



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAHRAMANMARAŞ İLİ VE YAKIN ÇEVRE
FLORASINDA YAYILIŞ GÖSTEREN *ISATIS* L.
(ÇİVİT OTU) TAKSONLARINDAN TOPLAM FENOL
VE FLAVONOİD MİKTARININ TESPİTİ

ARİFE KREM

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2014

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAHRAMANMARAŞ İLİ VE YAKIN ÇEVRE FLORASINDA
YAYILIŞ GÖSTEREN *ISATIS* L. (ÇİVİT OTU) TAKSONLARINDAN
TOPLAM FENOL VE FLAVONOİD MİKTARININ TESPİTİ

ARİFE KÜREM

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

KAHRAMANMARAŞ 2014

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Arife KÜREM tarafından hazırlanan “KAHRAMANMARAŞ İLİ VE YAKIN ÇEVRE FLORASINDA YAYILIŞ GÖSTEREN *ISATIS* (ÇİVİT OTU) TAKSONLARINDAN TOPLAM FENOL VE FLAVONOİD MİKTARININ TESPİTİ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 12 / 09 / 2014 tarihinde oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şengül KARAMAN (DANIŞMAN)

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, K.S.Ü.

Yrd. Doç. Dr. Nazan ÇÖMLEKÇİOĞLU (ÜYE)

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, K.S.Ü.

Yrd. Doç. Dr. Nülüfer KOCA (ÜYE)

.....

Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bölümü, K.S.Ü.

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç.. Dr. Mustafa ŞEKKEİ

.....

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 orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

ARİFE KÜREM

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 109O655

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

**KAHRAMANMARAŞ İLİ VE YAKIN ÇEVRE FLORASINDA YAYILIŞ
GÖSTEREN *ISATIS* L. (ÇİVİT OTU) TAKSONLARINDAN TOPLAM FENOL VE
FLAVONOİD MİKTARININ TESPİTİ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

ARİFE KÜREM

ÖZET

Çalışmada Kahramanmaraş ili ve yakın çevre florasından tohumları toplanan ve kültüre alınan *Brassicaceae* (*Cruciferae*) familyasına ait 12 *Isatis* taksonu; *Isatis callifera* BOISS.&BAL. (endemik), *Isatis constricta* DAVIS (endemik), *Isatis cappadocica* DESV. ssp. *stevenia* TRAUTV DAVIS, *Isatis lusitanica* L., *Isatis tinctoria* L. subsp. *tomentella* BOISS DAVIS (Mersin ve Göksun lokasyonları), *Isatis glauca* subsp. *glauca* AUCHER, *Isatis candolleana* BOISS. (endemik), *Isatis lockmanniana* KOTSCHY EX BOISS. (endemik), *Isatis pinnatiloba* DAVIS (endemik), *Isatis buscihana* SCHISCHKIN, *Isatis takhtajanii* AVETISIAN, *Isatis sivasica*, *Isatis floribunda* BOISS. EX BORNM. (endemik) ile tohumları yurtdışından temin edilen *Isatis tinctoria* L. ve *Isatis indigotica* FORT.'nın bazı verim özellikleri ile taze yaprak ve köklerindeki toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları araştırılmıştır.

Taksonların toplam fenol miktarı Folin Ciocalteu yöntemi ile tespit edilmiş ve en yüksek fenol miktarı taze yaprakta *I. indigotica* (223 mg GAE/g), *I. constricta* (204,35 mg GAE/g) ve *I. tinctoria* (202,33 mg GAE/g) türlerinden, kökte ise *I. floribunda*'dan (223,78 mg GAE/g) elde edilmiştir.

Toplam flavonoid miktarı quercetin eşdeğeri üzerinden hesaplanmış ve en yüksek flavonoid miktarı taze yaprakta; *I. callifera* (45,65 mgQE/g) türünden, kökte ise *I. takhtajanii*'den (28,19 mgQE/g) elde edilmiştir.

Denemede farklı biçim zamanlarının fenol ve flavonoid içeriği üzerine ciddi bir etkisi bulunmamış olmakla birlikte, en yüksek fenol miktarı (189,50 mg GAE/g) Temmuz ayında yapılan hasattan, en yüksek flavonoid miktarı da (38,95 mgQE/g) Haziran ayında yapılan hasattan elde edilmiştir. Tez sonucu bölgemizde doğal olarak yayılış gösteren *Isatis* taksonlarından biyolojik aktivitesi yüksek türler ortaya çıkarılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fenol, Flavonoid, *Isatis* sp.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı, Eylül / 2014

Danışman: Prof. Dr. Şengül KARAMAN
Sayfa sayısı: 63

**DETERMINATION OF TOTAL PHENOL AND FLAVONOID CONTENTS OF
ISATIS L. (WOAD PLANT) TAXA WHICH ARE DISTRUBUTED IN
KAHRAMANMARAŞ CITY AND NEAR SURROUNDING FLORA**

(M.SC. THESIS)

ARİFE KÜREM

ABSTRACT

In this research some yield parameters and the total phenol and flavonoid contents of leaves and roots of 12 different *Isatis* taxa from *Brassicaceae* (*Cruciferae*) family; *Isatis callifera* BOISS.&BAL. (endemic), *Isatis constricta* DAVİS (endemic), *Isatis cappadocica* DESV. ssp. *stevenia* TRAUTV DAVİS, *Isatis lusitanica* L., *Isatis tinctoria* L. subsp. *tomentella* BOISS DAVİS (from Mersin and Göksun locations), *Isatis glauca* subsp. *glauca* AUCHER, *Isatis candolleana* BOISS. (endemic), *Isatis lockmanniana* KOTSCHY EX BOISS. (endemic), *Isatis pinnatiloba* DAVIS (endemic), *Isatis buscihana* SCHISCHKIN, *Isatis takhtajanii* AVETISIAN, *Isatis sivasica*, *Isatis floribunda* BOISS. EX BORNM. (endemic) collected from Kahramanmaraş province and nearby flora and *Isatis tinctoria* L. and *Isatis indigotica* FORT. seeds which were obtained from abroad were investigated.

Total phenol contents of taxa were determined by the use of Folin Ciocalteu method and the highest phenol content was obtained in leaves of *I. indigotica* (223 mg GAE/g), *I. constricta* (204,35 mg GAE/g) and *I. tinctoria* (202,33 mg GAE/g) and from *I. floribunda* (223,78 mg GAE/g) in the roots.

Total flavonoid content was calculated with quercetin equivalents and the highest flavonoid was obtained from *I. callifera* (45,65 mgQE/g) in leaves and from *I. takhtajanii* (28,19 mgQE/g) in the roots.

Although the phenol and flavonoid content was not affected from different harvest times, high phenol content (189,50 mg GAE/g) was observed from July harvest and high flavonoid content (38,95 mgQE/g) was in June harvest. The results revealed that the high yielding and biologically active *Isatis* taxa.

Key Words: Phenol, Flavonoid, *Isatis* sp.

Kahramanmaraş Sütçü İmam University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology, September/ 2014

Supervisor: Prof. Dr. Şengül KARAMAN

Page number: 63

TEŞEKKÜR

Bu araştırma konusunun seçiminde ve yürütülmesinde önerileri ile beni yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Şengül KARAMAN' a teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım süresince bana yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Nülüfer KOCA' ya içtenlikle teşekkür ederim. Tezimin yürütülmesinde maddi destek aldığım TÜBİTAK' a ve proje çalışanlarına, Prof. Dr. Ahmet İLÇİM, Yrd. Doç. Dr. Emel DIRAZ ve Yrd. Doç. Dr. Nazan ÇÖMLEKÇİOĞLU' na teşekkür ederim.

Eğitimim süresince bana maddi ve manevi destek veren sevgili anneme, babama, arkadaşlarıma ve beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan kardeşlerim Ayşenur KÜREM ve Fatmanur KÜREM' e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1. <i>Isatis</i> Türlerinin Sistematığı Ve Kültürü Üzerine Yapılan Çalışmalar	7
2.2. <i>Isatis</i> Türlerinin Biyolojik Aktivitesi Ve Etkili Bileşiklerin Analizi Üzerine Çalışmalar	9
3. MATERYAL VE METOD	14
3.1. Materyal	14
3.2. Metod	19
3.2.1. Taksonların kültüre alınması ve verim özelliklerinin tespiti	19
3.2.2. <i>Isatis</i> taksonlarında toplam fenol miktarının saptanması	20
3.2.2.1. Ön çalışma ile çözücü seçimi ve ekstraksiyon işlemi	20
3.2.2.2. <i>Isatis</i> taksonlarına ait yaprak ve köklerdeki fenol miktarının spektrofotometre ile tespiti	21
3.2.3. <i>Isatis</i> taksonlarında toplam flavonoid miktarının Saptanması	23
3.2.3.1 <i>Isatis</i> taksonlarına ait yaprak ve köklerin toplam flavonoid miktarının saptanması	23
3.2.4. Verilerin değerlendirilmesi	24
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	25
4.1. Ön Çalışmaya Ait Toplam Fenol Miktarları	25
4.2. 2010 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarına Ait Bitki Boyu Değerleri	25
4.3. 2011 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarına Ait Bitki Boyu Değerleri	26
4.4. 2010 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarına Ait Ortalama Yaprak Alanı İndeksi (cm ²)	29
4.5. 2011 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarına Ait Ortalama Yaprak Alanı İndeksi (cm ²)	30
4.6. 2010 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarına Ait Yaprak Verimi Değerleri	31
4.7. 2011 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarına Ait Bitki Başına Yaprak Verimi Değerleri	32
4.8. 2010 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarının Yapraklarına Ait Toplam Fenolik Madde Miktarı	34
4.9. 2011 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarının Yapraklarına Ait Toplam Fenolik Madde Miktarı	35
4.10. <i>Isatis</i> Taksonlarının Köklerine Ait Toplam Fenolik Madde Miktarı	38

4.11. 2010 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarının Yapraklarına Ait Toplam Flavonoid Miktarı.....	40
4.12. 2011 Yılında Ekimi Yapılan <i>Isatis</i> Taksonlarının Yapraklarına Ait Toplam Flavonoid Miktarı.....	40
4.13. <i>Isatis</i> Taksonlarının Köklerine Ait Toplam Flavonoid Miktarı	43
4.14. Sonuçlar Ve Öneriler	44
KAYNAKLAR.....	47
EKLER.....	54
EK-A. Denemede ekilen <i>Isatis</i> taksonlarının tarladaki görüntüleri	55
EK-B. Denemede ekilen <i>Isatis</i> taksonlarının tarladaki görüntüleri (yakından)	59
ÖZGEÇMİŞ.....	62

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

g	: Gram
mg	: Miligram
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
ark.	: Arkadaşları
°C	: Santigrad derece
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
HCL	: Hidroklorik asit
QE	: Kuersetin eşdeğeri
CE	: Kateşin eşdeğeri
µL	: Mikrolitre
M	: Molar
mM	: Milimolar
n	: Örnek sayısı
sp.	: Tür
ssp.	: Alttür
subsp.	: Alttür
UV	: Ultra viyole
W	: Ağırlık
I.	: <i>Isatis</i>
Y.Y.	: Yaş yaprak
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1 Sekonder metabolitlerin sentezlendiği yaygın biyosentetik yollar	2
Şekil 1.2 Bazı Fenolik bileşiklerin moleküler yapısı.....	3
Şekil 1.3 Flavonoidlerin genel molekül yapısı	4
Şekil 3.1. <i>Isatis</i> yapraklarının havanda ezilip şişelere alınması	20
Şekil 3.2. Şişelerin ultrasonik banyoda ekstraksiyona konulması.....	21
Şekil 3.3. Ekstraksiyonun süzildükten sonra fallop tüplere alınması	21
Şekil 3.4. Gallik asit kalibrasyon eğrisi	22
Şekil 3.5. Süpernatantın spektrofotometre cihazında ölçülmesi.....	22
Şekil 3.6. Kuersetin kalibrasyon eğrisi	23

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. 2010 Yılında Kahramanmaraş ve yakın çevre florasından toplanan <i>Isatis</i> taksonları ve lokaliteleri.....	14
Çizelge 3.2. 2011 Yılında Kahramanmaraş ve yakın çevre florasından toplanan <i>Isatis</i> taksonları ve lokaliteleri.....	15
Çizelge 4.1. <i>Isatis tinctoria</i> ' nın farklı kimyasal çözücülerle ekstraksiyonu sonucu elde edilen toplam fenol miktarları (mg GAE/g ekstrakt).....	25
Çizelge 4.2. 2010 Yılında ekimi yapılan <i>Isatis</i> taksonlarına ait bitki boyu değerleri (cm) .	26
Çizelge 4.3. 2011 Yılında ekimi yapılan <i>Isatis</i> taksonlarına ait bitki boyu değerleri (cm) .	27
Çizelge 4.4. 2010 Yılında ekimi yapılan <i>Isatis</i> taksonlarına ait ortalama yaprak alanı indeksi (cm ²) Değerleri	29
Çizelge 4.5. 2011 Yılında ekimi yapılan <i>Isatis</i> taksonlarına ait ortalama yaprak alanı indeksi (cm ²) Değerleri	30
Çizelge 4.6. 2010 Yılında ekimi yapılan <i>Isatis</i> taksonlarına ait yaprak verimi değerleri (g/bitki).....	32
Çizelge 4.7. 2011 Yılında ekimi yapılan <i>Isatis</i> taksonlarına ait bitki başına yaprak verimi değerleri (g/bitki)	33
Çizelge 4.8. 2010 Yılında ekimi yapılan <i>Isatis</i> taksonlarının yapraklarına ait toplam fenol miktarı (mg GAE/g ekstrakt).....	35
Çizelge 4.9. 2011 Yılında kültüre alınmış <i>Isatis</i> taksonlarının yapraklarına ait toplam fenol miktarı (mg GAE/g ekstrakt).....	36
Çizelge 4.10. <i>Isatis</i> taksonlarının köklerine ait toplam fenol miktarı (mg GAE/g ekstrakt)	39
Çizelge 4.11. 2010 Yılında ekimi yapılan <i>Isatis</i> taksonlarının yapraklarına ait toplam flavonoid miktarı (mgQE/g ekstrakt).....	40
Çizelge 4.12. 2011 Yılında kültüre alınmış <i>Isatis</i> taksonlarının yapraklarına ait toplam flavonoid miktarı (mgQE/g ekstrakt).....	41
Çizelge 4.13. <i>Isatis</i> taksonlarının köklerine ait toplam flavonoid miktarı (mgQE/g ekstrakt)	43

EKLER DİZİNİ

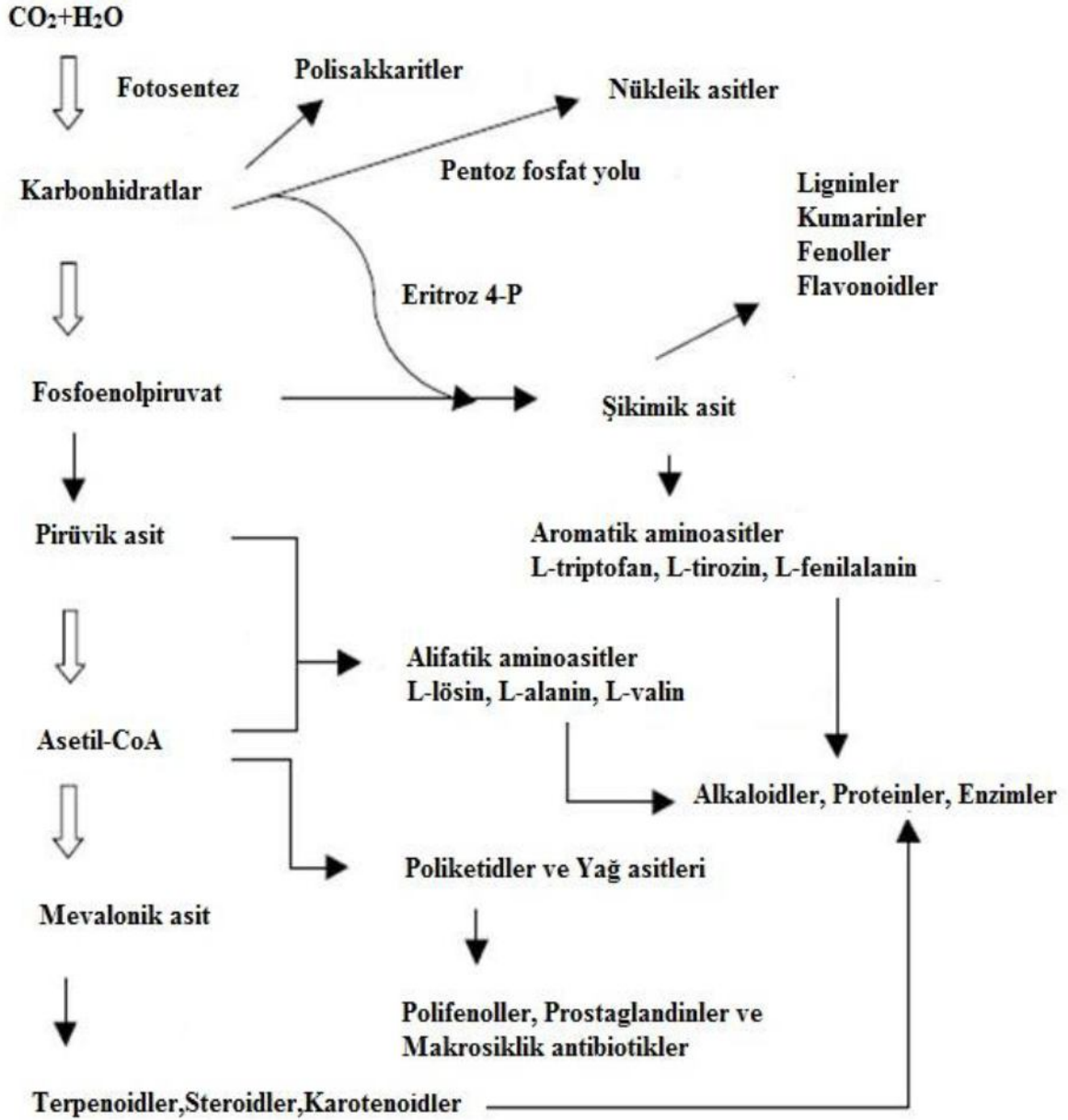
	Sayfa No
EK-A Denemede ekilen <i>Isatis</i> taksonlarının tarladaki uzaktan görüntüleri.....	55
EK-B Denemede ekilen <i>Isatis</i> taksonlarının tarladaki yakından görüntüleri.....	59

1. GİRİŞ

Doğal yaşama dönüşün yeni trendler arasında olduğu günümüzde bitkilerin önemi giderek artmaktadır. Yüzyıllardan beri hastalıklara karşı korunmada, tedavi amaçlı bitkilerden faydalanılmaktadır. Dünya nüfusunun yaklaşık % 70-80'i tedavide bitkisel kaynaklardan yararlanmakta olup, özellikle Çin tıbbında yaklaşık yarım asır boyunca kanser dahil pek çok hastalığın tedavisinde bitkiler ilaç olarak kullanılmıştır (Lau ve ark., 2004; Pan ve ark., 2010).

Günümüzde kronik hastalıkların yaygınlaşarak başlıca ölüm nedenlerinden biri olması, sentetik ilaçlarla tedavi yöntemlerinin yetersiz kalması ya da istenmeyen etkilere yol açması bitkilerle tedaviye ilgiyi arttırmıştır (Bacanlı ve ark., 2015). Yapılan birçok epidemiyolojik çalışma bitkisel ürünlerce zengin bir diyet ile beslenmenin insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olduğunu ve bu beslenme şeklinin oksidatif stres ile ilişkili pek çok hastalığa karşı bünyeyi koruduğunu ortaya koymaktadır. Bitkisel kaynaklı ürünlerde vitaminler, fitoöstrojenler, sülfür bileşikler, karotenoidler ve hormonlar gibi çok sayıda yararlı bileşikler bulunmaktadır (Manach ve ark., 2005). Bitkiler tarafından üretilen ve sekonder ürünler olarak tanımlanan grup büyük oranda tıbbi yönden aktif bileşikler içermektedir. Sekonder ürünlerin bitkilerin büyüme, lignifikasyon, pigmentasyon, tozlaşma gibi süreçlerde ve patojenlere, predatörlere ve çevresel strese karşı direnç sağlamak için ürettiği bildirilmektedir (Taner, 2015).

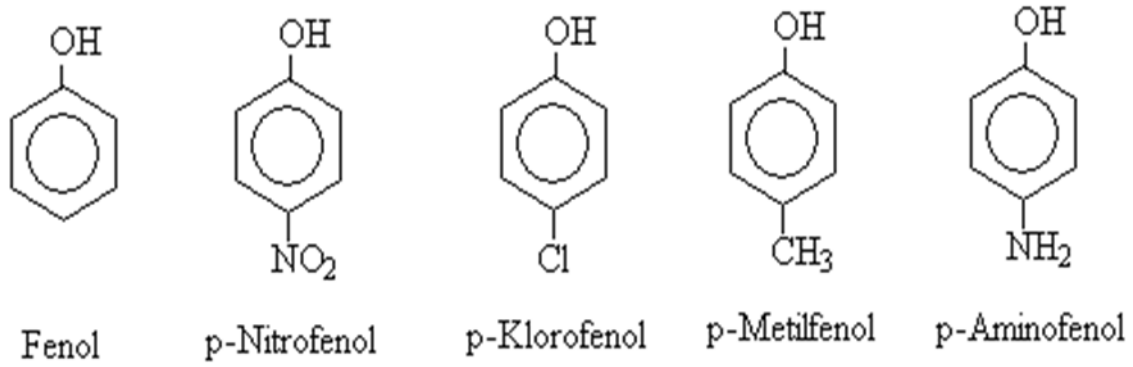
Elmastaş (2013, s. 1) sekonder ürünleri şu şekilde açıklamıştır: “Sekonder ürünler üç ana gruba ayrılmış olup; terpenler, fenolikler ve azotlu bileşikler olarak ifade edilmiştir (Mazid ve ark., 2011). Terpenler sekonder metabolitlerin en büyük grubunu oluşturup yaygın olarak asetil koenzim A' dan mevalonik asit aracılığı ile sentezlenmektedir. Yapılarında bulunan C atomu sayısına göre terpenler; monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler, triterpenler veya polyterpenler gibi gruplara ayrılırlar. Bu bileşiklerden en çok bilineni tohum ve tomurcuk dormansisinde ve bir çok fizyolojik olayda rol alan gibberillik asit (GA), absisik asit (ABA) ve bitkilere renk veren karotenoidler sayılabilir (Mazid ve ark., 2011)”.



Şekil 1.1 Sekonder metabolitlerin sentezlendiği yaygın biyosentetik yollar (Tolonen, 2003)

Elmastaş (2013, s. 2) azot içeren sekonder metabolitleri şu şekilde açıklamıştır: “Azot içeren sekonder metabolitler alkaloidler, siyonogenik glikozitler ve protein yapısına katılmayan amino asitlerden oluşmaktadır. Alkaloidler genellikle lisin, aspartik asit, tirozin ve triptofan gibi çok yaygın olmayan amino asitlerin birinden sentezlenmektedir. Bu bileşikler damarlı bitki türlerinin yaklaşık % 20’sinde bulunur. Çoğu alkaloidlerin toksik etkisinden dolayı predatörlere karşı bir savunma unsuru olabileceği düşünülmektedir (Mazid ve ark., 2011)”.

Fenolik bileşikler sebze, meyve ve tohumların, çay ve şarap gibi bitkisel kökenli içeceklerin içerisinde bol miktarda bulunan bileşiklerdir. Fenolik bileşikler, bitki metabolizmalarında pentoz fosfat, şikimat veya fenilpropanoid yollarından köken alırlar. Fenolik maddeler, aromatik halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren bileşiklerdir (Shahidi ve Nacz, 1995). En basit fenolik maddenin bir tane hidroksil grubu içeren benzen olduğu (fenol) ve diğer fenolik maddelerin bundan türediği bilinmektedir (Cemeroğlu ve Acar, 1986). Önemli fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı (Şekil 1.2)' de verilmiştir.



Şekil 1.2 Bazı Fenolik bileşiklerin moleküler yapısı (Anonim 1)

Bacanlı ve ark. (2015, s. 3) fenolik bileşiklerin kimyasal yapısını şu şekilde açıklamıştır: “Genel kimyasal karakterleri C6-C3-C6 karbon iskeleti şeklindedir (Yao ve ark., 2004). Fenol ve piran halkalarını taşıyan benzo-γ-piron türevleri olup halkaya takılan gruplara göre sınıflandırılırlar (Şekil 1.2) (Heim ve ark., 2002). Basit fenolik bileşiklerden yüksek polimerize bileşiklere kadar değişen tarzda bileşikler oluştururlar (Balasundram ve ark., 2006)”. Fenolik bileşiklere fenolik asitler, flavonoidler, quinoneler, coumarinler, lignanlar, stilbenler ve tanenler örnek olarak verilebilir (Larson, 1988; Shahidi ve Nacz, 1995; Cotelle ve ark., 1996; Velioglu ve ark., 1998; Zheng ve Wang, 2001; Cai ve ark., 2003).

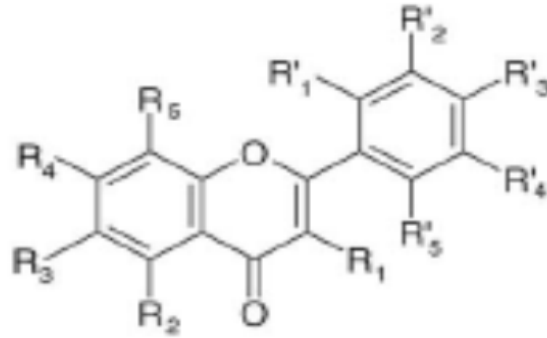
Fenolik maddeler, bitkilerde heterojen dağılım gösterirler. Fenolik maddelerin suda çözünenleri bitki hücresinin içinde yer alırken, suda çözünmeyenleri ise hücre duvarının yapısına katılır. Lignin ve hidroksi sinamik asitler gibi hücre duvarında bulunanlar, çeşitli hücrel bileşenlerle bağlantılıdır. Bu maddeler; hücre duvarının mekanik gücüne katkıda bulunur ve bitki gelişiminde düzenleyici rol oynarlar (Nacz ve Shahidi, 2004).

Doğal olarak bulunan fenolik bileşikler genellikle mono, oligo ve polisakkaritlerle konjugat oluşturmuş haldedir, bununla birlikte esterler gibi fonksiyonel türevleri de

bulunmaktadır. Bitkisel ürünlerin antioksidan özellikleri, içeriklerindeki flavonoidler, fenolik asitler, tanenler ve fenolik diterpenler gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Rao ve ark., 2007).

Kasnak ve Palamutoğlu (2015, s. 4) fenolik asitleri şu şekilde açıklamıştır: “Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, fenolik asitlerin peroksil radikaller tarafından indüklenen oksidasyona karşı güçlü inhibitör aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Neo ve ark, 2010). Ayrıca fenolik asitlerin iltihap önleyici, bağışıklık sistemlerini güçlendirici ve kan dolaşımını iyileştirici özelliklerinden dolayı vücutta önemli düzeyde yaşlanma karşıtı etki gösterdiği ve kanser ve kardiyovasküler düzensizlikler ve diyabet gibi kronik rahatsızlıkların gelişme riskini azalttığı saptanmıştır (Brown, 1999; Block ve ark., 1992; Dastmalchi ve ark., 2008; Ravichandran ve ark, 2012)”.

Flavonoidler bitkilerin yapısında bulunan fenolik bileşiklerin en önemli alt grubunu oluştururlar. Doğal flavonoidler genelde bitkilerin yaprak, çiçek, meyve gibi canlı dokularında glikozitler şeklinde, odunsu dokularında aglikonlar şeklinde, çekirdeklerinde ise her iki formda da bulunabilmektedirler (Shahidi ve Nacz, 1995). Flavonoidler flavon, flavonol, izoflavon ve antosiyaninler olarak gruplandırılabilir (Taiz ve Zeiger, 2008).



Şekil 1.3 Flavonoidlerin genel molekül yapısı (Deveoğlu ve Karadağ, 2011)

Flavonoidler üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, antosiyaninlerin kardiyovasküler hastalık ve kanser riskini azalttığı, ağrı kesici, antidiyabetik etki gösterdiği saptanmıştır (Du ve ark., 2008). Kemoprotektif, antiinflamatuvar ve üriner enfeksiyonları önleyici etkilerinin de olabileceği bildirilmektedir (Yılmaz, 2010). Özellikle koroner kalp hastalığından korunmada flavonoidleri içeren besinlerin tüketilmesinin son derece önemli olduğu bilinmektedir (Ikizler ve ark., 2007).

Öztan (2006, s. 5) flavonoidleri şu şekilde açıklamıştır: “Flavonoidler ve sinamik asitler en önemli antioksidan ve serbest radikal tutuculardır. Aynı zamanda zincir kırıcılar olarak ta bilinmektedirler (Shahidi ve Nacz, 1995). Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi genellikle üç şekilde gerçekleşir. Flavonoidler ya birincil antioksidan olarak ya şelatlayıcı olarak ya da süperoksit anyon yakalayıcısı olarak serbest radikallerin etkisini giderirler. B halkasındaki 3’-4’-5’ pozisyonlarındaki hidroksil grupların varlığı tek hidroksil içeren gruplara kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırmaktadır. Aynı zamanda C halkasındaki 3- hidroksil grupları ve 2-3 çift bağlar antioksidan özellik üzerinde etki yapmaktadır (Madhavi, 1996)”.

Flavonoidlerin serbest radikal savar olmaları, hücre çoğalmasını inhibe edici, enzim aktivitelerini düzenleyici, antialerjik ve antibiyotik özellik taşımaları, ishal, ülser ve iltihap önleyici ilaç gibi görev yapmalarından dolayı büyük önem taşımaktadır (Çapanoğlu ve Boyacıoğlu, 2009).

Bitkilerde bulunan fenol ve flavonoid türevleri üzerine çalışmalar gün geçtikçe artmakta olup bu güne kadar bitkisel kökenli 8000’in üzerinde fenolik bileşik tanımlanmıştır ve bu liste halen büyümeye devam etmektedir (Ferguson ve ark., 2004; Kyselova, 2011).

Fenolik yapıdaki bitkisel bileşiklerin tespiti, yapılarının aydınlatılması için ayrıntılı çalışmalara gereksinim vardır. Bu amaçla çalışmamızda ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren ve şu ana kadar genellikle sistematik, boyama, çimlenme ve morfolojik özellikleri üzerine çalışmaların yapıldığı halk arasında çivit otu olarak da bilinen *Brassicaceae* familyasına ait *Isatis* taksonlarının fenol ve flavonoid miktarlarının ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

Çalışmış olduğumuz *Brassicaceae* (*Cruciferae*) familyası dünyada 338 cins ve 3709 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye *Brassicaceae* türleri sayısı bakımından dünyanın en zengin ülkelerinden ikincisidir (Al-Shehbaz ve ark. 2006). Yapılan en son taksonomik çalışmalara göre Türkiye’de *Brassicaceae* familyası 91 cins, 571 tür ile temsil edilmektedir (Al-Shehbaz ve ark., 2007). *Brassicaceae* familyasının yayılış kökeninin, yüksek *Brassicaceae* çeşitliliğinin görüldüğü İran-Turan bölgesi olduğu düşünülmektedir (Al-Shehbaz ve ark., 2007).

Brassicaceae familyası azotlu bileşikler yanında fenolik bileşikler yönünden de zengin üyeleri kapsamaktadır. *Isatis* cinsine ait türler tarih öncesi çağlardan bu yana mavi boya eldesinde kullanılmaktadır. *I. indigotica* kök (Banlangen) ve yaprakları (Daqingye) Geleneksel Çin Tıbbı’nda inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. *I.*

indigotica türünün de dahil olduğu 11 bitkisel drogtan oluşan ve kronik kan kanseri tedavisinde kullanılan Dang Gui Long Hui Wan adlı ilaç karışımındaki aktif bileşenin *Isatis indigotica*’ dan elde edilen indirubin olduğu anlaşılmıştır (Chiocca, 2011). *Isatis* deri mantarları, mide ve bağırsak rahatsızlıkları ve yara tedavisinde kullanılır. Bazı eserlerde pişirilmiş kökünden veya yapraklarından hazırlanan sıcak lapa, yılancığa, çibana ve ekzamaya karşı önerilmektedir (Anonim 2).

Dünyada yaklaşık 79 türü bulunan *Isatis* cinsi, Akdeniz, Doğu ve Orta Asya’ ya özgü bir bitkidir. Çoğunlukla yüksek dağlık kesimlerde bulunan *Isatis* sp. İran-Turan fitocoğrafik bölgesinde yayılış gösterir (Moazzeni ve ark., 2007). *Isatis* cinsi tek, iki veya çok yıllık otsu bir bitkidir. Habitat olarak bozkır ve nadaslı araziler, yol ve tarla kıyıları gibi alanları tercih eder. Türkiye’ de 0-3600 m yükseklikte *Isatis* türlerine rastlanabilir (TÜBİVES, 2015). İlk kez Boissier (1867) “Flora orientalis” adlı eserinde Anadolu’daki *Isatis* türleri hakkında ayrıntılı bilgi vermiştir. Söz ettiği 28 türden 15’ i Türkiye’ dendir ve tüm bu türleri *Samerarioides*, *Isatis* ve *Apterolobus* seksiyonları altında toplamıştır (Yıldırım, 1988). Daha sonra yapılan çalışmalar sonucunda yeni türlerin de tespiti yapılmış ve cinsin 34 tür, 16 alttür ve 2 varyete ile temsil edildiği bu 34 türden 20’ sinin, 16 alttürden 5’ inin endemik kategorisinde olduğu bildirilmiştir (Anonim 3). Linne’ den beri 1975 yılına kadar 164 *Isatis* türü tanımlanmıştır. Daha sonra bu türlerin bir kısmı başka bir türün sinonimi olmuş veya kombinasyon ve/veya statüsü değiştirilmiştir (Yıldırım, 1988).

Bu tez çalışmasında ülkemizde yayılış gösteren çeşitli *Isatis* taksonlarının biyolojik aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Kahramanmaraş ili ve yakın çevre florasından toplanan ve Kahramanmaraş şartlarında yetiştirilen *Isatis* cinsine ait 12 takson (*Isatis callifera* (endemik), *Isatis glauca* subsp. *glauca* AUCHER, *Isatis constricta* (endemik), *Isatis cappadocica* ssp. *stevenia*, *Isatis lusitanica*, *Isatis tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin ve Göksun lokasyonları), *Isatis candolleana* (endemik), *Isatis lockmanniana* (endemik), *Isatis buscihana*, *Isatis takhtajanii*, *Isatis sivasica*, *Isatis floribunda* (endemik) ve *Isatis pinnatiloba* (endemik) fenol ve flavonoid miktarları yönünden dünyada kültürü yapılan *I. tinctoria* ve *I. indigotica* ile karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve taksonların içermiş olduğu toplam fenol ve flavonoid miktarları ortaya konulmuştur.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *Isatis* Türlerinin Sistematığı Ve Kültürü Üzerine Yapılan Çalışmalar

Davis (1965) Türkiye’ de yayılış gösteren *Isatis* taksonlarını tespit etmiş ve Flora of Turkey’ de 26 tür, 11 alttür ve 2 varyetenin sistematığını, yayılış alanlarını, ekolojisini ve morfolojik özelliklerini belirtmiştir.

Baytop (1984) *Isatis tinctoria* bitkisinin eskiden boyarmadde elde etmek için Anadolu’da yetiştirilip satıldığını, yapraklarının yapısında glikozit olan indikan taşıdığını, indikanın hidrolizi ve çıkan ürünün oksidasyonu sonucu indigo meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Yıldırım (1988) Türkiye’ nin Marmara, Ege, İç Anadolu, Karadeniz ve Akdeniz bölgelerindeki *Isatis* cinsinin revizyonu çalışmasında 16 tür ile 7 alttürü rapor etmiştir. Bunlardan bilim dünyası için yeni bir tür, *Isatis ermenekensis* Yıldırım, yeni bir alttür *I. glauca* subsp. *galatica* Yıldırım; Türkiye florası için yeni bir tür *I. nummularia* Trautv.; yeni bir kombinasyon ve statü: *I. glauca* subsp. *sivasica* (Davis) Yıldırım; yeni bir statü; *I. steveniana* subsp. *gudrunensis* Boiss. Yıldırım tespit ettiklerini bildirmişlerdir. *I. erzumuica* P. H. Davis türü, *I. steveniana* Trautv. türünün sinonim yapıldığını vurgulamışlardır.

Stoker ve ark. (1998) ışığın *I. tinctoria*’ dan indigo üretimine etkisini araştırdığı çalışmada *I. tinctoria*’ yı sera ve dış ortamda yetiştirmiş. Serada yetiştirdiği bitkilerin ortalama bitki ağırlığını 49,20 g, dışarda yetiştirdiklerini ise 72 g olarak bulmuştur.

Tans (1998) Çukurova koşullarında çivitotu (*Isatis tinctoria*)’ nın performansının belirlenmesi üzerine yaptığı bir araştırmasında, *Isatis tinctoria*’ nın morfolojik ve tarımsal karakterlerini incelemiş ve tür içerisinde morfolojik özellikler bakımından varyasyonlar olduğunu bildirmiştir. *I. tinctoria*’ nın bitki boyunun 65.11-94.89 cm arasında değiştiğini gözlemlemiştir.

Kızıl (2000) çalışmada *I. tinctoria* ve *I. constricta* türlerini incelemiş. *I. tinctoria*’ nın bitki boyunun 117,9 cm, *I. constricta*’ nın bitki boyunun da 78,27 cm olduğunu tespit etmiştir. *Isatis tinctoria*, *Isatis constricta* türlerinin yaş yaprak verimlerinin birinci yılda 588,19-659,76 kg/da, ikinci yılda 466,39-482,49 kg/da arasında değiştiğini bildirmiştir.

Akar (2006) çalışmasında Kahramanmaraş' ta doğal olarak yayılış gösteren ve farklı lokasyonlardan toplanan *Isatis glauca* subs. *glauca* Boiss ve *Isatis candolleana* Boiss ile Çukurova Üniversitesinden temin edilen *Isatis tinctoria* L. bitkisinin tohumlarını KSÜ Avşar Kampüsü' nde bulunan deneme bahçesinde yetiştirerek, morfolojik özelliklerini incelemiş ve boyama özellikleri ve taze yapraklardaki indikan içeriğini araştırmıştır. Bitki boyu bakımından türlerin boyları 53-121 cm arasında değişmekte olup, en yüksek türün 86,9 cm ile *Isatis tinctoria* olduğunu saptamış ve *I. tinctoria*' nın yaprak verimi 29 g/bitki olarak bulmuştur. *I. candolleana* türünün bitki boyunu 40-61 cm, *I. glauca* ssp. *glauca* türünün bitki boyunu 53 cm olarak tespit etmiştir.

Kızıl (2006) çalışmasında Diyarbakır şartlarında bazı *Isatis* türlerinin morfolojik ve agronomik özelliklerini incelemiş. Çalıştığı türlerin bitki boyunu, bitki kök çapını, dal sayısını, bitkideki tohum sayısını, bitkideki tohum verimini, tohum en-boyunu, tohum bindane ağırlığını hesaplamıştır. Çalıştığı türlerden *I. tinctoria*, *I. constricta* ve *I. glauca* ssp. *glauca*' nın bitki boylarını sırasıyla 73,0-112,0 cm, 50,0-68,0 cm, 106,0-118,0 cm olarak tespit etmiştir.

Angelini ve ark. (2007) çalışmalarında *I. tinctoria* ve *I. indigotica* türlerini üç yıl süre ile yetiştirmişler ve yaş yaprak verimlerini *I. tinctoria* için; 2001' de ortalama 12,03 t/ha, 2002' de ortalama 13,12 t/ha, 2003' te ortalama 19,82 t/ha olarak saptamışlar. *I. indigotica* için ise 2003' de elde ettikleri yaş yaprak verimini ortalama 14,25 t/ha olarak saptamışlardır.

Çömlekçioğlu ve ark. (2014), 2007-2008 ve 2008-2009 yetiştirme sezonunda Kahramanmaraş ekolojik koşullarında, farklı ekim zamanlarının (Ekim, Kasım, Şubat ve Mart) *Isatis tinctoria* ve *Isatis buschiana* türlerinin verim ve kalitesi üzerine etkisini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada birinci deneme yılında *I. buschiana*' nın bitki boyunun 98-98,3 cm, yaprak veriminin de 127,6-153,3 g/bitki arasında değiştiğini, *I. tinctoria*' nın bitki boyunun 74,2-114,2 cm, yaprak veriminin de 61,7-83,9 g/bitki arasında değiştiğini bildirmişler. İkinci deneme yılında *I. tinctoria*' nın bitki boyu 63,4-50,6 cm, yaprak veriminin 56,9 g/bitki olduğunu bildirmişler.

2.2. *Isatis* Türlerinin Biyolojik Aktivitesi Ve Etkili Bileşiklerin Analizi Üzerine Çalışmalar

Elliott ve Stowe (1971) indol glikozinolatların *Isatis tinctoria* içinde dağılımı ve değişimini incelemişler. *Isatis tinctoria*'nın tohumunun yapısındaki glukobrassisin miktarını 230 mg/100g yaş ağırlık olarak tespit etmişler. Neoglukobrassisin ve glukobrassisin sulfonate bileşiklerini ise tohumda tespit edememişlerdir.

Rezaeipoor ve ark. (2000) yaptıkları çalışmalarında *Isatis cappadocica*'ın % 20 lik etanol ekstraktının tavşanlar ve farelerde humoral bağışıklık üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar farelerin bağışıklıklarında, 0,25 ve 0,5 g/kg ekstraktın karın içi enjeksiyonundan sonra doza bağlı bir etki gözlemlemişler. Özellikle 0.5 g/kg doz uygulanan hayvanlarda ikincil bağışıklık tepkilerinin uyarıldığını tespit etmişlerdir.

Cai ve ark. (2004) yaptıkları çalışmalarında *Isatis indigotica* bitkisinin köklerini metanol ve su ile ekstre ederek toplam fenolik madde miktarlarını metanolik ekstraktta 0,45 g/100g kuru ağırlık olarak, su ile yapılan ekstraktta ise 0,36 g/100g kuru ağırlık olarak tespit etmişlerdir.

Galletti ve ark. (2006)'daki çalışmalarında *Isatis tinctoria*'nın yapraklarındaki glukobrassisin miktarının Jasmonik asit uygulaması ile arttığını tespit etmişlerdir. Kontrol grubunda glukobrassisin miktarı 23.9 100kg/ha iken, Jasmonik asit uygulaması yapılan bitkilerde glukobrassisin miktarını 63.4 100kg/ha olarak saptamışlardır.

Peschel ve ark. (2006) *Isatis tinctoria*'nın kuru yapraklarından farklı çözücülerle elde ettikleri ekstraktlarının Folin Ciocalteu yöntemi ile toplam fenol miktarlarını incelemişlerdir. Çözücü olarak saf su, metanol, etanol, aseton ve hexane kullanmışlar ve bu çözücülerle elde ettikleri sonuçları gallik asit değeri üzerinden sırasıyla 65,72 mgGAE/g, 90,44 mgGAE/g, 76,95 mgGAE/g, 81,85 mgGAE/g, 29,82 mgGAE/g olarak tespit edip, toplam fenolik madde miktarını metanol ekstraktında en yüksek olarak elde etmişlerdir.

Peschel ve ark. (2007) çalışmalarında *Isatis tinctoria* tohumlarını farklı çözücüler ile (etanol, hexane, propilen glikol, isopropanol ve sıcak suyla) ekstrakte ederek Folin Ciocalteu yöntemi ile toplam fenol miktarını sırasıyla 106,10 mg GAE/g, 10,91 mg GAE/g, 74,61 mg GAE/g, 60,63 mg GAE/g olarak tespit etmişler, sıcak suda ise sonuç elde edememişlerdir.

Surveswaran ve ark. (2007) *Brassicaceae* familyasına ait bazı bitkilerin tohumlarının yapısında bulunan toplam fenolik madde miktarlarını incelemişler ve toplam fenol miktarlarını *Brassica alba*’ da 0,30 g/100g, *Brassica nigra*’ da 0,32 g/100g, *Lepidium sativum*’ da 0,15 g/100g ve *Matthiola incana*’ da 0,47 g/100g olarak tespit etmişlerdir.

Li ve ark. (2008)’ deki çalışmalarında *Isatis tinctoria*’ nın kuru bitkiyi %80’ lik metanol çözeltisi ile 40 °C de 24 saat ekstraksiyonu sonucu Folin Ciocalteu yöntemi ile toplam fenol miktarını incelemişler ve 4,18 mg GAE/g olarak tespit etmişlerdir.

Emam ve ark. (2010) *Isatis microcarpa*’ yı Mart, Nisan ve Mayıs aylarında toplayarak %70’ lik etanol su ile ekstrakte etmişler ve bitki kısımlarının flavonoid miktarını incelemişlerdir. Belirtilen aylarda *Isatis microcarpa*’ nın köklerindeki flavonoid miktarlarını sırası ile %0,87, %1,00 ve %1,95 şeklinde, yapraklarındaki flavonoid miktarlarını da sırasıyla %1.05, %1.12 ve %2.21 olarak, çiçeklerinde ise sırasıyla %1.17, %1.30 ve %2.64 olarak tespit etmişlerdir.

Li ve ark. 2011 *Isatis indigotica* tohumlarında ekstraksiyon şartlarını optimize ederek toplam polifenol miktarını ölçmüşler ve %60 methanol, 50°C sıcaklık ve 40 dk. ekstraksiyon şartlarında bitki tohumlarından 8,92 mg/g toplam polifenol elde etmişlerdir.

Wang (2012) *Isatis indigotica*’ nın kuru herbasını farklı çözücülerle ekstrakte ederek toplam fenol miktarını incelemiştir. Çözücü olarak saf su, etanol ve metanol kullanmış ve bu çözücülerle elde ettiği fenol miktarını sırasıyla 5,94 mgGAE/g, 1,82 mgGAE/g, 2,34 mgGAE/g şeklinde saptamıştır. En yüksek fenol miktarını saf sudan elde etmiştir.

Chen ve ark. (2013) *Isatis indigotica*’ nın kök ve yapraklarını 40°C’ de kurutup toz haline getirerek %80’ lik metanol ile ekstrakte ederek UPLC cihazıyla bitkinin yapısındaki flavonoidleri incelemişler ve kaempferol, quercetin, kaempferol-3-O-glucoside, quercetin-3-O-rhamnoside-7-O-rhamnoside, kaempferol-3-O-rhamnoside-7-O-glucoside, quercetin-3-O-glucoside-7-O-rhamnoside, quercetin-3-O-rhamnoside-7-O-glucoside isimli flavonoidleri tespit etmişlerdir.

Karakoca ve ark. (2013) *Isatis floribunda*'nın çiçek ve köklerinin metanol, etanol, saf su, n-hexane ve diklorometan ile elde edilen ekstraktlarındaki toplam fenol ve toplam flavonoid miktarlarını ölçmüşlerdir. *Isatis floribunda*'nın çiçeklerinde toplam fenol miktarlarını metanolde 37.09 mgGAE/g, etanolde 25.50 mgGAE/g, saf suda 93.91 mgGAE/g ve diklorometan da 6.86 mgGAE/g şeklinde bulmuşlar ve n-hexane çözücüsünde ise sonuç bulamamışlardır. *Isatis floribunda*'nın köklerinde toplam fenol miktarlarını metanolde 98.23 mgGAE/g, etanolde 68.91 mgGAE/g, saf suda 62.77 mgGAE/g, n-hexane da 1.64 mgGAE/g, diklorometan da 57.77 mgGAE/g olarak saptamışlardır. Ayrıca *Isatis floribunda*'nın çiçeklerindeki toplam flavonoid miktarlarını da metanolde 12.65 mgQE/g, etanolde 4.86 mgQE/g ve saf suda 25.90 mgQE/g olarak tespit etmişlerdir. N-hexane ve diklorometan ekstraksiyonlarında ve *Isatis floribunda*'nın köklerinde flavonoid saptayamamışlardır.

Li ve ark. (2013) *Isatis tinctoria* bitkisini kurutup toz haline getirerek 0,5 g bitkiyi 10 ml deionize su ile 100 °C' de 30 dk sıcak su banyosunda ekstrakte etmişler. Oda sıcaklığına gelinceye kadar soğuttukları ekstraktı 10 dk boyunca 3500g de santrifüj ederek, süpernatantın, Folin Ciocalteu yöntemi ile toplam fenol miktarına bakmışlar ve *Isatis tinctoria*'nın toplam fenol miktarını 4,73 mg GAE/g olarak tespit etmişlerdir.

Yang ve ark. (2013) kurutulmuş *Isatis tinctoria* bitkisini %95' lik etanol ile ekstrakte etmişler ve Folin Ciocalteu yöntemi ile toplam fenol ve flavonoid miktarını saptamışlardır. *Isatis tinctoria*'nın toplam fenol miktarını 3,88 mg GAE/g olarak tespit etmişler. Etanol ekstraktında bitkide flavonoid saptayamamışlardır.

Galletti ve ark. (2014) çalışmalarında 2007 ve 2008 yıllarında İtalya'nın dört farklı eyaletinden temin ettikleri *Isatis canescens* bitkisinin çiçeklerinin %70 lik aseton ile ekstraksiyonundan, çiçeklerin yapısında bulunan toplam fenol ve toplam flavonoid miktarını tespit etmişlerdir. Bu eyaletlerden 2007 yılında temin edilen *Isatis canescens* bitkisinin kuru çiçeklerindeki toplam fenol miktarlarını; Linguaglossa eyaleti için 24.1 mg GAE/g, Pedara eyaleti için 24.7 mg GAE/g, S. Alfio eyaleti için 26.5 mg GAE/g ve Maletto eyaleti için 23.3 mg GAE/g olarak bulmuşlardır. Bu eyaletlerdeki ortalama fenolik madde miktarını 24.7 mg GAE/g olarak hesaplamışlardır. 2008 yılında *Isatis canescens* bitkisinin kuru çiçeklerindeki toplam fenolik madde miktarlarını; Linguaglossa eyaleti için 26.7 mg GAE/g, Pedara eyaleti için 26.4 mg GAE/g, S. Alfio eyaleti için 25.1 mg GAE/g ve Maletto eyaleti için 22.3 mg GAE/g olarak bulmuşlardır.

Bu eyaletlerden 2008 yılında temin edilen bitkilerdeki ortalama toplam fenolik madde miktarını 25.1 mg GAE/g olarak saptamışlardır. 2007 yılında temin edilen *Isatis canescens* bitkisinin kuru çiçeklerindeki toplam flavonoid miktarlarını; Linguaglossa eyaleti için 7.0 mgCE/g, Pedara eyaleti için 7.0 mgCE/g, S. Alfio eyaleti için 6.5 mgCE/g ve Maletto eyaleti için 5.3 mgCE/g olarak saptamışlar. Bu eyaletlerden 2007 yılında temin edilen bitkilerdeki toplam flavonoid miktarını ortalama 6.5 mgCE/g olarak tespit etmişlerdir. 2008 yılında kuru çiçeklerden elde edilen toplam flavonoid miktarlarını; Linguaglossa eyaleti için 7.0 mgCE/g, Pedara eyaleti için 8.3 mgCE/g, S. Alfio eyaleti için 7.1 mgCE/g ve Maletto eyaleti için 7.2 mgCE/g olarak bulmuşlar. Bu eyaletlerden 2008 yılında ortalama 7.4 mgCE/g olarak tespit etmişlerdir.

Heo ve ark. (2014) çalışmalarında diğer bir indigo kaynağı olan *Polygonum tinctorium* türünün yapısındaki polifenol ve flavonoid miktarlarını incelemişler. Kuru çiçek, yaprak, gövde ve tohumların, su, metanol ve etanol ile ekstraktları incelemişler ve en yüksek toplam polifenol metanol ekstraktından ve yaprak ve çiçeklerden elde edilmiştir. Yapraklarda $22,94 \pm 2,18$ mg GAE/g ve çiçeklerde $22,81 \pm 2,04$ mg GAE/g fenol tespit edilmiştir. En yüksek flavonoid miktarı yine metanol ekstraktından yapraklar, çiçekler ve tohumlardan elde edilmiştir. Yapraklarda 4.02 ± 0.43 mg CE/g, çiçeklerde 3.70 ± 0.34 mg CE/g ve tohumda 3.28 ± 0.26 mg CE/g flavonoid elde etmişlerdir.

Kimura ve ark. (2014) çalışmalarında *Polygonum tinctorium* türünün yapısındaki polifenolik bileşiklerini incelemişlerdir. Analiz sonucunda %50' lik metanolik ekstraktta Chlorogenic acid, Caffeic acid ve Quercetin-3-O-glucuronid, %100' lük metanolik ekstraktta ise Kaempferol-3-O-glucopyranoside, Quercetin, Kaempferol ve 3,5,40-Trihydroxy-6,7-methylenedioxyflavone (tentative) bileşiklerini tespit etmişlerdir.

Yang ve ark. (2014) *Isatis indigotica*'nın köklerinde bulunan fenilpropanoidleri ve bazı azot içeren bileşenleri incelemişlerdir. Etanol ile ekstrakte edilen *Isatis indigotica* bitkisinin köklerini yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz ederek bitkinin yapısında 7 lignan, 3 aromatik glikosit, 3 nükleosit ve 2 bis-indole alkaloit tespit etmişlerdir.

Gai ve ark. (2015) kök hücre kültürü ile yetiştirilmiş üç haftalık *Isatis tinctoria* fidelerinin köklerini %80' lik etanol ile ekstrakte ederek, bitkinin yapısındaki flavonoid miktarını HPLC ile ölçmüşler ve toplam flavonoid miktarını 438,10 µg/g olarak tespit etmişlerdir.

Galleti ve ark. (2015) İtalya’ da farklı bölgelerde yetiştirdikleri *Isatis canescens* türünün glukobrassisin, toplam fenol ve flavonoid miktarlarını incelemişlerdir. Kuru herbada toplam fenol miktarının ortalama 22–27 mg GAE/g arası olduğunu flavonoid miktarının ise 5–8 mg/g kateşin eşdeğeri olduğunu, bölgeler arasında fenol ve flavonoid içeriği yönünden önemli farklar kaydedildiğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Denemede “Doğu Akdeniz ve çevresinde yayılış gösteren *Isatis* spp. (çivit otu) türlerinin tespiti, boya kalitesi ve indirübin miktarı yönünden verimli bitkilerin kültüre alınması” isimli 109O655 nolu TÜBİTAK projesi kapsamında kültüre alınıp yetiştirilen *Isatis* tür ve alttürleri materyal olarak kullanılmıştır.

2010-2011 yıllarının bahar-yaz vejetasyonunda Kahramanmaraş ili ve Gaziantep, Antakya, Kayseri, Mersin ve Elazığ illerinin doğal florasından toplanan *Isatis buscihana*, *Isatis candolleana*, *Isatis tinctoria* subsp. *tomentella* (Göksun lokasyonu), *Isatis tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyonu), *Isatis floribunda*, *Isatis takhtajanii*, *I. constricta*, *I. lusitanica*, *I. callifera*, *I. cappadocica* subsp. *steveniana*, *I. glauca* subsp. *glauca*, *I. lockmaniana* ve *I. pinnatiloba* taksonları ile Almanya Gen Bankasından (Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben) temin edilen *Isatis tinctoria* ve Amerika Birleşik Devletleri Botanik Bahçesinden (Sand Mountain Herbs) temin edilen *Isatis indigotica* kültür formları denemede kullanılmıştır.

Denemede kullanılan *Isatis* taksonları ve toplama yerleri Çizelge 3.1. ve 3.2 de verilmiştir.

Çizelge 3.1. 2010 Yılında Kahramanmaraş ve yakın çevre florasından toplanan *Isatis* taksonları ve lokaliteleri

Takson	Yayılış Durumu	Lokalite	Toplanma Tarihi	Rakım (m)
<i>I. buscihana</i>	Yaygın	K.Maraş, Göksun, püren geçidi civarı	01.06.2010	1600
<i>I. candolleana</i>	Endemik	K.Maraş, Ahırdağı, Tömek yolu	25.05.2010	1400-1500
<i>I. cappadocica</i> subsp. <i>Stevenia</i>	İç ve Doğu Anadolu	K.Maraş, Zeytin, Alikayası civarı	02.06.2010	1850
<i>I. floribunda</i>	Endemik	K.Maraş, Göksun, Bozhüyük yol ayrımı.	26.06.2010	1250
<i>I. glauca</i> subsp. <i>glauca</i>	Geniş yayılışlı	Kayseri, Sarız, Dayıoluk-Tavla köyü civarları	26.06.2010	2000
<i>I. takhtajanii</i>	Kozmopolit	Kayseri, Sarız, Binboğa dağı	12.07.2010	2200-2300
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Mersin lokasyonu)	Güney ve Doğu Anadolu	Mersin, Arslanköy	09.06.2010	1700-1800
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Göksun lokasyonu)		K.Maraş, Göksun-Sarıdağ	26.06.2010	1200-1300

Çizelge 3.2. 2011 Yılında Kahramanmaraş ve yakın çevre florasından toplanan *Isatis* taksonları ve lokaliteleri

Takson	Yayılış Durumu	Lokale	Toplanma Tarihi	Rakım (m)
<i>I. callifera</i>	Endemik	Pozantı	1.6.2011	700-800
<i>I. constricta</i>	Endemik	Elazığ	23.6.2011	1260
<i>I. lusitanica</i>	Kozmopolit	Adıyaman-Urfa	10.7.2011	700
<i>I. pinnatiloba</i>	Endemik	Hatay, samandağı	20.5.2012	10-20
<i>I. lockmanniana</i>	Endemik	Kayseri sarız	20.6.2011	1300-1400

Bitkilerin teşhisi Davis' in flora of Turkey (1965) isimli eserine göre Prof. Dr. Ahmet İLÇİM tarafından yapılmıştır. Kullandığımız bitkilerin genel özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

ISATIS L.: Cins iki veya çok yıllık, gövde yeşil bazen mor, köşeli, dip yapraklar ters mızraksı, yeşil bazen mor renktedir. Gövde yaprakları tüylü veya tüysüz, oblong veya oblong-lanseolat, kulakçıklıdır. Çiçek durumu panikula, bileşik salkım, tüysüz veya tüylüdür. Meyve şeritsi, ters yumurtamsı, ovat, rombik ovat, göbekli ve göbek kanattan geniş, tüylü veya tüysüz, ucu sivri, tabanı kamamsıdır. Çiçeklenme zamanı Mayıs-Haziran, meyvelenme zamanı Haziran, Temmuz aylarıdır.

***I. tinctoria* L. :** Avrupa ile Türkiye nin Ortabatı ve Kuzeybatı Anadolusun'da yetişir. İki veya çok yıllık, gövde 30-130 cm yeşil, sarımsı bazen mor, köşeli, tüysüz, bazen alt hirsut tüylü, üst tüysüz, dip yapraklar 6-27x1-3 cm ters mızraksı, kağıtsı, incemsi tüysüz veya tüylü, yeşil bazen mor, düz kenarı nadiren dişli; orta gövde yapraklar 1,3-13x0,4-3 cm dikdörtgensel, dikdörtgensel-yumurtamsı veya dikdörtgensel-mızraksı, kağıtsı, incemsi, tüysüz veya tüylü kulakçıklar 5-22 mm, üçgensel-mızraksı, sivri gövdeyi yarı sarar.

***I. candolleana* BOISS.:** İki ya da çok yıllık bir bitki türüdür. Endemiktir. Gövde morumsu bir renkte, çiçekler 4 mm, meyveler ovat ya da romboid-ovat şeklinde, 10-14x6-7 mm, tabana doğru yuvarlanmış bir yapıdadır.

***I. glauca* subsp. *glauca* AUCHER:** Çok yıllık bir bitki türüdür. Gövde yeşil, mor, köşeli, Çiçekler 3-5 mm, kuruyunca sarı renkli, sepaller tüylü, meyveler oblong ya da eliptik şekilli, 13-22x5-7 mm boyutlarındadır. Sepal 1,5-3 mm, petal 2,5-5 mm' dir. Polimorfolojik türlerin çiçeklenme zamanı haziran olup, çiçekleri hermafrodittir. Meyve 8-32x4-12 mm, dairesel, üçgensel, obovat, oblong obovat, yürekli, genişçe ovat, eliptik, tüysüz veya tüylü; göbek ince, zarsı, şişkin, yuvarlak ya da eliptik kanat ince, ağsı. Genel olarak kumlu, killi ve iyi sulanmış toprakları tercih eder. Işıklı ortam bitkisi olduğundan gölgede yetişmez (Yıldırım 1987).

***I. tinctoria* L. subsp. *tomentella* BOISS DAVIS:** Yunanistan ve Türkiye' nin Güney ve Doğu Anadolu'sunda yetişir. Meyve 12-15x2,5-4 mm boyutlarında, ucu yuvarlak veya çentikli, genellikle ince sık tüylü veya keçemsiz tüylü, tüyler tepe arasında sivri. *I. tinctoria* subsp. *tomentella*' nın Türkiye' deki yayılış alanı; Manisa, Adana, Bingöl, Bitlis, Mersin, Antalya, Niğde, Hakkari illeri ve çevreleridir. Karadeniz bölgesi hariç diğer bölgelerde yayılış gösterir.

***I. cappadocica* DESV. subsp. *steviana* TRAUTV DAVIS:** İki ya da çok yıllıktır. Kafkasya, Kuzey ve Kuzeybatı İran ile Türkiye' nin Doğu ve Güney Anadolu'sunda yetişir. Gövde dipten çok dallı tüylü, yeşil, nadiren morumsu ve belirgin köşelidir. Meyve genç iken 2-4x2,5-5 mm, olgun iken 6-10x4-9 mm, dairesel, baklavamsı, eliptik, yoğun velutinos tüylü, nadiren tüysüz, uçta ve tabanda küt veya emerginat, stilus belirgin 0,5 mm veya belirgin değil, göbek belirgin rugoz, kısa villoz tüylü, kanat düz veya yarı ondülelidir. Çiçeklenme zamanı Haziran ayı, meyvelenme zamanı Temmuz ayıdır.

***I. floribunda* BOISS. EX BORNM.:** İki veya çok yıllıktır. Endemiktir. Türkiye' de Orta ve Batı Anadolu'da yetişir. Gövde dipten tek ve ya çok dallı, 35-85 cm, yeşil, nadiren mor, belirgin köşeli, tüylü, meyve 13-20x2-3,5 mm, oblong, bazen V şekilli; tomentöz ve basık velutinöz tüylü, özellikle göbek üstünde, tepe sivri, küt, emarginat; kuneat; göbek kanattan geniş, orta ve ortanın üstünde.

***I. buschiana* SCHISCHKIN:** İki veya çok yıllık. Transkafkasya, Kuzey Irak, Batı ve Kuzeybatı İran ile Türkiye' nin Güney ve Doğu Anadolu bölgelerinde yetişir. Gövde dipten 2-3 dallı, mor, köşeli veya yuvarlak, tüysüz, meyve 10-18x1,5-4,5 mm, lineer, tüylü veya tüysüz; göbek kanattan geniş, kanat göbek çevresinde iyice daralmış, göbek altı silindirik, göbek ortada veya ortanın üstünde.

***I. takhtajanii* AVETISIAN:** Çok yıllık bir bitkidir. Ermenistan, Kuzey Irak ve Türkiye' nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yetişir. Bazen yarı çalimsı. Gövde dipten çok dallı, meyveler 11×4 mm, oblanseolat, tüysüz, tepesi küt, tabanı kuneat, kanat aşağı yukarı göbeğe eşit, kalınimsı; göbek şişkin, orta damarı belirgin, ortanın altında.

***I. pinnatiloba* DAVIS:** İki yada tek yıllıktır. Endemiktir. Türkiye' de Güney Batı ve Batı Anadolu'da yetişir. Bütünüyle tüysüz ve pürüzsüz. Gövdeler 30-35 cm civarında, morumsu renkli, seyrek dallı. Çiçekler 5 mm. Meyveleri suborbicular, uç kısmı içe batık veya yuvarlak, tabanı yuvarlak veya yarıkalpsi, 13-17×13-17 mm, kanatlar ince, düz, lokulustan daha geniş. Çiçeklenme Mart-Haziran ayları arasında olur.

***I. constricta* DAVIS:** İki yada tek yıllıktır. Endemiktir. Türkiye' de Doğu Anadolu'da yetişir. Meyveler dar oblong, 14-18×3-4 mm, yoğunlukla yetişkin, bir şekilde daralan supra-median loculusta, truncate-emarginateat apex, tabanda yuvarlaklaşan, incecik medyan rip ile loculus ve dar şişkin kanatlar arasında batan. Magmatik yamaçlar ve 1200-1300 m yüksekliklerde yetişir.

***I. lusitanica* L.:** Tek yıllıktır. Batı Suriye, Suriye çöl, Filistin, Kuzey Irak, İran, Afganistan ve Türkiye' nin Güney bölgesinde yetişir. Gövdeler 10-70 cm. Çiçekler 3-5 mm. Meyveler linear-oblong şekilli, 12-22×2-4 mm, dar kalın kanatların hemen altında ve orta lokulusun etrafında sivrilir. Meyve basık tüylü veya yarı tüysüz. Çiçeklenme Mart-Mayıs ayları arasında olur.

***I. lockmanniana* KOTSCHY EX BOISS.:** İki yada tek yıllıktır. Endemiktir. Türkiye' de Güney Anadolu'da yetişir. Yapraklar ince, yumuşak tüylü; taban yaprakları lyrat-pinnat parçalı, orta gövde yaprakları oblong şekilli, derince ve ayırık kulakçıklı. Çiçekler 3.5 mm. Meyveler dar eliptik, 12-13×3.5-4 mm, uç ve taban kısmı sivri, tüysüz, kanatlar kalın, eni lokulusun eni kadar, ağsı damarlı, lokulusun orta damarı dar kanatlı. Çiçeklenme Nisan ayında olur.

***I. callifera* BOISS. & BAL.:** İki yada tek yıllıktır. Endemiktir. Türkiye' de Güney Anadolu'da yetişir. Gövde yaprakları ince ve oblong şekilli, yarı dişli, tüysüz, yapraklar gövdeyi saran kulakçıklı. Çiçekler 4 mm. Meyve oblong-obovat şekilli. 12-14×4-5 mm, kanatlar kalın, 3 damarlı lokulusun enine eşit ende. Orta damar kanatlı, lateral damarları her iki tarafta da süngerimsi. Çiçeklenme Mart-Mayıs ayları arasında olur.

***I. indigotica* FORT.:** İki yada tek yıllıktır. İç Moğolistan, Çin ve yakın bölgelerinde yetişir. Türkiye’ de doğal olarak yetişmez. Bitkinin boyu 40-90 cm yüksekliğindedir. Büyük bazal yapraklar saplı dikdörtgen eliptiktir. Alt büyük yapraklar 3,5-11 cm boyunda, 0,5-3 cm genişliğindedir. Genişlik apeks şeklindedir. Meyvaları dikdörtgen ve basıktır. Mayıs ayında çiçeklenme, Haziran ayında meyvelenme (Anonim 4).

Kullanılan Kimyasallar

- Etanol absolute CHROMASOLV® for HPLC, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Metanol CHROMASOLV® ,gradient grade, for HPLC, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Kuru buz (OKNAL)
- Folin& Ciocalteu’s phenol reagent (FCR), Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Gallik asit, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Sodyum karbonat, ACS reagent, anhydrous, ($\geq$ % 99,5), granular, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Formik asit, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Alüminyum klorid, for synthesis, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Kuersetin, $\geq$ % 95, (HPLC), solid, Sigma-Aldrich, St. Louis, US.
- Sodyum nitrit (NaNO_2), for synthesis, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA

Kullanılan Cihazlar

- Ultrasonik banyo, United Jewelry Tool Supplies
- Santrifüj, Hettich Zentrifugen Micro 220 R, Germany
- Spektrofotometre, Shimadzu UV-1800, Shimadzu Co, Japan
- Hassas terazi, Kern & Sohn GmbH, Germany
- Ultra derin dondurucu, New Brunswick Scientific U570 Premium, ENGLAND

3.2. Metod

3.2.1. Taksonların kültüre alınması ve verim özelliklerinin tespiti

Doğadan toplanan taksonlar 2010 ve 2011 yılları Ekim ayında K. Maraş Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Araştırma İstasyonu deneme tarlasında tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekrarlamalı olarak ekilmiştir. Denemede kullanılan 12 *Isatis* taksonunun 2012 yılı ilkbahar ayından itibaren 10-15 cm kadar büyümüş olan rozet yaprakları biçilerek yaprak hasatı işlemi gerçekleştirilmiştir. Denemede 2010 yılında ekimi yapılan taksonların ikinci yıllarına ait yaprak hasatı alınırken, 2011 yılında ekilen taksonların birinci yıl hasatı yapılmıştır. İkinci yıl hasatı yapılan bitkilerden çoğunlukla bir biçim alınabildiği için tezde de 4 Nisan 2012 de yapılan birinci biçimin istatistik analizi yapılarak değerlendirilmiştir. 2011 yılında ekimi yapılan bitkilerden ise 2012 yılında türlere göre farklılık göstermekle birlikte toplamda beş hasat 10.04.2012, 10.05.2012, 11.06.2012, 19.07.2012, 05.09.2012 tarihlerinde yapılmıştır. Ancak *I. pinnatiloba* türü tohum azlığından dolayı saksıda yetiştirilerek tek hasat yapılmıştır. Taksonların kök hasatı ise 15.11.2012 tarihinde tüm bitki sökülerek yapılmıştır. Hasadı yapılan yapraklarda yaprak alan indeksi ve bitki başına yaprak verimleri hesaplanmış, fenol ve flavonoid analizleri için ayrılan örnekler ise analiz işlemlerine kadar -80 °C’ de muhafaza edilmiştir. Bazı örneklerin fenol ve flavonoid analizlerinde bozulması veya örnek azlığı sebebi ile *I. tinctoria*’nın Nisan ayı (1.) hasatından flavonoid, *I. candolleana*, *I. cappadocica* subsp. *stevenia*, *I. constricta*, *I. indigotica*, *I. lusitanica*, *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyonu) türlerinin Haziran ayı (3.) hasatlarından fenol ve flavonoid sonuçları elde edilememiştir. *I. lusitanica* ve *I. candolleana* türlerinden ise toplamda 4 hasat yapıldığından 5. Hasat olan eylül ayı hasatında biçim yapılmamıştır. *I. lockmanniana*’dan toplamda 3 hasat (Nisan, Mayıs, Haziran) ve saksıda yetiştirdiğimiz *I. pinnatiloba*’dan tek hasat yapılmıştır. Kökler oda şartlarında kurutularak analiz için saklanmıştır.

Tarla denemesi boyunca bitkilere gerekli sulama, çapalama ve gübreleme işlemleri gerçekleştirilmiş, ortaya çıkan yabancı otlara karşı gerekli ilaçlı mücadele yapılmıştır. Hasat sonrası taksonlarda aşağıda belirtilen morfolojik ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Hasat edilen taksonlarda incelenen verim özellikleri;

Bitki Boyu (cm): Her biçim öncesi parsellerden tesadüfen seçilen 10 bitkinin toprak seviyesinden itibaren en yüksek noktasına kadar olan kısmı cm olarak ölçülmüş ve ortalaması alınmıştır.

Bitki başına Ortalama Yaprak Alanı (cm²): Her biçim öncesi her parselden tesadüfen seçilen 10 bitkiden, tesadüfen seçilen 10 yaprağın, Yaprak Alan Ölçer (Li-Cor LI-3100) aleti ile alanı ölçülmüş ve ortalaması alınarak bitkide ortalama yaprak alanı bulunmuştur.

Bitki Başına Verim (g): Her biçim öncesi parsellerden tesadüfen seçilen 10 bitkinin ağırlıkları tek tek tartılmış ve ortalaması alınarak bitki başına verim hesaplanmıştır.

3.2.2. *Isatis* taksonlarında toplam fenol miktarının saptanması

3.2.2.1. Ön çalışma ile çözücü seçimi ve ekstraksiyon işlemi

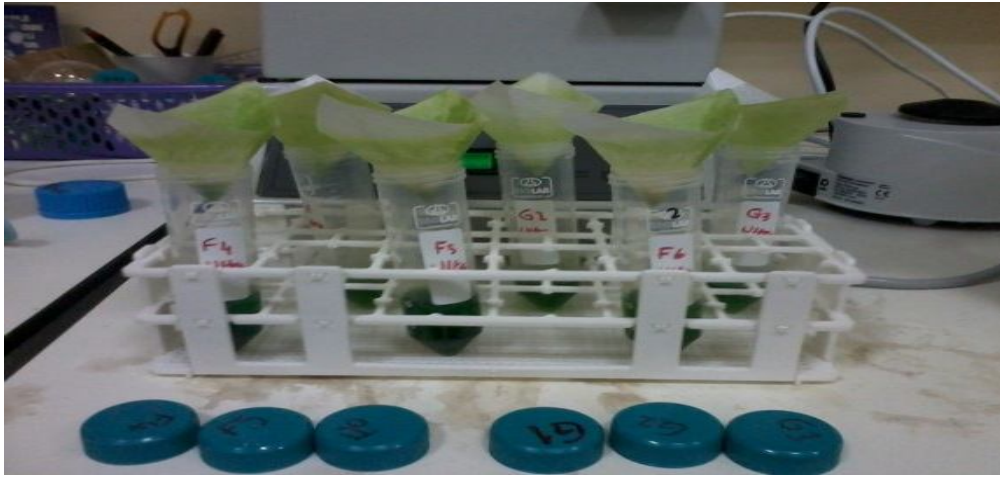
Ekstraksiyonda kullanılacak çözücüye karar verebilmek amacıyla ön çalışma yapılmıştır. *Isatis tinctoria* ile yapılan ön çalışmada yapraklar üç farklı çözücü %80 metanol+ %1 formik asit (Suhad ve Viorica, 2008), %70' lik aseton (Enam ve El-Moaty, 2009) ve %75' lik etanol (Koca, 2013) ile ayrı ayrı ekstrakte edilmiştir. 1 g taze *Isatis* yaprağı 10 ml çözücü (%80 metanol+ %1 formik asit, %70' lik aseton ve %75' lik etanol) ile porselen havanda ezilerek kahverengi şişelere alınmış ve 15 dk ultrasonik banyoda ekstrakte edilmiştir. Kuru kökler ise bakır havanda dövülerek toz haline getirilmiş ve yapraklara uygulanan aynı işlemler kök tozlarına da uygulanmıştır. Ekstrakt Whatman 1 nolu filtre kağıdı ile süzildükten sonra aynı işlem yaprak kalıntılarına 2 kere daha uygulanıp süzildükten sonra (toplamda 3 kez) toplanan süzüntüler kendi çözücülerıyla 35 ml ye tamamlanmıştır. Elde edilen ekstraksiyonlar Folin Ciocalteu yöntemi kullanılarak bitkide bulunan toplam fenol miktarı tespit edilmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). En yüksek toplam fenol miktarı %75' lik etanol çözücüsü ile ekstrakte edilen yapraktan elde edilmiştir. Böylece çalışmamızda %75' lik etanol çözücü olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.1. *Isatis* yapraklarının havanda ezilip şişelere alınması



Şekil 3.2. Şişelerin ultrasonik banyoda ekstraksiyona konulması

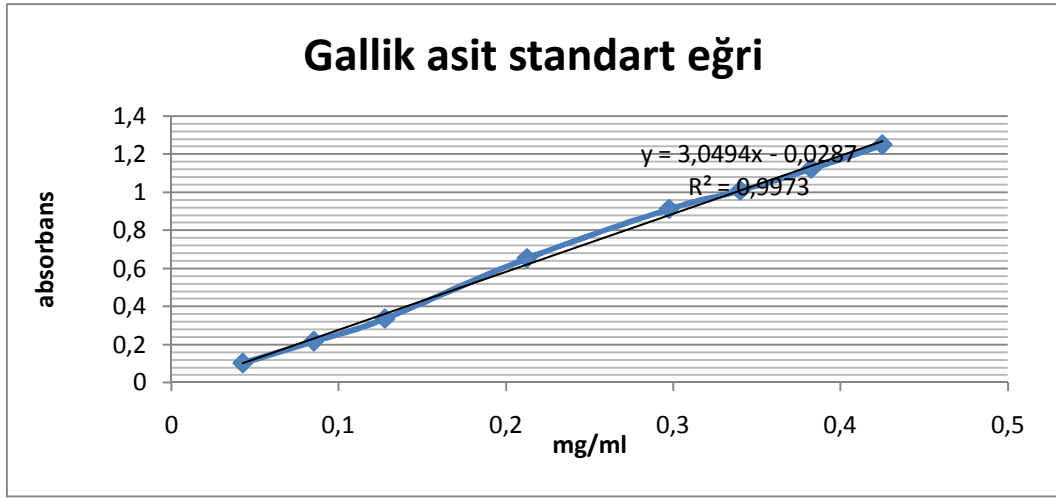


Şekil 3.3. Ekstraksiyonun süzöldükten sonra fallop tüplere alınması

3.2.2.2. *Isatis* taksonlarına ait yaprak ve köklerdeki fenol miktarının spektrofotometre ile tespiti

Fenol miktarının spektrofotometrede ölçümü için 50 µL etanolik ekstrakt, 450 µL distile edilmiş su ile karıştırılıp 250 µL 2N Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. 3 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra bu karışıma 1.25 mL %20' lik (a/h) sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi eklenmiştir. 25 °C' de 60 dk karanlıkta inkübe edilen ekstrakt 2000×g' de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant Spektrofotometre cihazında 760 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar mg/gallik asit eşdeğeri (GAE)/g ekstrakt şeklinde ifade edilmiştir (Singleton ve Rossi, 1965).

Toplam fenol miktarının hesaplanmasında standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Gallik asitten 0,04-0,42 mg/ml aralığında çözeltiler hazırlanıp spektrofotometrede toplam fenolik içeriği Singleton ve Rossi (1965) metodundaki gibi ölçülmüştür. UV spektrofotometrede 760 nm dalga boyunda okunan absorbans değerlerine göre grafik oluşturulmuş ve bu değerlerle bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Her bir uygulamaya ait örneklerin 760 nm’deki absorbans değeri, gallik asit standart eğrisindeki formülün yerine koyulup ($y=3,0494x-0,0287$), çıkan sonucun seyreltme miktarı da hesaba katılarak toplam fenolik değer mg GAE/g ekstrakt olarak bulunmuştur.



Şekil 3.4. Gallik asit kalibrasyon eğrisi



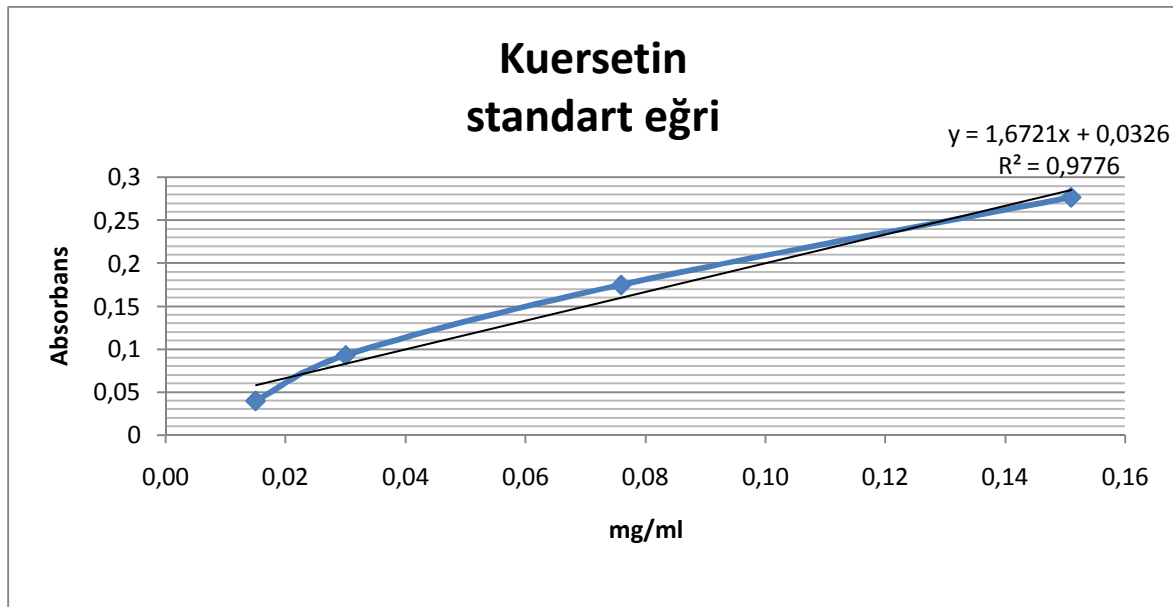
Şekil 3.5. Süpernatantın spektrofotometre cihazında ölçülmesi

3.2.3. *Isatis* taksonlarında toplam flavonoid miktarının Saptanması

3.2.3.1 *Isatis* taksonlarına ait yaprak ve köklerin toplam flavonoid miktarının saptanması

Isatis taksonlarının yaprak ve köklerindeki toplam flavonoidin hesaplanmasında toplam fenol için hazırlanan ekstrakt kullanılmıştır. Hazırlanmış olan etanolik ekstraktan 0,5 ml test tüpüne alınıp üzerine 2 ml distile su, 0,3 ml %5' lik NaNO_2 eklenmiştir. Karışım iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 6 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bundan sonra 0,3 ml %10' luk AlCl_3 eklenip tekrar 6 dk inkübasyona bırakılarak inkübasyonun ardından 4 ml %4' lük NaOH eklenip iyice karıştırıldıktan sonra distile su ile hacim 10 ml'ye tamamlanmıştır. Karışım 10 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra spektrofotometre cihazında 510 nm de okunmuştur.

Toplam flavonoid miktarını hesaplamak için standart olarak kuersetin kullanılmıştır (Tolonen ve Uusitalo, 2004). Kuersetin %100' lük metanolde, konsantrasyonları 0,01-0,15 mg/ml olacak şekilde çözeltiler hazırlanmış ve 510 nm de değerleri okunup, standart eğri oluşturulmuştur. Elde edilen regresyon denklemiyle ($y=1,6721x+0,0326$) bitki örneklerimizdeki toplam flavonoid miktarı hesaplanmıştır.



Şekil 3.6. Kueretin kalibrasyon eğrisi

3.2.4. Verilerin değerlendirilmesi

Laboratuvar alışmaları 2012-2013 yıllarında KSÜ Biyoloji Bölümü Bitki Fizyolojisi Laboratuvarında yürütölmüştür. 2010 ve 2011 yıllarında tesadüf parseller deneme desenine göre üç tekerrürlü kurulmuş tarla denemesinden her bir biçim zamanında yaş yaprak örnekleri alınmış, kök örnekleri ise 2012 yılının sonbahar ayında hasat edilmesi ile elde edilen örneklerle yapılmıştır. Toplam fenol ve flavonoid analizleri üç tekerrürlü olarak, morfolojik analizler her tekerrürden seçilen 10 bitki üzerinden yapılmıştır. Araştırma sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 20.1 Paket programı kullanılarak Duncan' ın Çoklu Karşılaştırma Testi' ne göre yapılmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Ön Çalışmaya Ait Toplam Fenol Miktarları

Ekstraksiyon işleminde kullanacak en uygun kimyasal çözücüyü tespit etmek için farklı çözücüler kullanılarak yapılan ön çalışma sonucu elde edilen toplam fenol miktarı Çizelge 4.1. de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Isatis tinctoria*'nın farklı kimyasal çözücülerle ekstraksiyonu sonucu elde edilen toplam fenol miktarları (mg GAE/g ekstrakt)

TÜR ADI	%75'LİK ETANOL ÇÖZELTİSİ	%70'LİK ASETON ÇÖZELTİSİ	%80 METANOL +%1 FORMİK ASİT ÇÖZELTİSİ
<i>I. tinctoria</i>	269,88	222,09	236,15

Farklı çözücülerden elde edilen toplam fenol miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamakla birlikte %75' lik etanol ile yapılan ekstraksiyondan (269,88 mg GAE/g) fenol, %70' lik aseton çözücüsünden ise (222,09 mg GAE/g) fenol elde edilmiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.1.).

Çalışma sonuçlarımız Peschel ve ark. (2007)'nin *Isatis tinctoria*'nın tohum küspesinin toplam fenol miktarını tespit etmek için çözücü olarak denemiş olduğu %75' lik etanol, hexane, propilen glikol, isopropanol ve sıcak su (60 °C) sonuçlarından yüksek olup, araştırmacılar toplam fenol miktarını sırası ile 106,10 mg GAE/g, 10,91 mg GAE/g, 74,61 mg GAE/g, 60,63 mg GAE/g olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada en yüksek toplam fenol miktarı etanol ekstraktından elde edilmiş, sıcak suda ise sonuç bulunamamıştır.

4.2. 2010 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarına Ait Bitki Boyu Değerleri

2010 yılında ekilen *I. tinctoria*, *I. glauca* ssp. *glauca*, *I. indigotica*, *I. buschiana*, *I. takhtajanii*, *I. floribunda* ve *I. tinctoria* ssp. *tomentella* (Mersin lokasyon) türleri ikinci yıllarında da gelişimlerine devam etmiş ve 2012 yılında 4 Nisan tarihinde biçim yapılabilmektedir.

2010 yılında ekimi, 2012 yılında hasatı yapılan *Isatis* tür ve alt türlerinden elde edilen bitki boyu değerleri ve istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.2.' de verilmiştir.

Çizelge 4.2. 2010 Yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarına ait bitki boyu değerleri (cm)

Taksonlar	Bitki Boyu	Önemlilik (P)
<i>I. buschiana</i>	29,73ab	**
<i>I. floribunda</i>	18,86c	
<i>I. glauca</i> subsp. <i>glauca</i>	27,63ab	
<i>I. indigotica</i>	23,33bc	
<i>I. takhtajanii</i>	19,20c	
<i>I. tinctoria</i>	24,4abc	
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Mersin Lokasyonu)	31,00a	

Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi bitki boyu yönünden türler arasındaki farklılık istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde önemli bulunmuş olup en yüksek bitki boyu *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (31,00 cm) türünden en düşük bitki boyu ise *I. floribunda*' dan (18,86 cm) elde edilmiştir.

4.3. 2011 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarına Ait Bitki Boyu Değerleri

2011 yılında ekimi yapılan, 2012 yılında hasatı yapılan *I. callifera*, *I. candolleana*, *I. cappadocia* subsp. *stevenia*, *I. constricta*, *I. indigotica*, *I. lockmaniana*, *I. lusitanica*, *I. tinctoria*, *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyonu), *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Göksun lokasyonu) tür ve alttürlerinden elde edilen bitki boyu değerleri ve istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.3.' de verilmiştir.

Çizelge 4.3. 2011 Yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarına ait bitki boyu değerleri (cm)

Hasat Zamanları						
Taksonlar	1. Hasat Nisan	2. Hasat Mayıs	3. Hasat Haziran	4. Hasat Temmuz	5. Hasat Eylül	Türlerin Ortalaması
<i>I. callifera</i>	14,12de	22,69ab	21,13	19,89a	12,01	19,27 a
<i>I. candolleana</i>	12,70de	13,05c	15,36	10,65c	-	12,54c
<i>I. cappadocia</i> subsp. <i>stevenia</i>	13,54de	14,14c	14,90	11,84bc	9,87	12,25 c
<i>I. constricta</i>	13,87de	19,97b	20,45	14,80b	10,90	16,17 b
<i>I. indigotica</i>	20,45bc	23,40ab	23,70	19,95a	12,20	20,16 a
<i>I. lockmaniana</i>	27,00a	21,10ab	14,34	-	-	20,63 a
<i>I. lusitanica</i>	11,53e	14,78c	20,37	14,40b	-	17,04 b
<i>I. tinctoria</i>	25,10ab	24,97a	24,00	14,27b	28,25	19,63 a
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Mersin lokasyonu)	18,30cd	25,80a	22,32	20,50a	12,14	20,38 a
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Göksun lokasyonu)	16,27cde	24,14ab	21,33	11,77bc	-	17,32 b
P	**	**	önemsiz	**	önemsiz	**
Hasat Ortalaması	17,52 b	20,65 a	20,35 a	15,38 c	11,02 d	*

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

Çizelge 4.3.' de hasatlardan elde edilen bitki boyu değerleri görülmektedir. Her bir hasat istatistiksel olarak kendi içinde değerlendirilmiş ve üçüncü ve beşinci hasatta türler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Birinci, ikinci ve dördüncü hasatlarda ise türler arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Ayrıca hasat ortalamaları 0,05 düzeyinde ve takson ortalamaları arasındaki fark da 0.01 düzeyinde, önemli bulunmuştur.

Çizelgeye göre en yüksek bitki boyuna birinci hasatta *I. lockmaniana* (27 cm) ve *I. tinctoria* (25,10 cm) türlerinin, 2. hasatta *I. tinctoria* (24,97 cm) ve *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyonu) (25,8 cm)' nin; 3. hasatta *I. tinctoria* (24.0 cm) ve *I. indigotica* (23.70 cm), 4. hasatta *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyonu) (20.5

cm), *I. indigotica* (19.95) ve *I. callifera* (19.89 cm) ve son hasatta yine *I. tinctoria*'nın (28.25 cm) sahip olduğu belirlenmiştir. Her bir hasat dönemine ait türlerin ortalamaları karşılaştırıldığında Mayıs (II. Hasat) ve Haziran (III. Hasat) aylarında bitki boyu değerlerinin arttığı; sonraki dönemlerde ise düştüğü gözlenmiştir. Türlerin hasat ortalamaları karşılaştırıldığında en yüksek bitki boylarına *I. lockmaniana* (20.63 cm), *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyonu) (20.38 cm), *I. indigotica* (20.16 cm), *I. tinctoria* (19.63 cm) ve *I. callifera* (19.27 cm) türlerinin sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3.).

Ekimi 2010 yılında yapılan bitkilerin ikinci yıl biçimlerinden elde edilen sonuçları literatür değerleriyle kıyasladığımızda; Davis (1965)' e göre *I. tinctoria* bitki boyu değerleri 40-90 cm' dir. Baytop (1984)' a göre *I. tinctoria* bitki boyu 50-100 cm arasındadır. Bu veriler çalışmamız sonucu elde ettiğimiz verilerden yüksektir. *I. glauca* subs. *glauca*' ya ait bitki boyu değerleri 27,63 cm olup Davis (1965)' e göre *I. glauca* subs. *glauca* bitki boyu 50-100 cm ve Yıldırım (1988)' ya göre *I. glauca* subs. *glauca* bitki boyu 35-140 cm arasındadır ve çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlardan daha yüksek değerler elde edilmiştir. Tans (1998)' e göre *I. tinctoria*'nın bitki boyu 65.11-94.89 cm arasında değişmektedir. Çömlekçioğlu ve ark. (2014) *I. buschiana* için bitki boyunun 98-98,3 cm arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bitki boyu yönünden literatürlerden düşük değerler elde edilmesi, ekim zamanındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği gibi, güneşli günler ile birlikte türlerin sapa kalkmadan hasat edilmesi, bir çok literatür çalışmasında ise meyveli bitkinin boy uzunluğunun ölçülmüş olması sebebiyledir.

Ekimi 2011 yılında yapılan bitkilerin birinci yıl hasatlarından elde edilen sonuçları incelediğimizde; bitki boyu için literatür değerleri kültür formu olan *I. tinctoria* için bitki boyunun Yıldırım (1988), 30-130 cm, Tans (1998), 65,1-94,9 cm, Kızıl (2000), 117,9 cm, Akar (2006), 53-121 cm, Karahan ve Yılmaz (2001), 30-80 cm, deneme alanını kurduğumuz bölgede daha önce çalışma yapan Çömlekçioğlu (2011), 40,1-114,2 cm arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmamızda *I. tinctoria* için elde ettiğimiz bulgular literatür verilerinden genellikle düşüktür. Bu farklılığın iklim şartlarının farklı olmasından da kaynaklandığı söylenebilir. *I. constricta* için Kızıl (2000) ikinci yıl bitki boyu ortalamasını 78,27 olarak bildirmiştir. Belirtilen değer çalışmamızda elde ettiğimiz değerden yüksektir. Yıldırım (1988) *I. cappadocica* subsp. *stevnia*' da bitki boyunun 30-80 cm arasında değiştiğini bildirmiş olup çalışmamızla uyumluluk göstermektedir. Akar

(2006) *I. candolleana* türündeki bitki boyunu 40-61 cm olarak bildirmiştir. Akar (2006)' ın elde ettiği değerin denemede elde ettiğimiz değerlerden yüksek olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda kullandığımız yabani formların bir çoğu için çok fazla çalışma yapılmamış olup bu bitkiler doğal ortamdaki özellikleri ile kıyaslandığında doğal floradan toplanan bitkilerin sapa kalkmış ve meyveli olması, ancak denememizde elde ettiğimiz bitkilerin büyük bir kısmının rozet formda olması sebebi ile denememizdeki bitki boyları daha düşük bulunmuştur. Bitki boyu yönünden literatürlerden düşük değerler elde edilmesi, ekim zamanındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği gibi, güneşli günler ile birlikte türlerin sapa kalkmadan hasat edilmesi bir çok literatür çalışmasında ise meyveli bitkinin boy uzunluğunun ölçülmüş olması sebebiyledir.

4.4. 2010 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarına Ait Ortalama Yaprak Alanı İndeksi (cm²)

2010 yılında ekimi yapılan *Isatis* türlerine ait ikinci senede yapılan hasattan elde edilen yaprak alanı indeksi değerleri ve istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.4.' de verilmiştir.

Çizelge 4.4. 2010 Yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarına ait ortalama yaprak alanı indeksi (cm²) Değerleri

Taksonlar	Yaprak Alanı İndeksi	Önemlilik (P)
<i>I. buschiana</i>	39,44a	**
<i>I. floribunda</i>	31,49b	
<i>I. glauca</i> ssp. <i>glauca</i>	30,28c	
<i>I. indigotica</i>	20,35d	
<i>I. tahtajanii</i>	20,16d	
<i>I. tinctoria</i>	3,92e	
<i>I. tinctoria</i> ssp. <i>tomentella</i> (Mersin lokasyonu)	20,04d	

** p<0,01

Yaprak alanı indeksi yönünden taksonlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur. En yüksek yaprak alanı *I. buschiana* (39,44 cm²)' dan elde

edilmiştir. Bu türü *I. floribunda* (31,49 cm²) takip etmiştir. En düşük yaprak alanı (3,92 cm²) ise *I. tinctoria*' dan elde edilmiştir.

4.5. 2011 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarına Ait Ortalama Yaprak Alanı İndeksi (cm²)

2011-2012 vejetasyon döneminde yetiştirilen *Isatis* taksonlarının yaprak alan indeksine ilişkin bulgular ve istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.5.' de verilmiştir.

Çizelge 4.5. 2011 Yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarına ait ortalama yaprak alanı indeksi (cm²) Değerleri

Hasat Zamanları						
Taksonlar	1. Hasat Nisan	2. Hasat Mayıs	3. Hasat Haziran	4. Hasat Temmuz	5. Hasat Eylül	Türlere Ait Ortalamalar
<i>I. callifera</i>	30,83 e	92,47 c	24,57 ı	35,37 b	17,72 e	52,52 f
<i>I. candolleana</i>	37,27 d	36,36 h	44,49 f	28,71 f	-	36,48 h
<i>I. cappadocia</i> subsp. <i>stevania</i>	37,54 d	55,59 f	45,66 e	26,57 g	28,43 a	42,37 g
<i>I. constricta</i>	25,13 g	54,8 g	77,46 c	32,42 d	-	54,89 d
<i>I. indigotica</i>	27,97 f	29,03 ı	37,67 g	29,71 e	22,44 b	29,57 ı
<i>I. lockmaniana</i>	149,62a	62,39 e	34,33 h	-	-	53,03 e
<i>I. lusitanica</i>	29,60 e	73,50 d	86,46 b	34,54 c	-	67,00 b
<i>I. tinctoria</i>	7,27 h	4,38 j	5,29 j	6,49 ı	5,38 f	5,18 j
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Mersin lokasyonu)	39,60 c	107,54 b	90,44 a	53,85 a	21,54 c	76,18 a
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Göksun lokasyonu)	41,44 b	111,36 a	51,57 d	17,35 h	18,90 d	62,11 c
P	**	**	**	**	**	-
Hasat Ortalaması	62,74 a	62,74 a	49,80 b	29,45 c	19,07 d	*

* P < 0,05

** P < 0,01

Çizelge 4.5.' de görüldüğü gibi, farklı hasat dönemlerinde çivitotu türlerinden elde edilen yaprak alan indeksi değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiş ve her bir hasattaki taksonlar arası farklılık ve hasat ortalamaları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli

bulunmuştur. Her bir hasatta türler kendi içinde değerlendirildiğinde, ilk hasatta *I. lockmaniana* (149.62 cm²), 2. hasatta *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Göksun) (111.36 cm²) ve (Mersin) (107.54 cm²) lokasyonları; 3. hasatta *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin) (107.54 cm²) ve *I. lusitanica* (86.46 cm²); 4. hasatta yine *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin) (53.85 cm²) ve son hasatta *I. cappadocia* subsp. *stevenia* (28.43 cm²)’ dan diğer türlere nazaran daha yüksek değerler elde edilmiştir. Taksonlara ait ortalamalar incelendiğinde *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin) (76.18 cm²)’ dan elde edilen yaprak alan indekslerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Beş hasat ortalaması değerlendirildiğinde birinci ve ikinci hasattan üçüncü, dördüncü ve beşinci hasatlara göre yüksek yaprak alanı elde edilmiştir (Çizelge 4.5.).

Ortalama yaprak alanı indeksi yönünden verimler karşılaştırıldığında ekimini yaptığımız doğal formlardan kültür formlarına kıyasla daha yüksek yaprak alanı elde edilmiştir. Denemenin ikinci yılında hasat edilen *I. buschiana*’ dan en yüksek yaprak alanı elde edilmiştir. 2011 yılında ekilen taksonlardan *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin)’ dan yüksek yaprak alanı elde edilmiştir. Hasat ortalamaları karşılaştırıldığında ilk iki hasatlarda daha yüksek yaprak alanı elde edilirken, üçüncü ve diğer hasatlarda zaman ilerledikçe vejetasyon süresi ve yaz sıcaklarının da etkisiyle bu oranın giderek düştüğü görülmüştür. Hasat zamanları açısından elde ettiğimiz sonuçlar Monaco ve ark. (2005)’ in sonuçları ile desteklenebilir. Araştırmacılar *I. tinctoria*’ da tam gün ışığında yetiştirdikleri yapraklardan gölgede yetişenlere göre %40 daha düşük yaprak alanı elde etmişlerdir. Aynı araştırmacılar sulanan *I. tinctoria* bitkilerinde sulanmayanlara oranla üç kat fazla yaprak alanı indeksi elde etmişlerdir. Monaco ve ark. (2005) *I. tinctoria*’da elde ettikleri en yüksek yaprak alanını 6,6 cm² olarak bildirmişlerdir.

4.6. 2010 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarına Ait Yaprak Verimi Değerleri

2010 yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarının ikinci yılına ait bitki başına yaprak verimi değerleri ve istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.6.’ de verilmiştir.

Çizelge 4.6. 2010 Yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarına ait yaprak verimi değerleri (g/bitki)

Taksonlar	Bitki başına Yaprak Verimi	Önemlilik (P)
<i>I. buschiana</i>	160,43a	**
<i>I. floribunda</i>	17,74c	
<i>I. glauca</i> ssp. <i>glauca</i>	22,3c	
<i>I. indigotica</i>	52,16cb	
<i>I. takhtajanii</i>	16,36c	
<i>I. tinctoria</i>	61,26cb	
<i>I. tinctoria</i> ssp <i>tomentella</i> (Mersin)	86,66b	

**p<0,01

Çivit otlarında ikinci yılda yapılan hasattan elde edilen bitki başına yaprak verimi değerleri incelendiğinde taksonlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. İkinci sene en yüksek yaprak verimi (160,43 g/bitki) yaprak alan indeksi yüksek olan *I. buschiana*’ dan elde edilmiştir. Bu türü yine doğal *Isatis*ler den *I. tinctoria* subsp *tomentolla* (Mersin) alt türü (86,66 g/bitki) takip etmiştir.

4.7. 2011 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarına Ait Bitki Başına Yaprak Verimi Değerleri

2011-2012 vejetasyon döneminde yetiştirilen *Isatis* taksonlarından elde edilen bitki başına yaprak verimlerine ilişkin bulgular ve istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.7.’ de verilmiştir.

Çizelge 4.7. 2011 Yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarına ait bitki başına yaprak verimi değerleri (g/bitki)

Hasat Zamanları						
Taksonlar	1. Hasat Nisan	2. Hasat Mayıs	3. Hasat Haziran	4. Hasat Temmuz	5. Hasat Eylül	Türlere ait Ortalama
<i>I. callifera</i>	17,56d	156,01ab	160,89a	65,78bc	40,56a	88,16b
<i>I. candolleana</i>	100,4b	91,6cd	80,55bc	16,9d	-	72,36c
<i>I. cappadocia</i> subsp. <i>stevenia</i>	13,37d	98,94cd	27,74d	99,97a	21,74bc	52,35de
<i>I. constricta</i>	15,8d	127,24bc	40,57cd	69,57bc	15,84c	53,8d
<i>I. indigotica</i>	29,2c	28,85ef	113,1ab	83,95ab	28,5b	61,85cd
<i>I. lockmaniana</i>	230a	121bc	44,34cd	-	-	119,29a
<i>I. lusitanica</i>	18,79cd	96,67cd	49,30cd	36,9d	-	50,51de
<i>I. tinctoria</i>	24cd	23,04f	65,5bcd	42,67cd	13,94c	33,83f
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Mersin)	24,34cd	188,34a	147,74a	93,24ab	25,17bc	95,76b
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Göksun)	13,67d	67,77de	46,38cd	21,27d	-	37,27ef
P	**	**	**	**	**	**
Hasat Ortalaması	40,80d	102,10a	78,51b	59,59c	24,04e	**

** P < 0,01

Çizelge 4.7' de görüldüğü gibi, bitki başına yaprak verimi açısından taksonlar arasındaki fark istatistiksel olarakta önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Her bir hasat kendi içinde değerlendirildiğinde ilk hasatta bitki başına verimin en yüksek olduğu türün yaprak alan indeksinde olduğu gibi *I. lockmaniana* (230 g/bitki) olduğu fakat bu miktarın 2. ve 3. hasatlarda oldukça düştüğü gözlenmiştir. 2. hasatta *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin) (188.34 g/bitki), 3. hasatta ise *I. callifera* (160.89 g/bitki) ile *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin) (147.74 g/bitki), 4. hasatta *I. cappadocia* subsp. *stevenia* (99.97 g/bitki) ve son hasatta ise *I. callifera* (40.56 g/bitki)' dan elde edilen verimlerin diğer türlere nazaran daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hasat ortalamaları incelendiğinde; Mayıs ve Haziran aylarını kapsayan 2. ve 3. hasat dönemlerinde ortalamaların en yüksek olduğu görülmüştür. En düşük hasat ortalaması ise vejetasyon döneminin sonuna denk gelen son hasat dönemi olan Eylül ayında elde edilmiştir. Taksonlara ait ortalamalar değerlendirildiği taktirde; en

yüksek yaprak veriminin *I. lockmaniana* (119.29 g), *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (95.76 g) ve *I. callifera* (88.16 g)' dan elde edildiği görülmektedir.

Bitki başına yaprak verimi yönünden elde edilen değerler literatür değerleri ile kıyaslandığında *I. tinctoria* için bitki veriminin bölgemizde yapılan çalışmalarda; Akar (2006), 29 g, Çömlekçioğlu (2011), 50,3-83,9 g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çömlekçioğlu ve ark. (2014), *I. buschiana*' nın bitki başına yaprak veriminin 127,6-153,3 g/bitki arasında değiştiğini belirtmişlerdir. *I. tinctoria* için bulgularımızın (13,94 g/bitki) literatür veriler ile uyumlu veya yüksek olduğunu söyleyebiliriz. Çünkü belirtilen literatürler bir hasat içermekte olup çalışmamızda bu türden 3-5 arası hasat yapılmış ve ilk hasatlarda yüksek yaprak verimleri elde edilmiş. Ancak geç hasatlarda bitkilerdeki dejenerasyon ile düşük yaprak verimleri gözlenmiştir. Denememizde *I. tinctoria*' dan düşük verim elde edilirken türün alt türü olan *I. tinctoria* subsp. *tomentella*' dan daha yüksek verimler elde edilmiştir. *I. tinctoria* subsp. *tomentella* alt türü *I. tinctoria* türünden farklılık göstermekte olup yaprak alan indeksi daha büyüktür ve bitki başına ağırlık *I. tinctoria*'dan daha fazla bulunmuştur.

4.8. 2010 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarının Yapraklarına Ait Toplam Fenolik Madde Miktarı

2010 yılında ekimi yapıp 2012 yılında ikinci yıl hasatı yapılan *Isatis* taksonlarının yapraklarından elde edilen toplam fenol miktarları ve istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.8 de verilmiştir.

Çizelge 4.8. 2010 Yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarının yapraklarına ait toplam fenol miktarı (mg GAE/g ekstrakt)

Taksonlar	Toplam Fenol	Önemlilik (P)
<i>Isatis buschiana</i>	191,17a	**
<i>Isatis floribunda</i>	146,17b	
<i>Isatis glauca</i> ssp. <i>glauca</i>	144,26b	
<i>Isatis indigotica</i>	195,07a	
<i>Isatis takhtajinii</i>	145,56b	
<i>Isatis tinctoria</i>	86,59c	
<i>Isatis tinctoria</i> ssp. <i>tomentella</i> (Mersin)	126,50b	

**p<0,01

Taksonlara ait toplam fenol miktarları incelendiğinde türler arası istatistiksel fark 0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur. En yüksek fenol miktarları *Isatis indigotica* (195,07 mg GAE/g) ve *I. buschiana* (191,17 mg GAE/g)' dan elde edilmiştir. En düşük fenol miktarına sahip olan tür *I. tinctoria* (86,59 mg GAE/g ekstrakt) olarak saptanmıştır (Çizelge 4.8.).

4.9. 2011 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarının Yapraklarına Ait Toplam Fenolik Madde Miktarı

2011 yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarının yapraklarından elde edilen toplam fenol miktarları ve istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.9. de verilmiştir.

Çizelge 4.9. 2011 Yılında kültüre alınmış *Isatis* taksonlarının yapraklarına ait toplam fenol miktarı (mg GAE/g ekstrakt)

Hasat Zamanları						
Taksonlar	1. Hasat Nisan	2. Hasat Mayıs	3. Hasat Haziran	4. Hasat Temmuz	5. Hasat Eylül	Türlere ait Ortalama
<i>I. callifera</i>	164,46bc	148,99b	131,10b	238,68ab	165,96cd	169,84bcd
<i>I. candolleana</i>	164,08bc	151,53b	-	178,61bcde	-	164,74cd
<i>I. cappadocica</i> ssp. <i>stevenia</i>	158,46bc	217,50a	-	128,38e	142,53d	161,72d
<i>I. constricta</i>	182,54b	241,11a	-	252,92a	140,84d	204,35ab
<i>I. indigotica</i>	184,23b	243,92a	-	216,65abc	247,20a	223,00a
<i>I. lusitunica</i>	152,18bc	155,74b	-	146,19de	-	151,37d
<i>I. lockmanniona</i>	144,68bc	113,71b	188,64a	-	-	149,01d
<i>I. pinnatiloba</i>	112,64c	-	-	-	-	-
<i>I. tinctoria</i>	269,88a	152,46b	161,83ab	207,28abcd	220,21ab	202,33abc
<i>I. tinctoria</i> ssp. <i>tomentella</i> (Mersin)	132,22bc	143,65b	-	174,30cde	161,46cd	152,91d
<i>I. tinctoria</i> ssp. <i>tomentella</i> (Göksun)	159,68bc	150,22b	162,30ab	162,49cde	190,23bc	164,98cd
P	**	**	*	**	**	**
Hasat Ortalaması	171,24	171,88	160,97	189,50	181,20	önemsiz

** P < 0,01

* P < 0,05

Taksonlara ait toplam fenol miktarları incelendiğinde (Çizelge 4.9.1) Nisan hasatında en yüksek fenol miktarı *I. tinctoria*' dan (269,88 mg GAE/g) elde edilmiştir. *I. pinnatiloba*'dan ise en düşük (112,64 mg GAE/g) toplam fenol içeriği elde edilmiştir (p<0,01). Mayıs ayında yapılan ikinci hasatta *I. indigotica* (243,92 mg GAE/g)' dan elde edilen toplam fenol miktarlarının en yüksek olduğu görülmektedir. Bu türü *I. constricta* (241,11 mg GAE/g) ve *I. cappadocica* subsp. *stevenia* (217,50 mg GAE/g) takip etmiştir. En düşük fenol miktarı 113,71 mg GAE/gr olarak *I. lockmanniona*'dan elde edilmiştir (p<0,01). Haziran ayında yapılan hasatta *I. lockmanniona*' nın toplam fenol miktarının (188,64 mg GAE/g) en yüksek olduğu görülmektedir. *I. callifera*' dan ise en düşük toplam fenol içeriği (131,10 mg GAE/g) elde edilmiştir (p<0,05). Dördüncü biçim olan Temmuz hasatında *I. constricta*' dan yüksek fenol içeriği (252,92 mg GAE/g) elde edilmiştir. En

düşük fenol miktarına (128,38 mg GAE/g) sahip olan türün *I. cappadocica* subsp. *stevenia* olduğu saptanmıştır ($P<0,01$). Eylül ayında yapılan beşinci hasatta *I. indigotica*’ dan elde edilen toplam fenol miktarının (247,20 mg GAE/g) en yüksek olduğu görülmektedir. En düşük fenol miktarları ise *I. constricta* (140,84 mg GAE/g) ve *I. cappadocica* ssp. *stevenia* (142,53 mg GAE/g)’ dan elde edilmiştir ($p<0,01$). Türler ait hasat ortalamaları incelendiğinde *I. indigotica*’ dan elde edilen toplam fenol miktarının (223,00 mg GAE/g) en yüksek olduğu görülmektedir. Bu türü *I. constricta* (204,35 mg GAE/g), *I. tinctoria* (202,33 mg GAE/g), *I. callifera* (169,84 mg GAE/g), *I. tinctoria* ssp. *tomentella* (Göksun) (164,98 mg GAE/g) ve *I. candolleana* (164,74 mg GAE/g) türleri takip etmiştir. En düşük fenol miktarı ise *I. lockmanniana* (149,01 mg GAE/g) taksonundan elde edilmiştir ($p<0,01$) (Çizelge 4.9.1.). Hasat zamanları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olmakla birlikte en yüksek toplam fenol içeriği (189,50 mg GAE/g) Temmuz hasatından elde edilmiştir. En düşük toplam fenol içeriği ise (160,97 mg GAE/g) Haziran hasatından elde edilmiştir.

Isatis yapraklarındaki fenol miktarı ile ilgili olarak literatür değerleri incelendiğinde Peschel ve ark. (2006) *Isatis tinctoria*’nın kuru yapraklarındaki toplam fenolik madde miktarını 76,95 mg GAE/g, yine Peschel ve ark. (2007)’ deki çalışmalarında ise *Isatis tinctoria*’nın tohumlarının etanol ile ekstraktındaki toplam fenolik madde miktarını 106,10 mgGAE/g olarak saptamışlardır. Belirtilen değerler çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerin alt seviyelerinde veya düşüktür.

Li ve ark. (2008) *Isatis tinctoria*’nın toplam fenol miktarını 4,18 mg GAE/g olarak tespit etmişlerdir. Farklı araştırmacılar (Li ve ark., 2013) ise *Isatis tinctoria*’nın toplam fenol miktarını 4,73 mg GAE/g olarak rapor etmişlerdir. Yang ve ark. (2013) kurutulmuş *Isatis tinctoria*’nın etanol ekstraktındaki toplam fenol miktarını 3,88 mg GAE/g olarak bildirmiştir. Araştırmacıların *Isatis tinctoria* için bildirdikleri toplam fenol miktarı çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden düşük olarak saptanmıştır. Ayrıca Wang (2012) bitkisel marketlerden temin ettiği kuru *Isatis indigotica* herbasında toplam fenolik madde miktarını sulu çözeltide 5,94 mg GAE/g, etanolde ise 1,82 mg GAE/g olarak tespit etmiştir. Çeşitli *Isatis* türlerinin çiçek ve tohumları da fenol yönünden araştırılmıştır. Li ve ark. (2011)’ de *I. indigotica*’nın tohumunun yapısında 8,92 mg/g toplam polifenol saptamıştır. Karakoca ve ark. (2013) *Isatis floribunda*’nın çiçeklerindeki toplam fenol miktarını farklı çözücülerle yaptığı ekstraktan 1,64-98,23 mg GAE/g olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar türün su ekstraktından 93,91 mg GAE/g fenol elde etmişlerdir.

Galletti ve ark. (2014)' deki çalışmalarında *Isatis canescens*' in çiçek tomurcuklarındaki toplam fenolik madde miktarını 2007 yılı için 24,7 mg GAE/g, 2008 yılı için 25,1 mg GAE/g olarak bildirmişlerdir. Galletti ve ark. (2013) *I. tinctoria*' nın çiçekli tomurcuklarındaki toplam fenol miktarını 25 mg GAE/g olarak, yine Galletti ve ark. (2015) çalışmalarında doğal floradan topladıkları *I. canescens* türünün kuru herbasının yapısındaki toplam fenol miktarının 22-27 mg GAE/g arasında olduğunu saptamışlardır.

Farklı *Isatis* türlerinin çiçeklerinden elde edilen toplam fenol miktarı çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden genel olarak düşük olup farklı türlerle çalışılmış olmanın yanında çiçeklerden ve tohumdan yapraklardan daha düşük etken madde elde edilmiş olduğu söylenebilir. Sonuçlarımız zencefil üzerinde çalışan Chan ve ark. (2009) çalışmaları ile kısmen desteklenebilir. Araştırmacılar zencefilin yaprak ve çaylarında kurutma metodunun toplam fenol ve antioksidan miktarına etkilerini araştırmışlar ve tüm zencefil türlerinde toplam fenol miktarının kuru yapraklarda taze yaprakların yarısından daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda da taze yapraklardan literatür değerlerine göre yüksek fenol elde edilmiştir. Ayrıca literatürde bildirilen materyallerin büyük oranda doğal floradan veya aktarlardan temin edilmiş olması verimlerin kültür şartlarından elde ettiğimiz verimlerden düşük olmasına sebep olmuştur.

4.10. *Isatis* Taksonlarının Köklerine Ait Toplam Fenolik Madde Miktarı

2010-2012 vejetasyon döneminde yetiştirilen *I. tinctoria*, *I. indigotica*, *I. callifera*, *I. constricta*, *I. cappadocica* ssp. *stevenia*, *I. lusitanica*, *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Göksun lokasyonu), *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyonu), *I. candolleana*, *I. lockmanniana*, *I. buschiana*, *I. takhtajanii*, *I. floribunda*, *I. sivasica* taksonlarının köklerinden elde edilen toplam fenol miktarı ve istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.10. de verilmiştir.

Çizelge 4.10. *Isatis* taksonlarının köklerine ait toplam fenol miktarı (mg GAE/g ekstrakt)

Taksonlar	Toplam fenol	Önemlilik (P)
<i>I. tinctoria</i>	99,52def	**
<i>I. cappadocica</i> ssp. <i>stevenia</i>	82,93ef	
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Göksun lokasyon)	130,16c	
<i>I. sivasica</i>	92,30def	
<i>I. lusitanica</i>	161,93b	
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Mersin lokasyon)	118,26cd	
<i>I. constricta</i>	112,08cde	
<i>I. buschiana</i>	73,00f	
<i>I. takhtajanii</i>	208,97a	
<i>I. indigotica</i>	133,25c	
<i>I. candolleana</i>	179,08b	
<i>I. callifera</i>	92,59def	
<i>I. floribunda</i>	223,78a	
<i>I. lockmanniana</i>	94,83def	

**p<0,01

Taksonlara ait köklerde bulunan toplam fenol miktarları incelendiğinde türler arası istatistiksel fark 0,01 düzeyinde önemli bulunmakla birlikte, *I. floribunda*'nın kökündeki toplam fenol miktarının (223,78 mg GAE/g) en yüksek olduğu bu türü *I. takhtajanii* (208,97 mg GAE/g) takip ettiği görülmektedir. En düşük miktara sahip olan türün *I. buschiana* (73,00 mg GAE/g) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.10).

I. floribunda, *I. takhtajanii*, *I. candolleana* türleri ikinci yıllarında kök hasatı yapılan türler olup diğer türlere göre daha yüksek fenol verimi elde edilmiştir. Ancak *I. buschiana* türünde ikinci yılında kök hasatı yapılmış olmasına rağmen en düşük fenol içeriği elde edilen tür olmuştur.

Sonuçlarımız literatür değerleri ile karşılaştırıldığında, Cai ve ark. (2004) *I. indigotica*'nın kökündeki toplam fenol miktarını 0,35-0,45 g/100g olarak tespit etmişlerdir. Bu değerler çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden oldukça düşüktür. Karakoca ve ark. (2013) da *I. floribunda*'nın kökündeki toplam fenolik madde miktarını 68,91 mg GAE/g olarak bildirmişlerdir. Bu değer çalışmamızda elde ettiğimiz *I. floribunda* değerinden oldukça düşüktür ancak en düşük elde ettiğimiz *I. buschiana*'nın değerine yakındır. Türlerimizin kültür ortamında olması, düzenli sulama, gübreleme ve iklim şartlarının değerlerimizin yüksek çıkmasında etkisi bulunmaktadır.

4.11. 2010 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarının Yapraklarına Ait Toplam Flavonoid Miktarı

2010 yılında ekimi yapıp 2012 yılında ikinci yıl hasatı yapılan *Isatis* taksonlarının yapraklarından elde toplam flavonoid miktarları ve istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.11. de verilmiştir.

Çizelge 4.11. 2010 Yılında ekimi yapılan *Isatis* taksonlarının yapraklarına ait toplam flavonoid miktarı (mgQE/g ekstrakt)

Taksonlar	Flavonoid	Önemlilik (P)
<i>Isatis buschiana</i>	10,44a	**
<i>Isatis floribunda</i>	9,87a	
<i>Isatis glauca</i> ssp. <i>glauca</i>	8,42a	
<i>Isatis indigotica</i>	5,23ab	
<i>Isatis takhtajinii</i>	8,79a	
<i>Isatis tinctoria</i>	0,00b	
<i>Isatis tinctoria</i> ssp. <i>tomentella</i> (Mersin)	9,04a	

**p<0,01

Türler arası istatistiksel fark 0,01 düzeyinde önemli bulunmakla birlikte, Çizelge 4.11.' den *I. buschiana* ' da toplam flavonoid miktarının en yüksek (10,44 mgQE/g) olduğu görülmektedir. Bunu *I. floribunda* (9,87 mgQE/g), *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyon) (9,04 mgQE/g), *I. takhtajinii* (8,79 mgQE/g) *I. glauca* subsp. *glauca* (8,42 mgQE/g) takip etmiştir. *I. tinctoria* ' da ise flavonoid saptanmamıştır.

4.12. 2011 Yılında Ekimi Yapılan *Isatis* Taksonlarının Yapraklarına Ait Toplam Flavonoid Miktarı

Isatis taksonlarının yapraklarından elde edilen toplam flavonoid miktarları ve istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.12. de verilmiştir.

Çizelge 4.12. 2011 Yılında kültüre alınmış *Isatis* taksonlarının yapraklarına ait toplam flavonoid miktarı (mgQE/g ekstrakt)

Hasat Zamanları						
Taksonlar	1. Hasat Nisan	2. Hasat Mayıs	3. Hasat Haziran	4. Hasat Temmuz	5. Hasat Eylül	Türlere ait ortalama
<i>I. callifera</i>	57,97	14,10	53,35	29,65	73,16	45,65
<i>I. candolleana</i>	26,37	42,05	-	33,06	-	33,83
<i>I. cappadocica</i> ssp. <i>stevnia</i>	18,23	30,02	-	12,40	13,01	18,41
<i>I. constricta.</i>	17,01	22,85	-	45,94	-	28,60
<i>I. indigotica.</i>	15,92	56,39	-	21,27	24,43	29,50
<i>I. lusitanica</i>	34,27	10,45	-	24,67	-	23,13
<i>I. lockmanniona</i>	16,77	-	43,75	-	-	30,33
<i>I. pinnatiloba</i>	40,35	-	-	-	-	-
<i>I. tinctoria</i>	-	25,40	14,46	49,34	32,57	30,44
<i>I. tinc. ssp. tomentella</i> (Mersin lokasyon)	11,79	16,41	-	61,01	17,99	26,80
<i>I. tinc. ssp. tomentella</i> (Göksun lokasyon)	61,25	17,02	44,23	35,85	55,66	42,80
P	önemsiz	önemsiz	önemsiz	önemsiz	önemsiz	önemsiz
Hasat ortalaması	28,80	26,08	38,95	34,80	36,14	önemsiz

Çizelge 4.12. incelendiğinde yapılan bütün hasatlarda taksonlar arası fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Bununla birlikte Nisan ayında yapılan hasatta *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Göksun)’nın toplam flavonoid miktarının (61,25 mgQE/g) en yüksek olduğu en düşük flavonoid miktarına (11,79 mgQE/g) sahip olan türün *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyonu) olduğu gözlenmiştir. Mayıs ayında yapılan ikinci hasatta en yüksek toplam flavonoid miktarının (56,39 mgQE/g) *I. indigotica*’dan olduğu görülmektedir.

En düşük miktara sahip olan türün *I. lusitanica* (10,45 mgQE/g) olduğu görülmektedir. Haziran ayında yapılan üçüncü hasatta en yüksek flavonoid miktarı (53,35 mgQE/g) *I. callifera*’dan, en düşük flavonoid miktarı (14,46 mgQE/g) *I. tinctoria*’dan elde edilmiştir. Dördüncü biçim olan Temmuz hasatında en yüksek flavonoid miktarı (61,01 mgQE/g) *I. tinctoria* subsp. *tomentella*’dan, en düşük miktar ise (12,40 mgQE/g) *I.*

cappadocica ssp. *stevenia*' dan elde edilmiştir. Eylül ayında yapılan beşinci hasatta en yüksek toplam flavonoid miktarının (73,16 mgQE/g) *I. callifera*' dan, en düşük miktar ise *I. cappadocica* subsp. *stevenia*' dan (13,01 mgQE/g) elde edilmiştir. Türlerle ait hasat ortalamaları incelendiğinde ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmakla birlikte, *I. callifera*' nin toplam flavonoid miktarının (45,65 mgQE/g) en yüksek olduğu görülmektedir. En düşük flavonoid miktarı *I. cappadocica* subsp. *stevenia*' dan (18,41 mgQE/g) elde edilmiştir. Hasat zamanları ortalamaları incelendiğinde, ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmakla birlikte en yüksek toplam flavonoid içeriği (38,95 mgQE/g) Haziran hasatından elde edilmiştir. En düşük toplam flavonoid içeriği ise (26,08 mgQE/g) Mayıs hasatından elde edilmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız türlerden farklı olarak Emam ve ark. (2010) *Isatis microcarpa*' nin çiçeklerindeki flavonoid miktarlarını Nisan ayında %2.64, Mayıs ayında %1.30 ve Mart ayında %1.17 şeklinde, yapraklarındaki flavonoid miktarlarını ise Mayıs ayında %2.21, Nisan ayında %1.12 ve Mart ayında %1.05 olarak bildirmişler. Karakoca ve ark. (2013) *Isatis floribunda*' nin çiçeklerindeki toplam flavonoid miktarını etanol ile yaptıkları ekstraktta 4,86 mgQE/g olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bitkinin metanol ekstraktında 12,65 mgQE/g ekstrakt, su ile yapılan ekstraktta ise 25,90 mgQE/g ekstrakt flavonoid elde etmişlerdir. Araştırmacıların sonuçları çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerle benzer veya düşük olarak gözlenmiştir. Yang ve ark. (2013) kurutulmuş *Isatis tinctoria* bitkisini %95' lik etanol ile ekstrakte ederek toplam flavonoid miktarını incelemişler. Ancak bitkide flavonoid tespit edememişler.

Yine çalışmamızda kullandığımız türlerden farklı olarak Galletti ve ark. (2014) farklı yıllarda toplanan *Isatis canescens*' in çiçek tomurcuklarının yapısında bulunan toplam flavonoid miktarını kateşin eşdeğeri olarak hesaplamışlar ve 2007 yılı için 6,5 mgCE/g, 2008 yılı için 7,4 mgCE/g şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir. Galletti ve ark. (2015) çalışmalarında *I. canescens* türünün kuru herbasındaki toplam flavonoid miktarının 5-8 mg/g kateşin eşdeğeri arasında olduğunu saptamışlardır. Farklı *Isatis* türlerinden elde edilen toplam flavonoid miktarı çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden genel olarak düşük olup, literatür verilerinin genellikle kuru bitki üzerinde çalışılmış olması bizim ise taze yapraklardan analiz yapmamız ve farklı ekstraksiyon teknikleri kullanılması sonuçların farklı çıkmasına sebep olmuştur.

4.13. *Isatis* Taksonlarının Köklerine Ait Toplam Flavonoid Miktarı

2010-2012 vejetasyon döneminde yetiştirilen *I. tinctoria*, *I. indigotica*, *I. callifera*, *I. constricta*, *I. cappadocica* ssp. *stevenia*, *I. lusitanica*, *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Göksun lokasyon), *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin lokasyon), *I. candolleana*, *I. lockmanniana*, *I. buschiana*, *I. takhtajanii*, *I. floribunda*, *I. sivasica* türlerinin köklerindeki toplam flavonoid miktarları ve istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.13. de verilmiştir.

Çizelge 4.13. *Isatis* taksonlarının köklerine ait toplam flavonoid miktarı (mgQE/g ekstrakt)

Taksonlar	Toplam Flavonoid	Önemlilik (P)
<i>I. tinctoria</i>	0,00c	**
<i>I. cappadocica</i> ssp. <i>stevenia</i>	0,00c	
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Göksun lokasyon)	0,00c	
<i>I. sivasica</i>	0,00c	
<i>I. lusitanica</i>	0,00c	
<i>I. tinctoria</i> subsp. <i>tomentella</i> (Mersin lokasyon)	0,36c	
<i>I. constricta</i>	0,00c	
<i>I. buschiana</i>	0,00c	
<i>I. takhtajanii</i>	28,19a	
<i>I. indigotica</i>	0,00c	
<i>I. candolleana</i>	0,00c	
<i>I. callifera</i>	0,00c	
<i>I. floribunda</i>	17,62b	
<i>I. lockmanniana</i>	0,00c	

**p<0,01

Taksonlara ait köklerdeki toplam flavonoid miktarları incelendiğinde *I. takhtajanii*'nin kökünde bulunan toplam flavonoid miktarının (28,19 mgQE/g) en yüksek olduğu görülmektedir. En düşük flavonoid içeren türlerin ise *I. sivasica*, *I. constricta*, *I. indigotica*, *I. buschiana*, *I. tinctoria*, *I. cappadocica* ssp. *stevenia*, *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Göksun), *I. lusitanica*, *I. candolleana*, *I. callifera* ve *I. lockmanniana* olduğu saptanmıştır ve türlerin köklerinden flavonoid elde edilememiştir (p<0,01) (Çizelge 4.13.).

Isatis taksonlarının köklerindeki toplam flavonoid miktarı ile ilgili literatürler incelendiğinde, Karakoca ve ark. (2013) *Isatis floribunda* bitkisinin kökünde flavonoid

miktarı tespit edememişlerdir. Çalışmamızın sonucunda *Isatis floribunda*'nın kökündeki flavonoid miktarı 17,62 mgQE/g olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda kullandığımız türlerden farklı olarak Emam ve ark. (2010) *Isatis microcarpa*'nın köklerindeki flavonoid miktarlarını Mayıs ayında %1,95, Nisan ayında %1,00 ve Mart ayında %0,87 olarak bildirmişlerdir. Gai ve ark. (2015) *Isatis tinctoria*'nın 3 haftalık fidelerinde toplam flavonoid miktarını 0,4 mg/g olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacıların *I. tinctoria*'nın kökünden elde ettikleri değer çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden düşüktür. Türlerin yetiştirilme koşulları ekstraksiyon işlemlerinin literatürlerle farklılık göstermesi hatta çözücü saflığının bile sonucu etkilediği literatürde belirtilmektedir (Wang, 2012).

4.14. Sonuçlar Ve Öneriler

Çalışmamızda özellikle Çin tıbbında kanser tedavisinde kullanılan *Isatis* cinsinin bazı tür ve alt türleri fenol ve flavonoid içeriği yönünden incelenmiştir. Çalışılan türlerin bazılarının endemik olması ve *Isatis* türlerinin birçoğunun içeriğinin incelenmemiş olması bu çalışmanın önemini arttırmaktadır. Çalışmamızda 12 *Isatis* taksonu (*Isatis callifera*, *Isatis constricta*, *Isatis cappadocica* ssp. *stevenia*, *Isatis lusitanica*, *Isatis tinctoria* subsp. *tomentella* (Mersin ve Göksun lokasyonları), *Isatis candolleana*, *Isatis lockmanniana*, *Isatis pinnatiloba*, *Isatis buschiana*, *Isatis takhtajanii*, *Isatis sivasica*, *Isatis floribunda*) ile tohumları yurt dışından temin edilen *Isatis tinctoria* ve *Isatis indigotica* Kahramanmaraş koşullarında 2010-2012 yıllarında yetiştirilmiş ve bitki boyu, yaprak alanı indeksi ve bitki başına yaprak verimi verim özellikleri olarak incelenmiştir. Deneme boyunca ikinci yıl hasatlarından bir, birinci yıl hasatlarından Nisan ayından itibaren beş hasat elde edilmiştir.

Deneme sonucu bitki boyu en yüksek tür 2010 yılı ekilen ikinci yılında biçilen türlerden *I. tinctoria* subsp *tomentella* (31 cm)'dan, 2011 yılında ekilen ve birinci yıl biçimi yapılan türlerden Nisan hasatında *I. lockmanniana* (27 cm), Mayıs hasatında *I. tinctoria* subsp *tomentella* (25,8 cm), Haziran hasatında *I. tinctoria* (24 cm), Temmuz hasatında *I. tinctoria* subsp *tomentella* (20,5 cm) ve son hasat olan Eylül hasatında *I. tinctoria* (28,25 cm)'dan elde edilmiştir. Farklı hasat zamanlarından Mayıs ayından elde edilen bitki boyu değeri (20,65 cm) en yüksek olarak bulunmuştur.

Yaprak alanı indeksi yönünden en verimli tür 2010 yılı ekilen ikinci yılında biçilen türlerden *I. buschiana* (39,44 cm²), 2011 yılında ekilen ve birinci yıl biçimi yapılan

türlerden Nisan hasatında *I. lockmanniana* (149,62 cm²) Mayıs hasatında *I. tinctoria* subsp *tomentella* (Göksun) (111,36 cm²), Haziran hasatında *I. tinctoria* subsp *tomentella* (107,54 cm²), Temmuz hasatında *I. tinctoria* subsp *tomentella* (53,85 cm²) ve Eylül hasatında *I. cappadocica* subsp *stevenia* (28,43 cm²)’ dan elde edilmiştir. Hasat zamanlarından Nisan ve Mayıs aylarından elde edilen yaprak alanı indeksi değerleri (62,74 cm²) en yüksek olarak bulunmuştur.

Bitki başına yaprak verimi 2010 yılı ekilen ikinci yılında biçilen türlerden *I. buschiana* (160,43 g/bitki)’ dan, 2011 yılında ekilen ve birinci yıl biçimi yapılan türlerden Nisan hasatında *I. lockmanniana* (230 g/bitki), Mayıs hasatında *I. tinctoria* subsp *tomentella* (188,34 g/bitki), Haziran hasatında *I. callifera* (160,89 g/bitki), Temmuz hasatında *I. cappadocica* subsp *stevenia* (99,97 g/bitki) ve Eylül hasatında *I. callifera* (40,56 g/bitki)’ dan elde edilmiştir. Hasat zamanlarından Mayıs ayından elde edilen bitki başına yaprak verimi değeri (102,10 g/bitki) en yüksek olarak bulunmuştur.

Yapraktaki en yüksek fenol miktarı 2010 yılı ekilen ikinci yılında biçilen türlerden *I. indigotica* (195,07 mg GAE/g)’ dan, 2011 yılında ekilen ve birinci yıl biçimi yapılan türlerden Nisan hasatında *I. tinctoria* (269,88 mg GAE/g), Mayıs hasatında *I. indigotica* (243,92 mg GAE/g), Haziran hasatında *I. lockmanniana* (188,64 mg GAE/g), Temmuz hasatında *I. constricta* (252,92 mg GAE/g) ve Eylül hasatında *I. indigotica* (247,20 mg GAE/g)’ dan elde edilmiştir. Farklı aylarda yapılan hasat ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Yapraktaki en yüksek flavonoid miktarı 2010 yılı ekilen ikinci yılında biçilen türlerden *I. buschiana* (10,44 mgQE/g)’ dan, 2011 yılında ekilen ve birinci yıl biçimi yapılan türlerden Nisan hasatında *I. tinctoria* subsp *tomentella* (Göksun lokasyonu) (61,25 mgQE/g), Mayıs hasatında *I. indigotica* (56,39 mgQE/g), Haziran hasatında *I. callifera* (53,35 mgQE/g), Temmuz hasatında *I. tinctoria* subsp *tomentella* (Mersin lokasyonu) (61,01 mgQE/g) ve Eylül hasatında *I. callifera* (73,16 mgQE/g)’ dan elde edilmiştir. Farklı aylarda yapılan hasat ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Isatis türlerinin köklerindeki toplam fenol ve flavonoid miktarları incelendiğinde en yüksek fenol miktarı *I. floribunda* (223,78 mg GAE/g)’ dan en yüksek flavonoid miktarı da *I. takhtajinii* (28,19 mgQE/g)’ den elde edilmiştir.

Genel olarak Haziran Temmuz aylarından yüksek verim elde edilirken son hasatlara doğru azalmalar gözlenmiştir.

Çalışmamız *I. indigotica*, *I. constricta* ve *I. tinctoria* türlerinin fenol, *I. callifera* ve *I. tinctoria* subsp. *tomentella* (Göksun lokasyonu) türlerinin flavonoid içeriği yönünden zengin olduğunu, yaprakların köklerden daha fazla fenol ve flavonoid içerdiğini göstermiştir. Çalışılan türler bölgemizin doğal bitkisi olması sebebi ile Kahramanmaraş koşullarında kültüre alma çalışmalarında ciddi bir sorunla karşılaşılmamıştır. Sonraki çalışmalarda fenol ve flavonoid yanında boya ve diğer aktif bileşenler yönünden verimli türlerin kültüre alınması ve yüksek verim üzerine çalışmaların geliştirilmesi, bu türlerin biyolojik aktiviteleri üzerine gelecekte çalışmaların arttırılması önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Akar D., 2006. Doğu Akdeniz Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı *Isatis* (çivit otu) Türlerinin Boyama Özelliklerinin ve Boyarmadde İçeriklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı. 63s.
- Al-Shehbaz, I.A., Beilstein, M.A., Kellogg, E.A., 2006. Systematics and Phylogeny Of The *Brassicaceae* (*Cruciferae*): An Overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259 (2-4): 89-120.
- Al-Shehbaz, I.A., Mutlu, B., Dönmez, A.A., 2007. The *Brassicaceae* (*Cruciferae*) Of Turkey Updated. *Turkish Journal Of Botany*, 31: 327-336.
- Angelini, L.G., Tozzi, S., Di Nasso, N.N., 2007. Differences In Leaf Yield And Indigo Precursors Production In Woad (*Isatis tinctoria* L.) And Chinese Woad (*Isatis indigotica* Fort.) Genotypes. *Field Crops Research*, 101: 285–295.
- Anonim 1. Fenoller şekil. URL (Erişim tarihi: 13.03.2016-12:51). <http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF8DF7C92FCA5B4D054A822CD24F30817F>.
- Anonim 2. Çivit Otu Nedir, Çivit Otu Bitkisinin Faydaları, 2015. URL (Erişim Tarihi: 20.10.2015 21:30). <http://www.bitkisininfaydalari.com/bitkiler/civit-otu-nedir-civit-otu-bitkisinin-faydalari>.
- Anonim 3. Anadoludaki *Isatis* Türleri, 2014. URL (Erişim Tarihi: 22.08.2014 20:32). <http://biow.tubitak.gov.tr/present/taxonForm1.jsp?taxon=13340>.
- Anonim 4. SWEWE, 2014. Woad (*Isatis indigotica* FORT.)'nın özellikleri. URL (Erişim Tarihi: 20.08.2014 21:30). http://tr.swewe.net/word_show.htm/?182578_1&Woad.
- Bacanlı, M., Taner, G., Başaran, A.A., Başaran, N., 2015. Bitkisel Kaynaklı Fenolik Yapıdaki Bileşikler ve Sağlığa Yararlı Etkileri. *Research Gate*, DOI: 10.5336/pharmsci.2014-42688.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic Compounds In Plants And Agri-Industrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chemistry*, 99 (1): 191-203.
- Baytop, T., 1984. Türkiye' de Bitkiler İle Tedavi. *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, No: 3255/40. İstanbul.
- Block, G., Patterson, B., Subar, A., 1992. Fruit, Vegetables And Cancer Prevention: A Review Of The Epidemiologic Evidence. *Nutrition Cancer*, 18: 1-29.
- Boissier, E. 1867. *Flora Orientalis*, Vol.1: Basileae, s. XX.
- Boissier, E. 1888. *Flora Orientalis*, Supplementum, Ed. R.Buser, Genevae Et Basileae, s.431-433.

- Brown, J.E., 1999. Nutrition Now. 2nd Edition, West/Wadsworth, Belmont.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., Corke, H., 2004. Antioxidant Activity And Phenolic Compounds Of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated With Anticancer. *Life Sciences*. 74: 2157–2184.
- Cai, Y.Z., Sun, M., Corke, H., 2003. Antioxidant Activity Of Betalains From Plants Of The Amaranthaceae. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 51 (8): 2288–2294.
- Cemeroğlu, B., Acar, J., 1986. Meyve Ve Sebze İşleme Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği*, Yayın No: 6, Ankara.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, S. K., Lim, K. K., Tan, S. P., Lianto, F. S., Yong, M. Y., 2009. Effects Of Different Drying Methods On The Antioxidant Properties Of Leaves And Tea Of Ginger Species. *Food Chemistry*, 113(1): 166E172.
- Chen, J., Dong, X., Li, Q., Zhou, X., Gao, S., Chen, R., Sun, L., Zhang, L., Chen, W., 2013. Biosynthesis Of The Active Compounds Of *Isatis indigotica* Based On Transcriptome Sequencing And Metabolites Profiling. *BMC Genomics*, 14:857. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/857>.
- Chiocca, E. A., 2011. Component Of Chinese Herbal Remedy Might Block Brain Tumor's Spread. *Frontiers Turning Cancer Discoveries Into Treatments*, Autumn, p. 10. <http://cancer.osu.edu/~media/Files/Cancer/About/Publications/Frontiers/2011/Frontiers-Fall-2011.pdf?la=en>.
- Cotelle, N., Bernier, J.L., Catteau, J.P., Pommery, J., Wallet, J.C., Gaydou, E.M., 1996. Antioxidant Properties Of Hydroxyflavones. *Free Radical Biology And Medicine* 20 (1): 35–43.
- Çapanoğlu, E., Boyacıoğlu, D., 2009. Meyve Ve Sebzelerin Flavonoid İçeriği Üzerine İşlemenin Etkisi. *Akademik Gıda*, 7: 41-46.
- Çömlekçioğlu, N., 2011. Kahramanmaraş'da Yayılış Gösteren Bazı *Isatis* spp. (Çivitotu) Türlerinde Farklı Ekim Zamanlarının Verim Unsurlarına Etkisi İle Boyama Özelliklerinin ve Boyarmadde Miktarının Saptanması. Doktora Tezi. K.S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Kahramanmaraş. 164s.
- Çömlekçioğlu, N., Efe, L., Karaman, Ş., 2014. Kahramanmaraş Koşullarında Farklı Ekim Zamanlarının *Isatis tinctoria* Ve *Isatis buschiana* Türlerinin Verim Ve Bazı Agronomik Özellikleri Üzerine Etkileri. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 11, (1).
- Dastmalchi, K., Dorman, H.J.D., Oinonen, P.P., Darvis, Y., Laakso, I., Hiltunen, R., 2008. Chemical Composition And In-vitro Antioxidative Activity Of A Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) Extract. *Science Direct, LWT* 41: 391–400.
- Davis, P. H. 1965-1985. Flora Of Turkey And The East Aegean Islands. I-IX, University Press, Edinburgh.

- Deveoğlu, O., Karadağ, R., 2011. Genel Bir Bakış: Doğal Boyarmaddeler. *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 23(1): 21-32.
- Du, Q., Zheng, J., Xu, Y., 2008. Composition Of Anthocyanins In Mulberry And Their Antioxidant Activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 390-395.
- Elliott, M. C., Stowe, B. B., 1971. Distribution And Variation Of Indole Glucosinolates In Woad (*Isatis tinctoria* L.). *Plant Physiology*, 48: 498-503. Downloaded from www.plantphysiol.org on August 26, 2015 - Published by www.plant.org Copyright © 1971 American Society of Plant Biologists. All rights reserved.
- Elmastaş, M., 2013. Siyah Havuç (*Daucus carota*) Kallus Ve Hücre Süspansiyon Kültüründe Antosiyanin Üretimine UV-C Stresinin Ve Ribofilavinin Etkilerinin Belirlenmesi. *T.C. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Sonuç Raporu*, Proje No:2010/78.
- Emam, S. S., Abd El-Moaty, H. I., 2009. Glucosinolates, Phenolic Acids And Anthraquinones Of *Isatis microcarpa* Boiss And *Pseuderucaria clavata* (Boiss & Reut.) Family: Cruciferae. *Journal of Applied Sciences Research*, 5(12): 2315-2322.
- Emam, S. S., Abd El-Moaty, H. I., Mohamed, S. Abd El., 2010. Primary Metabolites And Flavonoid Constituents Of *Isatis microcarpa* J. Gay Ex Boiss. *Journal of Natural Products*, Vol. 3:12-26. ISSN 0974 – 5211.
- Ferguson, L. R., Philpott, M., Karunasinghe, N., 2004. Dietary Cancer And Prevention Using Antimutagens. *Toxicology*, 198: 147-159.
- Gai, Q-Y., Jiao, J., Luo, M., Wei, Z-F., Zu, Y-G., Ma, W., Fu, Y-J., 2015. Establishment Of Hairy Root Cultures By *Agrobacterium Rhizogenes* Mediated Transformation Of *Isatis tinctoria* L. For The Efficient Production Of Flavonoids And Evaluation Of Antioxidant Activities. *PLOS ONE* | DOI:10.1371/journal.pone.0119022.
- Galletti, S., Bagatta, M., Branca, F., Argento, S., De Nicola, G-R., Cianchetta, S., Ioria, R., Ninfali, P., 2014. *Isatis canescens* Is A Rich Source Of Glucobrassicin And Other Health-promoting Compounds. Published Online In Wiley Online Library: (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jsfa.6697.
- Galletti, S., Bagatta, M., Branca, F., Argento, S., De Nicola, G.R., Cianchetta, S., Ioria, R., Ninfali, P., 2015. *Isatis canescens* Is A Rich Source Of Glucobrassicin And Other Health-promoting Compounds. *Journal Science Food Agriculture*, 95: 158–164.
- Galletti, S., Barillari, J., Iori, R., Venturi, G., 2006. Glucobrassicin Enhancement In Woad (*Isatis tinctoria*) Leaves By Chemical And Physical Treatments. *Journal Science Food Agriculture*, 86: 1833–1838.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism And Structure-Activity Relationships. *Journal Nutrition Biochemistry*, 13 (10): 572-584.

- Heo, B-G., Park, Y-J., Park, Y-S., Bae, J-H., Cho, J-Y., Park, K., Jastrzebski, Z., Gorinstein, S., 2014. Anticancer And Antioxidant Effects Of Extracts From Different Parts Of indigo Plant. *Industrial Crops and Products*, 56: 9–16.
- Ikizler, M., Erkasap, N., Dernek, S., Kural, T., Kaygisiz, Z., 2007. Dietary Polyphenol Quercetin Protects Rats Hearts During Reperfusion: Enhanced Antioxidant Capacity With Chronic Treatment. *Anadolu Kardioloji Dergisi*, 7: 404-410.
- Karahan, F., Yılmaz, H., 2001. Erzurum Ve Yakın Çevresinde Peyzaj Planlama Çalışmalarında Değerlendirilebilecek Bazı Alpin Bitkilerin Belirlenmesi. *Turkish Journal of Agric and Forestry*, 25: 225-233© TÜBÜTAK.
- Karakoca, K., Asan, Ozusaglam, M., Cakmak, Y. S., Karaman, Erkul, S., 2013. Antioxidative, Antimicrobial And Cyhtotoxic Properties Of *Isatis floribunda* BOISS. EX BORN. EKTRACTS. *Experimental and Clinical Sciences Journal*, 12:150-167 – ISSN 1611-2156.
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R., 2015. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması Ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5): 226-234.
- Kızıl, S., 2000. Bazı Çivit Otu (*Isatis tinctoria* L.ve *Isatis constricta* Davis) Türlerinde Uygun Ekim Sıklığı Ve Boyama Özelliklerinin Saptanması Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi. Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. Ankara. 108s.
- Kızıl, S., 2006. Morphological And Agronomical Characteristics Of Some Wild And Cultivated *Isatis* species. *Journal of Central European Agriculture*, 7:3, 479-484.
- Kimura, H., Ishihara, T., Michida, M., Ogawa, S., Akihiro, T., Yokota, K., 2014. Identification And Quantitative Analysis Of Polyphenolic Compounds From The Indigo Plant (*Polygonum tinctorium* Lour). *Natural Product Research*, Vol. 28, No. 7: 492–495, <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2013.871719>.
- Koca, N., 2013, Ekzojen Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Ve Fenilalaninin Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) Bitkisinde Sekonder Metabolitlere Ve Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim Aktivitesine Etkisi, KSÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Kahramanmaraş. 115s.
- Kyselova, Z., 2011. Toxicological Aspects Of The Use Of Phenolic Compounds In Disease Prevention. *Journal of Interdisciplinary Toxicology*, 4(4): 173-183.
- Larson, R.A., 1988. The Antioxidants Of Higher Plants. *Phytochemistry*, 27: 969–978.
- Lau, C.B.S., Ho, C.Y., Kim, C.F., Leung, K.N., Fung, K.P., Tse, T.F., Chan, H.H.L., Chow, M.S.S., 2004. Cytotoxic Activities Of *Coriolus Versicolor* (Yunzhi) Extract On Human Leukemia And Lymphoma Cells By Induction Of Apoptosis. *Life Sciences*, 75: 797– 808.
- Li T, Qu X-y, Wang Z-z., 2011. Optimization Of Extraction And Antioxidant Activities Of Total Polyphenols From Seeds Of *Isatis indigotica* Fort. *Chinese Traditional Patent Medicine*, Issue: 11, pages: 1895-1900.

- Li, H-B., Wong, C-C., Cheng, K-W., Chen, F., 2008. Antioxidant Properties In Vitro And Total Phenolic Contents In Methanol Extracts From Medicinal Plants. *LWT- Food Science and Technology*, 41: 385–390.
- Li, S., Li, S-K., Gan, R-Y., Song, F-L., Kuang, L., Li, H-B., 2013. Antioxidant Capacities And Total Phenolic Contents Of Infusions From 223 Medicinal Plants. *Industrial Crops and Products*. 51: 289– 298.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., Salunkhe, D.K., 1996. Food Antioxidants: Technological, Toxicological And Health Perspectives. Markel Dekker, Newyork, pp 41-50.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy, C., 2005. Bioavailability And Bioefficacy Of Polyphenols In Humans. I. Review Of 97 Bioavailability Studies. *American Society for Clinical Nutrition*, 81 (suppl): 230S– 42S. Printed in USA.
- Mazid, M., Khan, T.A., Mohammad, F., 2011. Role Of Secondary Metabolites In Defense Mechanisms Of Plants. *Biology and Medicine*, 3 (2) Special Issue: 232-249. eISSN: 09748369, www.biolmedonline.com.
- Moazzeni, H., Zarrea, S., Al-Shehbaz, İ.A., Mummenhoff, K., 2007. Seed-coat Microsculpturing And Its Systematic Application In *Isatis* (*Brassicaceae*) And Allied Genera In Iran. *Flora*, 202: 447–454.
- Monaco, T.A., Johnson, D.A., Creech, J.E., 2005. Morphological And Physiological Responses Of The Invasive Weed *Isatis tinctoria* To Contrasting Light, Soil-nitrogen And Water. *Weed Research*, 45: 460–466.
- Naczki, M., Shahidi, F., 2004. Extarction And Analysis Of Phenolics In Food. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111.
- Neo, Y.P., Ariffin, A., Tan, C.P., Tan, Y.A., 2010. Phenolic Acid Analysis And Antioxidant Activity Assessment Of Oil Palm (*E. guineensis*) Fruit Extracts. *Food Chemistry*, 122: 353–359.
- Öztan, T., 2006. Mor havuç, Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu Ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini Ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. 93s.
- Pan, L., Chai, H.Y., Kinghorn, A.D., 2010. The Continuing Search For Antitumor Agents From Higher Plants. *Phytochemistry Letters*, 3: 1–8.
- Peschel, W., Dieckmann, W., Sonnenschein, M., Plescher, A., 2007. High Antioxidant Potential Of Pressing Residues From Evening Primrose In Comparison To Other Oilseed Cakes And Plant Antioxidants. *Industrial Crops and Products*, Vol. 25, Issue 1: Pages 44–54.
- Peschel, W., Sa´nchez-Rabaneda, F., Dieckmann, W., Plescher, A., Gartzı´a, I., Jime´nez, D., Lamuela-Ravento´s, R., Buxaderas, S., Codina, C., 2006. An Industrial Approach In The Search Of Natural Antioxidants From Vegetable And Fruit Wastes. *Food Chemistry*, 97: 137–150.

- Rao, Y.K., Geethangili, M., Fang, S.H., Tzeng, Y.M., 2007. Antioxidant And Cytotoxic Activities Of Naturally Occurring Phenolic And Related Compounds: A Comparative Study. *Food Chemistry Toxicology*, 45 (9): 1770-1776.
- Ravichandran, K., Ahmed, A.R., Knorr, D., Smetanska, I., 2012. The Effect Of Different Processing Methods On Phenolic Acid Content And Antioxidant Activity Of Red Beet. *Food Research International*, 48: 16–20.
- Rezaeipoor, R., Ziaei Sanei, L., Kamalinejad, M., 2000. Effects of *Isatis cappadocica* on humoral immune responses. *Fitoterapia*, 71: 14-18.
- Shahidi, F., Naczki, M., 1995. Food Phenolics, Chemistry, Effects, Applications. Technomic, USA.
- Singleton, V.L., Rossi, J.R., 1965. Colorimetry Of Total Phenolics With Phosphomolibdic-Phosphothungstic Acid. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16:144-158.
- Stoker, K.G., Cooke, D.T., Hill, D.J., 1998. Influence Of Light On Natural Indigo Production From Woad (*Isatis tinctoria*). *Plant Growth Regulation*, 25: 181–185.
- Suhad, S.H., Viorica, I., 2008. Quantitative Analysis Of Bio-active Compound In Hibiscus Sabdariffa L. Extracts: Quantitative Analysis Of Flavonoids. *Farmacia.*, 6: pp. 699-706.
- Surveswaran, S., Cai, Y-Z, Corke, H., Sun, M., 2007. Systematic Evaluation Of Natural Phenolic Antioxidants From 133 Indian Medicinal Plants. *Food Chemistry*, 102: 938–953.
- Taner, G., 2015. Doğal Ürünlerde Bulunan Fenolik Bileşiklerin Genotoksik Ve Antigenotoksik Etkileri. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Şubat 2015. 201s.
- Tansı, S., 1998. Çukurova koşullarında çivitotu (*Isatis tinctoria*)' nun performansının belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi* (7).
- Taiz, L., Zeiger, E., 2008. Bitki Fizyolojisi. Palme Yayıncılık, Ankara. Sayfa no: 283-307.
- Tolonen, A., 2003. Analysis Of Secondary Metabolites In Plant And Cell Culture Tissue Of *Hypericum perforatum* L. And *Rhodiola rosea* L. Department of Chemistry, University of Oulu, P.O.Box 3000, FIN-90014 University of Oulu, Finland. ISBN 951-42-7161-0 (URL: <http://herkules.oulu.fi/isbn9514271610/>).
- Tolonen, A., Uusitalo, J., 2004. Fast Screening Method For The Analysis Of Total Flavonoid Content In Plants And Foodstuffs By High-Performance Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry With Polarity Switching. *Rapid Commun. Journal of Mass Spectrometry*, 18:3113-3122.
- TÜBİVES, 2015. *Isatis*. URL (Erişim tarihi: 16.03.2016 11:41) http://www.tubives.com/index.php?sayfa=hizli_ara.

- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D., 1998. Antioxidant Activity And Total Phenolics In Selected Fruits, Vegetables And Grain Products. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 46: 4113–4117.
- Wang, X-H., 2012. Ultrasound Assisted Extraction For Analysis Of Total Phenolic Content And Antioxidant Activity Of Medicinal Plants. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 6(40): pp. 6847-6852. ISSN 1996-0808.
- Yang, C-H., Chang, H-W., Lin, H-Y., Chuang, L-Y., 2013. Evaluation Of Antioxidant And Antimicrobial Activities From 28 Chinese Herbal Medicines. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, IC Journal No: 8192. Volume 2: Issue 1. ISSN 2278- 4136. ZDB-Number: 2668735-5.
- Yang, L., Jiang, H., Wang, G., Wang, M., Ding, L., Chen, L., Qiu, F., 2014. Phenylpropanoids And Some Nitrogen-containing Constituents From The Roots Of *Isatis indigotica* Fort. (*Cruciferae*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 54: 313-315.
- Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., 2004. Flavonoids In Food And Their Health Benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59 (3): 113-122.
- Yıldırım, Ş., 1988. Revision Of *Isatis* L. (*Cruciferae*) Genus From West And North Part Of Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 12(3):332–400 (in Turkish).
- Yılmaz, İ., 2010. Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar Ve Oksidatif Stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17: 143-153.
- Zeng, W., Wang, S.Y., 2001. Antioxidant Activity And Total Phenolic Compounds In Selected Herbs. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49(11): 5165–5170.

EKLER

EK-A Denemede ekilen *Isatis* taksonlarının tarladaki görüntüleri



Şekil A1. Denemeye ait genel bir görüntü



Şekil A2. Denemeye ait bir parsel görüntüsü



Şekil A3. *I. tinctoria*



Şekil A4. *I.indigotica*



Şekil A5. *I.takhtajanii*



Şekil A6. *I. cappadocica* subsp. *stevenia*



Şekil A7. *I. candolleana*



Şekil A8. *I. tinctoria* subsp. *tomentella*



Şekil A9. *I. tinctoria* ssp. *tomentella* (Göksun)



Şekil A10. *I. buschiana*



Şekil A11. *I. floribunda*

EK-B. Denemede ekilen *Isatis* taksonlarının tarladaki görüntüleri (yakından)



Şekil B1. *I.takhtajanii*



Şekil B2. *I.buschiana*



Şekil B3. *I.candoleana*



Şekil B4. *I. cappadocia* subsp. *stevenia*



Şekil B5. *I. floribunda*



Şekil B6. *I. indigotica*



Şekil B7. *I. tinctoria*



Şekil B8. *I. tinctoria* subsp. *tomentella*
(Mersin)



Şekil B9. *I. tinctoria* subsp. *tomentella*
(Göksun)



Şekil B10. *I. glauca* subsp. *glauca*

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Arife KÜREM
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 28.05.1987 Ankara
Medeni hali : Bekar
Telefon : 05078227730
Faks : -
e-posta : arifekurem@gmail.com , cicikiz_8_7@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans:	K.S.Ü. / Biyoloji Bölümü	2014
Lisans:	Ç.Ü. / Biyoloji Bölümü	2010
Lise:	Mersin Gazi Lisesi	2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
-----	-----	-------

2012 yılında “Doğu Akdeniz ve çevresinde yayılış gösteren *Isatis* spp. (Çivit Otu) türlerinin tespiti, boya kalitesi ve indrübün miktarı yönünden verimli bitkilerin kültüre alınması **PROJE NO: 109O655.**” isimli TÜBİTAK Projesinde (Yüksek lisans öğrencisi) bursiyer olarak çalıştım.

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. DIFFERENCES IN INDIRUBIN CONTENTS IN SOME NATIVE AND CULTURE FORM OF *ISATIS* SPP. FROM TURKEY International Conference on Environmental and Biological Sciences (ICEBS'2012) th December 21-22, 2012 Bangkok (Thailand). Sengul Karaman₁, Emel Diraz₂, Nazan Comlekcioglu₃, Ahmet Ilcim₄, Hasan Durdu₅ and Arife Kurem₆. (SÖZLÜ).

Hobiler

Doğa bilimleri, Kick boks, Sanat