



Farklı Dozlarda Deniz Yosunu Uygulanmış Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.)'nda Fenolik Madde İçeriği, Antioksidan Kapasite ve Antioksidatif Yanıtlar

Total Phenolic Contents, Antioxidant Capacity and
Antioxidative Responses in *Salvia fruticosa* Mill.
Treated with Different Doses of Seaweed

Ruvejde YILMAZ¹, Ayşegül AKPINAR², Asuman CANSEV³

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye
• ruveydenuryilmaz16@gmail.com • ORCID > 0000-0001-5989-4860

² Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Bilecik, Türkiye
• agulugur@gmail.com • ORCID > 0000-0002-4606-0645

³ Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Bursa, Türkiye
• auslu@uludag.edu.tr • ORCID > 0000-0002-3353-846X

Makale Bilgisi / Article Information

Makale Türü / Article Types: Araştırma Makalesi / Research Article

Geliş Tarihi / Received: 22 Eylül / September 2021

Kabul Tarihi / Accepted: 24 Ekim / October 2021

Yıl / Year: 2022 | **Cilt – Volume:** 37 | **Sayı – Issue:** 1 | **Sayfa / Pages:** 203-217

Atıf/Cite as: Yılmaz, R., Akpınar, A. ve Cansev, A. "Farklı Dozlarda Deniz Yosunu Uygulanmış Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.)'nda Fenolik Madde İçeriği, Antioksidan Kapasite ve Antioksidatif Yanıtlar - Total Phenolic Contents, Antioxidant Capacity and Antioxidative Responses in *Salvia fruticosa* Mill. Treated with Different Doses of Seaweed". Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi - Anadolu Journal of Agricultural Sciences, 37(1), Şubat 2022: 203-217.

<https://doi.org/10.7161/omuanajas.999463>

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: agulugur@gmail.com



FARKLI DOZLARDA DENİZ YOSUNU UYGULANMIŞ ANADOLU ADAÇAYI (*SALVIA FRUTICOSA* MİLL.)'NDA FENOLİK MADDE İÇERİĞİ, ANTİOKSİDAN KAPASİTE VE ANTİOKSİDATİF YANITLAR

ÖZ:

Doğal ve zengin besin içeriği nedeniyle tarımda deniz yosunu uygulamalarına olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle deniz yosunu uygulamalarının kullanım alanı ve dozları ile ilgili çalışmaların yaygınlaştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle adaçayı gibi tıbbi ve aromatik bitkiler sınıfına giren bitki türlerinde doğal içerikli ürünlerin kullanımı önemlidir. Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.), diğer adaçayı türleri içerisinde fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesi yüksek olan türlerden biridir. Bu kapsamda çalışmamızda Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkisinde farklı dozlarda (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) deniz yosunu uygulamalarına bağlı olarak toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasite ve antioksidatif enzim (SOD ve CAT) yanıtları incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre 1 g/L deniz yosunu uygulamasının Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa*) bitkilerinde stres oluşturmadığı ve aynı zamanda toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasite bakımından istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda, farklı deniz yosunu içeriklerinin Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa*) bitki türü üzerindeki etkileri, çeşitli dozlar ve uygulama şekilleri denenerek çalışmaların detaylandırılması önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Deniz yosunu, Anadolu adaçayı, Antioksidatif metabolizma



TOTAL PHENOLIC CONTENTS, ANTIOXIDANT CAPACITY AND ANTIOXIDATIVE RESPONSES IN *SALVIA FRUTICOSA* MİLL. TREATED WITH DIFFERENT DOSES OF SEAWEED

ABSTRACT:

The interest in seaweed applications in agriculture is increasing day by day due to its natural and rich nutritional content. However, there is a need to expand studies on the use and doses of seaweed applications. It is important to use products with natural ingredients, especially in plant species that fall under the class of medicinal and aromatic plants such as *Salvia fruticosa*. *Salvia fruticosa* Mill. have high phenolic content and antioxidant capacity. In our study, the total phenolic content, antioxidant capacity and antioxidative enzyme (SOD and CAT) responses in *Salvia fruticosa* plant were investigated depending on seaweed applications at different

doses (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L and SW-4: 2 g/L). According to the results of the study, it was observed that 1 g/L seaweed application did not cause stress in *Salvia fruticosa* plants and at the same time gave statistically significant results in terms of total phenolic content and antioxidant capacity. In future studies, it has been suggested to elaborate the studies by testing the effects of different seaweed contents on *Salvia fruticosa*, various doses and application methods.

Keywords: Seaweed, *Salvia fruticosa*, Antioxidative metabolism



1. GİRİŞ

Ülkemizde ve dünyada gerek kullanım alanları ve üretimi, gerek piyasadaki hacmiyle gün geçtikçe önem kazanmakta olan tıbbi ve aromatik bitkiler, içerdiği etken maddeler nedeniyle insan sağlığı için fayda sağlayan fonksiyonel gıdalar olarak kullanılmaktadır (Acıbuca ve Budak, 2018). İçerdikleri biyoaktif bileşikler, özellikle fenolik maddeler nedeniyle doğal bir antioksidan kaynağı olarak kabul edilmektedirler (Sindhi ve ark., 2013). Bu sayede fenolik maddeler içeren tıbbi ve aromatik bitkilerin serbest radikal süpürücü olarak bir fonksiyona sahip olduğu ifade edilmektedir (Tusevski ve ark., 2014).

Türkiye, mevcut coğrafi konumu ve tarımsal potansiyeli dolayısıyla tıbbi ve aromatik bitkilerin yetiştiriciliğinde önemli bir ayrıcalığa sahiptir. Türkiye florasında 10.000 den fazla aromatik bitkinin bulunduğu bilinmektedir (Türkan ve ark., 2006). Ancak bu bitkiler genellikle ülkemizin doğal florasında yer alır ve farklı iklim özelliklerine sahip bölgelerde gelişen bu türlerin etken madde içeriği yetiştiği ortama göre değişiklik gösterir. Gıda, ilaç gibi pek çok sektörde kullanılan bu etken maddeler nedeniyle tıbbi ve aromatik bitki yetiştiriciliğinde standart ürün elde edilmesi ve bu konuda sürdürülebilir tarımın yaygınlaştırılması gerekmektedir (Karık ve ark., 2013). Bu nedenle günümüzde tıbbi ve aromatik bitki yetiştiriciliğinde doğal gübre/ biyo gübre kullanımı önemli bir yere sahiptir.

Deniz yosunu, organik gübreler içerisinde etkinliği kanıtlanmış bir üründür ve verimliliği artırmak için kullanılmaktadır. Organik gübre olarak kullanılan deniz yosunu özütlerinin, makro element olan N,P,K ve mikro besin elementleri olan Fe, Cu, Zn, Mo, Mn içerdiğini aynı zamanda bünyesinde hormon(oksin ve sitokinin), vitamin ve amino asitleri içerdiği bilinmektedir (Shukla ve ark., 2019). Günümüzde deniz yosunu özütlerinin tarımda organik gübre olarak kullanımı, dünya çapındaki toplam pazarın %33'ünden fazlasını oluşturmaktadır ve 2022'de 894 milyon € luk bir değere ulaşacağı tahmin edilmektedir (EL Boukhari ve ark., 2020). Son yıllarda giderek artan bir popüleriteye sahip olan deniz yosunu özütleri, bitkisel

ürünün kalitesini artırma, bitki büyümesini ve gelişmesini olumlu etkileme gibi olumlu fizyolojik etkilere sahip olması nedeniyle tıbbi ve aromatik bitki yetiştiriciliğinde önem kazanmıştır (Kumar ve ark., 2012). Fakat bu konuda yapılan araştırmalar, hali hazırda tarımı yapılan tıbbi ve aromatik bitki çeşitlerini tam olarak karşılamamakta olup deniz yosununun uygulama şekilleri ve dozlarının hangi bitkide hangi etkiyi yaratacağı henüz belirlenmemiştir. Tıbbi ve aromatik bitkilerde organik üretime artan talep doğrultusunda bu uygulamaların yaygınlaştırılması ve araştırılması gerekmektedir.

Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) ülkemizin kuzeybatısından güneybatısına kadar uzanan bölgede farklı lokasyonlarda yayılış gösteren ve ticari önemi olan tıbbi ve aromatik bir türdür. İçerdiği etken maddelerden dolayı sağlık alanında kullanımının artması ve bitkinin yapraklarının çay olarak tüketilmesi Anadolu adaçayı bitkisinin popüleritesini gün geçtikçe arttırmaktadır. *Lamiaceae* (Ballıbağiller) familyasına ait bu bitki içerdiği hoş, keskin kokusundan dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayisinde de büyük öneme sahiptir. Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa*) Trakya'da, Batı ve Güneybatı Anadolu'da yetişen, yumuşak sık tüylü ve grimsi renkte yapraklar taşıyan bir çalıdır. Yapraklardan elde edilen uçucu yağ (elmayağı) %60 kadar 1,8-cineole taşır ve bu bakımdan tıbbi adaçayıdan (*Salvia officinalis* L.) daha değerlidir (Baytop 1996). Anadolu adaçayı bitkisinde deniz yosunu uygulamasına ait literatürde geçen bir çalışma mevcut değildir, bunun üzerine adaçayı bitkisinin yetiştirilmesinde deniz yosununun spreyleme yoluyla yapraklara uygulanmasına yönelik araştırma sorusu oluşmuştur. Dolayısıyla, bu çalışmanın amacı farklı dozlarda (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) deniz yosunu uygulanmış Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkisinde toplam fenolik madde içeriğinin ve antioksidan kapasitenin belirlenmesidir. Çalışmamızda ayrıca bitkinin superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ile enzimatik antioksidatif yanıtları takip edilmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde Araştırma ve Uygulama alanında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda çeliktan üretilen ve UludağAgro firmasından alınan Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) fideleri kullanılmıştır. Adaçayı fideleri 1:1 oranında perlit: torf karışımı içeren 14 x 12 cm lik saksılara dikilmiştir. Fidelere düzenli sulama uygulanmış olup iki hafta sonra deniz yosunu uygulamaları yapraklara spreyleme yoluyla yapılmıştır. 15 Temmuz- 15 Ağustos 2020 tarihleri arasında toplamda 1 ay boyunca iki günde 1 kez yapraklara spreyleme yoluyla farklı dozlarda (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) deniz yosunu uygulanmıştır. Çalışmamızda kullanılan deniz yosununun içeriği aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan deniz yosunu içeriği (Leili Alga600 toz deniz yosunu)

Table 1. Seaweed content used in the study (Leili Alga 600 powder seaweed)

Organik madde	% 35-45
K ₂ O	% 18
Yoğunluk	0.5-0.55 g/cm ³
Doğal bitki hormonları (PGR)	600 ppm
Alginek asit	%12-15
pH	9-11

Uygulama sonunda bitkiler hasat edilerek aşağıda belirtilen analizler gerçekleştirilmiştir.

2.1 Toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasite tayini

Bir miktar (2 g) bitki örneği 1/80/10 oranında HCl/metanol/su içinde homojen hale getirilmiştir (Vitali ve ark., 2009). Ardından su banyosunda 2 saat inkübasyona bırakılmış ve 3500 rpm de 10 dk santrifüj edilmiştir. Toplam fenol içeriği, DPPH süpürme aktivitesi ve CUPRAC analizlerinde kullanılıncaya kadar -80°C'de saklanmıştır.

Toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde, Apak ve ark. (2008) tarafından açıklanan bir yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde, ekstre edilen bitki örneklerinden 100 µl alınarak 2000 µl ye su (dd H₂O) ile tamamlanmıştır. Ardından üzerine Lowry C eklenecek 10 dk beklenmiştir. Lowry C çözeltisi, 0.1 mol/L NaOH içinde %2 lik Na₂CO₃ olacak şekilde hazırlanan Lowry A çözeltisi ile %1 lik NaKC₄H₄O₆ içinde %0.5 lik CuSO₄ olacak şekilde hazırlanan Lowry B çözeltisinin 50:1 (v/v) oranında karıştırılmasıyla oluşturulmuştur. Sonrasında örnek içeren karışım, 250 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ile reaksiyona sokulmuştur. Ardından örnekler karıştırılarak 30 dakika inkübasyona bırakılmış ve 750 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Gallik asit standart olarak kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlanmış ($y = 0,2768x - 0,0394$ $R^2 = 0,9882$) ve bu eğriye göre örneklerin toplam fenol içeriği mg gallik asit eşdeğerleri (GAE)/g taze ağırlık olarak ifade edilmiştir.

Bu çalışmada antioksidan kapasitesinin (AC) belirlenmesinde CUPRAC ve DPPH yöntemleri kullanılmıştır. CUPRAC yönteminde (Cu(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite), Apak ve ark. (2008) tarafından açıklanan bir yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde 2,9-dimetil-1, 10-fenantrolin (Neokuproin-Nc)'in Cu (II) ile meydana getirdiği Cu (II)-neokuproin kompleksinin 450 nm'de Cu (I)-neokuproin şelatına indirgenme kapasitesinden faydalanılır. Ekstre edilen örnekler saf su (dd H₂O) ile 1mL ye tamamlanır. Üzerine 10⁻² M CuCl₂ ve 7.5x10⁻³ M neokuproin ve 1 M NH₄Ac ilave edilerek örnekler 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. Ardından 450 nm'de nihai absorbansı ölçümü yapılarak µmol Trolox eşdeğeri (TE)/g taze ağırlık olarak ifade edilmiştir. Standart olarak trolox kullanılmıştır ($y = 1,3506x +$

0,0195 R² = 0,9612).

Numunelerin DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, Boskou ve ark., (2006) tarafından ifade edilen yöntemle yapılmıştır. Bu yöntemde, ekstre edilen bitki örnekleri, 6×10^{-5} M DPPH radikalinin metanolik çözeltisi ile karıştırılmıştır. Daha sonra reaksiyonun 30 dakika boyunca karanlıkta gerçekleşmesine izin verilmiştir ve 515 nm'de absorbans ölçülmüştür. Farklı Trolox konsantrasyonları kullanılarak standart eğri hazırlanmıştır ($y = 5243,4x - 3,5267$ R² = 0,994). Sonuçlar $\mu\text{mol Trolox eşdeğeri (TE)}/\text{g}$ taze ağırlık olarak ifade edilmiştir.

2.2 Antioksidatif Enzim (SOD ve CAT) Aktivite Tayini

Ardıç ve ark. (2009) tarafından uygulanan yöntemle göre bitki materyalinin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. 3ml tampon çözeltisi (Tampon Çözelti: 1 mM EDTA ve % 2 PVP içeren 50 mM Na-fosfat tamponu (pH: 7.8) içerisine 1 gr dondurulmuş bitki parçası konularak buzlu havanda homojenize edildikten sonra 4°C de 14.000 g de 40 dk kadar santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar analizlerde kullanılmaya kadar -80°C de muhafaza edilmiştir.

Süperoksitdismutaz (SOD) aktivitesinin tayininde Beuchamp ve Fridovich (1971)'in belirlediği yöntem kullanılmıştır. 0.1 mM EDTA, 10 mM metiyonin, 0.1 mM p-Nitro Blue Tetrazolium (NBT), 5 μM riboflavin den oluşan 20 mM sodyum fosfat tamponuna 50 μM enzim ekstraktı eklenerek 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık altında 15 dakika boyunca inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Işık altından alınan örneklerin 560nm'de absorbans değerleri elde edilerek % inhibisyonu belirlenmiştir. Bir SOD ünitesi ise % 50 inhibisyon sağlayan enzim miktarı olarak tanımlandığı için konsantrasyon değerleri üniteye çevrilmiştir. Elde edilen ünite değerleri, toplam protein içeriğine oranlanmış ve enzim aktivitesi U/mg protein olarak belirlenmiştir. SOD standartı olarak sığır eritrositlerinden elde edilen bir SOD kiti (SOD S7446, Sigma-Aldrich, USA) kullanılmıştır.

Katalaz (CAT) aktivite tayini, Lester ve ark. (2004)'nin yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Hidrojen peroksitin katalaz enziminin etkisi ile su ve oksijene parçalanması sonucu gerçekleşen bu yöntem 240 nm dalga boyundaki absorbans düşüşünün spektrometre de izlenmesi usulüne dayanır. 20 mM sodyum fosfat tamponu (pH 6.8) ve 15 mM H₂O₂ (Fluka % 3'lük H₂O₂)'na 0.1 ml enzim ekstraktı konularak enzim aktivitesi başlatılmıştır. Ölçüm, 3dk içerisinde meydana gelen absorbans değerlerinin azalışın belirlenmesine yönelik yapılmıştır. Reaksiyonun başlangıç ve bitiş anındaki değerleri, 240 nm dalga boyunda absorbans ölçümü ile belirlenmiştir. Ardından, aşağıda verilen formüle göre U/mg protein olarak hesaplanmıştır; (Ekstriksiyon katsayısı, ϵ , 40 mmol/L.cm). Toplam protein içeriğinin belirlenmesinde Bradford (1976) tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntem

kullanılmıştır.

$$\text{CAT Aktivitesi: } [(\Delta\text{Abs} \times V_{\text{toplam}}) / \epsilon \times t \times \text{Venzim} \times l] / \text{TP}$$

ϵ : 40 mmol/L.cm, V_{toplam} : Toplam hacim (3ml), Venzim: Reaksiyona konulan enzim hacmi (0,1 ml),

t: Reaksiyonun gerçekleştiği süre (3 dk), l: Küvete ait ışık yolu (1 cm), TP: Total protein miktarı (mg protein taze ağırlık)

2.3 İstatistiksel Analizler

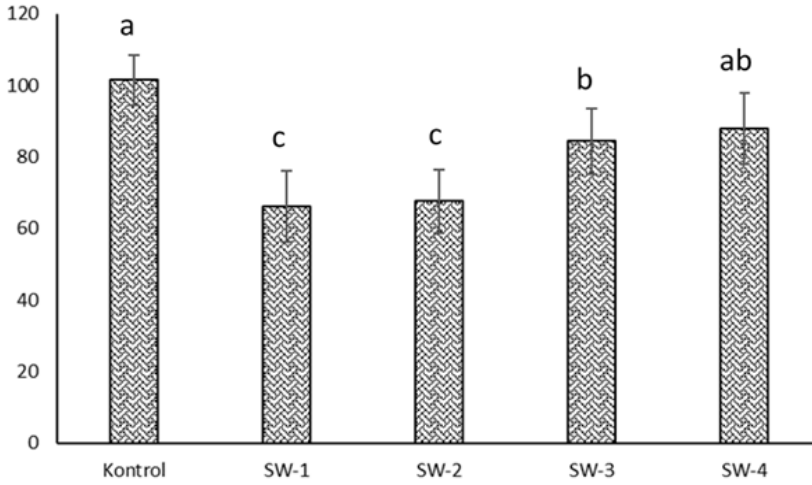
Bu çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre 5 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Araştırma sonuçlarının varyans analizleri SPSS 22.0 paket programı (IBM Corp., Chicago, IL) kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar ise α : 0.05 anlamlılık düzeyinde gerçekleştirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada, spreyleme yoluyla farklı dozlarda deniz yosunu (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) uygulanmış Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa*) fidelerinin antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde içeriği belirlenmiştir. Aynı zamanda, fidelerin enzimatik antioksidatif savunma sisteminde yer alan süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitelerindeki değişimler de takip edilmiştir.

Şekil 1 de farklı dozlarda deniz yosunu uygulanmış Anadolu adaçayı fidelelerinde toplam fenolik madde içeriğine ait sonuçlar verilmiştir. Çalışmamızda yapılan varyans analizlerine göre deniz yosunu uygulamalarına ait dozlar ile Anadolu adaçayı nın toplam fenolik madde içeriği arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (Çizelge 2). Buna göre SW-1: 0.25 g/L ve SW-2: 0.5 g/L dozlarında spreyleme yoluyla gerçekleştirilen deniz yosunu uygulamalarında Anadolu adaçayı bitkilerinde toplam fenolik madde içeriğinde kontrole göre azalış meydana gelmiştir ($p < 0.05$). Bu iki dozda elde edilen toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla 66.24 ± 9.87 mg GAE/100 gr taze ağırlık ve 67.59 ± 8.75 mg GAE/100 gr taze ağırlık olarak belirlenmiştir. SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L dozlarında ise toplam fenolik madde içeriğinde istatistiksel olarak kontrole göre anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. *Salvia fruticosa* Mill nın toplam fenolik madde içeriği 1 g/L deniz yosunu uygulamasında 84.44 ± 9.11 mg GAE/100 gr taze ağırlık, 2 g/L deniz yosunu uygulamasında ise 87.97 ± 9.83 mg GAE/100 gr taze ağırlık olarak belirlenmiştir. Nitekim Şenol ve ark. (2010) nın *Salvia* cinsine ait 55 taksonda fenolik madde içeriğini belirlediği çalışmada *Salvia fruticosa* Mill. nın 87.86 ± 4.54 mg

GAE/g toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu ve *Salvia fruticosa*'nın diğer *Salvia* türlerine göre yüksek değerler içerdiği belirtilmektedir. Hem kontrol hem de Şenol ve ark. (2010) nın araştırma sonuçları ile karşılaştırıldığında çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L deniz yosunu uygulamalarında da *Salvia fruticosa* Mill. nın toplam fenolik madde içeriği için benzer değer aralıkları elde edilmiştir.



Şekil 1. Farklı dozlarda (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) deniz yosunu uygulanmış Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkilerinde toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/100 gr taze ağırlık)

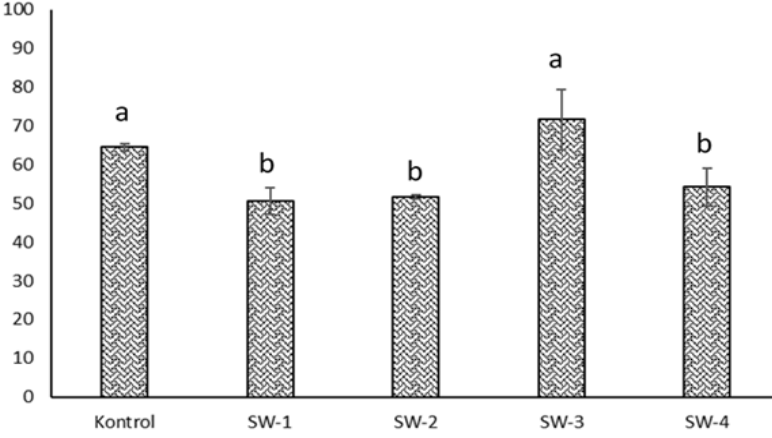
Figure 1. Total phenolic content in *Salvia fruticosa* treated with different doses (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L and SW-4: 2 g/L) of seaweed (mg GAE/100 gr fresh weight)

Çizelge 2. Deniz yosunu dozlarına göre ölçüm yapılan parametrelerin varyans analizi (ANOVA tablosu). Çizelgede yer alan rakamlar, α : 0.05 seviyesinde F değerini temsil etmektedir.

Table 2. Analysis of variance of parameters measured according to seaweed doses (ANOVA table). The numbers in the table represent the F value at the α : 0.05 level.

Bağımlı değişken	Bağımsız değişken
	Deniz yosunu dozları
Toplam Fenolik madde içeriği	8.178 (P<0.05)
CUPRAC	8.781 (P<0.05)
DPPH	25.966 (P<0.01)
SOD aktivitesi (U/mg protein)	27.727 (P<0.01)
CAT aktivitesi (U/mg protein)	22.414 (P<0.01)

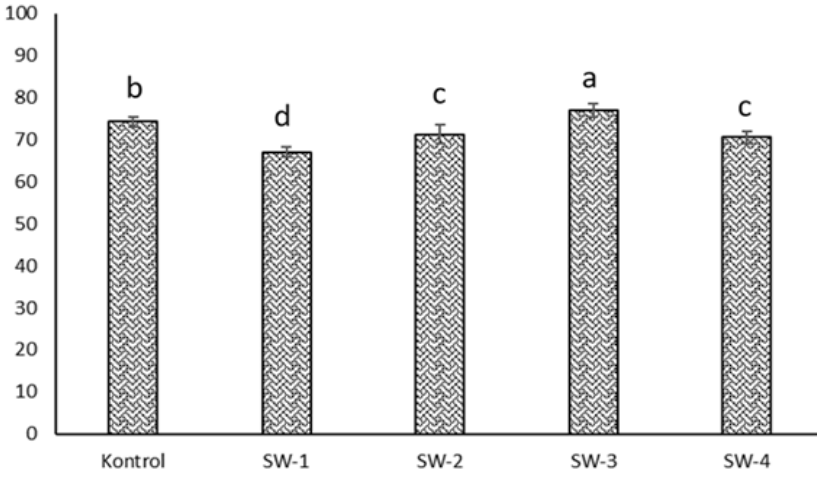
Şekil 2 de ise farklı dozlarda deniz yosunu uygulanmış Anadolu adaçayı fidelerinde CUPRAC yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasiteye ait sonuçlar yer almaktadır. Çalışmamızda yapılan varyans analizlerine göre deniz yosunu uygulamalarına ait dozlar ile Anadolu adaçayı'nın CUPRAC antioksidan kapasitesi arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (Çizelge 2). Elde edilen sonuçlara göre Anadolu adaçayı bitkilerinde CUPRAC yöntemiyle belirlenen en yüksek antioksidan kapasite, SW-3 (1 g/L deniz yosunu) uygulaması yapılmış fidelerinde gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu değer $71.61 \pm 7.8 \mu\text{mol TE/g}$ olarak belirlenmiştir. Spreyleme yoluyla SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L ve SW-4: 2 g/L dozlarında gerçekleştirilen deniz yosunu uygulamalarında ise Anadolu adaçayı bitkilerindeki antioksidan kapasite (CUPRAC) birbirine benzer sonuçlar vermiş olup istatistiksel olarak hepsinde kontrole göre azalış gözlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 2. Farklı dozlarda (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) deniz yosunu uygulanmış Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkilerinde CUPRAC yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasite değerleri (µmol TE/g).

Figure 2. Antioxidant capacity (CUPRAC) in *Salvia fruticosa* treated with different doses (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L and SW-4: 2 g/L) of seaweed (µmol TE/g).

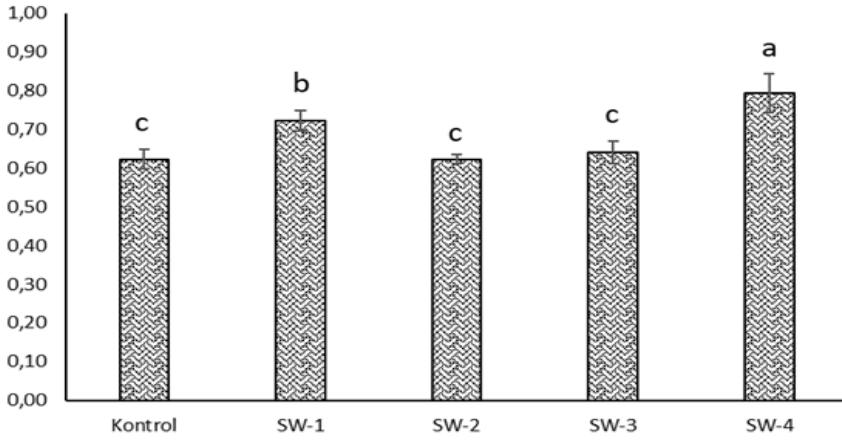
Çalışmamızda, farklı dozlarda deniz yosunu uygulanmış Anadolu adaçayı fi-delerinde DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasite değerleri ise Şe-kil 3 de verilmiştir. Çalışmamızda yapılan varyans analizlerine göre deniz yosunu uygulamalarına ait dozlar ile Anadolu adaçayı nın DPPH antioksidan kapasitesi arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (Çizelge 2). DPPH yöntemi-ne göre en yüksek antioksidan kapasite, CUPRAC yönteminde olduğu gibi SW-3 (1 g/L deniz yosunu) uygulamasında belirlenmiştir ($p < 0.05$). DPPH yönteminde belirlenen en düşük antioksidan kapasite ise SW-1: 0.25 g/L deniz yosunu uyu-lamasında gözlenmiştir ($p < 0.05$). Antioksidan kapasiteyi ölçmek için çok sayıda yöntem kullanılmaktadır (Pellegrini ve ark. 2003; Huang ve ark., 2005; Somogyi ve ark. 2007). Çalışmamızda kullandığımız DPPH yöntemi, bitkiler ve gıdaların antioksidan kapasitesini belirlemek için araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Scalzo, 2008). Çeşitli *Salvia* türlerinin DPPH radikal-lerine karşı kayda değer bir süpürme aktivitesi gösterdiği çeşitli çalışmalarda da gösterilmiştir (Bozan ve ark., 2002; Şenol ve ark., 2010). Çalışmamızda antioksidan kapasitenin belirlenmesinde CUPRAC ve DPPH yöntemleri kullanılmış olup elde edilen sonuçlar Anadolu adaçayı bitkisinde bu iki yöntem arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermektedir.



Şekil 3. Farklı dozlarda (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) deniz yosunu uygulanmış Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkilerinde DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasite değerleri (μmol Trolox eşdeğeri (TE)/g taze ağırlık)

Figure 3. Antioxidant capacity (DPPH) in *Salvia fruticosa* treated with different doses (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L and SW-4: 2 g/L) of seaweed (μmol TE/g fresh weight).

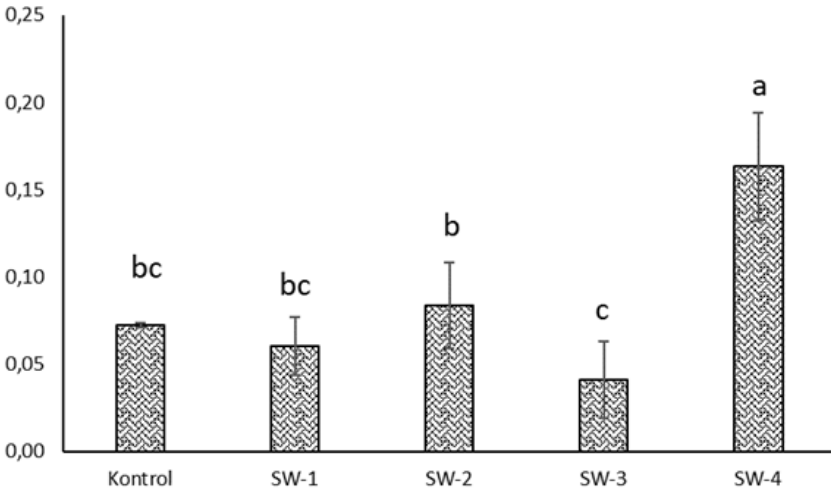
Bu çalışmada farklı dozlarda deniz yosunu uygulamalarına bağlı olarak Anadolu adaçayı bitkilerindeki antioksidatif yanıtlar da takip edilmiştir. Şekil 4 de farklı dozlarda deniz yosunu uygulanmış adaçayı fidelerinde SOD aktivitesine ait sonuçlar verilmiştir. Çalışmamızda yapılan varyans analizlerine göre deniz yosunu uygulamalarına ait dozlar ile Anadolu adaçayı'nın SOD aktivite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (Çizelge 2). Buna göre en yüksek SOD aktivitesi SW-4 (2 g/L deniz yosunu) uygulamasında gözlenmiştir ($p < 0.05$). 2 g/L deniz yosunu uygulamasında Anadolu adaçayı bitkilerinde gözlenen bu artış, oksidatif stres varlığının bir göstergesidir. Nitekim antioksidatif savunma sisteminde ilk basamakta yer alan süperoksit dismutaz (SOD), serbest radikalleri etkisiz hale getiren önemli bir enzimdir (Michalak 2006). Benzer şekilde SW-1 (0.25 g/L deniz yosunu) uygulamasında da SOD aktivitesinin kontrole göre istatistiksel olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. SW-2 (0.5 g/L deniz yosunu) ve SW-3 (1 g/L deniz yosunu) uygulamalarında kontrole göre SOD aktivitesinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir.



Şekil 4. Farklı dozlarda (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) deniz yosunu uygulanmış Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkilerinde belirlenen SOD aktivite değerleri (U/mg protein)

Figure 4. SOD enzyme activity in *Salvia fruticosa* treated with different doses (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L and SW-4: 2 g/L) of seaweed (U/mg protein).

Bitkilerin antioksidatif yanıtlarında SOD enzimiyle birlikte diğer antioksidan enzimlerin biri ya da bir kaç da aynı anda aktif olabilir (Xu ve ark. 2010). Bu nedenle çalışmamızda CAT enzim aktivite yanıtları da incelenmiştir. Çalışmamızda yapılan varyans analizlerine göre deniz yosunu uygulamalarına ait dozlar ile Anadolu adaçayı nın CAT aktivite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (Çizelge 2). Farklı dozlarda (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) deniz yosunu uygulanmış Anadolu adaçayı fidelerinde belirlenen CAT aktivitesine ait sonuçlar Şekil 5 de verilmiştir. CAT aktivitesi sonuçlarına ait en yüksek değer SW-4 (2 g/L deniz yosunu) uygulamasında tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Elde edilen bu sonuç, Şekil 4 de belirtilen SOD aktivite değerleri ile paralellik göstermekte olup, 2 g/L deniz yosunu uygulamasının Anadolu adaçayı bitkilerinde oksidatif strese neden olabileceğini de düşündürmektedir. Bununla birlikte, SOD ve CAT aktivite değerleri incelendiğinde 1 g/L deniz yosunu uygulamasının herhangi bir oksidatif strese neden olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 5. Farklı dozlarda (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L ve SW-4: 2 g/L) deniz yosunu uygulanmış Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkilerinde belirlenen CAT aktivite değerleri (U/mg protein)

Figure 5. CAT enzyme activity in *Salvia fruticosa* treated with different doses (SW-1: 0.25 g/L, SW-2: 0.5 g/L, SW-3: 1 g/L and SW-4: 2 g/L) of seaweed (U/mg protein).

4. SONUÇ

İçerdiği etken maddelerden dolayı kullanımını oldukça yayınlanan Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkisi, toplam fenolik madde içeriğinin ve antioksidan kapasitenin yüksek olması, fitokimyasal olarak diğer adaçayı türlerine göre daha fazla araştırılmaya değer kabul edilmiştir (Şenol ve ark. 2010). Ancak Anadolu adaçayı bitkisini metabolik süreçlerinde farklı dozlarda deniz yosunu uygulamalarının etkisi bilinmemektedir. Deniz yosunu uygulamalarının Anadolu Adaçayı bitkisinin antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde içeriği üzerine etkilerini inceleyen daha önce yapılmış herhangi bir çalışma olmadığı için bu çalışma ilk verileri oluşturmaktadır. Bu nedenle mevcut çalışma literatüre önemli veriler sunmaktadır.

Deniz yosunu özleri, geçmişten günümüze verimliliği artırmak için kullanılmaktadır (Rathore ve ark., 2009; Frioni ve ark., 2018). Ancak tıbbi ve aromatik bitkilerde deniz yosunu uygulamalarına ait veriler son yıllarda araştırılmaya başlamıştır. Örneğin Shafie ve ark. (2021) Civanperçemi (*Achillea millefolium* L.) bitkisinde tarla ve sera koşullarında farklı dozlarda (1, 2, 3 ml/L) yapraktan spreyleme

olarak uygulanarak gelişim ve büyüme üzerine yapılan çalışma gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçlarında, 3ml/L deniz yosunu uygulamasında bitkinin büyüme ve gelişme, sürgün taze ağırlığı, toplam klorofil içeriği, karotenoid miktarı, fenol ve flavonoid, antioksidan aktivitesinde artış gözlemlendiği tespit edilmiştir. Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkilerinde gerçekleştirdiğimiz çalışmada da spreyleme yoluyla 1 g/L deniz yosunu uygulamasının toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite ile antioksidatif yanıtlar bakımından incelendiğinde Anadolu Adaçayı bitkilerinde en ideal sonuçları verdiği görülmektedir. Bundan sonraki çalışmalarda da, farklı deniz yosunu içeriklerinin Anadolu Adaçayı gibi önemli tıbbi ve aromatik bitkiler üzerindeki etkileri, çeşitli dozlar ve uygulama şekilleri deneyerek çalışmaların detaylandırılması önerilmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi BAP Kooridnatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: FHZP-2021-499) ve 'Anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) bitkisinde deniz yosunu uygulamalarının meydana getirdiği metabolik etkilerin belirlenmesi' isimli yüksek lisans tez çalışmasının bir kısmını oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

- Acıbuca, V., Budak, D. 2018. Dünya ' da ve Türkiye ' de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi. Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi, 33(1): 37-44.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Çelik, S.E. 2008. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchim Acta*, 160: 413-419
- Ardıç, M., Sekmen, A.H., Türkan, I., Tokur, S., Ozdemir, F. 2009. The Effects of Boron Toxicity on Root Antioxidant Systems of Two Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars. *Plant Soil*, 314: 99-108.
- Beuchamp, C., Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase; improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.*, 44: 276-287.
- Boskou, G., Salta, F. N., Chrysostomou, S., Mylona, A., Chiou, A., Andrikopoulos, N. K. 2006. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry*, 94: 558-564.
- Bozan, B., Ozturk, N., Kosar, M., Tunalier, Z., Baser, K.H.C. 2002. Antioxidant and free radical scavenging activities of eight *Salvia* species. *Chem. Nat. Compd.*, 38: 198-200.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.
- EL Boukhari, M. EL M., Barakate, M., Bouhia, Y., Lyamlouli, K. 2020. Trends in Seaweed Extract Based Biostimulants: Manufacturing Process and Beneficial Effect on Soil-Plant Systems. *Plants*, 9: 359
- Froni, T., Sabbatini, P., Tombesi, S., Norrie, J., Poni, S., Gatti, M., Palliotti, A. 2018. Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grapevines. *Scientia Horticulturae* 232: 97-106.
- Huang D., Ou B., Prior R.L. 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1841-1856.
- Karık, Ü., Sağlam A. C., Kürkçüoğlu, M. 2013. Güney Marmara Florasındaki Adaçayı (*Salvia tomentosa* Mill.) Populasyonlarının Bazı Morfolojik ve Kalite Özellikleri. *Anadolu, J. of AARI*, 23 (2): 9-20.
- Kumar, N. A., Vanlalzarzova, B., Sridhar, S., Baluswami, M. 2012. Effect of liquid seaweed fertilizer of *Sargassum wightii* G. on the growth and biochemical content of green gram (*Vigna radiata* (L.) R. wilczek). *Recent Research in Science and Technology*, 4(4): 40-45.

- Lester, C., Moller, N., Hammerum, A. 2004. Conjugal Transfer of Aminoglycoside and Macrolide Resistance between *Enterococcus faecium* Isolates in The Intestine of Streptomycin-Treated Mice. *Feems Microbiol. Lett*, 235: 385-391
- Michalak, A. 2006. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish J. of Environ. Stud.*, 15(4): 523-530
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays, *J. Nutr.*, 133: 2812-2819.
- Rathore, S.S., Chaudhary, D.R., Boricha, G.N., Ghosh, A., Bhatt, B.P., Zodape, S.T., Patolia, J.S. 2009. Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (Glycine max) under rainfed conditions, *South African Journal of Botany*, 75(2): 351-355.
- Scalzo, R.L. 2008. Organic acids influence on DPPH scavenging by ascorbic acid, *Food Chem.*, 107: 40-43.
- Shafie, F., Bayat, H., Hossein Aminifard, M., Daghighi, S. 2021. Biostimulant Effects of Seaweed Extract and Amino Acids On Growth, Antioxidants, and Nutrient Content of Yarrow (*Achillea millefolium* L.) In the Field and Greenhouse Conditions, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 52(9): 964-975
- Shukla, P.S., Mantin, E.G., Adil, M., Bajpai, S., Critchley, A.T., Prithiviraj, B. 2019. Ascophyllum nodosum-Based Biostimulants: Sustainable Applications in Agriculture for the Stimulation of Plant Growth, Stress Tolerance, and Disease Management. *Front. Plant Sci.* 10, 655.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., Dhaka, N. 2013. Potential applications of antioxidants – A review. *Journal of Pharmacy Research*, 7(9): 828-835.
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay Z., Nagy, G. 2007. Antioxidant measurements, *Physiol. Meas.*, 28: R41-R55.
- Şenol, F.S., Orhan, I., Celep, F., Kahraman, A., Doğan, M., Yılmaz, G., Şener, B. 2010. Survey of 55 Turkish *Salvia* taxa for their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 120(1): 34-43
- Tusevski, O., Kostovska, A., Iloska, A., Trajkovska, L., Gadzovska Simic, S. 2014. Phenolic production and antioxidant properties of some Macedonian medicinal plants. *Cent. Eur. J. Biol.* , 9(9), 888-900.
- Turkan, Ş., Malyer, H., Aydın, S.Ö., Tümen, G. 2006. Ordu İli ve Çevresinde Yetişen Bazı Bitkilerin Etnobotanik Özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, vol. 10, no. 2, p. 162-166.
- Xu, J., Wang, W., Yin, H., Liu, X., Sun, H., Mi, Q. 2010. Exogenous nitric oxide improves antioxidative capacity and reduces auxin degradation in roots of *Medicago truncatula* seedlings under cadmium stress. *Plant and Soil*, 321-326.
- Vitali, D., Vedrına Dragojevic, I., Sebecic, B. 2009. Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114: 1462-1469.

