

Eskişehir ve Çevresinde Yetişen Bazı *Salvia* L. Türleri Üzerinde Anatomik ve
Palinolojik Araştırmalar ile Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Hasibe Gürcan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Haziran 2011

Anatomical and Palynological Researches with Chemical and Biological Activitiy
Studies Of Some *Salvia* L. Species in and around Eskişehir

Hasibe Gürcan

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

June 2011

Eskişehir ve Çevresinde Yetişen Bazı *Salvia* L. Türleri Üzerinde Anatomik ve
Palinolojik Araştırmalar ile Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Hasibe Gürcan

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. İsmühan POTOĞLU ERKARA

Haziran 2011

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Hasibe Gürcan'ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Eskişehir ve Çevresinde Yetişen Bazı *Salvia* Türleri Üzerinde Anatomik ve Palinolojik Araştırmalar ile Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. İsmühan POTOĞLU ERKARA

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Prof. Dr. Sevil PEHLİVAN

Üye: Doç. Dr. Nilgün ÖZTÜRK

Üye: Doç. Dr. Atila OCAK

Üye: Doç. Dr. Sevcan ÇELENK

Üye: Doç. Dr. İsmühan POTOĞLU ERKARA

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Nimetullah BURNAK
Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu çalışmada Eskişehir ve çevresinde doğal yayılış gösteren *Salvia cryptantha* Montbret & Aucher ex Benth., *S. candidissima* Vahl subsp. *occidentalis* Hedge ve *S. forskahlei* L. türlerinin anatomik, palinolojik kimyasal ve biyolojik aktivite özellikleri saptanmaya çalışılmıştır. *S. cryptantha* ve *S. candidissima* subsp. *occidentalis* yörede geniş yayılış gösteren, *S. forskahlei*'nin ise daha az bulunan türler oldukları görülmüştür. İncelenen türlerin kök enine kesitlerinde, öz bölgesinin tamamen parankimatik hücrelerle kaplandığı görülmüştür. Gövde enine kesitlerinde epidermisten çok sayıda örtü ve salgı tüyü çıkmaktadır. Türlerin öz bölgesinde iri parankimatik hücrelerin varlığı görülmüştür. İncelenen türler yaprak anatomileri bakımından da birbirlerine çok benzemektedirler. Yaprığın alt ve üst yüzeyi bol miktarda örtü ve salgı tüyleri ile kaplıdır. Yapraklar amfistomatik ve bifasiyaldir. Bitkiler amarillis, mesomorf ve anizositik tipte stomalara sahiptir. Yaprak orta damardaki iletim demeti floem ve ksilemden oluşmaktadır. İletim demeti kollateraldir. İletim demetleri tipik bir parankimatik kınla kuşatılmıştır. Polen morfolojisi çalışmalarında incelenen *Salvia* taksonlarının heksakolpat tipte ve suboblat-subprolat şekilli oldukları, tektat-retikülat-perforat/tektat-retikülat-granülat/tektat-biretikülat bir ornemantasyon gösterdikleri saptanmıştır.

Fitokimyasal ve Biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere türlerden hazırlanan metanol ve etilasetat ekstralarının Folin-Ciocalteu reaktifiyle toplam fenolik maddeler, tersfaz YBSK metoduyla fenolik asitleri tayin edilmiştir. Bunların yanında antiradikal aktiviteleri DPPH serbest radikali üzerinden, antioksidan aktiviteleri ise β -karoten linoleik asit sisteminde değerlendirilmiştir. Sonuç olarak en fazla toplam fenolik madde taşıyan *S. forskahlei* - ME ekstresi en yüksek antiradikal ve antioksidan aktivite göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Salvia*, Lamiaceae, anatomi, palinoloji, fenolik maddeler, YBSK, Antioksidan aktivite, Eskişehir.

SUMMARY

In this study attempt was made to determine some anatomical, palynological, chemical and biological activity of the species of *Salvia cryptantha* Montbret & Aucher ex Benth., *S. candidissima* Vahl subsp. *occidentalis* Hedge and *S. forskahlei* L. that show natural distribution in and around Eskişehir. It was found that *S. cryptantha* and *S. candidissima* subsp. *occidentalis* showed the broader distribution than *S. forskahlei*.

In the the root cross-sections of the examined species, it was observed that the pith was completely covered by parenchyma cells. In stem cross sections of the species from epidermis is covered by more eglandular and glandular hair. The presence of large paranchymatic cells was observed in the pith of the species. The species observed showed similarities in terms of leaf anatomy. Upper and lower surface of leaf is covered by more eglandular and glandular hair. Leaves are amphistomatic and bifacial. Plants have an amaryllis, a mesomorph and an anisocytic type stomata. The leaf central vascular cylinder is composed of the phloem and the xylem bundle. Vascular bundle is collateral. Vascular bundle is covered by a typical parenchymatic bundle. They were determined stephanocolpatae type and suboblate-subprolate shape, tectate-reticulate-perforate/ tectate-reticulate-granulate/ tectate-bireticulate ornamentation of investigated *Salvia* taxa in the pollen morphology studies.

The total phenolic contents of the methanol and ethylacetate extracts of species, prepared for phytochemical and biological activities studies, were determined by using Folin-Ciocalteu assay and also quantitative analysis of phenolic acids in the extracts were determined by reversed-phase HPLC. In addition, extracts were tested for antioxidant and antiradical activity by β -caroten linoleic acid system and on DPPH free radical, respectively. In result, *S. forskahlei* – ME extract contains high total phenols, was exhibited highest antioxidant and antiradical activity.

Keywords: *Salvia*, Lamiaceae, anatomy, palynology, phenolics, HPLC, antioxidant activity, Eskişehir.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübeleriyle çalışmalarımda bana yol gösteren değerli hocam Sayın Doç. Dr. İsmühan POTOĞLU ERKARA'ya en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmamın fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları kısmında tüm bilgi, emek ve donanımını esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Nilgün ÖZTÜRK'e, topladığım bitkilerin teşhisi konusunda değerli bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Atila OCAK ve Sayın Öğr. Grv. Dr. Onur KOYUNCU'ya, Anatomik kesitler esnasında büyük yardımlarını gördüğüm değerli hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa UYANOĞLU ve Sayın Arş. Gör. Dr. Hakan ŞENTÜRK'e, Tez çalışmalarım sırasında sık sık tecrübelerinden yararlandığım Uzman Biyolog Sayın Ömer Koray YAYLACI'ya, laboratuvar çalışmalarında destek ve yardımlarını gördüğüm arkadaşım Biyolog Kadir OSOYDAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her anında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana güç veren, tahsilimi tamamlamamı sağlayan, her zaman sevincimi ve hüznümü paylaşan canım babam Hasan GÜRCAN ve birtanecik annem Serpil GÜRCAN'a, sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım. Ayrıca her zaman yanımda olan, cesaret ve güven aşıl原因an, manevi desteğini hiç esirgemeyen sevgili arkadaşım İbrahim ÇOLAK'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ONAY.....	vii
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Genel Özellikleri.....	4
2.2. <i>Salvia</i> L. Cinsinin Genel Özellikleri.....	5
2.3. Türkiyede <i>Salvia</i> L. Cinsinin Önemi ve Kullanımı.....	5
2.4. Antioksidanlar.....	8
3. MATERTAL METOT	12
3.1. Materyal.....	12
3.2. Yöntemler	13
3.2.1. Anatomik Çalışmalar.....	13
3.2.2. Palinolojik Çalışmalar	13
3.2.2.1. Wodehouse Yöntemi	14

Gliserin-Jelatin Hazırlanması	14
Polenlerin Ölçümü ve Fotoğrafların Çekimi	15
3.2.2.2. Asetoliz Yöntemi	16
3.2.2.3. SEM Yöntemi	19
3.2.3. Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları	19
Kimyasal madde ve çözeltiler	19
3.2.3.1. Ekstraksiyon Yöntemi	20
3.2.4. Ekstreler Üzerinde Fitokimyasal Çalışmalar	21
3.2.4.1. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini	21
3.2.4.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi İle Fenolik Bileşenlerin Analizi	22
3.2.5. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	24
Antioksidan aktivite tayin yöntemleri	24
3.2.5.1. Serbest radikal süpürücü etki tayini	25
3.2.5.2. β -karoten-linoleik asit sisteminde antioksidan aktivite tayini	26
4. SONUÇLAR.....	28
4.1. Araştırma Bitkileri ve Genel Özellikleri.....	28
4.2. Anatomik Çalışmalar	31
4.2.1. <i>Salvia cryptantha</i> Kök Anatomisi	31
4.2.2. <i>Salvia cryptantha</i> Gövde Anatomisi	32
4.2.3. <i>Salvia cryptantha</i> Yaprak Anatomisi	33
4.2.4. <i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> Kök Anatomisi	35
4.2.5. <i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> Gövde Anatomisi	37
4.2.6. <i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> Yaprak Anatomisi	38
4.2.7. <i>Salvia forskahlei</i> L. Kök Anatomisi	39
4.2.8. <i>Salvia forskahlei</i> L. Gövde Anatomisi	40
4.2.9. <i>Salvia forskahlei</i> L. Yaprak Anatomisi	41
4.3. Polen Morfolojisi Çalışmaları.....	43

4.1. Fitokimyasal Çalışmalar	49
4.1.1. Ekstraksiyon verimleri.....	49
4.1.2. Toplam Fenolik Miktar Tayini	50
4.1.3. Bitkisel materyallerin içerdiği fenolik asitlerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) metodu ile Tayini.....	51
4.1.4. DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini.....	54
4.1.5. β -karoten-linoleik Asit Sisteminde Antioksidan Aktivite Tayini.....	56
5. TARTIŞMA.....	59
5.1. Anatomik Sonuçlar	59
5.2. Palinolojik Sonuçlar	60
5.3. Biyolojik Aktivite Sonuçları.....	61
6. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 0.1 Soxhlet Apereyi	21
Şekil 0.2 Rotavapor.....	21
Şekil 0.3 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Cihazı (YBSK)	22
Şekil 0.4 Eliza Mikroplaka okuyucu.....	27
Şekil 4.1 <i>S. cryptantha</i> a: genel görünüş, b: yakından görünüş.....	29
Şekil 4.2 <i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> a: genel görünüş, b: yakından görünüş	30
Şekil 4.3 <i>S. forskahlei</i> a: genel görünüş, b: yakından görünüş	31
Şekil 4.4 <i>Salvia cryptantha</i> kök enine kesit.....	32
Şekil 4.5 <i>Salvia cryptantha</i> gövde enine kesit.....	33
Şekil 4.6 <i>Salvia cryptantha</i> yaprak enine kesit.....	34
Şekil 4.7a. <i>Salvia cryptantha</i> yaprak üst epidermis, b. alt epidermis (e. epiderma, s. stoma).....	34
Şekil 4.8 <i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> kök enine kesit	36
Şekil 4.9 <i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> gövde enine kesit.....	37
Şekil 4.10 <i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> yaprak enine kesit.....	38
Şekil 4.11 a. <i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> yaprak üst epidermis, b. alt epidermis (e. epiderma, s. stoma).	39
Şekil 4.12 <i>Salvia forskahlei</i> kök enine kesit	40
Şekil 4.13 <i>Salvia forskahlei</i> gövde enine kesit	41
Şekil 4.14 <i>Salvia forskahlei</i> yaprak enine kesit	42

Şekil 4.15 a. <i>Salvia forskahlei</i> yaprak üst epidermis, b. alt epidermis (e. epiderma, s. stoma).....	42
Şekil 4.16 <i>Salvia cryptantha</i> Işık mikroskopunda a. Polar (W), b. Ekvatorial (W), c. Polar (E), d. Ekvatorial (E) görünüşler; Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) e. Ekvatorial görünüş, f. Ekzin ornemantasyonu.	46
Şekil 4.17 <i>Salvia candidissima</i> subs. <i>occidentalis</i> Işık mikroskopunda a. Polar (W), b. Ekvatorial (W), c. Polar (E), d. Ekvatorial (E) görünüşler; Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) e. Ekvatorial görünüş, f. Ekzin ornemantasyonu.	47
Şekil 4.18 <i>Salvia forskahlei</i> Işık mikroskopunda a. Polar (W), b. Ekvatorial (W), c. Polar (E), d. Ekvatorial (E) görünüşler; Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) e. Ekvatorial görünüş, f. Ekzin ornemantasyonu.	48
Şekil 4.19 Çalışılan <i>Salvia</i> türlerinden elde edilen ekstrelerin Toplam Fenolik Madde (TFM) miktarları.....	50
Şekil 4.20 <i>S. crypthantha</i> – ME ekstresine ait YBSK kromatogramı; p-OHBA (1), VA (2), KA (3), KJA (4), SA (5), p-KU (6), FA (7), RA (9), tr-SİN (10), IS (11).....	52
Şekil 4.21 <i>S. candidissima</i> subs. <i>occidentalis</i> – ME ekstresine ait YBSK kromatogramı; (3), FA (7), RA (9), tr-SİN (10), IS (11).....	52
Şekil 4.22 <i>S. forskahlei</i> - ME ekstresine ait YBSK kromatogramı; p-OHBA (1), VA (2), KJA (4), SA (5), p-KU (6), FA (7), o-KU (8), RA (9), tr-SİN (10), IS (11).....	53
Şekil 4.23 <i>Salvia</i> türlerinden elde edilen ekstrelerin üç farklı konsantrasyonda % inhibisyon olarak serbest radikal süpürücü etkileri	56
Şekil 4.24 β -karoten-linoleik asit sisteminde <i>Salvia</i> türlerine ait ekstrelerin antioksidan aktiviteleri	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 <i>Salvia</i> Türleri ve Lokaliteleri.....	12
Çizelge 4.1 <i>Salvia</i> taksonlarının morfometrik verileri.....	45
Çizelge 4.2 <i>Salvia</i> türlerinden elde edilen ekstrelerin kuru drog verimleri ve toplam fenolik madde miktarları.....	49
Çizelge 4.3 Çalışılan üç <i>Salvia</i> türüne ait ekstrelerde tesbit edilen fenolik asitlerin miktarları (mg/g bitki)	53
Çizelge 4.4 <i>Salvia</i> türlerinden elde edilen ekstrelerin % İnhibisyon değerleri.....	55
Çizelge 4.5 <i>Salvia</i> ekstrelerinin β -karoten-linoleik asit sisteminde % antioksidan aktivite değerleri	57

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
BHT	2,6-di-tert-butil-4-metil fenol
C	Kolpus
clg	Kolpus uzunluğu
clt	Kolpus genişliği
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrozil
E	Ekvatorial eksen
FA	Ferulik asit
GA	Gallik asit
IS	Internal standart
KA	Kafeik asit
KLA	klorojenik
L	Amb çapı
M	Ortalama
mg	miligram
mg	miligram
mL	mililiter (mililitre)
mm	milimetre

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
°C	Celsius degree (santigrat derece)
o-KU	Okumarik asit
P	Polar eksen
p-KU	<i>p</i> -kumarik
proCA	Protokateşik asit
Proterandri	Andrekeumun erken olgunlaşması
RA	Rosmarinik asit
S	Standart sapma
SA	Sirinjik asit
SCA-EA	<i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> etil asetat ekstresi
SCA-ME	<i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i> metanol ekstresi
SCR-EA	<i>Salvia cryptantha</i> etil asetat ekstresi
SCR-ME	<i>Salvia cryptantha</i> metanol ekstresi
SFO-EA	<i>Salvia forskahlei</i> etil asetat ekstresi
SFO-ME	<i>Salvia forskahlei</i> metanol ekstresi
t	Apokolpium, polar üçgende, eksenin bir kenarı
tr-SİN	<i>tr</i> -sinnamik asit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)**Kısaltmalar****Açıklama**

VA	Vanilik asit
Var.	Varyasyon
YBSK	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
μ	mikrometre= mikron= 10 ⁻⁶ metre
μ g	mikrogram
μ m	mikrometre

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yurdumuz coğrafi konumu açısından dünyada çok önemli bir yere sahiptir. Üç tarafı denizlerle çevrili olması, üç farklı fitocoğrafik bölgenin geçiş alanında ve farklı iklimlerin etkisi altında bulunmasından dolayı çeşitli vejetasyon tipleri içermektedir. Bu nedenle oldukça zengin bir floraya sahiptir (Güner, et al., 2000).

Türkiye, bitki türleri açısından yaklaşık 12 000 tür ve tür altı takson sayısı ile ekvator ve subtropikal kuşaklardan sonra dünyanın zengin bölgeleri arasında yer almaktadır. Bu taksonların yaklaşık 3800'ü endemik olmakla birlikte endemizm oranı %31,6 civarındadır (Erik S., ve Tarıkahya B., 2004). Bu da ülkemizdeki endemizmin ne kadar yüksek olduğunun göstergesidir.

Çalışma konumuzu içine alan Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyası Flora of Turkey'e göre Türkiye de 45 cins, 546 tür ve 730 taksa ile temsil edilmektedir ve familyanın 240 endemik türü bulunmakla birlikte endemizm oranı %44,2 olduğu belirtilmiştir. Son yapılan çalışmalara göre familyaya ait tür ve takson sayısının arttığı gözlenmektedir (Hedge, 1960).

Lamiaceae (Labiatae) familyasının en geniş cinsi olan *Salvia* L. yaklaşık 1 000 türle geniş bir yayılış göstermektedir. Bu cins dünyada çok önemli bir yere sahip olup, dünyanın 3 bölgesinde baskın olarak bulunmaktadır. Orta ve Güney Amerika da 500 tür, Orta Asya ve Akdeniz de 250 tür, Doğu Asya da ise 100 tür barındırmaktadır. Hedge'nin Türkiye de *Salvia* cinsi üzerine yürüttüğü geniş çaplı revizyon çalışmalarında 87 tür tanımlanmıştır. Fakat bunlardan bir tanesi belirsizdir. O zamandan beri 6 yeni tür, 3 yeni kayıt, geçerli türlere göre yeniden düzenlenmiş 2 yeni tür 1 yeni varyete tanımlanmıştır. Böylece Türkiye'deki toplam *Salvia* türleri sayısı

97'ye ulaşmıştır. Bu sonuç Türkiye'yi şu andaki Asya'nın gen merkezi haline getirmiştir (Kahraman, et al., 2010a; Bagherpour, et al., 2010).

Salvia Dünyanın her tarafında geleneksel ilaç olarak tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Antibakteriyel, antioksidan, antidiyabetik, antitümör içeriğe sahiptir. Ayrıca birçok *Salvia* türü bitki çayı olarak kullanıldığı gibi gıda, kozmetik, parfümeri ve ilaç sanayide kullanılmaktadır (Bagherpour, et al., 2010).

Flora of Turkey'e göre Eskişehir ili ve çevresinde 12 tür bulunmaktadır. Bunlar; *Salvia tomentosa*, *S. wiedemanni*, *S. tchihatcheffi*, *S. cadmica*, *S. sclarea*, *S. aethiopsis*, *S. cerotophylla*, *S. yosgadensis*, *S. candidissima* vahl subsp. *occidentalis*, *S. cyanescens*, *S. virgata*, *S. dichroantha*'dır. Ancak Osmangazi Üniversitesi öğretim üyeleri tarafından yapılan fakat henüz yayınlanmamış son çalışmalara göre bu listeye 4 tür ilave edilmiştir. Bunlar ise *S. bracteata*, *S. multicaulis*, *S. viridis*, *S. argentea*'dır. Bitkilerin kurutulmuş örnekleri Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Herbaryumunda (OUFE) bulunmaktadır.

Türkiye'de gün geçtikçe artan birçok sistematik çalışma ile yeni *Salvia* türleri ile ilgili de Türkiye Florasına katkılar devam etmektedir. Türkiye *Salvia* türleri üzerinde Davis (1982–1988), son yıllarda ise Dönmez (2001), Hamzoğlu vd. (2005), Bagherpour vd. (2009), Behçet ve Avlamaz (2009), İlçim, vd. (2009), Kahraman vd. (2009a), Celep vd. (2010), Celep ve Doğan (2010) sistematik çalışmalar yapmışlardır.

Salvia cinsi ile ilgili tüm dünyada olduğu gibi yurdumuzda da anatomik, morfolojik ve palinolojik alanda geniş çalışmalar yapılmaktadır (Özdemir and Altan, 2005; Baran and Özdemir, 2006; Kaya, et al., 2007; Kahraman, et al., 2009a; Kahraman, et al., 2009b; Kahraman, et al., 2009c; Koyuncu, et al., 2009; Bagherpour, et al., 2010; Eşiz

Dereboylu, 2010; Kahraman, et al., 2010a; Kahraman, et al., 2010b; Kahraman, et al., 2010c; Kahraman, et al., 2010d).

Ayrıca Ülkemizde *Salvia* cinsine ait koruma çalışmaları da yapılmıştır. Türkiye’de Akdeniz ve Ege Bölgesinde yayılış gösteren *Salvia* türlerinin koruma statülerinin yeniden değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Celep, 2010).

Bu çalışmada Lamiaceae familyasına ait *S. cryptantha* ex Benth. (seksiyon: Hymenospace), *S. candidissima* subsp. *occidentalis* (seksiyon: Aethiopsis) ve *S. forskahlei* (seksiyon: Plethiospace) türlerinin anatomik özellikleri, detaylı polen morfolojik yapıları ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu kullanılarak ayrıntılı bir şekilde ilk kez incelenmiştir. Tez kapsamında, son yıllarda cins üzerinde yapılan araştırmalar dikkate alınarak çalıştığımız *Salvia* türleri üzerinde antioksidan aktivite ve aktif maddeleri ile ilgili çalışma bulunmadığı için literatürdeki bu eksiğin giderilmesi bağlamında kimyasal aydınlatma ve biyolojik aktivite çalışmaları da ilk kez gerçekleştirilmiştir.

Araştırma bitkileri yurdumuzun gen kaynaklarından olup tıbbi amaçlı da kullanılmaktadırlar. Bu bitkilerin doğadan bilinçsizce toplanması ve aşırı otlatılması sonucu, bunları yok olma tehlikesiyle karşı karşıya getirmektedir. Evrimsel ve sistematik ilişkilerin daha verimli olarak ortaya konulabilmesi için bitkilerin biyolojik özelliklerinin, anatomik, palinolojik, kimyasal ve biyolojik aktivite özellikleriyle desteklenmesi düşüncesi bizi bu çalışmaya yönlendiren etmenlerden biridir.

Bu kapsamda, çalışmamızda Eskişehir ve çevresinde doğal yayılış gösteren *Salvia cryptantha* Montbret & Aucher ex Benth., *S. candidissima* Vahl subsp. *occidentalis* Hedge ve *S. forskahlei* L. türleri üzerinde yapılan araştırmalar dikkate alınarak incelen türlerin anatomik ve palinolojik özelliklerinin saptanması, fitokimyasal ve biyolojik aktivite özelliklerinin ortaya konulması amaç edinilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Genel Özellikleri

Ballıbabagiller hoş kokulu bir veya çok yıllık otsulardır. Nadiren çalı veya ağaç formları vardır. Gövde veya dallar 4 köşeli bir yapıya sahiptirler. Yapraklar karşılıklı veya dairesel dizilişli, basit veya bileşik, stipulasızdır. Çiçekler yaprak koltuklarında kimoza, rasemus veya başaklarda veya tek, erdişi, zigomorf (nadiren ışınsal) simetridir. Sapeller 5, birleşik bazen 2 dudaklı veya bazen üst dudak körelmiştir. Alt dudak 3 lopludur. Stamen 2 veya 4 korollaya bağlı, genellikle didinam şeklindedir. Pistil 1, ovaryum üst durumda, 4 lopludur, 2 lokuslu ve karpelli, ovüller 4, anatrop, plasentasyon bazal veya eksensel yapıdadır. Stilus ginobazik yapıdadır (Seçmen, 1995).

Meyve dörtlü, nadiren daha az kuru nutlet şeklinde tohumlu yapıya sahip olup, seyrek olarak etli olabilir. Tohumlar ısıtıldıklarında musilajlı yapıya sahip olurlar. *Salvia*'larında içinde bulunduğu 21 cinsten bu özellik görülmektedir (Özdemir, 1996). Labiatae stomaları genel olarak diasitiktir. Aile üyelerinde çok hücreli, başlı (kapitat) glandular sık tüylerin yanında değişik tipte tüylere de rastlanmaktadır. Bazı cinslerde iç salgı hücreleri de bulunmaktadır. Çok fazla olmayan okzalatlara değişik şekillerde görülebilmektedir. Dört köşe olan gövdenin köşeleri, kollenkimatik özellik gösterir. Bazı cinslerde ya yüzeysel veya derin bir periderm tabakası bulunmaktadır. Endodermis çoğunlukla iyi farklılaşmıştır. Sekonder odun ve soymuk elemanları (pakit) genellikle yaşlı gövdelerde devamlı fakat trakeler genel olarak demetler şeklinde gruplaşmış durumdadır. Aile odunu yarı porludur. Trakeler küçük ve ışınsal bir band şeklinde yerleşmiştir. Perforasyonlar basit, geçitler küçük almalı, spiral kalınlaşmalar sıktır. Lifler basit geçitli, bazı cinslerde ise bölmelidir. Parankima çoğunlukla ışınsal band şeklinde ve paratrakeal tiptedir. Işınlara heterojen, bir veya çok sıralıdır (Arslan, 2006).

2.2. *Salvia L.* Cinsinin Genel Özellikleri

Kuvvetli kokulu, çok yıllık otsular veya çalılar, nadiren iki veya bir yıllıktır. Yapraklar tam, lirat veya pinnat parçalıdır. Kaliks 2 dudaklı, çan şeklinde, hunimsi veya tüpsü. Korolla 2 dudaklı, üst dudak düz veya falkat yapıdadır. Verimli stamenler 2 adettir. Anterlerin çok uzamış olan ve kaldıraca benzeyen bir konnektifi vardır. Konnektif kollarından uzun olanı verimli tekayı, kısa olanı ise verimsiz tekayı taşır. Çiçeğe girecek olan böcek verimsiz tekaya dokunacak olursa, uzun konnektif kolu aşağı doğru kıvrılır ve böylece anter böceğin sırtına değerek polenleri bırakır. Çiçekler tipik proterandri gösterirler. Gençken korolla dudağının üst lobuna dokunacak şekilde bulunan stigma lobları, daha sonra aşağı doğru sarkar ve loplari açılır. Böylece stigma başka bir çiçekten gelen böceğin sırtındaki polenleri kabul edecek duruma gelir (Seçmen, 1995).

Salvia cinsinin tohumları açık veya koyu kahverenginde olup, üzerinde musilaj bir tabaka bulunur. Cinse ait türler arasında dölleme oranı yüksek olduğundan melez türlerin sayısı da fazladır. (Özdemir, 1996)

2.3. Türkiyede *Salvia L.* Cinsinin Önemi ve Kullanımı

Tüm dünyada olduğu gibi, ülkemizde de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler, yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Anadolu insanı yontma taş çağından beri bitkileri tedavi amaçlı kullanmaktadır. Hakkâri'nin güneyinde bulunan Sanidar Mağara'sında ortaya çıkartılan Neanderthal mezarlar içinde bulunan bitki örnekleri bu varsayımın sağlam bir kanıtıdır (Baytop, 1984).

Çalışma konumuz olan *Salvia* cinsi ülkemizde geniş bir yayılış göstermekle birlikte, halk arasında özellikle çay olarak kullanılmaktadır. Birçok *Salvia* türü adaçayı olarak uzun yıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu nedenle bu cinse şifa verici özelliğinden dolayı Latince de 'iyileştirmek, kurtarmak' anlamına gelen *Salveo* kelimesinden türetilmiş *Salvia* ismi verilmiştir (Baytop, 1984).

Yurdumuzda *Salvia* cinsine ait türler pek çok alanda kullanılmaktadır. Bu türler arasında en sık rastlanılanlar *S. fruticosa*, *S. tomentosa*, ayrıca doğal olarak yetişmeyen ancak kültüre alınan *S. officinalis*' in aynı zamanda baharat olarak da kullanıldığı bilinmektedir ve *Salvia* cinsi sadece tıbbi açıdan değil dış görünümünün güzel oluşu ile de dikkate değer bir bitki haline gelir. Park ve bahçelerde de dekoratif amaçlı süs bitkileri olarak ta yetiştirilirler. Örneğin bunlardan ateş dikenini olarak bilinen ve etkileyici kırmızı çiçeklere sahip olan *S. splendens* ve Misk Adaçayı olarak bilinen pembe-beyaz çiçekleriyle koku verici olarak *S. sclarea*'dır. Ayrıca *S. wiedemannii* de yer örtücü niteliğinin bulunmasından dolayı park bahçe düzenlemelerinde kullanılmaktadır (Polat, 2004).

Türkiye'de gün geçtikçe artan birçok sistematik çalışma ile yeni *Salvia* türleri ile ilgili de Türkiye Florasına katkılar devam etmektedir. Bu konuda Kahraman ve ark. *Salvia macrosiphon* Boiss. türünü (Kahraman, et al., 2009a), Doğan ve Duran *Salvia viscosa* Jacq. türünü (Doğan and Duran 2009), Behçet ve Avlamaz *Salvia aristata* Aucher ex Benth. türünü (Behçet and Avlamaz, 2009) Türkiye Florası için yeni kayıt olarak kazandırmışlardır.

Salvia cinsine ait yeni tür çalışmalarında *Salvia hedgeana* türü (Dönmez, 2001), *Salvia anatolica* türü (Hamzoğlu, et al., 2005), *Salvia ekimiana* türü (Celep and Doğan, 2010) ve *Salvia marashica* türü (İlçim, et al., 2009) Türkiye Florası için yeni tür olarak kazandırılmıştır.

Bagherpour ve ark. ise *Salvia freynlana* Born. türünü Türkiye Florası için yeniden keşif olarak kazandırmıştır (Bagherpour, et al., 2009).

Salvia cinsi ile ilgili tüm dünyada olduğu gibi yurdumuzda da anatomik, morfolojik palinolojik alanda geniş çalışmalar yapılmaktadır. Bu konuda Kahraman ve ark. Türkiye’de yetişen *Salvia macrochlamys*’ın morfolojik, anatomik, palinolojik ve nutlet mikromorfolojik çalışmalarını (Kahraman, et al., 2010a), Bagherpour ve ark. Orta Anadolu’da yetişen *Salvia vermifolia*’nın anatomik, mikromorfolojik çalışmalarını (Bagherpour, et al., 2010), Koyuncu ve ark. *Salvia verticillata* subsp. *verticillata*’nın palinolojik ve anatomik çalışmalarını (Koyuncu, et al., 2009), Kaya ve ark. *Salvia halophila*’nın morfolojik, palinolojik ve anatomik çalışmalarını (Kaya, et al., 2007), Baran ve Özdemir *Salvia argentea*’nın morfolojik ve anatomik özelliklerini (Baran and Özdemir, 2006), Eşiz Dereboylu ve ark. *Salvia willeana* Hedge ve *Salvia veneris* Hedge’nin anatomik, palinolojik karakterlerini (Eşiz Dereboylu, et al., 2010) incelemişlerdir.

Lamiaceae familyasına dahil *Salvia* türlerinin tüm dünyada tıbbi açıdan yaygın olarak kullanılışı bu cins üzerinde yoğun çalışmalar yapılmasına neden olmuştur. Tepe ve arkadaşları DPPH ve β - karoten gibi yöntemlerle *Salvia tomentosa* Miller’in uçucu yağının güçlü bir antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Tepe, et al., 2005). Kan ve arkadaşları Anadolu’da yetişen 12 *Salvia* türünün çiçek, yaprak ve köklerinde yaptıkları fitokimyasal çalışmada rosmarinik, kafeik, klorojenik ve gallik asit varlığını tesbit etmiş ve biyoaktivite çalışmalarında *S. halophila* ve *S. syriaca* türleri aktif bulunmuştur (Kan, et. al., 2007). Matkowski ve ark. *Salvia* türlerinin kök ve yapraklarının metanollü ekstralarının antioksidan aktivitelerini incelemiş, *S. przewalskii*’nin yapraklarında yüksek aktivite görmüşlerdir (Matkowski, 2008). Tepe, *S. virgata*, *S. staminea* ve *S. verbenaca* türlerinin metanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiş ve en aktif türü aynı zamanda rosmarinik asitte içeren *S.verbenaca* bulunmuştur (Tepe, 2008). Guy ve arkadaşları Güney Afrika da yetişen 16 *Salvia* türünün antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitesini ve fenolik maddelerini

incelemiş, rosmarinik asit, karnosik asit, karnosol ve oleanolik asit tesbit edilen bitkilerden *S. schlechteri* türü diğerlerinden aktif bulunmuştur (Guy, 2010). Sezer ve arkadaşları Türkiye’de yetişen 55 *Salvia* türünün metanol ve etil asetatlı ekstralarının toplam fenol ve antioksidan özellikleri incelenmişler bu çalışmada en aktif tür *Salvia fruticosa* bulunmuştur (Sezer, et al., 2010).

Ayrıca Ülkemizde *Salvia* cinsine ait koruma çalışmaları yapılmıştır. Bu alanda Celep ve ark. Türkiye’de Akdeniz ve Ege Bölgesinde yayışılış gösteren *Salvia* türlerinin koruma statülerinin yeniden değerlendirilmesi (Celep, et al., 2010) ilgili çalışmalar yapmışlardır.

2.4. Antioksidanlar

Canlı organizma serbest radikallerin etkisinden korunmak için antioksidatif korunma sistemleri geliştirmiştir. Ultraviöle ışını, radyasyon ve çevre kirliliğı gibi ekzojen kaynaklara maruz kalan antioksidatif koruyucu sistemin iyi çalışmamasından dolayı, serbest radikallerin vücutta arttığı görölmektedir. Hücresel onarım sistemleri ve savunma mekanizmaları her zaman için serbest radikallerin oksidatif yıkım hedefidir (Beckman and Ames, 1998). Vücutta bazı hasarlara neden olur, serbest radikallerin miktarı arttıkça önce yaşlanma hızlanır, hücre ölümü, sonra doku ölümü daha sonra ise beyin damarlarının tahribatına varan hasarlar oluşur. Bu da canlılarda kanser, şeker hastalığı, karaciğer yetmezliğı, otoimmün hastalıklar, multiple skleroz, artrit ve yaşlanma gibi fizyopatolojik durumların oluşmasına neden olmaktadır (Tsao and Deng, 2004; Halliwell, 2002). Bu nedenlerden dolayı günümüzde antioksidan aktiviteye sahip maddeler önem kazanmaya başlamıştır.

Ham maddelerin işlenmesi ile ürünün saklanması sırasında oluşan lipit oksidasyon besinlerin acılaşmasına neden olan ve böylelikle bozulmaya yol açan bir süreçtir. Lipit oksidasyon ürünleri besinlerin içerisinde bulunan protein gibi diğer maddelerin de

absorbsiyonunu etkileyebilir. Okside olmuş lipidlerin organizma üzerine istenmeyen etkileri nedeniyle besinlerdeki lipid oksidasyon ürünlerini inhibe etmenin önemi daha da artmaktadır. Endüstriyel proseslerde besinlerin saklama süresini uzatmak için esas olarak sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak pek çok araştırmacı uzun süredir besin proseslemede kullanılan BHA ve BHT gibi bazı sentetik antioksidanların canlı organizmalarda karsinojenik etki gösterdiğine dikkat çekmektedirler. Tüketiciler de genellikle doğal antioksidanları sentetik olanlara tercih etmektedir(Shahidi and Nacz, 1995). Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik bileşenlerdir, en yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar flavonoidler, sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir. Bunların besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir. Bu nedenle uzun yıllardır besinlerin koku ve tadı gibi özelliklerini arttırmak için katkı olarak kullanılan baharat ve aromatik bitkiler giderek önem kazanmaktadır. Araştırma konumuz olan *Salvia* türleri ise antioksidan aktiviteleri tesbit edilmiş ve halk arasında sıklıkla çay olarak kullanılan önemli aromatik bitkilerdir (Öztürk, vd., 2002).

Antioksidan aktivite, lipid oksidasyonunun primer ve sekonder ürünlerinin kantitatif belirlenmesi ve reaksiyonlardaki diğer değişikliklerin tesbit edilmesi ile değerlendirilmektedir. Genellikle, hidroperoksit oluşumunu geciktirme yöntemi ya da oksidasyon boyunca oluşan sekonder ürünleri kimyasal ve duyuşsal olarak tesbit yöntemi kullanılmaktadır (Shahidi and Nacz, 1995).

Antioksidanlar oksidatif sürecin farklı düzeylerinde etkilidirler (Moure, et al., 2001).

- başlangıç radikalleri süpürücü;
- metal iyonlarını bağlayıcı;
- peroksil radikallerini süpürücü;

-oksidatif hasar görmüş biyomolekülleri uzaklaştırıcı.

Antioksidanların *in vivo* olarak biyoyararlanımı, absorpsiyonu, metabolizması, farmakokinetiği ve besin maddelerinde kullanımını açısından bu mekanizmalar önem kazanmıştır (Moure et al., 2001).

Besinlerdeki doğal antioksidanlar, bitkinin bütün kısımlarında bulunabilen polifenolik yapıya sahip bileşiklerdir. Bitki fenollerini çok fonksiyonlu olup indirgeyici ajan, metal şelatörleri ve oksidasyon önleyici etkileri vardır. Genel olarak bitkisel fenolik antioksidanlara örnek olarak flavonoid bileşikleri, fenolik asit türevleri, naftakinonlar, kumarinler ve tokoferoller gösterilmektedir. Doğal antioksidanlar organizmadan absorbe edildikten sonra fizyolojik fonksiyonları açısından önemli duruma gelirler (Triantaphyllou et al., 2001).

Besinlere ilave edilen sentetik antioksidanların ortaya çıkan çeşitli yan etkileri üreticileri doğal kaynaklı antioksidanları kullanmaya yöneltmiştir. Bu sentetik antioksidanların fenolik yapıda olması bu konuda yapılan araştırmaların da doğal yapıya sahip antioksidanlarda aynı yapıya sahip moleküllerin, özellikle de flavonoidler ve fenolik asitlerin incelenmesi üzerinde yoğunlaşmasını sağlamıştır (Balasundram et al., 2006). Fenolik bileşikler serbest radikallerin engellenmesinde önemli bir rol oynarlar. Böylelikle LDL oksidasyonuna karşı dayanıklılığı artırır ve lipid peroksidasyonunu engellerler. Fenolik bileşiklerin aynı zamanda iltihap kurutucu etkileri de vardır. Sağlığa yararlı olan fenolik flavonoidler, meyvelerde ve çay, şarap gibi içeceklerde de bulunmaktadır. Ortalama flavonoid tüketiminin koroner kalp hastalıkları ölümleri ile ters orantılı olduğu görülmüştür (Samman et al., 1998).

Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar meyve ve sebzelerdeki fenolik antioksidanların kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli kanser tipleri gibi kronik ve dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir (Sanchez-Moreno,

et al., 1998). Ayrıca, bu besin maddelerindeki antioksidanların ekstre edilip diğer gıda maddelerine katılması da gıdaların oksidasyona karşı stabilizasyonu ve insan sağlığına faydaları açısından çok önemlidir (Shahidi, 2000).

Tez kapsamında, son yıllarda cins üzerinde yapılan araştırmalar dikkate alınarak çalıştığımız *Salvia cryptantha* Montbret & Aucher, *S. candidissima* Vahl subsp. *occidentalis* Hedge ve *S. forskahlei* L. türlerinin üzerinde antioksidan aktivite ve aktif maddeleri ile ilgili çalışma bulunmadığı için literatürdeki bu eksiğin giderilmesi bağlamında fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları da gerçekleştirilmiştir.

3. MATERYAL METOT

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan türler Eskişehir ve çevresinden toplanmıştır. Toplanan materyalin bir kısmı sistematik çalışmalar için herbaryum örneği olarak hazırlanmış ve bu örnekler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Herbaryumu'na alınmış (OUFE) ve diğer bir kısmı ise kök, gövde ve yaprak anatomik çalışmaları için %70'lik alkol içinde fikse edilmiştir. Herbaryum örnekleri, türün tayininde detaylı morfolojik özelliklerin belirlenmesinde ve polen preparatlarının hazırlanmasında kullanılmıştır.

Çizelge3.0.1 *Salvia* Türleri ve Lokaliteleri

<i>Salvia</i> Türleri	Herbaryum No, Toplayan	Toplanan Bölgeler
<i>Salvia cryptantha</i> Montbret & Aucher ex Benth. (seksiyon: Hymenosphace)	OUFE:15938, H. Gürcan	B3: Eskişehir-Seyitgazi yolu, yol kenarları, Ayvalı köyü sapağı, N: 39° 48" 30,3' -E: 30° 43"3,3', 1008m, 15.05.2010.
<i>Salvia candidissima</i> Vahl subsp. <i>occidentalis</i> Hedge(seksiyon: Aethiopsis)	OUFE: 15929, H. Gürcan	B3: Mihalıççık-Gürleyik köyü, dere kaynağı çevresi, N: 39°59"37,1' E: 31°20"22, 6', 763m, 01.07.2010.
<i>Salvia forskahlei</i> L. (seksiyon: Plethiosphace)	OUFE: 15940, H. Gürcan	B3: Bozüyük, Kozpınar Köyü açık alanlar, N: 39°51"30,9' E: 29°40"24, 2', 900m, 30.06.2010.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Anatomik Çalışmalar

Anatomik çalışmalar için alkol örneklerinden kesitler elle ve jilet yardımıyla alınmış, Prior marka ışık mikroskobu altında incelenerek, Nikon 80i mikroskop ve Kameram 21, görüntüleme ve analiz programlı cihazıyla fotoğrafların çekimi yapılmıştır. Anatomik çalışmalar için çeşitli temel anatomik kitaplardan ve yapılan çeşitli çalışmalardan yararlanılmıştır (Metcalf and Chalk, 1950; Esau, 1967; Fahn, 1967; Özörgücü, vd., 1991; Özörgücü, 1993; Yentür, 1995).

3.2.2. Palinolojik Çalışmalar

Polen örnekleri Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumunda (OUFE) bulunan, kurutulmuş bitkilerden alınmıştır.

Palinolojik çalışmalarda, her örnek için farklı bölgelerden toplanan 10–15 değişik bitkinin çiçeklerine ait polenler kullanılmıştır.

Bitkilerin toplanması sırasında taksona ait örnekler ayrı ayrı kâğıt zarflara konularak değişik özellikteki polenlerin karışması önlenmiştir. Bu işlem değişik bölgelerdeki farklı faktörlerin aynı yapıdaki polenlerin üzerinde bir etkisi olup olmadığını araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan bitki taksonu Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumundan alınan bitkilerin polen örneklerinden

kullanılmıştır. Örnekler, Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Herbaryumunda (OUFE) bulunmaktadır.

Çalışmamızda taksonların polen morfolojileri ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Ekzin tabakalarının isimlendirilmesinde Faegri ve Iversen'in terminolojisi kullanılmıştır.

Işık mikroskobunda incelenmek üzere, örneklerden alınan polenlerin Wodehouse (1935) ve Erdtman (1969) yöntemi ile preparatları hazırlanmıştır.

3.2.2.1. Wodehouse yöntemi

Anterlerden çıkarılan polenler temiz bir lama konulduktan sonra üzerine reçine ve yağların erimesi için 2–3 damla % 96'lık alkol damlatılmıştır. Alkolün buharlaşması için lam ısıtıcı bir tabla üzerinde 30–40°C arasında ısıtılmıştır. Lam üzerindeki tespit edilmiş polenler üzerine bazik fuksinli gliserin-jelatinden bir miktar (1–2 mm³) konulup, ısıtılarak erimesi sağlanmıştır. Temiz bir iğne ile polenler lam üzerinde homojen bir şekilde dağıtılarak üzerine 22x22 mm²'lik lameller hava kabarcığı kalmayacak bir şekilde kapatılmışlardır (Aytuğ, vd., 1971). Preparatların donmasının sağlanması amacıyla, 1–2 gün oda sıcaklığında ters çevrilerek bekletilmiştir. Lamalar etiketlenerek saklanmak amacıyla kutulara alınmıştır.

Gliserin-Jelatin hazırlanması

Jelatin plaklar belirli bir süre (2–3 saat) distile su içerisinde tutulmuştur. Bir ölçü yumuşamış jelatine, 1,5 ölçü gliserin karıştırılmıştır. Küflenmeye engel olması için %

2–3 oranında asit-fenik ilave edilmiştir. Bu karışım 80 °C kadar ısıtılmıştır. Temiz bir petri kabına dökülen karışımın yavaş yavaş katı hale gelmesi için bekletilmiştir.

Wodehouse metodu için hazırlanan gliserin-jelâtin içine, polenleri, boyayabilmek için istenilen miktarda bazik fuksin boyası katılmıştır (Aytuğ, 1967).

Polenlerin Ölçümü ve Fotoğrafların Çekimi

Polenlerin incelenmesi Prior marka ışık mikroskobu ile yapılmıştır. Apochromatik oil immersiyon objektif (x100), mikrometrik oküler (x10) kullanılmıştır. Kullanılan mikrometrik cetvelin bir aralığı 1 µ olarak hesaplanmıştır. Her taksona ait polen ölçümleri P, E, için Gausse eğrisi elde edilinceye kadar yapılmıştır. Bu ölçülerin ortalamaları (M), standart sapmaları (S) ve varyasyonları (Var) aşağıdaki formüller esas alınarak hesaplanmıştır (Aytuğ, 1967).

Polen çapı ve ekzin ortalamaları (M):

$$M = m + a \cdot \frac{1}{n} \cdot \sum x \cdot y$$

$$\text{Standart Sapma} = \pm \sqrt{\frac{1}{n} \cdot \sum x^2 \cdot y - u^2} \quad U = \frac{1}{n} \cdot \sum x \cdot y$$

Wodehouse (1935) ve Erdtman (1969) yöntemine göre yapılan preparatlarda, her takson polenine ait ekzin ve intin kalınlıkları, en az 20 en çok 50 kez ölçülmüştür. Bu ölçümlerin doğrudan matematiksel ortalamaları alınmıştır.

Polenlerin teşhisi ve sayımı Prior binoküler mikroskop ile yapılmıştır. Sayımlar için x 10 oküler, x 10 ve x 40 plan objektifi, teşhis için x 100 plan oil-immersion objektifi kullanılmıştır. Oküler mikrometresinde her bir aralık 1 µ'dir.

Polenlerin teşhisleri için çeşitli temel palinolojik kitaplardan ve yapılan çeşitli çalışmalardan yararlanılmıştır (Wodehouse, 1935; Erdtman, et al., 1954, Pokrovskaja, 1958; Kuprianova, 1965; Erdtman, 1966; Erdtman, 1969; Aytuğ, vd., 1971; Charpin, et al., 1974; Faegri and Iversen, 1975; Moore, et al., 1991; Pehlivan, 1995; Kapp, 1968).

3.2.2.2. Asetoliz yöntemi

Erdtman taze polenlere ait preparasyonların hazırlanmasında kullanılan bu metodu bir revizyona tabi tutmuş, yeniden ortaya çıkarmıştır (Erdtman, 1966). Herbaryum materyalinin tabi tutulacağı muamele işlemi ile anlaşılmıştır: Materyal takriben 0.11 mm² lik bir elekten geçirilerek, küçük bir huni yardımı ile 15 mm. lik santrifüj tüpü içerisine alınmıştır. Üzerine asetoliz karışımı dökülmüştür; karışım 9 hacim anhidrid asetik asit ve 1 hacim derişik sülfürik asittir. Sülfürik asit, anhidrik asit üzerine damla damla ilave edilerek karışım hazırlanmıştır. (Bu esnada ısı takriben 70 °C a yükselir). Asetoliz karışımı her seferinde gerektiği kadar hazırlanmıştır. Bir örnek için 10 ml. hesaplanmıştır. Santrifüj tüpleri su dolu bir kap içerisinde yavaş yavaş suyun kaynama derecesine kadar ısıtılmıştır. Bu kabın kapağında her tüp için bir delik ve ortasında bir termometreyi tutacak yer bulunur. Tüplerin ve termometrenin kabın dibine temas etmemesi için bunları taşıyan üçayaklı bir sehpa mevcuttur. Bu taşıyıcı 4-6-8- veya 16 tüpü taşıyabilir büyüklük ve yapıdadır. Isıtma bir hot altında yapılmıştır ve her tüp ayrı bir cam çubukla sık sık karıştırılmıştır. Isıtma esnasında bir tüp kırılır veya tüp

içerisindeki karışım suya dökülürse, oldukça kuvvetli bir reaksiyon meydana gelir ve etrafa püskürür, bunun için çok dikkatli olunmalıdır. Su kaynayınca ısıtmaya son verilmiştir, tüpler bu sıcak su içerisinde 15 dakika tutulmuştur. Sonra santrifüje geçilmiştir. Santrifüjün devir sayısı arz edilen hıza ayar edilmiştir. Ayrıca asetoliz karışımı toplama şişesi içine alınarak, zarar vermeyecek bir yere dökülmüştür.

Santrifüj tüpünün dibinde kalacak materyal, 3/1 oranında su ve % 95 alkol karışımı ile yıkanmıştır. Bu tüp içerisindeki materyal, yukarıda adı geçen elekten geçirilerek bir başka tüp (B tüpü) içerisine süzümüştür. İlk kullanılan A tüpü temizlenip; ikinci defa aynı şekilde süzülen materyal yeniden A tüpüne alınmıştır. Santrifüje tabi tutularak içerisindeki sıvı dökümüştür. Tüp filtre kâğıdı üzerine ağzı aşağıya gelmek üzere kapatılıp, iyice süzümülesi sağlanmıştır. Bu materyal mikroskop altında etüd edilip, muameleye devam edilip edilmeyeceğine karar verilmiştir. Devam edilmeyecek ise, polenler çok koyu boyanmışlarsa, açıklştırma safhasına getirilmiştir. Bazı örnekler o derece koyulaşrlar ki ekzin'in özelliklerinin etüdü çok zor olur. Bu takdirde, kırmızı ışıktan faydalanılmıştır. Çünkü bu ışık, mavi, yeşil ve mor ışıktan daha iyi ekzin içerisine nüfuz eder ve mikroskopta daha rahat görüşü sağlar.

Rengin açıklştırılmasına gerek yoksa bir miktar (ml) % 50 lik gliserin ilave edilerek çalkalanmıştır. En az 10 dakika (tercihen 1 saat ve daha fazla) bekletilmiştir. Sonra santrifüje tabi tutulmuştur. Ayrıca 50 °C lik fırında 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Materyalin renginin açıklştırılması gerekiyorsa A tüpü saf su ile doldurulup, çalkalanmıştır. Sonra, süratle yarısı veya 1/3 ü B tüpüne boşaltılmıştır. B tüpü santrifüjden geçirilip sıvı boşaltılmıştır. Hot içerisinde bu tüpe 2 ml. Glasiyel asetik asit ve 2–3 damla doymuş sodyum klorat ve sonra 2-3 damla konsantre asit klorhidrik ilave edilip karıştırılmıştır. Materyal serbest kalan klor tarafından bir dakika içerisinde beyazlaştırılmıştır. Santrifüj'den sonra saf su ile yıkanıp, santrifüje tabi tutulmuştur. Yeniden destile su ile doldurularak A tüpüne boşaltılmıştır. Çalkalanarak iyice karışması sağlanmıştır. 1 ml. % 50 gliserin eklenerek çalkalanıp 10 dakikadan az

olmamak üzere bekletilmiştir. Sonra santrifüjden geçirilerek süzülüp, 50 °C'lık fırında 24 saat kurumaya terk edilmiştir.

Preparasyon amaçlı gerekli malzeme, lam, lamel, 4 cm uzunluğunda ve uzun bir sapa takılı platin bir iğne, pinset, jilet, 22 × 7 veya 5 × 5cm lik dikdörtgen şeklindeki çerçeveler (lamların üzerine koymak için) ve destek kartlarından ibarettir. Destek kartları, kenarları 10 × 15 cm. genişliği, 2,5 cm. olan 'L' şeklinde kartlardır. Geniş bir mukavva üzerine yapıştırılmışlardır.

Alkole batırılarak veya yakılarak sterilize edilen platin iğne ucuna takılan toplu iğne başı büyüklüğündeki gliserin-jelatin parçası, kurutma dolabından alınan tüp içerisine sokularak materyale bulaştırılmış ve sonra temiz bir lam üzerinde, destek kartları yardımı ile uygun bir yere konmuştur. Küçük bir ispiro lambası veya hafif bir bunzen beki alevi ile yavaşça ısıtılarak gliserin-jelatin'in erimesi sağlanmıştır. Sonra platin iğne ile lam üzerinde iyice karıştırılarak materyalin homojen olarak yayılmasına çalışılmıştır. Bunun üzerine lamel kapatılınca gliserin-jelatin 2-3 cm. çapında bir daire halinde yayılıp, etrafında lam ile lamel arasında kalan boşluk parafin eriyiği ile doldurulmuştur. Çerçeveler üzerine, lamel aşağıya gelecek şekilde konmuştur (polenlerin lamele yakın olarak tespiti için bu gereklidir). Bir zaman sonra parafin ve gliserin-jelatin katılaştır; etrafa taşan parafin jiletle kazınmıştır; rutubetli yumuşak bir bez ile preparasyon iyice temizlenmiştir. Son olarak da etiketi yapıştırılmış ve gerekli bilgiler üzerine not edilmiştir.

Taze materyalin tabii tutulacağı muamele için polenleri veya sporları incelenen materyal glasiyel asetik asit içerisinde ve küçük tüplerde saklanmıştır. Preparasyonun yapılması için asit dökülmüş ve bu materyal bir santrifüj tüpüne alınarak, bir cam çubukla parçalanmış; sonra yukarıda açıklandığı gibi hareket edilmiştir.

3.2.2.3. SEM yöntemi

Scanning elektron mikroskop (SEM) incelemeleri için, asetolize edilmemiş polen taneleri tutturucu tablaya konulup altınla kaplanmış ve Jeol 5600 LV scanning elektron mikroskopta incelenmiştir (Walker, 1974a-b).

3.2.3. Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Kimyasal madde ve çözeltiler

Gallik asit, β -karoten, BHT (butillenmişhidroksi toluol), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Folin-Ciocalteu reaktifi (Sigma- Aldrich), linoleik asit (Fluka), Tween 80, metanol, etilasetat, kloroform etanol, sodyum kabonat, Sodyum asetat, alüminyum klorür (Merck).

Kullanılan cihazlar

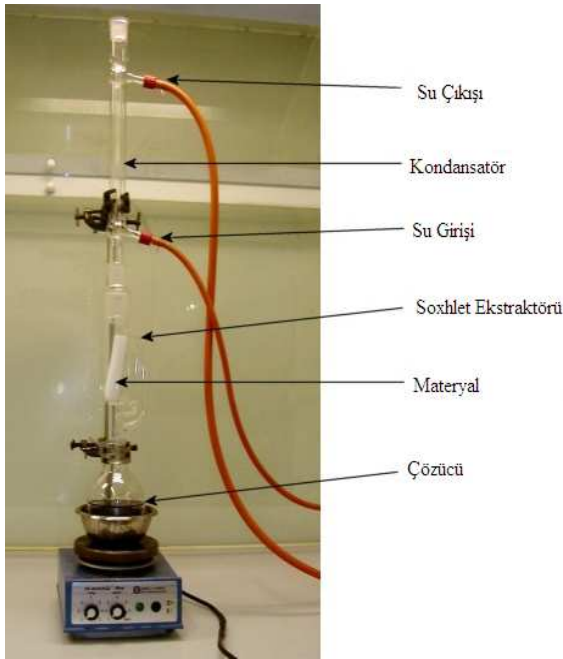
UV- visible Spektrofotometre (Shimadzu UV 2401 PC), Eliza mikroplak okuyucu (Bio.Tek. EL_x808_{IU}), Ultrasonik banyo (1 L, J.P. Selecta), Etüv (Venticell-55), Hassas Terazî (Shimadzu-AEX 200G), Rotavapor (Buchi-R114), Vortex karıştırıcı (Nuvemix-NM110 vibratör), Soxhlet Apeyi.

Kullanılan malzemeler

6 ml borosilikat vial (Cole Parmer), Spektrofotometre küveti (S-10SM 1 ml Quartz), 96 kuyucuklu mikrolaka (Corning), Otomatik Pipetör (100µL, 1000 µL, 5000 µL, Eppendorf), Steril otomatik mikropipet ucu (100 µL, 1000 µL, 5000 µL, Eppendorf), beher (250 ml, İldam), armudi balon (50 ml, İldam), Pyrex-cam tüp (10 ml, 16x100 mm, İldam), Kapaklı cam tüp (10 ml, İldam), balon joje (10 ml, 25 ml, 100 ml, 250 ml, İldam).

3.2.3.1. Ekstraksiyon yöntemi

Çalışmada kullanılan *Salvia* türlerinin çiçek ve yaprakları gölgede kurutularak toz edilmiş, her üç drog içinde aynı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Yaklaşık 20 g toz drog Soxhlet apareyinde önce yağlarından kurtarılmak üzere petrol eteri (40-60°) ile 8 saat ekstre edilmiş, geride kalan drog, sırasıyla etil asetat ve metanolla aynı şekilde Soxhlet apareyinde 8'er saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstraktlar ayrı ayrı 40 °C de alçak basınç altında çözücülerinden kurtarılarak kurutulmuştur (EA, ME). Her ekstre için kuru baz üzerinden % verim hesaplanmıştır. Bu şekilde elde edilen ekstreler kimyasal ve biyolojik aktivite tayinlerinde kullanılmıştır.



Şekil 0.1 Soxhlet Apereyi



Şekil 0.2 Rotavapor

3.2.4. Ekstreler Üzerinde Fitokimyasal Çalışmalar

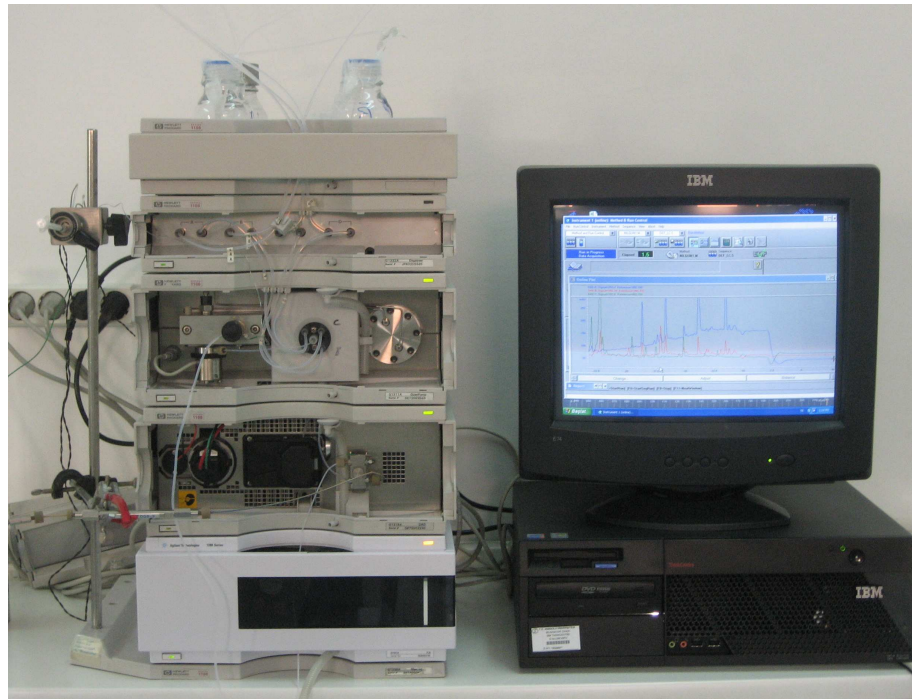
3.2.4.1. Toplam fenolik madde miktar tayini

Ekstreler içindeki toplam fenol miktarları Folin-Ciocalteu Metodu kullanılarak kolorimetrik olarak tayin edilmiştir (Folin, ve Ciocalteu, 1928). Bütün örnekler ve standart olarak kullanılan gallik asit %50 lik metanolde çözülmüştür. 0.5 ml örnek, 2.5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi (%10'luk, h/h, suda) ve 7.5 ml sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik, a/h, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözeltilerin absorbans değerleri 750 nm de spektrofotometrede okunmuş, toplam fenol miktarı gram ekstrede mg gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

3.2.4.2. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile fenolik bileşenlerin analizi

Bitkilerin tüm kısımlarında bulunan polifenolik bileşikler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. En yaygın doğal fenolik antioksidanlar flavonoidler, kumarinler, antosiyaninler, proantosiyeninler, tokoferoller ve fenolik asitler olarak sayılabilir (Shahidi, 2000).

Tez kapsamında çalışılan *Salvia* türlerine ait farklı polaritedeki ekstraktların içerdiği fenolik asitlerin miktar tayinleri ters-faz kolon kullanılarak gradient elüsyon çözümü sistemiyle YBSK yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Rodriguez-Delgado et al.,2001; Oztürk, et al., 2007).



Şekil 0.3 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Cihazı (YBSK)

YBSK Sistemi Analiz Koşulları (Öztürk, vd., 2007)**Cihaz:** Agilent HPLC series 1100 (Agilent, Waldbronn, Germany)**İşlemci:** ChemStation software**Pompa:** Quaternary pump G1311A (Agilent, Waldbronn, Germany)**Kolon:** INERTSIL ODS3-C18 kolon (100 mm, 4.6 mm i.d., 3 μ m partikül çapı)
(Agilent, Waldbronn, Germany)**Degazer:** Degasser G1322A (Agilent, Waldbronn, Germany)**Enjektör:** Agilent 1100 (Agilent, Waldbronn, Germany)**Akış hızı:** 1 mL/dak**Dedektör:** DAD G1315A, 280 nm (Agilent, Waldbronn, Germany)**Çözücü Sistemi :** Çözücü A; metanol: su: formik asit (10:88:2, v/v/v)

Çözücü B; metanol: su: formik asit (90:8:2, v/v/v)

Gradient program: 0 dan %15 B ye 15 dakikada, 6 dakika %15 B de devam etmiş, %15 den %50 B ye 10 dakikada, %50 den %100 B ye 5 dakikada arttırılmış ve 6 dakikada başlangıç konsantrasyonuna dönülmüştür.

Sonuçların değerlendirilmesinde, ayırımın tekrarlanabilirliğini sağlamak amacıyla İç Standart (internal standart) (IS) yöntemi kullanılmış, sunulan analiz koşullarında ilgili fenolik asitlerle birlikte sisteme iç standart (IS) olarak propil paraben eklenmiş ve IS'nin karışıklığa neden olmayan bir yerde belirlediği gözlenmiştir. Değerlendirmelerde, doğrusallığın incelenmesi sürecinde; pik alanının göç zamanına oranı olan pik normalizasyon (PN) değerleri, pik alanı değerlerine göre daha tekrarlanabilir bulunduğu için, kromatogram verileri Microsoft Excel[®] programına aktarılarak PN değerleri

hesaplanmıştır. Ardından aşağıda verilen formülden her bir maddenin PN oranları hesaplanmıştır.

$$\text{Pik Normalizasyon Oranı} = \frac{\text{Analitin Pik Normalizasyon değeri}}{\text{İç standartın Pik Normalizasyon değeri}}$$

Madde derişimine karşı PN oranlarının grafiği çizdirilerek ve yapılan regresyon analizi sonucunda eğri denklemleri elde edilmiş, korelasyon (r) katsayıları bulunmuştur.

Elde edilen doğru denklemleri ve analiz sonuçlarıyla ilgili matematiksel ve basit istatistiksel hesaplamalar (ortalama, standart sapma (SD), standart hata, bağıl standart sapma (RSD), bağıl hata) Microsoft Excel® programı kullanılarak yapılmış, tayin (LOQ) ve saptama sınırları (LOD) da bu verilerden yararlanılarak hesaplanmıştır.

Ayrımın gerçekleştirildiği koşullarda, yöntemin ICH [International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use] önerilerine göre geçerlilik (validasyon) işlemleri yapılmıştır.

3.2.5. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

Antioksidan aktivite, lipid oksidasyonunun primer ve sekonder ürünlerinin kantitatif belirlenmesi ve reaksiyonlardaki diğer değışikliklerin tesbit edilmesi ile değerlendirilmektedir. Genellikle, hidroperoksit oluşumunu geciktirme yöntemi yada

oksidasyon boyunca oluşan sekonder ürünleri kimyasal ve duyumsal olarak tesbit yöntemi kullanılmaktadır (Shahidi and Nacz, 1995).

Antioksidanlar oksidatif sürecin farklı düzeylerinde etkilidirler (Moure et al., 2001).

-başlangıç radikalleri süpürücü;

-metal iyonlarını bağlayıcı;

-peroksil radikallerini süpürücü;

-oksidatif hasar görmüş biyomolekülleri uzaklaştırıcı.

Antioksidanların *in vivo* olarak biyoyararlanımı, absorpsiyonu, metabolizması, farmakokinetiği ve besin maddelerinde kullanımı açısından bu mekanizmalar önem kazanmıştır (Moure et al., 2001).

3.2.5.1. Serbest radikal süpürücü etki tayini

Kararlı bir radikal olan DPPH bir elektron veya hidrojen kabul eder. Antioksidanların, DPPH radikale bir hidrojen atomu verme yetenekleri üzerinden süpürücü etki gösterdikleri düşünülmektedir. Bu yöntem ile antioksidanların stabil DPPH[•] radikalini, indirgenmiş DPPH (DPPH-H) formuna getirme yetenekleri değerlendirilir. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında kısa zamanda sonuç veren bir yöntemdir (Molynex, 2004; Sanchez-Moreno et al., 1998; Sanchez-Moreno et al. 1999; Cakir, et al., 2003).

Test edilen *Salvia* türlerinden elde edilen ekstrelerden hazırlanan çözeltilerin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH[•]) üzerindeki serbest radikal süpürücü etkileri Sanchez-Moreno ve arkadaşları (1998) tarafından modifiye edilmiş yöntem kullanılarak tayin edilmiştir.

Metanol içerisinde hazırlanmış 0.1, 0.2 ve 0.4 ml örnek çözeltileri (reaksiyon ortamındaki örnek konsantrasyonları 9.6×10^{-4} - 3.6×10^{-3} mg/ml) üzerine metanolde hazırlanmış 3 ml DPPH (2×10^{-2} g/L) çözeltisi ilave edilerek vortekste 30 sn karıştırılmış ve karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika bekletilen çözeltilerin 517 nm de absorbens değerleri kaydedilmiş, serbest radikal süpürücü etki (Antioksidan İndeks) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{kontrol absorbens} - \text{örneğin absorbens}}{\text{kontrol absorbens}} \times 100$$

Radikal süpürücü etki konsantrasyona karşı korele edilmiş ve DPPH konsantrasyonunu % 50 inhibe eden ekstre konsantrasyonları belirlenmiştir. Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmış, referans madde olarak BHT kullanılmıştır

3.2.5.2. β -karoten-linoleik asit sisteminde antioksidan aktivite tayini

Bu yöntem, β -karoten ve linoleik asit sulu emülsiyon sisteminde ısı yardımıyla oksidasyonunun indüklenmesi esasına dayanmaktadır (Koleva et al., 2002). Reaksiyon sonunda çözeltide β -karotenin kaybolan karakteristik sarı renginin absorbens 470 nm'de UV-Spektrofotometre'de kaydedilerek, sonuçlar standart olarak kullanılan sentetik antioksidanlar ile karşılaştırılarak verilmektedir. (Weerasinghe and Shahidi, 1999). Reaksiyon genellikle 50°C civarında başlar, basit, duyarlı ve hızlı bir yöntemdir (Koleva et al., 2002).

Kuru bir kaba tartılan 40 mg linoleik asit ve 400 mg Tween 80 ile β -karoten çözeltisinin tamamı (3mg/ml kloroformda) vortekste iyice karıştırılmış, kloroform alçak basınç altında 40°Cde rotavaporda ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bakiye su ile

emülsifiye edilerek 100 ml ye tamamlanmıştır. Portakal renkli bu stok çözelti deneyler sırasında karanlıkta saklanmıştır. 3 ml β -karoten çözeltisi içerisine 0.2 ml numune çözeltisi (0.6 mg/ml konsantrasyonda) ilave edilerek vortekste iyice karıştırılmış, herbir numune çözeltisi (0.2 ml) mikropklara yerleştirilerek işlem sırasında 40°Cde etüvde tutulmuş ve 15 dakika aralıklarla 490 nm de ELİZA mikropklaka okuyucuda absorbsanları ölçülmüştür.



Şekil 0.4 Eliza Mikropklaka Okuyucu

Her bir deney 3 kez tekrarlanmış, sonuçlar zamana (dakika) karşı okunan absorbsan değerleri grafiğe geçirilerek ve ayrıca antioksidan aktivite fenolik asit ilave edilmeksizin kontrole karşı oksidasyonun inhibisyon yüzdesi olarak aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve sentetik antioksidanlar BHT'nin sonuçları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Kontrol olarak metanol kullanılmıştır.

$$\% \text{ Antioksidan aktivite} = 100 \times [1 - (A_s^0 - A_s^{180}) / (A_k^0 - A_k^{180})]$$

A_s^0 = örneğin başlangıçtaki absorbsanı (490 nm)

A_s^{180} = örneğin 180 dakika sonraki absorbsanı (490 nm)

A_k^0 = kontrolün başlangıçtaki absorbsanı (490 nm)

A_k^{180} = kontrolün 180 dakika sonraki absorbsanı (490 nm)

4. SONUÇLAR

4.1. Araştırma Bitkileri ve Genel Özellikleri

Araştırma bölgesinden toplanan *Salvia* L. örnekleri teşhis edilmiş ve türlerin *S. cryptantha* (seksiyon: Hymenosphace), *S. candidissima* subsp. *occidentalis* (seksiyon: Aethiopsis) ve *S. forskahlei* (seksiyon: Plethiosphace) oldukları saptanmıştır.

S. cryptantha Montbret & Aucher ex Benth.

Odunsu kaideli, kümeli formlu çok yıllıklar. Gövdeler dik, 20–40 cm boylu, çatallı tüylü ve sapsız salgı tüylü. Yapraklar basit, genellikle yumurtamsı-eliptik, 1,5–5 cm, pürüzlü, oymalı kenarlı, yoğun yatık çatallı tüylü. Kaliks sarımsı-yeşil, sapsız salgılı ve uzun yumuşak tüylü, 10–14 mm korolla beyaz ile pembemsi, 13–17 mm meyveler soluk kahverengi.

Çiçeklenme: Mayıs-Temmuz

Habitat ve yaşam formu: Kayalık yamaçlar, kurak stepler, tarla kenarları, 700–2500 m Kamefit

Genel ve bölgesel yayılış: Türkiye, Endemik, İran-Turan elementi

Durumu: Geniş yayılışlı, Düşük riskli (LC)

Türkiye'de Doğal Yaşam Alanları: A4, A5, A6, B3, B4, B5, B6, B7, B8, C3, C4, C5



a

b

Şekil 4.1 *S. cryptantha* a: genel görünüş, b: yakından görünüş

Salvia candidissima Vahl subsp. *occidentalis* Hedge

Çok yıllık otlar. Gövdeler dik, genellikle 40–70 cm, üstte dallı, altta sapsız salgılı ve yünsü ile uzun tüylü, üstte yoğun uzun tüylerle karışık salgılı ve papillalı. Yapraklar basit, 2,5–11,5 cm, kısa ile keçemsi sık tüylü, 3–11 cm saplı. Çevrel halkalar 2–6 çiçekli. Floral yapraklar yumurtamsı, 4–10 mm, Pedisel 2–4 mm, Kaliks 12–15 mm, yoğun basit ve salgılı tüylü-papillalı. Korolla beyaz, 22–27 mm.

Çiçeklenme: Mayıs-Eylül

Habitat ve yaşam formu: Volkanik kayalıklar ve kalkerli yamaçlar, tarla kenarları, bayırlar, 800–1900 m. Hemikriptofit

Genel ve bölgesel yayılış: Türkiye, Yunanistan, Arnavutluk. İran-Turan elementi

Durumu: Düşük riskli (LC)

Türkiye''de Doğal Yaşam Alanları: A4, A5, B2, B3, B4, B5, B7, C2, C3, C4, C5



a

b

Şekil 4.2 *Salvia candidissima* subsp. *occidentalis* **a:** genel görünüş, **b:** yakından görünüş

S. forskahlei L.

Çok yıllık otlar. Gövdeler dik olmakla birlikte genellikle 15–120 cm kadar gelişebilmektedir. Basit veya dallanmış alt tarafı. Salgı tüylü veya basit tüylü. Yapraklar basitten parçalıya doğru, genişçe yumurtamsı (+,-) kalpsi. Yaklaşık 5x3'den 30x33'e kadar oldukça farklı boyutta. Genellikle tabanda veya tüm gövde üzerinde ağsı damarlı, oymalıdan testere dişliye. Yaprak sapı yaklaşık 10–16 cm yalancı çevresel çiçek durumu 2–8(-12). Çiçekli brakteler yaklaşık 8x6 mm, yumurtamsı. Brakteol var. Çiçek 2–5 mm, dik. Kaliks kısa, dişli, korolla mordan maviye, pembemsi sarı beyaz noktalı 20–30 mm. Tüp üst kısmında kıvrık (+,-) yoğun, yumuşak, kılsı tüylü. Üst dudak oraksı derin şekilde iki parçalı. Stoma B tipi nutlet yuvarlaktan 3 köşeliye. 2n=16 kromozom.

Çiçeklenme: Haziran-Eylül

Habitat ve yaşam formu: Geniş ve iğne yapraklı ormanlar, çayırılık alanlar, step alanları

Genel ve bölgesel yayılış: Türkiye, Bulgaristan

Durumu: Düşük riskli (LC)

Türkiye'de Doğal Yaşam Alanları: A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, B3



a

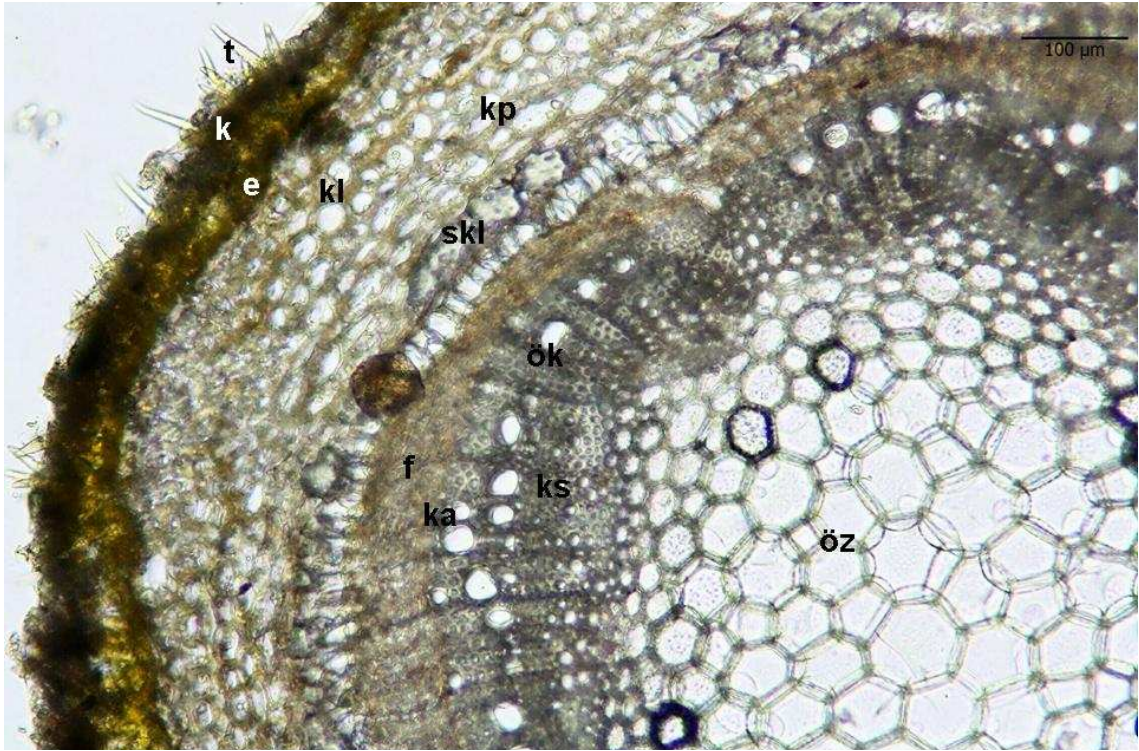
b

Şekil 4.3 *S. forskahlei* a: genel görünüş, b: yakından görünüş

4.2. Anatomik Çalışmalar

4.2.1. *Salvia cryptantha* Kök Anatomisi

Bitki çok yıllık olduğu için en dışta parçalanmış mantar doku yani periderm yer almaktadır. Koruyucu doku olarak periderm iyi gelişim göstermiş ve daralan korteksi koruma görevini üstlenmiştir. Peridermin üstünde kök tüyleri bulunmaktadır. Peridermin altında 4–5 sıralı kollenkima hücreleri mevcuttur. Korteks parankiması ve onun içinde gömülü olarak yer alan 2–3 sıralı kalın çeperli hücrelerden oluşan sklerankima bulunmakta ve sklerankima iletim demetini kuşatmaktadır. Sklerankima halkası ile ksilem arasında yer yer ve belli belirsiz olarak 2–3 sıra hücreden oluşan floem seçilmektedir. Floemin altında kambiyum tabakası ve ksilem yer almaktadır. Ksilemde yer yer öz kollarına rastlanmıştır. İletim demetleri kollateraldir. Merkez parankimatik bir öz ile doludur.

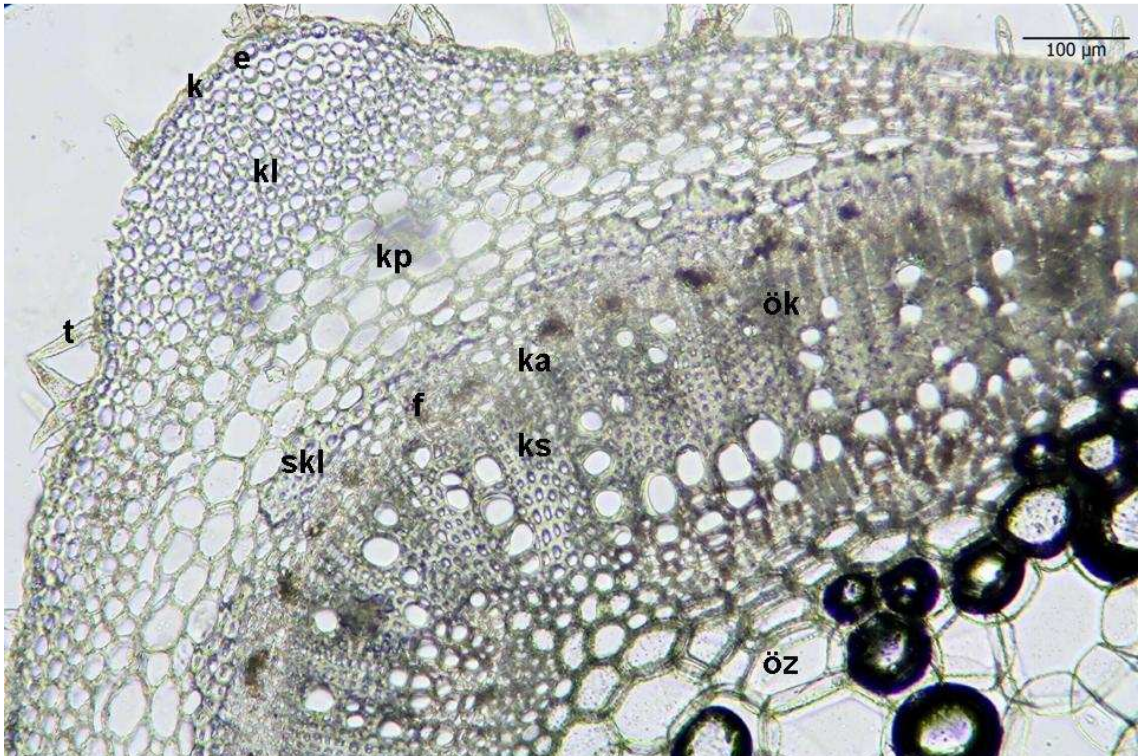


Şekil 4.4 *Salvia cryptantha* kök enine kesit

t. tüy, k. kutikula, e. epiderma, kl. kollenkima, kp. korteks parankiması, skl. sklerankima, ök. özolu, ka. Kambiyum, ks. ksilem, f. floem, öz. Öz bölgesi

4.2.2. *Salvia cryptantha* Gövde Anatomisi

Bitki tipik dört köşeli olup en dışta kalın bir kutikula ile küçük hücrelerden oluşmuş epidermis yer alır. Epidermisten çok sayıda örtü ve salgı tüyü çıkmaktadır. Epidermisten sonra köşelerde 7–8 hücre sıralı kollenkima ve hemen altında 5–6 sıralı parankimatik korteks bulunmaktadır. Gövde anatomisinde kalın çeperli levha kollenkiması hücrelerinin köşelerde bulunması Lamiaceae familyasının ayırt edici karakteridir. Kollenkima hücrelerinin altında korteks parankiması yer almaktadır. Parankimatik hücrelerden sonra yer yer sklerankimatik hücre kümeleri görülmektedir. Sklerankima hücreleri ile ksilem arasında çok az yer kaplayan ve güçlükle seçilebilen floem vardır. 1–2 sıralı kambiyumdan sonra ise ksilem bulunmaktadır. İletim demetleri kollateraldir. En içte ise geniş bir yer kaplayan öz bölgesi vardır. Öz parankimatiktir (Şekil 4.5).

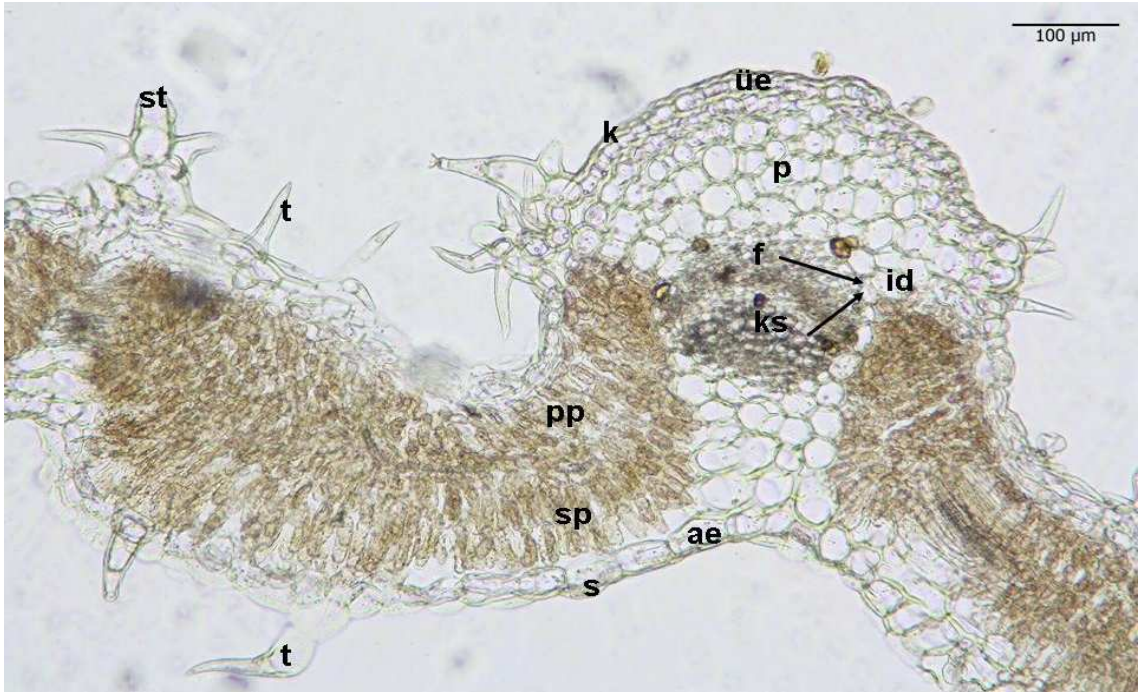


Şekil 4.5 *Salvia cryptantha* gövde enine kesit

t. tüy, k. kutikula, e. epiderma, kl. kollenkima, kp. kortex parankiması, skl. sklerankima, ök. özkolu, ka. Kambiyum, ks. ksilem, f. floem, öz. özbölgesi

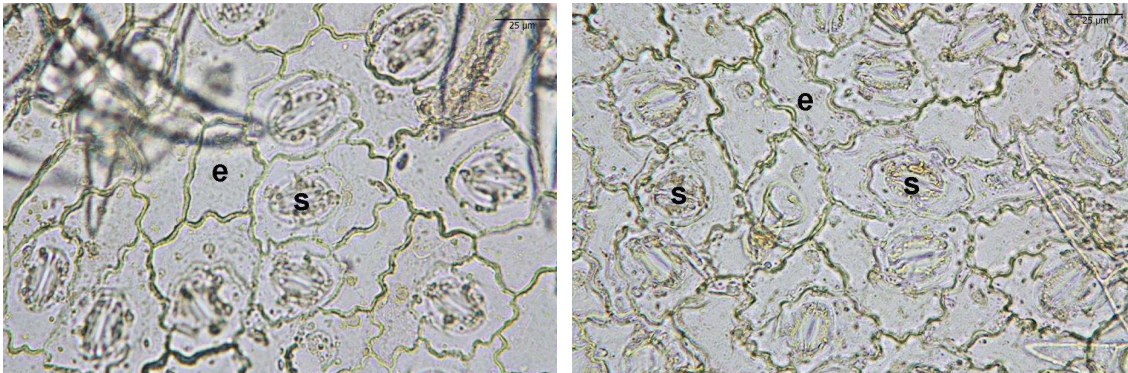
4.2.3. *Salvia cryptantha* Yaprak Anatomisi

En dışta kalın bir kutikula, altında bir sıra epidermis bulunmaktadır (Şekil 4.6). Mezofil dokusunda palizat ve sünger parankiması hücreleri şekilsel olarak iyi ayırt edilememektedir. Alt epidermis hücreleri genellikle daha iri olup yaprak bifasial özellik göstermektedir. Yaprığın alt ve üst yüzeyi bol miktarda örtü ve salgı tüyleri ile kaplıdır. Yapraklar amfistomatiktir. Bitki amarillis, mezomorf ve anizositik tipte stomalara sahiptir. Yaprak orta damardaki iletim demeti floem ve ksilemden oluşmaktadır (Şekil 4.6). Kollateral tipteki iletim demetlerinin yer aldığı orta damarda ksilem bölgesi oldukça fazla yer kaplamaktadır. İletim demetleri tipik bir parankimatik kınla kuşatılmıştır.



Şekil 4.6 *Salvia cryptantha* yaprak enine kesit

t. örtü tüyü, st. salgı tüyü, k. kutikula, ue. üst epiderma, p. parankima, pp. palizat parankiması, sp. sünger parankiması, ks. ksilem, f. floem, id. İletim demetleri, s. stoma, ae. alt epiderma



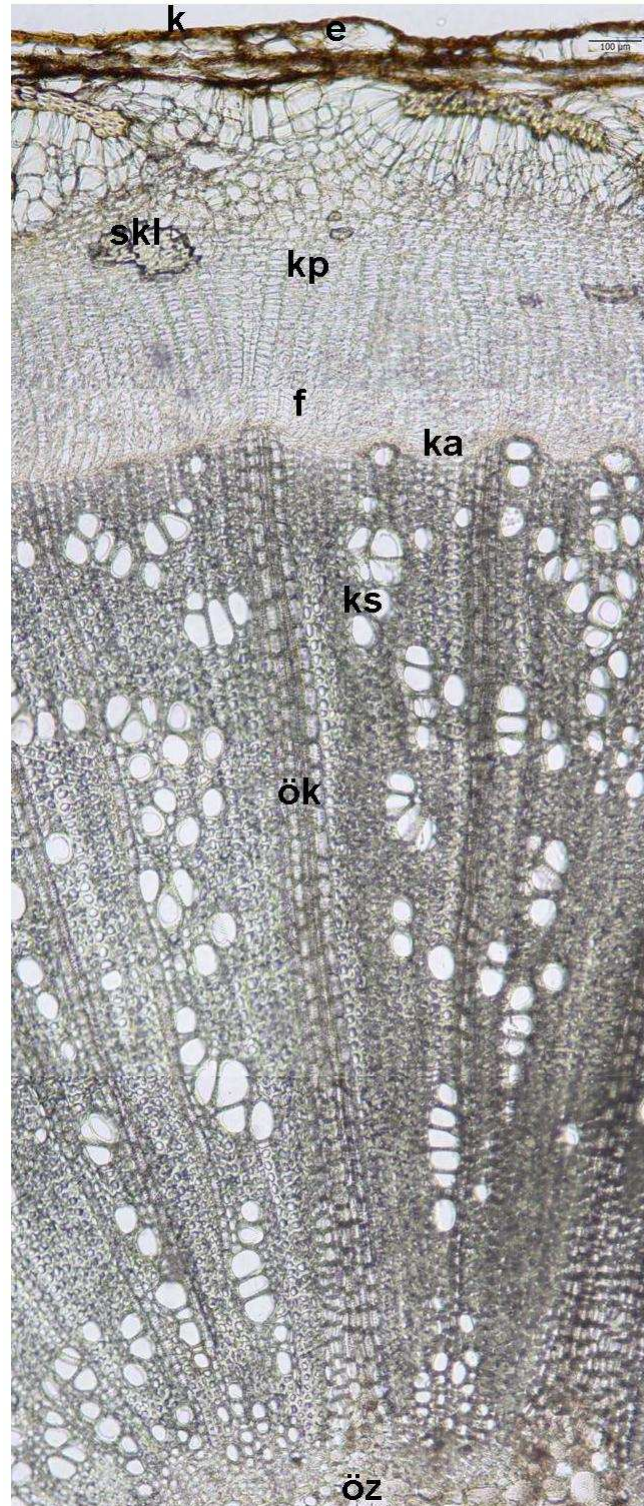
a

b

Şekil 4.7a. *Salvia cryptantha* yaprak üst epidermis, **b.** alt epidermis (e. epiderma, s. stoma)

4.2.4. *Salvia candidissima* subsp. *occidentalis* Kök Anatomisi

Bitki çok yıllıktır ve en dışta parçalanmış mantar doku yani periderm yer almaktadır. Mantar dokunun altında korteks parankimasına gömülü yer yer sklerenkima demetleri bulunmaktadır. Korteks geniş bir yer kaplamakta, dar 2-3 sıralı floemi 1-2 sıralı yine dar bir kambiyum takip etmektedir. Daha sonra öze kadar öz kollarına sahip geniş bir ksilem yer almaktadır. Ksilem sekonder gelişmenin sonucu dışta daha ince çeperli ve küçük, içte ise daha kalın çeperli ve daha büyük ksilem elemanlarından oluşmaktadır. İletim demetleri kollateraldir. Öz parankima elemanları ile doludur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 *Salvia candidissima* subsp. *occidentalis* kök enine kesit

k. kutikula, e. epiderma, kl. kollenkima, kp. korteks parankiması, skl. sklerankima, ök. özolu, ka. Kambiyum, ks. ksilem, f. floem, öz. özbölgesi

4.2.5. *Salvia candidissima* subsp. *occidentalis* Gövde Anatomisi

Bitki tipik dört köşeli ve en dışta kalın bir kutikula ile küçük hücreli epidermisle başlamaktadır. Epidermisten çok sayıda örtü ve salgı tüyü çıkmaktadır. Epidermisten sonra 7–8 sıralı levha kollenkimalı parankimatik korteks gelmekte hemen altında 4–5 sıralı parankima bulunmaktadır. Hemen altında yer yer sklerankimatik demetler yer almaktadır. Sklerankima hücreleri ile ksilem arasında çok az yer kaplayan 4–5 sıralı floem vardır. 1–2 sıralı belirgin bir kambiyumun ardında geniş bir yer kaplayan öz kollarına sahip ksilem bulunmaktadır. İletim demetleri kollateraldir. Merkezde ise öz bölgesi vardır. Öz parankimatiktir (Şekil 4.9).

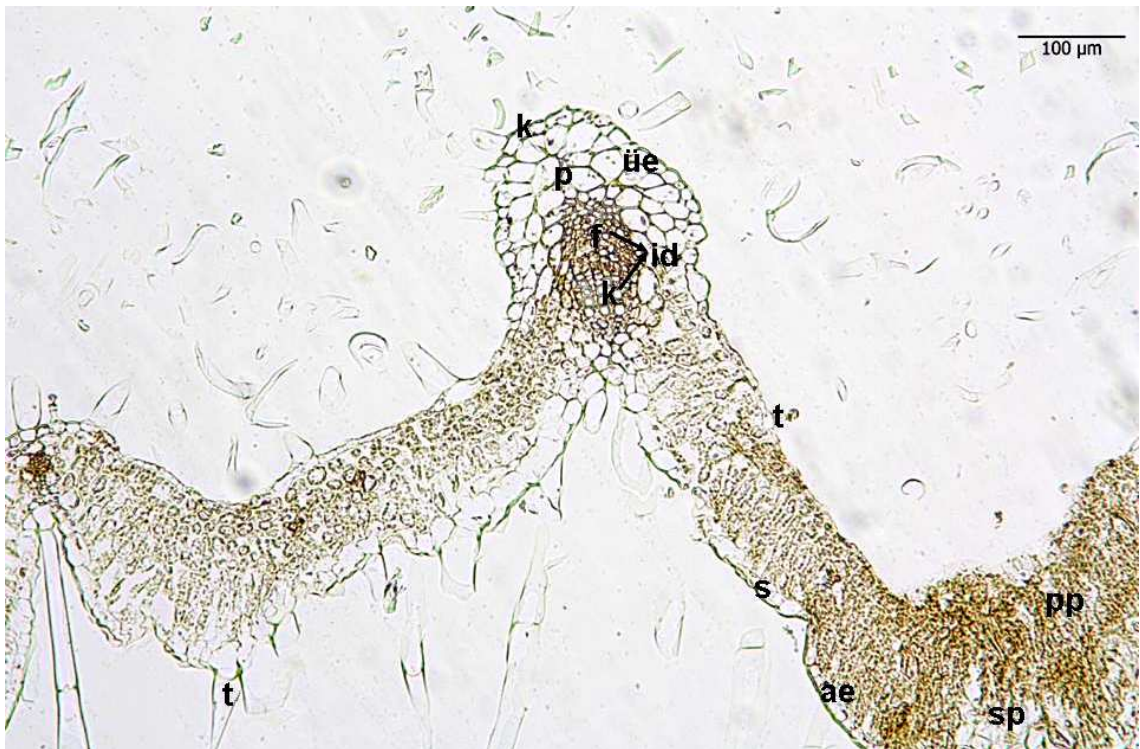


Şekil 4.9 *Salvia candidissima* subsp. *occidentalis* gövde enine kesit

t. tüy, k. kutikula, e. epiderma, kl. kollenkima, kp. korteks parankiması, skl. sklerankima, ök. özkolu, ka. Kambiyum, ks. ksilem, f. floem, öz. özbölgesi

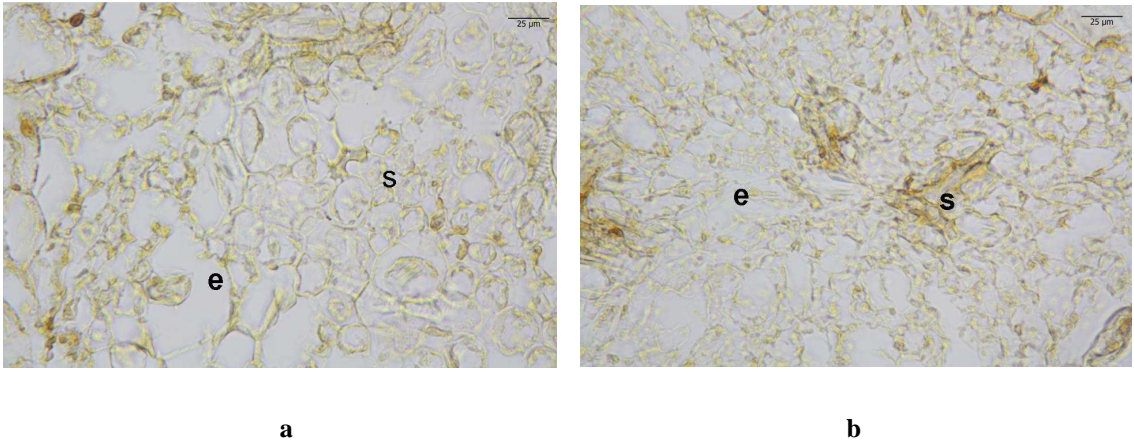
4.2.6. *Salvia candidissima* subsp. *occidentalis* Yaprak Anatomisi

En dışta kalın bir kutikula, altında bir sıra epidermis bulunmaktadır (Şekil 4.10). Mezofil dokusunda palizat ve sünger parankiması hücreleri Şekilsel olarak iyi ayrırt edilememektedir. Alt epidermis hücreleri genellikle daha iri olup yaprak bifasial özellik göstermektedir. Yapradıın hem alt hem de üst yüzeyi bol miktarda örtü ve salgı tüyleri ile kaplıdır. Yapraklar amfistomatiktir. Bitki amarillis, mesomorf ve anizositik tipte stomalara sahiptir. Yaprak orta damardaki iletim demeti floem ve ksilemden oluşmaktadır (Şekil 4.10). Kollateral tipteki iletim demetlerinin yer aldığı orta damarda ksilem bölgesi oldukça fazla yer kaplamaktadır. İletim demetleri tipik bir parankimatik kınla kuşatılmıştır.



Şekil 4.10 *Salvia candidissima* subsp. *occidentalis* yaprak enine kesit

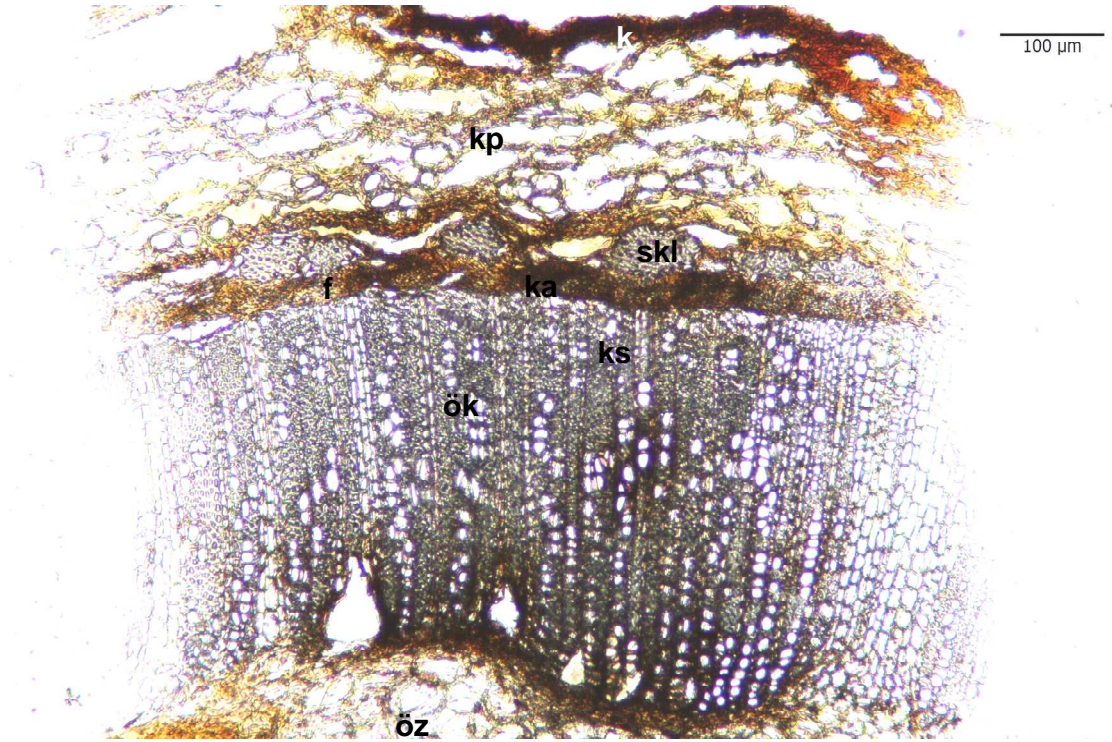
t. tüy, k. kutikula, üe. üst epiderma, p. parankima, pp. palizat parankiması, sp. sünger parankiması, ks. ksilem, f. floem, id. İletim demetleri, s. stoma, ae. alt epiderma



Şekil 4.11 a. *Salvia candidissima* subsp. *occidentalis* yaprak üst epidermis, **b.** alt epidermis (e. epiderma, s. stoma).

4.2.7. *Salvia forskahlei* Kök Anatomisi

Bitki çok yıllıktır ve en dışta parçalanmış mantar doku bulunmaktadır. Koruyucu doku olarak periderm iyi gelişim göstermiş ve daralan korteksi koruma görevini üstlenmiştir. Peridermde mantar doku ayırt edilmektedir (Şekil 4.12). Korteks çok az yer kaplamakta, boşluklu korteks parankiması altında sklerankima demetler teşkil ederek bulunmaktadır. Hemen altında 2-3 sıralı dar bir floemi 1-2 sıralı kambiyum takip etmektedir. Daha sonra merkeze kadar öz kollu ksilemden oluşan iletim demeti yer almaktadır. İletim demetleri kollateraldir ve öz parankima elemanları ile doludur.

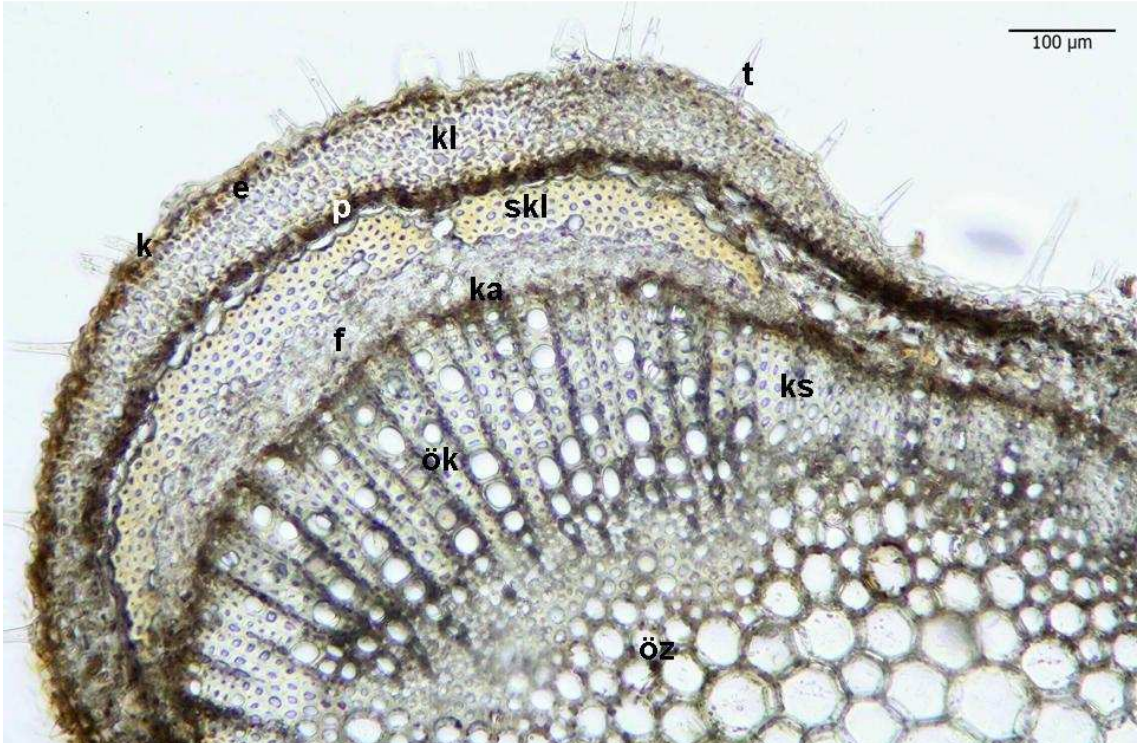


Şekil 4.12 *Salvia forskahlei* kök enine kesit

k. kutikula, e. epiderma, kl. kollenkima, kp. korteks parankiması, skl. sklerankima, ök. özkolu, ka. Kambiyum, ks. ksilem, f. floem, öz. özbölgesi

4.2.1. *Salvia forskahlei* Gövde Anatomisi

Bitki tipik dört köşeli olup en dışta kalın bir kutikula ile küçük hücrelerden oluşmuş epidermis yer alır. Epidermisten çok sayıda örtü ve salgı tüyü çıkmaktadır. Epidermisten sonra köşelerde 5–6 hücre sıralı kollenkima hücrelerinin altında 2–3 sıralı korteks parankiması yer almaktadır. Parankimatik hücrelerden sonra yer yer sklerankimatik demetler görülmektedir. Sklerankima hücreleri ile ksilem arasında 5–6 sıralı bir floem vardır. 1–2 sıralı kambiyumdan sonra ise öz kollarına sahip ksilem bulunmaktadır. İletim demetleri kollateraldir. Merkezde ise geniş bir yer kaplayan parankimatik bir öz bölgesi vardır.



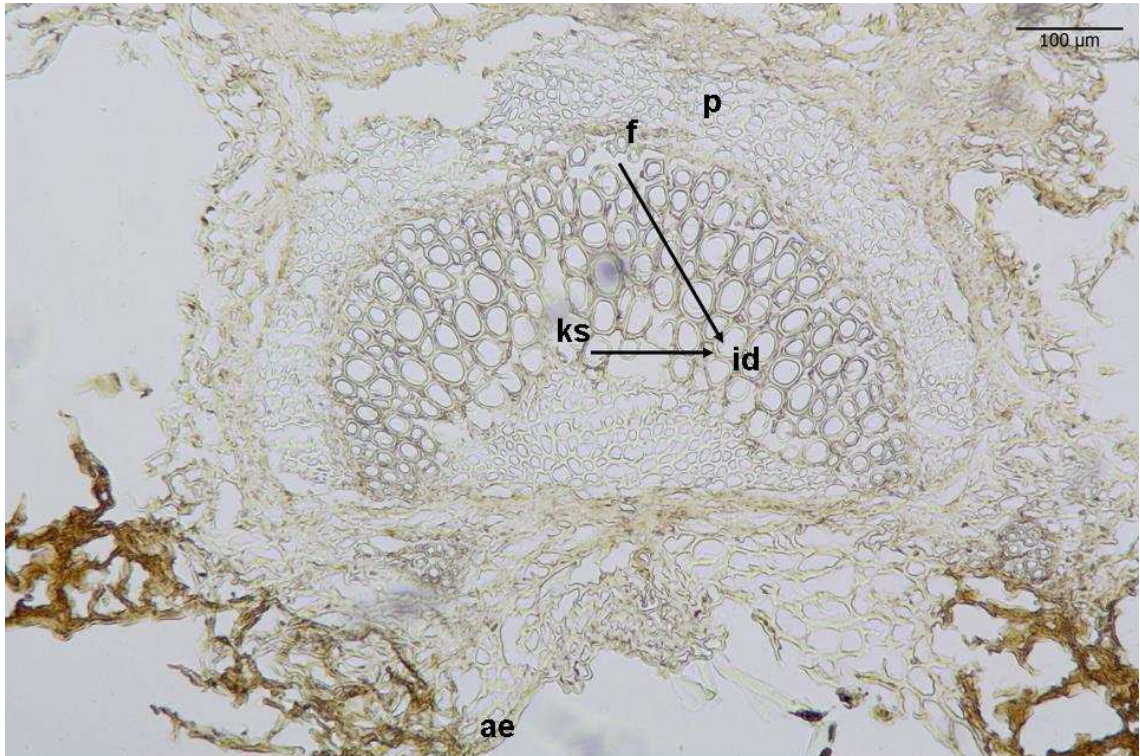
Şekil 4.13 *Salvia forskahlei* gövde enine kesit

t. tüy, k. kutikula, e. epiderma, kl. kollenkima, kp. korteks parankiması, skl. sklerankima, ök. özolu, ka. Kambiyum, ks. ksilem, f. floem, öz. özbölgesi

4.2.2. *Salvia forskahlei* Yaprak Anatomisi

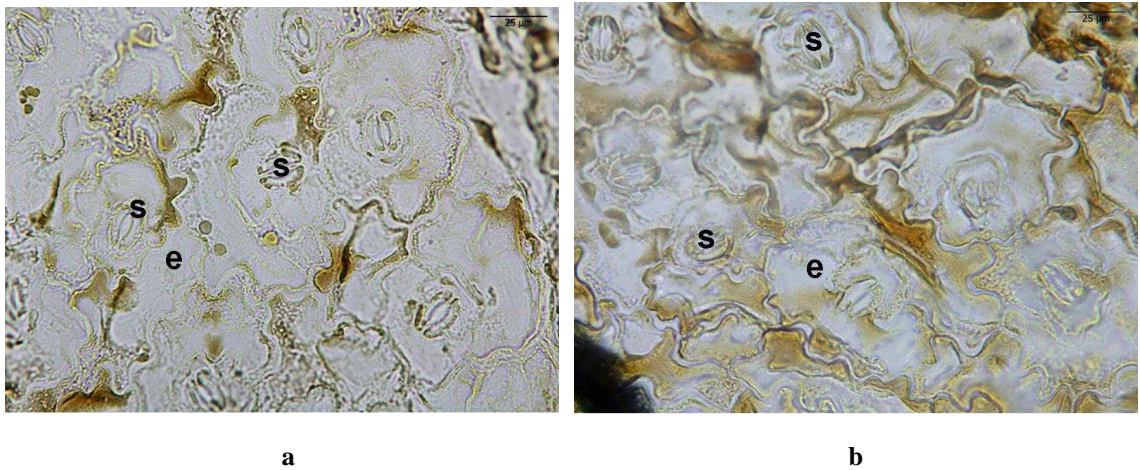
En dışta kalın bir kutikula, altında bir sıra epidermis bulunmaktadır (Şekil 4.14). Epidermis hücreleri farklı büyüklüklerde görülmektedir. Mezofil dokusunda palizat ve sünger parankiması hücreleri şekilsel olarak iyi ayırt edilememektedir. Alt epidermis hücreleri genellikle daha iri olup yaprak bifasial özellik göstermektedir. Yaprığın hem alt hem de üst yüzeyi bol miktarda örtü ve salgı tüyleri ile kaplıdır. Yapraklar amfistomatiktir. Bitki amarillis, mesomorf ve anizositik tipte stomalara sahiptir. Yaprak orta damardaki iletim demeti floem ve ksilemden oluşmakta olup floem dışta 1–2 hücre sırası ile ksilemin üzerinde yer almaktadır (Şekil 4.14). Ksilem, trake ve trakeidlerden oluşmakta ve daha geniş yer kaplamaktadır. Ksilemden sonra alta doğru parankimatik dokudan oluşan bir kısım bulunmaktadır. Kollateral tipteki iletim

demetlerinin yer aldığı orta damarda ksilem bölgesi oldukça fazla yer kaplamaktadır. İletim demetlerinin parankimatik hücrelerle kuşatılmış olması tipiktir.



Şekil 4.14 *Salvia forskahlei* yaprak enine kesit

p. parankima, ks. ksilem, f. floem, id. İletim demetleri, s. stoma, ae. alt epiderma



a

b

Şekil 4.15 a. *Salvia forskahlei* yaprak üst epidermis, **b.** alt epidermis (e. epiderma, s. stoma)

4.3. Polen Morfolojisi Çalışmaları

İncelenen *Salvia* taksonlarının stefanokolpat tipte ve suboblat-subprolat şekilli oldukları, tektat-retikülat-perforat/ tektat-retikülat-granülat/ tektat-biretikülat bir ornemantasyon gösterdikleri bulunmuştur. İncelenen taksonların kolpusları uzun ve küt olarak sonlanır. Kolpus mebranları granülattır. Tüm taksonlarda granüllü bir operkulüm gözlemlendi. Ekzin tektat ve muriler simplikolumellattır. Araştırılan türlere ait genel polen karakterleri Çizelge 4.1’de, Işık mikroskobu fotoğrafları ve ornamentasyonu gösterir SEM fotoğrafları Şekil 4.16, 4.17, 4.18’de verilmiştir.

Şekil ve Boyut;

Polenler monad olarak izlenmiştir. Polar eksen (P) boyutu *S. forskahlei* de 37,13 μm (W), 36,83 μm ’den (E) *S. cryptantha* da 39,13 μm (W) 41, 43 μm ’ye (E) değişmektedir. Ekvatorial eksen (E) boyutu *S. forskahlei* de 45,7 μm (W), 48 μm iken (E) *S. candidissima* subsp. *occidentalis* de 54,43 μm (W), 51,97 μm ’ye (E) değişmektedir. Ekvatorial görünüşte polenlerin şekli suboblattan subprolata değişmekteyken polar görünüşte az çok sirkular olarak görünmektedir. Tanecik şekilleri oblat-sferoid ile prolat-sferoid arasında çeşitlilik göstermektedir.

Apartürler;

Polenler tüm taksonlarda radyal simetrik ve izopolardır. Üç taksonda da hekszokolpattır. Basit kolpuslar simetrik olarak dağılmışlardır. Kolpus uzunluğu (clg) *S. forskahlei* de 27,47 μm (W), 28,6 μm ’den (E) *S. cryptantha* da 30,6 μm (W), 32,64 μm ’ye (E) değişmektedir. Kolpus genişliği *S. cryptantha* da 7,9 μm (W), 10,24 μm (E) iken *S. candidissima* subsp. *occidentalis* de 10,33 μm (W), 9,3 μm ’ye (E) değişmektedir. Apokolpium uzunluğu ise *S. candidissima* subsp. *occidentalis* de 11,50 μm (W), 10,43 μm ’den (E) *S. forskahlei* de 12,50 μm (W), 11,37 μm ’ye (E) değişmektedir.

Eksin yapısı (Ornemantasyon);

Eksin yapısı üç seksiyona bağlı olarak üç ayrı yüzey yapısına sahiptir. Retikülat-perforat, retikülat- granülat ve biretikülat ornemantasyon göstermektedir. Eksin kalınlığı *S. forskahlei* de 1,32 μm (W), 1,3 μm iken (E) *S. cryptantha* da 1,48 μm (W), 1,32 μm 'ye (E) değişmektedir. İntin kalınlığı *S. forskahlei* de 0,82 μm (W), *S. cryptantha* ve *S. candidissima* subsp. *occidentalis* de 0,83 μm 'ye (W) değişmektedir.

***Salvia cryptantha* Montbret & Aucher ex Benth.**

Polenler hegzakolpat, suboblat-subprolat P/E= 0.76 (W), 0.82 (E). Ornemantasyon tektat- biretikülat. Ekzin 1.48 μm (W), 1.32 μm (E) (Çizelge 4.1, Şekil 4.16).

***Salvia candidissima* Vahl subsp. *occidentalis* Hedge**

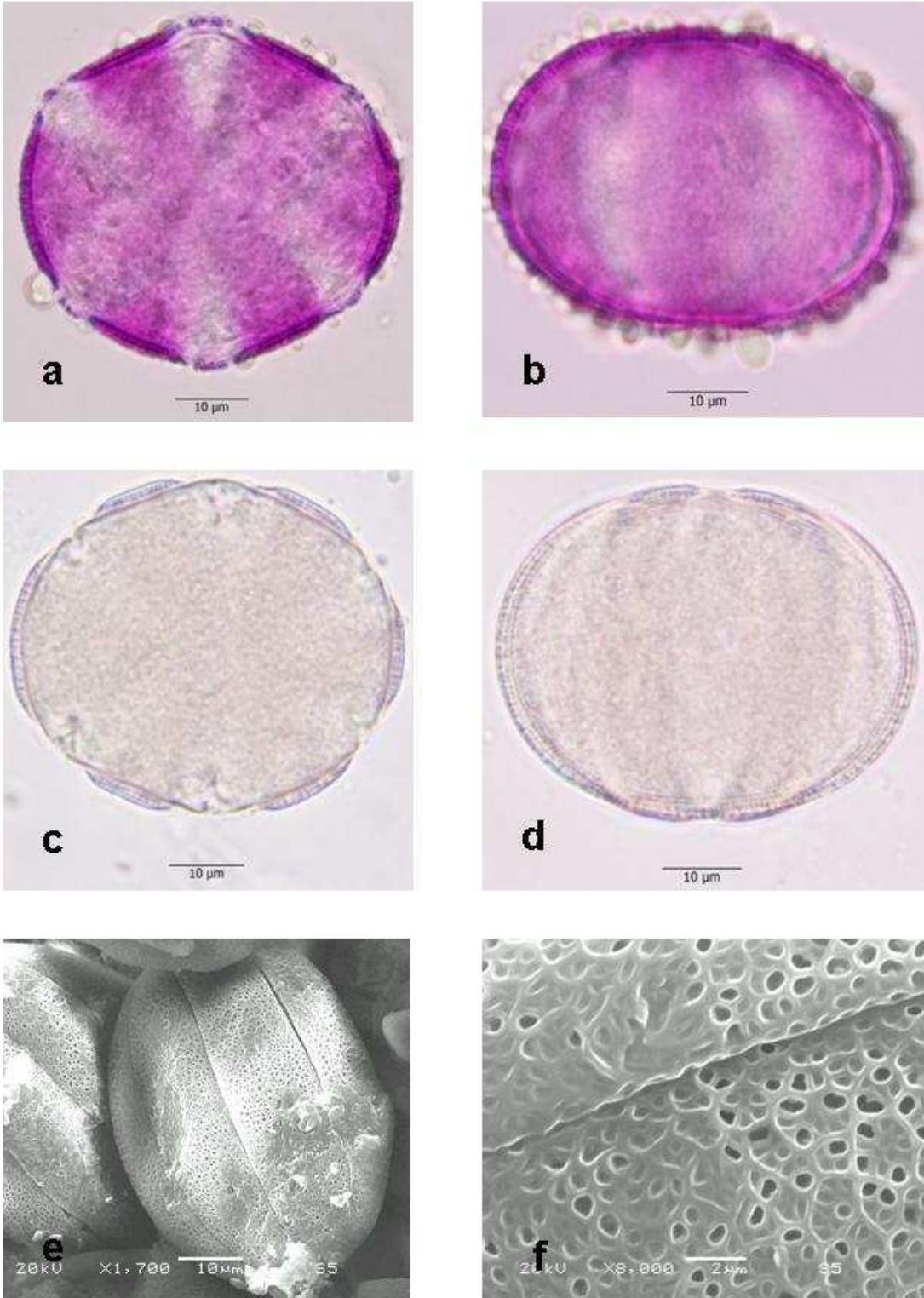
Polenler hegzakolpat, suboblat-subprolat P/E= 0.69 (W), 0.77 (E). Ornemantasyon tektat-retikülat-granülat. Ekzin 1.37 μm (W), 1.50 μm (E) (Çizelge 4.1, Şekil 4.17).

***Salvia forskahlei* L.**

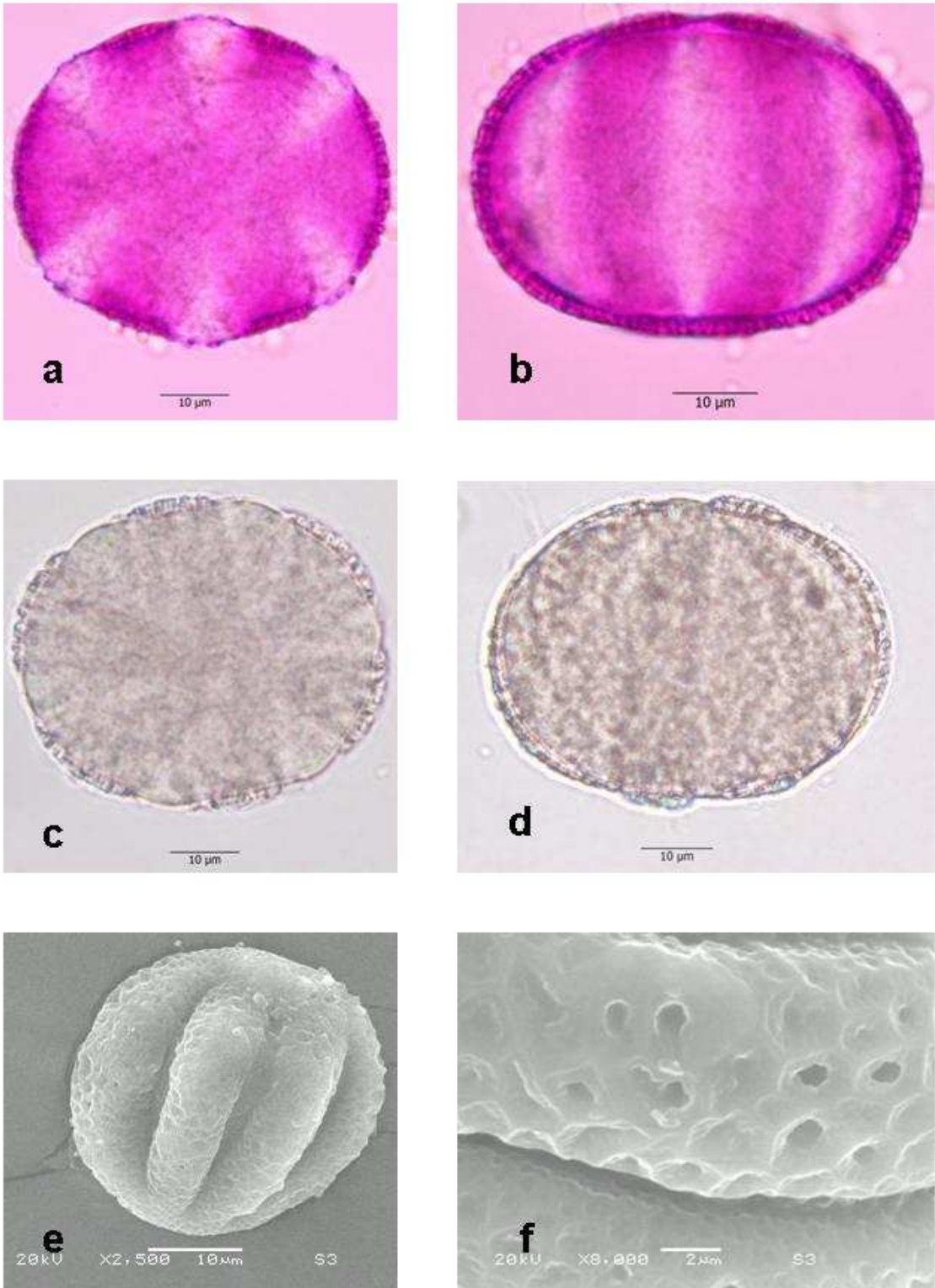
Polenler hegzakolpat, suboblat-subprolat P/E= 0.81 (W), 0.76 (E). Ornemantasyon tektat-retikülat-perforat. Ekzin 1.32 μm (W), 1.30 μm (E) (Çizelge 4.1, Şekil 4.18).

Çizelge 4-1 *Salvia* taksonlarının morfolometrik verileri

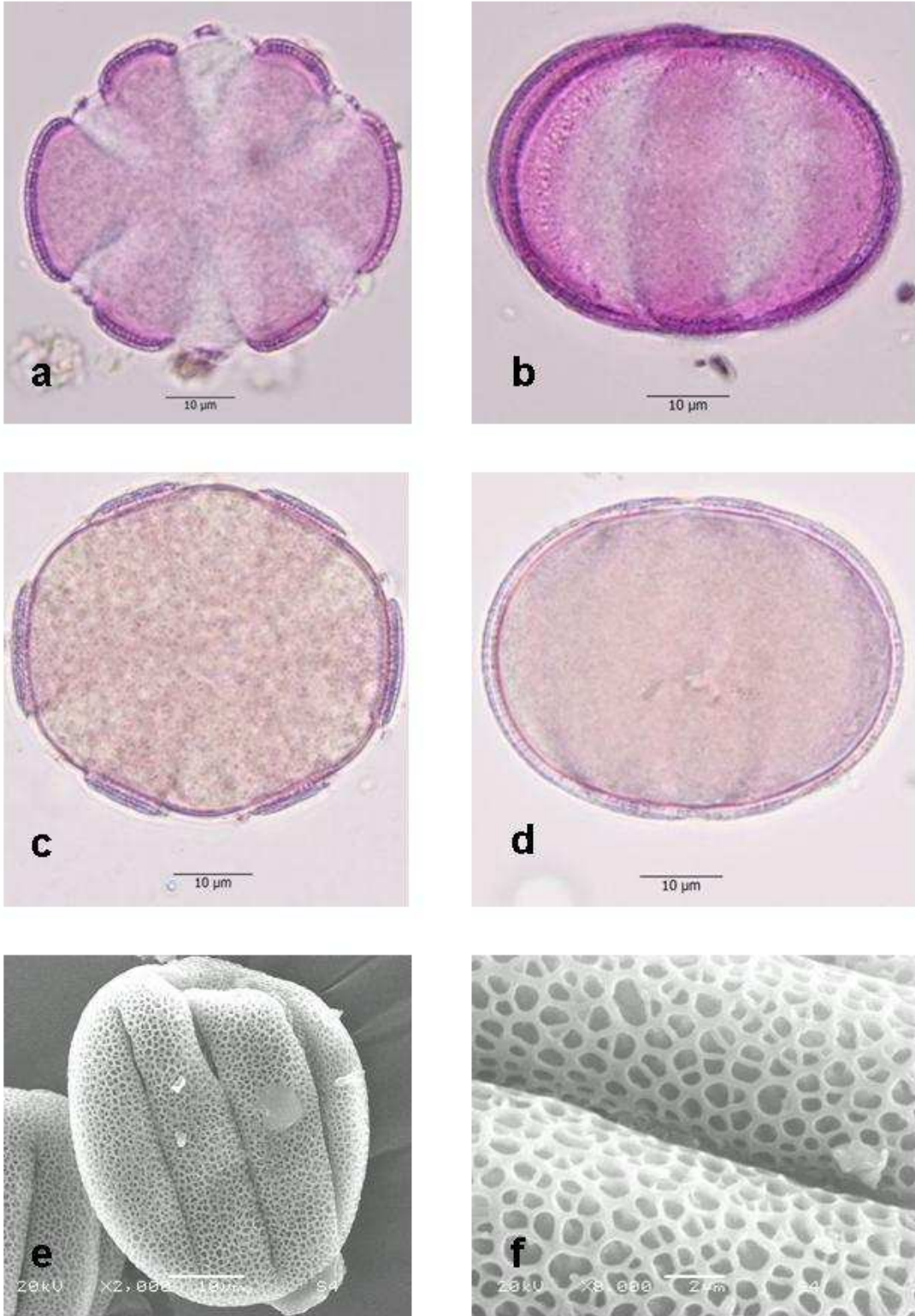
Taksonlar	P			E			P/E	L			elg			elt			t			Ekzin			Intin		
	M	S	Var.	M	S	Var.		M	S	Var.	M	S	Var.	M	S	Var.	M	S	Var.	M	S	Var.	M	S	Var.
<i>Salvia cryptantha</i> (Wodehouse)	39,13	2,57	43-33	50,87	4,1	58-44	0,76	42	3,51	48-34	30,6	1,9	35-27	7,9	1,42	11-5	11,63	1,97	15-8	1,48	0,36	2-1	0,83	0,24	1-0,5
<i>Salvia cryptantha</i> (Erdtman)	41,43	2,44	46-36	50,23	5,03	56-35	0,82	39,03	2,95	46-31	32,64	3,25	39-25	10,24	3,2	19-5	11,13	2,1	15-7	1,32	0,38	2-1	-	-	-
<i>Salvia candidisima</i> <i>ssp occidentalis</i> (Wodehouse)	37,93	2,45	42-31	54,43	2,87	61-48	0,69	38,92	2,5	43-33	29,73	2,03	33-25	10,33	2,20	14-7	11,5	1,96	15-7	1,37	0,37	2-1	0,83	0,24	1-0,5
<i>Salvia candidisima</i> <i>ssp occidentalis</i> (Erdtman)	40,1	2,79	44-29	51,97	3,49	58-42	0,77	39,7	2,25	45-36	30,73	3,78	36-22	9,3	2,26	13-5	10,43	1,38	14-8	1,5	0,39	2-1	-	-	-
<i>Salvia forskahleii</i> (Wodehouse)	37,13	3,93	49-33	45,7	4,02	53-34	0,81	37,78	3,33	44-30	27,47	2,84	35-24	9,5	2,21	14-5	12,5	2,71	18-6	1,32	0,38	2-1	0,82	0,24	1-0,5
<i>Salvia forskahleii</i> (Erdtman)	36,83	1,88	39-33	48	1,98	50-43	0,76	36,73	3,3	43-26	28,6	2,55	32-23	9,33	2,32	15-6	11,37	2,2	16-8	1,3	0,38	2-1	-	-	-



Şekil 4.16 *Salvia cryptantha* Işık mikroskopunda a. Polar (W), b. Ekvatorial (W), c. Polar (E), d. Ekvatorial (E) görünüşler; Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) e. Ekvatorial görünüş, f. Ekzin ornemantasyonu.



Şekil 4.17 *Salvia candidissima* subs. *occidentalis* Işık mikroskopunda a. Polar (W), b. Ekvatorial (W), c. Polar (E), d. Ekvatorial (E) görüntüleri; Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) e. Ekvatorial görüntü, f. Ekzin ornemantasyonu.



Şekil 4.18 *Salvia forskahlei* Işık mikroskopunda a. Polar (W), b. Ekvatorial (W), c. Polar (E), d. Ekvatorial (E) görünüşler; Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) e. Ekvatorial görünüş, f. Ekzin ornemantasyonu.

4.1. Fitokimyasal Çalışmalar

4.1.1. Ekstraksiyon verimleri

Çalışılan *Salvia* türlerine ait Soxhlet apereyi kullanılarak devamlı ekstraksiyon sonucu hazırlanan farklı polaritedeki ekstrelerin verimleri kuru baz üzerinden % olarak hesaplanmıştır. Hazırlanan ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak gallik asit üzerinden değerlendirilmiş, sonuçlar çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 *Salvia* türlerinden elde edilen ekstrelerin kuru drog verimleri ve toplam fenolik madde miktarları

Ekstreler	Ekstraksiyon verimi (%)	Toplam fenolik madde miktarı ^{1,*}
<i>S. cryphantha</i> -EA	9.60	32.26 ± 0.74
<i>S. cryphantha</i> -ME	15.23	95.53 ± 1.54
<i>S. candidissima</i> subs. <i>occidentalis</i> -EA	10.42	61.79 ± 0.77
<i>S. candidissima</i> subs. <i>occidentalis</i> -ME	15.17	23.50 ± 1.56
<i>S. forskahlei</i> -EA	3.90	28.58 ± 2.26
<i>S. forskahlei</i> -ME	4.90	111.42 ± 1.03

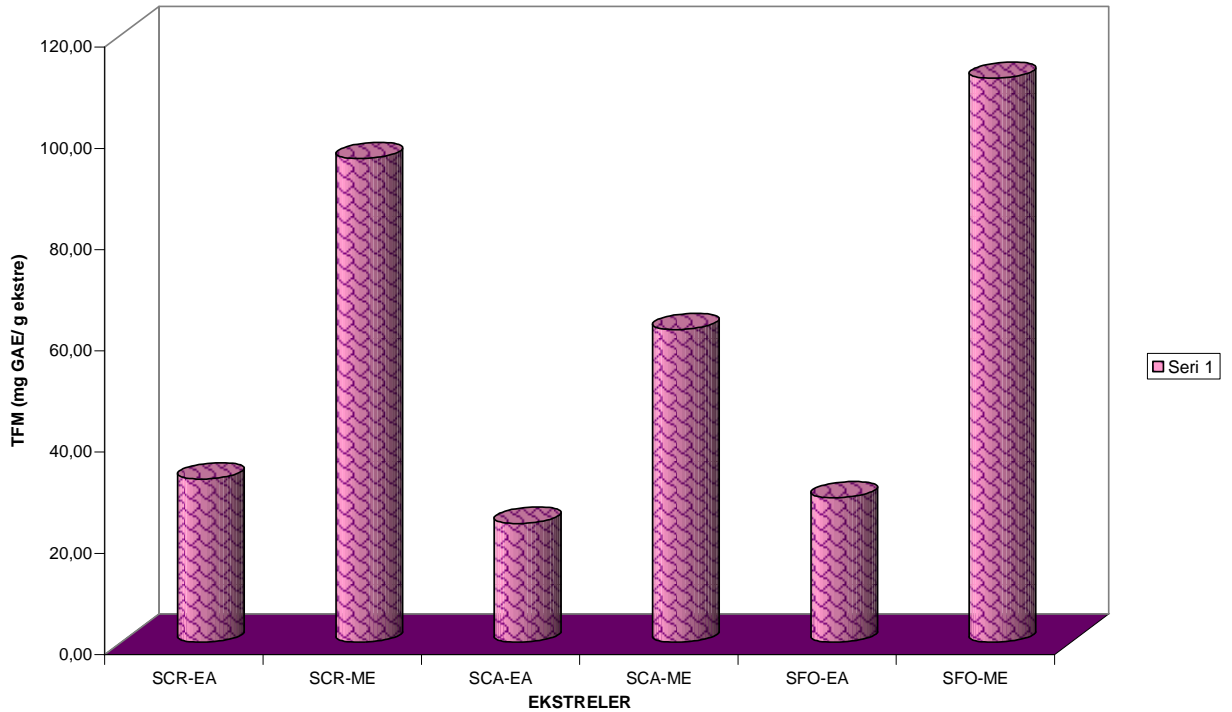
¹ mg/gram ±SD, * gallik asite eşdeğer,

Tez kapsamında çalışılan üç *Salvia* türünden hazırlanan farklı polaritedeki 2 ekstrenin çözünen madde miktarları kuru baz üzerinden % olarak hesaplanmıştır. Ekstraksiyon verimleri % 3.90 (SFO-EA) ile %15.23 (SCR-ME) arasında

değişmektedir. Her üç türün toprak üstü kısımlarına ait metanolik ekstralarının etil asetat ekstralarına oranla daha yüksek ekstre verimine sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Bu durum metanol ekstralarının daha fazla oranda polar bileşik içerdiği kanısını doğrulamaktadır.

4.1.2. Toplam Fenolik Miktar Tayini

Çalışılan *Salvia* türlerinin toplam fenolik madde miktarı değişik polaritedeki ekstralarda tayin edilmiş ve toplam fenol içeriği gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir (mg gallik asit/ g ekstre). En yüksek miktarda toplam fenolik madde taşıyan ekstralar metanol ekstraları olarak tespit edilmiştir. Ekstrelerin toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla, SCA-ME < SFO-EA < SCR-EA < SCA-EA < SCR-ME < SFO-ME olarak artmaktadır (Şekil 4.19).



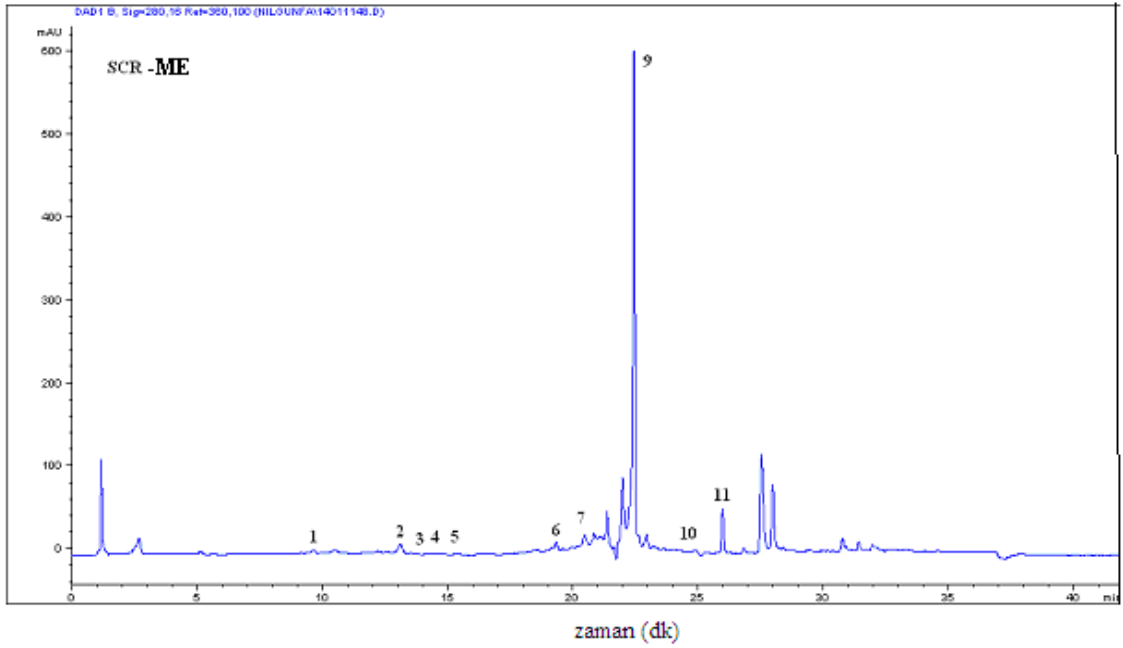
Şekil 4.19 Çalışılan *Salvia* türlerinden elde edilen ekstraların Toplam Fenolik Madde (TFM) miktarları

4.1.3. Bitkisel materyallerin içerdiği fenolik asitlerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) metodu ile Tayini

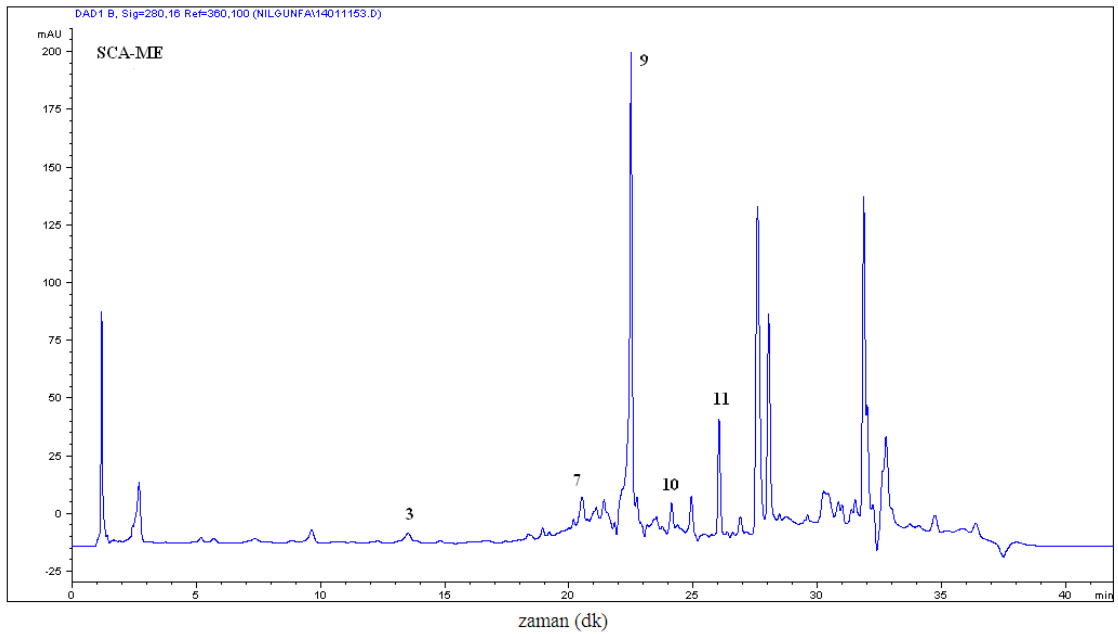
Bitkilerin tüm kısımlarında bulunan polifenolik bileşikler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. En yaygın doğal fenolik antioksidanlar flavonoidler, kumarinler, antosiyaninler, proantosiyaninler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir. Bu yüzden, bitkisel preparatların ve ham drogların kalite kontrolünde ve tanınmasında fenolik içeriklerinin saptanması oldukça önemlidir (Handique and Baruah, 2002).

Tez kapsamında çalışılan üç *Salvia* türünün topraküstü kısımlarının fenolik asitleri daha önce geliştirilen ters-faz YBSK yöntemiyle miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir (Öztürk, vd., 2007). Agilent 1100 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) Cihazı kullanılarak analizi gerçekleştirilen bitki ekstratlarında bulunan fenolik asitlerin gallik (GA), protokateşik (proto-KA), *p*-hidroksi benzoik (*p*-OH-BA), vanillik (VA), kafeik (KA), klorojenik (KLA), sirinjik (SA), *p*-kumarik (*p*-KU), *o*-kumarik (*o*-KU), ferulik (FA) ve *tr*-sinnamik asit (*tr*-SİN)) ayırımı C₁₈ kolonda deneysel kısımda verildiği koşullarda gerçekleştirilmiştir. Ayırımın tekrarlanabilirliğini sağlamak amacıyla İç Standart (internal standart) yöntemi kullanılmış, sunulan analiz koşullarında ilgili fenolik asitlerle birlikte sisteme iç standart (IS) olarak propilparaben eklenmiş ve IS'nin karışıklığa neden olmayan bir yerde belirdiği gözlenmiştir.

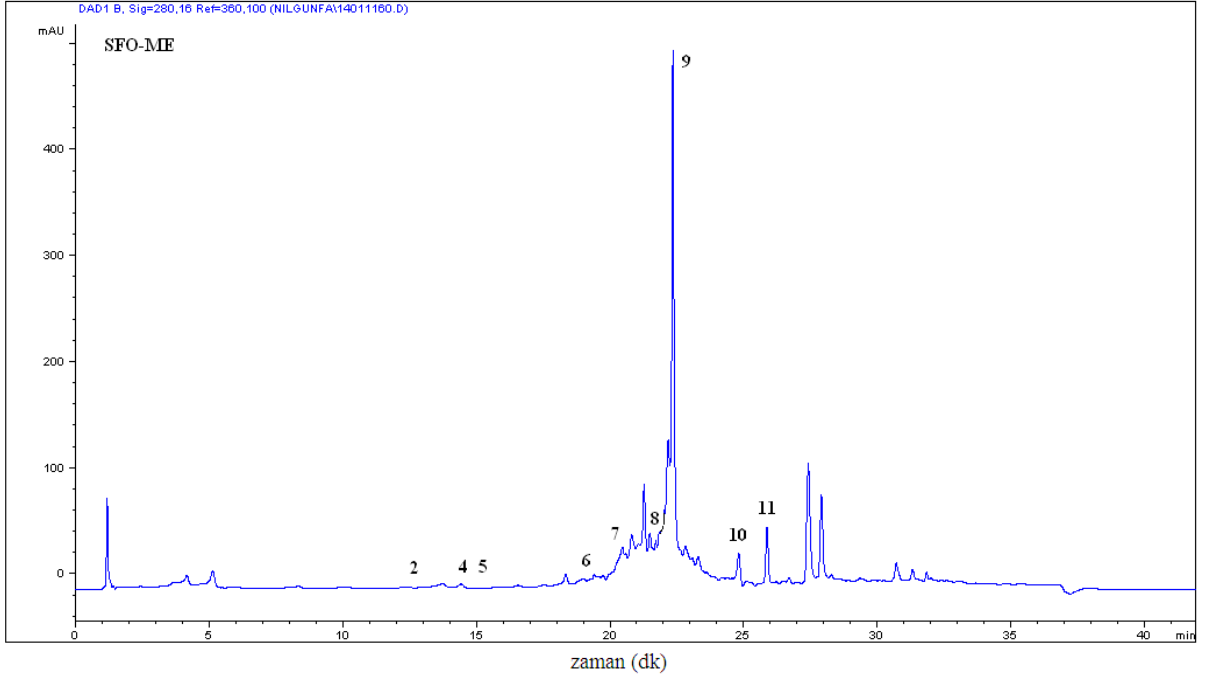
Değerlendirmelerde, pik alanının göç zamanına oranı olan pik normalizasyon (PN) değerleri, pik alanı değerlerine göre daha tekrarlanabilir bulunduğu için, kromatogram verileri Microsoft Excel[®] programına aktarılarak PN değerleri, ardından maddenin PN'sinin, iç standardın (propilparaben) PN'sine oranı olan PN oranları hesaplanmıştır. Çalışılan *Salvia* türlerinden hazırlanan metanol ve etilasetat ekstratlarının kromatogramları Şekil 4.20, 4.21, 4.22, bu kromatogramların integrasyonundan yararlanılarak hesaplanan fenolik asit miktarları (mg/g bitki) da Çizelge 4.3 de verilmektedir.



Şekil 4.20 *S. cryphantha* – ME ekstresine ait YBSK kromatogramı; p-OHBA (1), VA (2), KA (3), KJA (4), SA (5), p-KU (6), FA (7), RA (9), tr-SİN (10), IS (11).



Şekil 4.21 *S. candidissima* subs. *occidentalis*– ME ekstresine ait YBSK kromatogramı; (3), FA (7), RA (9), tr-SİN (10), IS (11)



Şekil 4.22 *S. forskahlei*- ME ekstresine ait YBSK kromatogramı; p-OHBA (1), VA (2), KJA (4), SA (5), p-KU (6), FA (7), o-KU (8), RA (9), tr-SİN (10), IS (11).

Çizelge 4.3 Çalışılan üç *Salvia* türüne ait ekstrelerde tesbit edilen fenolik asitlerin miktarları (mg/g bitki)

Ekstreler	Fenolik Asit Miktarları									
	(mg/g bitki)									
	p-hid-BA	VA	KA	KJA	SA	p-KU	FA	o-KU	RA	tr-SİN
SCR-EA	1.60	1.38						2.09	6.78	1.42
SCR-ME	8.28	7.63	0.98	3.42		2.13	4.95		136.13	2.19
SCA-EA		0.52			0.96	0.74	2.00		3.40	0.81
SCA-ME		2.77					3.67		45.62	3.77
SFO-EA							0.58		1.90	0.68
SFO-ME		1.20		1.48	0.45	0.50	1.04	1.26	30.53	0.68

YBSK sonuçlarına göre çalışılan üç *Salvia* türünde de major fenolik asit rosmarinik asit olarak tesbit edilmiştir. Ayrıca metanol ekstralarında rosmarinik asit miktarı her üç tür de de etil asetat ekstralarına oranla daha fazla bulunmuştur. En fazla rosmarinik asit içeren tür *S. cryptantha* olup, onu *S. candidissima* subs. *occidentalis* ve *S. forskahlei* izlemektedir. Ekstrelerde bulunan diğer fenolik asitler ise VA, KJA, p-KU, FA ve tr-SİN olarak sıralanmaktadır.

4.1.4. DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini

Genel olarak, kimyasal maddelerin elektron verme yetenekleri lipid oksidasyona karşı gösterdikleri antioksidan aktivitelerinin sonucudur. DPPH serbest radikal süpürücü etki tayini; hidrojen verme potansiyelinin araştırılması için en kısa, en ucuz yöntemlerden birisidir (Kikuzaki, et al., 2002).

Bu yöntemle *S.cryptantha*, *S. candidissima* subsp. *occidentalis* ve *S. forskahlei*'nin toprak üstü kısımlarının metanollü ve etil asetatlı ekstralarının anti-radikal aktiviteleri DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali üzerinden Sanchez-Moreno ve arkadaşları (1998) tarafından modifiye edilmiş yöntem kullanılarak tayin edilmiştir. Sonuçlar test edilen konsantrasyonlarda % inhibisyon olarak değerlendirilmiş ve sentetik antioksidan BHT'nin değerleriyle karşılaştırılmıştır. Örneklerin serbest radikal süpürücü etkileri (% inhibisyon) Çizelge 4.4 verilmiştir.

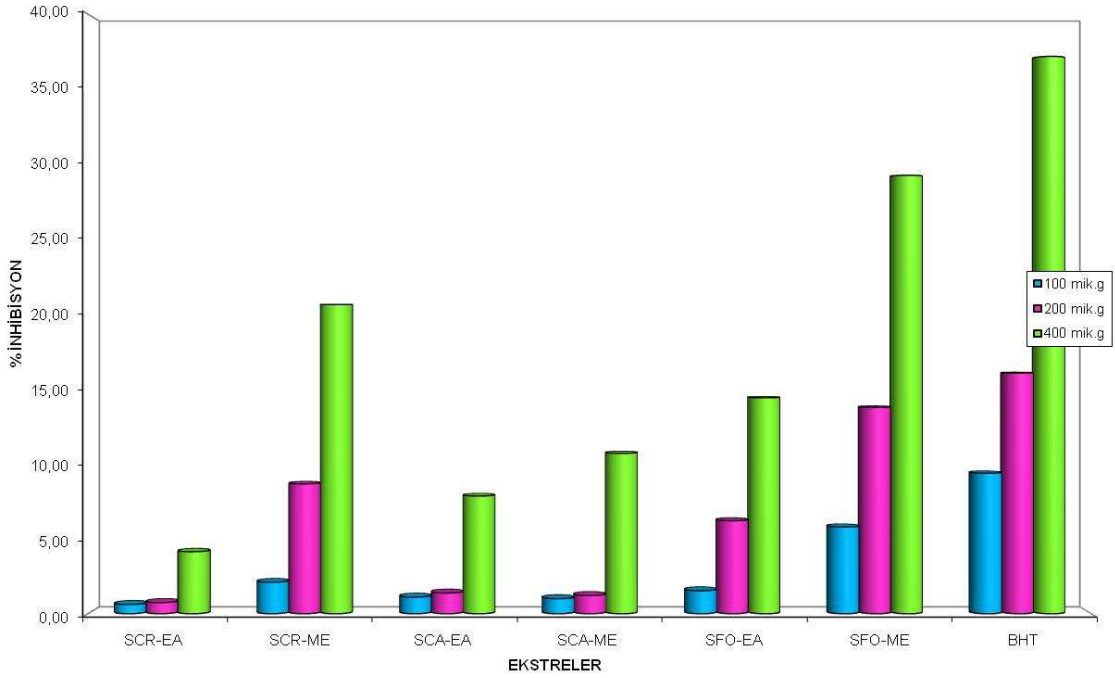
Çizelge 4.4 *Salvia* türlerinden elde edilen ekstrelerin % İnhibisyon değerleri

Ekstreler	% İnhibisyon		
	9.6×10^{-4} *	1.8×10^{-3} *	3.6×10^{-3} *
<i>S. crypthantha</i> -EA	0.61	0.74	4.14 ±0.29
<i>S. crypthantha</i> -ME	2.10	8.67	20.63±1.65
<i>S. candidisima</i> subs. <i>occidentalis</i> -EA	1.11	1.38	7.85±1.36
<i>S. candidisima</i> subs. <i>occidentalis</i> -ME	1.00	1.21	10.70±0.26
<i>S. forskahlei</i> -EA	1.54	6.21	14.41±1.07
<i>S. forskahlei</i> -ME	5.79	13.77	29.25±1.22
BHT	9.37	16.06	37.18±1.82

Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma (n=3) olarak verilmiştir.

* ilave edilen ekstre/BHT miktarı (mg/ml)

DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayininde; test edilen madde konsantrasyonu ile antioksidan aktivitenin doğru orantılı olduğu görülmektedir. Ekstrelerin % İnhibisyon değerleri sırasıyla, SCR-EA < SCA-EA < SCA- ME < SFO-EA < SCR-ME < SFO-ME olarak saptanmıştır.



Şekil 4.23 *Salvia* türlerinden elde edilen ekstrelerin üç farklı konsantrasyonda % inhibisyon olarak serbest radikal süpürücü etkileri

4.1.5. β -karoten-linoleik Asit Sisteminde Antioksidan Aktivite Tayini

Bu yöntem, emülsiyondaki linoleik asit oksidasyonu sonucu oluşan radikallerin β -karoten'le reaksiyonundan oluşan sarı rengin zaman içerisinde kaybolmasına dayanmaktadır. Antioksidan madde varlığı rengin açılmasını önlemektedir (Kulisic ve ark., 2004). β -karoten-linoleik asit sisteminde test süresi olan 3 saat boyunca β -karotenin solmasının önlenmesi yüksek potansiyel antioksidan aktivitenin varlığını göstermektedir.

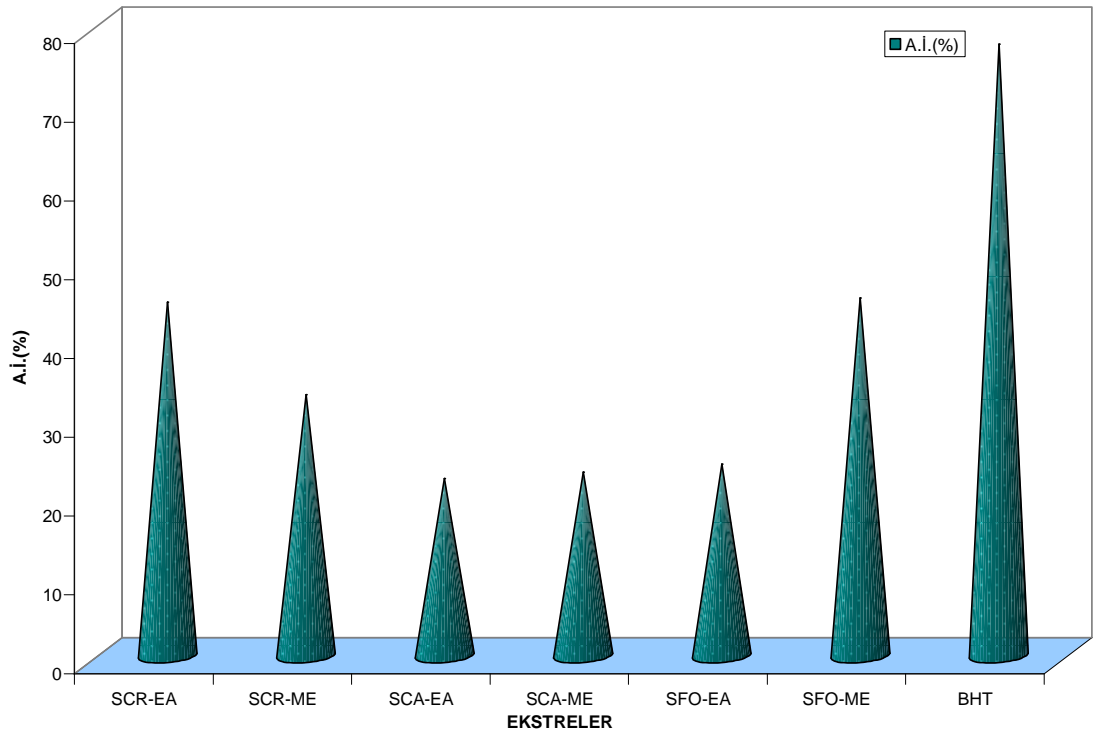
Bu yöntemle *S. cryptantha*, *S. candidissima* subsp. *occidentalis* ve *S. forskahlei*'nin toprak üstü kısımlarının metanollü ve etil asetatlı ekstralarının antioksidan aktiviteleri ölçülmüş ve sonuçlar sentetik antioksidan olan BHT'nin sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.5 *Salvia* ekstralarının β-karoten-linoleik asit sisteminde % antioksidan aktivite değerleri

Ekstreler	AA (%) ¹
SCR-EA	44.86
SCR-ME	33.12
SCA-EA	22.49
SCA-ME	23.26
SFO-EA	24.31
SFO-ME	45.37
BHT	77.58

$$^1\% \text{ İnhibisyon} = 100 \times [1 - (A_s^0 - A_s^{180}) / (A_k^0 - A_k^{180})]$$

Çalışılan üç *Salvia* türüne ait ekstralar β-karoten-linoleik asit sistemi sisteminde test edilmiş ve çözücüye bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. *S. forskahlei* -ME ve *S. cryptantha*-EA ekstralarında sentetik antioksidan BHT ile karşılaştırıldığında belirgin bir aktivite tespit edilmiştir. Çalışılan ekstralarda saptanmış % antioksidan aktivite değerleri SCA-EA < SCA-ME < SFO-EA < SCR-ME < SCR-EA < SFO-ME < BHT olarak artmaktadır.



Şekil 4.24 β -karoten-linoleik asit sisteminde *Salvia* türlerine ait ekstrelerin antioksidan aktiviteleri

5. TARTIŞMA

5.1. Anatomik Sonuçlar

Anatomik gözlemlerden kökten alınan enine kesitlerde çalışılan bitkiler çok yıllık olduğundan ve sekonder büyümenin sonucu olarak korteks daralmış ve periderm oluşmuştur. Bu durum ilgili literatürlerde de vurgulanmaktadır (Metcalf and Chalk 1950, Esau, 1967, Fahn, 1967, Özörgücü vd., 1991, Özörgücü, 1993, Yentür, 1995). Vasküler demeti halka şeklinde çevreleyen sklerankima bitkiyi dış etkilere karşı korumakta, dayanıklılık ve direnç kazandırmaktadır (Özörgücü vd., 1991). Öz parankimatik elemanlar ile doludur.

Gövde tipik dört köşeli olup, epidermisten bol miktarda örtü ve salgı tüyü çıkmaktadır. Epidermisten altında 5–6 hücre sıralı korteks yer almaktadır (Fahn, 1967). Tipik dört köşeli olan gövdenin köşelerinde kalın çeperli kollenkimatik hücrelerin bulunması da Lamiaceae familyasının ayırdedici bir özelliğidir (Metcalf and Chalk, 1950; Fahn, 1967; Özörgücü, 1993; Baran and Özdemir, 2006; Kaya, et al., 2007; Kahraman, et al., 2009b). Kollenkimanın altında yer yer sklerankimatik hücre kümeleri bulunmaktadır. Bu da çalışılan türlerin gövdesine dış etkilere karşı direnç ve destek sağlamaktadır. Sklerankima hücre kümeleri ile ksilem arasında güçlülkle seçilebilen floem bulunmaktadır. Ksilemi oluşturan trake, trakeidler, parankima hücreleri ve bunların arasında adacıklar halinde yer yer sklerankima kümeleri vardır. Buradaki sklerankimada gövdeye dış etkilere karşı destek sağlamaktadır. En içte ise geniş bir yer kaplayan parankimatik öz yer almaktadır.

Yaprak anatomisinde en dışta kalın bir kutikula ve altında bir sıra epidermis vardır. Epidermisten kalın bir kutikula ile kaplı olması bitkinin su kaybını önlemeye yöneliktir ve bu durum kserofitik bitkilere özgü bir özelliktir (Yentür, 1995; Kahraman, et al.,

2010a; Kahraman, et al., 2010b; Kahraman, et al., 2010c). Epidermis hücreleri farklı büyüklükte görülmekte olup alt epidermis hücreleri daha iridir. Mezofil dokusunda palizat ve sünger parankiması hücreleri şekilsel olarak iyi ayırt edilememektedir. Yapraklar bifasialdır. Bitkilerin yaprağının hem alt hem de üst yüzeyi bol miktarda örtü ve salgı tüyleri ile kaplıdır. Yaprağın her iki yüzeyinde de amarillis ve anizositik tipte stomalar vardır. Yani yaprak amfistomatiktir. Yaprağın orta damarındaki iletim demetinde floem dışı 1-2 hücre sırası ile ksilemin üzerinde yer almakta, ksilem içte ve daha geniş yer kaplamaktadır. Kollateral tipteki iletim demetlerinin yer aldığı orta damarda ksilem bölgesi oldukça fazla yer kaplamaktadır. İletim demeti parankimatik hücreden oluşan bir kınla çevrilmiştir. Bu durum Özdemir ve Şenel (1999; 2001), Özdemir ve Altan (2005), Kahraman vd. (2009c), Koyuncu vd. (2009), Bagherpour vd. (2010), Eşiz Dereboylu, vd. (2010) ile de uygunluk göstermektedir.

5.2. Palinolojik Sonuçlar

İncelenen *Salvia* türlerinin polenlerinin hegzakolpat tipte ve suboblat-subprolat şekilli oldukları ortaya konulmuştur. Ayrıca ekzin yapılarına bakıldığında ise polenlerin tektat-retikülat-perforat/tektat-biretikülat olduğu belirlenmiştir. Apertür özellikleri ve ekzin yapısının *Salvia* türlerinin filogenetik ilişkilerini belirlemek için esansiyel kriterleri arasında olduğu literatürde rapor edilmiştir (Kuprinova, 1967; Cronquist, 1968; Walker, 1974a-b; Takhtajan, 1980). Bu durum, taksonomide polen yapılarının geçerli bir morfolojik karaktere sahip olduğu iddiasıyla tamamlıyor gibi görünmektedir (Cronquist, 1968; Celenk, et al., 2008; Koyuncu, et al., 2009; Bagherpour, et al., 2010; Kahraman, et al., 2010a; Kahraman, et al., 2010b; Kahraman, et al., 2010c; Özler, et al., 2011).

İncelenen taksonların kolpusları uzun ve küt olarak sonlanır. Kolpus mebranları granülatır. Tüm taksonlarda granüllü bir operkulüm gözlemlendi. Ekzin tektat (Walker, 1974) ve muriler simplikolumellattır. Bazı araştırmacılara göre, simplikolumella ve

inoperkulat polenler çoğu ginobazik situluslu Lamiacea üyelerinde pleziomorfik karakterdedir(Hamzaoğlu, et al., 2005; Moon, et al.,2008). Çalışılan taksonların üç ayrı seksiyona ait olması sebebiyle de üç temel yapı tipi bulunmuştur. Bunlar; retikülat-perforat, retikülat- granülat ve biretikülat tipleridir. Bu durum, Henderson, et al. (1968); Celenk, et al. (2008); Hassan, et al. (2009) ve Özler et al. (2011) ile de uygunluk göstermektedir. Bu karakterler filogenetik analizler için kullanılabilir.

Polen morfolojik karakterlerdeki varyasyon, ekzin yapısı, perfarasyon yapısı, her ana lümendeki sekonder lumina sayısı, varlığı, kolpus membran ornemantasyonundaki deliklerin varlığı, filogenetik yapı için belli bir değere sahip gibi görünmektedir. Polen karakterlerinin belirlenmesi taksonomik çalışmalar için önem taşımaktadır (Özler et al., 2011).

Polen morfolojisi taksonları birbirinden ayırmak için güçlü kanıtlar sağlar. Polen tanecikleri kolpus membran ornemantasyonunda deliklere sahiptir. Polen şekli ve boyutundaki farklarla birbirinden ayırtedilirler. İncelenen bu taksonların sistematik özelliklerinin yanı sıra polen morfolojilerinin de ayırt edici bir kriter olabileceğini sanıyoruz. Bu çalışma aynı zamanda ileride çalışılması düşünülen taksonlar arasındaki filogenetik ilişkiye de ışık tutacaktır.

Sonuçta polenlerin morfolojik yapıları taksonların belirlenmesinde ayırt edici özelliklere sahip olduğundan sistematik çalışmalar için polen çalışmalarının yararlı olacağı kanaatini taşımaktayız.

5.3. Biyolojik Aktivite Sonuçları

Tez kapsamında, son yıllarda özellikle gıda endüstrisinde doğal kaynaklı antioksidan maddelerin önem kazandığını ve insan sağlığı açısından daha kullanışlı ve zararsız olduğu göz önüne alınarak, üç *Salvia* türünün (*S.cryptantha*, *S. candidissima*

subsp. *occidentalis* ve *S. forskahlei*'nin) toprak üstü kısımlarından elde edilen farklı polaritedeki ekstrelerin toplam fenolik madde bileşimi, YBSK ile fenolik asit içeriği belirlenerek ve DPPH üzerinden anti-radikal, β -karoten linoleik asit sistemi ile antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiş ve sonuçlar sentetik antioksidan BHT'nin sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları için açık havada ve gölgede kurutulduktan sonra topraküstü kısımları petrol eteri, etilasetat ve metanol ile ekstre edilmiş ve yoğunlaştırılmıştır. Hazırlanan ekstreler verimlerine göre SFO-ME>SCR-ME>SCA-EA>SCR-EA>SFO-EA>SCA-ME şeklinde sıralanmaktadır.

Elde edilen ekstrelerin Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak gallik asit üzerinden toplam fenolik madde miktarları tayin edilmiş ve antioksidan aktivite ile ilişkileri yorumlanmıştır. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları SFO-ME>SCR-ME>SCA-ME>SCR-EA>SFO-ME>SCA-EA şeklinde sıralanmıştır. En yüksek toplam fenolik madde içeriği SFO-ME ekstresinde (111.42 mg GAE/g Ekstre) gözlenmiştir.

Bitkisel materyallerin taşıdığı fenolik bileşikler doğal antioksidanlar olup kuvvetli antioksidan özellik gösterdikleri pek çok kez rapor edilmiştir (Shahidi, 1995; Shahidi, 2000; Sanchez-Moreno et al., 1998; Sanchez-Moreno et al. 1999;). Elde ettiğimiz bulgular bu verileri destekler niteliktedir. En yüksek radikal süpürücü aktivite gösteren SFO-ME'nin toplam fenolik madde içeriğinin en fazla olması bu iki parametre arasındaki korelasyonu göstermektedir (Tepe, et al., 2005; Sezer, et al., 2010). Değerler sentetik antioksidan BHT'nin % inhibisyon değerlerinden düşüktür.

Çalışmada DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayininde; test edilen madde konsantrasyonu ile antioksidan aktivitenin doğru orantılı olduğu görülmektedir. Ekstrelerin % İnhibisyon değerleri sırasıyla, SCR-EA < SCA-EA < SCA-ME < SFO-

EA < SCR-ME < SFO-ME olarak saptanmıştır. BHT'ye en yakın değeri SFO-ME göstermişti.

β -karoten-linoleik asit sisteminde elde edilen antioksidan aktivite değerleri çalışılan ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarları ile paralellik göstermektedir. En yüksek fenolik madde içeren SFO-ME ve SCR-EA ekstrelerinin β -karoten-linoleik asit sisteminde sentetik antioksidan BHT kadar olmasa da belirgin bir aktivite gösterdikleri görülmüştür.

Hem DPPH sisteminde, hemde β -karoten-linoleik asit sisteminde en yüksek antioksidan aktiviteyi gösteren ekstre SFO-ME ekstresidir.

SFO-ME ekstresinin ters faz YBSK ile yapılan kromatografik tayininde rosmarinik, klorojenik, vanillik, ferulik, tr-sinnamik asit gibi fenolik asitleri taşıyor olması ve diğer ekstrelerle göre yüksek toplam fenolik madde (111.42 mg/g GAE) içermesi yüksek antioksidan aktivite bulgularımızı desteklemektedir. Çünkü çok sayıda OH grubu taşıyan polifenolik bileşikler güçlü antioksidan aktiviteye sahiptirler, bu bileşikler taşıyan ekstrelerde güçlü antioksidan aktivite göstermektedirler (Kan, et. al., 2007; Matkowski, 2008).

Bitkisel materyallerin antioksidan aktivitelerini belirlemek için çok çeşitli yöntemler vardır. Bu yöntemler farklı deneysel koşullar altında ve farklı prensiplerle çalışmaktadırlar. Bu sebeple antioksidan kapasiteyi belirleyebilmek için aynı anda farklı birkaç yöntemi karşılaştırmalı olarak değerlendirmekte fayda vardır (Sanchez-Moreno et al. 1999; Tepe, et al., 2005)

Yaptığımız kaynak taramalarında *Salvia* türlerinin biyolojik aktivitelerinden sorumlu olan bileşenlerin genel olarak polifenolik maddeler olduğu görülmektedir. Kan

ve arkadaşları Anadolu'da yetişen 12 *Salvia* türünün çiçek, yaprak ve köklerinde yaptıkları fitokimyasal çalışmada topraküstü kısımlara ait ekstrelerde rosmarinik, kafeik, klorojenik ve gallik asit varlığını tesbit etmiş ve antioksidan aktivite çalışmalarında da *S. halophila* ve *S. syriaca* türleri çalışılan diğer türlere göre daha aktif bulunmuştur (Kan, et. al., 2007). Guy ve arkadaşları Güney Afrikada yetişen 16 *Salvia* türünün antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitesini ve fenolik maddelerini incelemiş, rosmarinik asit, karnosik asit, karnosol ve oleanolik asit tesbit edilen bitkilerden *S. schlechteri* türü diğerlerinden daha aktif bulunmuştur (Guy, 2010). *S. virgata*, *S. staminea* ve *S. verbenaca* türlerinin metanol ekstrelerinin antioksidan aktivitelerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise en aktif tür aynı zamanda rosmarinik asitte içeren *S. verbenaca* olarak bulunmuştur (Tepe, 2008). Farklı *Salvia* türleri ile yapılan antioksidan aktivite kaynaklı çalışmaları çeşitlendirmek mümkün, ancak tez konumuzu oluşturan *Salvia* türlerinin antioksidan, antiradikal aktiviteleri ile polifenolik bileşikleri konusunda çalışmaya rastlanmaması, söz konusu türleri bizim açımızdan daha cazip hale getirmiştir.

Yapılan anatomik, polen morfolojisi, kimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarından önemli bulgular elde edilmiş olup türlerin daha iyi tanınmasına ve daha sonraki araştırmalara katkı sağlayacağı inancını taşımaktayız.

6. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Arslan İ., 2006, Yüksek Lisans Tezi, Denizli ve çevresinde doğal yayılış gösteren bazı adaçayı bitki türlerinin (*Salvia fruticosa* miller., *S. cedronella* Boiss. ve *S. chrysophylla* Stapf.) antistafilokokkal etkilerinin araştırılması, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 51.
- Aytuğ, B., 1967, Polen morfolojisi ve Türkiye'nin önemli Gymnospermleri üzerinde palinolojik araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Orman Fakültesi, İstanbul.
- Aytuğ, B., Aykut, S., Merev, N., Edis, G., 1971, İstanbul çevresi bitkilerinin polen atlası, İ. Ü. Yayın No:1650, O. F. Yayın no:174.
- Bagherpour, S., Celep, F., Doğan, M. ve Kahraman, A., 2009, Rediscovery of *Salvia freynlana* Born. (Lamiaceae) A critically endangered species in Turkey, Bangladesh J. Bot. 38 (2), 189–191.
- Bagherpour, S., Kahraman, A., Doğan, M., Celep, F., Başer, B.ve Pehlivan, S., 2010, The anatomical and micromorphological characteristics of *Salvia vermifolia* (Section Aethiopsis Benthams, Lamiaceae) from Central Anatolia, Turkey, Central European Journal of Biology, 5/6, 872-879.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S., 2006, Phenolic compounds in plant and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses, Food Chem, 99, 191-203.
- Baran, P. ve Özdemir, C., 2006, The morphological and anatomical characters of *Salvia napifolia* Jacq. in Turkey, Bangladesh J. Bot. 35(1), 77–84.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Baytop, T., Türkiye’de Bitkilerle Tedavi, 1984, İ.Ü., yayınları, No:3255, İstanbul, 142, 480.

Beckman, K.B. and Ames, B.N., 1998, The free radical theory of Aging Matures, *Physiol. Rev.*, 78, 547-581.

Behçet, L. and Avlamaz, D., 2009, A new record for Turkey: *Salvia aristata* Aucher ex Benth.(Lamiaceae), *Turk J. Bot.* 33, 61–63.

Cakir, A., Mavi, A., Yildirim, A., Duru, M.E., Harmandar, M., and Kazaz, C., 2003, Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation, *J Ethnopharm* 87, 73–83.

Celenk, S., Dirmenci T., Malyer H.and Bıcakcı A., 2008, A palynological study of the genus *Nepeta* L. (Lamiaceae), *Plant Syst Evol* 276, 105–123.

Celep, F. and Doğan, M., 2010, *Salvia ekimiana*, (Lamiaceae) a new species from Turkey, *Ann Bot Fennici* 47, 63–66.

Celep, F., Doğan, M. and Kahraman, A., 2010, The Mediterranean and the Aegean geographic regions Re-evaluated conservation status of *Salvia* (sage) in Turkey, *Turk J Bot* 34, 201-214

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Charpin, J., Surinyach, R. and Frankland, A.W., 1974, Atlas of European allergenic pollens, Sandoz Editions, Paris, pp. 20–23.

Cronquist, A., 1968, The evolution and classification of the flowering plants, Thomas Nelson Ltd. Edinburgh, London.

Davis, P.H., 1982-1988, Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol 7, 10, Edinburg University Press, 349–381 pp.

Doğan, M. ve Durana, A., 2009, New Record for the Flora of Turkey: *Salvia viscosa* Jacq. (Labiatae), Türk J. Bot. 33, 57–60.

Dönmez, A., 2001, A new Turkish species of *Salvia* L. (Lamiaceae), Botanical Journal of the Linnean Society, 137, 413-416.

Erdtman, G., 1966, Pollen morphology and plant taxonomy, angiospermae, Hafner, New York.

Erdtman, G., 1969, Handbook of palynology morphology, taxonomy, ecology. An Introduction to the Study of Pollen Grains and Spores, Hafner Pub. New York.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Erdtman, G., Roger, P., Wodehouse, R.P, 1954, An introduction to pollen analysis, Waltham, Mass., USA, Published by the Chronica Botanica Company. Stockholm, Almquist and Wiksell, p. 239

Esau, K., 1967, Plant anatomy. John Willey & Sons, Inc. New York. Sayfa no

Eşiz-Dereboylu, A., Şengonca, N., Güvensen A. ve Gücel, S., 2010, Anatomical and palynological characteristics of *Salvia willeana* (Holmboe) Hedge and *Salvia veneris* Hedge endemic to Cyprus, African Journal of Biotechnology, Vol. 9(14), 2076–2088.

Faegri, K. and Iversen, J. 1975, Textbook of pollen analysis. 3rd edition. Munksgaard, Copenhagen. 295 pp.

Fahn, A., 1967, Plant anatomy, Pergamon Press, New York.

Guy P.P. Kamatou, Alvaro M. Viljoen, Paul Steenkamp, 2010, Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species, Food Chem 119, 684–688.

Güner A., Özhatay, N., Ekim, T. and Başer KHC(eds), 2000, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburg Uni, Vol. 11, 92-94.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Halliwell, B., 2002, Food-Derived Antioxidants: How to Evaluate Their Importance in Food and In Vivo, Handbook of Antioxidants, 2nd Ed., Ed. by Cadenas, E. and Packer, L., University of Southern California School of Pharmacy, USA.

Hamzoğlu, E., Duran, A. and Münevver, P., N., 2005, *Salvia anatolica* (Lamiaceae) a new species from East Anatolia, Turkey. Ann Bot. Fennici, 42, 215–220

Hedge, I. C., 1960, Studies in Earth Mediterranean Species of *Salvia* IV, Males Roy. Bot Grad Edinb. 23(2), 163–172.

İlçim, A., Celep, F. and Doğan, M., 2009, *Salvia marashica* (Lamiaceae) a new species from Turkey, Ann Bot. Fennici, 46, 75–79.

Handique, J.G. and Baruah, J. B. (2002) Polyphenolic Compounds, An Overview (Review) Reactive and Functional Polymers, 52, 163–188.

Kahraman, A., Celep, F. and Doğan, M., 2009a, A new record for the flora of Turkey: *Salvia macrosiphon* Boiss. (Labiatae), Turk J Bot 33, 53–55.

Kahraman A, Celep F. and Doğan M., 2009b, Morphology, anatomy and palynology of *Salvia indica* L. (Labiatae), World Appl Sci J, 6, 289–296.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kahraman A., Celep F., Doğan M., 2009c, Comparative morphology, anatomy and palynology of two *Salvia* L. species (Lamiaceae) and their taxonomic implications, *Bangladesh J Plant Taxon*, 16, 73-82.

Kahraman, A., Celep, F. ve Doğan, M., 2010a, Morphology, anatomy, palynology and nutlet micromorphology of *Salvia macrochlamys* (Labiatae) in Turkey, *Section Botany*, 65(2), 219-227.

Kahraman A., Celep F., Dogan M., 2010b, Anatomy, trichome morphology and palynology of *Salvia chrysophylla* Stapf (Lamiaceae), *S Afr J Bot*, 76, 187-195.

Kahraman A., Dogan M., Celep F., Akaydın A., Koyuncu M., 2010c, Morphology, anatomy, palynology and nutlet micromorphology of the rediscovered Turkish endemic *Salvia ballsiana* (Lamiaceae) and their taxonomic implications, *Nord J Bot*, 28, 91-99.

Kahraman, A., Celep, F., Doğan and Guerin G.R., 2010d, Mericarp morphology and its systematic implications for the genus *Salvia* L. section *Hymenospace* Benth. (Lamiaceae) in Turkey, *Springer-Verlag*, 292, 33-39.

Kan Y., Gökbulut A., Kartal M., Konuklugil B., Yılmaz G., 2007, Development and Validation of a LC Method for the Analysis of Phenolic Acids in Turkish *Salvia* Species, *Chromatographia Supp*, 66, 147–152.

Kapp, R. O. 1968, How to know pollen and spores, WM. C. Brown Company, 31-33.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kaya, A., Goger, F. and Baser, KHC., 2007, Morphological, anatomical and palynological characteristics of *Salvia halophila* endemic to Turkey, Nordic J Bot, 25, 351–358.

Erik S., ve Tarıkahya B., 2004, Türkiye Florası Üzerine, Kebikeç; İnsan bilimleri için kaynak araştırmaları dergisi, 17, 139, 334.

Koleva, I.I., van Beek, R.A., Linssen, J.P.H., de Groot, A. and Evstatieva, L.N., 2002, Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparison Study on Three Testing Methods, Phytochem Anal., 13, 8-17.

Koyuncu, O., Potoğlu Erkara, İ. and Ardic, M., 2009, Anatomy and palynology of *Salvia verticillata* Subsp. *verticillata* L. (Lamiaceae), a red-listed species in Turkey Bangladesh J Bot 38(2), 197–200.

Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. And Milos, M., 2004, Use of Different Methods for Testing Antioxidative Activity of Oregano Essential Oils, Food Chem., 85, 633-640.

Kuprianova A., 1967, Apertures of pollen grains and their evolution in Angiosperms, Paleobot Playnology, 3, 73–80.

Kuprianova, L.A., 1965, The palynology of The Amentiferae, The Academy of Sciences of the USSR, Moscow, 214.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Matkowski A., Zielin´ska S., Oszmian´ski J., Zarawska E., 2008, Antioxidant activity of extracts from leaves and roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *S. przewalskii* Maxim., and *S. verticillata* L. *Bioresource Technol*, 99, 7892–7896.
- Metcalf, C. R., Chalk, L., 1950, *Anatomy of the Dicotyledons 2*, Oxford University Press, London. 276 pp.
- Molynex, P., 2004, The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarın J Sci Technol*, 26(2), 211-219.
- Moon, H.K., Vinckier, S., Smets, E., Huysmans, S., 2008, Palynological evolutionary trends within the tribe Mentheae with special emphasis on subtribe Menthinae (Nepetoideae: Lamiaceae), *Plant Syst. Evol.* 275, 93–108.
- Moore, P.D., Webb, J.A., Collinson, M.E., 1991, *Pollen analysis*, 2nd ed., Oxford, Blackwell Scientific Publications, 216 .
- Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Hunez, M.J. and PARAJO, J.C., 2001, Natural Antioxidants from Residual Sources, *Food Chem.*, 72, 145-171.
- Özdemir, C., 1996, Yüksek Lisans Tezi, Bazı *Salvia* L. (Lamiaceae) türleri üzerinde morfolojik, anatomik ve karyolojik bir araştırma, 19 Mayıs Üniversitesi Fen-Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 67.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Özdemir, C. and Senel, G., 2001, The morphological anatomical and karyological properties of *Salvia forskahlei* L. (Lamiaceae) in Turkey. In: Maheshwari JK, Jain AP ed(s) 297–313.
- Özdemir, C. and Altan, Y., 2005, Morphological and anatomical characteristics of endemic *Salvia huberi* Hedge in Turkey, *Bangladesh J. Bot.*, 34(2), 95-100.
- Özler, H., Pehlivan, S., Kahraman, A., Doğan, M., Celep, F., Başer, B., Yavru, A., Bagherpour, S., 2011, Pollen morphology of the genus *Salvia* L. (Lamiaceae) in Turkey, *Flora*, 206, 316–327.
- Özörgücü, B., 1993, Bitki Morfolojisi ve Anatomisine Giriş, Ege Üniv. Fen Fak. Kitapları Serisi, No: 136, İzmir.
- Özörgücü, B., Gemici, Y. ve Türkan, İ., 1991, Karşılaştırmalı Bitki Anatomisi, Ege Üniv. Fen Fak. Yay. No: 129, İzmir.
- Öztürk N, Tunçel M and Tunçel NB, 2007, Determination of phenolic acids by a modified HPLC: Its application to various plant materials, *J Liq Chromatogr R T* 30, 587–596.
- Öztürk., N, Tunalier, Z., Koşar, M. ve Başer, K.H.C., 2002, *Petroselinum crispum*, *Anethum graveolens* ve *Eruca sativa* 'nın antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi, Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir , Eds. K.H.C.Başer ve N.Kırimer, Web'de yayın tarihi: Haziran 2004, (ISBN 975–94077–2–8), 376–384.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Pehlivan, S., 1995, Türkiye'nin Alerjen Polenleri Atlası, Ünal Offset Matbaacılık Sanayi ve Tic. Ltd.Şti., Ankara.

Pokrovskaja, I.M., 1958, Analyse Pollinique, Publie avec l'aide du Centre National de la Recherche Scientifique, Moscou, Numero, 24, 398-431.

Polat, R., 2004, Yüksek Lisans Tezi Balıkesir yöresinde yayılış gösteren *Salvia L.* türleri üzerinde anatomik, morfolojik ve ekolojik araştırmalar, Balıkesir Üniversitesi Fen-Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.

Rodriguez-Delgado, M.A., Malovana, S., Perez, J.P., Borges, T., Garcia-Montelonga, F.J., 2001, Separation of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography with absorbance and fluorimetric detection, J Chromatog A, 912, 249-261.

Samman, S., Wall, P.M.L. and Cook, N.C., 1998, Flavonoids and Coronary Heart Disease: Dietary Perspectives, Flavonoids in Health and Disease, Ed. by Rice-Evans, C.A. and Packer, L., Marcell Decker Inc., USA.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. and Saura-Calixto, F., 1998, A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols, J Sci Food Agric, 76, 270-276.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. and Saura-Calixto, F., 1999, Free Radical Scavenging Capacity of Selected Red, Rose and White Wines, J. Sci. Food Agric, 79, 1301–1304.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Seçmen, Ö., 1995, Tohumlu Bitkiler Sistematigi, Ege Üniversitesi Bornova İzmir.

Sezer Senol F., Orhan I., Celep F., Kahraman A., Doğan M., Yılmaz G., Sener B., 2010, Survey of 55 Turkish *Salvia* taxa for their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities, Food Chem, 120, 34–43.

Shahidi, F. and Naczk, M., 1995. Food Phenolics, A Technomic Publication, USA.

Shahidi, F., 2000, Antioxidants in foods and food antioxidants, Nahrung, 44, 158-163.

Takhtajan, A.L. 1980, Outline of the classification of flowering plants (*Magnoliophyta*). Bot. Rev, 46.

Tepe B., 2008, Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Benth) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey, Bioresource Technol, 99, 1584–1588.

Triantaphyllou, K., Blekas, G. and Boskou, D., 2001, antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae, Intern J Food Sci Nutr, 52, 313-317.

Tsao, R. ve Deng, Z., 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals, J Chromatogr B, 812, 85-99.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Walker, J.W. 1974a, Evolution of exine structure in the pollen of primitive Angiosperms, Amer J Bot 61, 891–902.

Walker, J.W. 1974b, Evolution in the pollen of primitive Angiosperms, Aperture. Amer. J. Bot, 61: 1112–1137.

Weerasinghe, M. and Shahidi, F., 1999, Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted Borage (*Borago officinalis* L.) Seeds, Food Chem, 67, 399-414.

Wodehouse, R. P. 1935, Pollen Grains. Mc. Grew Hill. New York. 574 pp.

Yentür, S., 1995, Bitki Anatomisi, İst. Üniv. Yay, İstanbul, No: 3803, 562ss.