin farklı konsantrasyonlardaki görünümü	39
Şekil 3.8. Farklı konsantrasyonlardaki kafeik asit piklerinin standart eğrisi.....	39
Şekil 3.9. Farklı konsantrasyonlardaki şikorik asit piklerinin standart eğrisi	40
Şekil 3.10. Fesleğen bitki denemelerinin HPLC kromatogramları a) kontrol Mel, b) Mel+tuz, c) 1 µM Mel, d) 1 µM Mel+tuz, e) 10 µM Mel, f) 10 µM Mel+tuz....	41
Şekil 4.1. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, DPPH aktiviteye ait değerler	43
Şekil 4.2. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, toplam fenolik miktara ait değerler	45
Şekil 4.3. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, toplam flavonoid miktara ait değerler	48
Şekil 4.4. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, kafeik asit miktara ait değerler	51

Şekil 4.5. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, şikorik asit miktarına ait değerler 53

Şekil 4.5. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, rozmarinik asit miktarına ait değerler..... 55



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Fesleğende melatonin ve spermin uygulamaları ve tuz stresi sonucunda elde edilen antioksidan aktiviteye ait parametreler (Taze Ağırlık).....	42
Çizelge 4.2 Fesleğende melatonin ve spermin uygulamaları ve tuz stresi sonucunda elde edilen fenolik asitlere ait parametreler	50



1.GİRİŞ

Bitkiler doğal gereği çevre ile sürekli etkileşim halindedirler. Buldukları çevrede uygun olmayan koşullar oluştuğunda adaptasyon eksikliğine bağlı olarak strese maruz kalırlar (Büyük ve ark., 2012).

Bitkilerde stres önemli metabolik ve fizyolojik değişikliklere neden olabilir. Büyüme ve gelişmeyi olumsuz olarak etkileyerek bitkinin ve organlarının ölmesine, ürün miktarının ve kalitesinin azalmasına neden olabilmektedir. Bitkide stres; büyüme ve gelişmeyi azaltan veya aksi yönde etkileyen çevre faktöründeki değişimler olarak tanımlanabilir (Çerçi, 2012).

Bitkilerde stres faktörleri biyotik (virüsler, bakteriler mantarlar, böcekler, herbivorlar, kemirgenler, parazit bitkiler) ve abiyotik (tuz, su, sıcaklık, ışık, gazlar, mineraller, radyasyon vb.) stres etmenleri olarak ikiye ayrılmaktadır (Ashraf ve Foolad, 2007).

Ekilebilir alanların verimindeki azalmanın nedeni abiyotik streslerden biri olan mineral stresinin en büyüğünü tuzluluk oluşturmaktadır (Tuteja, 2007). Tuzluluk; tarım arazilerinde toprağın yapısını bozarak tuzluluğu artırmakta, bitkilerin verimini ve ürünün kalitesini önemli oranda azaltmaktadır (Koca ve ark., 2007).

Tuzluluk yeryüzünde sulanabilen tarım arazilerinin yaklaşık 227 milyon hektar alanı etkilemektedir (Tuteja, 2007; Çulha ve Çakırlar, 2012). Türkiye’de 1,5 milyon hektarlık arazi tuzluluk ile karşı karşıya kalmaktadır. Bu arazilerin % 60’ı tuzlu, % 19,6’sı orta tuzlu, %0,4’ü alkali olarak sınıflandırılmıştır (Kuşvuran, 2010). Toprak tuzluluğu çoğunlukla yağışın az, buharlaşmanın çok olduğu yüksek sıcaklığın hakim olduğu kurak ve yarı kurak bölgelerde tarımsal verimliliği etkilemektedir. Toprak tuzluluğunun artmasının sebepleri olarak aşırı su alma, kalitesi düşük su kullanımı, toprağın yapısı, fazla gübre kullanımı ve drenaj eksikliği sayılmaktadır. Buna ek olarak kurak ve yarı kurak bölgelerdeki yüksek buharlaşma ve bu alanlardaki bitkilerin köklerine yağışın gerektiği ölçüde ulaşamaması iyonların yeteri kadar süzülmemesine ve tuzların birikmesine neden olmaktadır (Tohma, 2007; Torun, 2012). Bitkilerdeki tuz stresinin ilk tesiri osmotik ve iyon stresi oluşturması, ikinci tesiri ise dolaylı olarak stres faktörleri neticesinde bitkide oluşan oksidatif strestir (Botella ve ark., 2005). Tuz stresi bitkide büyüme ve gelişmenin gerilemesine, protein sentezi, fotosentez ve solunumun azalmasına, hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ve süperoksit anyonu ($O^{\cdot-}$) gibi reaktif oksijen türlerinin

alışılan miktardan fazla üretimine neden olmaktadır (Desingh ve Kanagaraj, 2007). Reaktif oksijen türlerinin oluşmasıyla bitkide meydana gelen zararlı etkiler, antioksidan sistemlerle azaltılmaktadır (Gapińska ve ark., 2007).

Genel olarak tuzluluk; bitki boyunun azalması, yaprak sayısının azalması, yaprak ayasının daralması, gövde ve kök ağırlığının belli bir dengesinin olmayışı böylece kökün çelimsiz olması, klorofil miktarında azalma, daha geç ve az çiçeklenmenin olması, tohumun normalden küçük olması, meyvelerin ağırlığının normale göre az ve kalitesinde düşüş olması, tuza dayanıklı yabancı otların artması, solma, kuruma ve bunlarla birlikte büyümenin baskılanması neticesinde büyümede yavaşlamaya neden olmaktadır (Ashraf, 2004; Yu ve ark., 2012, Yediyıldız, 2008).

Her yıl tarım arazilerinde tuzluluğun artması ürün üretimi, ürün kayıplarının artmasına ve ekonomik kaybında oluşmasına sebep olmaktadır. Topraktaki tuzluluk probleminin ortadan kaldırılabilmesi için oluşturulan yöntemlerin pahalı ve zor olması sebebiyle son yıllarda tuza daha dayanıklı olan türlerin üretilmesi ve tuza toleransı yüksek olan genotiplerin seçilmesi araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir. Bitkilerin tuza karşı verdiği tepkiler tuz konsantrasyonuna, bitkinin tuza maruz kaldığı süreye, bitkinin o an bulunduğu gelişme dönemine bağlı olarak değişmektedir (Bak, 2009).

Tuzluluğun negatif etkilerine karşı bitkilerde ekzojen olarak büyüme düzenleyiciler (BBD) ve hormonlar denenmektedir. Bu amaçla jasmonik asit, poliaminler, brassinosteroidler ve salisilik asit gibi bileşikler yaygın olarak kullanılmaktadır (Karaman ve ark., 2008; Kahveci, 2018; Koca, 2013).

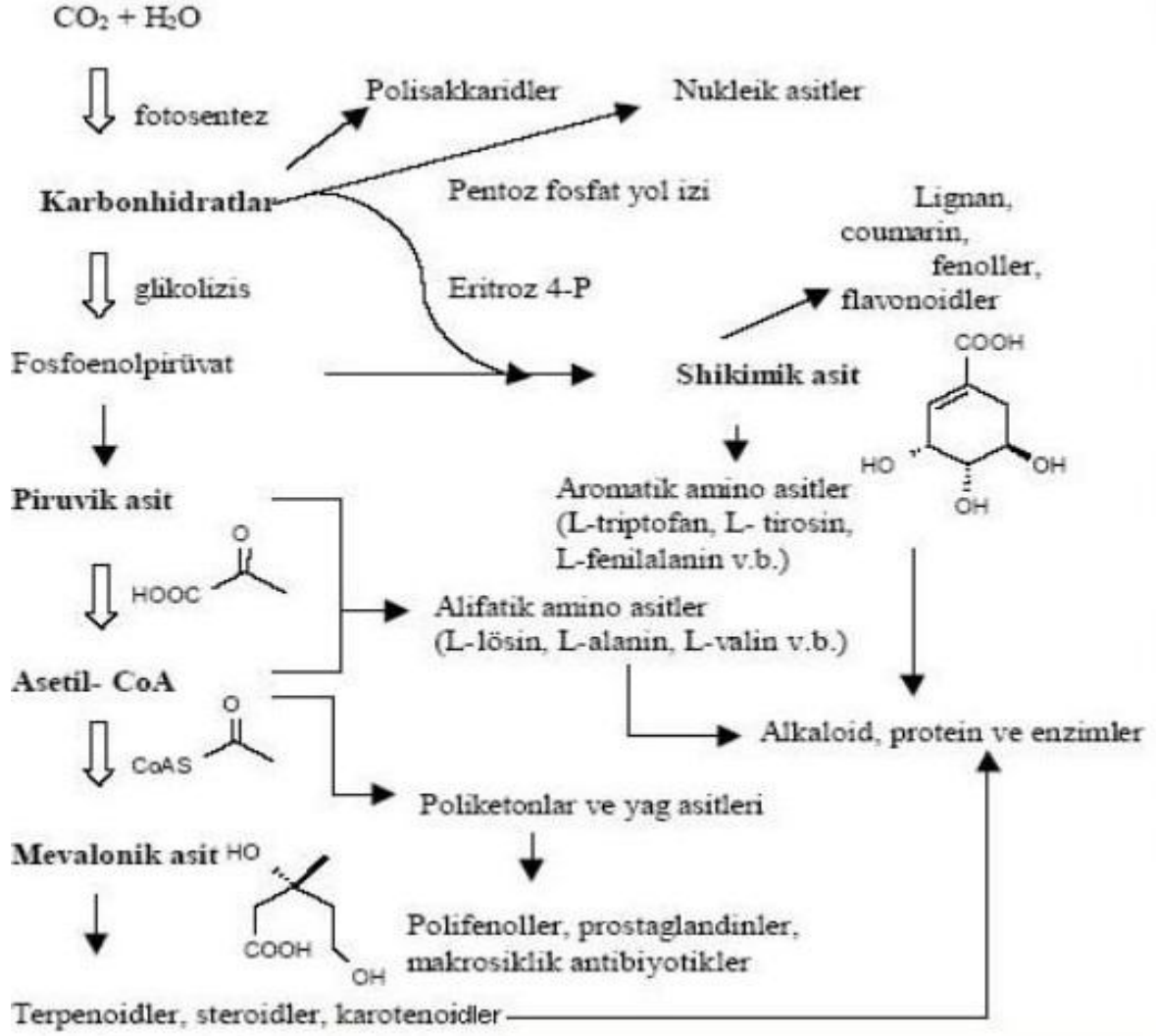
Bu çalışmada BBD (spermin ve melatonin) uygulamalarıyla tıbbi bitkilerin tuza direncini ve sekonder madde üretimini artırabilmek amaçlanmıştır. Kolay yetişebilmesi ve ekonomik değeri nedeniyle fesleğen bitkisi seçilmiştir. Fesleğen tohumlarına 0,1 ve 1 mM spermin ve 1 ve 10 μ M melatonin uygulanmış ve bitkiler fide haline geldiğinde artan konsantrasyonlarda tuz stresi (25, 50, 75, 100 mM) uygulanarak yetiştirilmiş, spektrofotometre ile toplam fenolik, toplam flavonoid, DPPH miktarları ve HPLC cihazında şikorik, rozmarinik ve kafeik asit miktar tayinleri yapılarak stresin yarattığı etki tespit edilmeye çalışılmıştır.

1.1. Sekonder Metabolitler

Bitkilerde bulunan primer ve sekonder metabolitler doğal bileşiklerdir. Bitkilerin çoğalabilmesi, büyüme ve gelişebilmesi için gerekli olan bileşikler primer metabolitler (proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve hormonlar vb.) dir. Sekonder metabolitler ise bitkinin korunma, savunma, üreme ve çevreyle adaptasyonunu sağlayan organik bileşiklerdir. Bitkilerde ki sekonder metabolitler: fenolikler, terpenler flavonoidler, fitosteroller ve terpenoidlerdir. Günümüzde bu metabolitler birçok ticari dalda hammadde olarak kullanılmakta ve bitkilerin temel yaşamsal olaylarına doğrudan etkisi olmamasına rağmen en az primer metabolitler ölçüsünde değerli olduğu kabul edilmektedir (Bourgaud ve ark., 2001; Sökmen ve Gürel, 2001; Zarate ve Yeoman, 2003).

Sekonder metabolitler, bitkilerin canlı ve cansız çevre ile olan ilişkisinde, çevresel koşullara adaptasyonunda, hayatta kalabilmelerinde, savunma, nesillerini devam ettirebilmelerinde, korunma gibi önemli olaylarda çeşitli avantajlar sağlayan kimyasal maddelerdir. Bunların içinde bitkiyi hastalık yapan canlılara karşı koruyan, antibakteriyel, antifungal, antiviraller; bitkinin yaşadığı ortamdaki bitkilere karşı rekabet gücünü arttıran anti-germinatif ve toksik maddeler; tuzluluk, UV ışınları, kuraklık gibi bitkiyi kötü etkileyen çevresel koşulların neden olduğu strese direnmeyi arttıran metabolitler; bitkilere zarar veren otlar ve hayvanlara karşı korunmak için üretilen herbisid, insektisit, molluskusit ve pestisitler; tohum dağılımı ve tozlaşmayı sağlamak için hayvanları kendine çekecek renkli ve hoş kokulu metabolitler bulunmaktadır (Bourgaud ve ark., 2001; Zarate ve Yeoman, 2003; Sökmen ve Gürel, 2001).

Sekonder metabolitler, enzimatik yollarla primer metabolitlerden oluşur (Hansel ve Sticker, 2007). Bu metabolitler birincil metabolizmanın ara ürünlerinden, özel metabolik yollarla sentezlenirler ve çoğunlukla biyosentez yollarına göre sınıflandırılırlar (Bourgaud ve ark., 2001). Mevalonik asit, asetil- CoA, şikimik asit ve amino asit üzerinden bu metabolitlerin oluşumlarının biyosentetik yolları gösterilmiştir (Tolonen, 2003; Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Sekonder metabolitlerin biyosentez yolları

Sekonder metabolitlerin bazı bileşikleri, belirli türlere özeldir. Genellikle bitkilerin belirli organlarında, hatta bu organların belirli hücrelerindeki belli bölümlerinde bulunur (Sökmen ve Gürel, 2001) ve farklı büyüme safhalarında sentezlenirler. Bundan dolayıda saflaştırılmaları zordur (Özgen ve ark., 2005).

Sekonder metabolitler fazla sayıda bileşik içeren zengin bir gruptur. Bu grupta yer alan fenolikler ve tokoferollerin üstlendiği roller nedeniyle sekonder metabolitler, büyük önem taşımaktadır. Fenoliklerin antikanserojen ve antimikrobiyal ajan etkisi göstererek insan sağlığında pozitif etkilerde buldukları tespit edilmiştir. Buna ek olarak fenoliklerin serbest radikaller olarak isimlendirilen ve somatik hücrelere, nükleik asitlere ve bağışıklık sistemine zarar veren çeşitli bileşikleri kendilerine bağlayarak çok önemli antioksidan özellikler gösterdikleri bilinmektedir (Zhao ve ark., 1999; Göktürk Baydar ve ark., 2004; Khalil ve ark., 2007). Diğer bir önemli bileşik olan tokoferoller, insan plazmasında en fazla

miktardaki antioksidanlardan olup fenolikler gibi sağlık açısından çok önemli bileşikler olduğu tespit edilmiştir (Kushi ve ark., 1996; Traber ve Sies, 1996).

Sekonder metabolitlerin bitkideki fonksiyonlarının bir hayli karmaşık olması, bu konuda araştırma yapanların bu metabolitlerin üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Sekonder metabolitler alanında yapılan araştırmalar, hem bu metabolitlerin elde edilme yöntemlerinin geliştirilmesine, hem de etki mekanizmalarının bilinir hale gelmesine yönelik olarak sürdürölmektedir (Bourgand ve ark., 2001; Sökmen ve Gürel, 2001; Zarate ve Yeoman, 2003).

1.1.1. Fenolik bileşikler

Yapısında bir aromatik halka (benzen) ve bu halkaya en az bir hihroksil grubunun bağlanmasıyla oluşan moleküllerdir (Vermerris ve Nicholson, 2006). Bitkiler alemine geniş ölçüde yayılan 800 den fazla fenolik bileşik rapor edilmiştir (Crozier ve ark., 2006). Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin önemli bir kısmını hücre duvarının yapısına katılan lignin gibi maddeler oluşturmaktadır ve doğrudan yapıya katılmayan çok değişik formda fenolik bileşikler bulunmaktadır. Örneğin, bitkiye özel koku ve tatların, farklı iek renklerinin oluşmasında fenolik bileşikler görev almaktadır. Fenolik bileşikler ile gerçekleşen tüm bu özellikler, aynı tüm sekonder metabolitlerde ki gibi, bitkilerin hayatta kalabilmesi için çok değerli fizyolojik işlevlerdir (Croteau ve ark., 2000).

Bitkilerde fenolik bileşik ve flavonoidlerin en önemli özelliklerinden birisi de bitki savunmasında görev almasıdır. Fenoliklerin biyosentezini uyaran, aşırı UV ışığı, stres koşulları (yaralanma ve enfeksiyon gibi) gibi çevresel faktörler bitkide fenolik asit ve flavonoidlerin miktarı ve içeriğinde önemli bir farklılığa neden olmaktadır (Bennett ve Wallsgrove, 1994; Strack, 1997).

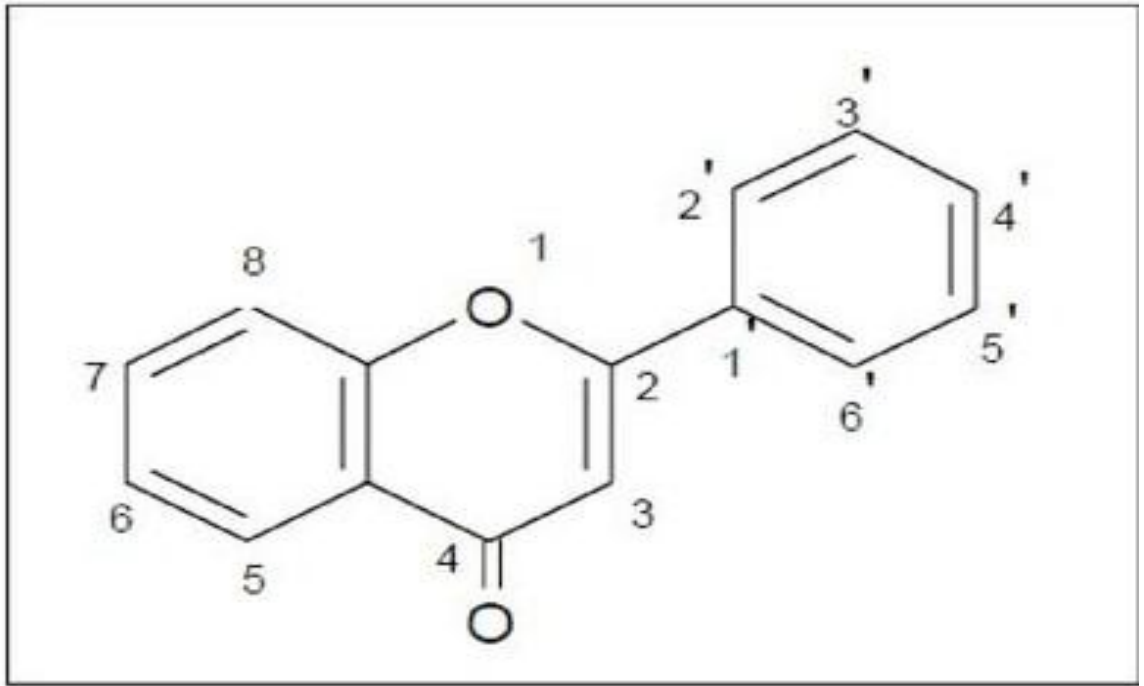
Bitkilerde ki fenolik bileşikler; flavonoidler ve fenolik asitler, kumarinler, lignanlar, ligninler ve stilbenler olarak gruplandırılabilirler.

1.1.2. Flavonoidler

Flavon, flavus (sarı) kelimesinden gelen latince kökenli bir isimdir. Genellikle sarı renkli bu bileşikler bitkilerden elde edilirler ve flavonoid olarak isimlendirilirler. Flavonoidler metallerle kelat yapma ve antioksidan aktivite özelliğine sahip sekonder bitki fenolikleridir (Heim ve ark., 2002). Günümüze kadar yapılan araştırmalarla bitkilerden

6000' den fazla flavonoid elde edilmiş, yapıları açıklanarak literatüre kazandırılmıştır ve bütün flavonoidlerin antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Bitkilerde bulunan flavonoidler yapısında 15 karbon atomu bulunan, C6-C3- C6 (difenilpropan) formunda iki fenil halkasının propan zinciri ile bağlanmasından oluşun fenolik bileşiklerdir (Harborne, 1993, Şekil 1.2). Flavonoidler, fenolik bileşiklerin en büyük sınıflarından biridir. Flavonoid çeşitleri bitkilerde savunma, pigment oluşumu gibi çok sayıda farklı fonksiyonları yerine getirirler. Örneğin antosiyaninler flavonoidlerin bir çeşididir ve bitkilerde doğal renk maddesidir. Bu renk maddeleri meyve ve polenin yayılmasını sağlayan canlıları kendine çeker. Aynı zamanda meyve ve çiçeklerin mor, kırmızı, mavi ve pembe renklerinden sorumludurlar (Taiz ve Zeiger, 2007).



Şekil 1.2. Flavonoidlerin kimyasal yapısı

1.1.3. Fenolik asitler

Fenolik asitler, bitkiler aleminde bol miktarda bulunan sekonder metabolitlerdendir. Çoğunlukla organik asitlerin ya da glikozitlerin esterleri olarak ve bitkilerde hücre duvarına ve proteinlere tutunarak bulunmaktadırlar. Fenolik asitlerin yalnızca küçük bir topluluğu doğada serbest haldedir. Bitkilerin tatları, rengi ve kokusundan sorumludurlar (Robbins, 2003). Gıdalarda bulunan bu bileşikler besinlerin değerini, kalitesini, rengini, tadını ve kokusunu önemli ölçüde etkilemektedir.

Fenolik asitlerin geniş ölçüde farmakolojik kullanım alanları vardır (Croft ve Ann, 1998). Fenolik asitler, antioksidan, antikarsinojenik, antitümör, antiglisemik ve antimutajenik niteliklere sahiptirler (Tarnawski ve ark., 2006; Kampa ve ark., 2004). Fenolik asitlerin bazı kanser çeşitlerini ve kardiyovasküler hastalıkları engellediği bilinmektedir. Ayrıca kronik iltihaplı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Mandalari ve ark., 2010; Garrido ve ark., 2008). Fenolik asitlerin antioksidan tesirleri kimyasal yapılarıyla ilişkilidir (Tapiero ve ark., 2002). Antioksidan aktiviteleri aromatik halkada bulundukları hidroksil gruplarının miktarına, konumlarına ve bağlanma yerine bağlıdır (Marinova ve Yanishlieva, 2003; Sroka ve Cisowski, 2003; Peyrat Maillard ve ark., 2000).

Fenolik asitler, kimyasal olarak hidroksisinnamik ve hidroksibenzoik asitler olarak iki gruba ayrılırlar. Hidroksisinnamik asitler fenilpropan (C6-C3), Hidroksibenzoik asitler ise fenilmetan (C6-C1) yapısındadır. Fenol halkasına karboksil (COOH) grubunun tutunmasıyla oluşan bileşiklerdir (Uylaşer ve İnce, 2008, Şekil 1.3).



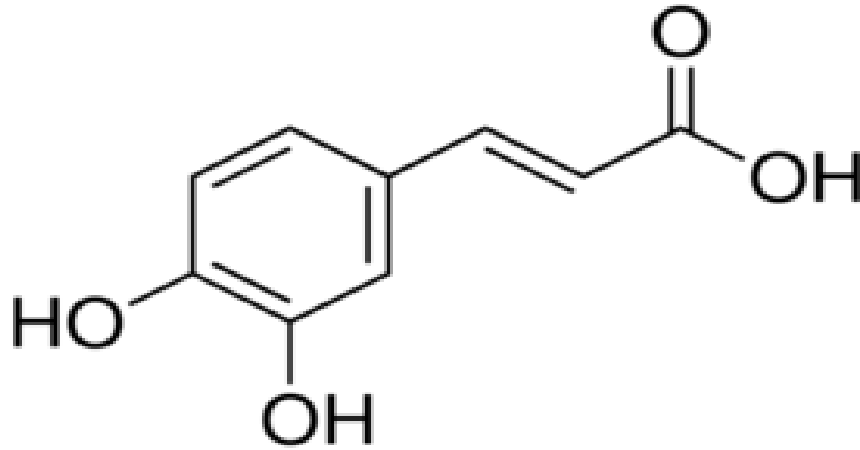
Şekil 1.3. Hidroksisinnamik ve hidroksibenzoik asitlerin iskelet yapıları

Hidroksibenzoik asitler, bitkisel besinlerde genelde iz miktarda bulunurlar (Schuster ve Herrmann, 1985). Çeşitli antioksidan aktivite çalışmalarında, hidroksisinnamik asitlerin hidrobenzoik asitlere göre daha etkili olduğu bulunmuştur (Marinova ve Yanishlieva, 2003).

Bitkilerde fotosentez, protein sentezi ve enzim aktiviteleri gibi fenolik asitlerin farklı görevleri vardır. Fenolik asitler tahılların tohum, kök, yaprak ve gövdelerinde ve sebze, meyve de bulunabilmektedir. Bu bileşikler bitkilerde eşit oranda dağılmamıştır. Bitkinin fenolik asit içeriği, bitkinin yetiştirme koşullarına göre değişebilmektedir (Robbins, 2003).

1.1.3.1. Kafeik asit

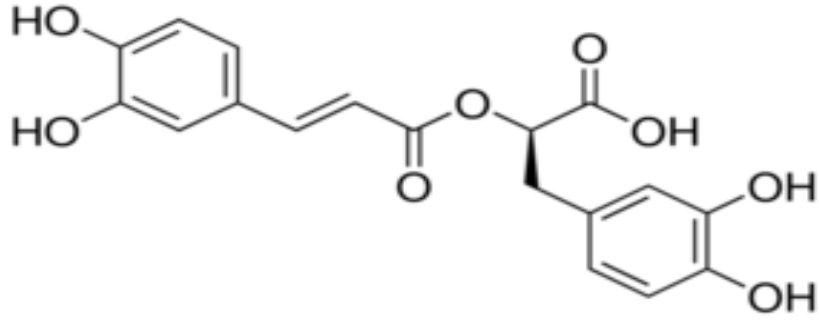
Kimyasal formülü $C_9H_8O_4$, açık formülü 3,4-dihidroksisinnamik asit'tir. Molekül ağırlığı 180,16 g/mol'dür. Erime sıcaklığı 223–225°C'dır. Sarı renkli ve kristalize biçiminde bulunur. Alkolde ve sıcak suda çözünürlüğü bir hayli iyidir. Doğal bir fenolik asittir. Bu sebeple birçok bitkide bulunmaktadır. Hidroksisinnamik asitlerin doğada en fazla rastlanılan çeşididir. Üzüm, yulaf, erik, elma gibi çeşitli meyvelerde bulunmaktadır. Domates, elma, yabanmersini, armut ve kayısı da bulunan total hidroksisinnamik asitlerin %75'ini oluşturmaktadır (Akbulut, 2001). Nitritle hızlı bir şekilde tepkimeye girerek nitrit oksite indirgemektedir (Huang ve Ferraro, 1991). Kafeik asitin kimyasal yapısı Şekil 1.4' de gösterilmiştir.



Şekil 1.4. Kafeik asit'in kimyasal yapısı.

1.1.3.2. Rozmarinik asit

Kapalı formülü $C_{18}H_{16}O_8$, açık formülü 3,4-dihidroksifenillaktik asit'tir (Şekil 1.5). Molekül ağırlığı 360,31 g/mol'dür. Erime sıcaklığı 171-175°C'dır. Kristal şeklindedir. Rozmarinik asit genel itibariyle *Lamiaceae* familyasının *Nepetoideae* alt familyasıyla *Boraginaceae* familyasında bulunur (Litvinenkove ark., 1975). Adaçayı, biberiye, keklik otu, merzengüş ve oğul otunda, *Blechnaceae* familyasına ait eğreltiotlarında (Hausler ve ark., 1992), *Zosteraceae* familyasından olan deniz çimi vb. monokotiledonlarda (Rawn ve ark., 1994), daha düşük yapılı bitkilerden at kuyruklarında (Takeda ve ark., 1990) ve *Cannaceae* ve *Potamogetonaceae* familyalarında ki üyelerde de rozmarinik asit bulunur (Tepe, 2006).



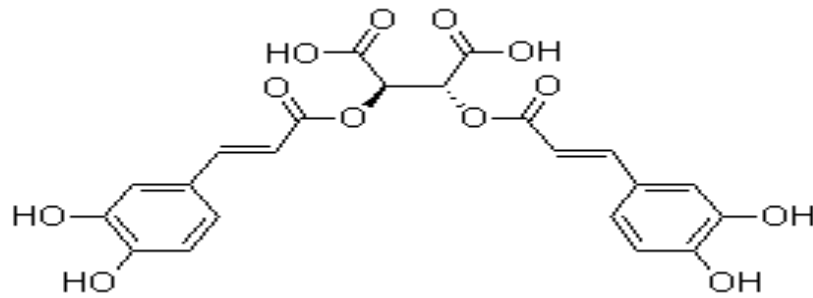
Şekil 1.5. Rozmarinik asitin kimyasal yapısı

Rozmarinik asit, ilk defa Scarpati ve Oriente arkadaşları tarafından 1958 senesinde saf olarak elde edilmiştir. Bu saf bileşeni *Rosmarinus officinalis* (biberiye) bitkisinden elde ettikleri için ismi rozmarinik asittir. Bu fenolik asit, bitkilerde ana işlevi savunma bileşeni olarak davranmaktadır. Bu fenolik asidin tıbbi bitkiler, baharatlar ve şifalı bitkilerde yer alması sağlık yönünden yararlı etkiler göstermesini sağlamaktadır. Ayrıca çok düşük bir toksisiteye sahiptir. Rozmarinik asit anti-inflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antiviral ve antimutajen gibi birçok etkiye sahiptir. Ayrıca kanser hastalığına karşı koruma ve antioksidan özelliğinden dolayı kozmetik sektöründe bulunan bitkilerden olduğu bilinmektedir (Petersen ve Simmonds, 2003).

1.1.3.3. Şikorik asit

Şikorik asit, polifenol grubuna ait bir kafeik asit türevidir. *Echinacea pupurea* (Ekinezya)'da bulunan en aktif bileşiktir. Şikorik asit kuru koşullarda çok kararlıdır fakat nemli koşullarda Ekinezya'da bulunan enzimler tarafından parçalanabilir.

Kapalı formülü $C_{22}H_{18}O_{12}$, molekül ağırlığı 474.37 g/mol'dür (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Şikorik asitin kimyasal formülü

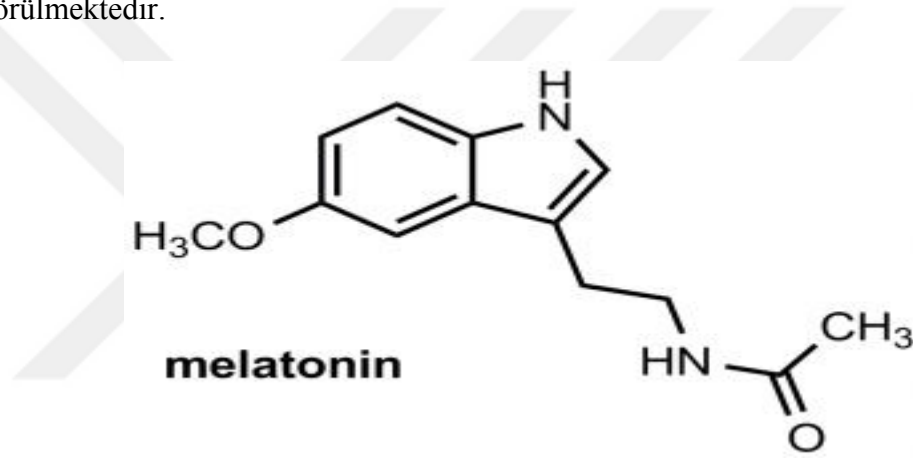
Şikorik asit vücuda giren davetsiz misafirlere karşı bağışıklık hücrelerimizi daha etkin kılar. İn vivo ve in vitro çalışmalar şikorik asitin fagositozu desteklediğini göstermiştir. Bu, beyaz kan hücreleri ve lenfositlerin patojenlere saldırıp yok ettiği süreçtir.

Şikorik asit hücre aktivasyonunu, yaraların iyileşmesini uyarır ve artrit iltihabı azaltır. Bağışıklık sistemi için önemli olan interferon, immüoglobulin ve diğer kimyasalların üretimini artırır.

Çalışmalar şikorik asitin, virüslerin hücrelere girmesini engellediğini ayrıca kollajen ve hücrelerin oksidasyonunu önleyerek bir antioksidan görevi gördüğünü göstermiştir (Anonim).

1.2. Melatonin

Melatonin (Mel), bir indolamin triptofan türevidir. Melatoninin kimyasal formülü $C_{13}H_{16}N_2O_2$ ve molekül ağırlığı $232,28 \text{ g mol}^{-1}$ dir (Anonim, 2015). Kimyasal yapısı Şekil 1.7'de görülmektedir.



Şekil 1.7. Melatoninin kimyasal yapısı

İlk kez 1958 yılında sığır beyin üstü bezinden (epifiz) elde edilmiştir (Lerner ve ark., 1958). Epifiz dokusunun yalnızca omurgalıların sinir sisteminde bulunması ve melatoninin fonksiyonlarının hormonal yapıda olması sebebiyle bu bileşiğin ilk önceleri bir sinirsel hormon olduğu (nörohormon) ve yalnızca epifiz dokusunda salgılandığı görüşü yaygınlaşmıştır (Gundy ve ark., 1976). Melatoninin ilk olarak alglerde bulunmasıyla (Poeggeler ve Hardeland, 1994) diğer bitkilerin dokularında da bulunabilir fikri ortaya atılmıştır. Bitkilerde melatonin ilk kez, iki farklı araştırma grubunun 1995 yılında birbirinden bağımsız yaptığı araştırmalar sonucunda bulunmuştur (Dubbels ve ark., 1995; Hattori ve ark., 1995). Melatoninin bitkilerde varlığı tespit edildikten sonra giderek artan sayıda yapılan araştırmalarda çok çeşitli meyve, tahıl, sebze, tohum, tıbbi ve aromatik bitkilerle süs ve yabani bitki türlerinde de bulunmuştur (Paredes ve ark., 2009; Arnao, 2014; Feng ve ark., 2014).

Melatonin sentezi, bitkiler, algler, bakteriler hayvanlarda dahil tüm canlılarda triptofan (Trp)'dan başlar. Triptofan bir amino asittir ve sadece melatoninin değil, bütün hayvan ve bitkilerde yer alan bir bileşik olan serotonin ve bitkisel bir hormon olan indol-3 asetik asitin (IAA) de sentezinin başladığı bir bileşiktir. Melatoninin triptofandan sentezinin en yaygın olarak kabul edilen yolu, Triptofan-Triptamin-Serotonin-Melatonin şeklindedir (Murch ve Saxena, 2002).

Bitkilerde ki melatonin miktarının türden türe değişiklik göstermekle kalmadığı, bununla birlikte aynı türün içerisinde bulunan genotipler veya çeşitler içinde veya aynı genotipteki bireylerin farklı büyüme safhalarında da farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Dubbels ve ark., 1995; Hattori ve ark., 1995; Posmyk ve Janas, 2009). Bitki organları içinde genelde en fazla melatonin içeriğine sahip olan generatif organlar ve tohumlardır. Bunun bilhassa olgun ve kurumuş tohumlarda melatoninin antioksidan savunma mekanizmasında görev almasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Paredes ve ark., 2009; Posmyk ve Janas, 2009). Aynı zamanda melatoninin hem suda hem de yağda eriyebilen bir bileşik olması nedeniyle yüksek ölçüde yağ içeren tohumlarda daha fazla olduğu ve antioksidan enzimlerin olmayışında veya yetersizliğinde tohumları dormansi ve kurumuş halde muhafaza ederek yüksek ölçüde çimlenmelerine yardımcı olduğu bildirilmiştir (Hardeland ve ark., 2007).

Bitkilerde, biyotik ve abiyotik stres etmenlerinin melatonin üretimini arttırdığı bildirilmiştir. Melatoninin insanlarda ve hayvanlarda serbest radikalleri ortadan kaldırdığı bulunmuş ve bu nedenle geniş spektrumlu bir antioksidan olarak kabul görmüştür. Bu düşüncenin benimsenmesiyle araştırmalarda melatoninin bitkilerde de benzer faaliyetler üstlenebileceği fikrinin doğmasına sebep olmuştur. Stres etmenleriyle karşı karşıya kalan bitkilerde görülen melatonin miktarındaki muvakkat artışlar, hususi olarak oksidatif stresin sebep olduğu zararlı etkilerden bitkileri korumaya yöneliktir (Kurland ve Andersson, 2000; Murch ve ark., 1997; Murch ve Saxena 2002; Venegas ve ark., 2012).

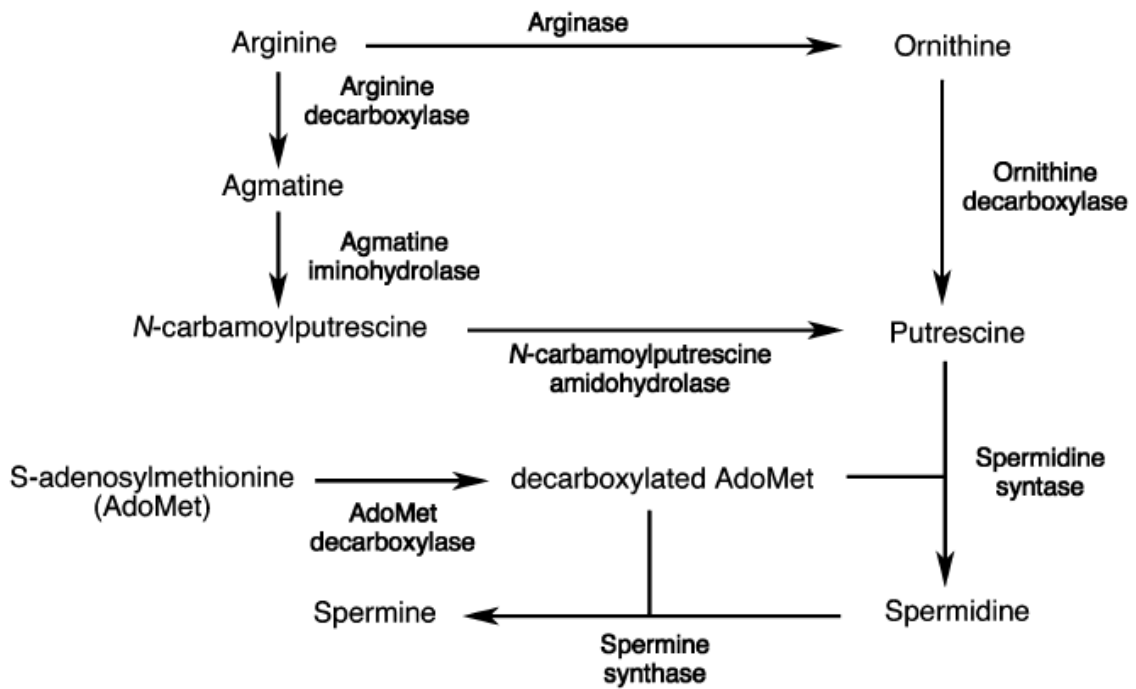
Çeşitli stres şartlarında (tuzluluk, yüksek sıcaklık, ağır metal, toprak kirliliği, düşük sıcaklık) yetiştirilen bitkilerin melatonin miktarlarının normal şartlarda ki bitkilere göre daha fazla olduğu pek çok çalışmada bildirilmiştir (Tan ve ark., 2007a ve b; Dubbels ve ark., 1995)

İnsanlarda sirkadien ritmi (günlük ritm) ve uykuyu düzenlemek, antioksidan ve antikanserojen gibi özelliğinden faydalanmak maksadıyla yurtdışında melatonin reçetesiz

olarak marketlerde satılmakta ve pekçok insan tarafından rağbet görmektedir (Bonfont-Rousselot ve Collin, 2010).

1.3. Poliaminler

Poliaminler, bir aminoasit türevidirler. Kadaverin, putresin, spermidin ve spermin olarak 4 tipi bilinmektedir (Bozcuk ve Tekin, 1996). Aminoasitlerin dekarboksilasyonu sonucu yan ürünler oluşur, bu yan ürünlerin kendi aralarında birleşmeleriyle fazla sayıda amino grubu içeren katyonik maddeler oluşur ve bu maddelere poliamin adı verilir (Şekil 1.8).



Şekil 1.8. Bitkilerde poliamin sentez yolları

Poliaminlerin belli başlı ilk görevleri hücre siklusunu düzenlemek ve nükleik asitlerin hücre içindeki biçimlerini stabilize etmektir. Poliaminler çiçeklenmeyi, meyve olgunlaşmasını, gövde kalınlaşmasını yumru gelişimini, kök büyüme ve gelişimini düzenlemektedirler (Kireççi, 2006). Poliaminlerin esas görevinin ilk başlarda stres koşullarında doğrudan koruyucu bileşikler olduğu düşünülmüştür. Bununla beraber kompleks bir sinyalleme sisteminde görev alan ve stres toleransının tertip edilmesinde önemli bir göreve sahip olan maddeler olarak tanımlanmıştır (Pal ve ark., 2015; Richards ve Coleman, 1952).

Poliaminler bitkilerde doğal olarak sentezlenir ve bitkilerde abiyotik strese direncinde önemli tesirlere sahip olduğu bilinmektedir. Araştırmalar kuraklık, tuzluluk, ozmotik stres, ısı, ağır metal, pH farklılığı ve UV gibi değişik çevresel stres etmenlerine karşı bitkileri tedavi etmede poliaminlerin rolü olduğunu dikkate almaktadırlar. Spermin, putresin ve spermidin gibi poliaminlerin pekçok abiyotik stres şartlarında biriktiği bildirilmiş ve hususi olarak tuz stresi ve kuraklık toleransına sahip oldukları bildirilmiştir (Gupta ve ark. 2013).

Poliaminler ile ilgili yapılan son çalışmalar incelendiğinde Spm eksikliği olan bitkilerde (*acl5/spms*) *ACL5* ve *SPMS* genlerinin *Arabidopsis*'te çift eleme (double-knockout) mutasyonları görülür. Bu fenotipin bitkileri, *acl5* mutasyonu ile kısaltılmış gövdelere sahip olup yaşam döngülerini normal bir şekilde tamamlayabilirler. Oysa ki *adc1/adc2* ve *spds1 / spds2* çift eleme mutantlarına bitkilerin tohum gelişiminde kusurları vardır. Buradan çıkan sonuçla putresin ve spermidinin bitkilerin normal büyümesi için esas olduğu, ancak sperminin olmadığı anlaşılır.

Bitkilerde sperminin spesifik bir rolü olduğu çalışmalarda öne sürülmüştür. *Arabidopsis*'te nitrik oksit (NO) üretiminin PA'lar tarafından uyarıldığı son yayınlarda bildirilmiştir. PA'lerden, Spm ve Spd NO üretiminin güçlü indükleyicileri olup, Put ve onun biyosentetik öncüsü argenininin olmadığı belirlenmiştir. Bu süreçte sperminin spermidinden daha güçlü olduğu görülmektedir. Tütün bitkisinde tütün mozaik virüsünden (TMV) kaynaklı aşırı duyarlı yanıtında nekrotik lezyon oluşturan yaprakların hücreler arası boşluklarında Spm seviyelerinde büyük bir artış görülmüştür. Spm'nin ayrıca asidik patogeneze bağlı proteinlerin salisilattan bağımsız endojen bir uyarıcısı olduğu ve TMV enfeksiyonuna verilen direnci oluşturduğunda gösterilmiştir. TMV ile açığa çıkan aşırı duyarlılıkta sperminin sinyal bir molekül rolü olduğu anlaşılmıştır. Bu polikasyon, mitokondri fonksiyon bozukluğuna ve iki mitojenle aktive olan protein kinazın aktivasyonuna yol açar. Bunu *HINI*, *HSR203J* ve bir *Cys2 / His2* tipi çinko parmak geni içeren bir *HR-spesifik* (aşırı duyarlı) gen alt grubunun aktivasyonu takip eder. Bu nedenle, Spm'nin patojenlere karşı savunma yollarını aktive etmek için bir sinyal iletmesi muhtemeldir. Bu yol "Spm-sinyal iletim yolu" olarak belirlenmiştir. Spm tarafında ne tür sinyal (ler) iletilebilir? Biri PAO tarafından Spm oksidasyonundan elde edilen H₂O₂ çünkü PAO inhibitörü *MDL72527*, sinyal yolunu blok eder. Bir diğeri Ca²⁺ girişidir, çünkü kalsiyum kanal blokerleri yolu zayıflatır, Spm, Ca²⁺ kanalını aktive edebilir. Kalsiyum kanal blokerleri yolunu zayıflatarak sperminin kendisini aktive edebildiği diğeri bir Ca²⁺

girişini mevcuttur (Yoda ve ark., 2006). Kısmen PA katabolizması tarafından H_2O_2 üretiminin neden olduğu oomiseite dayalı bir elisitör olan TMV enfeksiyonu veya kriptojenin neden olduğu *HR-spesifik* (aşırı duyarlı) hücre ölümünün olduğunu bildirmiştir. Onlar, H_2O_2 üretimi için PA substratının Spd olduğunu, sperminin olmadığını, çünkü HR nin meydana çıkışı sırasında sperminin olduğunu, apoplastlarda biriktiğini bildirmişlerdir. Biyotik strese maruz kaldığında bitkilerin bir savunma aracı olarak PA-katabolize H_2O_2 kullandıkları fikri diğer gruplar tarafından da tartışılmıştır. Spm'nin yüksek tuzluluk veya kuraklık gibi abiyotik stresdeki savunma rolü Spm üretmeyen mutant *Arabidopsis ACL5 / spms* ile gösterilir. Bu *Arabidopsis* Spm eksikliği olan mutant, yüksek NaCl konsantrasyonlarına ve kuraklığa karşı aşırı duyarlıdır ve bu fenotip, Spm ile muamele edildiğinde geri kazanılmıştır. Bu Spm eksikliği olan mutant bitki ayrıca Ca^{2+} eksikliği belirtileri de göstermiştir. Aşırı iyon duyarlılığı ve Ca^{2+} eksikliği semptomları, aşırı eksprese olmuş transgenik *AtGluR2* ve *CAX1*'i bitkilerinkilere benzer. Bu bitkilerin plazma membranında bir Ca^{2+} akış kanalı ve vakuolar Ca^{2+} / H^+ değişimi sırasıyla kodlanır. Bu bulgu, Spm'nin bulunmamasının Ca^{2+} ağının düzenlenmesine neden olabileceğini ve yüksek NaCl ve kuraklık stresine uygun bir adaptasyonun eksikliğine neden olabileceğini göstermektedir. Kuraklık koşulları altında Spm eksikliği olan mutant bitkiler yabancı tip bitkilerden daha fazla su kaybetmiştir. Bekçi hücrelerin sitoplazmadaki serbest Ca^{2+} değişimleri stomaların açılıp kapanmasında rol oynar. Spm içeren PA'ların stoma açıklığını inhibe ettiği, *Vicia faba*'nın bekçi hücrelerinin KAT1 benzeri voltaja bağlı iç K kanallarını düzenleyerek kapanmayı tetiklediği bildirilmiştir (Peiter ve ark., 2005). Vakuolar Ca^{2+} 'ya bağımlı Ca^{2+} serbest bırakma kanalının, bir SV kanalı olan iki porlu kanal 1 (*TPCI*) ile gösterilen, ve bir *tpc1* knockout mutantının işlevsel SV kanalı aktivitesi ve dış Ca^{2+} 'ye stoma cevabı olmadığını bildirmişlerdir. Birlikte ele alındığında, Spm'nin daha sonra stoma hareketini modüle eden Ca^{2+} geçirgen kanalları kontrol etmesinin mümkün olduğu anlaşılmıştır (Kusano ve ark. 2007).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Fesleğende Stres, Spermin ve Melatonin Uygulamalarına Ait Literatür Çalışmaları

Juliani ve Simon (2002), 5 yeşil ve 4 mor yapraklı fesleğen varyetesinin kuru örneklerinde antioksidan aktivite ve toplam fenol miktarını araştırmışlar, antioksidan aktivite trolox ile 199-562 g, AEAC yöntemi ile 254-803 µmol AA/g, toplam fenol miktarı ise 35.6-126.2 mg gallik asit/g olarak tespit edilmiştir.

Javanmardi ve ark. (2003), 23 İran fesleğeninin antioksidan aktivitesini ve toplam fenol miktarını araştırmışlardır. Toplam antioksidan aktiviteyi 10.8- 35.7 mM Trolox, toplam fenol miktarını ise kuru örneklerde 22.9 - 65.5 mg gallik asit/g arasında tespit etmişlerdir. Test edilen fesleğenlerin antioksidan aktivitesi ile toplam fenolik asit içeriği arasında doğrusal bir pozitif ilişki olduğu bulunmuştur. İran fesleğenlerinin gıda ve olası tıbbi kullanım için değerli antioksidan özelliklere sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Kireççi (2006), Fesleğen'nin (*Ocimum basilicum*) morfolojisine ve uçucu yağ kalitesine, giberellik asit (200, 400, 600, 1000 ppm), spermin, spermidin ve putresinin (0.25, 0.1, 0.5, 1, 10 mM) çeşitli konsantrasyonlarında etkisini incelemiştir. Fesleğen tohumlarına 24 saat süreyle farklı hormonlar uygulamış ve hiç uygulama yapılmayan kontrol grubu tohumları ile ekilerek fide haline gelen fesleğenler tarlaya belli aralıklarla şaşırtılmıştır. Fesleğenler çiçeklendiğinde hasat edilmiş ve analiz sonuçlarına göre birçok morfolojik özellikte uygulaması yapılan hormonlardan kontrole göre verimin yüksek olduğunu tespit etmiştir. Farklı hormonların bitki morfolojisine etkilerinin farklı olduğunu ve poliaminlerin GA₃'ten daha fazla etkili olduğunu bildirmiştir. Hormonların uçucu yağ oranlarına önemli bir etkilerinin olmadığını bildirmiştir fakat yağ içeriğindeki ana bileşen olan linalool miktarını önemli oranda etkilediğini gözlemlemiştir.

Nguyen ve Niemeyer (2008), azot gübresinin üç fesleğen varyetesinde toplam fenol ve antioksidan aktivite üzerine etkisini araştırmışlar, 0.1 mM azot uygulamasının iki varyetede toplam fenolik miktarını arttırdığı görülmüştür. Rozmarinik asit ve şikorik asit miktarları en fazla, en düşük konsantrasyondaki gübrelemeden elde edilmiştir. 5 mM azot uygulamasından en düşük antioksidan aktivite elde edilmiştir. Çalışılan bir varyetede antosiyanin miktarı azot uygulamalarından etkilenmezken, yetiştirme sezonundan

etkilenmiştir. Kùltürlerin antioksidan aktivite, toplam fenol miktarı, rozmarinik asit ve kafeik asit miktarlarına etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur.

Çelebi (2010), çalışmasında 15 ayrı aktardan alınan kuru fesleğen örneklerinin fenolik maddelerini HPLC yöntemi ile belirlemiş ve bu bileşiklerin miktar dağılımlarını incelemiştir. DPPH yöntemi ile fesleğen bitkisinin antioksidan aktivitelerini, spektrofotometrik yöntemle toplam fenolik madde tayinini belirlemiştir. Fesleğenlerde ağırlıklı nevadensin saptadığını bununla birlikte ladanein, pilosin, genkwanin, salvigenin, cirsilion ve apigeninini çeşitli oranlarda tespit edildiğini bildirmiştir. Bazı fesleğenlerin daha çok fenolik bileşik içerdiğini ve antioksidan aktivitelerinin daha yüksek bulunduğunu, genel olarak fesleğenlerdeki antioksidan farklılıklarının, fesleğen örneklerindeki fenolik bileşiklerin farklılığından kaynaklandığını bildirmiştir.

Kwee ve Niemeyer (2011), 15 fesleğen kùltürünün antioksidan özelliklerini ve toplam fenol miktarını araştırmışlar, kùltürün etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir. Rozmarinik asit, şikorik asit ve kafeik asit konsantrasyonları kùltürden etkilenirken, kaftarik asit miktarının etkilenmediği görülmüştür. 9 kùltürde şikorik asit, rozmarinik asitten daha fazla tespit edilmiştir. Diğer 6 kùltürde ise kafeik asit ve kafterik asit konsantrasyonları, rozmarinik asit konsantrasyonuna benzer ya da daha yüksek bulunmuştur. Kùltürler arasında DPPH ve FRAP antioksidan aktivitenin önemli farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, çalışmada fesleğen çeşitlerinde bireysel fenolik asit kompozisyonunun ölçülen antioksidan kapasiteyi etkileyen önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir.

Imen ve ark. (2012), bu çalışmada iki fesleğen türünü (*Ocimum basilicum* L. Genovese ve Fine) 15-30 gün boyunca 25 mM Na₂SO₄ ile muamele ederek ve normal şartlarda yetiştirerek antioksidan aktivitelerini ölçtüklerini bildirmişlerdir. Aynı zamanda aynı bitki materyallerinin fenolik asit içeriklerinin toplam antioksidan kapasiteye katkılarını değerlendirmişlerdir. Tuz stresi ve uygulama periyoduna bakılmaksızın, Genove çeşidinin Fine'a göre daha iyi bir antioksidan kaynağı olduğu bildirilmiştir. 15 günlük stres uygulamaları sonucunda tuzluluğun Fine türünde daha az stres oluşturduğu, antioksidan aktivitenin Genove'ya göre daha iyi bir artış gösterdiği ölçülmüştür. Böylece Genovese türünün Fine türünden daha iyi bir antioksidan kaynağı olduğunu belirlemişlerdir. Ek olarak Genovese ve Fine içindeki önemli fenolik asitler sabit kalsa veya tuzlulukla azalmış olsada hidrofilik antioksidan aktivitede artış gözlemlemişlerdir. Fesleğende bulunan fenolik asitler ile antioksidan aktivite arasında bir korelasyonun olmaması, diğer

antioksidan moleküllerin stres koşulları altında sentezlenmesi ile açıklanabilir sonucuna varmışlardır.

Koca (2013), çalışmasında sekonder madde sentezini artırmak amacı ile MeJA ile spermin, brassinosteroid ve fenilalaninin farklı konsantrasyonlarını fesleğen üzerine denemiştir. Çalışmada MeJA'nın 0,5 mM konsantrasyonu iki farklı konsantrasyonda spermin (0,1 mM; 1,0 mM), brassinosteroid (0,5 µM; 2,0 µM) ve fenilalanin (0,05 mM; 0,5 mM) öncülü ile beraber fesleğen tohumlarına 24 saat muamele edilmiştir. Çiçeklenme öncesi hasat edilen bitkilerin, morfolojik ve verim ile ilgili özellikleri gözden geçirilmiş; uçucu yağ analizi GC-MS cihazı ile, toplam fenolik, toplam flavonoid miktarı ve DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etkisi spektrofotometre cihazı ile, PAL aktivitesi, rozmarinik asit, şikorik asit ve kafeik asit miktarı ise HPLC cihazı ile ölçülmüştür. Çalışmadaki uygulamaların fesleğen bitkisinde, bitki başına düşen yaş ağırlık ve yaş yaprak verimi hariç morfolojik ve verim özellikleri üzerine etkisinin olmadığını bildirmiştir. Fesleğenin yaş yaprak verimi ve yaş ağırlığının ise kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu bildirmiştir. Toplam fenolik ve flavonoid değerleri en yüksek değerlerde 1,0 mM Spm+MeJA uygulamasında sırasıyla 6,75 mg GAE/g ve 0,92 mg KE/g olduğunu tespit etmiştir. Tüm uygulamalarda kafeik asit, şikorik asit ve rozmarinik asitin tespit edildiğini, uygulamalar sonucunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kafeik ve rozmarinik asitin önemli miktarda arttığını, şikorik asit miktarında önemli bir artış olmadığını bildirmiştir. Rozmarinik asit miktarı en yüksek 1,0 mM Spm+MeJA (2,70 mg/g) uygulamasından elde ettiğini, kafeik asit miktarında ise en yüksek 0,5 µM EBL+MeJA (0,102 mg/g) çalışmasından elde ettiğini bildirmiştir. DPPH yönünden çalışmalar arasında önemli farklar tespit ettiğini ve en yüksek değeri 1,0 mM Spm+MeJA (% 85,67) uygulamasında elde ettiğini bildirmiştir. Yüksek toplam fenolik ve flavonoid miktarı elde edilen Spm+MeJA kombinasyonları DPPH bakımından da yüksek etki gösterdiğini bildirmiştir.

Flanigan ve Niemeyer (2014), çalışmalarında 8 farklı çeşit mor fesleğende antosiyanin konsantrasyonlarını ve fenolik asit düzeylerinin üzerine kültür etkisini incelemişlerdir. 4 major antosiyanin belirlenmiş ve kültürün üçü üzerinde önemli bir etkisinin olduğu tespit edildiğini bildirmiş. Toplam fenolik seviyesine kültürün önemli bir etkisinin olmadığı fakat kaftarik ve şikorik asitleri gibi bireysel fenolik miktarlarını etkilediği görülmüştür. Toplam fenolik ve antosiyanin seviyeleri ölçülen FRAP antioksidan

kapasiteleri ile ilişkili olsa da, bazı kültürler için bireysel fenolik asit ve antosiyanin kompozisyonu da antioksidan özelliklerini etkileyen önemli bir faktör olarak belirlenmiştir.

Kayır (2014), çalışmasında 14 farklı yerden alınan reyhanlar Tokat, Bursa ve Eskişehir'de yetiştirilmiş çiçeklenme başlangıcı döneminde hasat edilerek hasat dönemlerindeki (vejetatif, çiçeklenme başlangıcı ve tam çiçeklenme) farklılığa bağlı olarak fenolik madde ve antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Bitki örnekleri içerisinde en fazla miktarda rozmarinik asit daha sonra sırasıyla şikorik, rutin ve kafeik asit olmak üzere 9 fenolik madde tespit edilmiştir. DPPH, FRAP ve ABTS antioksidan aktivitelerinin ekolojik koşullara göre genel olarak en yüksek miktarda Tokat ekolojisinde olduğu ve rozmarinik asitle korele olduğunu bildirmiştir. Hasat dönemi farklılıklarına göre ise DPPH, ABTS ve FRAP antioksidan aktivitelerinde önemli farklılıkların bulunmadığını, üç genotip dışındaki diğer genotiplerin dönemler arasında fenolik madde miktarlarının birbirlerine yakın olduğunu bildirmiştir. Rozmarinik asitin baskın olduğu ekolojide ve hasat zamanlarında antioksidan aktivitenin yüksek olduğunu bildirmiştir.

Bekhradi ve ark. (2015), çalışmalarında, tuz stresi altında yetiştirilen taze fesleğen (*Ocimum bacilicum* L.)'nin fizyolojik tepkilerini ve kalite özellikleri üzerindeki etkilerini incelenmişler. Bitkileri ekim sırasında 25 gün boyunca 40 ve 80 mM NaCl ile muamele etmişler, hasat sonrası iki yeşil genotip olan Green Iranian ve Genovese fesleğenlerini ile depolama sürecinde iki İran genotipi (yeşil ve mor) karşılaştırılmıştır. Tuz stresi altında iki İran çeşidinde verim ve gövde uzunluğunun önemli ölçüde azaldığı, tuzluluğun Green Iranian ve Genovese fesleğeninde yaprak kalınlığını ve parankima hücrelerinin alanını azalttığını bildirmişlerdir. Tuz konsantrasyonu arttıkça, Genovese genotipinde lipid peroksidasyonu artarken, terleme ve klorofillerin içeriğinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. 12°C'deki depolamada, strese maruz kalmış yapraklardaki solunum oranı ile kontrol grubu yapraklarının solunum oranı benzerlik göstermiştir. Mor İran fesleğeninin görsel kalitesi depolama sürecinde, Yeşil İran fesleğeninden daha iyi korunmuştur. Bununla birlikte, tuz stresi, Yeşil İran fesleğeninin görsel kalitesini olumlu yönde etkilemiş, kararmayı azaltmış, pazarlamadaki 7 günlük depolama limitinin üzerinde tutmayı sağlamıştır. Toplam fenolik asit içeriği ve antosiyanin miktarı büyüme koşullarına göre önemli bir farklılık göstermemiştir. Bununla birlikte, Yeşil İran fesleğeninin depolanması sırasında, tuz stresi, kontrole kıyasla bireysel ve toplam fenolik asitlerin içeriğini arttırmıştır. Özet olarak, tuz stresinin fesleğen üzerindeki olumlu veya olumsuz etkilerinin, farklı genotiplerin tolerans derecesine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Moghaddam ve Mehdizadeh (2015), 37 lokasyonda yetiştirilmiş 3 varyeteyi kapsayan 2 fesleğen türünün (*O.ciliatum*, *O. basicilum* var. *purpurascens*, *O. basicilum* var. *dianatnejadii*) toplam fenol, flavonoid ve rozmarinik asit miktarlarının varyasyonunu araştırmışlar. Sonuçlara göre varyasyonun önemli olduğunu gözlemişlerdir.

Kulak (2016), çalışmasında fesleğen tohumlarını salisilik asit (50 µM) ve saf su ile muameleden sonra çimlenme sonrası su stresine maruz bırakarak bitkide, salisilik asit ile ön uygulama yapılan bitkilerin Fv/Fm oranı, gövde çapı, su potansiyeli, kuru ağırlık, bitki başına düşen dal miktarı, sürgün uzunluğu, bitkilerin oransal su içeriği, ve yaprak miktarında önemli artışlar tespit etmiştir. Tarla kapasitesi, hasat zamanı, salisilik asit ön koşullandırılması ve saf su ile ön muamele gibi ögelerin bitkinin makro ve mikro element alımına yönelik olarak yapılan çoklu doğrusal regresyon analizine göre, tarla kapasitesi, hasat zamanı, salisilik asit ögeleri ile element alımları arasında önemli ilişkilerini belirlemiş, ancak saf su ile tarla kapasitesi ve hasat zamanı potasyum birikimi üzerindeki etkisi önemli bulunmamıştır. Tüm elementler (demir elementi hariç) için standartlaştırılmış regresyon katsayılarına göre bağımsız değişkenlerin, element alımı üzerindeki önem sırası; toprağın tarla kapasitesi, salisilik asit ve hasat zamanı olarak tespit etmiştir. Korelasyon analizi sonuçlarına göre bütün elementler arasında önemli ilişkiler bulmuştur. Bitkide su stresi mangan ile kalsiyum elementi hariç element alımını azaltmış fakat salisilik asit element alımını arttırmıştır. Yaprakta su stresinin fenolik ve flavonoid madde içeriği ile antioksidan aktiviteyi pozitif yönde etkilemiş olmakla beraber tohumlara uygulanan salisilik asit ön uygulama bu maddelerin bitkide çok daha fazla olumlu etkiye yol açtığını tespit etmiştir. Eugenol, cineol, linalool, ve α-bergamotene uçucu yağ maddeleri bütün uygulamalarda esas bileşen olarak tespit edilmiştir. Topraktaki suyun azalmasına bağlı olarak yapraklardaki protein içeriğinde de azalmalar olduğunu ve salisilik asit ön uygulamasıyla yapraklardaki protein içeriğinin arttığını tespit etmiştir. Elektroforez sonuçlarına göre, uygulamalar ile protein bant yoğunlukları ve miktarlarında önemli farklılıklar tespit etmiştir.

Genç (2016), çalışmasında 39 yerli ve 25 yabancı kökenli reyhan genotipini Tokat ekolojisinde yetiştirerek fenolik bileşik içeriğini ve antioksidan aktiviteyi incelemiştir. LC TOF/MS cihazı ile reyhan örneklerinde bireysel fenolik içeriğini belirleyerek, antioksidan aktiviteleri; FRAP, TEAC, DPPH yöntemleri ile total antioksidan aktivite ise spektrofotometre cihazı ile tespit edilmiştir. Reyhan örneklerinde miktarı fazla olan 6 fenolik bileşik belirlemiştir. Bunlar sırası ile rozmarinik asit (1133.47-18460.56 mg/kg),

rutin mg/kg, şikorik asit (12.46-3788.55) mg/kg, kaftarik asit, 4-hidroksibezoik asit ve kafeik asit (112.67-352.00 mg/kg) arasında bulunduğu belirlenmiştir. Antioksidan analiz sonuçlarına göre reyhan örneklerinin toplam antioksidan aktivitesini % 74.11-96.25 arasında bulunduğunu bildirmiştir.

Solmaz (2017), çalışmasında beş haftalık mor ve yeşil yapraklı reyhan bitkilerine 50 ve 100 mM tuz uygulayarak bitkide, fotosentetik pigment, hidrojen peroksit, peroksidaz, yaş ve kuru ağırlık, malondaldehit, DPPH aktivite, indirgeme gücü (FRAP), protein, prolin, süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz, süperoksit anyon giderme aktivitesi ve toplam fenolik miktarını araştırmıştır. Tuz stresinin mor ve yeşil yapraklı reyhanlarda karotenoid miktarını arttırırken yaş-kuru ağırlık, prolin, protein gibi stres değerlerini azalttığını, yeşil ve mor yapraklarda yüksek tuz konsantrasyonunda lipid peroksidasyonunun arttığını, genotipe ve tuz konsantrasyonuna bağlı olarak hidrojen peroksit miktarının değiştiğini bildirmiştir. Bitki genotiplerinde tuz stresinin SOD aktivitesini azalttığını, askorbat peroksidaz aktiviteyi arttırdığını, tuzluluğun mor reyhanda peroksidaz aktiviteyi arttırdığını yeşil reyhanda azalttığını, tuzluluk ile toplam fenolik maddenin mor reyhanda arttığını, yeşil reyhanda azaldığını, DPPH aktivitenin, indirgeme gücü (FRAP) tuzlulukla mor reyhanda artarken yeşil reyhanda azaldığını bildirmiştir. Mor ve yeşil reyhan bitkilerinde fenolik madde içerikleri ve miktarları birbirlerine göre farklı olduğu için tuzluluğa karşı antioksidan aktivitelerinin farklılık gösterdiğini bildirmiştir.

Kahveci (2018), triptofan (Trp), salisilik asit (SA), ve beta karoten (β -karoten)'nin farklı konsantrasyonlarında büyütülen fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkilerinin tuz stresine karşı verdiği tepkileri araştırmıştır. Tuz stresine maruz kalan tüm bitkilerin verim ve fizyolojik değerlerinde, kontrol grubuna göre düşüş gözlemlemiştir. Bitkiye uygulanan BBD'lerin tuz stresi altında büyüme ve verim parametrelerinde kontrol tuz grubuna göre artış sağladığını fakat klorofil miktarında önemli bir değişimin olmadığını bildirmiştir. GC MS/SPME ile yaptıkları uçucu bileşen analizinde kontrol grubunda ve BBD uygulamalarında linalool bileşeni ana madde olarak belirlenirken, 0,1 mM ve 0,25 mM Trp ve b-karoten uygulamalarında ana maddenin linalool+metil öjenol+eugenol olduğu, tuz stresine maruz kalan bitkilerde ise kontrol grubunda ana maddenin öjenol olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak tuz stresi konsantrasyona bağlı olarak Trp ve SA çalışmalarının bitkide büyüme ve verim parametrelerinde iyileşme sağladığını, farklı BBD uygulamalarının ve tuz stresinin uçucu maddelerinin kompozisyonunu değiştirdiği saptamıştır.

Avşar (2018), çalışmasında yeşil ve mor fesleğenleri sera ortamında yetiştirerek %75 ve %50 kuraklık uygulamış, ayrıca kuraklık + 1mM ve 10 mM fenilalanin uygulaması yapmıştır. Bu uygulamalar ile mor ve yeşil fesleğen yapraklarında fenilalanin ve kuraklık uygulamalarının bazı fizyolojik parametreler ile antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. Kuraklık uygulaması ile mor ve yeşil fesleğen genotiplerinde yaş ve kuru ağırlık miktarında azalma, protein içeriğinde kayıp, toplam klorofil, klorofil a, klorofil b ve karotenoid miktarlarında azalma, lipid peroksidasyonu ve hidrojen peroksit içeriğinde azalmaya sebep olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte peroksidaz (POD) aktivitesini azaltmasına rağmen süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini önemli oranda arttırdığı, yeşil yapraklı fesleğende toplam fenolik madde miktarını azaltmasına rağmen mor yapraklı fesleğen arttırdığını bildirmiştir. Kuraklık ve fenilalanin uygulaması toplam ve bireysel fenolik madde miktarlarını değiştirmesine bağlı olarak yeşil ve mor fesleğen genotiplerinde antioksidan aktivitenin farklılık gösterdiğini bildirmiştir.

Bahçesular (2018), çalışmasında, melatonin (1 ve 10 μ M)'nin iki farklı konsantrasyonunda yetişen mor yapraklı fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkilerinin tuz stresine karşı cevaplarını araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda büyüme değerlerinin tuz stresi şartlarında azaldığını, melatonin uygulamasının yaprak ağırlığı ve yaprak sayısı haricindeki verimlerde stresin etkisini giderdiğini bildirmiştir. Stres koşullarında fotosentetik pigmentlerden karotenoid miktarında artış, klorofil a, klorofil b, toplam klorofil parametrelerinde ise azalış olduğunu bildirmiştir. Tuz stresi etkisinin melatonin uygulaması ile azaldığını ve stresli gruplarda 10 μ M melatonin konsantrasyonunun ve kontrol grubunda ise 1 μ M melatonin konsantrasyonunun fotosentetik pigmentleri arttırdığını bildirmiştir. Fesleğenlerde tuz stresi altında yaprak oransal su içeriğinin azaldığını ve melatonin uygulamaları ile su alımını olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir. GC-MS/FID ile SPME analizleri sonucunda fesleğenin ana uçucu bileşenlerini eugenol, methyl eugenol ve linalool olarak belirlenmiş, kontrol grubunda en yüksek değere sahip olan linaloolün yerini, tuz uygulamalarında metyhl eugenol almıştır. Sonuç olarak melatonin bileşiğinin fesleğende tuz stresinin toksik etkilerini azaltmada önemli bir etkisi olduğunu bildirmiştir.

Chokami ve ark. (2019), Putresin, Spermin ve Spermidin'nin tuz stresi koşulları altında kalite ve fesleğen miktarına etkisini incelemişler, araştırma üç tekrarlı tesadüf blokları tasarımında faktöryel deney olarak yapılmış, uygulamalar 4 seviye tuzlulukta (0, 50, 100 ve 150 mM) ve 4 seviye konsantrasyonda putresin, spermin ve spermidinin (0, 50,

100 ve 150 mg/l) uygulanması ile gerçekleşmiştir. Sonuçlar, poliaminler, tuzluluk ve bitki boyu arasındaki konsantrasyon, taze/kuru sürgün ağırlığı, taze/kuru kök ağırlığı, taze/kuru yaprak ağırlığı, yaprak klorofil içeriği, katalaz, peroksidaz ve guaiacol peroksidaz antioksidan enzimleri, K/Na oranı, iyon iletkenliği ve prolin oranının % 1 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı etkileşimin etkilerini gösterdiğini, 150 mg/l spermidin ve düşük tuzluluk eşzamanlı olarak çalışılan tüm bitki özellikleri üzerinde olumlu bir etki yaptığını bildirmiştir. Sonuçlara göre 150 mM sodyum klorür konsantrasyonunun belirtilen özellikleri azalttığını bildirmiş, bununla birlikte, spermidinin bu durumu iyileştirdiği ve spermidin ile işlenmiş bitkilerde stres ve hasar semptomlarının daha az olduğunu bildirmiştir.

Danaee ve Abdossi (2019), çalışmalarında bazı poliaminleri fesleğenin yapraklarına spreyleyerek morfo-fizyolojik ve fitokimyasal özellikleri üzerine etkisini araştırmıştır. Çalışmalarında 10 grup içeren, 3 kez tekrarlı olarak 3 seviye 50, 100 ve 150 ppm spermin, spermidin ve putresin uygulamaları yapılmıştır. Sonuçlar, farklı seviyelerde spermin, spermidin ve putresinin püskürtülmesinin, sürgün ve kök taze ağırlığı, sürgün ve kök kuru ağırlığı ve uçucu yağ miktarı ($p < 0.01$) ve toplam yaprak klorofil miktarı ile C vitamini miktarında önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir ($p < 0.05$). 100 ppm spermidin uygulaması kontrol ve putresine göre sürgün ve kök taze ağırlığı, sürgün ve kök kuru ağırlığı ve esansiyel yağ miktarı gibi özellikleri arttırmıştır. 100 ppm yaprak klorofil ve C vitamini gibi özellikleri arttırmıştır. Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkisindeki fitokimyasal ve morfofizyolojik özellikler, farklı seviyelerde spermin, spermidin ve putresinin yaprak spreyi ile artmıştır. Spermidin ve 100 ppm putresin püskürtülmesi, kontrol ile karşılaştırıldığında tüm parametrelerin özelliklerini geliştirmiştir.

Duran ve ark. (2019), *Ocimum basilicum* L.'da (fesleğen) kallus gelişimi ve fenolik bileşik üretimi üzerine melatoninin etkisini araştırmışlardır. Yaprak eksplantlarından türetilen kalluslar, 0, 100 veya 200 μM melatonin eklenmiş MS ortamında büyütülmüş, daha sonra fenolik içeriklerinin belirlenmesi için ekstre edilmiştir. Melatonin, her iki konsantrasyonunda da kallus gelişimini azaltmıştır. Fitokimyasal analizlere göre, en yüksek toplam fenolik asit içeriği sadece MS ile indüklenen kalluslarla karşılaştırıldığında ($192.0 \mu\text{g/g}^{-1}$) 100 ve 200 μM melatonin takviyeli ortamda yetiştirilen kalluslarda (sırasıyla $784.6 \mu\text{g/g}^{-1}$ ve $335.2 \mu\text{g/g}^{-1}$), kaydedilmiştir. Kalluslarda tespit edilen beş fenolik asit arasında, rozmarinik asit ana bileşen olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 100 μM melatonin besiyerinde yetişen kalluslarda rozmarinik asit miktarı

yaklaşık 5 kat artmıştır. Fesleğen kalluslardaki ana uçucu bileşenler 3-metilbütanal, benzaldehit, 1,8-sineol, 2-nonenal, öjenol ve metil öjenol olarak tespit edilmiş ve bunlar % 4 ila 14, % 24 ila 50, % 2 ila 3, % 0 ila 0,55 ve % 2 ila 17 arasında belirlenmiştir.

Scagel ve ark. (2019), İki fesleğen çeşidi [(*Ocimum basilicum* L. 'Sweet Broadleaf' (SB) ve 'Siam Queen' (SQ))], yapraklarında fenolik ve elementel bileşiminin tuzluluk tarafından değişimini incelemek amacıyla dört farklı NaCl (Kontrol, Düşük 10-50 mM, Orta 20-100 mM ve Yüksek 30-200 mM) konsantrasyonunda 71 gün boyunca hidroponik olarak yetiştirilmiştir. Hidroponik çözeltideki tuzluluk, en yüksek NaCl seviyesinde 20 dS m⁻¹'e kadar denenmiştir. Tuzluluğun, yaprak rengi veya bitki ölümleri üzerinde hiçbir etkiye sahip olmadığı ve deney sırasında minimal yaprak nekrozunun meydana geldiği görülmüştür. Kontrollerle karşılaştırıldığında, NaCl yaprak biyokütlesini sadece en yüksek tuzluluk seviyesinde azaltmıştır. Tuzluluk, yapraklardaki K konsantrasyonlarını arttırmış ve bitkiler, genellikle Na'yı, en yüksek NaCl seviyesi hariç, yapraklardan içeri almamıştır. Fesleğen yaprağındaki polifenolik ve besin bileşimini değiştiren tuzluluk seviyelerinin verimi etkileyenlerden (yaprak biyokütlesi) daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Her iki çeşitte de, tuzluluk, bazı kafeik asit türevlerinin, kafetarik asit, sinnamil malik asit ve ferüloil tartarik asitin yaprak konsantrasyonlarını ve azalan şikorik asit konsantrasyonlarını arttırmıştır. SB çeşidinde tuzluluk, kuersetin-rutinosid ve rozmarinik asit gibi iki majör polifenoliğin yapraktaki konsantrasyonlarını arttırmış, buna karşılık, SQ yapraklarındaki rozmarinik asit konsantrasyonlarını azaltmıştır. Tuzluluğun, Na, Cl, K ve Mg dışındaki elementlerin yaprak konsantrasyonları üzerindeki etkileri, tuzluluğun polifenolikler üzerindeki etkileriyle doğrudan ilişkili bulunmamıştır. Fesleğen biyokütle verimini etkilemeyen tuzluluk seviyelerinin kalite için önemli olan bazı polifenoliklerin verimini olumsuz yönde etkileyebileceği anlaşılmıştır.

2.2. Bazı Bitkilerde Stres, Spermin ve Melatonin Uygulamalarına Ait Literatür Çalışmaları

Chattopadhyay ve ark. (2002), Ekzojen poliaminlerin, tuz stres altındaki pirinç (*Oryza sativa*) bitkileri üzerindeki koruyucu rolünü araştırmışlardır. Tuz toleranslı Pokkali pirinç bitkileri, tuzluluk stresine cevap olarak spermidin (Spd) ve spermin (Spm) gibi daha yüksek poliaminler (PA) biriktirirken, hassas kültür M-1-48 benzer koşullarda bu PA'ların yüksek titrelerini tutamamıştır. Triamin Spd ve tetramin Spm'nin, 12 günlük pirinç fidelerinde fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler üzerindeki etkileri, hassas bitkileri

stres etkilerinden koruyabileceklerini belirlemek için tuzluluk stresi sırasında araştırılmıştır. Fizyolojik konsantrasyonlarda Spd ve Spm, elektrolitlerin ve amino asitlerin tuzluluk stresi ile indüklenen kök ve sürgünlerden sızmasını önemli ölçüde önlemiştir. Farklı derecelerde klorofil kaybı, fotosentezin fotokimyasal reaksiyonlarının inhibe edilmesinin yanı sıra, *psbA*, *psbB*, *psbE* ve *rbcL* gibi kloroplast ile kodlanmış genlerin indirgenmiş, tuz toleransı ve pirinçte yüksek PA'ların birikmesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Tuzluluk stresinin inhibe edici etkisi ve ekzojen PA'lar tarafından tersine çevrilmesi, tuza duyarlı M-1-48 bitkilerde, toleranslı Pokkali bitkilerinden daha belirgin gözlenmiştir.

Roychoudhury ve ark. (2011), çalışmalarında NaCl toksisitesini hafifletmek ve üç pirinç çeşidinde (M-1-48 (tuza duyarlı), Nonabokra (tuza toleranslı) ve Gobindobhog (son derece hassas) kısa süreli tuzluluk toleransını indüklemek için, spermidin (Spd) ve sperminin (Spm) yani ekzojen olarak uygulanan poliaminlerin (PA) karşılaştırmalı koruyucu potansiyelini araştırmışlardır. Kök uzunluğunda gecikme veya sürgün uzunluğu ve toksik Na⁺ birikimi veya K⁺ kaybı, malondialdehit / H₂O₂ birikimi veya lipoksijenaz aktivitesinde önemli artış gibi değişimler M-1-48 ve tuzluluk stresi sırasında Gobindobhog'da özellikle dikkat çekici olarak görülmüş, Spd veya Spm uygulandığında büyük ölçüde azaltılmıştır. Her iki PA da tüm çeşitlerde tuz kaynaklı protein karbonilasyonunun derecesini ve özellikle Gobindobhog'da proteaz aktivitesini arttırmış, Nonabokra ve Gobindobhog'da klorofil bozulmasının önlenmesi Spd ile daha iyi olmuştur. Antosiyaninde tuza bağlı artış veya azalan şeker seviyesi, tüm çeşitlerde Spd veya Spm tarafından daha da arttırılırken, prolin içeriği, özellikle Gobindobhog'da Spd tarafından arttırılmıştır. Tuzluluk stresi sırasında, her iki PA, M-1-48 ve Gobindobhog'da putresin birikimini düşürmede ve en yükseği Gobindobhog'da olan tüm çeşitlerde Spm seviyesini çarpıcı şekilde arttırmada etkili bulunmuştur. Ek olarak, peroksidazların aktivitesini arttırmış ve tüm çeşitlerde katalaz aktivitesindeki azalmayı telafi etmişlerdir. Böylece, iki PA, üç çeşidin hepsini de tuz kaynaklı hasarlardan farklı derecelerde toplayabilmiştir. Her ikisi de tuzluluk stresine daha fazla duyarlılık gösteren M-1-48 ve Gobindobhog'da karşılaşılan tuz yaralanmaları, tuzlara toleranslı Nonabokra'dan daha belirgin şekilde hafifletilmiş ve önlenmiştir. Tuzluluk stresinin inhibe edici etkisinin tersine çevrilmesi, büyüme inhibisyonunun veya çeşitli hücrel hasar biçimlerinin önlenmesi, uygun K⁺ / Na⁺ dengesinin sürdürülmesi veya osmolit seviyesinin ve antioksidan enzimlerinin aktivitesinin tetiklenmesi ile sağlanmıştır.

Shu ve ark. (2012), ekzojen spermidinin (Spd, 1 mmol·L⁻¹) fotosentetik özellikler, ksantofil döngüsü bileşenleri ve endojen poliaminler üzerindeki etkileri, tuz stresine maruz kalan salatalık fidelerinde (75 mmol·L⁻¹ NaCl) araştırmışlardır. Salatalık fidelerinin klorofil içerikleri ve net fotosentetik oranı (PN), tuzluluk altında önemli bir düşüş göstermiş ancak ekzojen Spd uygulaması ile bir artış görülmüştür. Tuz stresi, yapısal kayıp işlemlerinde (Φ NO) bir artış gözlenen maksimum kuantum verimliliğinde (F_v / F_m) ve fotosistem II'deki (Φ PS II) fiili verimlilikte kayda değer bir düşüşe neden olmuş, ekzojen Spd uygulaması, tuzlu bitkilerde, Φ NO'yu önemli ölçüde azaltmış ve düzenlenmiş fotokimyasal olmayan enerji kaybını (Φ NPQ) arttırmıştır. Spd uygulaması, ksantofil döngüsü havuzu (VAZ) boyutunda bir artışa neden olmuş, dahası tuz stresi altında ksantofil döngüsü (DEPS)'nin daha da epoksidasyonunu arttırmıştır. Bu sonuçlar, Ksantofil döngüsüne bağlı olan enerji dağılımının daha fazla katılımıyla ekzojen Spd'nin fotosentetik verimdeki tuz aracılı düşüşü hafiflettiğini göstermiştir. Ek olarak, spermidinin yapraklara spreysi, tuz stresi altındaki bitkilerin yapraklarındaki serbest, bağlı ve konjuge poliaminleri önemli ölçüde arttırmıştır. Spd ayrıca serbest putresin (Put) / (Spd + Spm) oranını arttırmış ve bağlı ve konjuge Put / (Spd + Spm) tuzluluk altında azaltmıştır. Bu nedenle, Spd'nin, tuz stresli bitkilerin PSII'sinin fotokimyasal etkinliğinde bir iyileşme ile ilişkili olan endojen poliaminlerin seviyelerini düzenleyerek salatalık fidelerinde tuza bağlı hasarı azaltabileceği sonucuna varılmıştır.

Koç ve ark. (2014), çalışmalarında tuz stresi altında biberin fide büyümesi (radikula ve hipkotil uzunluğu, taze ve kuru ağırlık) ve tohum çimlenmesi üzerine dışsal poliaminler (spermin ve putresin)'in etkisini araştırmışlardır. Artan tuz seviyesi çimlenme üzerinde önemli bir azalışa neden olmuş ($p < 0.05$), 0.01mM Spm ve 0.01mM Put ve 1mM Put stresli gruplarda fide büyümesini arttırmıştır. Tüm Spm konsantrasyonları Put'la karşılaştırıldığında daha etkili bulunmuştur.

Kostopoulou ve ark. (2015), çalışmalarında 30 gün boyunca 0.50 mM AsA, 1 μ M Mel ekzojen uygulamasının ve bunların kombinasyonunun (AsA + Mel) 100 mM NaCl altında yetişen *Citrus aurantium* L. fidelerinin yaprak ve köklerinde çeşitli stres tepkileri üzerine etkisi araştırmışlardır. AsA, Mel veya AsA + Mel'in tuzlu su çözeltisine uygulanması, NaCl'nin neden olduğu elektrolit sızıntısını ve lipid peroksidasyonunu azaltmış ve NaCl ile ilişkili toksisite semptomlarını ve pigmentlerin bozulmasını önlemiştir. Ayrıca, birleşik AsA + Mel uygulamasına maruz bırakılan yapraklar düşük Cl⁻ birikimi göstermiştir. AsA ve / veya Mel ile yapılan uygulamalar tek başına NaCl ile

karşılaştırıldığında SOD, APX, POD, GR ve PPO aktivitelerinin yanı sıra karbonhidrat, prolin, fenol, glutasyon ve dokuların toplam antioksidan gücünü modüle etmiştir. Yaprakların ve köklerin kimyasal işlemlere ve özellikle birleştirilmiş AsA ve Mel uygulamasına maruz bırakılması, şeker metabolizmasının, iyon homeostazinin ve transkripsiyon düzenlemesinin AsA ve Mel tarafından tetiklendiğini gösteren *CaMIPS*, *CaSLAH1* ve *CaMYB73* ekspresyonunu düzenlemiştir. Bu sonuçlar, birleştirilmiş AsA ve Mel uygulamasıyla ilişkili metabolik yolların aktivasyonunun, turuncgil bitkilerinde tuz adaptasyonu ile bağlantılı olduğuna dair kanıt sağlamıştır. Mel uygulaması toplam fenol miktarını yaprakta kontrole ve kontrol tuz grubuna göre arttırmış, kökte ise kontrole göre azaltırken, kontrol tuza göre arttırmıştır.

Saeidnejad ve ark. (2016), çalışmalarında tuzluluk (0, 100 ve 200 mM NaCl) ve spermin (Spm) konsantrasyonunun (0, 0.5 ve 1 mM çözeltisi) duyarlı (Sepahan) ve toleranslı (Neyshabour) buğday kültürlerinin fizyolojik performansı üzerindeki etkileşimli etkilerini değerlendirmişlerdir. Prolin birikimi Spm'den daha fazla tuzluluktan etkilenmiştir. Klorofil a ve b içeriği Spm uygulaması ile tamamen iyileştirilmiştir. Katalaz ve askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi genellikle tuzluluk ve Spm seviyesinin arttırılmasıyla artmıştır. Hem toleranslı hem de hassas kültür çeşitlerinde en yüksek APX aktivitesi 200 mM tuzlulukta ve en yüksek Spm konsantrasyonunda gözlenmiştir. Superoksit dismutaz aktivitesi her iki kültürde de artan tuzluluk seviyesi artmış ve uygulanan Spm konsantrasyonu ile artış göstermiştir. Tuzluluk koşullarında daha yüksek Spm seviyeleri, Spm uygulaması olmayan gruba kıyasla daha yüksek glutasyon redüktaz (GR) aktivitesi gösterirken, normal şartlarda GR aktivitesini azaltmıştır. Spm uygulaması her iki kültürün bütün tuzluluk seviyelerinde sodyum içeriğini azaltmış, ancak benzer bir eğilim göstermemiştir. Uygulanan Spm'nin daha yüksek konsantrasyonu da potasyum içeriğini arttırmıştır. Özetle, Spm uygulaması tuzluluk stresinin esas olarak antioksidan savunma yoluyla tehlikeli etkilerini hafifletmiş ve bu toleranslı çeşitlerde daha belirgin olarak görülmüştür.

Orabi ve ark. (2017), Piridoksin ve sperminin (her biri 50, 100 ve 200 mg / L'de) limonotu bitkisinin büyümesi, esansiyel yağ verimi ve temel bileşenleri üzerindeki etkisini araştırmışlar, tüm uygulamalar *Cymbopogon citratus* L.'da önemli ölçüde bitki boyunu, taze ve kuru kütleyi (g / bitki) arttırmış, özellikle de çoğunlukla ikinci hasatta toplam azot, toplam fosfor ve toplam potasyumda en yüksek artışlar 100 mg / L spermin, ardından 200 mg / L piridoksin de kaydedilmiştir. Toplam fenoller, uçucu yağ % ve yağ verimi, spermin

muameleleri ve ardından piridoksin ile maksimum artışları kaydetmiştir. 100 mg / L spermin ile muamele edilen bitkilerde en yüksek sitronellol yüzdesi (% 51.20) elde edilmiş, oksijenli bileşikler, 200 mg / L spermin uygulaması ile en yüksek değeri (% 89.70) verirken, maksimum oksijenlenmemiş bileşikler kontrol grubu (% 13,65) bitkilerinden elde edilmiştir. Tüm uygulamalar DPPH antioksidan aktiviteyi etkilemiş, 100 mg / L spermin uygulanmasında fenilalanin amonyum liyaz (PAL) enzim aktivitesinden yüksek artış kaydedilmiştir.

Darvizheh ve ark. (2018), çalışmalarında sulama şekilleri ve spreyleme yolu ile salisilik asit (SA) ve spermin (Spm) uygulamasının ekinezya çiçeğinin esansiyel yağı (EO) ve kafeik asit türevleri (şikorik asit, ekinosid, klorojenik asit, kaftarik asit ve sinarin) içerikleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Su eksikliği yaprak ve çiçeklerde uçucu yağ içeriğini arttırmış, bununla birlikte, bazı durumlarda yaprak, çiçek ve köklerdeki kafeik asit türevlerinin içeriği artarken, diğer durumlarda su seviyesine ve bitki organına bağlı olarak kafeik asit bileşiği su stresi altında azalmıştır. SA ve Spm uygulaması tüm sulama rejimlerinde yaprak ve çiçeklerde uçucu yağ içeriğini azaltmıştır. Bununla birlikte, SA ve Spm'nin uygulanması, bütün bitki organlarındaki kafeik asit türevlerinin içeriğini arttırmış ve en yüksek değişiklikler, SA ve Spm kombinasyonundan elde edilmiştir. SA'nın etkileri konsantrasyona bağımlı bulunmuş, SA'nın kafeik asit türevleri üzerindeki pozitif etkileri, Spm'ne kıyasla daha fazla olarak tespit edilmiştir.

Bistgani ve ark. (2019), farklı NaCl konsantrasyonları (0, 30, 60 ve 90 mM) kullanılarak tuzlu sulama ile *Thymus vulgaris* ve *Thymus daenensis*'in büyüme, fizyolojik özellikler, fenolik bileşikler ve antioksidan aktivite üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sonuçlar, 60 ve 90 mM NaCl konsantrasyonlarının, kontrol bitkilere kıyasla, bitki kuru madde üretimini *T. vulgaris*'te yaklaşık % 28 ve 40, *T. daenensis*'te % 34 ve % 39 azalttığını göstermiştir. NaCl uygulaması sürgünlerde ve yapraklarda Na⁺ içeriğinde bir artışa neden olurken, K⁺ ve Ca²⁺ içerikleri tuzluluk stresi ile azalmıştır. Toplam fenolik içeriği, kontrol bitkilerine kıyasla 60 mM NaCl uygulamasından sonra yaklaşık % 20 artmıştır. Ayrıca, sırasıyla 60 ve 90 mM NaCl uygulanmasından sonra, tuz stresi koşulları altında yetiştirilen bitkilerde yaprak flavonoid içeriğinde % 38,6 ve % 36,6 oranında bir artış gözlenmiştir. Araştırılan her iki tür de fenolik asitler, flavonoidler ve fenolik monoterpenler bakımından zengin bulunmuş, sinamik asit, her iki türün ana bileşeni olarak belirlenmiştir. Bu bileşik, kontrol ile karşılaştırıldığında 60 mM NaCl uygulanmış, *T. vulgaris*'te % 31.4 artmıştır. 60 ve 90 mM NaCl konsantrasyonları, *T. vulgaris* (sırasıyla %

25 ve 31.6) ve *T. daenensis* (sırasıyla % 20.4 ve 27.6) içindeki gallik ve rozmarinik asit miktarını önemli ölçüde arttırmış, *T. vulgaris*'teki kafeik, syringic ve vanilik asitlerin içeriğini önemli ölçüde değiştirmemiştir. İlginç olarak *T. vulgaris*'te daha yüksek miktarda klorojenik asit (% 4.4 artış) kontrol grubunda bulunurken, *T. daenensis*'te tuzluluk stresi yoğunlaştığında bu bileşik artmıştır. Ayrıca, tuzluluk stresi, bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini önemli ölçüde etkilemiştir.

Ekinci ve ark. (2019), Poliaminlerin tuz stresi altında (0, 50 ve 100 mM NaCl) yetiştirilen biber fidelerinde bitki büyümesi, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkilerini belirlemek için, putresin (Put), spermin (Spm) ve spermidin (Spd) fidelere yapraktan uygulanmıştır. Tuz konsantrasyonu arttıkça, bitki boyu, gövde çapı, yaprak sayısı, klorofil değeri, bitki ve kök taze ve kuru ağırlığı ve yaprak bağıl su içeriği azalmış, ancak doku elektrik iletkenliğinde bir artış meydana gelmiştir. Poliamin uygulamaları tuz stresindeki biber fidelerinde incelenen parametreleri iyileştirmiş, tuz stresinin olumsuz etkilerinin biber fidelerine ekzojen uygulanan poliaminlerle hafifletilebileceği belirlenmiştir.

Darvizheh ve ark. (2019), tarla koşullarında su stresi altında mor koni çiçeklerine (*Echinacea purpurea* L.) salisilik asit ve sperminin yapraktan uygulamasına cevap olarak bazı antioksidan enzimlerindeki ve fizyolojik endekslerindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Bu çalışmada ekinezya çiçeklerinin antioksidan enzimler katalaz (CAT), peroksidaz (POX), askorbat peroksidaz (APX) ve süperoksit dismutaz (SOD), kuru kütle (SDM), klorofil (Chl), karotenoid (Caro), prolin (Pro), toplam fenol, flavonoid ve Malondialdehit (MDA) miktarları sulama rejimlerinin (% 20, 40 ve % 60 toprak su tükenmesinden sonra sulama) ve SA ve Spm uygulamaları (sprey yok, 75 mg L⁻¹ SA, 150 mg L⁻¹ SA, 70 mg L⁻¹ Spm, 75 mg L⁻¹ SA + 70 mg L⁻¹ Spm ve 150 mg L⁻¹ SA + 70 mg L⁻¹ Spm) ile araştırılmıştır. Su eksikliği enzimlerin aktivitelerini ve karotenoidlerin, prolin, MDA, fenol ve flavonoid içeriğini arttırırken, klorofil içeriğini ve kuru kütle miktarını azaltmıştır. Sonuçlar üreticilerin, kuraklık stresi altında mor koni çiçeğinin üretkenliğini arttırmak için SA ve Spm kullanabileceğini göstermektedir.

Sarrou ve ark. (2015), melatonin (MEL), gibberellik asit (GA) ve salisilik asit (SA) uygulamaları ile Acı portakal (*Citrus aurantium* L.) 'da meydana gelen biyokimyasal değişiklikleri incelemişler, MEL, GA ve SA'nın esansiyel yağ (EO), toplam fenolik (TPC) ve toplam flavonoid içeriği (TFC) üzerindeki etkisini ve acı portakal yapraklarının antioksidan aktivitesini 1 yıllık bitkiler üzerinden incelemişlerdir. 15 µM MEL, 1 mM SA

ve 1.44 mM GA, yaprak metanolik özütlerinin toplam yaprak fenolik ve flavonoid içeriğini ve FRAP ve DPPH aktivitesini arttırmıştır.

Xu ve ark. (2017), çalışmalarında ekzojen melatonin (MT) uygulamasının üzüm meyvesi metabolizması üzerindeki birincil etkilerini değerlendirmiştir. Ekzojen MT uygulaması, endojen MT içeriğini ve modifiye meyvenin olgunlaşmasını arttırmıştır. Transkriptomik analizler, polifenol metabolizması, karbonhidrat metabolizması ve etilen biyosentezi ve sinyalleme işlemlerinin MT uygulaması üzerine en önemli üç değişik biyolojik işlem olduğunu ortaya koymuştur. MT uygulamasının meyvelerdeki toplam antosiyanin, fenol, flavonoid ve proantosiyanidin içeriğini arttırdığı görülmüştür. Ek olarak, tespit edilen 22 ayrı fenolik bileşiğin 18'inin içeriği MT uygulaması ile geliştirilmiş; özellikle resveratrol içeriği, STS gen ekspresyonunun yukarı regülasyonu ile birlikte büyük ölçüde arttırılmıştır. MT uygulaması meyvelerin antioksidan kapasitesini arttırmış, etilen'in üzümde MT uygulaması altında polifenol metabolizması ve antioksidan kapasitenin düzenlenmesine katıldığı belirtilmiştir. Sonuç olarak MT, polifenol içeriğini ve üzüm meyvelerinin antioksidan kapasitesini kısmen etilen sinyalizasyonu yoluyla arttırmıştır.

Farouk ve Al-Amri (2019), çalışmalarında biberiye bitkisinde, ekzojen melatonin uygulaması ile arsenik tolerans modülasyonu sağlayarak sekonder metabolit üretimini arttırmak, antioksidan kapasitenin aktifleştirilmesi ve iyileştirilmiş kloroplast altyapısının oluşturulmasını amaçlamışlardır. Arsenikli veya Arseniksiz MEL'in ekzojen uygulaması, sırasıyla kirli veya kirli olmayan muamele ile ilgili olarak büyüme, fotosentetik pigment, iyon konsantrasyonu, organik osmolitler ve ayrıca uçucu yağ verimini önemli ölçüde arttırmıştır. MEL uygulaması, hücre zarı bütünlüğünü regüle etmiş, oksidatif bozulma kriterlerini bastırmış, arttırılmış antioksidan kapasiteyi arttırmış ve ayrıca antioksidan enzimleri regüle etmiştir. 50 µM MEL'in uygulanması, antioksidan aktivitelerini ve osmoregülasyon kapasitelerini güçlendirerek bitkilerin Arsenik stresine dayanmalarına yardımcı olabileceği bildirilmiştir

Wei ve ark. (2019), UV-B radyasyonuna cevaben melatoninin potansiyel rollerini araştırmak için, ekzojen melatoninin iki UV-B radyasyonu altındaki *Malus hupehensis* Rehd fideleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. UV-B stresi altında, fideler bitki büyümesinde, biyokütle üretiminde ve kök sistem gelişiminde önemli azalma göstermiştir. Bununla birlikte, 1 µM melatonin çözeltisi, özellikle yüksek UV-B radyasyon dozajında, bu etkileri belirgin şekilde hafifletmiştir. UV-B radyasyonunun fotosentetik parametreler,

klorofil floresans parametreleri, stoma açıklıkları, klorofil seviyeleri ve yaprak zarı hasarları üzerindeki inhibitör etkileri de melatonin uygulaması ile belirgin şekilde hafifletilmiş, Melatonin uygulaması ayrıca, daha yüksek aktiviteye ve antioksidan enzimleri kodlayan genlerin (askorbat peroksidaz, katalaz ve peroksidaz) ekspresyonu ve UV-B' ye maruz bırakılan yapraklardaki H₂O₂ içeriğinin daha fazla azalmasıyla da ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, ekzojen melatonin uygulaması ve UV-B stresi, endojen melatonin konsantrasyonunu arttırmıştır. Klorojenik asit, phloridzin ve kersetin-3-galaktosid dahil olmak üzere bazı fenolik bileşiklerin içeriği de UV-B stresi altında artmıştır ve bunlar melatonin ilavesiyle daha da yükselmiştir. Bu çalışma, UV-B stresine cevap olarak endojen melatoninin rolleri hakkında bilgi vermiş ve ekzojen melatoninin tarıma uygulanması konusunda fayda sağlamıştır.



3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Denemede bitkisel materyal olarak ticari olarak satılan Vilmorin marka mor yapraklı fesleğen tohumu kullanılmıştır. Fesleğen bitkisinin ekonomik, ticari, gıda ve tıbbi öneminin yanında dünyanın önemli uçucu yağ içeriğine sahip olan bitkilerden biri olması, tek yıllık olması, kolay yetiştirilebilmesi gibi özelliklerinden dolayı bitkisel materyal olarak seçilmiştir.

3.2. Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) Bitkisinin Taksonomik Sınıflandırılması

Alem	: Bitkiler
Bölüm	: Kapalı Tohumlular
Sınıf	: İki çenekliler
Alt sınıf	: Asteridae
Takım	: Lamiales
Family	: Lamiaceae
Cins	: <i>Ocimum</i>
Tür	: <i>Ocimum basilicum</i> L.

3.3. Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) Bitkisinin Özellikleri

Fesleğen (*Ocimum basilicum*), ballıbabagiller (Lamiaceae) familyasından tek yıllık ve genellikle ılıman bölgelerde yetişen bir bitki türüdür. Kökeni Güney Asya özellikle Hindistan'dır. Tek yıllık otsu çalı formunda bir bitkidir. Morfolojik özellikleri ve kimyasal içerikleri bakımından *O. bacilium* L. türü geniş varyasyon göstermektedir. Bu bitki ırkları önemli uçucu yağlarından ve hoş kokularından dolayı parfümeri, ilaç, gıda ve baharat endüstrisinde kullanılmaktadır (Telci, 2005). Fesleğen değerli bir baharat ve uçucu yağ bitkisidir. Ekonomide kullanılan kısmı yapraklarıdır. Fesleğen uçucu yağında antimikrobiyal, böcek öldürücü, nematisidal, mantar öldürücü ve antioksidan etkilerine sahiptir (Baydar, 2013).

3.4 Kullanılan kimyasallar

- Gallik asit (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Folin& Ciocalteu's phenol reagent (FCR) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Metanol (Sigma-Aldrich)
- Etanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Formik asit (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Sodyum karbonat (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Melatonin M5250 powder, $\geq 98\%$ (TLC) (Sigma)
- Spermin ($\geq \% 97$) Sigma, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Kafeik asit, ($\geq \% 98$) Sigma, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Rozmarinik asit, (HWI) Analytik GmbH, Pharma solutions, Germany
- Şikorik asit, $\geq \% 95$ (HPLC), Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), $\% 95$, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Kuersetin, Sigma-Aldrich, St. Louis, U
- BHT (Butylated hydroxytoluen)
- Asetonitril, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA

3.5. Kullanılan cihazlar

- Ultrasonik banyo, United Jewelry Tool Supplies
- Santrifüj, Hettich Zentrifugen Micro 220 R, Germany
- HPLC cihazı, Agilent, Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA
- Hassas terazi, Kern & Sohn GmbH, Germany
- Ultra derin dondurucu, New Brunswick Scientific U570 Premium, ENGLAND
- Spektrofotometre Agilent Cary 60 UV-Vis
- Evaporatör

3.6. Metod

3.6.1. Fesleğen tohumlarına BBD (Bitki Büyüme Düzenleyicileri) uygulama süreleri

Çalışmada fesleğen tohumları farklı konsantrasyonlarda melatonin ($1\mu\text{M}$, $10\mu\text{M}$) ve spermin ($0,1\text{mM}$, 1mM) çözeltilerinde ve kontrol grubu olarak saf suda 24 saat bekletilmiştir.

İşlem gören fesleğen tohumları bir uygulama için 20 adet saksıya, her saksıda 4 adet tohum olacak şekilde ekilmiştir. Bitkiler 4-5 adet gerçek yaprağa sahip olduklarında stres uygulamalarına başlanmış, birer hafta süre ile kademeli olarak artan (25, 50, 75, 100 mM) tuz konsantrasyonları kullanılmıştır (Kahveci, 2016).

3.6.2. Bitkilerin büyüme ortamları ve tuz stresi uygulamaları

Fesleğen bitkileri; KSÜ-Üniversite Sanayii Kamu İşbirliği Merkezi (ÜSKİM)'e ait iklimlendirme odasında 24°C sabit sıcaklıkta, 16 saat ışık ve 8 saat karanlık ortamda yetiştirilmiştir.

Tohumlar ekimden önce %1 lik Sodyum hipoklorid ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş ve 24°C'de 24 saat süre ile melatonin (1, 10 µM) ve sperminin (0.1, 1 mM) farklı konsantrasyonlarında tohumla inkübe edilmiştir. Ekime hazır olan fesleğen tohumları, bitkinin fazla su kaybetmesini önlemek için tabanına kurutma kâğıdı serilerek, içerisinde 2:1:1 oranında sırasıyla torf, kum, toprak karışımı bulunan plastik saksılara ekilmiştir. İlk ekim tarihi 16 Kasım 2016'dır. Ekilen tohumlar iki güne bir sulanmıştır. 19 Aralık 2016'da çıkan fidelerden çalışmaya uygun olmayanlar çıkarılmış ve her bir saksıda bir fide kalacak şekilde büyüme bırakılmıştır.

Bitkiler iki gerçek yaprağa sahip oldukları andan hasada kadar iki haftada bir 100 ppm'lik sıvı gübre (20 N+20 P+20 K+mikro element) uygulanmıştır.

Bitkiler 4-5 gerçek yaprağa sahip olduklarında tuz uygulanmasına başlanmıştır (Şekil 3.1). Tuz uygulanacak her bir bitkiye ilk gün 25 mM tuz çözeltisi 2 gün aralıklarla 1 hafta boyunca uygulanmış ve tuz çözeltisi kademeli olarak 100 mM olana kadar artırılmıştır. 100 mM tuz çözeltisi ile 2 hafta uygulama yapılmıştır.

Saksıların tarla kapasitesi ölçülerek, % 80 tarla kapasitesi ile (75 ml) sulamalar yapılmıştır.

Fesleğen bitkileri çiçeklenme öncesi döneme girmeden önce hasat edilmiştir. Hasat edilen yaprak örnekleri analizleri yapılana kadar -80 derecede muhafaza edilerek saklanmıştır.



Şekil 3.1. İklimlendirme odasında yetiştirilen 4-5 gerçek yaprağa sahip fesleğen bitkileri

3.6.3. Yaprakların ekstraksiyonu

-80 de muhafaza edilen yapraklardan her bir uygulama için 2 g yaprak porselen havanda bir miktar kuru buz ile ezilmiştir. Üzerine 20 ml formik asitle (% 0,1) asitlendirilmiş su-metanol (1:4) karışımı eklenmiş ve 15 dk ultrasonik banyoda bekletilmiştir. 15 dk sonunda oluşan karışım koyu renkli şişelere filtre kâğıdı ile süzülmiştir. Filtre kağıdında toplanan yaprak tortuları kazınmış ve üzerine yeniden 15 ml su-metanol karışımı ilave edilerek ultrasonik banyoda 15 dk bekletilmiş ve şişelere süzülmiştir. Aynı işlem bir kere daha 15 ml ultra saf su ile tekrarlanarak karışım toplamda 50 ml olacak şekilde koyu renkli şişelerde toplanmıştır. Bu işlem her bir uygulama için 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Toplanan karışım balon jöjelere konulmuş ve evaporatörde karışımdaki metanol uçurulmuştur. Geriye kalan karışımın üzerine toplamda 5 ml olacak şekilde distile su eklenmiş ve 5 dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra HPLC filtresinde süzülerek cam tüplere alınmıştır. Her bir uygulama için hazırlanan ekstraksiyon karışımları; fenol, flavonoid, DPPH ve HPLC analizleri için -20 °C’de saklanmıştır.

3.7. Spektrofotometrik Yöntemler

3.7.1. DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayini

DPPH analizleri Dıraz (2015) yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Yönteme göre; 0,00394 gr DPPH (0.1 mM) 100 ml metanolde çözülerek hazırlanmıştır. Kontrol grubu olan BHT den 1 mM (0,01 gr BHT, 50 ml metanol) metanolde çözülerek hazırlanmıştır. -20°C de muhafaza ettiğimiz bitki ekstratlarından 3 tekerrürlü olacak

şekilde 50 µl alınıp 2ml'lik spektrofotometre küvetlerine konulmuştur. Üzerine 1450 µl metanol ve 500 µl DPPH eklenmiştir. Yarım saat karanlık bir ortamda bekledikten sonra loş ortamda 515 nm dalga boyunda okutulmuştur. Kör olarak metanol kullanılmıştır. Okutulan değerlerdeki DPPH yüzdesi aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

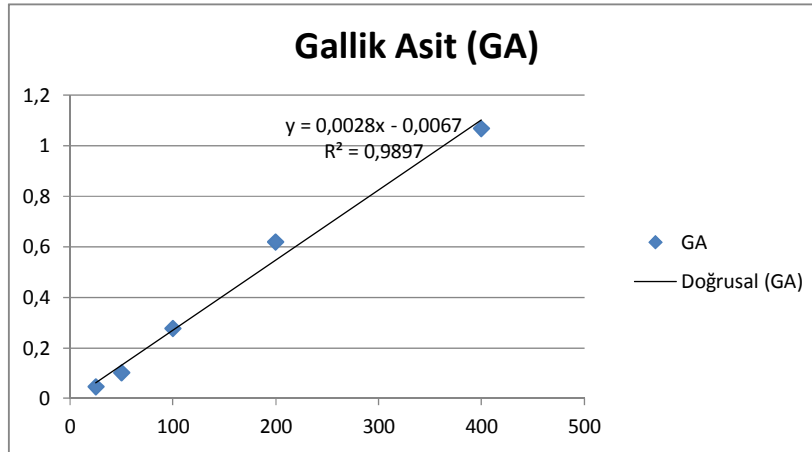
$$\text{Radikal süpürücü etki: } \{(A0-A1/A0) \times 100\}$$

A0: DPPH çözeltisi, A1: Ekstraksiyon içeren DPPH çözeltisini ifade etmektedir.

3.7.2. Toplam fenol miktarı tespit

Toplam fenol miktarı tespiti için -20°C'de muhafaza edilen örnekler kullanılmış, analizler Koca, (2013)'e göre Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak uygulanmıştır. Her uygulamadan 50 µl bitki ekstratı alınarak 2 ml'lik spektrofotometre küvetlerine konulmuş, üzerlerine sırasıyla 250 µl Folin (%10), 1250 µl sodyum karbonat, 450 µl su eklenerek vortekslenmiştir. Oluşan karışım 45 dk karanlık bir ortamda bekletilip, 45 dk sonunda 735 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okutulmuştur.

Gallik asit standart eğrisi 25-50-100-200-400 ppm'lik konsantrasyonlar verilerek oluşturulmuştur (Şekil 3.2). Uygulamalar üçlü tekerrürler halinde hazırlanmıştır. Her bir uygulamanın absorbans değeri, gallik asit standart eğrisinde oluşan formülün yerine koyulup ($y=0,0028x-0,0067$), toplam fenol miktarı "mg/g" a dönüştürülerek hesaplanmıştır.

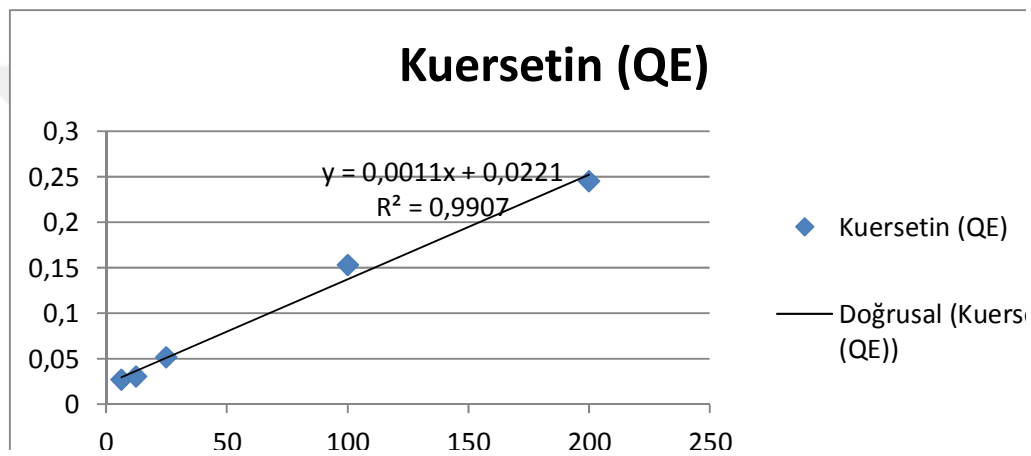


Şekil 3.2. Gallik asit standart eğrisi

3.7.3. Toplam flavonoid miktarı tespiti

-20 C°de muhafaza edilen yaprak ekstraktları toplam flavonoid miktarının tespitinde kullanılmıştır. 100 µl bitki ekstraktının üzerine 100 µl (% 2'lik) AlCl₃ ilave edilmiştir. Üzerine 2'şer damla asetik asit sonra 4.8 ml metanol eklenerek hacim 5 ml'ye tamamlanmıştır. Oluşan karışım oda koşullarında 40 dk bekletilmiştir. Beklemeden sonra örnekler spektrofotometre küvetlerine alınarak oluşan sarı rengin absorbansı UV spektrofotometrede 415 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Kuersetin standartından 6.125-12.5-25-50-100-200 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlanarak kuersetin standart eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kueretin standart eğrisi

Örnekler üçlü tekerrürler halinde oluşturulmuştur. Her bir uygulamanın absorbans değeri, kuersetin standart eğrisinde oluşan formülün yerine konulup flavonoid miktarı “mg/g” a dönüştürülerek hesaplanmıştır.

Örnekte ölçülecek absorbans değerinin kuersetin cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, kuersetin ile hazırlanan standart eğrinin denkleminde hesaplanmıştır.

3.8. HPLC Yöntemleri

3.8.1. Fesleğen Bitkilerindeki Fenolik Asitlerin Tespiti

Fesleğen bitkilerinde kafeik asit, rozmarinik asit ve şikorik asit miktarı tayini için HPLC yöntemi uygulanmıştır. Her uygulama 3 tekerrürlü yapılmıştır. -20 C°de muhafaza edilen ekstraktlar 15 dk santrifüj edilmiş ve 0,25 µl'lik filtrelerden geçirilerek 20 µl HPLC'ye enjekte edilmiştir.

3.8.2. Kullanılan HPLC cihazı ve özellikleri

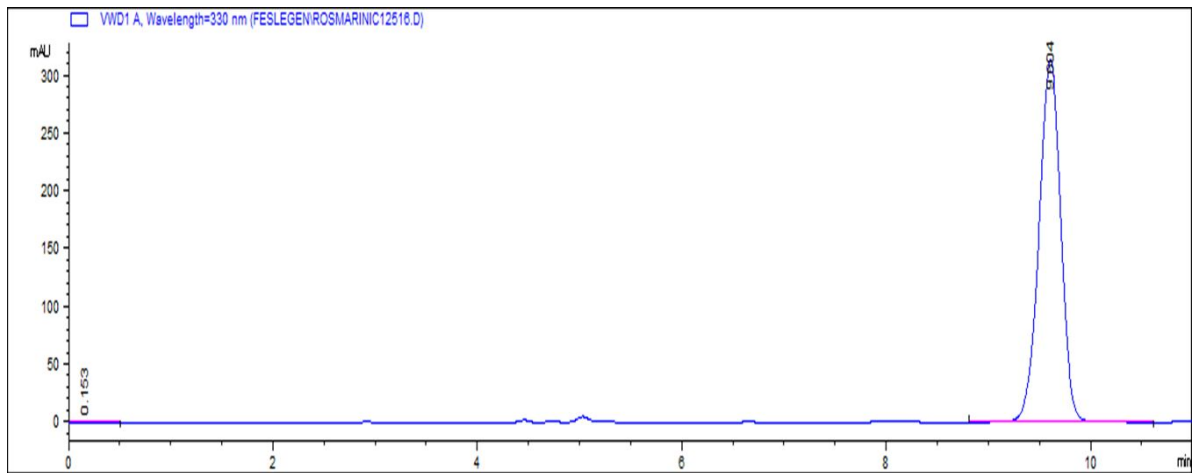
HPLC analizleri için KSÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Bitki Fizyolojisi Laboratuvar'ında bulunan Ecom pompa (Prague,Czech Republic), Hewlett-Packard UV değişken güçlü dedektör 1100 model (HP), Rheodyne enjektör valfi (20 µL), SGX C18 (5 µm) kolon (4,6 mm×250 mm) (Prague, Czech Republic)'dan oluşan Agilent 1100 HPLC cihazı kullanılmıştır. Rozmarinik asit, kafeik asit ve şikorik asit standartları için en uygun HPLC yönteminde, kolon sıcaklığı 40 °C, UV dedektör 330 nm dalga boyuna ayarlanmış olup kafeik asit, şikorik asit ve rozmarinik asit tespiti yapılmıştır (Koca, 2013).

3.8.3. Kafeik asit ve rozmarinik asit standartlarının hazırlanması

Ticari olarak satın alınan kafeik asit standardı etanolde ve rozmarinik asit standardı ultra saf suda ultrasonik banyoda bekletilerek çözdürülmüştür. Farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanarak HPLC'ye enjekte edilmiştir ve regresyon eğrileri hazırlanmıştır. Şikorik asit regresyon eğrisi Koca (2013)'e göre kullanılmıştır.

3.8.4. Standart çözeltilerin HPLC'de analizi

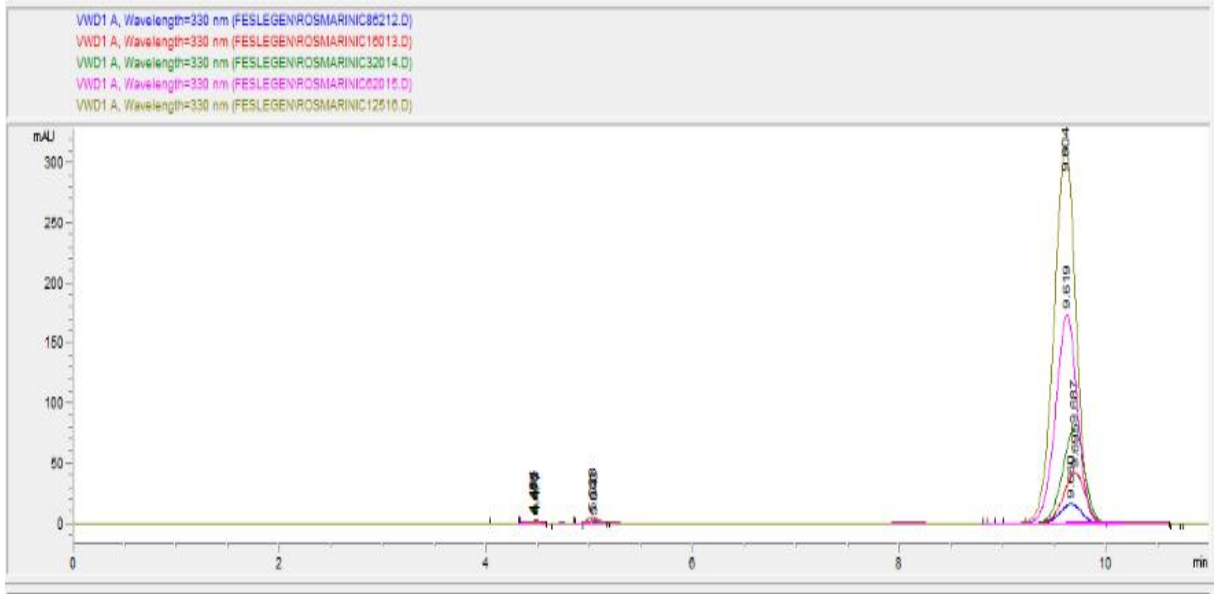
HPLC cihazında kafeik ve rozmarinik asit standartlarının analizleri yapılmıştır. Denemeler sonucunda en uygun yöntem A fazı: % 0,05 TFA ihtiva eden ultra saf su, B fazı asetonitril, A/B oranı 75:25 akış hızı 1.2 ml/dk. Analiz süresi 20 dk olarak belirlenmiştir. Rozmarinik asit standardı 9,6. dk'da çıkmıştır (Şekil 3.4).



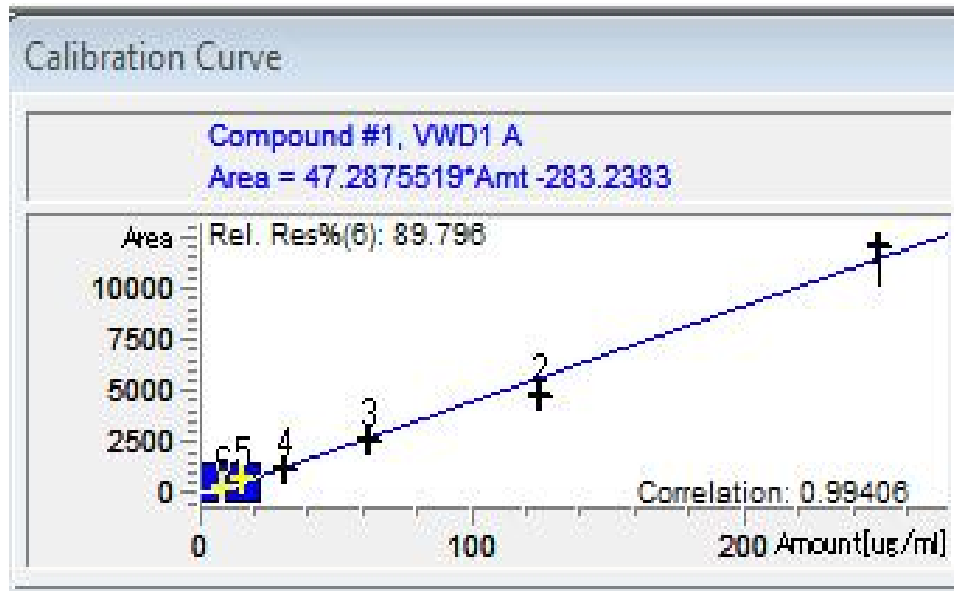
Şekil 3.4. Rozmarinik asit standartının HPLC kromatogramı

3.8.5. Rozmarinik asit standart eğrisinin oluşturulması

Rozmarinik asit standartından hazırlanan 8,62-250 ppm aralığındaki stok çözeltiler, yukarıda belirlenen yöntemle HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda ölçülen pikler üst üste çakıştırılmıştır (Şekil 3.5). Elde edilen kromatogramlardaki pik alanları ve konsantrasyon miktarıyla oluşturulan grafikten elde edilen regresyon eğrisi Şekil 3.6'da görülmektedir.



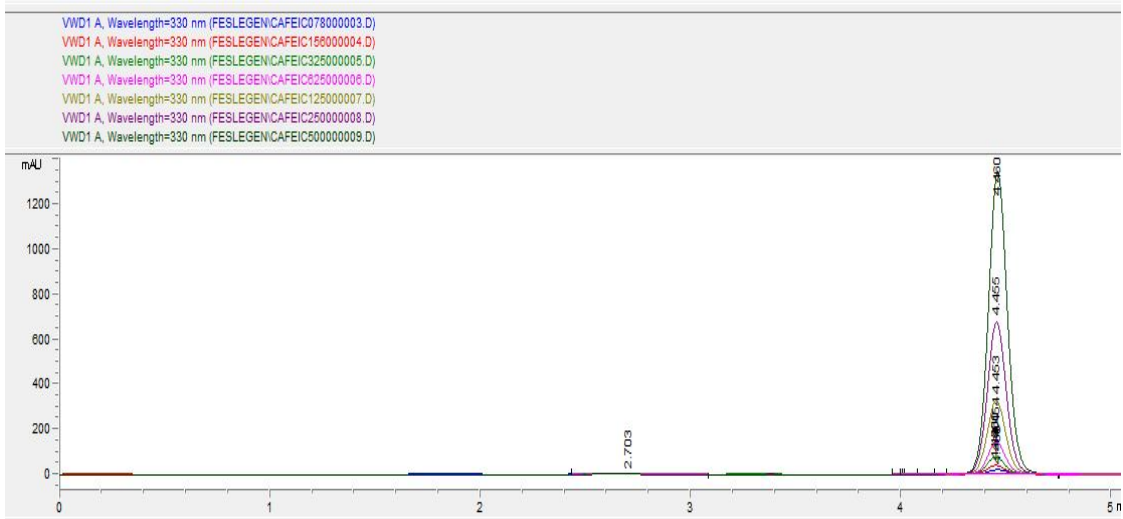
Şekil 3.5. Rozmarinik asitin farklı konsantrasyonlardaki görünümü



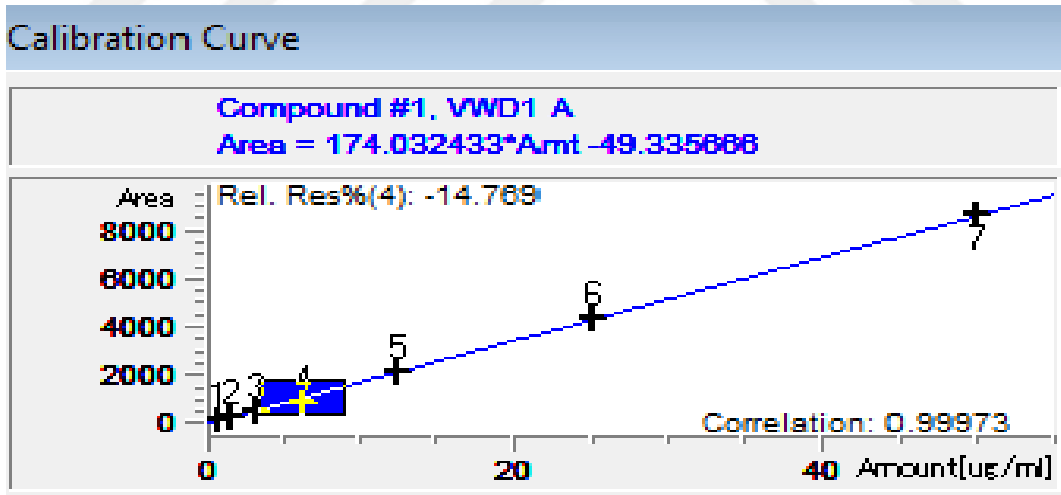
Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlardaki rozmarinik asit piklerinin standart eğrisi

3.8.6. Kafeik asit standart eğrisinin oluşturulması

Kafeik asit standartından hazırlanan 0,78-50 ppm aralığındaki stok çözeltiler, yukarıda belirlenen yöntemle HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Kafeik asit standardına ait pikler 4.4. dk.'da görülmüştür. Farklı konsantrasyonlarda ölçülen pikler üst üste çakıştırılmıştır (Şekil 3.7). Elde edilen kromatogramlardaki pik alanları ve konsantrasyon miktarıyla oluşturulan grafikten elde edilen regresyon eğrisi Şekil 3.8'de görülmektedir.



Şekil 3.7. Kafeik asitin farklı konsantrasyonlardaki görünümü

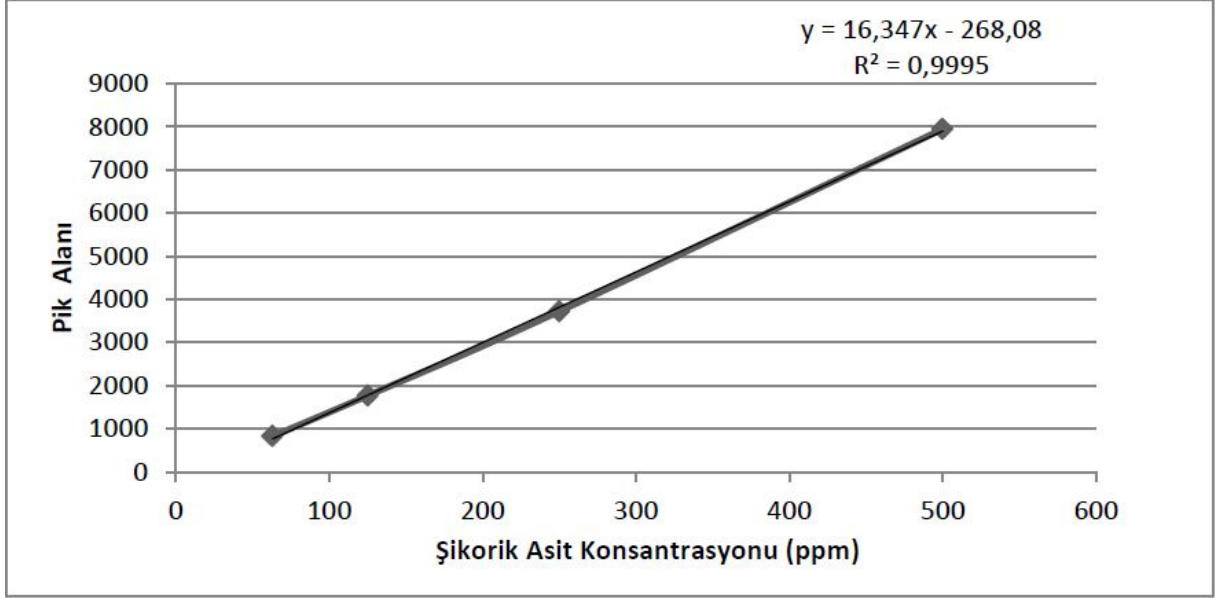


Şekil 3.8. Farklı konsantrasyonlardaki kafeik asit piklerinin standart eğrisi

3.8.7. Şikorik asit standart eğrisinin oluşturulması

Şikorik asit standartından hazırlanan 75-500 ppm aralığındaki stok çözeltilere ait kromatogramlardaki pik alanları ve konsantrasyon miktarıyla oluşturulan grafikten elde edilen regresyon eğrisi Şekil 3.9'da görülmektedir. Şikorik asit standardı yeterli miktarda

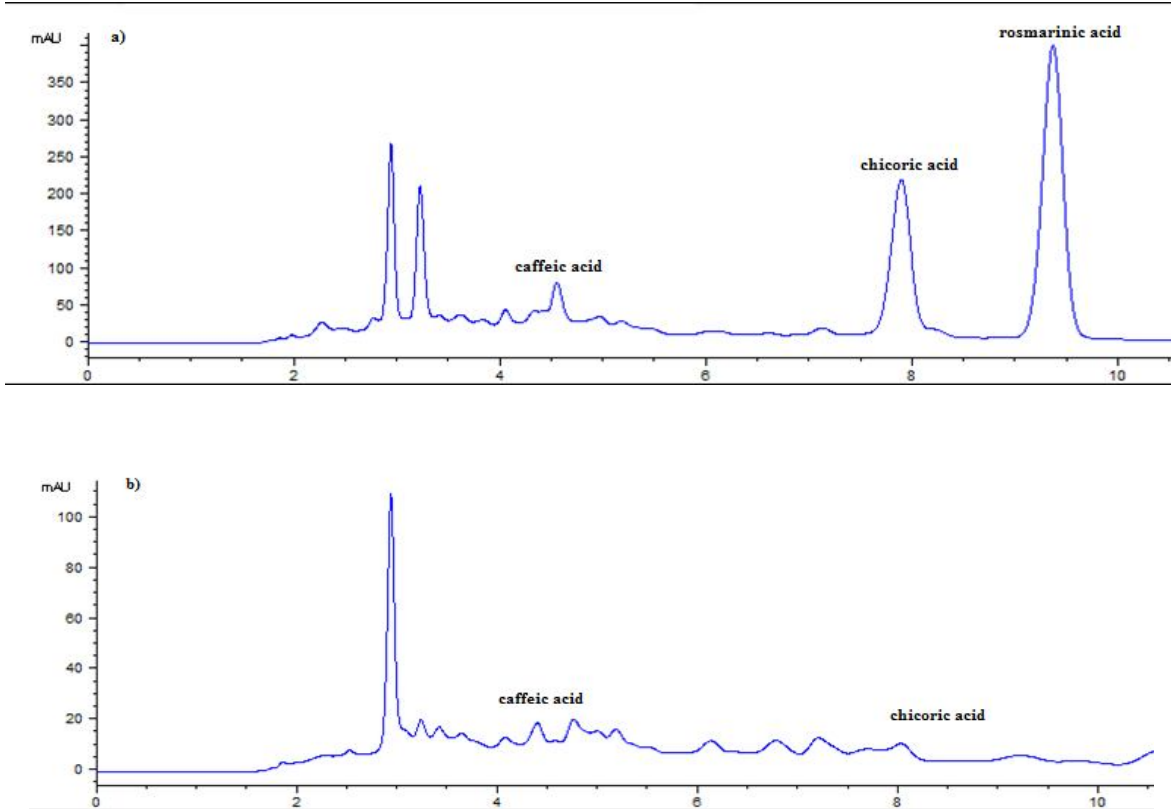
bulunmadığından Koca (2013)'e ait regresyon eğrisi kullanılmış, elimizdeki çözelti ile standardın çıkış dakikası 7.8.dk olarak belirlenmiştir.

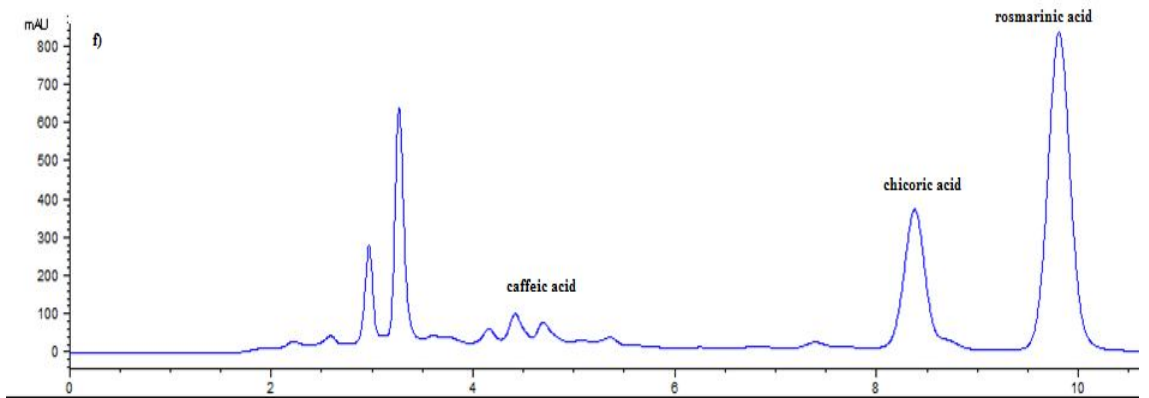
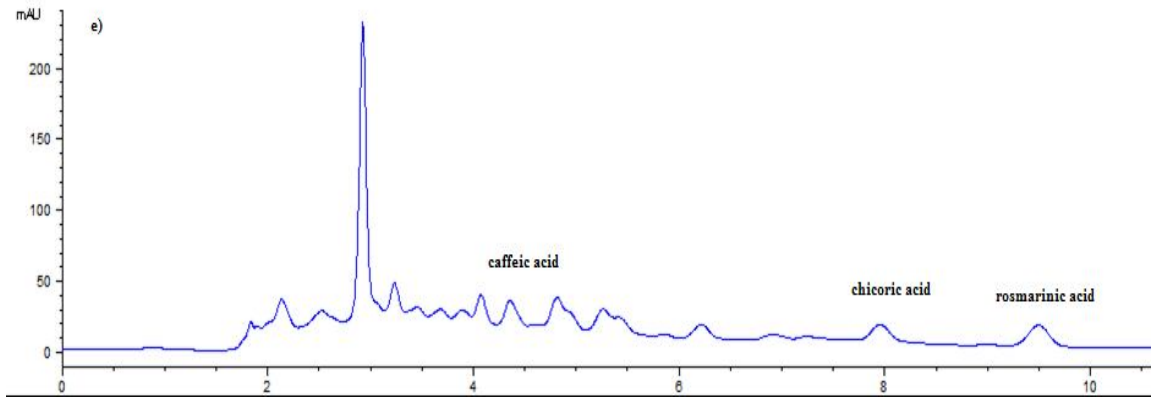
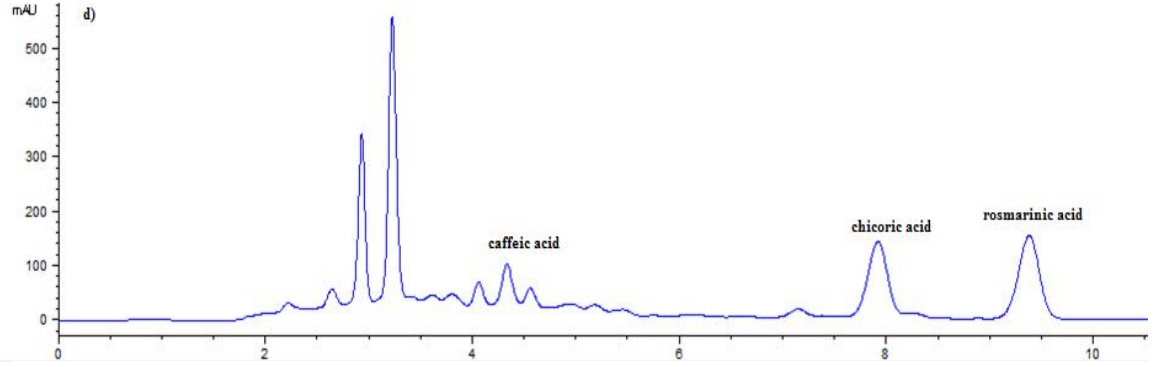
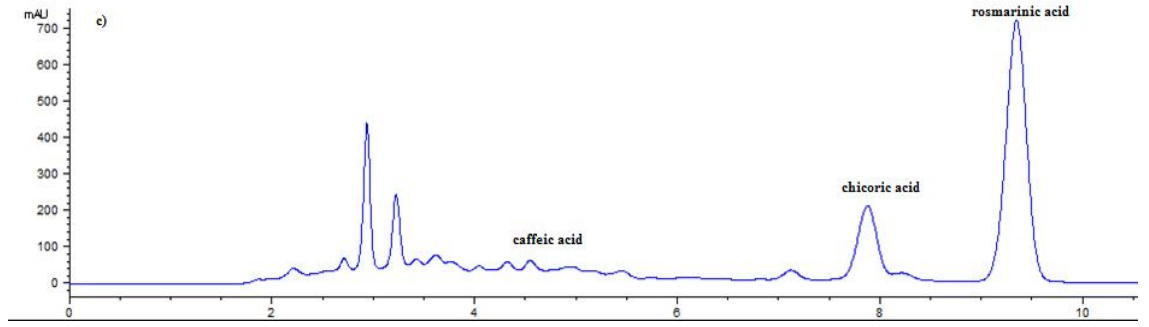


Şekil 3.9. Farklı konsantrasyonlardaki şikorik asit piklerinin standart eğrisi

3.8.8. Fesleğin bitki denemelerine ait kromatogramlar

Fesleğin melatonin uygulamalarına ve kontrol gruplarına ait HPLC kromatogramları şekil 3.10'da görülmektedir.





Şekil 3.10. Fesleğen bitki denemelerinin HPLC kromatogramları a) kontrol, b) kontrol+tuz, c) 1 μ M Mel, d) 1 μ M Mel+tuz, e) 10 μ M Mel, f) 10 μ M Mel+tuz

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

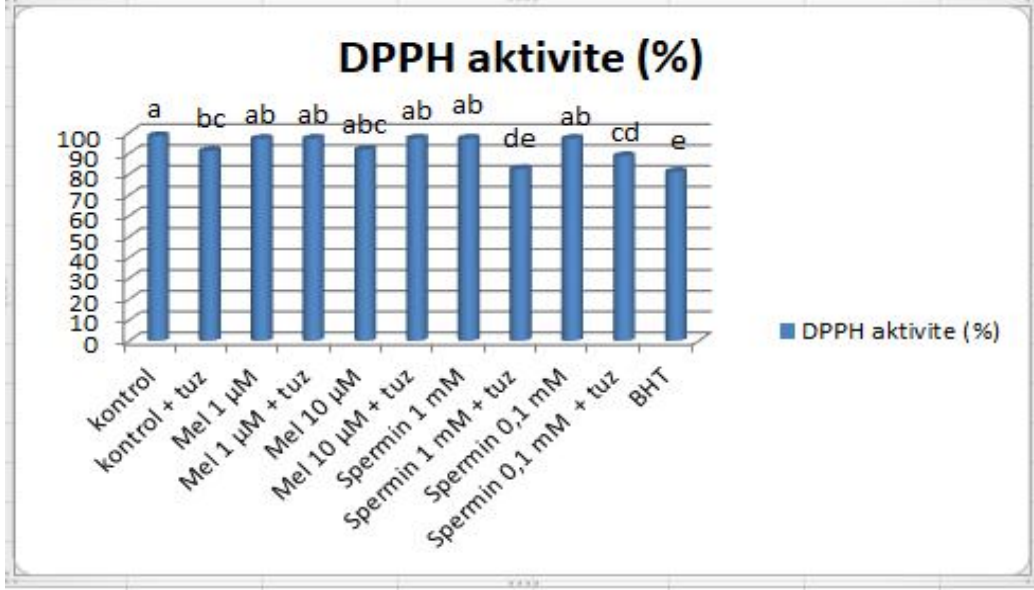
4.1. Melatonin ve Spermin Uygulanan ve Tuz Stresine Maruz Bırakılan Fesleğenlerde Antioksidan Aktivite Parametrelerinin Değerlendirilmesi

4.1.1. DPPH aktivite

Fesleğende melatonin (Mel) ve spermin (Spm) uygulamaları ve tuz stresi sonucunda elde edilen antioksidan aktiviteye bağlı değerler Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1’de verilmiştir. DPPH aktiviteye ait parametreler incelendiğinde uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,01$). DPPH aktivite sonuçlarında en yüksek değer kontrol (% 98,7) uygulamasından, en düşük değer ise pozitif kontrol BHT’den (% 81,14) elde edildiği görülmüştür.

Çizelge 4.1. Fesleğende melatonin ve spermin uygulamaları ve tuz stresi sonucunda elde edilen antioksidan aktiviteye ait parametreler (Taze Ağırlık)

	DPPH aktivite (%)	Toplam fenolik (mg/g ekstrakt)	Toplam flavonoid (mg/g ekstrakt)
Kontrol	98,37 ± 0,07 ^a	4,45 ± 0,69 ^{ab}	0,31 ± 0,008 ^a
Kontrol+tuz	91,19 ± 4,72 ^{bc}	2,55 ± 0,40 ^d	0,18 ± 0,014 ^b
Mel 1µM	97,06 ± 0,94 ^{ab}	3,72 ± 0,38 ^{bc}	0,04 ± 0,006 ^{cd}
Mel 1µM+tuz	97,12 ± 0,43 ^{ab}	3,14 ± 0,91 ^{cd}	0,03 ± 0,010 ^{cd}
Mel 10µM	91,76 ± 2,63 ^{abc}	2,15 ± 0,00 ^{de}	0,09 ± 0,020 ^{cd}
Mel 10µM+tuz	97,24 ± 0,43 ^{ab}	5,30 ± 0,04 ^a	0,39 ± 0,050 ^a
Spm 1mM	97,24 ± 1,08 ^{ab}	4,16 ± 0,34 ^{bc}	0,10 ± 0,020 ^c
Spm 1 mM +tuz	82,63 ± 6,29 ^{de}	1,25 ± 0,16 ^e	0,06 ± 0,000 ^{cd}
Spm 0,1 mM	97,09 ± 0,99 ^{ab}	5,32 ± 0,14 ^a	0,11 ± 0,012 ^{bc}
Spm 0,1 mM +tuz	88,78 ± 2,46 ^{cd}	2,58 ± 0,30 ^d	0,02 ± 0,000 ^d
BHT	81,14 ± 2,95 ^e		
<i>P</i> (önemlilik)	$p<0.01$	$p<0.01$	$p<0.01$



Şekil 4.1. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, DPPH aktiviteye ait değerler

Tuz stresi altında DPPH antioksidan aktivitenin (% 91,19) kontrol grubuna (% 98,37) göre azaldığı tespit edilmiştir.

Spermin uygulamasının her iki konsantrasyonunda DPPH aktivitenin tuz stresi uygulamalarında (Spm 1 mM+tuz; % 82,63, Spm 0,1 mM+tuz; % 88,78) kontrol grubu spermin uygulamalarına (Spm 1 mM; % 97,24, Spm 0,1 mM; % 97,09), göre azalış gösterdiği saptanmıştır. Kontrol spermin uygulamasının her iki konsantrasyonunda DPPH aktivitenin benzer sonuçlar verdiği görülmüş olup, tuz uygulanan spermin konsantrasyonlarında Spm 0,1 mM+tuz' un Spm 1 mM+tuz' a göre daha yüksek DPPH aktivite gösterdiği görülmüştür.

Melatonin uygulamalarında Mel 1 µM (% 97,06), Mel 1 µM+tuz (% 97,12) ve Mel 10 µM+tuz (% 97,24) uygulamalarının DPPH aktivitesi Mel 10 µM (% 91,76)'a göre daha yüksek bulunmuştur.

Genel olarak çalışmamızdaki tüm uygulamalarda DPPH radikal süpürücü etki pozitif kontrol grubu olan BHT' den yüksek çıkmıştır.

Uygulamalar incelendiğinde DPPH antioksidan aktivitenin tuz stresi altında azaldığı, melatonin uygulamalarının bu azalmayı bir miktar telafi ettiği fakat tuz stresi altındaki bitkilerin spermin uygulamalarının kontrol tuz grubundan daha düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Literatürler incelendiğinde; İmen ve ark. (2012), iki fesleğen kültürünün (*Ocimum basilicum* L. Genovese ve Fine) 15-30 gün boyunca 25 mM Na₂SO₄ ile muamelesi sonucu, normal şartlarda yetiştirilen bitkilerdeki toplam antioksidan aktivitenin iki kültürdede kontrole göre 15 günlük strese artış gösterdiğini, 25 günlük strese azalış gösterdiğini bildirmişlerdir. Solmaz (2017), mor reyhan bitkilerine 50 ve 100 mM tuz uygulamasının DPPH aktivitesini kontrole göre azalttığını bildirmiştir. Genç (2016), çalışmasında 39 yerli ve 25 yabancı kökenli reyhan genotipi örneklerinin toplam antioksidan aktivitesinin % 74.11-96.25 arasında bulunduğunu bildirmiştir. Sonuçlarımız, Solmaz (2017) ve İmen ve ark. (2012) ve Genç (2016)'nın sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Fesleğen dışındaki bazı bitkilerin tuz stresine cevaplarının araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde, Taarit ve ark. (2012), *Salvia sclarea*'da tuz stresi altında (0, 25, 50, 75 mM) DPPH aktivitenin 25 ve 50 mM'da kontrole göre azaldığını, 75 mM'da arttığını bildirmişlerdir. Baatour ve ark. (2013), *Origanum majorana*'nın (Tunus ve Kanada varyetesi) tuz stresi altında DPPH antioksidan aktivitesinin Tunus varyetesinde tuz stresinde azalırken, Kanada varyetesinde değişiklik göstermediğini, Valifard ve ark. (2014), *Salvia mirzayanii*'de tuz stresi altında (2.3, 4.5, 6.8 ve 9.1 dS m⁻¹) DPPH aktivitenin artan tuz stresinde kontrole göre azaldığını ve Bistgani ve ark. (2019), farklı tuz konsantrasyonları (0, 30, 60 ve 90 mM) altında iki farklı kekik türünde (*Thymus vulgaris* ve *Thymus daenensis*) antioksidan aktivitenin tuz konsantrasyonu arttıkça arttığını bildirmişlerdir. Sonuçlarımızın Baatour ve ark. (2013)'nın Tunus varyetesi ile, Valifard ve ark. (2014)'nın sonuçları ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu literatürler değerlendirildiğinde yakın cinsler arasındaki bitkilerin tuz stresine karşı verdikleri antioksidan cevapların farklılık gösterdiğini ve uygulanan stresin dozunun antioksidan aktiviteyi belirleyici etkenlerden biri olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

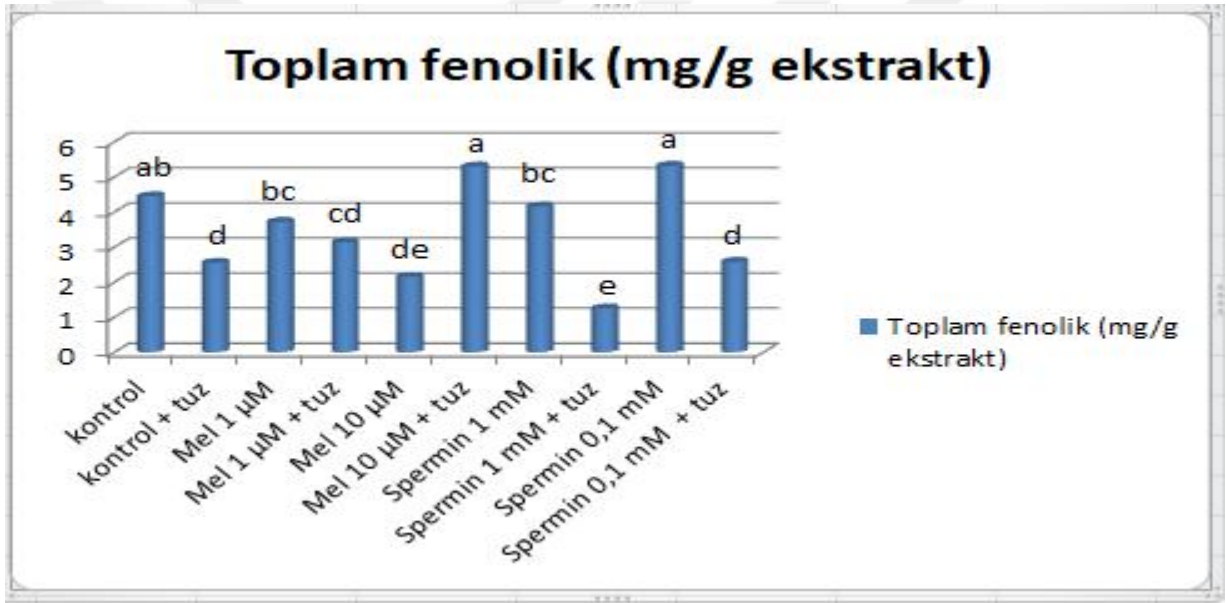
Spermin ve melatonin uygulamaları ile yapılan çalışmalarda; Orabi ve ark. (2017) limonotu bitkisinde spermin uygulamalarının (50, 100 ve 200 mg/L) DPPH aktiviteyi kontrole göre arttırdığını ve en yüksek aktivitenin 100 mg / L'den elde edildiğini bildirmiştir. Koca (2013), fesleğen bitkisinde DPPH aktivitenin kontrole göre sperminin her iki (0,1 ve 1 mM) uygulamasıyla yükseldiğini tespit etmiştir. Çalışmamızda Koca (2013) ve Orabi ve ark. (2017)'nin çalışmalarının aksine kontrolde DPPH aktivite daha yüksek tespit edilmiştir.

Sarrou ve ark. (2015), melatoninin (1.5, 15 µM mel) acı portakal (*Citrus aurantium* L.) bitkisine uygulamalarında DPPH aktivitenin 1 µM'da azaldığını, 5 µM ve 15 µM'da

artış gösterdiğini, Xu ve ark. (2017), 100 μ M uygulanan melatonin üzümün kabuk ve öz ekstraktlarının DPPH aktivite de artış görüldüğünü bildirmişlerdir. Bulgularımıza göre melatonin uygulamaları antioksidan aktiviteyi kontrole göre anlamlı olarak etkilememiştir.

4.1.2. Toplam fenolik miktarı

Fesleğinde melatonin ve spermin uygulamaları ve tuz stresi sonucu elde edilen toplam fenolik miktarı değerleri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmiştir. Melatonin, spermin ve tuz stresinin fesleğinde toplam fenol miktarına etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Uygulamalar içinde en yüksek toplam fenol miktarı Spm 0,1 mM (5,32 mg GAE/g) ve Mel 10 μ M + tuz (5,30 mg GAE/g) da, en düşük toplam fenolik miktarı ise Spm 1 mM+tuz (1,25 mg GAE/g) dan elde edilmiştir.



Şekil 4.2. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, toplam fenol miktarına ait değerler

Spermin uygulamaları kendi aralarında değerlendirildiğinde kontrol spermin uygulamalarından Spm 0,1 mM’dan (5,32 mg GAE/g), Spm 1 mM (4,16 mg GAE/g) konsantrasyonuna göre daha yüksek toplam fenolik madde elde edilmiştir. Spermin tuz uygulamasına ait iki konsantrasyondan ise Spm 0,1 mM + tuz (2,58 mg GAE/g)’un Spm 1 mM + tuz (1,25 mg GAE/g)’a göre daha yüksek miktarda fenolik madde içerdiği belirlenmiştir.

Melatonin uygulamalarında toplam fenolik içeriği en yüksek Mel 10 μ M + tuz (5,3 mg GAE/g), en düşük ise Mel 10 μ M (2,15 mg GAE/g) uygulamalarından elde edilmiştir.

Mel 1 µM (3,72 mg GAE/g) konsantrasyonunun toplam fenolik miktarı Mel 1 µM + tuz (3,14 mg GAE/g)'a göre daha yüksek bulunmuştur.

Genel olarak her uygulamanın kontrol grubunun toplam fenolik miktarı, tuz uygulanmış gruplardan daha yüksek çıkmıştır, fakat aksi durum Mel 10 µM ve Mel 10 µM + tuz, uygulamalarında görülmüştür.

Çalışmalarımız sonucu kontrol grubu fesleğen bitkisindeki toplam fenolik madde miktarı 4,45 mg GAE/g ekstrakt yaş ağırlık olarak bulunmuştur. Gallik asit üzerinden yapılan çalışmalar incelendiğinde Flanigan ve Niemeyer (2014), 8 farklı mor fesleğen çeşidinde toplam fenolik madde miktarını 13.09-26.92 mg/g kuru ağırlık, Javanmardi ve ark. (2003), 23 İran fesleğeninin toplam fenolik madde miktarını kuru örneklerde 22.9 - 65.5 mg/g, Juliani ve Simon (2002), 5 yeşil ve 4 mor yapraklı fesleğen varyetesinin kuru örneklerinde toplam fenolik miktarını morlarda 81.7- 126.2 mg/g, Kwee ve Niemeyer (2011), 15 fesleğen kültürünün toplam fenolik madde miktarını 3.47–17.58 mg/g, Nguyen ve Niemeyer (2008), fesleğen varyetesinde toplam fenolik madde miktarını 7–31 mg GAE/g arasında tespit etmişler ve miktarın azot(N) uygulamasıyla azaldığını gözlemlemişler, Gajula ve ark. (2009), fesleğen bitkisinde toplam fenolik madde miktarını kuru ağırlıkta 41.12 mg/g GAE, Çelebi (2010), 15 ayrı aktardan alınan kuru fesleğen örneklerinin toplam fenolik madde miktarlarını 0,271-0,5 mg GAE /g, Moghaddam ve Mehdizadeh (2015), *O. ciliatum*'da toplam fenolik madde miktarını 7.15-107.43 mg GAE/100g, *O. basicilum* var. *purpurascens*'te 23.43-63.88 mg GAE/100g, *O. basicilum* var. *dianatnejadii*'de 16.99-23.1 mg GAE/100g, Kayır (2014), 14 farklı yerden temin edilen reyhanlarda lokasyona bağlı olarak toplam fenolik madde miktarını Bursa'da yetişen reyhanlarda 4,99-14,08 mg EGA/g kuru, Eskişehir'de 6,28-19,21 mg EGA/g kuru, Tokat'ta 7,16-19,54 mg EGA/g kuru ağırlık olarak tespit etmiştir. Literatürlere göre tespit edilen miktarlardaki farklılıkların bitkilerin genotipi, yetiştirme koşulları, bitki materyalinin taze veya kuru olması, kullanılan ekstraksiyon yöntemleri ve çözücülerin farklılığından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Solmaz (2017), mor reyhanda 50 – 100 mM tuz uygulamasıyla toplam fenolik maddenin arttığını tespit etmiştir. İmen ve ark. (2012), Toplam fenolik içeriği iki fesleğen türü olan Genovese ve Fine çeşitlerinde kontrole göre 15 ve 30 günlük strese azalış göstermiş, 15 günlük stresteki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuş olup, 30 günlük streste önemli bulunmuştur. Çalışmamızda fesleğenin toplam fenolik madde miktarı, stresli

gruplarda azalma göstermiştir, bu yönüyle İmen ve ark. (2012)'nin çalışmasıyla uyum içindedir.

Koca (2013), fesleğende toplam fenolik miktarda Spm 0,1 mM ve Spm 1 mM uygulamalarında kontrole göre düşüş tespit etmiştir. Çalışmamızda Spm 1 mM uygulamasıyla kontrole göre toplam fenolik miktarın düştüğü görülmüş ve bu konsantrasyonda Koca (2013) ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Darvizheh ve ark. (2019), tarla koşullarında ve su stresi altında ekinezya çiçeklerinde (*Echinacea purpurea* L.) spermin uygulamasıyla toplam fenolik madde miktarının kontrole göre azaldığını, spermin + kuraklık stresi altında toplam fenolik miktarının % 20 sulama kapasitesinde değişiklik göstermemiş, % 40 ve %60 sulamada kontrole göre giderek artış göstermiştir. Çalışmamızda toplam fenolik Spm 0,1 mM uygulamasında kontrole göre artış gözlenirken, Spm 1 mM'da kontrole göre azalma tespit edilmiştir.

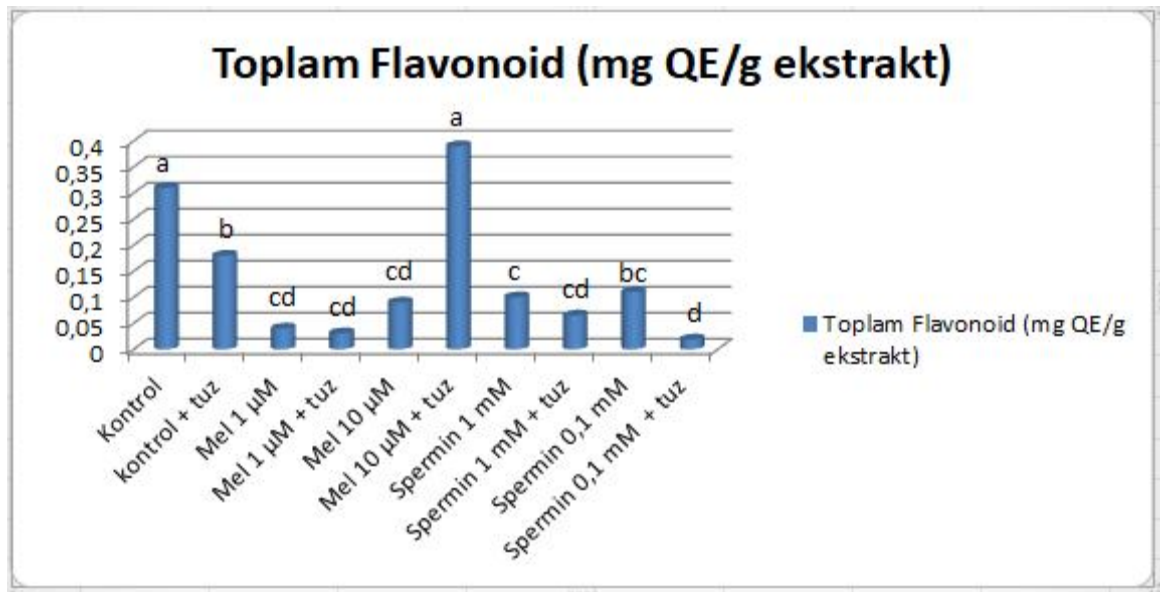
Bistgani ve ark. (2019), farklı NaCl konsantrasyonları (0, 30, 60 ve 90 mM) ile sulanan iki farklı kekik türünde (*Thymus vulgaris* ve *Thymus daenensis*) toplam fenol miktarın artan tuz konsantrasyonlarında (0, 30, 60 mM) artış gösterdiğini, 90 mM'da biraz düşüş olduğunu tespit etmiştir. Taarit ve ark. (2012), misk adaçayı (*Salvia sclarea* L.) bitkisinin tuz stresi altında (0, 25, 50, 75 mM) toplam fenol miktarının 25 ve 50 mM'da kontrole göre arttığını, 75 mM'da azaldığını, Valifard ve ark. (2014), *Salvia mirzayanii*'de tuz stresi altında (2.3, 4.5, 6.8 ve 9.1 dS m⁻¹) toplam fenol miktarının artan konsantrasyonlarda arttığını, 9.1 dS m⁻¹'de azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda fesleğende yüksek tuzlulukla toplam fenol miktarın azalması Bistgani ve ark. (2019), Taarit ve ark. (2012) ve Valifard ve ark. (2014)'nin sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Baâtour ve ark. (2012), mercanköşk (*Origanum majorana* L.) bitkisinde tuz stresi altında erken, geç vejetatif dönem ve çiçeklenme dönemlerinde toplam fenol miktarında artış tespit etmişlerdir.

Xu ve ark. (2017), üzümün kabuk ve öz ekstraktlarında 100 µM melatonin uygulaması ile toplam fenol miktarında artış tespit etmişlerdir. Sarrou ve ark. (2015), acı portakal (*Citrus aurantium* L.) bitkisine melatonin uygulamalarının sonucunda toplam fenolik maddenin kontrole göre 1 µM'da azaldığını, 5 µM'da değişiklik göstermediğini, 15 µM'da arttığını bildirmiştir. Farouk ve Al-Amri (2019), çalışmalarında biberiye bitkisinde, toplam fenol miktarı melatonin uygulamalarında (25, 50 µM) kontrole göre artan konsantrasyonda artış göstermiş, Wei ve ark. (2019), süs elması (*Malus hupehensis*) bitkisinde toplam fenol miktarının 1 µM melatonin uygulamasıyla değişmediğini tespit

etmiştir. Çalışmamızda toplam fenolik madde miktarında kontrole göre Mel 1 ve 10 μM konsantrasyonlarında azalma tespit edilmiştir.

4.1.3. Toplam flavonoid miktarı

Fesleğinde melatonin ve spermin uygulamaları ve tuz stresi sonucu elde edilen toplam flavonoid miktarı değerleri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3’de verilmiştir. Melatonin, spermin ve tuz stresinin fesleğinde toplam flavonoid miktarına etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Uygulamalar arasında en yüksek flavonoid miktarı Mel 10 μM +tuz (0,39 mg QE/g) ve kontrol (0,31 mg QE/g) grubundan elde edilmiş olup, en düşük ise Spm 0,1 mM+tuz (0,019 mg QE/g)’dan elde edilmiştir.



Şekil 4.3. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, toplam flavonoid miktarına ait değerler

Toplam flavonoid miktarının tuz stresi altında kontrol grubuna (0,31 mg QE/g) göre azaldığı (0,18 mg QE/g) tespit edilmiştir.

Spermin uygulamasının her iki konsantrasyonunda toplam flavonoid miktarı, tuz stresi altında azalmıştır. Kontrol spermin uygulamalarından Spm 1 mM (0,10 mg QE/g) uygulamasının Spm 0,1 mM (0,11 mg QE/g) uygulamasına göre toplam flavonoid içeriği daha düşük miktarda elde edilmiştir. Spermin tuz uygulamasına ait iki konsantrasyondan ise Spm 1 mM+tuz (0,06 mg QE/g)’un Spm 0,1 mM+tuz (0,02 mg QE/g)’a göre daha yüksek miktarda flavonoid içerdiği görülmüştür. Spermin uygulamalarında 1 mM konsantrasyonun toplam flavonoid miktarı bakımından daha etkili olduğu görülmektedir.

Genel olarak her uygulamanın kontrol grubunun toplam flavonoid miktarı, tuz grubundan daha yüksek çıkmıştır fakat bu durumun aksine 10 µM Mel uygulamalarında rastlanılmış, Mel 10 µM+tuz'un (0,39 mg QE/g), Mel 10 µM (0,09 mg QE/g)'a göre daha fazla flavonoid içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Mel 1 µM konsantrasyonunun toplam flavonoid miktarı Mel 1 µM+tuz'la yaklaşık aynı miktarda elde edilmiş, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Toplam fenol ve flavonoid miktarlarında tuz stresi altında Mel 10 µM uygulamasının diğer uygulamalardan daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür.

Çalışmalarımız sonucu kontrol grubu fesleğen bitkisindeki toplam flavonoid miktarı 0,31 mg QE/g ekstre bulunmuş olup, tuz uygulaması ile flavonoid miktarı azalmıştır. Bistgani ve ark. (2019), fesleğenlere farklı tuz konsantrasyonları (0, 30, 60 ve 90 mM) uygulayarak yüksek toplam flavonoidi artan tuz konsantrasyonlarında (0, 30, 60 mM) elde etmişlerdir, 90 mM'da biraz düşüş görülmüştür.

Koca (2013), fesleğende toplam flavonoid miktarının kontrole göre spermin (0,1 ve 1 mM) uygulamalarıyla azaldığını tespit etmiş, Spm 0,1 mM uygulamasında ki flavonoid miktarının Spm 1 mM uygulamasına göre daha fazla olduğunu belirlemiştir. Çalışmamızda spermin uygulaması kontrole göre flavonoid miktarında azalmaya neden olmuştur ve Spm 0,1 mM uygulamasındaki flavonoid miktarı Spm 1 mM uygulamasından daha fazla belirlenmiştir. Bu nedenle çalışmamız Koca (2013)'nin çalışması ile benzerlik göstermektedir. Darvizheh ve ark. (2019), çalışmasında ekinezya (*Echinacea purpurea* L.) çiçeklerine spermin uygulaması toplam flavonoidde değişiklik göstermediğini, Baatour ve ark. (2013), mercanköşk bitkisinde (*Origanum majorana*) tuz stresi altında toplam flavonoid miktarları artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Baâtour ve ark. (2012), mercanköşk (*Origanum majorana* L.)'da tuz stresi altında erken, geç vejetatif dönem ve çiçeklenme dönemlerinde toplam flavonoid miktarlarında artış görüldüğünü bildirmiştir.

Xu ve ark. (2017), çalışmalarında üzümün kabuk ve öz ekstraktlarına 100 µM melatonin uygulaması ile toplam flavonoid miktarının artış gösterdiğini, Farouk ve Al-Amri (2019), toplam flavonoid miktarının biberiye (*Rosmarinus officinalis*)'de melatonin uygulamaları ile (25, 50 µM) kontrole göre artan konsantrasyonda artış gösterdiğini ve Wei ve ark. (2019), *Malus hupehensis* fidelerine 1 µM melatonin çözeltisi uygulandığında toplam flavonoid miktarının değişmediğini tespit etmişlerdir. Sarrou ve ark. (2015), melatonin uygulamaları ile acı portakal (*Citrus aurantium*) bitkisinde toplam flavonoid

miktarının 1 µM ve 5 µM da kontrole göre azaldığını, 15 µM’da artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Fesleğinde 1 ve 10 µM Mel uygulaması ile flavonoid miktarının kontrole göre azalması yönünde elde ettiğimiz sonuçlar, Sarrou ve ark. (2015)’ nin çalışmaları ile benzerlik göstermektedir.

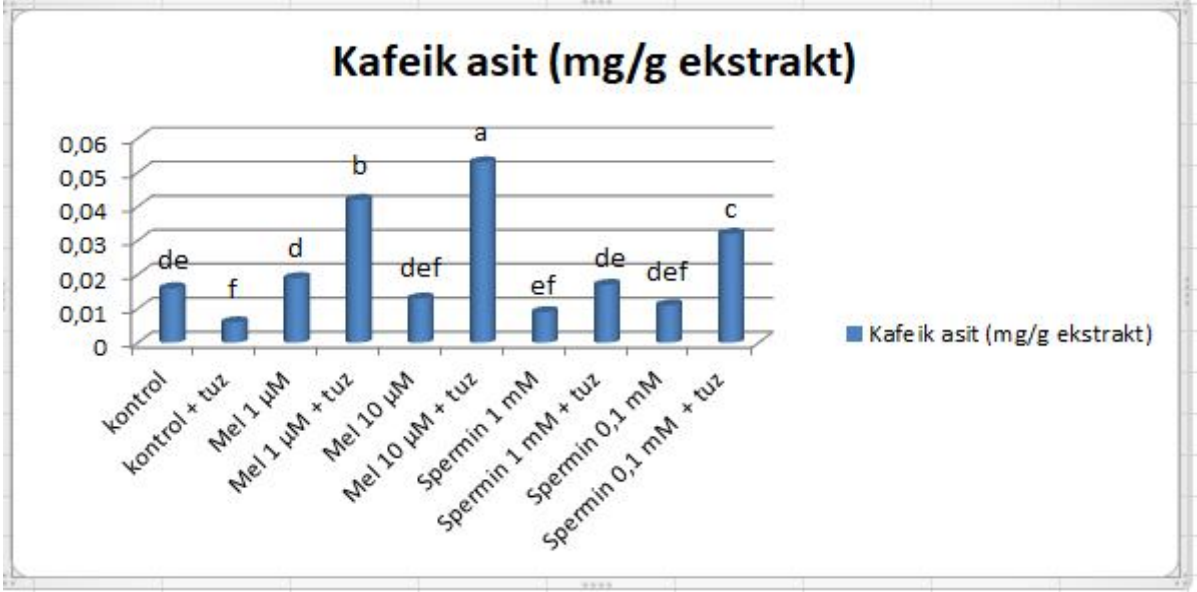
4.1.4. HPLC yöntemleri

4.1.4.1. Kafeik asit miktarı

Fesleğinde melatonin ve spermin uygulamaları ve tuz stresi sonucunda elde edilen fenolik asit (kafeik asit, şikorik asit ve rozmarinik asit) değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Kafeik asit miktarlarını gösteren değerler Şekil 4.4’de görülmektedir. Kafeik asit miktarına ait değerler incelendiğinde uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Uygulamalar arasında en yüksek miktarda kafeik asit Mel 10 µM+tuz (0,053 mg/g) ve Mel 1 µM+tuz (0,042 mg/g) uygulamalarından elde edilmiş olup, en düşük ise kontrol tuz (0,006 mg/g) grubundan elde edilmiştir.

Çizelge 4.2 Fesleğinde melatonin ve spermin uygulamaları ve tuz stresi sonucunda elde edilen fenolik asitlere ait parametreler

	Kafeik asit (mg/g)	Şikorik asit (mg/g)	Rozmarinik asit (mg/g)
Kontrol	0,016 ± 0,009 ^{de}	1,27 ± 0000 ^b	1,56 ± 0,020 ^b
Kontrol+tuz	0,006 ± 0,008 ^f	0,12 ± 0,004 ^d	tr
Mel 1 µM	0,019 ± 0,004 ^d	1,04 ± 0,050 ^b	1,87 ± 0,140 ^b
Mel 1 µM+tuz	0,042 ± 0,003 ^b	0,26 ± 0,035 ^d	0,15 ± 0,020 ^d
Mel 10 µM	0,013 ± 0,001 ^{def}	0,14 ± 0,004 ^d	0,09 ± 0,004 ^d
Mel 10 µM+tuz	0,053 ± 0,004 ^a	1,87 ± 0,306 ^a	3,05 ± 0,380 ^a
Spm 1 mM	0,009 ± 0,001 ^{ef}	0,53 ± 0,015 ^c	0,07 ± 0000 ^d
Spm 1 mM+tuz	0,017 ± 0000 ^{de}	0,10 ± 0000 ^d	tr
Spm 0,1 mM	0,011 ± 0,001 ^{def}	1,13 ± 0000 ^b	0,64 ± 0,140 ^c
Spm 0,1mM+tuz	0,032 ± 0000 ^c	0,12 ± 0,004 ^d	0,09 ± 0,004 ^d
<i>P</i> (önemlilik)	$p<0,01$	$p<0,01$	$p<0,01$



Şekil 4.4. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, kafeik asit miktarına ait değerler

Tuz stresinin etkisi kontrol grupları arasında değerlendirildiğinde stresin kafeik asit miktarını azalttığı (0,016 mg/g; 0,006 mg/g) görülmektedir.

Uygulamaların kafeik asit miktarına etkisi değerlendirildiğinde aksi durum gözlenmekte ve stres durumlarında spermin ve melatonin uygulamalarında kafeik asit miktarının arttığı görülmektedir. Spm 1 mM+tuz uygulamasının kafeik asit miktarı (0,017 mg/g) Spm 1 mM (0,009 mg/g)'dan daha yüksek elde edilmiştir. Spm 0,1 mM+tuz (0,032 mg/g) konsantrasyonun da Spm 0,1 mM (0,011 mg/g)'a göre kafeik asit miktarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Kontrol spermin uygulamalarından Spm 0,1 mM'ın Spm 1 mM'a göre daha yüksek miktarda kafeik asit içerdiği tespit edilmiştir. Tuz grubu da, kontrol grubuna benzerlik göstererek Spm 0,1 mM+tuz uygulamasının kafeik asit miktarı Spm 1 mM+tuz konsantrasyonuna göre daha yüksek elde edilmiştir.

Tuz stresi altında melatonin gruplarında kafeik asit miktarının, kontrol gruplarına göre daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür. Melatonin uygulamalarından en fazla kafeik asit içeren Mel 10 µM+tuz (0,053 mg/g) olup, en düşük kafeik asit miktarı Mel 10 µM (0,013 mg/g)'dan elde edilmiştir.

Kafeik asit ile ilgili literatürler incelendiğinde Kwee ve Niemeyer (2011), 15 fesleğen kültüründe kuru örneklerde kafeik asit miktarını 0.04-0.77 mg/g arasında, Nguyen ve Niemeyer (2008), üç fesleğen varyetesinde kafeik asit miktarını 0.195- 0.556 mg/g, Genç (2016), çalışmasında Tokat ekolojisinde yetişen reyhanlarda kafeik asit miktarını 112.67-352.00 mg/kg olarak tespit etmiştir.

Imen ve ark. (2012), iki fesleğen türünü (Genovese ve Fine) 15-30 gün boyunca 25 mM Na₂SO₄ ile muamele etmiş, Genovese’da kafeik asit miktarı 15 ve 30 günlük strese kontrole göre değişmemiş, Fine kültüründe ise kafeik asit 15 günlük streste azalmış, 30 günlük streste değişmemiş. Scagel ve ark. (2019), iki fesleğen çeşidinde (*O. basilicum* L. 'Sweet Broadleaf' (SB) ve 'Siam Queen' (SQ) tuz stresi arttıkça kafeik asit miktarının SB kültüründe düzenli azalış gösterirken, SQ’da düşük tuz konsantrasyonda kontrole göre azalış, orta ve yüksek konsantrasyonda tekrar artış gösterdiğini bildirmiştir. Çalışmamızda kafeik asit miktarı kontrole göre tuzlulukta azalmıştır. Bulgularımız Imen ve ark. (2012) ve Scagel ve ark. (2019)’nın bulguları ile benzerlik göstermektedir.

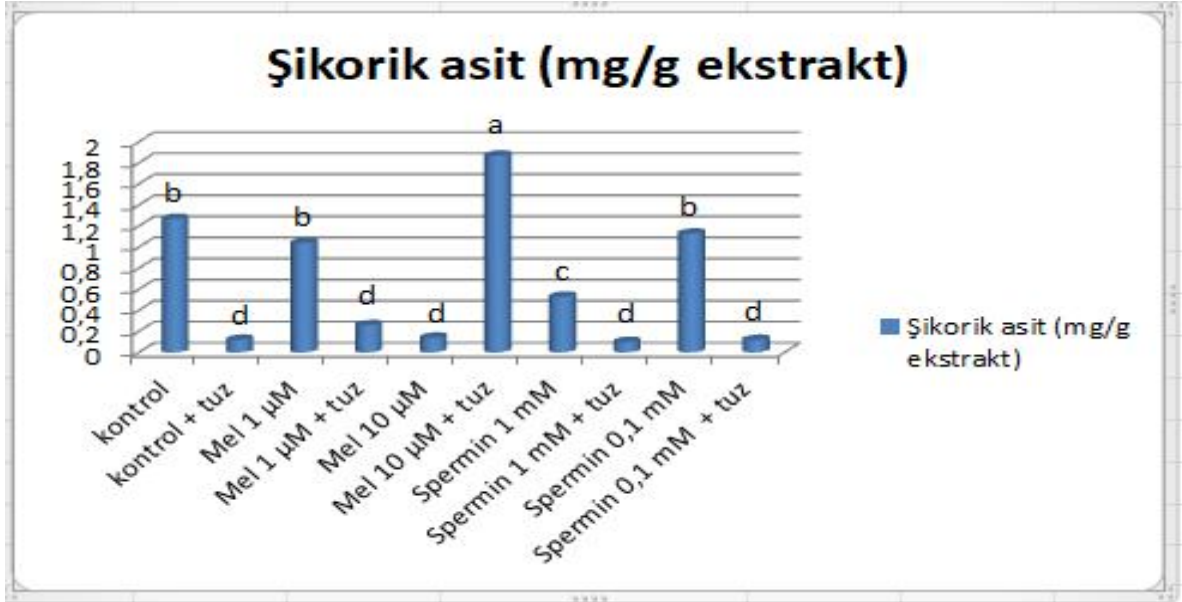
Sonuçlarımıza benzer şekilde Koca (2013), fesleğen bitkisinde Spm (0,1 ve 1 mM) uygulamalarıyla kafeik asit miktarının düştüğünü bildirmiştir.

Duran ve ark. (2019), çalışmasında 0, 100 veya 200 µM melatonin uygulanan fesleğen yaprak eksplantlarından türetilen kalluslarda, kafeik asit sadece 100 µM melatonin de artış göstermiş, Xu ve ark. (2017), üzümün kabuk ve öz ekstraktalarının 100 µM melatonin uygulaması ile kafeik asit miktarının her iki dokuda artış gösterdiğini bildirmişlerdir, çalışmamızda fesleğen tohumlarına 1 ve 10 µM mel uygulamasıyla kafeik asit miktarı kontrole göre artmıştır. Wei ve ark. (2019), *Malus hupehensis* fidelerine 1 µM melatonin çözeltisi uygulamışlar ve kafeik asit miktarının değişmediğini bildirmişlerdir. Sonuçlarımız Xu ve ark. (2017) ve Duran ve ark. (2019)’nın bulgularını desteklemektedir. Bistgani ve ark. (2019) farklı tuz konsantrasyonları (0, 30, 60 ve 90 mM) altında iki farklı kekik türünde kafeik asit miktarının her iki türde de artan tuz konsantrasyonları ile birlikte (0, 30, 60 mM) artış gösterdiğini, 90 mM’da biraz düştüğünü bildirmişlerdir. Baatour ve ark. (2013), mercanköşk (Tunus ve Kanada varyetesi)’de kafeik asit miktarının iki varyetede tuz stresi altında artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Baâtour ve ark. (2012), mercanköşk (*Origanum majorana* L.)’da tuz stresi altında erken, geç vejetatif dönem ve çiçeklenme dönemlerinde kafeik asit miktarının her üç vejetasyon döneminde artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Sonuçlarımız Bistgani ve ark. (2019)’un yüksek konsantrasyonda tuz uygulaması sonucu ile birbirini desteklemektedir.

4.1.4.2. Şikorik asit miktarı

Fesleğende melatonin ve spermin uygulamaları ve tuz stresi sonucunda elde edilen şikorik asit miktarına ait değerler Çizelge 4.2 ve Şekil 4.5’de verilmiştir. Şikorik asit miktarına ait değerler incelendiğinde uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan

önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Uygulamalar arasında en yüksek miktarda şikorik asit Mel 10 μM +tuz (3,75 mg/g) uygulamasından elde edilmiş olup, en düşük ise Spm 1 mM+tuz (0,20 mg/g)'dan elde edilmiştir.



Şekil 4.5. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, şikorik asit miktarına ait değerler

Kontrol grupları incelendiğinde şikorik asit miktarı kontrolde 1,27 mg/g tespit edilirken, tuz stresi altında düşüş göstermiş ve 0,12 mg/g elde edilmiştir.

Spermin uygulamasının her iki konsantrasyonunda şikorik asit miktarının tuz stresi altındaki uygulamalarına göre daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür. Kontrol grubu spermin uygulamalarından Spm 0,1 mM (1,13 mg/g) uygulamasında Spm 1mM (0,53 mg/g)'a göre şikorik asit daha yüksek miktarda elde edilmiştir. Tuz stresi altındaki spermin uygulamalarında da durum benzer olup Spm 0,1 mM+tuz (0,12 mg/g), uygulamasından, Spm 1 mM+tuz (0,10 mg/g) uygulamasına göre daha yüksek oranda şikorik asit elde edilmiştir.

Melatonin uygulamalarında en yüksek şikorik asit miktarı Mel 10 μM +tuz (1,87 mg/g) grubundan elde edilmiş olup, en düşük Mel 10 μM (0,14 mg/g) grubundan elde edilmiştir. Mel 1 μM (1,04 mg/g) grubunda şikorik asit, Mel 1 μM +tuz (0,26 mg/g) grubuna göre daha yüksek miktarda elde edilmiştir.

Uygulamalar genel olarak incelendiğinde stresli gruplarda kontrol gruplarına kıyasla şikorik asit miktarlarında azalış kaydedilirken, 10 µM Mel uygulamalarında aksi durum görülmüştür.

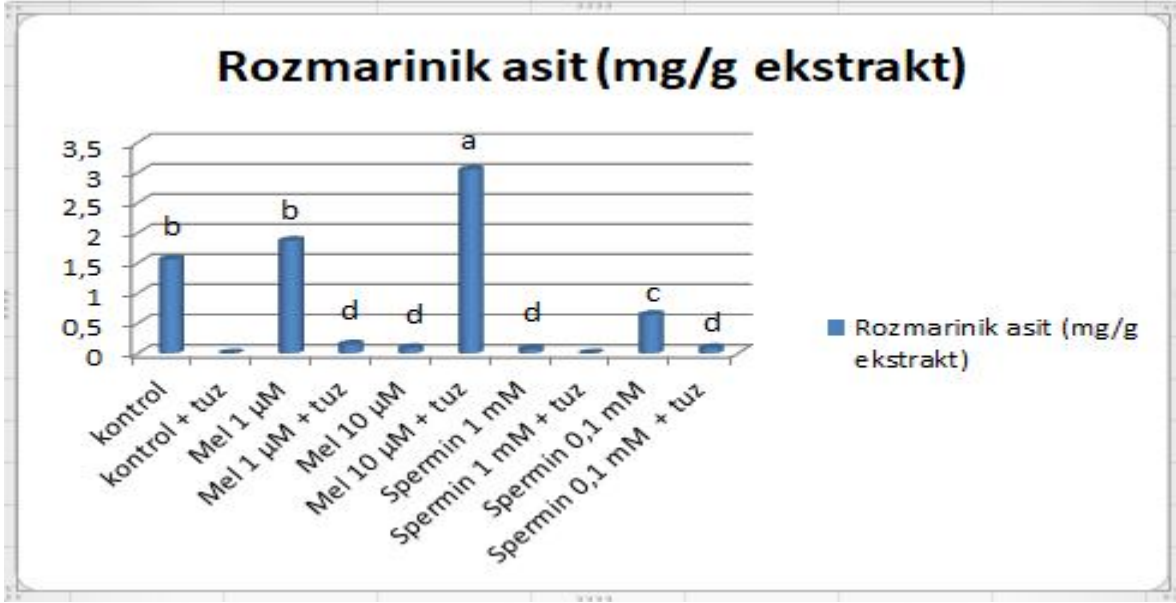
Çalışmalarımız sonucu kontrol grubu fesleğen bitkisindeki şikorik asit miktarı 1,27 mg/g ekstrakt bulunmuş olup literatürler incelendiğinde Kwee ve Niemeyer (2011) 15 fesleğen kültürü kuru örneklerinde şikorik asit miktarını 0.03-2.56 mg/g tespit etmiştir. Genç (2016), çalışmasında fesleğen bitkilerini Tokat ekolojisinde yetiştirerek şikorik asit miktarını 12.46-3788.55 mg/kg olarak tespit etmiştir. Sonuçlarımız her iki literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Bekhradi ve ark. (2015) mor yapraklı fesleğende 40 ve 80 mM tuz stresi uygulamaları ile şikorik asit miktarının azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamız Bekhradi ve ark. (2015)'nin çalışması ile uyum içerisindedir. Scagel ve ark. (2019) iki fesleğen çeşidinde [*O.basilicum* L. 'Sweet Broadleaf' (SB) ve 'Siam Queen' (SQ)] tuz stresi arttıkça şikorik asit miktarının her iki kültürde kontrole göre azalış gösterdiğini, orta seviye tuz stresinde küçük bir artış olurken, yüksek seviyede geri azalış görüldüğünü bildirmişlerdir. Çalışmamızda tuzlulukta şikorik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Bu yönüyle çalışmamız Scagel ve ark. (2019)'nin çalışmasına benzemektedir.

Darvizheh ve ark. (2018), spreyleme yolu ile spermin (Spm) uygulamasının ekinezya çiçeğinin şikorik asit miktarını kontrole göre kök, gövde ve yaprakta arttırdığını, Koca (2013), fesleğen bitkisinde Spm (0,1 ve 1 mM) uygulamalarıyla şikorik asit miktarının değişmediğini tespit etmiştir. Çalışmamız da 0,1 mM Spm uygulamasıyla şikorik asit miktarı değişmemiş, Spm 1 mM uygulamasıyla miktarın düştüğü tespit edilmiştir.

4.1.4.3. Rozmarinik asit miktarı

Fesleğende melatonin ve spermin uygulamaları ve tuz stresi sonucunda elde edilen rozmarinik asit miktarına ait değerler Çizelge 4.2 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Rozmarinik asit miktarına ait değerler incelendiğinde uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Uygulamalar arasında en yüksek miktarda rozmarinik asit Mel 10 µM+tuz (3,05 mg/g) uygulamasından elde edilmiş olup, en düşük ise Spm 1 mM (0,075 mg/g)'dan elde edilmiştir.



Şekil 4.5. Melatonin ve spermin uygulanan ve tuz stresine maruz bırakılan fesleğenlerde, rozmarinik asit miktarına ait değerler

Kontrol grubunda rozmarinik asit miktarı 1,56 mg/g bulunurken, kontrol tuz uygulamasından elde edilememiştir.

Kontrol spermin uygulamasının her iki konsantrasyonunda rozmarinik asit miktarının, tuz stresi uygulamalarına göre daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür. Kontrol spermin uygulamalarından Spm 0,1 mM (0,64 mg/g) konsantrasyonundan Spm 1 mM (0,075 mg/g) konsantrasyonuna göre daha yüksek miktarda rozmarinik asit elde edilmiştir. Spm 1 mM+tuz uygulamasında kontrol tuz uygulaması gibi rozmarinik asit içeriği tespit edilememiştir.

Melatonin uygulamalarında en yüksek rozmarinik asit miktarı Mel 10 µM+tuz (3,05 mg/g) grubundan elde edilmiş olup, en düşük Mel 10 µM (0,09 mg/g) grubundan elde edilmiştir. Mel 1 µM (1,87 mg/g) grubunda rozmarinik asit, Mel 1 µM+tuz (0,15 mg/g) grubuna göre daha yüksek miktarda elde edilmiştir.

Uygulamalar değerlendirildiğinde tuz stresi altına rozmarinik asit miktarlarının yüksek oranda azalış gösterdiği, Mel 10 µM+tuz uygulamasında ise kafeik ve şikorik asitte olduğu gibi tersi durum görülmektedir.

Fesleğen bitkisi ile yapılan birçok çalışmada rozmarinik asit fenolik maddeler içinde ana maddelerden biri olarak tespit edilmiştir (Javanmardi ve ark., 2002; Jayasinghe ve ark., 2003; Nguyen ve Niemeyer, 2008). Nguyen ve Niemeyer (2008), azot gübresi uygulamasıyla üç fesleğen varyetesinde, azot uygulamaları ile rozmarinik asit miktarının

azaldığını bildirmiştir. Literatürler incelendiğinde Bekhradi ve ark. (2015), mor yapraklı fesleğende 40 ve 80 mM tuz stresi uygulamalarının rozmarinik asit miktarını kontrol grubuna göre giderek azalttığını, Imen ve ark. (2012), iki fesleğen genotipini (*O.basilicum* L. Genovese ve Fine) 15-30 gün boyunca 25 mM Na₂SO₄ stresi altında yetiştirmiş her iki genotipte rozmarinik asit miktarının kontrole göre azaldığını bildirmişler. Scagel ve ark. (2019) İki fesleğen çeşidi [*O.basilicum* L. 'Sweet Broadleaf' (SB) ve 'Siam Queen' (SQ)], yaprakların tuz stresinde değişimini incelemek amacıyla dört farklı tuz (Kontrol, Düşük 10-50 mM, Orta 20-100 mM ve Yüksek 30-200 mM) konsantrasyonu uygulamış rozmarinik asit miktarı orta seviye tuz stresine kadar artış göstermiş, yüksek tuz stresinde tekrar küçük bir azalış görülmüştür. Çalışmamızda 100 mM tuz stresi altında rozmarinik asit tespit edilememiş ve Bekhradi ve ark. (2015) ve Imen ve ark. (2012)'nin sonuçlarına benzerlik göstermektedir.

Koca (2013), fesleğende spermin uygulamalarında 0,1 mM'ın rozmarinik asit miktarında değişime neden olmadığı ancak Spm 1 mM'ın rozmarinik asit miktarında azalmaya sebep olduğunu tespit etmiştir. Bizim çalışmamızda her iki Spm (0,1 ve 1mM) uygulamasının kontrole göre rozmarinik asit miktarını azalttığı tespit edilmiştir.

Duran ve ark. (2019), *O.basilicum* (fesleğen) kallus gelişimini ve fenolik bileşik üretimi üzerine melatoninin etkisini araştırmışlardır. Rozmarinik asit, 100 µM melatonin ilaveli besiyerinde kontrole göre yaklaşık 5 kat artarken, 200 µM'da 2 kat kadar artış göstermiştir. Çalışmamızda 1 µM Mel uygulamasında rozmarinik asit kontrole göre değişmemiş olup, 10 µM Mel'de azalış saptanmıştır.

Bistgani ve ark. (2019), farklı tuz konsantrasyonları (0, 30, 60 ve 90 mM) kullanarak yetiştirdikleri iki farklı kekik bitkisinde rozmarinik asit miktarının her iki türde de artan tuz konsantrasyonlarında kontrole göre artış gösterdiğini, Baâtour ve ark. (2012), *Origanum majorana*'da rozmarinik asit miktarının erken vejetasyon ve çiçeklenme döneminde değişiklik göstermezken, geç vejetasyon döneminde büyük bir düşüş gösterdiğini bildirmişlerdir. Baatour ve ark. (2013), mercanköşk (*Origanum majorana*) bitkisini (Tunus ve Kanada varyetesi) 75 mmol L⁻¹ tuz stresi altında kontrol grubu ile kıyaslayarak rozmarinik asiti, tuz stresi altında Tunus varyetesinde tespit edilemediğini, Kanada varyetesinde ise azalış gösterdiğini bildirmişler. Çalışmamızda fesleğen bitkisinde tuz uygulaması ile rozmarinik asit tespit edilememiştir. Sonuçlarımız Baatour ve ark. (2012, 2013)'nin çalışmaları ile uyumludur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) tohumlarına iki farklı konsantrasyonlarda BBD (Spm 0,1 ve 1mM, Mel 1 ve 10 μ M) uygulanmış, normal şartlarda ve arttırılarak uygulanan (25, 50, 75, 100 mM) tuz stresi şartlarında iklim odasında yetiştirilen, çiçeklenme öncesi hasat edilen fesleğenlerde tuzluluk ve BBD uygulamaları ile toplam fenolik madde, toplam flavonoid, DPPH antioksidan aktivite ve fenolik asitler incelenmiş olup alınan verim değerleri aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir.

Spektrofotometre sonuçları

1. Farklı uygulamalardan elde edilen veriler incelendiğinde DPPH antioksidan etkinin kontrol grubunda diğer tüm uygulamalara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur.

2. DPPH antioksidan aktivitenin tuzlulukla azaldığı tespit edilmiştir.

3. Kontrol+tuz (% 91,19) uygulamasının DPPH aktivitesi Mel 1 μ M+tuz (% 97,12) ve Mel 10 μ M+tuz (% 97,24) uygulamalarından daha düşük, Spm 0,1 mM+tuz (% 88,78) ve Spm 1 mM+tuz (% 82,63) uygulamalarından daha yüksek elde edilmiştir.

4. Bitkide tuzlulukla azalan DPPH üzerinden antioksidan etkinin Mel 1 ve 10 μ M uygulamaları ile tekrar yükseldiği tespit edilmiş olup, Spm uygulamasının tuzun negatif etkisini gideremediği görülmüştür.

5. Uygulamalardan elde edilen toplam fenolik miktarı incelendiğinde en yüksek değer Spm 0,1 mM uygulaması ve Mel 10 μ M+tuz uygulamasından elde edilmiştir.

6. Spm 0,1 mM uygulamasının toplam fenolik madde miktarı kontrol uygulamasından yaklaşık % 20 daha fazla attırdığı tespit edilmiştir. Spm 0,1mM+tuz'da ise kontrol+tuz'a göre herhangi bir değişiklik olmadığı böylece Spm 0,1 mM'ın bitkide normal şartlar altında fenolik madde miktarını arttırmada etkili olduğu ancak tuz stresinde çok etki göstermediği tespit edilmiştir.

7. Spm 1 mM+tuz uygulamalarında toplam fenol miktarı, kontrol+tuz'a göre yaklaşık % 50 daha az miktarda elde edilmiştir.

8. Spm 1 mM'ın ise toplam fenol miktarını biraz düşürdüğü, tuzlulukla beraber düşüşün daha da attığı tespit edilmiş, Spm uygulamalarından 1 mM konsantrasyonun

bitkiye yüksek dozda gelmiş olabileceği ve toksik etki göstermiş olabileceği düşünülmüştür.

9. Toplam fenolik madde miktarının Mel 10 μM +tuz hariç tuz uygulamalarında azaldığı tespit edilmiş olup, kontrol+tuz uygulamasına göre Mel+tuz (1 ve 10 μM) uygulamalarının toplam fenolik miktarı arttırdığı tespit edilmiştir.

10. Normal şartlar altında Mel (1 ve 10 μM) uygulamalarının fenolik madde miktarını düşürdüğü gözlenirken, tuz stresi şartlarında stresin negatif etkisini giderdiği tespit edilmiştir.

11. Uygulamalardan elde edilen toplam flavonoid miktarı incelendiğinde en yüksek değerlerin kontrol ve Mel 10 μM +tuz uygulamasından elde edildiği, toplam fenolde olduğu gibi toplam flavonoid miktarında da yüksek değerlerin Mel 10 μM +tuz uygulamasından elde edildiği görülmüştür.

12. Toplam flavonoid miktarının Mel 10 μM +tuz hariç tüm uygulamalarda tuzlulukla beraber azaldığı tespit edilmiştir.

13. Spm+tuz (0,1 ve 1 mM) uygulamalarının kontrol tuz uygulamasına göre daha düşük olduğu tespit edilmiş olup, toplam flavonoid miktarında, Spm uygulamasının tuz stresinde bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

14. Mel+tuz (1 ve 10 μM) uygulamalarından Mel 1 μM +tuz uygulamasının bitki tuz stresinde bir etkisinin olmadığı ancak Mel 10 μM +tuz uygulamasının çok etkili olduğu hatta kontrol uygulamasından daha fazla miktarda toplam flavonoid miktarı elde edildiği tespit edilmiştir.

HPLC analizleri sonucu

1. HPLC analizleri sonucu elde edilen fenolik asitlerden kafeik asit miktarı incelendiğinde en yüksek miktarın Mel 10 μM +tuz uygulamasından elde edildiği belirlenmiştir.

2. Kafeik asit, kontrol uygulamasında kontrol+tuz uygulamasına göre daha yüksek miktarda elde edilmiş, bu etki Mel (1 ve 10 μM) ve Spm (0,1 ve 1mM) uygulamalarında tuz stresi altında aksi durumu göstermiştir.

3. Mel+tuz (1 ve 10 μM) ve Spm+tuz (0,1 ve 1mM) uygulamalarında kafeik asit miktarı kontrol+tuz uygulamasına göre çok daha fazla miktarda elde edilmiş olup spermin ve melatonin uygulamalarının tuzlulukta etkili olduğu tespit edilmiştir.

4. Melatonin uygulamalarından normal şartlar altında Mel 1 μM kontrol uygulamasının kontrole göre kafeik asit miktarını arttırdığı, Mel 10 μM kontrol uygulamasının ise azalttığı tespit edilmiş, tuzlulukla beraber her iki uygulamada kafeik asit miktarında önemli bir artış gözlenmiştir.

5. Spermin uygulamalarında ise normal şartlar altında spermin uygulaması kafeik asit miktarında azalmaya neden olmuş ve bu azalma spermin konsantrasyonu arttıkça artış göstermiştir. Ancak Spm+tuz (0,1 ve 1mM) uygulanmalarının kontrol tuz uygulamasına göre her iki konsantrasyonda da çok etkili bir artışa neden olmuştur.

6. Fesleğen bitkisinde tuz stresine karşı spermin ve melatonin uygulamalarının kafeik asit miktarını arttırmada uygulanabilir olabileceği düşünülmektedir.

7. Uygulamalardan elde edilen şikorik asit miktarı incelendiğinde en yüksek miktar Mel 10 μM +tuz uygulamasından elde edilmiştir.

8. Mel 10 μM +tuz uygulaması hariç tüm uygulamalarda şikorik asit miktarının tuzlulukla beraber azaldığı tespit edilmiştir.

9. Spermin uygulamalarından Spm 0,1 mM uygulamasının normal şartlar altında ve tuzlulukta şikorik asit miktarında kontrol ve kontrol+tuz uygulamalarıyla karşılaştırıldığında değerlerin değişmediği tespit edilmiş, Spm 1 mM uygulamasında ise normal şartlarda şikorik asit miktarında azalmaya neden olduğu, tuz uygulaması ile beraber kontrol tuz uygulamasındaki miktara yakın bir değer elde edildiği görülmüştür.

10. Melatonin uygulamalarında Mel 1 μM uygulamasının şikorik asitte değişime neden olmadığı, Mel 10 μM uygulamasının şikorik asit miktarını azalttığı tespit edilmiş, kontrol+tuz uygulamasına göre Mel 1 μM +tuz ve Mel 10 μM +tuz'un şikorik asit miktarını artırdığı tespit edilmiştir. Bitkide tuz stresinin negatif etkisine karşı melatonin (1 ve 10 μM) uygulamalarının şikorik asit miktarını arttırmada kullanılabileceği öngörülmektedir.

11. Uygulamalardan elde edilen rozmarinik asit miktarı incelendiğinde en yüksek değer Mel 10 μM +tuz uygulamasından elde edildiği, kontrol+tuz ile Spm 1mM+tuz uygulamalarında rozmarinik asit tespit edilemediği görülmektedir.

13. Melatonin uygulamalarından normal şartlar altında rozmarinik asit miktarı Mel 1 μM uygulamasının kontrole göre değişmediği, Mel 10 μM uygulamasıyla azaldığı tespit edilmiş, tuz uygulamalarında Mel 1 μM +tuz uygulamasının rozmarinik asit miktarını arttırdığı, Mel 10 μM 'ın ise çok etkili bir artışa sebep olduğu tespit edilmiştir.

13. Spermin uygulamalarında normal şartlar altında spermin (0,1 ve 1 mM) konsantrasyonu arttıkça rozmarinik asit miktarının kontrole göre azaldığı tespit edilmiş, tuzlulukla beraber Spm 0,1 mM uygulaması rozmarinik asit miktarını biraz arttırdığı ancak Spm 1 mM uygulamasının miktarı arttırmadığı tespit edilmiştir.

16. Genel olarak normal şartlar altında ve tuzlulukta spermin uygulamalarının bitkide rozmarinik asit miktarını arttırmada bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda ve farklı yetiştirme koşullarında bu uygulamalar arttırılıp, denemeler yapılabilir.

Sonuç olarak melatonin uygulamalarının özellikle 10 µM konsantrasyonunun tuz stresinin toksik etkisini gidermede etkili olduğu, toplam fenol, flavonoid ve fenolik asitleri arttırdığı görülmüş ve çalışmanın amacına ulaşması sağlanmıştır.

Öneriler

Son yıllarda yapılan araştırmalarda rozmarinik asit'in antioksidan aktivitesinin E vitamininkinden daha güçlü olduğu, kanser ve damar tıkanıklığı riskini azaltırken serbest radikallerden kaynaklanan hücre hasarlarını önlediği, gıda korunmasında da kullanıldığı bildirilmiştir. Rozmarinik asit gibi şikorik asidin önemi de araştırmacılar tarafından dikkat çekmektedir. Şikorik asidin kendisinin HIV integrasyonunu inhibe ettiği ve antioksidan aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir. Diyet takviyeleri olarak, şikorik asit kaynağı Ekinezya bitkisel özleri çok popüler olmuştur. ABD'nin yıllık satışları 2000–2006 yıllarında 100–200 milyon dolar olarak tahmin edilmiştir, ancak ABD'li tüketiciler için fesleğen daha kolay temin edilmesi ile bu bileşiklerin ucuz kaynağı olarak gösterilmektedir. Bu önemli fenolik bileşiklerin geleceğin tarımsal sorunlarından birini oluşturan tuz stresi koşullarında melatonin uygulamaları ile arttırılması, çalışmamızın önemini vurgulamaktadır.

Çalışmamız sonucunda melatoninin daha yüksek konsantrasyonlarının bu bitkide denenmesi, farklı fesleğen genotiplerinde de denemeler yapıp sonuçlarımızla kıyaslanması, iklim odası koşullarında yetiştirilen bitkilerin tarla koşullarında verdiği tepkilerin araştırılması, bitkinin stres altında verdiği fizyolojik cevapların moleküler çalışmalarla desteklenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Akbulut, M., 2001. Kayısı ve zerdali meyvelerinde fenolik madde içerikleri ve bazı proseslerde görülen değişimler üzerine bir araştırma, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya 112s.
- Anonim <https://www.phytochemicals.info/phytochemicals.php>. 27.06.2019
- Anonim 2015. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/m5250?lang=en®ion=TR> (erişim tarihi: 15.10.2015)
- Arnao, M.B., 2014. Phytomelatonin: Discovery, Content, and Role in Plants. *Advances in Botany*, Article ID 815769, 11.
- Ashraf, M., 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora*. 199:361–376.
- Ashraf, M., Foolad., M.R., 2007. Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. *Environmental Experimental Botany*, 59: 206–216.
- Avşar, M., 2018. Kuraklık stresinde fenilalanin uygulamasının reyhan (*Ocimum basilicum* L.) bitkisinde fenolik bileşikler, antioksidan aktivite ve stres parametrelerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Eskişehir. 93s.
- Baatour, O., Mahmoudi, H., Tarchoun, I., Nasri, N., Trabelsi, N., Kaddour, R., Marzouk, B., 2013. Salt effect on phenolics and antioxidant activities of Tunisian and Canadian sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) shoots. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(1), 134-141.
- Baâtour, O., Tarchoun, I., Nasri, N., Kaddour, R., Harrathi, J., Drawi, E., Lachaâl, M., 2012. Effect of growth stages on phenolics content and antioxidant activities of shoots in sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) varieties under salt stress. *African Journal of Biotechnology*, 11(99), 16486-16493.
- Bahçesular, B., 2018. Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) Fiderine Melatonin Uygulamalarının Fizyolojik Parametrelere Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ksü, Kahramanmaraş. 68s.
- Bak, Z.D., 2009. Tuz Stresine maruz Bırakılan İki Kabak Çeşidinde (*Cucurbita pepo* L.) Salisilik asit Uygulamasıyla Gelişen Fizyolojik ve Biyokimyasal Değişimler. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon
- Baydar, H., 2013. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat fakültesi. Yayın No: 51.
- Bekhradi, F., Delshad, M., Marín, A., Luna, M.C., Garrido, Y., Kashi, A., Gil, M.I., 2015. Effects of salt stress on physiological and postharvest quality characteristics of different Iranian genotypes of basil. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56(6), 777-785.

- Bennett, R.N., Wallsgrave, R.M., 1994. Secondary Metabolites in Plant Defense Mechanisms. *New Phytologist*, 127(4), 617-633.
- Bistgani, Z.E., Hashemi, M., Da Costa, M., Craker, L., Maggi, F., Morshedloo, M.R., 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crops and Products*, 135, 311-320.
- Bonnefont-Rousselot, D., Collin, F., 2010. Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology*, 278: 55–67.
- Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E., 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161, (5), 839-851.
- Botella, M.A. Rosado, A., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M., 2005. Plant adaptive responses to salinity stress, *Plant Abiotic Stress*, Blackwell Publishing Ltd., 270.
- Bozcuk, S., Tekin, F., 1996. *Helianthus Annuus* L. Tohumlarının Çimlenmesi Ve Fide Gelişimi Üzerine Tuz Ve Ekzojen Polliaminlerin Etkisi, Ankara. Kasım sayısı. Proje No: TBAG-1265. 102s.
- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S. ve Aras, S., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar, *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*, 69(2): 97-110.
- Chattopadhyay, M.K., Tiwari, B.S., Chattopadhyay, G., Bose, A., Sengupta, D.N., Ghosh, B., 2002. Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 116(2), 192-199.
- Croft, K.D., Ann, N.Y., 1998. *Academic Science*, 854, 435–442.
- Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G., 2000. Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, 1250-1319.
- Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N., 2006. Phenols, polyphenols, and tannins: An overview *Plantsecondary metabolites*. Oxford Blackwell Publishing 1-24.
- Çelebi, Ç., 2010. Fesleğenin (*Ocimum basilicum*) fenolik madde dağılımı ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi, Ankara. 54s.
- Çerçi, S., 2012. Kuraklık stresinin değişik turunçgil anaçlarında bazı fotosentetik parametreler ve bitki besin maddeleri konsantrasyonları üzerine etkileri, *Yüksek lisans tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 83.
- Chokami, K.N., Abdossi, V., Samavat, S., Moghadam, A.L., Moradi, P., 2019. Effect of different polyamines on some physiological traits, growth, and development of basil (*Ocimum basilicum* L.) in salt stress under hydroponic culture conditions. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* Vol, 7(04), 7-13.
- Çulha, Ş. ve Çakırlar, H., 2012. Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11, 11-34.

- Danaee, E., Abdossi, V., 2019. Phytochemical and Morphophysiological Responses in Basil (*Ocimum basilicum* L.) Plant to Application of Polyamines. 18:69, 125-133.
- Darvizheh, H., Zahedi, M., Abaszadeh, B., Razmjoo, J., 2018. Effects of Irrigation Regime and Foliar Application of Salicylic Acid and Spermine on the Contents of Essential Oil and Caffeic Acid Derivatives in *Echinacea purpurea* L. Journal of plant growth regulation, 37(4), 1267-1285.
- Darvizheh, H., Zahedi, M., Abbaszadeh, B., Razmjoo, J., 2019. Changes in some antioxidant enzymes and physiological indices of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) in response to water deficit and foliar application of salicylic acid and spermine under field condition. Scientia horticulturae, 247, 390-399.
- Desingh, R., Kanagaraj G., 2007. Influence of salinity stress on photosynthesis and antioxidative systems in two cotton varieties. Gen. Appl. Plant Physiol, 33, 221-234
- Dubbels, R., Reiter, R.J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., Schiwara, H.W., Schloot, W., 1995. Melatonin in Edible Plants Identified by Radioimmunoassay And by High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry. Journal of Pineal Research, 18 (1): 28-31.
- Duran, R.E., Kilic, S., Coskun, Y., 2019. Melatonin influence on in vitro callus induction and phenolic compound production in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 1-8.
- Ekinci, M., Yıldırım, E., Dursun, A., Mohamedsrajadén, N., 2019. Putrescine, Spermine and Spermidine Mitigated the Salt Stress Damage on Pepper (*Capsicum annum* L.) Seedling. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 29(2), 290-299.
- Farouk, S., Al-Amri, S.M., 2019. Exogenous melatonin-mediated modulation of arsenic tolerance with improved accretion of secondary metabolite production, activating antioxidant capacity and improved chloroplast ultrastructure in rosemary herb. Ecotoxicology and environmental safety, 180, 333-347.
- Feng, X., Wang, M., Zhao, Y., Hana, P., Ying, D., 2014. Melatonin from Different Fruit Sources, Functional Roles, and Analytical Methods. Trends in Food Science and Technology, 37 (1): 21–3.
- Flanigan, P.M., Niemeyer, E.D., 2014. Effect of cultivar on phenolic levels, anthocyanin composition, and antioxidant properties in purple basil (*Ocimum basilicum* L.). Food chemistry, 164, 518-526.
- Gajula, D., Verghese, M., Boateng, J., Walker L.T., Shackelford, L., Mentreddy, S.R., Cedric, S., 2009. Determination of total phenolics, flavonoids and antioxidant and chemopreventive potential of basil (*Ocimum basilicum* L. and *Ocimum tenuiflorum* L.). International Journal of Cancer Research, 5(4), 130-143. 73.
- Gapińska, M., Skłodowska, M., Gabara, B., 2007. The morphological, biophysical and biochemical changes in the salinity-stressed tomato plant roots. In: 7 th International Conference Ecophysiological Aspects of Plant Responses to Stress Factors. Kraków, Poland, Acta Physiologiae Plantarum, 29 (1), 58, 7-82.

- Garrido, L., Monagas, M., Gomez-Cordovez, C., Bartolome, B., 2008. Polyphenols and antioxidant properties of almond skins: influence of industrial processing, *Food Chemistry*, 73, C106–C115.
- Genç, N., 2016. Tokat ekolojik koşullarında yetiştirilen farklı orijinli reyhan (*Ocimum basilicum* L.) genotiplerinin fenolik bileşik kompozisyonları ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Eskişehir. 119s.
- Göktürk Baydar, N., Özkan, G., Sağdıç, O., 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. *Food Control*, 15, 335-339.
- Gundy, G.C., Ralph, C.L., Wurst, G.Z., 1976. Parietal Eye in Lizards: Zoogeographical Correlates. *The Anatomical Record*, 190: 671-673.
- Gupta, K., Dey, A., Gupta, B., 2013. Plant polyamines in abiotic stress responses. *Acta Physiol Plant*, 35:2015-2036.
- Hansel, R., Sticker, O., 2007. *Pharmakognosie-Phytopharmazie*, Springer Lehrbuch, München
- Harborne, J.B., 1993. *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Chapman & Hall, London.
- Hardeland, R., Backhaus, C., Fadavi, A., 2007. Reactions of the NO redox forms NO⁺, NO and HNO (protonated NO⁻) with the melatonin metabolite N1-acetyl-5methoxykynuramine. *Journal of Pineal Research*, 43(4): 382–388.
- Hattori, A., Migitaka H., Masayaki I., Itoh M., Yamamoto K., Ohtani-Kaneko R., Hara M., Suzuki T., Reiter R.J., 1995. Identification of Melatonin in Plant Seed its Effects on Plasma Melatonin Levels and Binding to Melatonin Receptors in Vertebrates. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 35: 627–634.
- Hausler, E., Petersen, M., Alfermann, A.W., 1992. Rosmarinsäure in *Blechnum* Spezies. In: Haschke, H.P., Schnarrenberger, C. (Eds.), *Botanikertagung*. Berlin. Akademie Verlag, Berlin, 507.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. and Bobilya, D.J., 2002, Flavonoid antioxidants; Chemistry, metabolism and structure- activity relationships, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13,572-584.
- Huang, M., Ferraro T., 1991. Phenolic compounds in food cancer prevention, *American Chemical Society Symposium Series* 507, 8-35.
- Imen, T., Cristina, S., Riccardo, I., Flavia, N.I., Zeineb, O., 2012. Phenolic acids and total antioxidant activity in *Ocimum basilicum* L. grown under Na₂SO₄ medium. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(48), 5868-5875.
- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H.P., Vivanco, J.M., 2002. Chemical Characterization of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Found in Local Accessions and Used in Traditional Medicines in Iran. *J. Agric. Food Chem.*, 50 (21): 5878-5883.

- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J.M., 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food chemistry*, 83(4), 547-550.
- Jayasinghe, C., Gotoh, N., Aoki, T., Wada, S., 2003. Phenolics Composition and Antioxidant Activity of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Agric Food Chem.*, 51(15): 4442-4449.
- Juliani, H.R., Simon, J.E., 2002. Antioxidant activity of basil. *Trends in new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria, VA, 575(9).
- Kahveci, H., 2018. Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.)' de tuz stresine karşı toleransın farklı bitki büyüme düzenleyiciler ile kontrolü ve fizyolojik parametrelerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ksü, Kahramanmaraş. 67s.
- Kampa, M., Alexaki, V.I., Notas, G., Nifli, A.P., Nistikaki, A., Hatzoglou, A., Bakogeorgou, E., Kouimtzoğlu, E., Blekas, G., Boskou, D., Gravanis, A., Castanas, E., 2004. *Breast Cancer Res*, 6, R63-R74.
- Karaman, S., Kirecci, O.A., Ilcim, A., 2008. Influence of polyamines (spermine, spermidine and putrescine) on The Essential Oil Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 20(4), 288-292.
- Kayır, Ö., 2014. Farklı lokasyonların ve hasat dönemlerinin bazı reyhan (*Ocimum basilicum* L.) genotiplerinin fenolik bileşik içeriği ve antioksidan aktivite üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir. 95s.
- Khalil, M.Y., Moustafa, A.A., Naguib, N.Y., 2007. Growth, phenolic compounds and antioxidant activity of some medicinal plants grown under organic farming condition. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3 (4), 451-457.
- Kireççi, O.A., 2006. Bazı Sentetik Hormonların (Giberillik Asit, Spermin, Spermidin, Putresin) Fesleğen (*Ocimum Basilicum*) Bitkisinde Morfolojik Yapı Ve Uçucu Yağ Kalitesine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi .Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 68 s.
- Koca, H., Bor, M., Özdemir, F., Türkan, İ., 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 344-351.
- Koca, N., 2013. Ekzojen bitki büyüme düzenleyicilerinin ve fenilalaninin fesleğen (*ocimum basilicum* L.) bitkisinde sekonder metabolitlere ve fenilalanin amonyum liyaz (PAL) enzim aktivitesine etkisi. Doktora Tezi, Ksü, Kahramanmaraş.
- Koç, E., Üstün, A.S., İşlek, C., Arıcı, Y.K., 2014. Effect of exogenously applied spermine and putrescine on germination and in vitro growth of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds under salt stress. *Anadolu University of Sciences & Technology-C: Life Sciences & Biotechnology*, 3(2), 63-71.

- Kostopoulou, Z., Therios, I., Roumeliotis, E., Kanellis, A.K., Molassiotis, A., 2015. Melatonin combined with ascorbic acid provides salt adaptation in *Citrus aurantium* L. seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 86, 155-165.
- Kulak, M., 2016. Su stresi ve salisilik asit ön uygulamalarının fesleğen (*Ocimum basilicum* L.)'in fizyolojik parametreleri ve protein içeriğine etkileri. Doktora Tezi, Ksü, Kahramanmaraş.196s.
- Kurland, C.G., Andersson, S.G., 2000. Origin and Evolution of The Mitochondrial Proteome. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 786-820.
- Kusano, T., Yamaguchi, K., Berberich, T., Takahashi, Y., 2007. Advances in polyamine research in 2007. *Journal of plant research*, 120(3), 345-350.
- Kushi, L.H., Folsom, A.R., Prineas, R.J., Mink, P.J., Wu, Y., Bostick, R.M., 1996. Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *The New England Journal of Medicine*, 334, 1156-1162.
- Kuşvuran, Ş., 2010. Kavunlarda kuraklık ve tuzluluğa toleransın fizyolojik mekanizmaları arasındaki bağlantılar. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi. Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı, Adana.
- Kwee, E.M., Niemeyer, E.D., 2011. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 128(4), 1044-1050.
- Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H., Mori, W., 1958. Isolation of Melatonin, the Pineal Factor that Lightness Melanocytes. *Journal of American Chemical Society*, 80: 2587-2592.
- Litvinenko, V.I., Popova, T.P., Simonjan, A.V., Zoz, I.G., Skolov, V.S., 1975. "Gerbstoffe" und Oxyzimtsäureabkömmlinge in Labiaten. *Planta Medica*, 27, 372-380.
- Mandalari, G., Tomaino, A., Arcoraci, T., Martorana, M., Lo Turco, V., Cacciola, F., Righ, G.T., Bisignano, C., Saija, A., Dugo, P., Cross, K.L., Parker, M.L., Waldron, K.W., Wickham, M.S.J., 2010. Characterization of polyphenols, lipids and dietary fibre from almond skins (*Amygdalus communis* L.), *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 166–174
- Marinova, E.M., Yanishlieva, N.V., 2003. Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures, *Food Chemistry*, 81, 189-197.
- Moghaddam, M., Mehdizadeh, L., 2015. Variability of total phenolic, flavonoid and rosmarinic acid content among Iranian basil accessions. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 535-540.
- Murch, S.J., Saxena, P.K., 2002. Melatonin: a Potential Regulator of Plant Growth and Development? *In vitro Cellular Developmental Biology Plant*, 38: 531–536.

- Murch, S.J., Simmons, C.B., Saxena, P.K., 1997. Melatonin in Feverfew and Other Medicinal Plant. *Lancet*, 350: 1598-1599.
- Nguyen, P.M., Niemeyer, E.D., 2008. Effects of nitrogen fertilization on the phenolic composition and antioxidant properties of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8685-8691.
- Orabi, S.A., Talaat, I.M., Balbaa, L.K., Abdalla, M., 2017. Influence of pyridoxine and spermine on lemongrass (*Cymbopogon citratus*) plants. *Jurnal Nasional*, 7(2), 139-
- Özgen, M., Ertunç, F., Kınacı, G., Yıldız, M., Birsin, M., Ulukan, H., Emiroğlu, H., Koyuncu, N. ve Sancak, C., 2005. Tarım Teknolojilerinde Yeni Yaklaşımlar ve Uygulamalar: Bitki Biyoteknolojisi. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Cilt 1, 315–346, Ankara
- Pal, M., Szalai, G., Janda, T., 2015. Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Science*, 237: 16-23.
- Paredes, S.D., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan, D.X., Reiter, R.J., 2009. Phytomelatonin: a Review. *Journal of Pineal Research*, 60: 57-69.
- Peiter, E., Maathuis, F.J., Mills, L.N., Knight, H., Pelloux, J., Hetherington, A.M., Sanders, D., 2005. The vacuolar Ca²⁺ activated channel *TPC1* regulates germination and stomatal movement. *Nature*, 434(7031), 404.
- Petersen, M., Simmonds, M.S., 2003. Rosmarinic acid, *Phytochem.*, 62 (2), 121–125.
- Peyrat-Maillard, M.N., Bonnely, S., and Berset, C., 2000. Determination of the antioxidant activity of phenolic compounds by coulometric detection, *Talanta* 51, 709-716.
- Poeggeler, B., Hardeland, R., 1994. Detection and Quantification of Melatonin in a Dinoflagellate, *Gonyaulax polyedra* : Solutions to the Problem of Methoxyindole Destruction in Non-Vertebrate Material. *Journal of Pineal Research*, 17(1): 1-10.
- Posmyk, M.M., Janas, K.M., 2009. Melatonin in Plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 1–11.
- Rawn, H., Pedersen, M.F., Andary, J., Borum, C., Anthoni, U., Cristophersen, C., Nielsen, P.H., 1994. Seasonal variation and distribution of two phenolic compounds, rosmarinic acid and caffeic acid, in leaves and roots-rhizomes of eelgrass (*Zostera marina* L.), *Ophelia*, 40, 51-61
- Richards, F.J., Coleman, R.G., 1952. Occurrence of putrescine in potassium-deficient barley. *Nature*, 170:395– 401.
- Robbins, R.J., 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology, *Food Composition Laboratory, Beltsville Human Nutrition Research Center, USA*, 10, 2866-87.

- Roychoudhury, A., Basu, S., Sengupta, D.N., 2011. Amelioration of salinity stress by exogenously applied spermidine or spermine in three varieties of indica rice differing in their level of salt tolerance. *Journal of plant physiology*, 168(4), 317-328.
- Saeidnejad, A.H., Kafi, M., Dashti, M., 2016. Ameliorative effects of spermine application on physiological performance and salinity tolerance induction of susceptible and tolerant cultivars of wheat (*Triticum aestivum*). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62(10), 1337-1346.
- Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Dimassi-Theriou, K., Therios, I., Koularmani, A., 2015. Effect of melatonin, salicylic acid and gibberellic acid on leaf essential oil and other secondary metabolites of bitter orange young seedlings. *Journal of Essential Oil Research*, 27(6), 487-496.
- Scagel, C.F., Lee, J., Mitchell, J.N., 2019. Salinity from NaCl changes the nutrient and polyphenolic composition of basil leaves. *Industrial crops and products*, 127, 119-128.
- Schuster, B., Herrmann, K., 1985. Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits, *Phytochemistry*, 24, 2761-2764.
- Shu, S., Yuan, L. Y., Guo, S. R., Sun, J., Liu, C. J., 2012. Effects of exogenous spermidine on photosynthesis, xanthophyll cycle and endogenous polyamines in cucumber seedlings exposed to salinity. *African Journal of Biotechnology*, 11(22), 6064-6074.
- Solmaz, S., 2017. Tuz stresinin reyhan (*Ocimum basilicum* L.) bitkisinde flavonoid grubu bileşikler, antioksidan aktivite ve stres parametrelerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Eskişehir. 97s.
- Sökmen, A., Gürel, E., 2001. Sekonder Metabolit Üretimi, Bitki Biyoteknolojisi. Doku Kültürü ve Uygulamaları, 211-261, S.Ü.Vakfı Yayınları, Konya.
- Sroka, Z., Cisowski, W., 2003. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and antiradical activity of some phenolics acids, *Food and Chemical Toxicology* 41, 753-758.
- Strack, D., 1997. Phenolic metabolism. In P.M. Dey and J.B. Harborne (eds). *Plant Biochemistry* 387-416.
- Taârit, M. B., Msaada, K., Hosni, K., Marzouk, B., 2012. Fatty acids, phenolic changes and antioxidant activity of clary sage (*Salvia sclarea* L.) rosette leaves grown under saline conditions. *Industrial Crops and Products*, 38, 58-63.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2007. Sekonder Metabolitler ve Bitkisel Savunma. Bitki Fizyolojisi. Palme Yayınevi, Ankara. 690s
- Takeda, R., Hasegawa, J., Sinozaki, M., 1990. The first isolation of lignans, megaceratonic acid and anthoceratonic acid, from non-vascular plants, Anthocerotae (hornworts), *Tetrahedron Letters*, 31, 4159-4162

- Tan, D.X., Manchester, L.C., Di Mascio, P., Martinez, G.R., Prado, F.M., Reiter, R.J., 2007a. Novel rhythms Of N1-Acetyl-N2-Formyl-5-Methoxykynuramine and Its Precursor Melatonin in Water Hyacinth: Importance for Phytoremediation. The Faseb Journal, 21(8): 1724-1729.
- Tan, D.X., Manchester, L.C., Helton, P., Reiter, R.J., 2007b. Phytoremediative Capacity of Plants Enriched with Melatonin. Plant Signaling and Behavior, 2: 514-516.
- Tapiero, H., Tew, K., D., Nguyen, B.A.G., Mathe, G., 2002, Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies, Biomedicine & Pharmacotherapy, 56, 200-207.
- Tarnawski, M., Depta, K., Grejciun, D., Szelepin, B., 2006. HPLC determination of phenolic acids and antioxidant activity in concentrated peat extract-a natural immunomodulator, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41, 182–188.
- Telci, İ., 2005. Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) Genotiplerinde Uygun Biçim Yüksekliklerinin Belirlenmesi (Determination of suitable harvesting height in basil (*Ocimum basilicum* L.) genotypes). GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi, 2005, 22 (2), 77-83).
- Tepe, B., 2006. Rozmarinik asitin *Satureja hortensis* L. kallus kültürlerinde üretimi ve optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tohma, Ö., 2007. Çilekte Salisilik Asit Uygulamasının Tuz Stresine Dayanıklılık Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Tolonen, A., 2003. Analysis of Secondary Metabolites in Plant and Cell Culture Tissue of *Hypericum perforatum* L. and *Rhodiola rosea* L. Qulu Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Torun, H., 2012. Tuz Stresine Maruz Bırakılan Arpa Çeşitlerinde Salisilik Asit Muamelesinin İçsel Fitohormonlar Düzeyinde Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Traber, M.G., Sies, H., 1996. Vitamin E in humans: demand and delivery. Annual Review Nutrition, 16, 321-347.
- Tuteja, N., 2007. Mechanisms of High Salinity Tolerance in Plants. Methods in Enzymology, 428, 419-438.
- Uylaşer, V., İnce, K., 2008. Şaraptaki Antioksidanlar ve Fenolik Bileşikler. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum Üniversitesi Yayın no:51, s.347
- Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Kholdebarin, B., Rowshan, V., 2014. Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. South African Journal of Botany, 93, 92-97.
- Venegas, C., Garcia, J.A., Escames, G., Ortiz, F., Lopez, A., Doerrier, C., Garcia-Corzo, L., Lopez, L.C., Reiter, R.J., Acuna-Castroviejo, D., 2012. Extrapineal Melatonin:

- Analysis of Its Subcellular Distribution and Daily Fluctuations. *Journal of Pineal Research*, 52: 217-227.
- Vermerris W., Nicholson R., 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer, Dordrecht, Netherlands, 285 s.
- Wei, Z., Li, C., Gao, T., Zhang, Z., Liang, B., Lv, Z., Ma, F., 2019. Melatonin increases the performance of *Malus hupehensis* after UV-B exposure. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 630-641.
- Xu, L., Yue, Q., Bian, F. E., Sun, H., Zhai, H., Yao, Y., 2017. Melatonin enhances phenolics accumulation partially via ethylene signaling and resulted in high antioxidant capacity in grape berries. *Frontiers in plant science*, 8, 1426.
- Yediıldız, A. G., 2008. Kuraklık ve tuz stresi uygulanan buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinde antioksidant enzim aktivitesindeki değişimlerin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Yoda, H., Hiroi, Y., Sano, H., 2006. Polyamine oxidase is one of the key elements for oxidative burst to induce programmed cell death in tobacco cultured cells. *Plant Physiology*, 142(1), 193-206.
- Yu, S., Wang, W., Wang, B., 2012. Recent progress of salinity tolerance research in plants. *Russian Journal of Genetics*. 48:497–505.
- Zarate, R., Yeoman, M. M., 2003. *Application of Recombinant DNA Technology to Studies on Plant Secondary Metabolism*. Festschrift Neumann, 07.
- Zhao, J., Wang, J., Chen, Y., Agarwal, R., 1999. Anti-tumor promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two stage initiation promotion protocol and identification of procyanidin B5-3-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis*, 20, 1737-1745.

ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Meral KARAÇOCUK
Uyruğu : TC
Doğum tarihi ve yeri : 22.01.1985 – AFYONKARAHİSAR
Medeni hali : Bekar
Telefon : +90(544) 294 02 83
e-posta : meralkaracocuk@outlook.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	K.S.Ü / Fen Bilimleri Enstitüsü	2019
Lisans	İnönü Üniversitesi / Fen Edebiyat Fakültesi	2008
Lise	Fatih Lisesi	2003

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar 1. Dıraz Yıldırım, E., Karaman, Ş., Karaçocuk, M., Bilginer, N. Determination of Effective Hplc Method for Phenolic Compounds Of Ocimum basilicum. 1st International Gap Agriculture and Livestock Congress 2018, ŞANLIURFA (POSTER)

EKLER



EK Şekil 1: *Ocimum basilicum*'un iklimlendirme odasındaki görüntüsü



EK Şekil 2: *Ocimum basilicum*'un 1 μ M melatonin uygulanmış yaprak ekstraktı



EK Şekil 3: *Ocimum basilicum*'un melatonin uygulamaları ile kontrol grubu ekstraktı



EK Şekil 4: *Ocimum basilicum*'un spermin ve melatonin uygulamalarına ait ekstraktlar.



EK Şekil 5: *Ocimum basilicum*'un kontrol ve kontrol tuz uygulamasına ait ekstraktlar.