T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

FARKLI KOŞULLARDA YETİŞTİRİLEN EKİNEZYA BİTKİSİNE AİT EKSTRAKTLARIN ANTİPROLİFERATİF VE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

MUSTAFA ÖÇAL

DOKTORA TEZİ

PROF. DR. YASEMİN ÇELİK ALTUNOĞLU

TEMMUZ - 2026
KASTAMONU

TEZ ONAYI

MUSTAFA ÖÇAL tarafından hazırlanan "**FARKLI KOŞULLARDA YETİŞTİRİLEN EKİNEZYA BİTKİSİNE AİT EKSTRAKTLARIN ANTİPROLİFERATİF VE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **07.07.2026** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Prof. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Enis Fuat TÜFEKCİ Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Gökhan ZENGİN Selçuk Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Ahmet UYSAL Selçuk Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Prof. Dr. Selahattin KAYMAKCI .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Mustafa ÖÇAL

ÖZET

DOKTORA TEZİ

FARKLI KOŞULLARDA YETİŞTİRİLEN EKİNEZYA BİTKİSİNE AİT EKSTRAKTLARIN ANTİPROLİFERATİF VE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

MUSTAFA ÖÇAL

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN:PROF. DR. YASEMİN ÇELİK ALTUNOĞLU

Bu tez çalışmasında, *Echinacea purpurea* bitkisine uygulanan kuraklık stresi ile farklı besleme ve büyüme düzenleyici uygulamaların, bitkiden elde edilen ekstraktların biyolojik aktiviteleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda bitkiler kontrollü şartlar altında yetiştirilmiş; kuraklık stresi farklı sulama seviyelerinde (%25, %50, %75) uygulanmış, ayrıca humik/fulvik asit, mikrobiyal gübre, mineral gübre ve giberellik asit uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Uygulamalar sonrasında bitkilerin yaprak kısımlarından su, metanol ve etil asetat ekstraktları hazırlanmıştır. Ekstraktların antikanser aktiviteleri HeLa hücre hattı üzerinde 24. ve 48. saatlerde 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi ile antibakteriyel aktiviteleri ise sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular, kuraklık stresi ve uygulamaların ekstraktların biyolojik aktivitelerini aynı yönde etkilemediğini göstermiştir. Kuraklık stresi uygulamalarında antikanser aktivite, stres seviyesi ve ekstrakt çeşidine bağlı olarak değişmiştir. Kuraklık stresinin en şiddetli olarak %25 oranında su verilerek uygulandığı bitkilerden elde edilen metanol ekstraktı için HeLa kanser hücreleri üzerinde 24. saatte 429,1 µg/mL, 48. saatte ise 435,6 µg/mL olmak üzere en düşük yarı maksimum inhibitör konsantrasyon (IC_{50}) değerlerini göstermiştir. Bitki besleme ve farklı büyüme düzenleyici uygulamalarda ise en düşük IC_{50} değerleri kontrol grubuna ait etil asetat ekstraktında saptanmış olup 24. saatte 327,7 µg/mL, 48. saatte ise 243,7 µg/mL olarak belirlenmiştir. Kuraklık grubunda elde edilen en düşük IC_{50} değerlerinin kontrol grubundan daha düşük olması, kuraklığın sekonder metabolit içerik ile bağlantılı olarak antikanser aktiviteyi artırdığını düşündürmektedir. Buna karşılık, antibakteriyel aktivite analizlerinde test edilen ekstraktların seçilen tüm bakteri suşları üzerinde belirgin inhibitör etki göstermediği ve minimum inhibitör konsantrasyon değerlerinin 1000 µg/mL üzerinde kaldığı belirlenmiştir. Sonuç itibariyle, *E. purpurea* ekstraktlarının biyolojik aktivitesi; uygulama türü, stres düzeyi ve ekstrakt tipine bağlı olarak değişmekte iken, bu değişimin her zaman antikanser veya antibakteriyel aktivitede ise artışa yol açmadığı anlaşılmıştır. Bu çalışma, kuraklık stresi, çeşitli bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamaların *E. purpurea* ekstraktlarının biyolojik aktiviteleri üzerindeki etkilerini birlikte ortaya koyan ilk çalışmalardan biri olma özelliği taşımaktadır.

ANAHTAR KELİMELER: *E. purpurea*, kuraklık stresi, humik asit, mineral gübre, antikanser, antibakteriyel

Temmuz 2026, 112 Sayfa

ABSTRACT

PH.D THESIS

EVALUATION OF THE ANTIPROLIFERATIVE AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ECHINACEA PLANT EXTRACTS GROWN UNDER DIFFERENT CONDITIONS

MUSTAFA ÖÇAL

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERING
SUPERVISOR:PROF. DR. YASEMİN ÇELİK ALTUNOĞLU

In this thesis, the aim was to investigate the effects of drought stress and various fertilization and growth-regulator applications on the biological activities of *Echinacea purpurea* extracts. For this purpose, plants were grown under controlled conditions; drought stress was applied at different irrigation levels (25%, 50%, and 75%), and humic/fulvic acid, microbial fertilizer, mineral fertilizer, and gibberellic acid treatments were also carried out. Following these applications, water, methanol, and ethyl acetate extracts were prepared from the plants' leaves. The anticancer activities of the extracts were evaluated on the HeLa cell line at 24 and 48 hours using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay, while their antibacterial activities were assessed by the broth microdilution method. The findings of this study showed that drought stress and the applied treatments did not affect the biological activities of the extracts in the same way. In drought stress applications, anticancer activity varied with stress level and extract type. The methanol extract obtained from plants exposed to the most severe drought stress, when supplied with 25% water, showed the lowest half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) against HeLa cancer cells, at 429.1 µg/mL at 24 hours and 435.6 µg/mL at 48 hours. In fertilization and various growth-regulator applications, the lowest IC_{50} values were observed in the ethyl acetate extract of the control group: 327.7 µg/mL at 24 hours and 243.7 µg/mL at 48 hours. The lower IC_{50} values observed in the drought-treated group compared with the control group suggest that drought may enhance anticancer activity, possibly associated with changes in secondary metabolite content. In contrast, in the antibacterial activity analyses, the tested extracts did not show a clear inhibitory effect against any of the selected bacterial strains, and the minimum inhibitory concentration values remained above 1000 µg/mL. In conclusion, the biological activity of *E. purpurea* extracts varies with the application type, stress level, and extract type; however, this variation does not always translate into increased anticancer or antibacterial activity. This study is one of the first to comprehensively demonstrate the effects of these applications on the biological activities of *E. purpurea* extracts.

KEYWORDS: *E. purpurea*, drought stress, humic acid, mineral fertilizer, anticancer, antibacterial

July 2026, 112 Page

TEŞEKKÜR

Lisansüstü hayatımın ve akademik çalışmalarımın başından beri çatı görevi görerek yolumu açan, destek veren, aktardığı bilgi ve tecrübelerle beni yetiştiren danışmanım Prof. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU hocama ve Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU hocama tüm samimiyetimle teşekkür eder, saygı ve sevgilerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarım boyunca sunduğu katkılar ve öğrettikleriyle tez izleme komitesinde de yer alarak destek veren Dr. Öğr. Üyesi Enis Fuat TÜFEKCİ hocama; ekstraktların temininde ve bazı ön çalışmaların yapılmasında yardımcı olan Prof. Dr. Gökhan ZENGİN hocama teşekkürlerimi sunarım. Bitki tohumlarının temin edilmesinde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY hocama ve Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne teşekkürü borç bilirim. Bu zamana kadar olan süreçte verdikleri maddi ve manevi destek ile yanımda olan dostlarım Umut KAYA'ya ve Necdet Mehmet ÜNEL'e her şey için çok teşekkür ederim. Bitkilerimin yetiştirme işlemlerinde yardımcı olan ve süreç boyunca manevi desteğiyle yanımda olan Sena MENCÜTEKİN ÜNEL'e teşekkür ederim. Ekibimizde beraber çalıştığım başta Dr. Öğr. Üyesi Ferhat ULU olmak üzere Gamze AKILLI ve Kübra SEYHAN'a da teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasının bir bölümü, Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından KÜBAP-01/2022-40 No'lu "Kuraklık stresi uygulanmış Ekinezya (*E. purpurea*) bitki ekstraktlarının sitotoksik özelliklerinin belirlenmesi" adlı proje ile desteklenmiştir. Çalışmayı destekleyen Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

MUSTAFA ÖÇAL

Kastamonu, 2026

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ..... **İİ**
TAAHHÜTNAME ..... **İİİ**
ÖZET ..... **İV**
ABSTRACT ..... **V**
TEŞEKKÜR ..... **Vİ**
İÇİNDEKİLER ..... **Vİİ**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **İX**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **Xİ**
GRAFİKLER DİZİNİ ..... **xii**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **XİV**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Asteraceae (Compositae) Familyası 2
1.1.1 *Echinacea* Cinsi 3
1.1.1.1 *Echinacea purpurea* L. türünün özelliklerine genel bakış 4
1.2 Bitkilerde Stresin Tanımı ve Önemi 4
1.2.1 Kuraklık Stresi ve Bitki Performansı Üzerine Etkileri 5
1.3 Bitki Besleme ve Büyüme Düzenleyici Yaklaşımlar 6
1.3.1 Humik Maddeler (Humik ve Fulvik Asitler) 7
1.3.2 Mineral Besin Elementleri 8
1.3.3 Mikrobiyal Biyostimülanlar (Faydalı Mikroorganizmalar) 9
1.3.4 Giberellik Asit (GA3) ve Bitki Fizyolojisindeki Rolü 10
1.4 Bitkisel İkincil Metabolitler ve Biyolojik Aktivite 10
1.5 Bitki Ekstraktlarında Bulunan İkincil Metabolitlerin Antimikrobiyal ve Antikanser Potansiyeli 12
1.6 Kanser Biyolojisine Genel Bakış 13
1.6.1 Serviks (Rahim Ağzı) Kanseri ve HeLa Hücre Hattı 15
1.7 Antimikrobiyal Aktiviteye Genel Bakış 17
2. KURAMSAL TEMELLER **19**
2.1 Ekinezya Türleri Üzerine Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları 19
2.1.1 Antikanser Aktivite Çalışmaları 19
2.1.2 Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları 21
2.2 *E. purpurea* Bitkisinde İkincil Metabolit Birikimini Etkileyen Uygulama Çalışmaları 22
3. MATERYAL VE METOT **27**
3.1 Materyaller 27
3.1.1 Çalışma için Kullanılan Bitki Materyalleri 27
3.1.2 Bitki Besleme ve Büyüme Düzenleyici Uygulamalar için Materyaller 27
3.1.3 Çalışma için Kullanılan Bakteri Suşları 28
3.1.4 Model olarak Kullanılan Kanser Hücre Hatları 28
3.1.5 Çalışma Kapsamında Kullanılan Materyaller ve Sarf Malzemeler 28
3.1.6 Çalışma Kapsamında Kullanılan Cihazlar 29
3.2 Metot 30
3.2.1 Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi ve Bakım Koşulları 30

3.2.2 Kuraklık Stresi Uygulamaları 30
3.2.3 Gübre Uygulamaları 31
3.2.4 Ekstraksiyon Yöntemleri 32
3.2.5 Toplam Flavonoid ve Fenolik İçeriğin Belirlenmesi 32
3.2.6 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi 32
3.2.6.1 DPPH ve ABTS testleri 33
3.2.6.2 FRAP ve CUPRAC testleri 33
3.2.7 Antikanser Aktivite Analizi 34
3.2.7.1 Hücre canlılık analizi için hücre kültürü koşulları 34
3.2.7.2 Hücre sağkalımının belirlenmesi 34
3.2.8 Antibakteriyel Aktivite Analizi 35
3.2.8.1 Besiyerlerinin hazırlanması ve kültür işlemleri 35
3.2.8.2 Sıvı mikrodilüsyon yöntemi 36
3.2.9 İstatistiksel Analizler 36
4. BULGULAR 38
4.1 Kuraklık Stresi Uygulamalarına Ait Bulgular 38
4.1.1 Yetiştirilen Bitkiler ve Uygulamalar 38
4.1.2 Kuraklık Stresi Sonrası Ekstraktların Ön Değerlendirme Sonuçları 41
4.1.3 Kuraklık Stresi Sonrası Antikanser Aktiviteye Ait Hücre Canlılık Sonuçları 47
4.1.4 Antibakteriyel Aktivite Kapsamında Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Bulguları 64
4.2 Bitki Besleme ve Büyüme Düzenleyici Uygulamalara Ait Bulgular 65
4.2.1 Bitkilerin Yetiştirilmesi ve Uygulamalar 65
4.2.2 Uygulamalar Sonrası Ekstraktların Ön Değerlendirme Sonuçları 69
4.2.3 Uygulamalar Sonrası Antikanser Aktiviteye Ait Hücre Canlılık Sonuçları 72
4.2.4 Uygulamalar Sonrası Antibakteriyel Aktiviteye Ait Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Bulguları 83
5. TARTIŞMA 85
6. SONUÇLAR 97
7. ÖNERİLER 100
KAYNAKLAR 102
ÖZGEÇMİŞ 111

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1 Tohumların vernalizasyon işlemi (a) saksılara ekilen tohumlar (b) 38
Şekil 4.2 Yetiştirme sürecinin farklı zamanlarındaki *E. purpurea* bitkisi 39
Şekil 4.3 Kuraklık stresi uygulamaları için gruplandırılan örnek *E. purpurea* bitkileri 40
Şekil 4.4 Kuraklık stresi uygulamaları sonrası toplama öncesi örnek *E. purpurea* bitkileri 41
Şekil 4.5 %75 su grubu EA ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri 49
Şekil 4.6 %100 su grubu EA ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri 50
Şekil 4.7 %75 su grubu EA ekstraktının HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değeri 51
Şekil 4.8 %100 su grubu EA ekstraktının HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değeri 52
Şekil 4.9 %25 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri 55
Şekil 4.10 %25 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değer 56
Şekil 4.11 %50 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri 57
Şekil 4.12 %50 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değeri 58
Şekil 4.13 %100 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri 59
Şekil 4.14 %100 su grubu MeOH ekstraktı HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değeri 60
Şekil 4.15 %25 su grubu su ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri 62
Şekil 4.16 %100 su grubu su ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri 63
Şekil 4.17 *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 suşu için örnek mikroplaka görüntüsü 65
Şekil 4.18 Yetiştirme sürecinin farklı zamanlarındaki *E. purpurea* bitkisi 66
Şekil 4.19 Yetiştirme sürecinin farklı zamanlarındaki *E. purpurea* bitkisi 66
Şekil 4.20 Herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubu *E. purpurea* bitkileri 67
Şekil 4.21 A) Giberellik asit ilk uygulama B) Giberellik asit son uygulama sonrası 67
Şekil 4.22 A) Humik/Fulvik asit ilk uygulama B) Humik/Fulvik asit son uygulama sonrası 68
Şekil 4.23 A) Mineral gübre ilk uygulama B) Mineral gübre son uygulama sonrası 68
Şekil 4.24 A) Mikrobiyal gübre ilk uygulama B) Mineral gübre son uygulama sonrası 69

Şekil 4.25 Uygulamalar ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının 24. saat IC_{50} değerleri 74
Şekil 4.26 Kontrol grubu EA ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri 74
Şekil 4.27 Humik/fulvik asit EA ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri 75
Şekil 4.28 Mikrobiyal gübre EA ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri 75
Şekil 4.29 Uygulamalar ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının 48. saat IC_{50} değerleri 77
Şekil 4.30 Kontrol grubu EA ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri 77
Şekil 4.31 Humik/fulvik asit EA ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri 78
Şekil 4.32 Mikrobiyal gübre EA ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri 78
Şekil 4.33 Mineral gübre ve kontrol grubu MeOH ekstraktları HeLa hücreleri IC_{50} değerleri 80
Şekil 4.34 Kontrol grubu MeOH ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri 80
Şekil 4.35 Kontrol grubu MeOH ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri 81
Şekil 4.36 Mineral gübre MeOH ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri 81
Şekil 4.37 Mineral gübre MeOH ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri 82
Şekil 4.38 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşu için örnek mikropleyt görüntüsü 84

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 4.1 Etil Asetat ekstraktına ait IC_{50} değerleri 52
Tablo 4.2 Metanol ekstraktına ait IC_{50} değerleri..... 60
Tablo 4.3 Su ekstraktına ait hesaplanan IC_{50} değerleri 63
Tablo 4.4 Kuraklık stresine ait antibakteriyel aktivite sonuçları 64
Tablo 4.5 Uygulamalara ait antibakteriyel aktivite sonuçları 84

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1 Kuraklık stresi MeOH ekstraktına ait toplam flavonoid ve fenolik içerik sonuçları. Su-%25: %25 su uygulanan grup, Su-%50: %50 su uygulanan grup, Su-%75: %75 su uygulanan grup, Su-%100: %100 Su uygulanan kontrol grubu …….. 42

Grafik 4.2 Kuraklık stresi MeOH ekstraktına ait DPPH ve ABTS antioksidan sonuçları. Su-%25: %25 su uygulanan grup, Su-%50: %50 su uygulanan grup, Su-%75: %75 su uygulanan grup, Su-%100: %100 Su uygulanan kontrol grubu …….. 43

Grafik 4.3 Kuraklık stresi MeOH ekstraktına ait FRAP ve CUPRAC antioksidan sonuçları. Su-%25: %25 su uygulanan grup, Su-%50: %50 su uygulanan grup, Su-%75: %75 su uygulanan grup, Su-%100: %100 Su uygulanan kontrol grubu 44

Grafik 4.4 Kuraklık stresi etil asetat ve su ekstraktlarına ait toplam flavonoid ve fenolik içerik sonuçları. %25 Su: %25 su uygulanan grup, %50 Su: %50 su uygulanan grup, %75 Su: %75 su uygulanan grup, %100 Su: %100 Su uygulanan kontrol grubu …….. 45

Grafik 4.5 Kuraklık stresi etil asetat ve su ekstraktlarına ait DPPH ve ABTS antioksidan sonuçları. %25 Su: %25 su uygulanan grup, %50 Su: %50 su uygulanan grup, %75 Su: %75 su uygulanan grup, %100 Su: %100 Su uygulanan kontrol grubu …….. 46

Grafik 4.6 Kuraklık stresi etil asetat ve su ekstraktlarına ait FRAP ve CUPRAC antioksidan sonuçları. %25 Su: %25 su uygulanan grup, %50 Su: %50 su uygulanan grup, %75 Su: %75 su uygulanan grup, %100 Su: %100 Su uygulanan kontrol grubu …….. 47

Grafik 4.7 %75 su ve %100 su gruplarına ait EA ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$…….. 48

Grafik 4.8 %75 su ve %100 su gruplarına ait EA ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$…….. 51

Grafik 4.9 %25 su, %50 su ve %100 su grupları MeOH ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$……... 53

Grafik 4.10 %25 su, %50 su ve %100 su grupları MeOH ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ …… 54

Grafik 4.11 %25 ve %100 su grupları su ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$……. 61

Grafik 4.12 %25 ve %100 su grupları su ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$……. 61

Grafik 4.13 Uygulamalara ait ekstraktların ait toplam flavonoid ve fenolik içerik sonuçları 70
Grafik 4.14 Uygulamalara ait ekstraktların DPPH ve ABTS antioksidan sonuçları 71
Grafik 4.15 Uygulamalara ait ekstraktların CUPRAC ve FRAP antioksidan sonuçları 72
Grafik 4.16 Mikrobiyal gübre ve humik/fulvik asit uygulamaları ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ 73
Grafik 4.17 Mikrobiyal gübre ve humik/fulvik asit uygulamaları ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ 76
Grafik 4.18 Mineral gübre ile kontrol grubuna ait MeOH ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ 79
Grafik 4.19 Mineral gübre ile kontrol grubuna ait MeOH ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ 79
Grafik 4.20 Giberellik asit ile kontrol grubuna ait su ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ 83
Grafik 4.21 Giberellik asit ile kontrol grubuna ait su ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ 83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

cc	**:** Santimetre küp
cm	**:** Santimetre
cm^2	**:** Santimetre kare
dk	**:** Dakika
g	**:** Gram
L	**:** Litre
mg	**:** Miligram
mL	**:** Mililitre
mM	**:** Milimolar
mm	**:** Milimetre
nm	**:** Nanometre
NO_3^-	**:** Nitrat iyonu
NH_4^+	**:** Amonyum iyonu
µg	**:** Mikrogram
µL	**:** Mikrolitre
µM	**:** Mikromolar
U	**:** Ünite
°C	**:** Santigrat
%	**:** Yüzde

Kısaltmalar

CO_2	**:** Karbondioksit
DMEM	**:** Dulbecco's Modified Eagles Medium
EA	**:** Etil Asetat
DNA	**:** Deoksiribonükleik asit
FBS	**:** Fetal Bovine Serum
IC_{50}	**:** Yarı Maksimum İnhibitor Konsantrasyon
Kob	**:** Koloni oluşturan birim
MeOH	**:** Metanol
MİK	**:** Minimal İnhibitor Konsantrasyon
MTT	**:** 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NEAA	**:** Esansiyal Olmayan Amino Asit
PBS	**:** Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
ppm	**:** Milyonda birim
rpm	**:** Dakikadaki devir sayısı

1. GİRİŞ

Dünyadaki birçok geleneksel sağlık sisteminde, şifalı bitkilerden çok eski zamanlardan beri yararlanılmaktadır (Bitwell vd., 2023). Bu konuda gelişmiş ülkelerde iyi tarım uygulamalarının değerinin farkında olunması ve ürün güvenliği ile kalitesinin sağlanması maksadıyla, şifalı bitkiler onlarca yıldır yetiştirilmektedir (Laher vd., 2013). Bitki yaşamı boyunca, birincil ve ikincil metabolitler olmak üzere iki kategoride değerlendirilen çok sayıda fitokimyasal üretmektedir (Bitwell vd., 2023). Bitki türleri arasında metabolitlerin kimyasal yapısı ve bileşimi gibi özellikler farklılık gösterir. İkincil (sekonder) metabolitler, yapısal çeşitlilikleri, ilaç adayı ve antioksidan olma potansiyelleri gibi çeşitli nedenlerle ilgi çekicidir (Twaij vd., 2022). İlaç hammadde keşfine yönelik olarak tıbbi bitkilerde yapılan araştırmalar, bitki ekstraktlarının yeni bileşikler açısından taranmasını ve ardından biyolojik aktivite analizlerinin yapılmasını kapsamaktadır. Yeni moleküller olarak veya biyoaktif bileşikler olarak seçilen maddeler öncelikle moleküler yapı aydınlatması ve daha sonra ileri farmakolojik veya toksikolojik testler için izole edilir ve saflaştırılır (Bitwell vd., 2023). Afyon haşhaşından 1806 yılında morfin bileşiğinin izole edilmesiyle ikincil metabolit araştırmalarında yeni bir çağ açılmıştır. Bu durum doğal ürün araştırmalarını başlatarak ikincil metabolitlerin büyük bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Tıbbi ürünlerin %30'undan fazlasının doğrudan veya dolaylı olarak doğal ürünlerden türetilmesi, bu duruma kanıt olarak gösterilebilir. Yüksek teknoloji araştırma ekipmanlarının son 100 yılda gelişmesi ve şu anki mevcudiyeti, bitki metabolit araştırmalarında hızlı bir büyüme yaşanmasına sebep olmuştur (Twaij vd., 2022). Bitkiler ikincil metabolitlerini çeşitli koşullar altında artırabilmektedir. Bu koşullardan bazıları bitkilerin maruz kaldığı abiyotik stres faktörleridir. Kuraklık stresi bu faktörlerden biri olup fitohormonların homeostazını ve sinyal yolaklarını tetiklemektedir. Dolayısıyla farklı çeşitlerde ikincil metabolitlerin biyosentezi, yani üretimi başlamaktadır (Yadav vd., 2021). Bunun yanında bitkinin genetik özellikleri, çevredeki diğer organizmalar, uygulanan tarım teknikleri ve üretim sonrası işlemler de dahil olmak üzere çok sayıda unsur, tıbbi bitkilerdeki ikincil metabolitlerin kalitesini ve üretimini etkiler. Biyostimulanlar ve yeterli düzeyde sulama işlemleri gibi uygun ve önerilen tarım uygulamaları kullanılarak tıbbi bitkilerin yetiştirilmesi, optimum

tarımsal verim elde edilmesini ve endüstriye standart biyoaktif bileşiklerin kazandırılmasını sağlayabilir (Farruggia vd., 2024).

Mevcut tez çalışması kapsamında kontrollü koşullar altında yetiştirilen ekinezya (*Echinacea purpurea*) bitkilerine, çeşitli düzeylerde kuraklık stresi (%25, %50, %75) uygulaması ile farklı besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalar (Humik/fulvik asit, mikrobiyal gübre, mineral gübre, giberellik asit) yapılmıştır. Bu uygulamalar sonrası bitkiden elde edilen etil asetat (EA), metanol (MeOH) ve su ekstraktlarına ait bazı biyolojik aktivitelerdeki değişimin incelenmesi amaçlanmıştır. Buna göre, hücre canlılık testi ile ekstraktların HeLa hücrelerindeki antikanser aktivitesi; ayrıca minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) tespiti yapılarak da antibakteriyel aktivitesi tez içeriğinde çalışılmıştır.

1.1 Asteraceae (Compositae) Familyası

Asteraceae familyası, 1.600'den fazla cins ve 25.000 tür barındıran en geniş çiçekli bitki familyalarından biridir. Hindiba, marul, papatya ve karahindiba bitkileri ayçiçeği familyası olarak da bilinen Asteraceae familyasının en iyi bilinen türlerine örnektir. Asteraceae familyasına ait türler Antarktika kıtası dışında küresel ölçekte çeşitli ekolojik habitatlarda yayılış göstermektedir. Tropikal bölgelerde görece çok daha sınırlı bir dağılıma sahip olsalar da; orman ekosistemlerinde, yüksek rakımlı çayırlıklarda ve kentsel yeşil alanlarda dahi varlık gösterebilmektedirler. Morfolojik özellikleri çeşitlilik göstermekte olup bazı türler 30 metreden uzun ağaçlar iken, birçok türü çalı formundadır. Yaprak biçimleri türler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Çoğu türde yapraklar büyük olsa da bazıları küçük ve dikenlidir. Bazı türlerde ise yaprak tamamen bulunmaz ve yaprak işlevini yeşil renkli gövde üstlenir. Geleneksel tıpta uzun bir geçmişe sahip olan Asteraceae familyası üyelerinin çoğu tedavi edici özelliklere sahiptir. Bu türlerin bazıları 3000 yıldan daha uzun süredir yenilebilir ve tıbbi amaçlarla yetiştirilmektedir (Nadaf vd., 2025; Rolnik ve Olas, 2021).

Asteraceae familyasının bitkileri, ortak bir özellik olarak güçlü prebiyotik özelliklere sahip doğal polisakkarit olan inülin kaynağıdır. Fenolik asitler (klorojenik, kafeik,

ferulik, p-kumarik), flavonoidler (kaempferol, luteolin, kuersetin, apigenin), seskiterpen laktonlar (bitkilerin acı tadından sorumlu), alkaloidler, tanenler, saponinler, lignanlar, uçucu yağlar, kumarinler ve karotenoidler (A, B, C, E), bu bitkilerin sahip olduğu diğer önemli ikincil metabolitlerdir. Asteraceae bitkileri çeşitlilik bakımından yoğun bu fitokimyasal içerik ile anti-inflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan, hepatoprotektif ve idrar söktürücü etkileri de kapsayan güçlü farmakolojik aktiviteler sergiler. Geleneksel tıpta bu bitkiler; düz kas gevşetici özellikleriyle birlikte yara, kanama, baş ağrısı gibi çeşitli ağrı tipleri, şişkinlik, hazımsızlık, dizanteri ve hemoroid tedavisinde kullanılmıştır (Vojvodić vd., 2025).

1.1.1 *Echinacea* Cinsi

"Echinacea" ismi, bu cinse ait bitkilerin dikenli görünümleri sebebiyle deniz kestanelerine veya kirpilere atıfta bulunan Yunanca "Echinos" kelimesinden gelmektedir. Ekinezya cinsine ait bitkiler Kuzey Amerika'ya özgüdür. Rocky Dağları'nın doğu kesimlerinde, başta ABD ve Kanada'nın Atlantik drenaj bölgeleri olmak üzere doğal bir yayılış göstermektedir (Ahmadi, 2025). Toplamda dokuz tür içeren *Echinacea* cinsinden üçü, ticari amaçla kullanılmaktadır. Bu türler *E. purpurea* L., *E. angustifolia* DC., ve *E. pallida* Nutt. bitkileridir. Ekinezya türleri, Batılı tıp uzmanları tarafından belgelenmeden çok önce geleneksel yerli topluluklar tarafından tıbbi amaçlarla kullanılmaktaydı. Yılan ısırıklarında, yara ve yanık tedavilerinde, diş ağrısı, öksürük, soğuk algınlığı gibi çeşitli rahatsızlıklarda ekinezya türleri kullanılmıştır. Geniş kullanım alanı, iyi tanımlanmış farmakolojik özellikleri ile ekinezya bitkileri günümüzde de ticari açıdan önemli bir bitki olmaya devam etmektedir. Alkamidler, polisakkaritler ve polifenoller olmak üzere üç ana biyoaktif bileşik sınıfının ekinezya bitkilerinin sahip olduğu biyolojik etkilerden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ekinakozid, verbaskozid ve sinarin gibi kafeik asit ve türevleri ile klorojenik, kaftarik ve kikorik asit bu gruplar arasında tanımlanan en önemli polifenollerdir. Bu biyoaktif bileşikler, bitkiye immünomodülatör, antioksidan ve anti-inflamatuar özellikler kazandırarak bazı terapötik etkilerini açıklamaktadır (Jurczuk vd., 2025; Russo vd., 2025)

1.1.1.1 *Echinacea purpurea* L. türünün özelliklerine genel bakış

Echinacea purpurea dik gelişen, otsu ve çok yıllık bir bitki olup 120 cm boya kadar ulaşabilir. Gövde kısmı tüylü veya tüysüz olabilir. Altyapraklar geniş oval şekilde olup saplıdır. Bu türün çiçek başları ise 8–25 cm uzunluğa ulaşabilmektedir. *E. purpurea*'nın kök yapısı liflidir. *E. purpurea* bitkisi, ABD'nin Kuzeydoğu, Güneydoğu ve orta batı bölgelerine özgü bir türdür. Bu bölgelerde açık ormanlık habitatlarda, çayırlarda, çalılıklarda, su yolları yakınlarında ve yol kenarlarında yayılış göstermektedir. Bitki tam güneş ışığı alan koşullarda en iyi şekilde gelişmekte olup gölgeye toleransı düşüktür. Toprak pH'ı açısından seçici özellik göstermemekle birlikte, iyi drene olan tınlı veya kumlu toprakları tercih etmektedir (Lim, 2013).

1.2 Bitkilerde Stresin Tanımı ve Önemi

Biyologlar stres ve gerilme terimlerini 1930'lu yıllardan beri biyolojik sistemlere aktarmaya yönelik çalışmalar yapmıştır. Bu bilim insanlarından Lichtenthaler, bitki stresini 'bir bitkinin metabolizmasını, büyümesini veya gelişimini etkileyen ya da engelleyen herhangi bir olumsuz durum veya madde' olarak tanımlamıştır. Strasser stresi 'bir dengeyi değiştirme eğiliminde olan faktörlerin neden olduğu bir durum' olarak ifade ederken; Larcher ise 'türlerin olağanüstü olumsuz koşullara maruz kaldıklarında ortaya çıkan, yaşam için doğrudan bir tehdit oluşturması gerekmeyen ancak bir alarm tepkisi uyandıran fizyolojik değişiklikler' olarak tanımlamıştır (Gaspar vd., 2002; Kranner vd., 2010). Bitkiler abiyotik ve biyotik olarak iki başlık altında toplanan çeşitli stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Örnek olarak, kuraklık, tuzluluk, seller, ağır metaller, aşırı sıcaklık vb. fiziksel veya kimyasal faktörlerdeki değişiklikler abiyotik stres grubunu oluşturur. Araknidler, bakteriler, mantarlar, otçullar, böcekler, nematodlar, oomisetler, virüsler ve yabani otlar gibi canlı organizmalar biyotik stres faktörleridir (Al-Khayri vd., 2023). Bitkiler, abiyotik ve biyotik stres etmenleriyle sürekli olarak karşı karşıya olup bu etmenler verimliliklerini önemli ölçüde azaltabilmektedir. Evrimsel süreçte bitkiler bu streslere karşı karmaşık tepkiler geliştirerek fizyolojik, moleküler ve hücresel düzeyde çeşitli adaptasyonlarla hayatta kalmıştır (Rejeb vd., 2014).

1.2.1 Kuraklık Stresi ve Bitki Performansı Üzerine Etkileri

Bitkiler için abiyotik stres faktörlerinden biri olan su stresine iki durum sebep olabilir. Bunlar; bitkilerin aşırı miktarda suya maruz kalması ya da su eksikliği yaşaması durumlarıdır. Bitkinin su stresine verdiği tepkiler; stresin yoğunluğu ve süresi ile bitkinin türü ve gelişim aşamasına göre çeşitli organizasyonel düzeylerde farklılık göstermektedir. Karşılaşılan su stresinin en yaygın biçimi, kuraklık stresi olarak da adlandırılan su eksikliği stresidir. Kuraklık stresi ekolojik ve tarımsal sistemleri derinden etkileyen önemli bir faktördür. Bitkilerin kuraklığa karşı nasıl tepki verdiğinin anlaşılması, ortaya çıkan etkileri yönetmek ve stres toleransı yüksek bitkiler geliştirmek açısından büyük önem taşır (Shao vd., 2008).

Temel ve birincil metabolik yolaklar arasında yer alan glikoliz ile trikarboksilik asit (TCA) döngüsü, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasını birbirine bağlayarak bitkilerin büyüme ve gelişmesinde önemli bir rol oynar. Ancak belirli stres koşulları altında bitkiler, birincil metabolizmasını yönlendirerek ikincil metabolizmasını aktifleştirebilir. Bu sayede bitkiler ikincil metabolitler olarak adlandırılan çeşitli küçük organik moleküllerin sentezini gerçekleştirebilir. Sentezlenen çok sayıda ikincil metabolit kuraklık ve diğer çevresel stres koşullarında bitkiler için koruyucu roller oynar. Bu ikincil metabolitler, bitkilerin uyum sağlama kapasitelerini artırarak hayatta kalmalarını kolaylaştırır. Bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesine ve birikimine sebep olan kuraklık oksidatif stres oluşturmaktadır. ROS'un etkisiz hale getirilmesinde önemli görevler üstlenen ikincil metabolitler olan flavonoidler ve polifenoller, bitkiler için yaygın ve esnek savunma bileşenleridir. Tıbbi ve baharat bitkilerinde bulunan izoprenoidler, fenoller ve alkaloidler gibi değerli aromatik bileşiklerin üretimi kuraklıkla tetiklenmiştir. Bu durum önemli ikincil metabolitlerin verim artışı için bir strateji olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca birçok tıbbi bitkinin kuraklık stresine yanıt olarak endojen ikincil metabolit düzeylerinde artış görüldüğü bildirilmiştir (Yadav vd., 2021).

1.3 Bitki Besleme ve Büyüme Düzenleyici Yaklaşımlar

Bitki beslenmesi temel bir bilim olarak tarım sistemlerinin, çevresel sürdürülebilirliğin ve insan sağlığı ile refahının tüm yönlerini etkileyen bir araştırma alanıdır (Six, 2011). Bitkilerde beslenme tanımı, besinlerin sentezi, parçalanması ve bunların tüm bitki yapısında çeşitli işlevler için kullanımını kapsamaktadır. Besinleri oluşturan elementler makro ve mikro elementler olarak alt gruplara ayrılabilir. Bitkinin normal fizyolojik süreçleri için nispeten büyük miktarlarda gerekli olanlar makroelementler, nispeten küçük veya eser miktarlarda gerekli olanlar ise mikroelementler şeklinde tanımlanır (Valida ve Cagasan, 2022).

Dünya nüfusu benzeri görülmemiş bir hızda artmaktadır. Bu durum güvenli, uygun fiyatlı ve erişilebilir gıdaya olan talebi de sürekli artırmaktadır. Oluşan bu baskılar buğday, mısır ve yapraklı sebzeler gibi temel gıdalar ile taze ürünlerin sadece tonajı değil besin değeriyle de ilişkilidir. İnorganik gübreler, tarım kimyasalları ve pestisitler üretim miktarını en üst seviyeye çıkarmak amacıyla üretilmekte ve kullanılmaktadır. Böylece gıda talebi karşılanmaya çalışılmaktadır. Bu ürünler genel olarak toprak, su ve havada olumsuz çevresel etkiler oluşturmaktadır. Talebi karşılamak için daha fazla gıda üretirken doğal sermayeye olumsuz etkileri olan bu ürünlerin yerine daha güvenli ürünler kullanmak önemlidir. Bu kapsamda çözümlerden biri, çevre ve insan için güvenli olan ve ayrıca tarım kimyasalları kullanımının azaltılmasında faydalı olan bitki biyostimülantlarıdır (Roche vd., 2024).

Bilimsel ve ticari açıdan önemli bir ilgi alanı haline gelen bitki biyostimülantları bitki büyümesini ve gelişimini destekleyen çeşitli maddeleri ve mikroorganizmaları kapsamaktadır. Biyostimülant kavramı bilimsel literatürde 1990'lı yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu kavram için yapılan tanımlar zaman içinde gelişmiş olup Avrupa Biyostimülant Endüstri Konseyi (EBIC) biyostimülantları; bitki veya rizosfere uygulandıklarında besin alımını, besin kullanım etkinliğini, ürün kalitesini ve abiyotik stres toleransını artıran, ancak doğrudan pestisit ya da gübre olarak etki göstermeyen maddeler ve mikroorganizmalar olarak ifade etmiştir. Biyostimülantların akademik alanda kabul görmesini Fransa'nın Strasbourg şehrinde Kasım 2012'de düzenlenen "Tarımda Biyostimülantların Kullanımı Konulu İlk Dünya Kongresi"

sağlamıştır. Literatürde yaygın olarak kabul gören ve sınıflandırılan biyostimülantların grupları şunlardır: 1) Humik/Fulvik Asit 2) Deniz yosunu ekstraktları ve bitkisel ekstraktlar 3) Protein hidrolizatları ve diğer N içeren bileşikler 4) Kitosan ve diğer biyopolimerler 5) İnorganik bileşikler 6) Faydalı mantarlar 7) Faydalı bakteriler (Calvo vd., 2014; du Jardin, 2015). Bu biyostimülant gruplarının tıbbi ve aromatik bitkiler üzerinde kullanımı, ürün kalitesini iyileştirme ve üretim miktarını artırma potansiyeli sebebiyle güncel araştırmaların odağı olmuştur. Biyostimülantlar, bitkilerin özellikle uçucu yağ verimi ve bileşimi, antioksidan kapasitesi ve stres toleransı gibi özellikleri üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Bu durum mevcut sağlık yararlarını da güçlendirmektedir (Göre, 2024).

1.3.1 Humik Maddeler (Humik ve Fulvik Asitler)

Humik maddeler bitki, hayvan ve mikrobiyal kalıntıların ayrışması sonucu oluşan toprak organik maddesinin ana bileşenleridir. Bu maddeler humik asitler, fulvik asitler ve huminler olarak üçe ayrılır (Bulgari vd., 2019). Oluşan toprak organik maddesi %80 ila %90 aralığında humik maddeleri içermektedir. Humik maddeler, farklı fonksiyonel grupları içeren heterojen moleküler bileşiklerden oluşmakta olup koyu renklidir. Tanımlanmış bir özellikleri olmayıp hidrofilik ve stabildirler. Bileşenlerini %40–60 C; %30–50 O; %0–4 N; %2–4 H; %0–2 S değişen oranlarında elementler oluşturmaktadır (Machado vd., 2020). Bitki büyümesine büyük faydalar sağlayan çok sayıdaki rolleri ile humik maddeler çevre bilimlerinin yanı sıra toprak kimyası, verimliliği ve bitki fizyolojisi gibi çeşitli tarım alanlarında da araştırma konusu olmuştur. Humik maddelerin bitki büyümesi üzerindeki yararlı etkileri dolaylı veya doğrudan etkileriyle ilişkili olabilir. Gübre verimliliğinin artması veya toprak sıkışmasının azalması dolaylı etkinin sonucu iken, genel bitki biyokütlesinin iyileşmesi ise doğrudan etki olarak söylenebilir. Özellikle kök gelişiminde görülen artış genel olarak gövde gelişimine göre daha belirgindir (Nardi vd., 2002). Humik maddelerin biyostimülan etkilerinin çoğunluğu kök beslenmesinin iyileştirilmesine yönelik olup bu etkiler farklı mekanizmalar yoluyla gerçekleşmektedir. Bu mekanizmalardan biri, polianyonik yapıya sahip humik maddelerin toprağın katyon değişim kapasitesini artırması sonucunda makro ve mikro besin elementlerinin bitki tarafından daha kolay alınabilmesidir. Ayrıca humik maddeler kalsiyum iyonlarını bağlayarak kalsiyum

fosfatın çökelmesini engeller ve fosfat elementinin toprakta kalma süresini uzatarak bitki tarafından alınabilir formda kalmasını sağlar. Bir diğer önemli mekanizmada ise humik maddeler, plazma zarı H^+-ATPaz enzimlerini uyararak hücre dışına proton (H^+) pompalanmasına neden olur. Bu proton pompalama aktivitesi elektrokimyasal bir potansiyel fark oluşturarak nitrat ve diğer besinlerin hücre içine alımını kolaylaştırır. Aynı zamanda bu durum hücre duvarının gevşemesine ve hücre büyümesinin artmasına katkı sağlayarak kök ve organ gelişimini destekler. Humik maddelerin biyostimülant etkilerinden biri de ikincil metabolizmada ve çeşitli stres tepkilerinde rol alan fenolik bileşiklerin sentezi için merkezi öneme sahip fenilpropanoid metabolizmasının modüle edilmesidir (du Jardin, 2015).

1.3.2 Mineral Besin Elementleri

Mineral bitki besin elementi, belirli bir bitki türünün doğal veya kültür ortamında büyüme ve gelişmesini destekleyen, hasat edilen ürünün kalite özelliklerine katkı sağlayan esansiyel ya da yararlı kabul edilen elementleri ifade eder (Brown vd., 2022). Bitkilerin en uygun şekilde beslenmesi için toplam 17 mineral elemente ihtiyacı vardır. Söz konusu minerallerden herhangi birinin eksikliği bitki gelişimini ve tarımsal üretimi azaltır (El-Ramady vd., 2022). Karbon (C), Hidrojen (H), Oksijen (O), Azot (N), Fosfor (P), Potasyum (K), Kalsiyum (Ca), Magnezyum (Mg) ve Kükürt (S) elementleri bitki için daha fazla miktarlarda gerekli olan makroelementleri, Bor (B), Bakır (Cu), Demir (Fe), Klor (Cl), Manganez (Mn), Molibden (Mo), Nikel (Ni) ve Çinko (Zn) elementleri ise bitki için daha düşük miktarlarda gerekli olan mikroelementleri kapsamaktadır. Doğal koşullar altında bitkiler, suda çözünen bu mineralleri kökleri yoluyla topraktan ve bazılarını ise yaprakları ile havadan alır. Besin alımının sınırlı olduğu yerlerde bitkinin ihtiyaçlarını karşılamak ve verimi artırmak için önemli mineral elementler gübre olarak toprağa uygulanır. Organik veya inorganik olabilen gübreler farklı bileşenler içerir ve mevcut besin maddelerinin miktarı farklılık gösterir (Valida ve Cagasan, 2022).

1.3.3 Mikrobiyal Biyostimülanlar (Faydalı Mikroorganizmalar)

Heterojen yapılı geniş biyostimülan ailesinin alt gruplarından birini mikroorganizma temelli biyostimülanlar oluşturmaktadır. Bu gruptaki mikroorganizmalar veya mikroorganizma karışımları bitkilerde besin alımını, besin kullanım etkinliğini, abiyotik stres toleransını, ürün kalitesini ve/veya verimi artıracak şekilde fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri uyarabilmektedir. Böylece bu tür biyostimülanlar yoğun tarım uygulamalarının sebep olduğu olumsuz etkilerin kısmen azaltılmasına katkı sağlayabilmektedir. Tek mikroorganizma içeren formülasyonlar ile mikrobiyal konsorsiyumlar olarak sınıflandırılmakta olan mikrobiyal biyostimülanlar tohuma, yaprağa veya rizosfere uygulanabilmektedir (Shahrajabian vd., 2023). Mikrobiyal biyostimülanlar bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPB, plant growth promoting bacteria) ve arbusküler mikoriza mantarlarını (AMF, arbuscular mycorrhizal fungi) kapsamaktadır. *Rhizobium, Bradyrhizobium, Azotobacter, Azospirillum, Pseudomonas* ve *Bacillus* gibi farklı cinslere ait bakteriler biyostimülan etki potansiyeline sahip olabilmektedir. AB pazarında gübreleme ürünlerinin üretimi ve pazarlanmasına ilişkin kurallar (EU) 2019/1009 sayılı yönetmelik kapsamında 16 Temmuz 2022 itibarıyla yürürlüğe girdiği için bu cinslerden sadece 3'ü (*Azospirillum, Azotobacter* ve *Rhizobium*) AMF ile birlikte bitki biyostimülanı (PB, plant biostimulant) olarak onaylanmıştır. Bu mikroorganizmaların seçilmesinde özellikle fenotipik özellikleri ve başta atmosferik azotu fikse etme ya da fosfor bileşiklerini çözündürme yetenekleri dikkate alınmıştır. Ancak son 20 yılda yeni dizileme teknikleri geliştirilmiş olup bu durum eski sınıflandırmalarda köklü değişimlere olanak sağlamıştır. Böylece (EU) 2019/1009 Yönetmeliği kapsamındaki biyostimülan aday listelerinin acilen gözden geçirilmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır (Fusco vd., 2022).

Bitki büyümesini teşvik eden bakteri grubunu; serbest yaşayan türler, bitkilerle özgül simbiyotik ilişkiler kurabilen bakteriler (örneğin *Rhizobia* spp. ve *Frankia* spp.); bitkinin iç dokularının tamamını ya da bir kısmını kolonize edebilen bakteriyel endofitler ve siyanobakteriler (önceden mavi-yeşil algler olarak adlandırılan) oluşturmaktadır. Farklı özelliklere sahip olmalarına rağmen bu bakteriler bitki büyümesini teşvik etmede benzer mekanizmalar kullanmaktadır (Glick, 2012). Mikroorganizma simbiyozuna karşı bitkilerin oluşturduğu tepkide birçok moleküler

süreç yer almakta olup bu etkileşimin ardından ikincil metabolitlerin önemli ölçüde biriktiği gösterilmiştir. Bitkilerin abiyotik stresler veya patojenler gibi çevresel zorluklara yanıt verebilme yeteneği, mikroorganizma kaynaklı sağlık açısından yararlı bu ikincil metabolitlerin birikiminin temelini oluşturmaktadır. Hareketsiz organizmalar olan bitkiler, stres koşullarıyla mücadele edebilmek için kimyasal yanıt mekanizmalarını aktive etmektedir (Ganugi vd., 2021).

1.3.4 Giberellik Asit (GA_3) ve Bitki Fizyolojisindeki Rolü

Giberellik asit (GA) bitki büyüme ve gelişme süreçlerinde rol oynayan bir bitki hormonudur. Tetrasiklik diterpen yapısında olan giberellik asit $C_{19}H_{22}O_6$ kimyasal formülü ile ifade edilmektedir (Dinler ve Çetinkaya, 2020). Giberellinler arasında biyolojik olarak aktif ve en iyi bilinen formlar GA_1, GA_3, GA_4 ve GA_7'dir. Bu formlar bitkiler, mantarlar ve hatta bazı bakteriler tarafından sentezlenebilir. GA_3 bitkinin genç yaprak dokularında ve çimlenmiş tohum embriyolarında doğal olarak sentezlenerek endojen bir büyüme düzenleyicisi olarak görev alır (Zahran ve Hefzy, 2025). Giberellik asit tohuma ön uygulama (GA_3 çözeltisinde bekletme) (Arun vd., 2017; Rashad, 2020), yapraktan püskürtme (Hussien vd., 2018; Thuc vd., 2021; Farad vd., 2025) ve toprak uygulaması (Haifaa ve Moses, 2022) yöntemleriyle bitki büyüme düzenleyicisi olarak dışarıdan uygulanabilmektedir. Zahran ve Hefzy'ye (2025) göre, uygun dozda ve uygun zamanda dışarıdan uygulanan giberellik asit bitki büyümesini, kimyasal bileşimi, besin alımını ve verimi artırabilmektedir. Bu etkiler soğan (Sorour vd., 2025), patates (Çalışkan vd., 2021), salatalık (Pal vd., 2016), marul (Le vd., 2021), çeltik (Haifaa ve Moses, 2022), mısır (El-Kamar vd., 2013), mercimek (Hussien vd., 2018), maş fasulyesi (Islam vd., 2021), tatlı sorgum (El-Kady vd., 2019) gibi farklı sebze ve tarla bitkilerinde yapılan çalışmalar sonucunda rapor edilmiştir. Diğer taraftan giberellinler çeşitli fizyolojik ve moleküler süreçleri düzenleyerek bitkilerin abiyotik stres etmenlerine karşı toleransını artırabilmektedir (Zahran ve Hefzy, 2025).

1.4 Bitkisel İkincil Metabolitler ve Biyolojik Aktivite

Ototrof organizmalar olan bitkiler tüm canlılarda bulunan birincil metabolizmaya ek olarak, farklı kimyasal yapılardaki çok sayıda bileşiğin sentez ve birikimini mümkün

kılan ikincil bir metabolizmaya da sahiptirler. Bitki hücrelerinin bu metabolik aktiviteler sürecinde ürettiği metabolitler sınıflandırma açısından iki gruba ayrılmaktadır. Karbonhidratlar, lipitler ve proteinler birincil metabolitler grubunu oluşturmakta olup doğrudan büyüme ve metabolik faaliyetlerde rol alan bileşiklerdir. İkincil metabolitler ise birincil metabolitlerin son ürünleri olarak kabul edilmekte olup ancak doğrudan metabolik faaliyetlerde yer almayan diğer bileşikler grubudur. Bitkiler âleminin bazı taksonomik grupları arasında bitki metabolitleri farklı dağılımlar gösterebilmektedir. Bu bitki metabolitlerinden özellikle ikincil metabolitler ilaç etken maddeleri, gıda katkı bileşenleri ve çeşitli ince kimyasallar gibi farklı açılardan son derece önemli doğal kaynaklar olarak değerlendirilmektedir. Bu doğal bileşikler ve olası türevleri bitkilerden doğrudan ekstraksiyon yoluyla, kimyasal sentezle ve bitki hücre kültürü teknikleriyle üretilebilmektedir. Bu yöntemlerden bitki hücre kültürü teknikleri, kimyasal sentezle veya bitkiden ekstraksiyonla elde edilmesi zor olan metabolitlerin üretimi için umut verici bir alternatif sunmaktadır. Bitkiler ürettikleri ikincil metabolitleri avcı ve patojenlere karşı savunma amacıyla kullanabilir. Ayrıca bitkilerin ani sıcaklık, nem, ışık şiddeti ve kuraklık gibi çevresel değişimlere uyum sağlamasında ve tozlaşmaya katkı sağlayan canlıların bitkiye çekilmesinde ikincil metabolitler önemli roller üstlenebilirler. İkincil metabolitlerin sınıflandırılmasında çeşitli ölçütler dikkate alınmaktadır. Kimyasal yapı (halka ya da şeker grubu içermesi), bileşim (azot içerip içermemesi), organik çözücülerde veya sudaki çözünürlük özellikleri ve biyosentetik yolaklar bu ölçüt gruplarıdır. Biyosentetik yolaklara göre sınıflandırma en yaygın kullanılan ölçüttür. Bu ölçüte göre bitki ikincil metabolitleri fenolik bileşikler, terpenler ve alkaloidler olarak üç büyük grupta sınıflandırılabilir. Bitkisel ikincil metabolitler bitki biyolojisi ve biyoteknoloji alanlarında çalışan birçok araştırmacının ilgi odağı olmuştur. Araştırmacılar bu kapsamda çeşitli bitkilerden elde edilen yeni biyoaktif moleküllerin izolasyonunu, analizini ve karakterizasyonunu gerçekleştirmiş; ardından bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerini ve olası toksisitelerini değerlendirmiştir. Bu biyolojik aktiviteler arasında faydalı olarak antitümör, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteler öne çıkmaktadır (Mera vd., 2019; Elshafie vd., 2023).

1.5 Bitki Ekstraktlarında Bulunan İkincil Metabolitlerin Antimikrobiyal ve Antikanser Potansiyeli

Bitki kökenli çok sayıda doğal bileşik ve türevleri eski çağlardan bu yana çeşitli hastalıkların tedavisinde birçok ilacın hammaddesini oluşturarak terapötik amaçlarla kullanılmıştır. Diğer taraftan bu bileşikler öncü molekül, model yapı ve farmakolojik araştırma aracı olarak ilaç geliştirme süreçlerinde değerlendirilmiştir. Günümüz dünyasında kullanılan ilaçların önemli bir kısmı bitkisel kaynaklı olup, biyoaktif bileşiklerin birçoğu hâlen farmasötik endüstride aktif olarak kullanılmaktadır. Bu bileşiklerin kimyasal yapıları halen yeni ilaç geliştirme süreçleri kapsamında kullanılabilecek potansiyel model moleküller olarak bilimsel çalışmalara ışık tutmaktadır. Günümüzde yeni kanser ilacı geliştirme çalışmalarının öncelikli hedefleri arasında özellikle daha etkili ve seçici antikanser ajanların bulunması yer almaktadır. Bu hedefler doğrultusunda bitki kaynaklı birçok yeni ticari antikanser etkili ilacın geliştirildiği bilinmektedir (Elshafie vd., 2023). Lupeol, asiatik asit, celastrol, aurapten, ursolik asit, saidmanetin, indol-3-karbinol ve hiperisin gibi bileşikler bitkilerden elde edilen ve antitümör aktivite gösterdikleri bildirilen metabolitler arasında yer almaktadır. Bu bileşiklerin bağışıklık yanıtı ve tümör stromal mikroçevresinin kontrolünde rol oynadığı; ayrıca hücre büyümesini ve apoptozu düzenleyen sinyal yollarını etkilediği bildirilmiştir (Mera vd., 2019). Çeşitli kanser tedavilerinde yaygın olarak irinotekan, vinkristin, vinblastin, etoposid ve paklitaksel gibi bitki kökenli doğal ürünler de kullanılan önemli bileşikler arasında yer almaktadır. Ayrıca vitaminler, mineraller, folat, bitki sterolleri, karotenoidler ile flavonoidler ve polifenoller gibi fitokimyasallar bakımından zengin meyve ve sebzelerin tüketimi, kansere bağlı ölüm oranlarının azalması ile ilişkilendirilmektedir. Yüksek fenolik bileşik içerikleri sayesinde güçlü antioksidan özellik gösteren zencefil, kırmızı biber, zerdeçal, karanfil, biberiye, adaçayı, kekik ve tarçın gibi birçok baharat ise farklı kanser türlerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu hasara karşı koruyucu etki sergileyebilmektedir (Elshafie vd., 2023).

Günümüzde tıbbi bitkilerin etkileri kapsamında üzerine yoğunlaşılan bir diğer önemli sağlık sorunu antimikrobiyal dirençtir. Hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı birçok bitki ekstraktının antibakteriyel aktivite gösterdiği ortaya

konmuştur. Ayrıca antibiyotikler ile birlikte bitki ekstraktları da kullanıldığında sinerjistik etkiler oluşabileceğini bazı yazarlar vurgulamıştır (Mera vd., 2019). Saponinler, flavonoidler, tiyosülfinatlar, glukozinolatlar, fenolik bileşikler, alkaloidler ve organik asitler antimikrobiyal aktivite sergilediği bilinen en yaygın bitkisel ikincil metabolitlerdir. Bitkisel ikincil metabolitlerin kimyasal yapıları, baskın bileşenleri ve uygulanan dozları, büyük ölçüde antimikrobiyal etkinliği belirleyen faktörlerdir (Elshafie vd., 2023). Özellikle polifenollerin gösterdiği antibakteriyel etki, mikroorganizmaların büyüme, çoğalma ve solunum gibi hayati fonksiyonlarını baskılayabilmesine dayanmaktadır. Polifenollerin bu süreçlere olan etkisi belirli enzimlerin oksidasyonuna yol açarak temel metabolik süreçleri engellemesi, DNA ile etkileşerek protein sentezini bozabilmesi ve bazı durumlarda hücre zarının bütünlüğünü zayıflatarak hücre ölümüne neden olabilmesi olarak sıralanabilir. Monoterpenlerde benzer şekilde lipofilik yapıları sebebiyle birçok mikroorganizma hücre zarındaki fosfolipitlerle etkileşime girebilir. Bu durum zar yapısının düzenini bozarak hücre lizisiyle sonuçlanabilmektedir (Mera vd., 2019).

1.6 Kanser Biyolojisine Genel Bakış

Kanser insanlık tarihi kadar eski bir hastalık olmasına rağmen 19. Yüzyıla kadar nadir görülen bir hastalık olarak kabul edilmiştir. Mevcut durumda kanser, kalp hastalıklarının ardından dünya genelinde en fazla ölüme neden olan ikinci hastalık konumundadır. Kanserin yalnızca 2020 yılında 10 milyondan fazla insanın yaşamını yitirmesine yol açtığı bildirilmektedir (Abbood vd., 2024). Erkeklerde en sık görülen kanser türleri sırasıyla prostat, akciğer ve bronş, kolon ve rektum ile mesane kanseridir. Kadınlarda ise en yaygın kanser türleri meme, akciğer ve bronş, kolon ve rektum, rahim ve tiroid kanserleri olarak sıralanmaktadır. Kan kanseri başta olmak üzere beyin ve lenf düğümleriyle ilgili kanserler ise çocuklarda en sık görülen kanser türlerdir. Genlerde meydana gelen bir dizi ardışık mutasyon hücre fonksiyonlarını değiştirerek kanser oluşumuna sebep olur (Hassanpour ve Dehghani, 2017). Normal hücrelerde temel bir işlev sağlayan onkogenler ve tümör baskılayıcı genler kanseri yönlendiren iki gen sınıfıdır. Proto-onkogenler olarak bilinen normal hücresel genlerin mutasyona uğramış versiyonlarından onkogenler oluşmaktadır. Normal hücrelerde proto-onkogenler, hücre çoğalmasını, hücrenin yaşamını sürdürmesini ve

hareket/invazyon gibi süreçleri kontrol etmektedir. Bu sebeple normal hücrelerde proto-onkogenlerin ifadesi, kontrolsüz büyümeyi önlemek amacıyla sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Ancak bu genlerde meydana gelen aktive olmuş mutasyonlar, kanserde hücre bölünmesinin kontrolsüz şekilde artmasına, hücrelerin yaşam sürelerinin uzamasına ve tümör hücrelerinin yayılmasına neden olmaktadır. Diğer normal hücresel genlerden tümör baskılayıcı genler, sıklıkla hücre döngüsü ilerlemesinin ve programlanmış hücre ölümü olan apoptozun kontrolünde rol oynar. Böylece hücre çoğalmasını ve hayatta kalmasını engelleme işlevi görürler (Nenclares ve Harrington, 2020). Kanserin moleküler patolojisi, kontrolünü zor kılan geniş bir biyolojik saldırganlık yelpazesiyle karakterize edilir. Etiyolojik çalışmaların raporları, kanserin nedensel etkeni ya da etkenleri olarak genetik mutasyonu [örneğin, somatik mutasyon(lar), kalıtsal mutasyon(lar), kaçınılmaz DNA replikasyon hataları], epigenetik mutasyonu (bir onkogenin hipometilasyonu, hipermetilasyon yoluyla tümör baskılayıcı gen susturulması, kromatin yeniden şekillenmesi), viral enfeksiyonu (Hepatit B/C, İnsan Papilloma Virüsü) ve aflatoksin B'ye maruz kalma gibi faktörleri desteklemektedir. Ayrıca diğer dışsal risk faktörleri ve yaşam tarzı gibi etmenler de belirli kanser türlerinin erken başlangıcını destekleyebilir (Diori Karidio ve Sanlier, 2021). Hanahan ve Weinberg 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada, kanser hücrelerinde yaygın olarak bulunan hücresel değişikliklerin yoğun karmaşıklığını tanımlamaya çalışmıştır. Bu kapsamda kanserin ayırt edici özellikleri olarak altı temel değişikliği bildirmişlerdir. Bu özellikler arasında sürekli olarak açık olan büyüme sinyali, büyüme baskılayıcılarından kaçınma, hücre ölümüne direnç, sınırsız çoğalma potansiyeli, sürekli anjiyogenez, doku invazyonu ve metastaz yer almaktadır. Daha sonrasında bu özelliklere enerji metabolizmasının yeniden programlanması ve bağışıklık sisteminden kaçış olmak üzere iki yeni ayırt edici özellik eklenmiştir. Ayrıca iki destekleyici özellik olarak genomik instabilite ve tümörle ilişkili inflamasyon eklenerek liste güncellenmiştir (Nenclares ve Harrington, 2020).

Kanser tedavisi özellikle 20. yüzyılın başlarında, temel olarak tümörlerin cerrahi olarak çıkarılmasına dayanıyordu. İlerleyen zamanlarda fizik, kimya ve biyolojideki bilimsel ve teknolojik gelişmeler sayesinde radyoterapi, hormon tedavisi ve kemoterapi yöntemleri ortaya çıkmış; aynı dönemde immünoterapinin temelleri de atılmıştır. Bu yaklaşımlar zamanla ayrı disiplinler olarak gelişmiş ve günümüzde

cerrahi ile birlikte kullanılan temel kanser tedavi alanlarını oluşturmuştur. Özellikle erken evre ve sınırlı tümörlerde temel tedavi yöntemi olarak cerrahi halen kullanılırken robotik cerrahi gibi teknolojiler de gelişmektedir. Radyoterapi yöntemi, tümör dokusunu yüksek hassasiyetle hedefleyerek sağlıklı dokulara zarar vermeden ileri teknikler ile uygulanabilmektedir. Geleneksel kemoterapi tedavisi ise bitkiler ve diğer doğal ürünlerden elde edilen bileşiklerin kullanımına dayanmaktadır. Ancak bu bileşikler seçici özellik göstermeyip sağlıklı hücrelere de zarar verebildiği için daha seçici etki gösteren moleküler hedefe yönelik bileşikler giderek önem kazanmaktadır. İmmünoterapi yöntemi de son yılların en hızlı gelişen alanlarından biri olmuştur. Ayrıca bağışıklık hücrelerinin veya kök hücrelerin kullanımına dayanan hücre tedavisi de onkolojik tedavi seçeneklerine eklenmiştir. Kanser tedavisinin gelecekteki gelişimi, tümörün biyolojik özelliklerine dayalı kişiselleştirilmiş tedavi stratejileri çerçevesinde tüm bu farklı yaklaşımların birlikte ve tamamlayıcı şekilde kullanılmasını öngörmektedir (Pina-Sanchez vd., 2021).

1.6.1 Serviks (Rahim Ağzı) Kanseri ve HeLa Hücre Hattı

Serviks (rahim ağzı) kanseri, rahim ile vajina arasındaki serviks dokusunda oluşan bir kanser türüdür. Serviks, ektoserviks ve endoserviks olarak iki kısma ayrılır. Endoserviks bölümü iç kısmı silindirik epitel hücrelerinden oluşurken, ektoserviks ise dış kısmı çok katlı yassı epitel hücreleriyle kaplı olan bölümü oluşturur. Serviks kanserinin skuamöz hücreli karsinom (SCC) ve adenokarsinom olmak üzere başlıca iki histolojik alt tipi vardır. Skuamöz hücreli karsinom olguların yaklaşık %75'ini oluşturarak ektoserviksteki yassı epitel hücrelerinden gelişir. Adenokarsinom ise endoserviksteki mukus üreten bez hücrelerinden köken alarak oluşur (Burmeister vd., 2022). Dünya genelinde üreme çağındaki kadınlarda görülme sıklığı ve ölüm oranı açısından en sık rastlanan ikinci kanser türü serviks kanseridir (Loos vd., 2026). Wu vd. (2025) göre 2022 yılında 662.044 servikal kanser vakası ve buna bağlı 348.709 ölüm meydana geldiği tahmin edilmektedir. Görülen serviks kanseri vakalarının %90'ından fazlası insan papillomavirüs (HPV) enfeksiyonu kaynaklıdır. Hastalığı önlemede HPV tarama ve aşılama programları etkili stratejilerdir (Perkins vd., 2023). Sigara kullanımı, HIV enfeksiyonu, erken yaşta başlanan cinsel aktivite, oral hormonal kontraseptiflerin uzun süreli kullanımı ve çoklu cinsel partner varlığı gibi çeşitli

faktörler de HPV enfeksiyonunun yanı sıra serviks kanseri riskini önemli ölçüde arttırmaktadır (Loos vd., 2026). Serviks kanserinin potansiyel olarak önlenebilir bir hastalık olduğunun ortaya konulmasıyla önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Ancak hasta sağ kalım oranlarında henüz belirgin iyileşmeler olmaması ve dolayısıyla hastalık yükünün yüksek düzeyde kalması endişe vericidir (Burmeister vd., 2022). Günümüzde serviks kanserinin tedavisi için uygulanan en yaygın yöntemler cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir. Tümörün cerrahi olarak çıkarılmasının ardından adjuvan radyoterapi veya kemoterapi uygulaması tümör hücrelerinin çoğalmasını baskılamayı amaçlamaktadır. Bununla birlikte, bu tedavinin en büyük dezavantajı, sağlıklı hücrelerin de zarar görmesidir. Bu durum ciddi komplikasyonlara neden olabilir. Son yıllarda doğal ürünlerin antikanser potansiyelini araştırmaya yönelik çok sayıda çalışma yürütülmektedir. Bu ürünlerin toksik olmadığı ve dolayısıyla sentetik ilaçlara kıyasla daha az yan etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. Bilim dünyasında, tıbbi bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin kanserin önlenmesi ve tedavisinde kullanılma potansiyeli kabul görmüştür (Peng vd., 2015).

İnsan hücre kültürlerinin birçoğu köken olarak kanser tümörlerinden elde edilmiştir. Kültür ortamında sonsuz bölünme yeteneğinde olan bu hücreler "ölümsüz" olarak adlandırılır. Bilim insanları biyomedikal araştırmalar kapsamında yeni tedaviler geliştirirken sıklıkla laboratuvarda yetiştirilen insan hücre kültürlerini kullanırlar. Rahim ağzı kanserini temsil eden HeLa hücreleri en bilinen hücre hatlarından biridir. Bu hücreler 1951 yılında Henrietta Lacks isimli hastanın rahim ağzı tümöründen alınmış ve çoğaltılarak günümüze kadar ulaşmıştır. Laboratuvar ortamında insan vücudunun basitleştirilmiş bir modelini yeterince yansıtan HeLa hücreleri, kanser hücrelerinin sınırsız çoğalarak gösterdiği ölümsüzlük özelliğine iyi bir örnek teşkil etmektedir. Ayrıca bir kültür ortamında yetiştirilen ilk ölümsüz insan hücreleri HeLa hücreleridir. Karyotipi 46 kromozom içeren normal insan hücrelerine karşılık, HeLa hücreleri önemli ölçüde mutasyona uğramış olup 76 ila 80 kromozoma sahiptir. Neredeyse tüm servikal kanser vakalarından sorumlu olan HPV18, normal karyotipten farklı şekilde ortaya çıkan bu sapmanın sebebi olarak gösterilmektedir. DNA'sını konak hücreye entegre eden HPV, hücre içinde bazı proteinlerin sentezlenmesine yol açar. Bu viral proteinler, mutasyonları önleme ve tümörü baskılama rolü nedeniyle "genom koruyucusu" olarak bilinen p53 proteinine bağlanır, onu etkisiz hale getirir.

Bu sebeple p53'ün etkisizleşmesi, hücresel düzeyde ciddi sonuçlara neden olabilmektedir. Bilim dünyasında birçok önemli gelişmenin gerçekleştirilmesine katkı sağlayan HeLa hücrelerinin en erken ve en dikkat çekici kullanım alanlarından biri, çocuk felcine sebep olan polio virüsüne karşı aşı geliştirilmesi olmuştur. Günümüzde de HeLa hücreleri, viroloji çalışmaları, kanser araştırmaları, radyasyon ve toksik maddelerin etkilerinin incelenmesi gibi pek çok bilimsel araştırma alanında yaygın olarak kullanılmaya devam etmektedir (Lyapun vd., 2019).

1.7 Antimikrobiyal Aktiviteye Genel Bakış

İnsanlığın varoluşundan bu yana tehdit oluşturan patojenik mikroorganizmalar, hastalık ve ölümlerin başlıca nedenlerinden biri olmuştur (Górniak vd., 2019). Bu mikroorganizmalar arasında yer alan bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlar da kronik enfeksiyonların ve ölümlerin başlıca nedenleri arasında bulunmaktadır. Antibiyotikler, bakteri kaynaklı hastalıkların tedavisinde maliyet etkinlikleri ve başarılı sonuçları nedeniyle tercih edilen ilaçlar olmuştur (Wang vd., 2017). İlk gerçek antibiyotik olan penisilin 1928 yılında keşfedilmiş olup ardından bunu 1930'lu yıllarda sülfonamidlerin keşfi takip etmiştir. Bu tarihlere kadar ise zehirli arsenik dışında, bulaşıcı hastalıklarla mücadele etmenin tek yolunu çeşitli bitki ekstraktları oluşturmaktaydı (Górniak vd., 2019). Daha güvenli doğum uygulamaları, cerrahi girişimler, organ nakilleri ve miyeloablatif kemoterapi gibi birçok klinik alanda önemli ilerlemelerin gerçekleşmesini mümkün kılan antibiyotikler, tıp pratiğinde köklü bir dönüşüm sağlamıştır. Ancak bir tehdit unsuru olan antimikrobiyal direnç (AMR), sağlanan bu ilerlemelerin bir kısmını yavaşlatma ve hatta tersine çevirme potansiyeli taşımaktadır (Marston vd., 2016). Antimikrobiyal direnç (AMR), 21. yüzyılın başlıca halk sağlığı sorunlarından biri olup özellikle bakterilerde gelişen antibiyotik direnci sebebiyle kritik bir öneme sahiptir. Nitekim yaygın ya da ciddi enfeksiyonlara neden olan birçok bakteri, yıllar içinde farklı düzeylerde olmak üzere, piyasaya sürülen hemen her yeni antibiyotiğe karşı direnç geliştirmiştir (Prestinaci vd., 2015). Antimikrobiyal dirence sebep olan faktörleri anlamak bu tehditle yeterince mücadele edebilmek için önemlidir. Bakteriyel replikasyon döngülerinde oluşan yeni mutasyonlar gibi doğal direnç faktörlerinin yanı sıra insan aktiviteleri de antimikrobiyal direncin gelişmesinde rol oynamaktadır. Antibiyotiklerin yalnızca aşırı

kullanımı değil, yetersiz doz, uygun olmayan antibiyotik seçimi ve tedavi kılavuzuna tam olarak uymamak da antibiyotik direncinin artmasına katkıda bulunmaktadır (Marston vd., 2016; Prestinaci vd., 2015).

DNA replikasyon sistemi, hücre duvarı sentezi ve protein sentez aşamasındaki translasyon mekanizması günümüzde kullanılan başlıca antibiyotik gruplarının bakterilerde hedef aldığı sistemlerdir. Bakteriler bu etki mekanizmalarının her birine karşı direnç geliştirerek hayatta kalmaktadır. Geliştirdikleri bu direnç mekanizmaları arasında antibiyotikleri parçalayan veya değiştiren enzimlerin üretilmesi, hücre duvarı ya da ribozomlar gibi hedef yapıların modifiye edilmesi yer almaktadır. Ayrıca, efluks pompalarının ekspresyonu ile antibiyotiklerin hücre dışına aktif olarak taşınması, çok sayıda antibiyotiğe karşı eşzamanlı direnç oluşmasına katkı sağlamaktadır (Wang vd., 2017). Araştırmacılar bu direnç sorununun üstesinden gelebilmek için potansiyel çözüm yolları olarak hem doğal hem de sentetik antimikrobiyal bileşikleri araştırmaktadır. Bu kapsamda bitkilerden, hayvanlardan ve mikroorganizmalardan elde edilen doğal kaynaklar ile sentetik bileşikler, nanopartiküller ve benzerlerinin antimikrobiyal aktivite gösterdiği belgelenmiştir (Hossain, 2024). Bitkiler tarafından üretilen çok çeşitli biyoaktif bileşikler, bitkinin doğal savunma sistemlerinin bir parçasını oluşturur. Mikrobiyal patojenlere karşı oldukça etkili özellikler gösteren bu bileşiklerin birçoğu fitokimyasallar olarak adlandırılır. Bitki ekstraktlarından elde edilen bu çok çeşitli biyoaktif bileşiklerin doğal antimikrobiyal ajan kaynakları olarak yüksek potansiyeli vurgulanmaktadır (Hossain, 2024). Bu antimikrobiyal potansiyelin ortaya konulabilmesi için uygun tarama ve değerlendirme yöntemlerinin kullanılması büyük önem taşımaktadır. Disk difüzyon testi, sıvı makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemi, resazurin testi, akış sitometrisi, biyolüminesans testi ve empedans ölçümü gibi farklı test yaklaşımları, araştırmacılara örneklerin etkinliğini, tekrarlanabilirliğini ve uygulanabilirliğini değerlendirme imkânı sunarak potansiyel antimikrobiyal ajanların belirlenmesine katkı sağlamaktadır (Hossain, 2024).

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Ekinezya Türleri Üzerine Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Günümüzde ekinezya türlerinden elde edilen ürünler gelişmiş ülkelerin birçoğunda en çok satan bitkisel ilaçlar arasındadır. Bu sebeple ekinezya ürünleri, büyümekte olan milyonlarca dolarlık ilaç endüstrisi için önemli bir bölümü oluşturmaktadır. Ekinezya türlerinden elde edilen ekstraktların farmakolojik aktiviteleri geniş çapta incelenmiş olup bugüne kadar 350'den fazla yayınlanmış çalışma bulunmaktadır (Rady vd., 2018). İncelenen türler arasında *E. purpurea* bitkisi gösterdiği anti-enflamatuar, antibakteriyel ve lenfosit aktivitelerinin yanı sıra bağışıklık sistemini de güçlendirmesi sebebiyle öne çıkmıştır. Bu özellikleri ile tüm dünyada dikkat çeken önemli bir tıbbi bitki olmuştur (Erenler vd., 2015).

2.1.1 Antikanser Aktivite Çalışmaları

Gösterdikleri terapötik etkiler ile öne çıkan ekinezya türleri bağışıklık sistemini uyarıcı özellikleri nedeniyle de kullanılmaktadır. Bu kapsamda ekinezya türlerinden elde edilen ekstraktlar bağışıklık sistemini destekleyici etkileri nedeniyle kanser kemoterapisi alan hastalara ek olarak reçete edilebilmektedir. Ayrıca bu ekstraktlar tümör gelişim sürecini de etkileyebilmektedir (Cichello vd., 2016). Ekinezya türlerinin bu aktivitelerine yönelik olarak yapılan bir çalışmada *Echinacea angustifolia* ve *Echinacea purpurea* türlerinden elde edilen etanolik ekstraktlar karıştırılmış ve analizler yapılmıştır. Ekstrakt karışımının antiproliferatif (hücre çoğalmasını azaltıcı) etkisi, HeLa (rahim ağzı kanser hücresi), QBC-939 (Kolanjiyokarsinom), Beas-2b (akciğer/bronşiyal epitel hücresi) ve HUVEC (insan göbek kordonu damar endotel hücreleri) hücre hatları üzerinde araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda beklenenin aksine HeLa, QBC-939 ve HUVEC hücrelerinde proliferasyonun (hücre çoğalması) arttığı, Beas-2b hücrelerinde ise etki gözlenmediği bildirilmiştir (Cichello vd., 2016). Bu iki ekinezya türü (*Echinacea angustifolia* ve *Echinacea purpurea)* ile yapılan başka bir biyolojik aktivite çalışmasında hidroalkolik ekstraktların meme kanseri (MCF-7), HeLa ve kolon kanseri (HCT-15) hücre hatlarına karşı antiproliferatif etkisi değerlendirilmiştir. Sülforhodamin B (SRB) testi ile yapılan bu analizin sonuçlarına

göre sadece *E. purpurea*'nın kök ve toprak üstü kısımları ile *E. angustifolia* kökünden hazırlanan, C olarak isimlendirdikleri bu ekstraktın incelenen hücre hatlarında antiproliferatif etki gösterdiği belirtilmiştir (Aarland vd., 2017). Yine *E. purpurea* ve diğer bir ekinezya türü olan *E. pallida* bitkisi ile yapılan bir çalışmada bu türlerden elde edilen ekstraktların meme kanseri hücre hattı (BT-549) üzerindeki etkisi tripan mavisi dışlama testi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma kapsamında ekstraktlar ile birlikte ekinezya türlerine ait standart bileşikler de test edilmiş olup BT-549 hücre hattının yanı sıra doğal öldürücü bağışıklık hücreleri üzerinde de sitotoksisite analizi yapılmıştır. Ekstraktların ve bileşiklerin BT-549 hücre hattı üzerinde etki gösterdiği bildirilmiştir (Driggins vd., 2017). Ayrıca tıbbi bitki ekstraktlarının antikanser aktivitelerinin nanopartiküllerle artırılmasına yönelik araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmalar doğrultusunda yapılan çalışmaların birinde çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri *Allium jesdianum* ekstraktları ile sentezlenmiş olup ardından *E. purpurea* bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen ekstraktlar bu nanopartiküller ile işlem görmüştür. Sonrasında ekstraktların MCF-7, MCF-10 ve periferik kan monokültür hücreleri üzerindeki etkisi MTT testi ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar ZnO nanopartikülleri ile muamele edilmiş *E. purpurea* ekstraktlarının antikanser aktivitesinin arttığını ve de flavonoid ile sikorik asit içeriğinde artışa yol açtığını göstermiştir (Karimi vd., 2019). Sharif vd. (2021) yaptığı başka bir çalışmada *E. purpurea* yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen EA, MeOH ve su ekstraktları HeLa hücreleri üzerinde test edilmiştir. Hücre canlılığı MTT testi ile değerlendirilmiş olup ekstraktların 24. ve 48. saatteki etkisi incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, genel olarak zamana ve doza bağımlı olarak azalış görülmüştür. Elde edilen IC_{50} değerlerinin 73-928 µg/mL aralığında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. En etkili olarak en düşük IC_{50} değeri 73 µg/mL ile 24. saatteki çiçek MeOH ekstraktında tespit edilmiştir. Ekstraktların gösterdiği sitotoksik aktivitenin içeriğinde bulunan şikorik asitten kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Sharif vd., 2021). Literatürde yapılan bir çalışmada *E. purpurea* çiçek ekstraktının ve şikorik asitin sitotoksik aktivitesi kolon kanseri hücre hatlarında (Caco-2, HCT-116) araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar doza ve zamana bağlı olarak *E. purpurea* çiçek ekstraktı ve şikorik asitin hücre proliferasyonunda önemli bir inhibisyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca şikorik asitin HCT-116 hücrelerinde telomeraz aktivitesini azalttığı ve apoptozu tetiklediği bildirilmiştir (Tsai vd., 2012).

2.1.2 Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Geleneksel tedavi olarak ekinezya ekstraktlarının boğaz ağrısı, öksürük ve bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklanabilecek çeşitli solunum yolu semptomlarına karşı kullanılması önerilmiştir. Bu kapsamda yapılan araştırmaların birinde Sharma vd. (2008) *E. angustifolia* kök, *E. purpurea* kök ile toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktlar da dahil olmak üzere altı farklı ticari Ekinezya etanol ekstraktını değerlendirmiştir. Çalışmada insan patojeni 15 farklı bakteri ve iki mantar türünün kullanıldığı belirtilmiştir. Bu mikroorganizmalardan beş bakterinin (*Streptococcus pyogenes, Haemophilus influenzae, Legionella pneumophila, Clostridium difficile* ve *Propionibacterium acne*) bir veya daha fazla ekstrakta duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Koloni sayma yöntemi ile yapılan analizde, bu beş suş için koloni oluşturan birim (KOB) sayısında yaklaşık üç $\log_{10}$ düzeyinde azalma gözlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada *E. purpurea* toprak üstü kısımlarından elde edilen sulu etanol ekstraktı, agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile toplam yedi mikroorganizmada (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 ve *Aspergillus niger* ATCC 164049) test edilmiştir. Çalışma sonuçlarında *A. niger* türü hariç diğer tüm mikroorganizmalar için inhibisyon zon çapı gözlendiği bildirilmiştir (Stanisavljević vd., 2009). Ekinezya türlerinden *E. angustifolia* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi de *B. subtilis, S. aureus, E. coli, Staphylococcus epidermidis, A. niger* ve *Candida albicans* suşlarında test edilmiştir. Agar difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile yapılan bu analizde *E. angustifolia* bitkisinin petrol eter, MeOH ve su ekstraktları kullanılmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonucunda petrol eteri ve MeOH ekstraktlarının minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sırasıyla 400–500 µg/mL ve 300–500 µg/mL aralığında belirlenmiştir. Su ekstraktında ise inhibisyon zon çapı daha küçük ölçülmüşken, MİK değerlerinin 200–300 µg/mL aralığında olduğu bildirilmiştir (Rehman vd., 2012). Rizzello vd. (2013) yaptıkları bir çalışma ile seçtikleri laktik asit bakterilerinin *E. purpurea*'nın antimikrobiyal, antioksidan ve immünomodülatör özelliklerini artırma kapasitesini araştırmayı hedeflemişlerdir. Böylece bu bakterinin fonksiyonel gıda, besin takviyesi veya farmasötik preparat olarak uygulama potansiyelini incelemeyi amaçlamışlardır. *Lactobacillus plantarum* bakterisi ile

fermente edilen ekinezya ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile test edilmiştir. Çalışmada *E. coli, Enterobacter aerogenes, Enterococcus durans, Yersinia enterocolitica, Weissella confusa, Leuconostoc lactis, Propionibacterium jensenii, Lactobacillus sakei,* ve *Bacillus megaterium* bakteri suşları kullanılmıştır. Araştırmanın bulguları, fermente edilmiş ekstraktın test edilen suşların çoğunun büyümesini engellediğini göstermiştir. En önemli sonuç, sırasıyla >3,5 ve 2,5–3,5 mm inhibisyon zon çapları ile *B. megaterium* ve *L. lactis* suşları için elde edilmiştir. *L. sakei* suşu için herhangi bir aktivite gözlenmediği bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada enfeksiyonların tedavisinde tarihsel olarak kullanılan birçok bitkinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraktlar *S. aureus* ATCC 11632 türüne karşı test edilmiştir. Çalışmada kullanılan bitkiler arasında *E. angustifolia* türünün kök kısmından elde edilen etanol bazlı ekstrakt da yer almıştır. Antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesi sıvı mikrodilüsyon analizi ile gerçekleştirilmiş olup belirtilen sonuçlara göre *E. angustifolia* türüne ait ekstraktın etkili olmadığı gösterilmiştir (Snowden vd., 2014). Çalışma ekibimiz tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada (Sharif vd., 2021), Kastamonu ili sınırları içerisinden *E.purpurea* bitkileri toplanmış ve kurutulmuştur. Ardından bitkinin yaprak ve çiçek kısımlarından EA ile MeOH ekstraktları maserasyon tekniği kullanılarak elde edilmiştir. Su ekstraktı ise bitki kısımlarının önceden kaynamış suda bekletilmesi ile edilmiştir. Sonrasında ise *E. purpurea* bitkisinin yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen EA, MeOH ve su ekstraktlarının sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitesi değerlendirilmiştir. Bu analizde ekstraktlar toplam 21 suşa karşı test edilmiş olup tüm ekstraktlar 62,5-500 μg/mL aralığında antibakteriyel aktivite göstermiştir.

2.2 *E. purpurea* Bitkisinde İkincil Metabolit Birikimini Etkileyen Uygulama Çalışmaları

Bitki kaynaklı ikincil metabolitlerin ticari değeri, onları birçok farklı araştırma sürecinin temel itici gücü haline getirmiştir. Bu araştırmaların kapsamını, ikincil metabolitlerin çeşitli kimyasal, fizyolojik ve biyoteknolojik yollar kullanılarak biyosentezlerinin anlaşılması ve manipüle edilmesi gibi yaklaşımlar oluşturmaktadır. Bitkilerde ikincil metabolit üretimini artırmak için birçok biyoteknolojik strateji öne sürülmüş ve uygulanmıştır. Yüksek verimli hücre hatlarının seçimi, kültür ortamının

optimize edilmesi, biyosentetik yolakların düzenlenmesi, elisitörlerin kullanımı, biyoreaktör sistemlerinde büyük ölçekli üretim, kök kültürü, bitki hücrelerinin immobilizasyonu ve biyotransformasyon bunlara örnektir (Jimenez-Garcia vd., 2013). Literatürde bu örneklere ait çalışmalardan birinde *E. purpurea* bitkisinin kallus ve hücre süspansiyon kültürleri 15, 30 ve 60 dakika süreyle UV-C radyasyonuna maruz bırakılmıştır. Bu uyarıcı etkiden 24, 48 ve 72 saat sonra bitkinin ikincil metabolit üretimi analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar doku kültürü tekniğine bağlı olarak değişen inkübasyon süresinin etkisiyle, 60 dakika boyunca uygulanan UV-C ışınlamasının birçok ikincil metabolitin birikimini teşvik etmede en etkili uygulama olduğunu göstermiştir (Abd El-Aal vd., 2016). Yine *E. purpurea* bitkisinin *in vitro* doku kültürü yöntemleri ile yetiştirildiği bir çalışmada, kafeik asit türevlerinin yüksek verimle üretimi için en uygun bitki hücre-doku-organ kültürü tekniğinin ve metil jasmonat (MeJA) konsantrasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır (Demirci, 2022). Metil jasmonat bitkilerde doğal olarak bulunmakta olup dışarıdan uygulandığında bitkinin savunma mekanizmasını uyarmakta ve ikincil metabolit birikimini artırmaktadır (Ho vd., 2020). Bu doğrultuda, Demirci (2022) çalışmasında *in vitro* koşullarda elde edilen bitkiciklerden oluşturulan kallus, sürgün ve kök kültürlerine 50, 100, 150 ve 200 µM MeJA uygulamıştır. Uygulama sonrası kafeik asit türevleri ve toplam fenolik madde miktarları HPLC ve spektrofotometrik yöntemlerle analiz edilmiştir. Sonuçlar MeJA uygulamalarının üç farklı (hücre-doku-organ) kültür tekniğinde toplam fenolikler ve kafeik asit türevlerinin birikimini ve üretim verimliliğini artırdığını göstermiştir. Özellikle kök kültürlerine uygulanan 100 ve 150 µM MeJA sonrasında toplam fenolik ve kafeik asit türevlerinin üretiminde en yüksek verimin elde edildiği bildirilmiştir (Demirci, 2022). Yapılan başka bir çalışmada ise yeşil sentez yöntemiyle elde edilen çinko oksit (ZnO) nanoparçacıkları (NP) *E. purpurea* kallus ekstraktları ile işleme tabi tutulmuştur. Ardından bu ekstraktların antikanser aktivitesi ve toplam flavonoid içeriği incelenmiştir. Ayrıca aynı işlemler ticari ZnO mikropartikülleri (MP) ile de yapılmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Antikanser aktivite analizi meme kanseri hücre hattı (MCF-7), normal meme epitel hücre hattı (MCF-10) ve periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) üzerinde MTT testi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre ZnO nanoparçacıkları (NP) ile işleme tabi tutulan ekstraktlar, MCF-10 ve PBMC'ler üzerinde herhangi bir sitotoksik aktivite göstermezken MCF-7 hücre hattında antikanser aktivitenin gözlendiği

bildirilmiştir. En yüksek toplam flavonoid içeriği bu ekstraktlarda tespit edilmiş olup, ZnO nanoparçacıkları (NPs) içeren ortamın *E. purpurea*'da antikanser aktivitenin ve flavonoid içeriğinin artmasına yol açtığını gösterilmiştir. Böylece *E. purpurea*'nın antikanser aktivitesi ile flavonoid içeriği arasında doğrudan bir ilişki bulunduğu sonucuna varılmıştır (Karimi vd., 2019). Başka bir yaklaşım olarak, biyolojik ve kimyasal gübre uygulamalarının *E. purpurea* L. bitkisinde nicel ve nitel anlamda verime olan etkileri değerlendirilmiştir. Bu doğrultuda yapılan çalışmada biyolojik gübre olarak *Azospirillum lipoferum* (AL), *Azotobacter chrococum* (AC), *Pseudomonas fluorecens* (PF) ve arbusküler mikorizal mantarlardan *Glomus intraradices* kullanılmış; kimyasal gübre olarak ise NPK gübreleri uygulanmıştır. Spektrofotometrik yöntemler yardımıyla bitkilerdeki toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile antioksidan aktivite belirlenmiştir. Ayrıca bazı fenolik bileşikler ve kafeik asit türevlerinin miktarları HPLC analizi ile değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar biyolojik gübre olarak kullanılan *Azospirillum lipoferum* ve *Azotobacter chroococcum* uygulamalarının *E. purpurea*'da kafeik asit türevlerinin birikimini artırmada en etkili sonuçları verdiğini göstermiştir. Çalışma, biyolojik gübrelerin bazı durumlarda kimyasal gübrelerin yerine kullanılabileceğini, çoğu durumda ise kimyasal gübrelerle birlikte uygulanarak tarımsal üretimin sürdürülebilirliğine katkı sağlayabileceğini bildirmiştir (Hajagha vd., 2019). Son yıllarda, özellikle sera koşullarında ve hidroponik (topraksız) yetiştirme sistemlerinde bitki üretimine yönelik çalışmalar artış göstermiş; *E. purpurea* üretimi için de farklı yetiştirme stratejileri geliştirilmiştir. Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada hidroponik yetiştirme koşullarında *E. purpurea* kök ekstraktındaki kafeik asit türevlerinin ve alkamid bileşiklerinin artırılması amaçlanmıştır. Bitkilerin yetiştirme koşullarında farklı perlit partikül büyüklükleri (2 mm'den büyük çok iri perlit, 1,5–2 mm iri perlit, 1–1,5 mm orta perlit, 0,5–1 mm ince perlit ve 0,5 mm'den küçük çok ince perlit) hazırlanmış ve bu perlitler torf ile farklı oranlarda (%100 perlit, %50 perlit–%50 torf, %30 perlit–%70 torf ve %100 torf) karıştırılarak kullanılmıştır. Ek olarak, ortama iki farklı NO_3^-/NH_4^+ oranı (90:10 ve 70:30) uygulanmış ve bitkilerdeki fitokimyasal bileşikler HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, kafeik asit türevleri (şikorik asit, kaftarik asit, klorojenik asit, sinarin ve ekinakozit) ile alkamid miktarının en yüksek düzeyinin özellikle çok ince perlit içeren ve 50:50 perlit–torf oranına sahip ortamda yetiştirilen bitkilerde olduğunu göstermiştir. Ayrıca perlit partikül boyutunun küçülmesi ve

NO_3^-/NH_4^+ oranının artmasıyla bu bileşiklerin miktarının arttığı belirlenmiştir (Ahmadi vd., 2021). Kuraklık ve tuzluluk gibi çevresel kaynaklı streslerin bitkilere kontrollü ve ılımlı düzeylerde uygulanması, bazı fenolik bileşiklerin birikimini teşvik ederek bitkisel ürün kalitesinin artırılmasında etkili bir strateji olarak önerilmektedir (Sabra vd., 2012). Bu çevresel faktörlerden biri olan tuz stresi, Sabra vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada üç farklı ekinezya türüne 0, 50, 75 ve 100 mM oranlarında uygulanmış; ardından ise bu bitkilerdeki kafeik asit türevleri, alkamidler ile ketonların profilindeki değişiklikler araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçları tuzluluk stresinin ikincil metabolitler üzerindeki etkisinin tür ve stres şiddetine bağlı olarak farklı şekillerde değiştiğini vurgulamıştır. Buna göre *E. purpurea* ve *E. angustifolia* bitkilerinde 75 mM NaCl düzeyine kadar uygulanan tuzluluk stresinin kafeik asit türevlerinin ve bazı alkamidlerin birikimini artırdığı bildirilmiştir. Buna karşın 100 mM NaCl gibi daha yüksek tuzluluk düzeylerinde bu bileşiklerin miktarında azalma gözlenmiştir (Sabra vd., 2012). Diğer bir çevresel stres faktörü olan kuraklığın etkisinin incelendiği bir çalışmada, akut kuraklık stresi dönemlerinde *E. purpurea* L. bitki köklerinin kuru ağırlığı, alkamid ve fenolik asit içeriği araştırılmıştır. Çiçeklenmenin başlangıç döneminde uygulanan kısa süreli kuraklık stresinden elde edilen bulgular, bitkinin hasat edilen köklerinde özellikle şikorik asit miktarının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığını göstermiştir. Toplam alkamid ve klorojenik asit düzeylerinin ise kuraklık stresinden önemli ölçüde etkilenmediği belirlenmiştir. Ayrıca bitki yaşı açısından değerlendirildiğinde, toplam fenolik asit içeriği üç yıllık bitkilerde artarken, alkamid miktarında azalma gözlenmiştir (Gray vd., 2003). Kuraklık stresi etkilerinin bitkide büyüme parametreleri ile biyokimyasal değişiklikler üzerinde araştırıldığı başka bir çalışmada, yetiştirilen *E. purpurea* L. bitkilerine PEG 6000 yardımıyla kuraklık stresi uygulanmıştır. Sonrasında bitkinin kök uzunluğu, kök kuru ağırlığı, kök yaş ağırlığı, gövde yaş ağırlığı, gövde uzunluğu, gövde kuru ağırlığı, toplam antioksidan ve toplam fenolik madde miktarları değerlendirilmiştir. Ayrıca bitkiye deniz yosunu (*Ascophyllum nodosum*) uygulamaları yapılarak kuraklık stresinin oluşturduğu etkiler üzerindeki değişim incelenmiştir. Çalışma sonuçları kuraklık stresinin toplam antioksidan madde miktarında artışa sebep olduğunu gösterirken, toplam fenolik madde miktarında ise önemli bir etki oluşturmadığını bildirmiştir. Deniz yosunu uygulamalarının toplam antioksidan ve fenolik madde miktarını istatistiksel olarak önemli düzeyde

etkilemediği rapor edilmiştir (Bat vd., 2019). Bu çalışmaya benzer başka bir araştırmada da *E. purpurea* L. bitkisine dört farklı sulama seviyelerinde (tarla kapasitesinin %40, %60 ve %80'i) kuraklık stresi ve humik asit [0 (kontrol), 250, 500 ve 1000 mg/kg] uygulanarak yaprakların morfolojik, fizyolojik ve fitokimyasal değişiklikleri incelenmiştir. Sonuçlar uygulanan kuraklık stresinin, şikorik asit ve klorojenik asit içeriklerini sırasıyla %91,1 ve %5,1 oranında artırdığını göstermiştir. Humik asit uygulamalarının da klorojenik asit miktarını artırdığı tespit edilmiştir. Çalışma özetle, bitkinin optimum gelişimi için orta düzeyde sulama koşullarını önermiş olup; ayrıca humik asit uygulamalarının kuraklık stresinin olumsuz etkilerini azaltmada etkili olabileceğini ifade etmiştir (Khorasaninejad vd., 2018).

Kuramsal çerçevede ele alınan literatürdeki bulgular, *E. purpurea*'da ikincil metabolit birikimi ile biyolojik aktivitenin çevresel stresler, besleme stratejileri ve büyüme düzenleyici uygulamalardan etkilenebildiğini göstermektedir. Ancak mevcut çalışmalar çoğunlukla bu faktörleri ayrı ayrı değerlendirmiştir. Ayrıca bu çalışmalarda çoğunlukla büyüme, fizyolojik özellikler ve fitokimyasal içerik üzerindeki etkiler incelenmiştir. Buna karşılık, aynı bitki materyalinden elde edilen ekstraktların antikanser ve antibakteriyel aktiviteleriyle birlikte ele alındığı kapsamlı araştırmalar sınırlı kalmıştır. Bu tez çalışmasında ise kontrollü koşullarda yetiştirilen *E. purpurea* bitkilerine farklı düzeylerde kuraklık stresi ile humik/fulvik asit, mikrobiyal gübre, mineral gübre ve giberellik asit uygulamaları yapılarak, elde edilen su, MeOH ve EA ekstraktlarının bazı biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu yönüyle çalışma, *E. purpurea*'da kuraklık stresi ile farklı besleme ve büyüme düzenleyici uygulamaların, ekstraktların biyolojik aktivitelerine yansımasını birlikte değerlendiren bütüncül bir tasarım sunmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyaller

Tezin bu bölümünde çalışma boyunca kullanılan laboratuvar cihazları, kimyasal maddeler, diğer sarf malzemeleri, bitki materyalleri ve hücre hatları ile bakteri suşlarının isimleri verilmiştir. Hücre hatlarının, bakteri suşlarının ve bitki materyallerinin temin edildiği kurumlar veya kişiler belirtilmiştir. Laboratuvar cihazlarının ve sarf malzemelerinin marka/model isimleri yazılmıştır. Çalışmalar, Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'ne ait laboratuvarların ve yine Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan Kanser Genetiği ve Biyoinformatik Laboratuvarı'nın altyapısından faydalanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.1 Çalışma için Kullanılan Bitki Materyalleri

Kuraklık stresi uygulamaları için yetiştirilen *E. purpurea* bitki tohumları, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Doğa Koruma ve Biyoçeşitlilik Yönetimi Bölümü Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY'den temin edilmiştir. Bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalar için yetiştirilen *E. purpurea* bitki tohumları ise Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiştir.

3.1.2 Bitki Besleme ve Büyüme Düzenleyici Uygulamalar için Materyaller

Bu çalışmada bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalar kapsamında ticari ürünlerden faydalanılmıştır. Humik/fulvik asit uygulamaları için Agrobell marka (Türkiye) "HUMACID DRY" isimli ürün kullanılmıştır. Ürünün etiket bilgisine göre garantili içeriği; %40 organik madde, %65 toplam humik + fulvik asit, %8 suda çözünür potasyum oksit (K_2O), %20 maksimum nem ve 115 ppm toplam bor içermektedir. Ürünün pH aralığı ise 9.1–11.1 olarak belirtilmiştir. Mineral gübre uygulamaları için Mineral Tarım (Türkiye) firmasına ait BLOMMOR P (7-21-0+ME) isimli NP gübre çözeltisi ile ROCKET Combi isimli sıvı mikro bitki besin maddeleri karışımı kullanılmıştır. BLOMMOR P ürününün garantili içeriği %7 toplam azot (N),

%7 üre azotu, %21 suda çözünür fosfor pentaoksit (P_2O_5) ve %3 suda çözünür çinko (Zn) şeklinde bildirilmiştir. ROCKET Combi ürününün etiketinde ise sıvı mikro bitki besin maddeleri karışımı olarak %1 bor (B), %3 demir (Fe), %2 mangan (Mn), %0,02 molibden (Mo) ve %4 çinko (Zn) bulunduğu belirtilmiştir. Mikrobiyal gübre uygulamalarında ise BİON-G Ultra isimli ticari mikrobiyal gübre preparatı kullanılmıştır. İçeriğinde ise 10^8 kob/mL *Azotobacter vinelandii* ve 10^8 kob/mL *Bacillus megaterium* suşları bulunmaktadır. Giberellik asit uygulamalarında, Duchefa Biochemie (Haarlem, Hollanda, Katalog no: G0907) firmasına ait Gibberellic Acid 3 (GA_3) kullanılmıştır. Ürün açık sarı kristal toz yapıda olup saflık derecesinin %90,6 olduğu analiz sertifikasında bildirilmiştir.

3.1.3 Çalışma için Kullanılan Bakteri Suşları

Bu tez çalışmasında ekstraktların dört Gram-negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048) ve üç Gram-pozitif (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300) bakteri üzerinde antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Bakteriler Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection, ATCC) referans suşları olup Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.1.4 Model olarak Kullanılan Kanser Hücre Hatları

Kuraklık stresi ve gübre uygulamaları sonrasında elde edilen *E. purpurea* L. bitki ekstraktlarının antikanser aktivite çalışmaları kapsamında hücre canlılığına olan etkisi, insan serviks adenokarsinomu olan HeLa hücre hattı üzerinde değerlendirilmiştir. HeLa hücre hattı Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir.

3.1.5 Çalışma Kapsamında Kullanılan Materyaller ve Sarf Malzemeler

- Torf (Klasmann Potgrond H)
- Tarım Perliti (Ekodağa)

- Saksı (Serfiraz, yuvarlak saksı)
- Bitki Besini (Hoagland) (Phyto Technology Laboratories, ABD)
- Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) (Gibco, Katalog no:41966029)
- Fetal Bovine Serum (FBS) (Gibco, Katalog no:16140071)
- Non-Esansiyel Amino Asit (NEAA) (PAN Biotech)
- İnsülin (0,01 mg/ml) (PAN Biotech)
- Penisilin/Streptomisin karışımı (%0,1) (Gibco, Katalog no: 15140122)
- Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS) (Gibco, Katalog no: 10010023)
- Tripsin-EDTA (Gibco, Thermo Fisher Scientific, Katalog no: 25200056)
- 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid (MTT) (BioFroxx)
- Dimetilsülfoksit (DMSO) (Riedel-de Haen)
- Nutrient agar (NA) (Biolife)
- Mueller Hinton broth (MHB) (Biolife)
- Mueller Hinton agar (MHA) (Biolife)
- Serum Fizyolojik (Sodyum klorür) (Merck-Germany)
- Levofloksasin (Oxoid)
- Etanol (EtOH) (Isolab)
- 96 kuyucuklu plaka (TPP, Katalog no: 92096)
- Serolojik pipetler (Greiner bio-one)
- Mikropipetler (Thermo, Nichipet, CAPP)
- Eppendorf tüpler (Isolab)
- Steril Falkon tüpler (50 mL ve 15 mL) (Capp)
- Hücre büyütme petri kapları (TPP, Katalog no: 93100)
- Thoma lamı (Marienfeld-Neubauer-improved)

3.1.6 Çalışma Kapsamında Kullanılan Cihazlar

- Spektrofotometre (Thermo Scientific, Multiskan Go, Finlandiya)
- Bitki büyütme kabini (Protek Lab, Türkiye)
- CO_2'li İnkübatör (Nüve / EC160)
- Biyogüvenlik Kabini (Tezsan / ClassII)
- Faz Konstrast Görüntüleme Sistemli Kameralı Ters Mikroskop (Leica / DMi1)

- Vortex (Wise-Mix/VM-10)
- Çalkalamalı Kuru Blok Isıtıcı (Biosan / TSH-100)
- Hassas terazi (Precise / XP220A)
- Mcfarland Densitometer Cihazı (Biosan / DEN-1B)
- Masaüstü Santrifüj Nüve / NF 800
- Pamuklu eküvyon (Cultiplast/LP Italiana spa)
- Tek kullanımlık plastik özeler (Medster)
- pH gösterge stribi (Isolab)
- -80 ℃ Derin dondurucu Nuaire/Glacier-Nu 9668E)
- -20/+4 ℃ Buzdolabı (Arçelik/4552)

3.2 Metot

3.2.1 Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi ve Bakım Koşulları

Ekinezya (*Echinacea purpurea* L.) bitki tohumları öncelikle vernalizasyon için +4 ℃'de nemli kağıt üzerinde 20 gün bekletilmiştir. Tohumlar 20 gün sonunda bir gün süreyle çeşme suyunda bekletilip ardından torf (2/3) ve perlit (1/3) içeren viyollere ekilmiştir. Viyollerde çimlenerek 4-5 adet yaprağa ulaşan fideler ağız genişliği 17 cm, derinliği 13,5 cm olan konik şeklindeki plastik saksılara aktarılmıştır. Bitkiler 16/8 saatlik aydınlık/karanlık fotoperiyotta, 25 ℃ gündüz 20 ℃ gece sıcaklıklarında %65 neme sahip iklim odasında büyütülmüştür. Ekimden itibaren gün aşırı besin solüsyonu (Hoagland) ile sulama yapılmıştır. Belirli bir gelişim düzeyine ulaşan bitkiler (8-10 yapraklı) kuraklık stresi ve gübre uygulamaları için gruplandırılmış olup ardından uygulamalar başlatılmıştır (Bat vd., 2019).

3.2.2 Kuraklık Stresi Uygulamaları

Kuraklık stresi, belirli oranlarda su miktarı (%25, %50, %75) ile yapılmıştır. Su miktarı ayarlanarak oluşturulan kuraklık stresinde önce saksıların ağırlıkları tartılmış, ardından torf (2/3) ve perlit (1/3) karışımı ile eşitleme yapılmıştır. Nemölçer cihazı ile toprağın nem miktarı kontrol edilmiş ve tüm bitkiler çok nemli olacak şekilde sulanmıştır. Bitkiler iki gün boyunca takip edilip nem miktarı ölçülmüş ve kaybolan

su miktarı kadar kontrol bitkisi sulanmıştır. Kontrol bitkisine verilen su miktarının yüzdesel (%25, %50, %75) hesaplaması yapılarak diğer saksılara su verilmiştir (Moradi ve Khalili, 2018). Su miktarı ayarlanarak oluşturulan kuraklık stresinde bitki yaprakları solmaya başlayıncaya kadar uygulama devam etmiş ve sonrasında yaprak örnekleri toplanmıştır. Toplanan yaprak örnekleri ekstraktların (EA, MeOH ve su) eldesi için 40 ℃'de etüvde kurutulmuştur.

3.2.3 Gübre Uygulamaları

Yetiştirilen ekinezya (*E. purpurea* L.) bitkilerine Giberellik asit, Humik/Fulvik asit, mineral ve mikrobiyal gübre uygulanmıştır. Giberellik asit uygulaması toprağa sulama yolu (40 cc) ve yaprağa püskürtme yoluyla yapılmıştır. Uygulama oranı 200 mg/L olarak belirlenip Giberellik asit tartıldıktan sonra %95'lik etanolde çözülmüş ve toprak uygulaması için hacim sulama suyu ile tamamlanmıştır. Yaprak uygulaması için ise hacim saf su ile tamamlanmıştır. Yaprakların alt ve üst yüzeylerine eşit miktarda püskürtülmüştür. Toplamda üç defa olmak üzere 15 günde bir uygulama yapılmıştır (Sardoei vd., 2023). Humik/fulvik asit uygulaması toprağa sulama yoluyla (183 mL) ve yaprağa püskürtme yoluyla yapılmıştır. Uygulama oranı 450 mg/L olarak belirlenip Humik+Fulvik asit tartıldıktan sonra saf suda çözülmüş ve toprak uygulaması için hacim sulama suyu ile tamamlanmıştır. Yaprak uygulaması için ise hacim saf su ile tamamlanmıştır. Yaprakların alt ve üst yüzeylerine eşit miktarda püskürtülmüştür. Toplamda üç defa olmak üzere 15 günde bir uygulama yapılmıştır (Khorasaninejad vd., 2019; Unlu vd., 2011;). Mineral gübre uygulaması için ise ″Rocket combi″ ve ″Bloom P″ olarak adlandırılan iki farklı gübre karıştırılarak (2 mL/L) uygulanmıştır. Toprak uygulaması için hacim sulama suyu ile tamamlanmıştır. Yaprak uygulaması için ise hacim saf su ile tamamlanmıştır. Yaprakların alt ve üst yüzeylerine eşit miktarda püskürtülmüştür. Haftada bir toplamda dört defa uygulanmıştır. Mikrobiyal gübre ise sadece topraktan sulama yoluyla 20 mL/L oranda verilmiştir. Mikrobiyal gübre çözeltisi, uygulama öncesinde saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Toplamda üç defa 20 günde bir uygulanmıştır. Kontrol grupları gün aşırı sulama suyu ile sulanmıştır. Uygulamalar tamamlandığında yaprak örnekleri toplanarak ekstraktların (EA, MeOH ve su) eldesi için 40 ℃'de etüvde kurutulmuştur.

3.2.4 Ekstraksiyon Yöntemleri

Kurutulmuş *E. purpurea* bitkisinin yaprak kısımlarından maserasyon tekniği ile EA ve MeOH ekstraktları elde edilmiştir. Toz olarak yaklaşık 10 g yaprak örnekleri bu çözücüler ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Süre sonunda döner buharlaştırıcı yardımıyla ekstraktlar vakum altında 40 ℃'de kurutulmuştur. Su ekstraktlarının elde edilmesinde ise yaklaşık 5 g yaprak örneği, önceden kaynatılarak hazırlanmış suda 20 dakika bekletilmiştir. Ardından liyofilize edilerek su ekstraktları hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan tüm ekstraktlar +4 ℃'de saklanmıştır (Sharif vd., 2021).

3.2.5 Toplam Flavonoid ve Fenolik İçeriğin Belirlenmesi

Ekstraktların toplam flavonoid ve fenolik içerikleri Zengin ve Aktümsek (2014) tarafından tanımlanan, Sharif vd. (2021) tarafından uygulanan kolorimetrik yöntemler ile belirlenmiştir. Toplam flavonoid içerik analizi kapsamında metanol içinde %2'lik alüminyum triklorür ($AlCl_3$) (Sigma-Aldrich) çözeltisi hazırlanmıştır. Her bir ekstrakttan 1 mL alınarak bu çözeltinin 1 mL'si ile karıştırılmıştır. Kör çözelti ise alüminyum triklorür eklenmeden aynı karışım ile oluşturulmuştur. Sonrasında karışımlar oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiş ve absorbans değerleri UV spektrofotometrede 415 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar rutin eşdeğeri (mg RE/g ekstrakt) olarak ifade edilmiştir. Folin–Ciocalteu kolorimetrik yöntemi ile belirlenen toplam fenolik içerikte ise her bir ekstrakttan 1 mL alınarak 1 mL %10'luk Folin–Ciocalteu reaktifi ile karıştırılmış ve vortekslenmiştir. Sonrasında bu karışıma 0,75 mL %1'lik sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Ardından da karışımlar oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda absorbans değerleri 760 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g ekstrakt) olarak ifade edilmiştir.

3.2.6 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Tüm uygulamalardan elde edilen ekstraktların antioksidan özellikleri Sharif vd. (2021)'de Grochowski vd. (2017)'den uyarlanarak kullanılan yöntem esas alınarak; 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil hidrat (DPPH), 2,2′-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS), Demir(III) indirgeme antioksidan gücü (Ferric Reducing

Antioxidant Power, FRAP) ve Bakır(II) indirgeme antioksidan kapasitesi (Cupric Reducing Antioxidant Capacity, CUPRAC) testleri ile değerlendirilmiştir. UV spektrofotometre cihazı kullanılarak absorbans değerleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Trolox eşdeğeri olarak hesaplanmış ve mg TE/g ekstrakt olarak ifade edilmiştir. Testlerde kullanılan DPPH, ABTS, 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazin (TPTZ), amonyum asetat, bakır(II) klorür, EDTA, demir(III) klorür, neoküproin, potasyum persülfat, sodyum fosfat ve Trolox kimyasalları analitik saflıkta olup Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

3.2.6.1 DPPH ve ABTS testleri

DPPH ve ABTS testleri ile ekstraktların serbest radikal giderme aktivitesi değerlendirilmiştir. DPPH testi için her bir ekstrakttan 1 mL alınarak, metanol içinde hazırlanmış %0,004'lük 4 mL DPPH çözeltisine eklenmiştir. Bu işlem sonrasında örnekler karanlık ortamda ve oda sıcaklığında (22-24°C) 30 dk inkübe edilmiş olup absorbans değerleri 517 nm'de ölçülmüştür. ABTS testi için ise yedi mM ABTS çözeltisi, ABTS+ radikal katyonu oluşturmak amacıyla 2,45 mM potasyum persülfat ile reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyon karanlık ortamda oda sıcaklığında 12-16 saat bekletilerek gerçekleştirilmiştir. Sonrasında karışım 734 nm'de 0,70 ± 0,02 absorbans değerine ulaşana kadar metanol kullanılarak seyreltilmiştir. Her bir ekstrakttan 1 mL alınarak, 2 mL'lik bu karışıma eklenmiş ve 30 dk'lık inkübasyon sonrası absorbans değerleri 734 nm'de ölçülmüştür.

3.2.6.2 FRAP ve CUPRAC testleri

Ekstraktların indirgeme gücü kapasitesi FRAP ve CUPRAC yöntemleri ile değerlendirilmiştir. FRAP testi için her bir ekstrakttan 0,1 mL alınarak 2 ml FRAP reaktifine eklenmiştir. FRAP reaktifi, 0,3 M asetat tamponu (pH 3,6) 20 mM HCl içinde hazırlanmış 10 mM TPTZ ile 40 mM ferrik klorür çözeltisinin 10:1:1 (v/v/v) oranında karıştırılmasıyla oluşturulmuştur. FRAP reaktifi ve ekstrakt karışımı oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiş, ardından absorbans değerleri 593 nm'de ölçülmüştür. CUPRAC testi için de 1 mL 10 mM bakır(II) klorür ($CuCl_2$), 1 mL 7,5 mM neoküproin ve 1 mL 1 M amonyum asetat tamponu (pH 7,0) içeren reaksiyon

karışımı hazırlanmış olup, ardından her bir ekstrakttan bu karışıma 0,5 mL eklenmiştir. Kör çözelti ise aynı karışım kullanılarak ancak bakır(II) klorür eklenmeden hazırlanmıştır. Daha sonra karışımlar oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra absorbans değerleri 450 nm'de ölçülmüştür.

3.2.7 Antikanser Aktivite Analizi

3.2.7.1 Hücre canlılık analizi için hücre kültürü koşulları

Mevcut çalışmada stres ve gübre uygulamaları yapılmış *E. purpurea* bitkisinin yaprak kısımlarından elde edilen EA, MeOH ve su ekstraktlarının HeLa hücre hattı üzerinde *in vitro* olarak antikanser aktivitesi incelenmiştir. Bu kapsamda Mitokondriyal Dehidrogenaz Enzim Aktivitesi (MTT) metodu uygulanmıştır. HeLa hücreleri %10 fetal sığır serumu (FBS, Gibco), %0,1 penisilin/streptomisin karışımı (her biri 10.000 U/ml) (Gibco, Thermo Fisher Scientific), L-glutamin ve L-asparajin içermeyen %1 esansiyel olmayan amino asitler (NEAA, Pan-Biotech GmbH, Aidenbach, Almanya) ve 0,01 mg/mL insan insüliniyle (Pan-Biotech) zenginleştirilmiş Dulbecco'nun modifiye Eagle besiyerinde (DMEM, Gibco, Grand Island, NY, ABD) 37 °C'de %5 CO_2 atmosferli inkübatörde (EC 160, Nüve Laboratuvar ve Sterilizasyon Teknolojileri, Ankara, Türkiye) kültüre edildi. Hücreler 60,1 cm^2'lik yüzeye sahip steril petri kaplarında (Techno Plastic Products AG, İsviçre) çoğaltılmıştır. Hücre yoğunluğu petri yüzeyini kaplayacak düzeye (%70-80) gelince pasajlama işlemi yapılmıştır.

3.2.7.2 Hücre sağkalımının belirlenmesi

Hücre canlılığının belirlenmesi MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid] yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikle 96 kuyucuklu plakalara steril petrilerde yeterli yoğunluğa ulaşmış hücrelerden ekim işlemi yapılmıştır. Bu işlem için ilk olarak hücre besiyeri uzaklaştırılıp 1× PBS ile yıkama yapılmıştır. Yıkama işlemi sonrasında petrilere 1 mL 1× Tripsin-EDTA eklenmiş, ardından hücreler tripsinizasyon için inkübatörde yaklaşık 5 dk tutulmuştur. Petri yüzeyinden ayrılan hücreler besiyeri ile toplanarak santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırılıp pelet taze 1 mL besiyeri içinde homojenize

edilmiştir. Bu hücrelerden 10 katlık seyreltme yapılarak Thoma lamında (Marienfeld) hücre sayımı yapılmıştır. Kuyucuk başına 10^3 sayıda hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu plakalara ekim yapılmıştır. Hücrelerin yeterli yoğunluğa ulaşması için 37 °C'de %5 CO_2 atmosferli inkübatörde bekletilmiştir. Kuyucuklarda yeterli yoğunluğa ulaşmış hücrelere ekstraktların hazırlanan çalışma stoklarından 10'ar µL eklenerek 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 µg/mL konsantrasyonları test edilmiştir. Kontrol grubu olarak ekstraktların çözücüleri ve hücre kontrolü (sadece hücre + besiyeri) kullanılmıştır. Ekstraktların zamana bağlı etkisini incelemek için 24 ve 48 saat inkübasyon yapılmıştır. Bu süreler sonunda, her bir konsantrasyonun etkisini görselleştirmek için hücre fotoğrafları ters mikroskop (LEICA DMI1) ve LAS EZ görüntüleme yazılımı kullanılarak 10× objektif ile çekilmiştir. İşlem sonrası kuyucuklara 0,025 g MTT ve %0,5 FBS ile hazırlanmış besiyerinden 100 µL bırakılmış olup dört saatlik inkübasyon (37 °C'de %5 CO_2 koşullarında) başlatılmıştır. İnkübasyonun bitmesiyle kuyucuklardaki MTT içeren besiyeri uzaklaştırılıp yerine 100 µL saf DMSO eklenmiştir. Formazan kristallerinin tamamen çözünmesi için kuru blok ısıtıcı yardımıyla 400 rpm'de 15 dk çalkalama işlemi uygulanmıştır. Ardından spektrofotometre cihazı ile 570 nm'lik dalga boyunda örneklerimizin verdiği absorbans değeri ölçülmüştür.

3.2.8 Antibakteriyel Aktivite Analizi

E. purpurea L. bitkisine uygulanan kuraklık stresi ve gübreleme işlemlerinin ardından hazırlanan EA, MeOH ve su ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir.

3.2.8.1 Besiyerlerinin hazırlanması ve kültür işlemleri

Bakterilerin kültürü için ticari Nutrient Agar (NA) ve Muller Hinton Broth (MHB) besiyerleri kullanılmıştır. Üretici talimatları doğrultusunda Nutrient Agar için 23 g/L, Muller Hinton Broth için ise 22 g/L konsantrasyonlarında besiyerleri saf suda hazırlanmış ve ardından pH ölçümü yapılmıştır. Hazırlanan besiyerlerine 121°C'de 15 dk boyunca otoklav işlemi yapılmıştır. Otoklav bitiminde besiyerleri 50-55°C'ye kadar soğutulmuş olup 90 mm çapındaki petrilere 20-25 mL olarak dağıtılmıştır.

Besiyerleri oda sıcaklığında donduktan sonra deneylerde kullanılıncaya kadar 4°C'de saklanmıştır.

Her çalışma öncesinde stok kültürlerden Nutrient Agar besiyerinde taze kültür hazırlanmış ve oluşan kolonilerin saflığı kontrol edilmiştir. Saf kolonilerden yeniden Nutrient Agar besiyerine ekim yapılarak taze alt kültürler hazırlanmıştır. Deneysel çalışmalar bu taze kültürler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.8.2 Sıvı mikrodilüsyon yöntemi

Öncelikle steril serum fizyolojik (%0,9) çözeltisi içerisine canlandırılan bakterilerin taze kültürlerinden inokulum yapılmıştır. İnokulum densitometre yardımıyla McFarland 0,5 (bakteriler için 1×10^8 kob/mL) yoğunluğunda hazırlanmıştır. Analiz için 96 kuyucuk U tabanlı plakalar kullanılmış olup, önce kuyucuklara MHB besiyeri eklenmiştir. Ardından çalışma stoğu hazırlanmış ekstraktlardan 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5 µg/mL dozlarında seri sulandırmalar yapılmıştır. Son basamak olarak 0,5 McFarland yoğunluğundaki inokulumdan 10 kat sulandırma yapılmış ve bu seyreltmeden kuyucuklara 5 µL eklenerek bakteri konsantrasyonunun 5×10^5 kob/mL olması sağlanmıştır. Ayrıca belirlenen kuyucuklar üreme kontrolü (bakteri + besiyeri) ve sterilite kontrolü (ekstrakt + besiyeri) için kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak levoflaksasin antibiyotiği, negatif kontrol olarak ekstrakt çözücüleri deneylerde test edilmiştir. Bu işlemlerin ardından plaka 37 °C'de 18±2 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda gözle görünür bakteri üremesinin gözlenmediği en düşük ekstrakt konsantrasyonu minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak belirlenmiştir.

3.2.9 İstatistiksel Analizler

Antikanser aktivite analizlerinden elde edilen sonuçlarda önce hücre canlılığı % olarak Microsoft Office Excel programı yardımıyla hesaplanmıştır. Hücre canlılık grafikleri Excel programı ile oluşturulmuş, verilerin ortalama ve standart hata (SE) değerleri aynı program aracılığıyla hesaplanmıştır. İstatistiksel anlamlılık Student's t-testi ile değerlendirilmiş; $p < 0,05$, $p < 0,01$ ve $p < 0,001$ değerleri sırasıyla anlamlı kabul edilmiştir. Deneyler üç teknik ve üç biyolojik tekrar halinde yürütülmüştür. Yarı

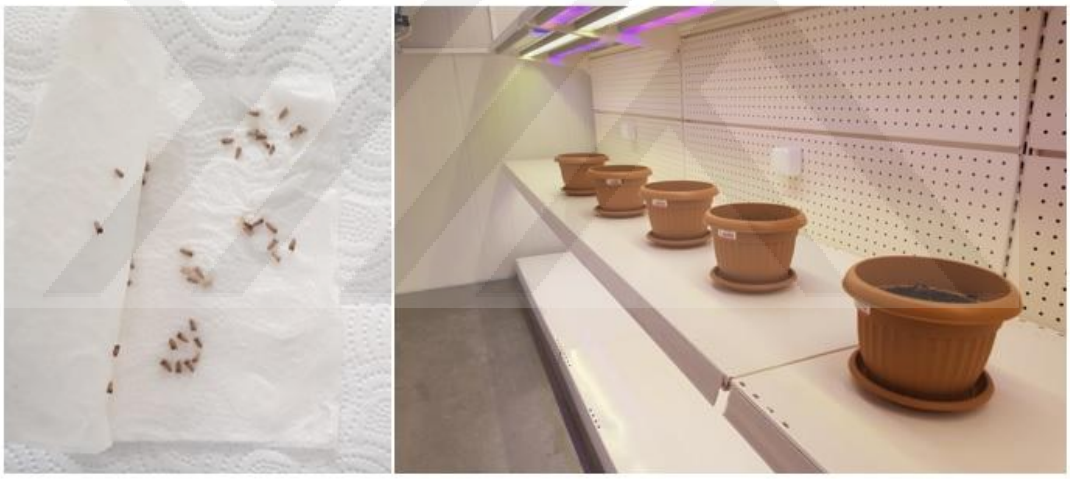
maksimum inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}) değerleri, GraphPad Prism 8 programı kullanılarak nonlineer regresyon analizi ile belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Kuraklık Stresi Uygulamalarına Ait Bulgular

4.1.1 Yetiştirilen Bitkiler ve Uygulamalar

Bu tez çalışmasında ilk etapta kuraklık stresi uygulamaları için tohumdan itibaren *E. purpurea* bitkisi kontrollü koşullar altında iklimlendirme odasında yetiştirilmiştir. Yetiştirilen bitkilere kuraklık stresi kontrol bitkilerine verilen su miktarının yüzdesel (%25, %50, %75) hesaplaması yapılarak uygulanmıştır. Bitki yetiştirme işlemlerine ilk olarak 3 Haziran 2022 tarihinde vernalizasyon işlemi ile başlanmış olup, 25 Haziran 2022 tarihinde tohumların saksılara ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık bir ay içinde çimlenip büyümeye başlayan bitkilerin gelişim süreçleri takip edilerek fotoğraflanmış ve örnek görseller Şekil 4.1 ile Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



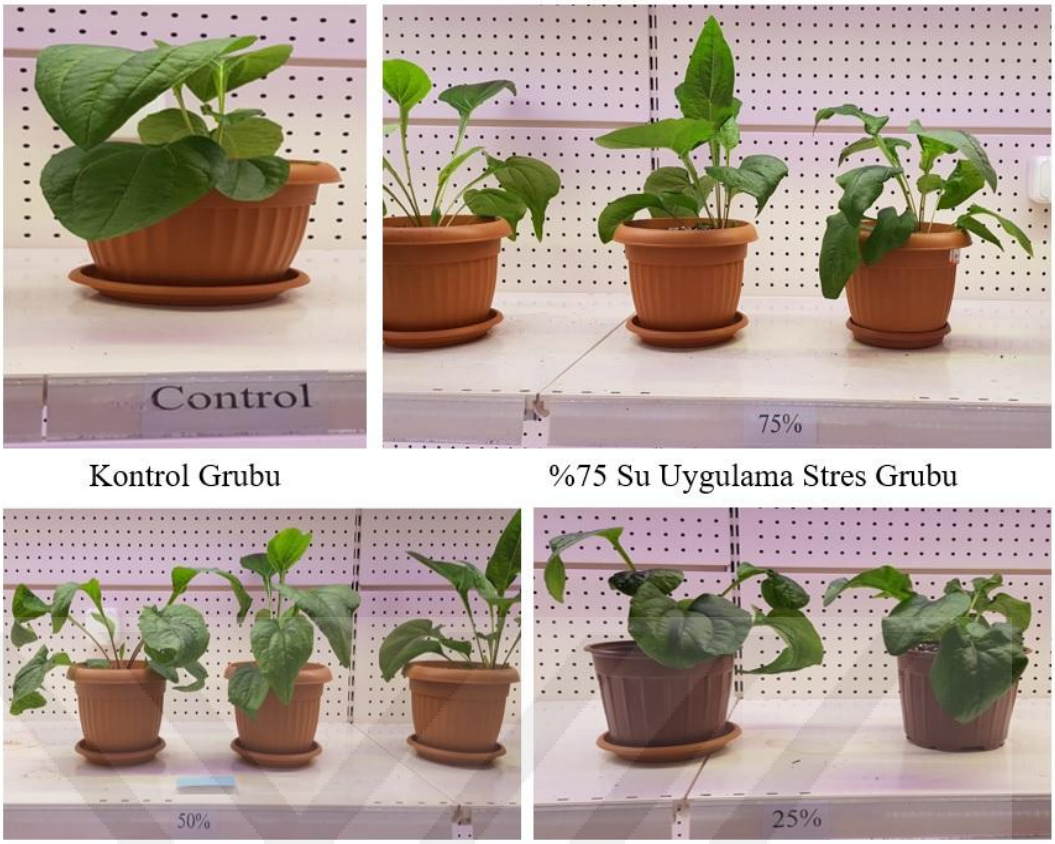
a b

Şekil 4.1 Tohumların vernalizasyon işlemi (a) saksılara ekilen tohumlar (b)



Şekil 4.2 Yetiştirme sürecinin farklı zamanlarındaki *E. purpurea* bitkisi

Yetiştirilen bitkilerden belirli bir olgunluğa gelen yaklaşık 8 ila 10 yapraklı bitkiler kuraklık stresi uygulamaları için gruplandırılmıştır (Şekil 4.3). Kontrol bitkilerine verilen su miktarının yüzdesel (%25, %50, %75) hesaplaması yapılarak uygulanan kuraklık stresi, bitki yaprakları solmaya başlayıncaya kadar uygulanmaya devam etmiş ve sonrasında yaprak örnekleri toplanmıştır. Beklenildiği üzere, örnekler arasında %25 su uygulanarak en şiddetli kuraklık stresi oluşturulmuş ve en belirgin yaprak solması gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Kontrol Grubu %75 Su Uygulama Stres Grubu

%50 Su Uygulama Stres Grubu %25 Su Uygulama Stres Grubu

Şekil 4.3 Kuraklık stresi uygulamaları için gruplandırılan örnek *E. purpurea* bitkileri



Kontrol Grubu %75 Su Uygulama Stres Grubu %50 Su Uygulama Stres Grubu

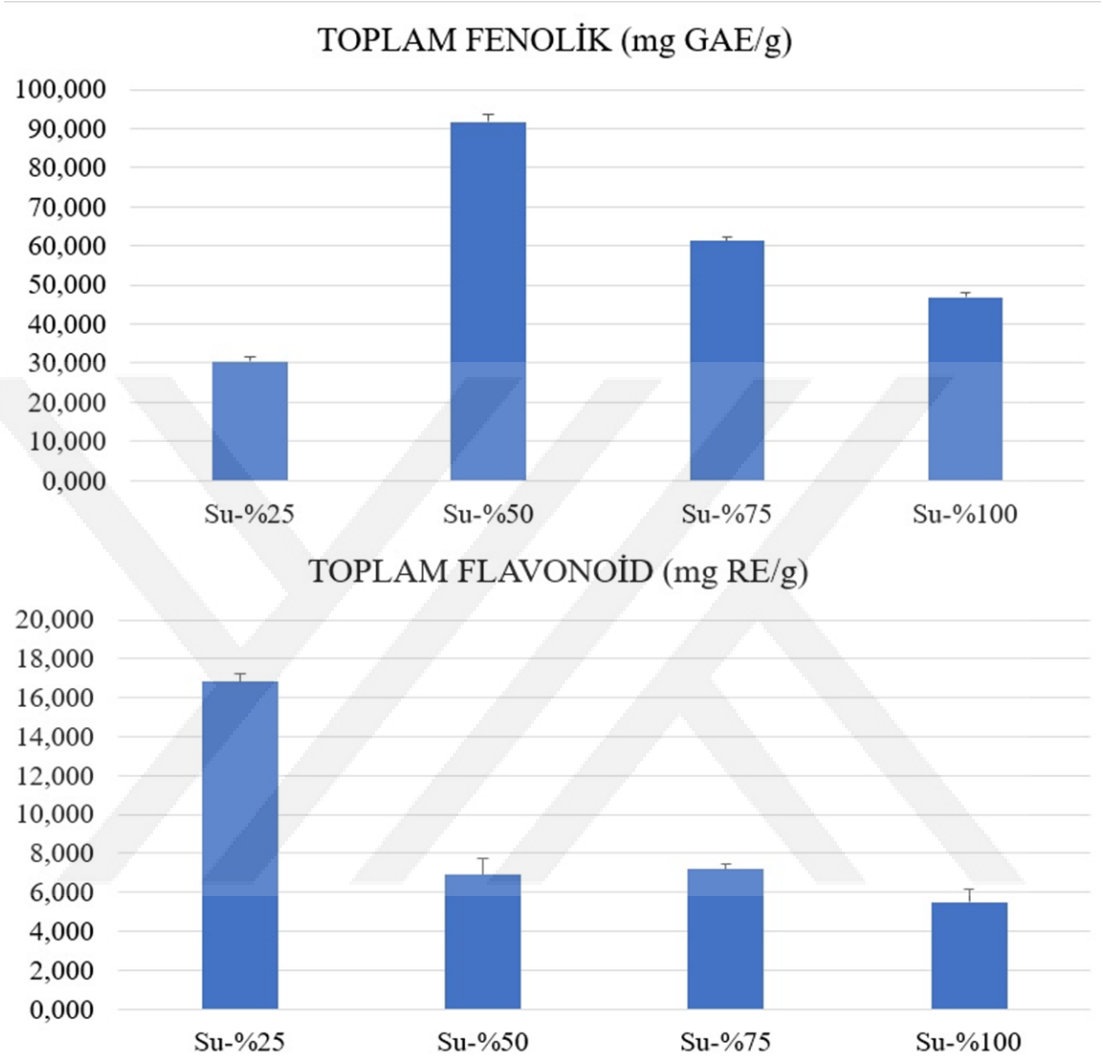
%25 Su Uygulama Stres Grubu

Şekil 4.4 Kuraklık stresi uygulamaları sonrası toplama öncesi örnek *E. purpurea* bitkileri

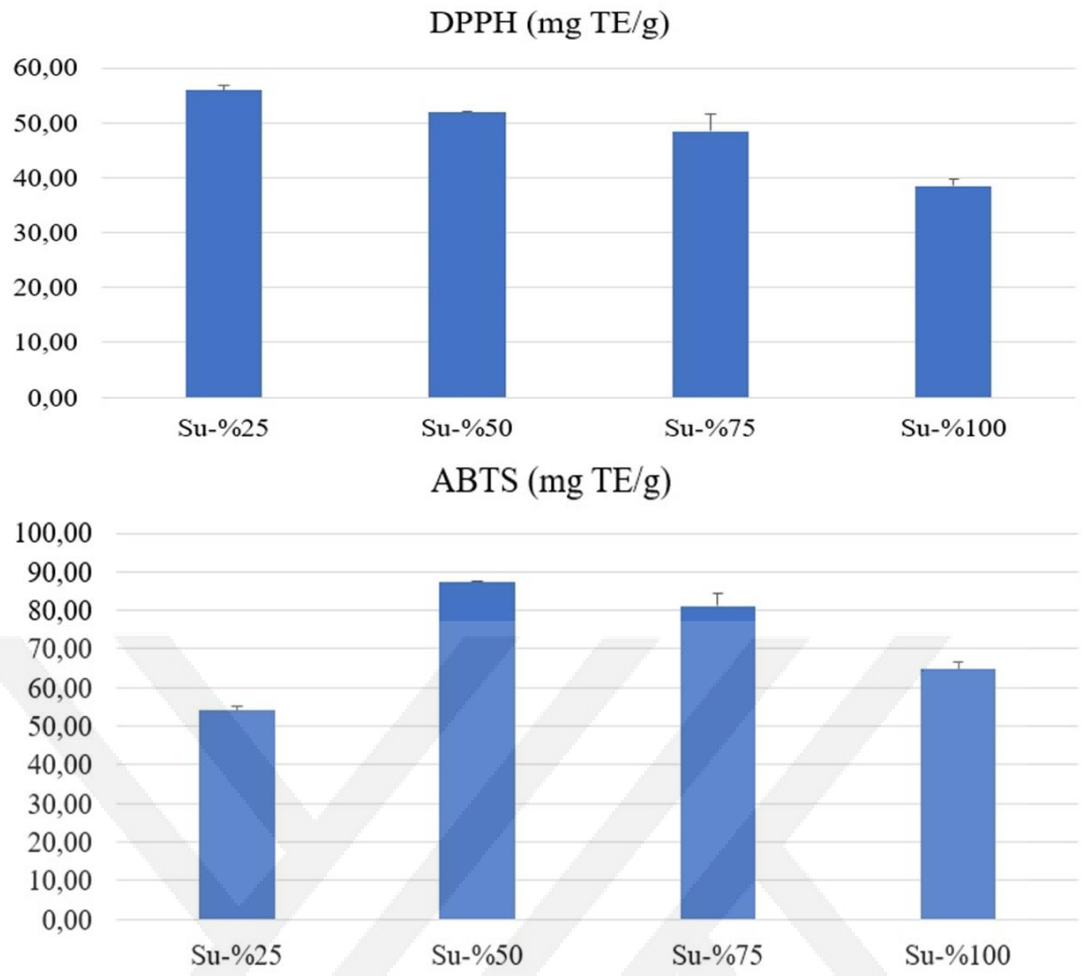
4.1.2 Kuraklık Stresi Sonrası Ekstraktların Ön Değerlendirme Sonuçları

Kuraklık stresi uygulamalarının ardından yaprak örneklerinden elde edilen ekstraktların toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri ile antioksidan kapasiteleri ön değerlendirme kapsamında belirlenmiştir. Antikanser ve antibakteriyel aktivite analizlerinde kullanılacak ekstraktlar bu ön değerlendirme sonuçları doğrultusunda seçilmiştir. Sonuçlara göre toplam fenolik içerikte %50 su uygulanan gruptan MeOH ekstraktında en yüksek artış gözlenmiştir. Toplam flavonoid içeriğinde %75 su

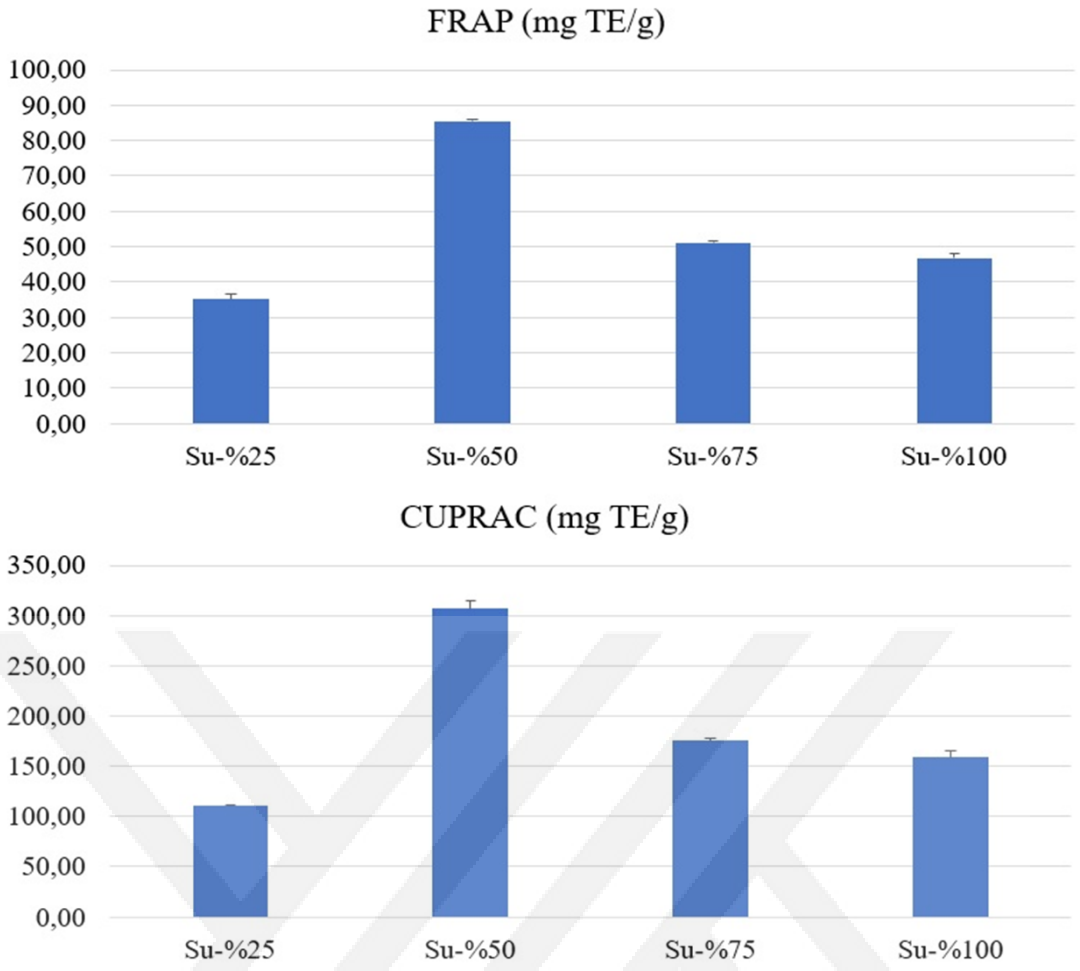
uygulanan grupta EA ekstraktında en yüksek artış gözlenirken, antioksidan kapasite test sonuçlarında ise %25 su uygulanan stres grubundaki su ekstraktında en yüksek artışlar tespit edilmiştir. Tüm sonuçlar Grafik 4.1, Grafik 4.2, Grafik 4.3, Grafik 4.4, Grafik 4.5 ve Grafik 4.6'da verilmiştir.



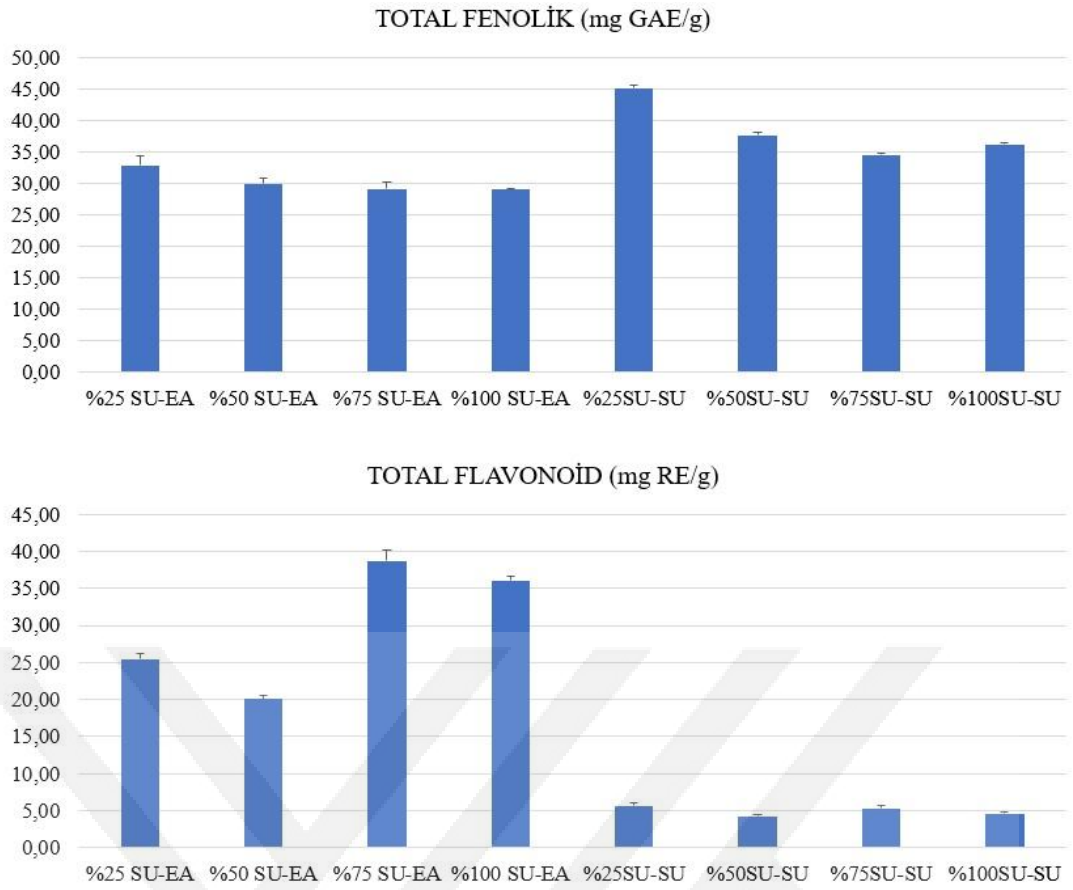
Grafik 4.1 Kuraklık stresi MeOH ekstraktına ait toplam flavonoid ve fenolik içerik sonuçları. Su-%25: %25 su uygulanan grup, Su-%50: %50 su uygulanan grup, Su-%75: %75 su uygulanan grup, Su-%100: %100 su uygulanan kontrol grubu.



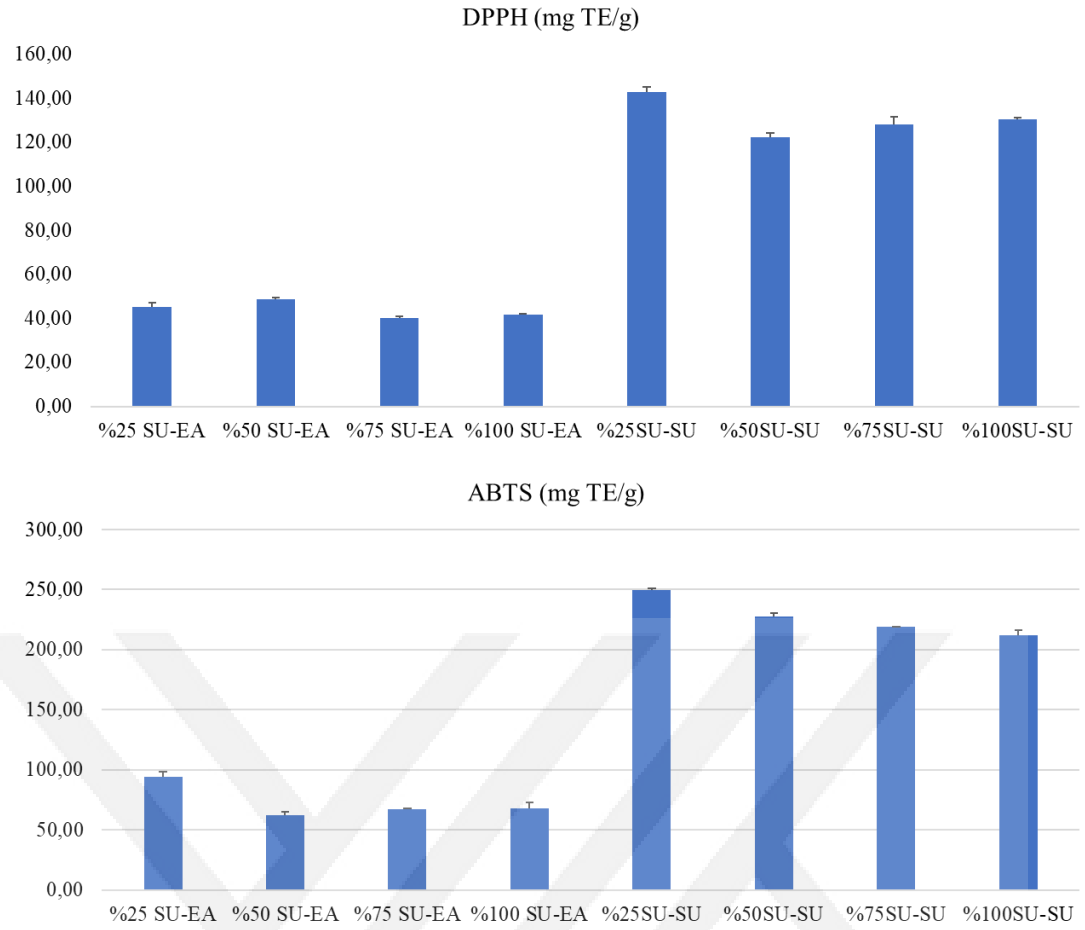
Grafik 4.2 Kuraklık stresi MeOH ekstraktına ait DPPH ve ABTS antioksidan sonuçları. Su-%25: %25 su uygulanan grup, Su-%50: %50 su uygulanan grup, Su-%75: %75 su uygulanan grup, Su-%100: %100 su uygulanan
kontrol grubu.



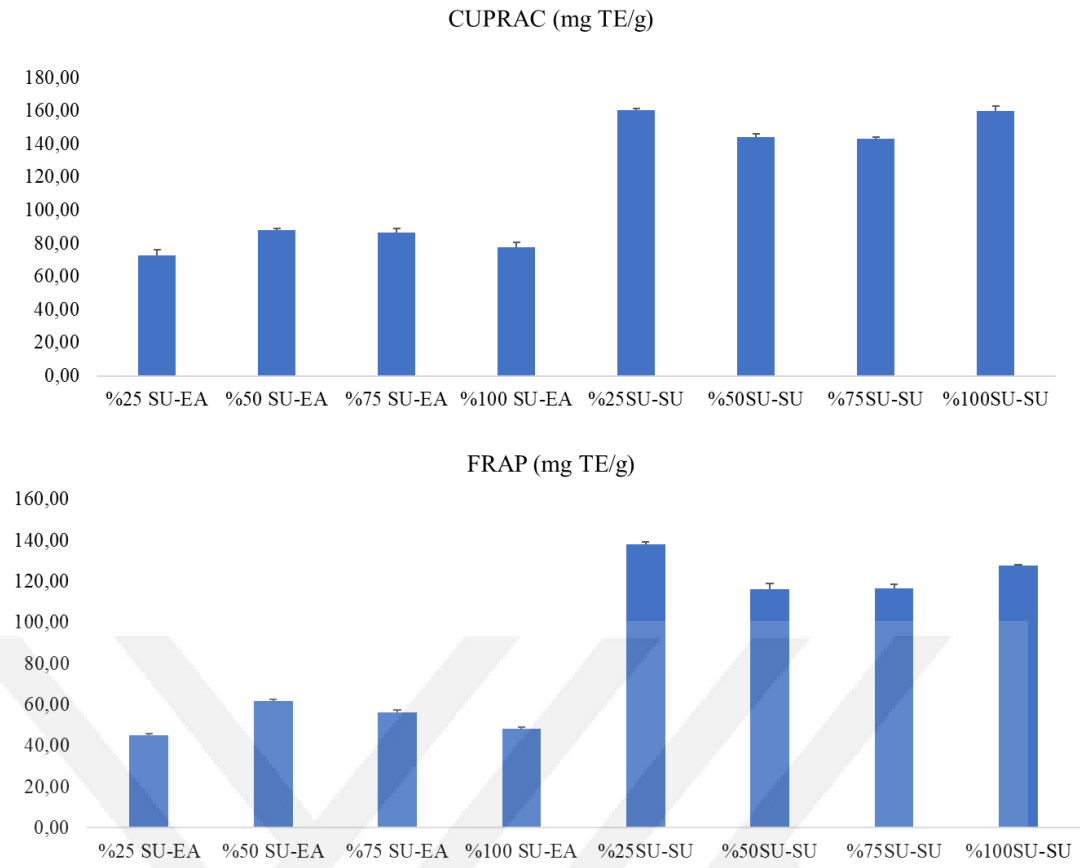
Grafik 4.3 Kuraklık stresi MeOH ekstraktına ait FRAP ve CUPRAC antioksidan sonuçları. Su-%25: %25 su uygulanan grup, Su-%50: %50 su uygulanan grup, Su-%75: %75 su uygulanan grup, Su-%100: %100 su uygulanan kontrol grubu.



Grafik 4.4 Kuraklık stresi EA ve su ekstraktlarına ait toplam flavonoid ve fenolik içerik sonuçları. %25 Su: %25 su uygulanan grup, %50 Su: %50 su uygulanan grup, %75 Su: %75 su uygulanan grup, %100 Su: %100 su uygulanan kontrol grubu.



Grafik 4.5 Kuraklık stresi EA ve su ekstraktlarına ait DPPH ve ABTS antioksidan sonuçları. %25 Su: %25 su uygulanan grup, %50 Su: %50 su uygulanan grup, %75 Su: %75 su uygulanan grup, %100 Su: %100 su uygulanan kontrol grubu.

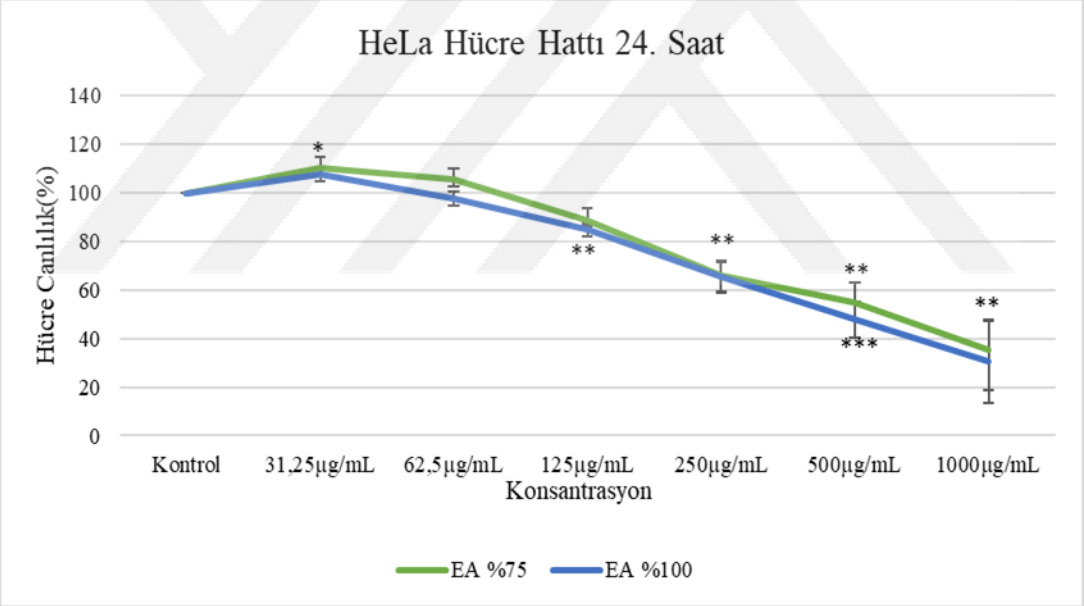


Grafik 4.6 Kuraklık stresi EA ve su ekstraktlarına ait FRAP ve CUPRAC antioksidan sonuçları. %25 Su: %25 su uygulanan grup, %50 Su: %50 su uygulanan grup, %75 Su: %75 su uygulanan grup, %100 Su: %100 su uygulanan kontrol grubu.

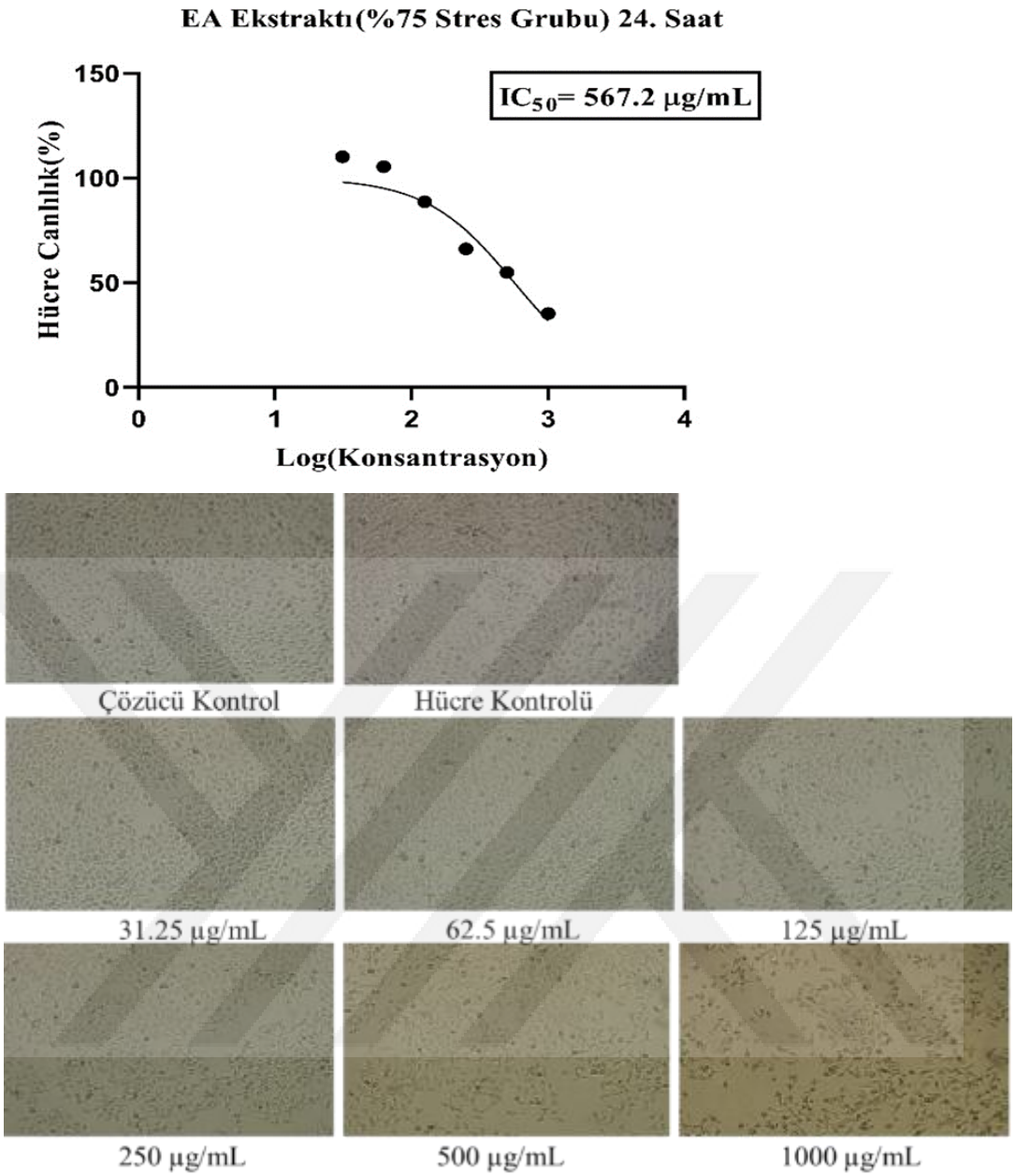
4.1.3 Kuraklık Stresi Sonrası Antikanser Aktiviteye Ait Hücre Canlılık Sonuçları

Kuraklık stresi uygulamalarından sonra toplanan yaprak örnekleri 40 °C etüvde kurutulmuş ve ardından bu örneklerden EA, MeOH ve su ekstraktları elde edilmiştir. Bu ekstraktların toplam fenolik, flavonoid içerikleri ve antioksidan kapasite analizleri ön değerlendirme kapsamında gerçekleştirilmiş olup hücre canlılık testi için kullanılacak bitki ekstraktları bu doğrultuda seçilmiştir. Bu kriterlere göre antioksidan, total flavonoid ve fenolik içerikte önemli artış gösteren kuraklık stres örneklerinden %75 su uygulanan gruptan EA ekstraktı, %50 su uygulanan gruptan MeOH ekstraktı, %25 su uygulanan stres grubundan ise MeOH ve su ekstraktları seçilmiştir. Kontrol grubu olarak da %100 su uygulanmış kuraklık stresi oluşturulmamış örneklerden elde edilen EA, MeOH ve su ekstraktları kullanılmıştır. Ekstraktların HeLa hücre canlılığına etkisi 24. ve 48. saatlerde incelenmiş olup hücre canlılık sonuçları Grafik

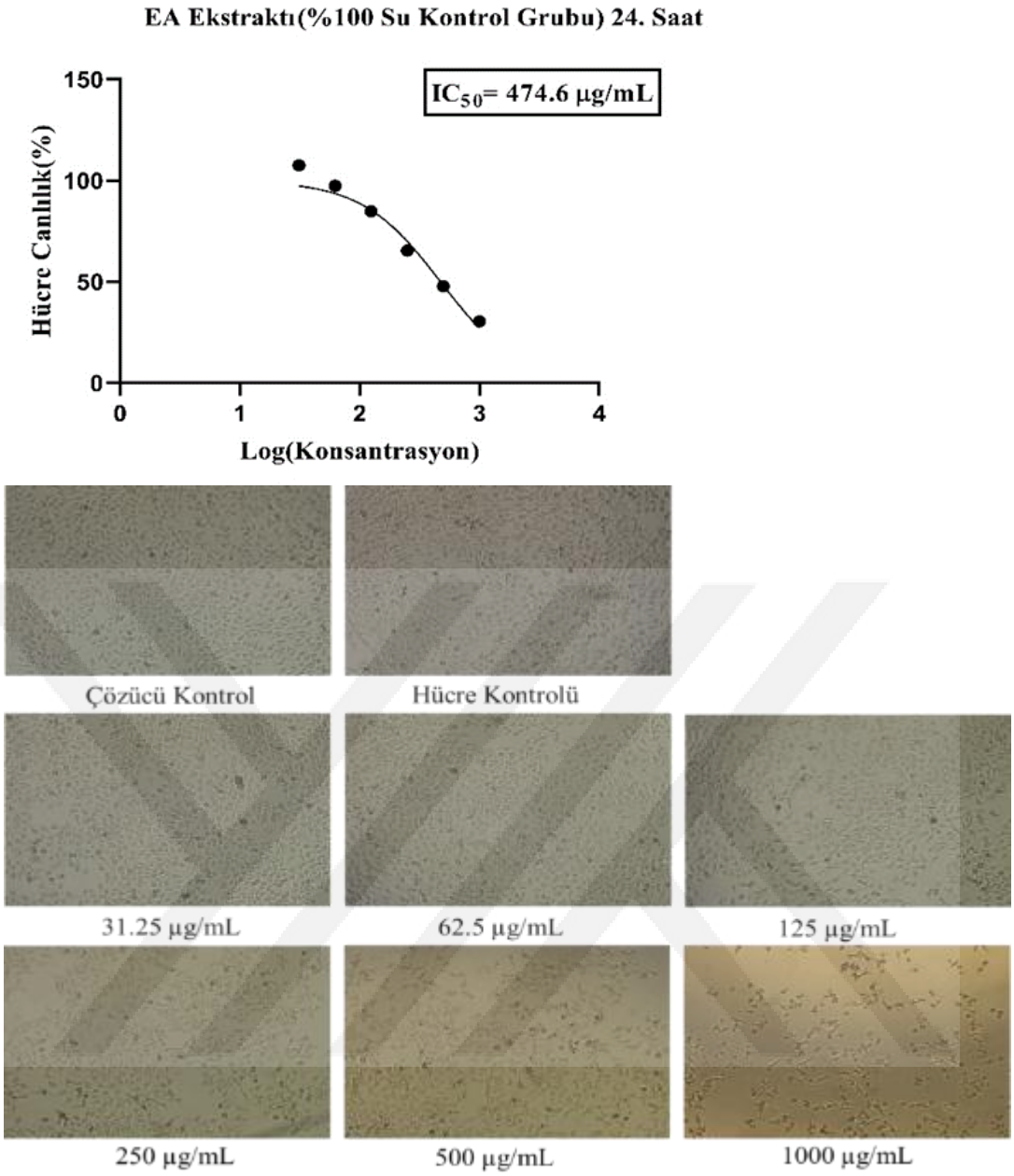
4.7, Grafik 4.8, Grafik 4.9, Grafik 4.10, Grafik 4.11 ve Grafik 4.12'de verilmiştir. Oluşturulan stres gruplarından %75 oranında su uygulanmış ve kontrol grubu (%100 su) örneklerinin EA ekstraktında ise her iki saatte de iki örnek grubunda doza bağımlı azalış gözlenmiştir. Stres grubu ve kontrol grubu arasında hücre canlılığı değerleri sırasıyla 1000 µg/mL konsantrasyon için 24. saatte %35,32 ve %30,41 olarak belirlenmiştir. Hücre canlılığı değerleri sırasıyla 1000 µg/mL konsantrasyon için 48. saatte ise %16,03 ve %7,41 olarak belirlenmiştir. Grafik 4.7 ve Grafik 4.8'de görüldüğü üzere stres ve kontrol gruplarının diğer konsantrasyonlarında da hücre canlılık değerleri birbirleriyle benzer düzeylerde seyretmiş olup sonuçlar istatistiksel olarak da tutarlılık göstermiştir. Bu sonuçlardan istatistiksel olarak anlamlı olanlar grafiklerde gösterilmiştir. Ayrıca 24. ve 48. saatler için hesaplanan IC_{50} değerleri ve test edilen konsantrasyonlara ait hücrelerin görüntüleri Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14 Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir. Ayrıca her bir ekstrakta ait IC_{50} değerleri ayrı ayrı olarak Tablo 1, Tablo 2 ve Tablo 3'de verilmiştir.



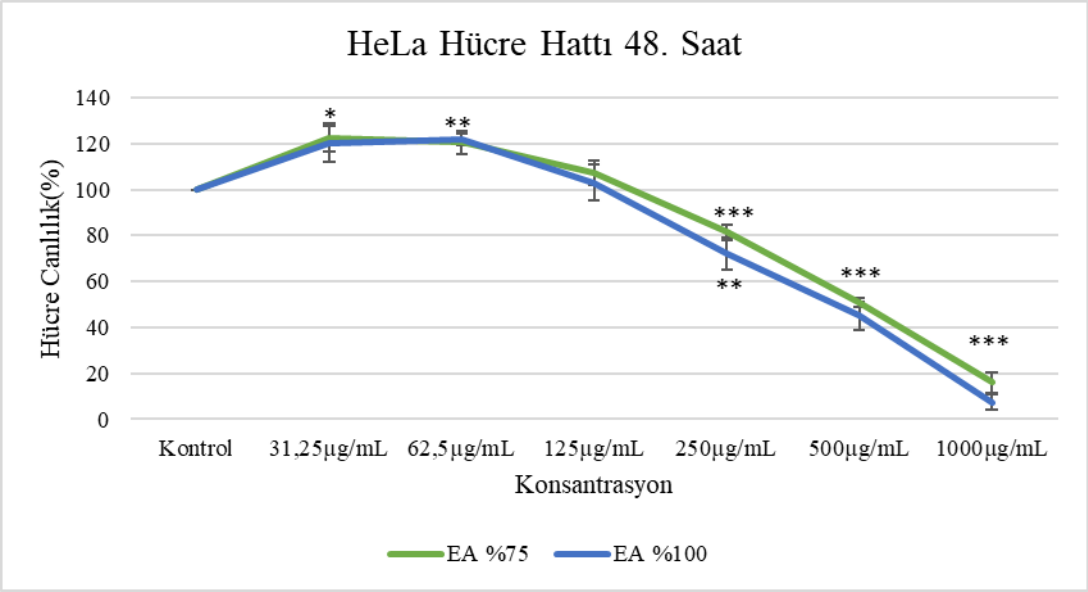
Grafik 4.7 %75 su ve %100 su gruplarına ait EA ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SE, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$



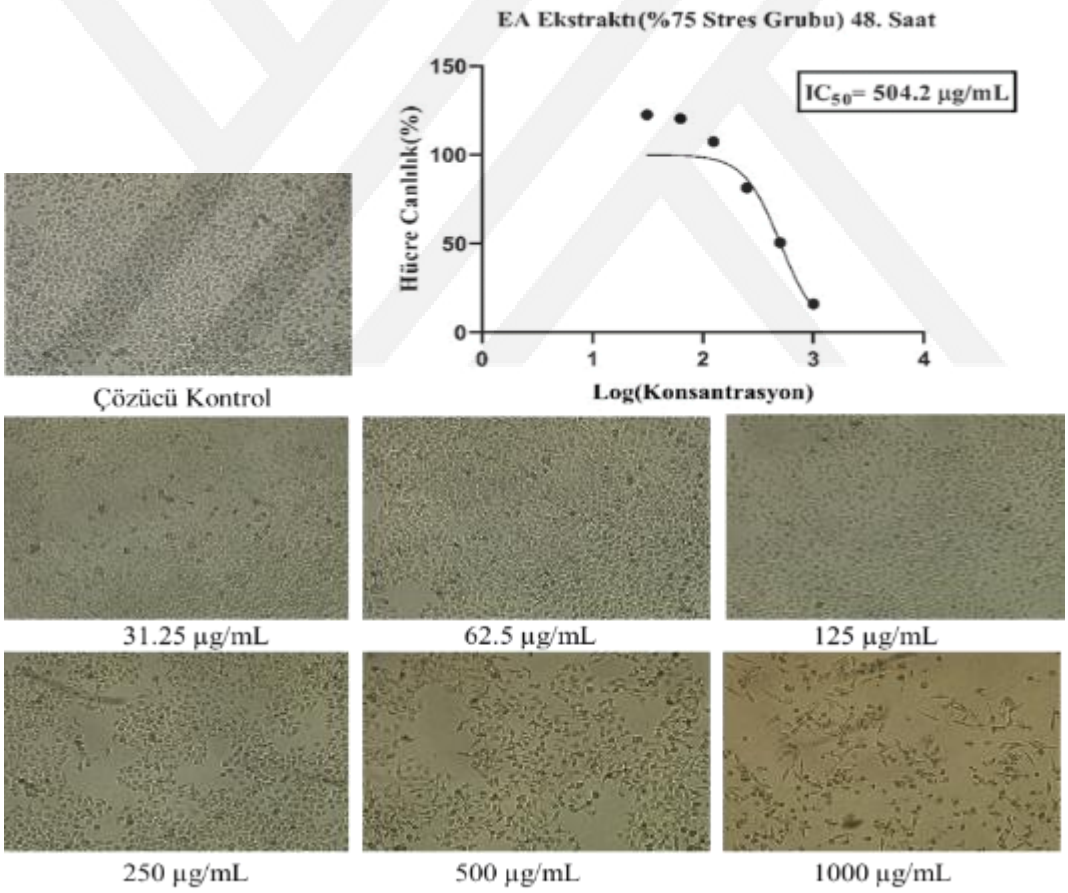
Şekil 4.5 %75 su grubu EA ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri



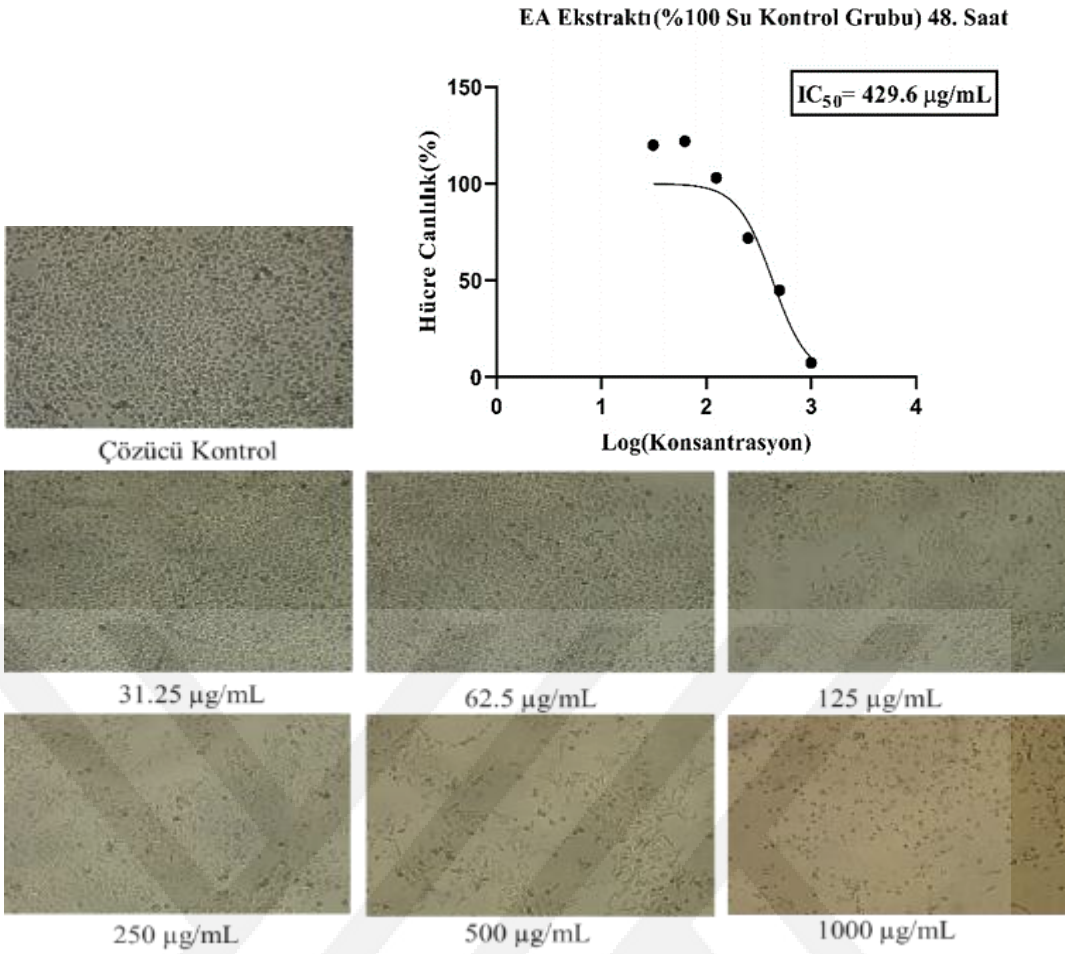
Şekil 4.6 %100 su grubu EA ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri



Grafik 4.8 %75 su ve %100 su gruplarına ait EA ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SE, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$



Şekil 4.7 %75 su grubu EA ekstraktının HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değeri



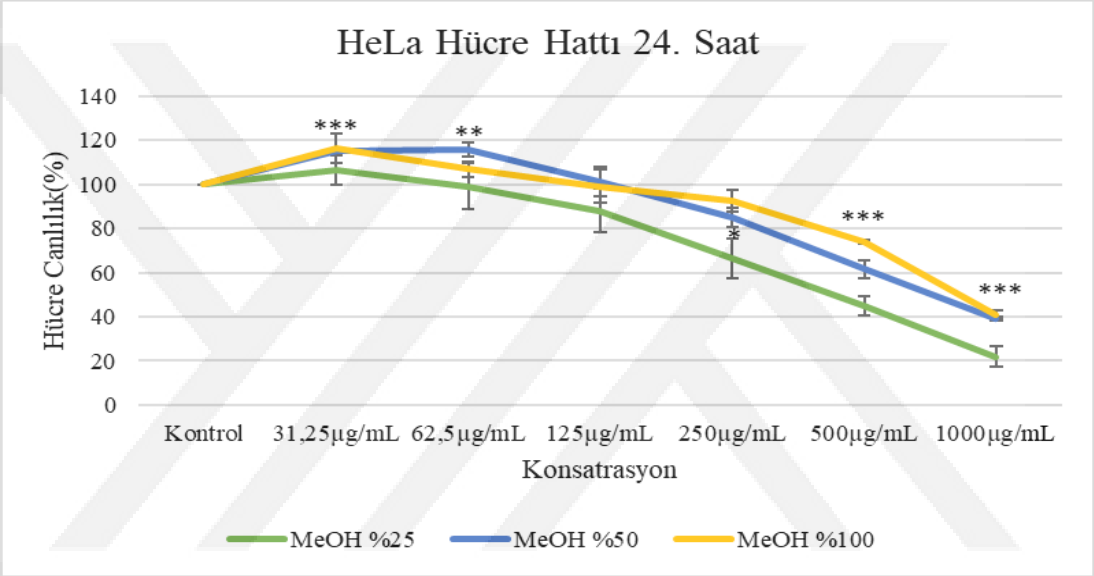
Şekil 4.8 %100 su grubu EA ekstraktının HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değeri

Tablo 4.1 EA ekstraktına ait IC_{50} değerleri

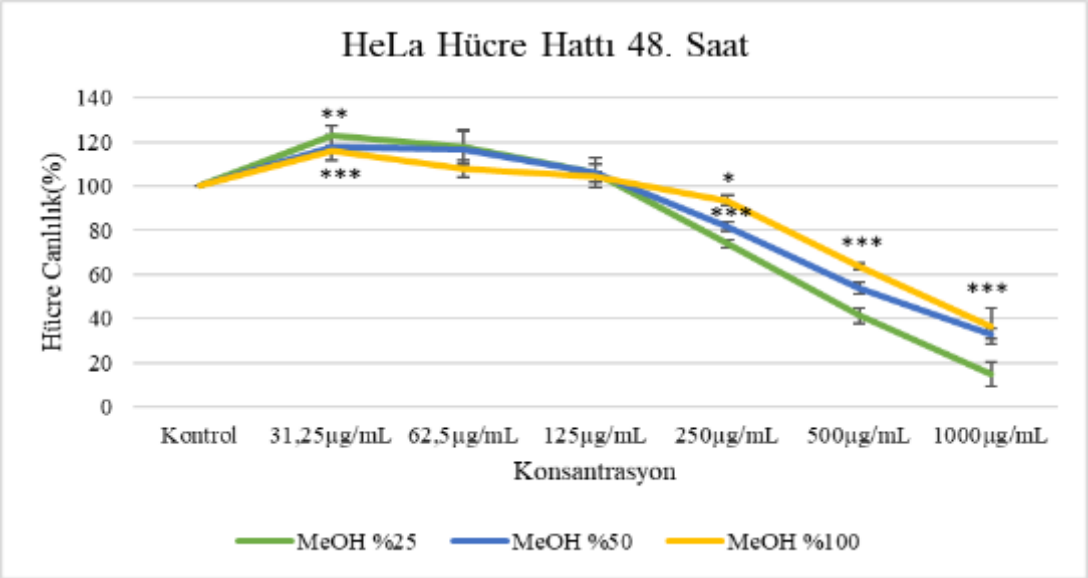
EA Ekstraktı	**24. Saat IC_{50} Değerleri (µg/mL)**	**48. Saat IC_{50} Değerleri (µg/mL)**
%100 Su Kontrol Grubu	474,6	429,6
%75 Su Stres Grubu	567,2	504,2

Sonuçlara göre Grafik 4.9'da görüldüğü üzere %25 oranında su uygulanmış stres grubu örneğinin MeOH ekstraktında ise HeLa hücrelerinde 24. saatte doza bağımlı azalış gözlenmiş olup test edilen tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığı kontrol grubu (%100 su) ile %50 oranında su uygulanmış stres grubu örneğine göre daha azdır. Aynı örneğin Grafik 4.10'da verilen 48. saatteki sonuçlarına göre ise doza bağımlı azalış gözlenmiş olup 250, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarında hücre canlılığı kontrol grubu (%100 su) ile %50 oranında su uygulanmış stres grubu örneğine göre daha azdır. %50 oranında

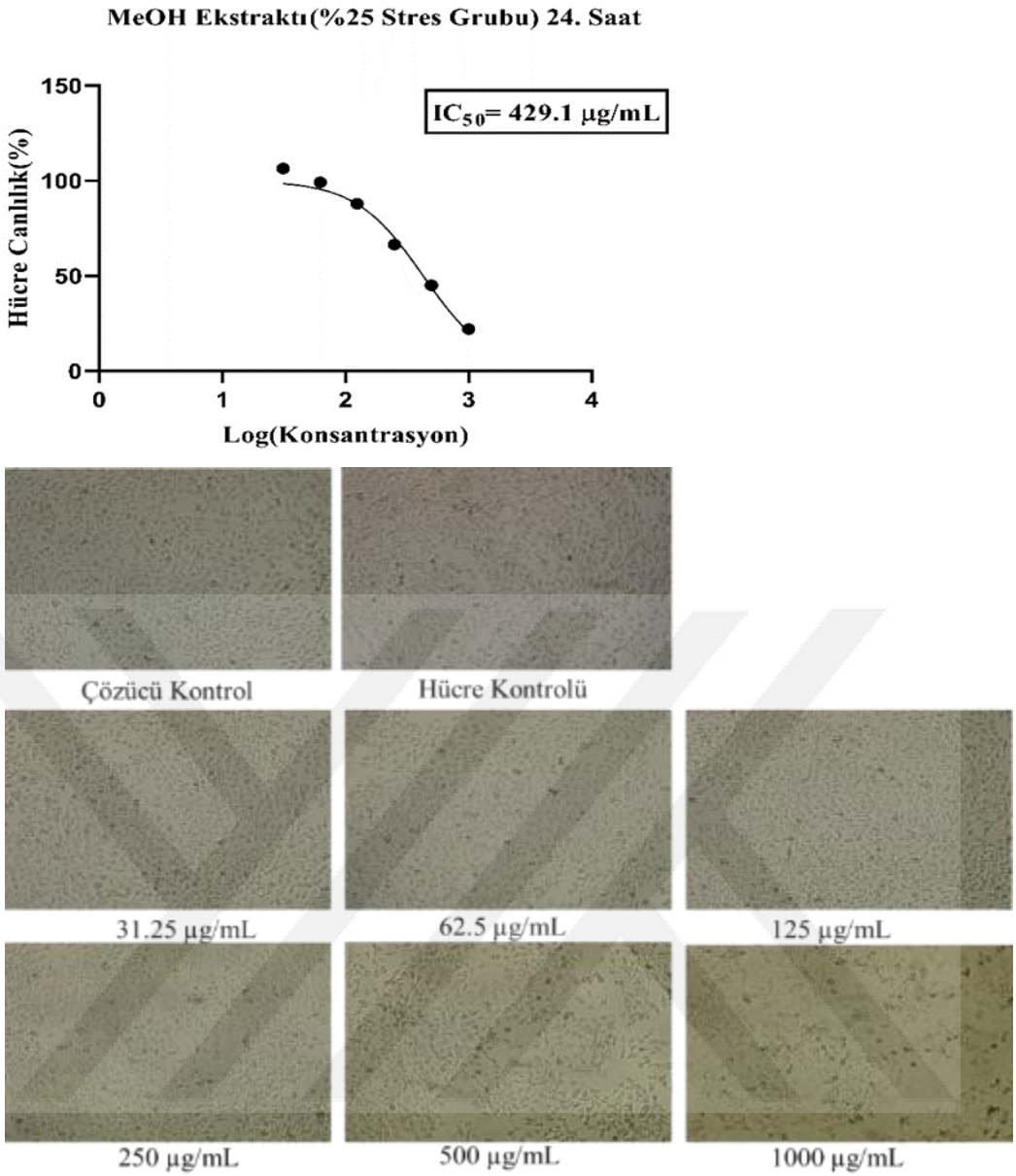
su uygulanmış stres grubu örneğinin MeOH ekstraktında 24. saatte doza bağımlı azalış gözlenmiş olup 250, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarında hücre canlılığı kontrol grubu (%100 su) örneğine göre daha azdır. Test edilen tüm konsantrasyonlarda ise %25 oranında su uygulanmış stres grubu örneğine göre hücre canlılığı daha fazladır. Örneğin 48. saatteki sonuçlarında ise doza bağımlı azalış gözlenmiş olup 250, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarında hücre canlılığı kontrol grubu (%100 su) örneğine göre daha az diğer stres grubuna (%25) göre ise daha fazladır. Kontrol grubunda 24. saatte doza bağımlı azalış gözlenmiş olup 250, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarında her iki stres grubu örneğinin sonuçlarına göre hücre canlılığı daha fazladır. Aynı durum 48. saatteki sonuçlarda da gözlenmiştir.



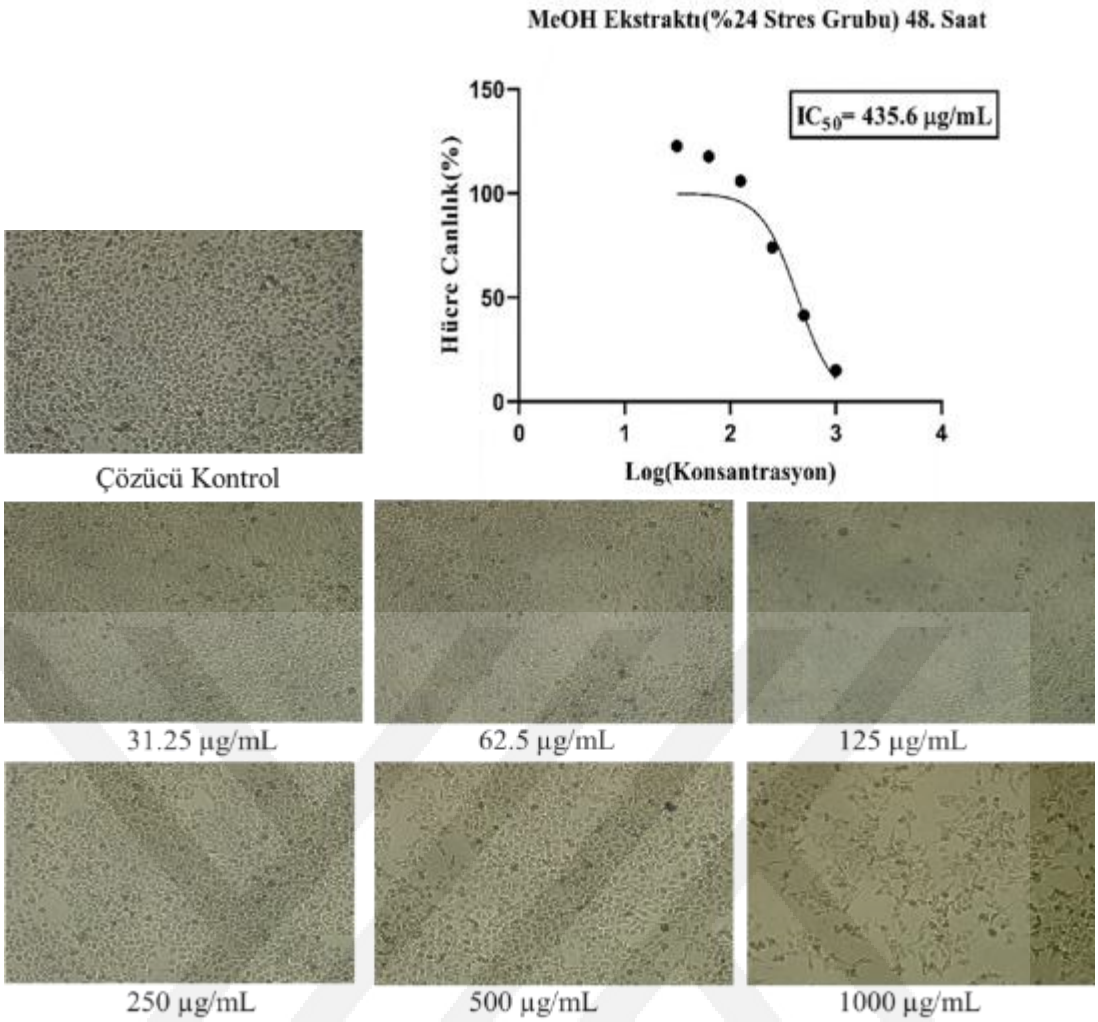
Grafik 4.9 %25 su, %50 su ve %100 su grupları MeOH ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$



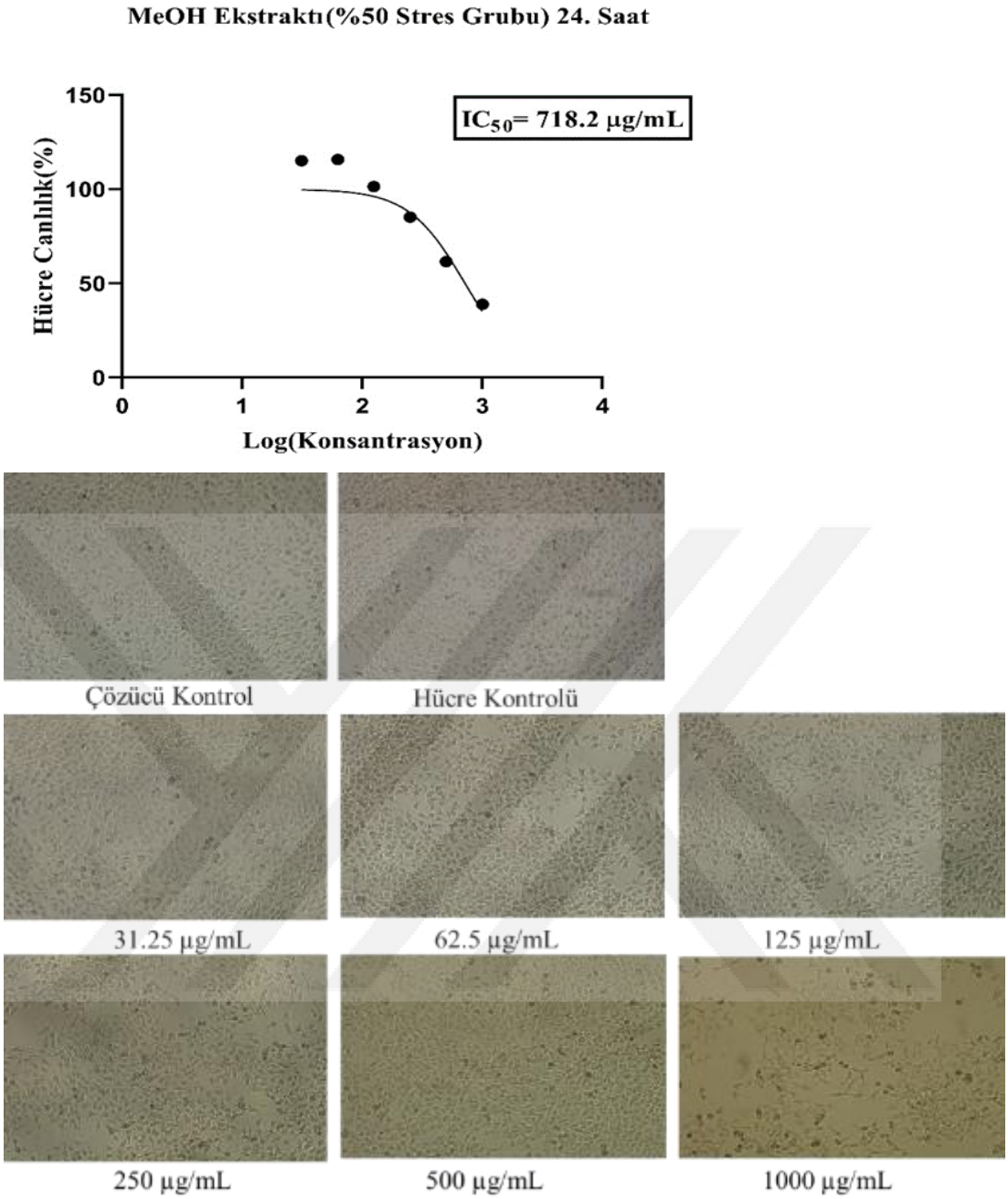
Grafik 4.10 %25 su, %50 su ve %100 su grupları MeOH ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$



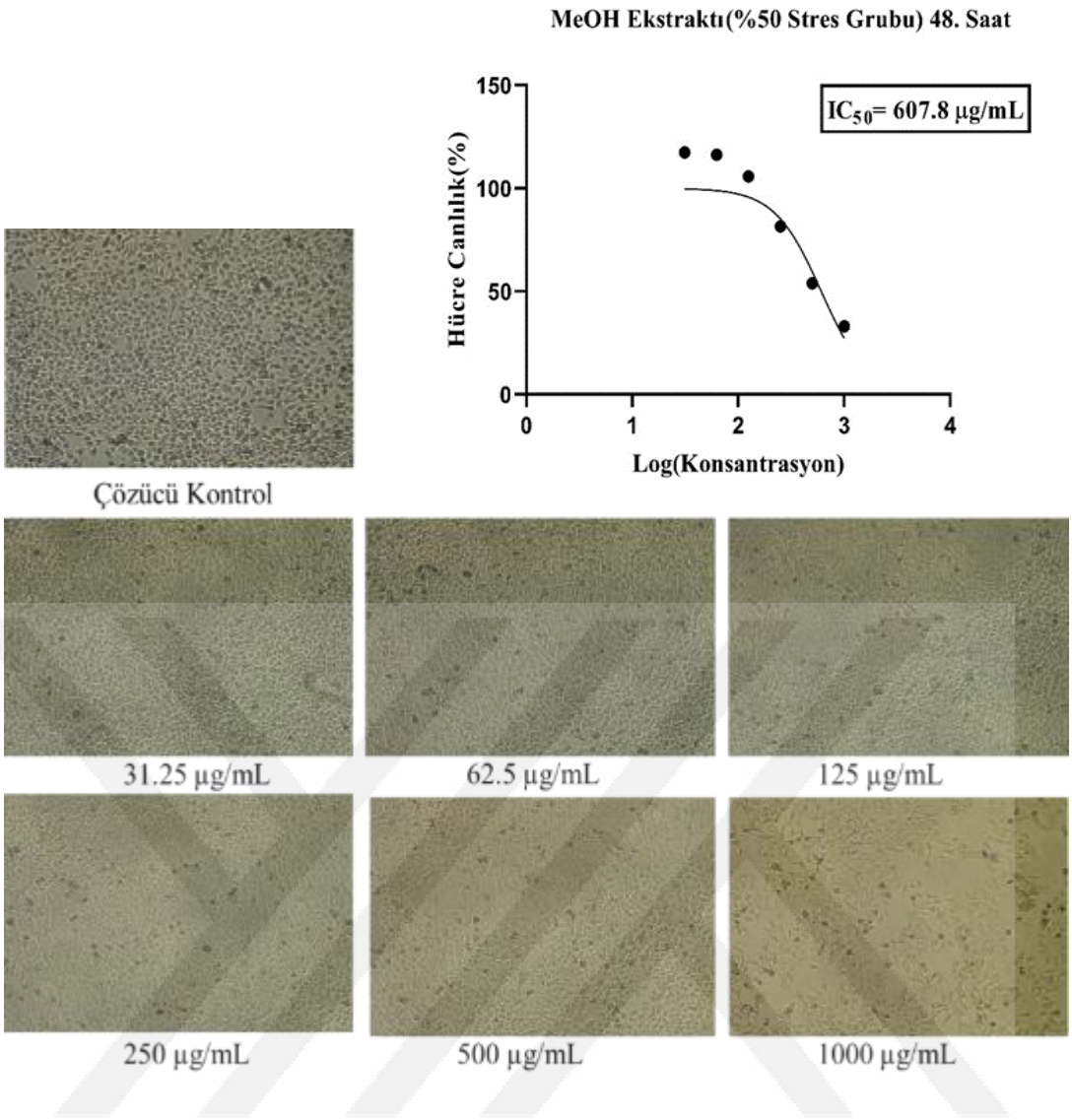
Şekil 4.9 %25 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri



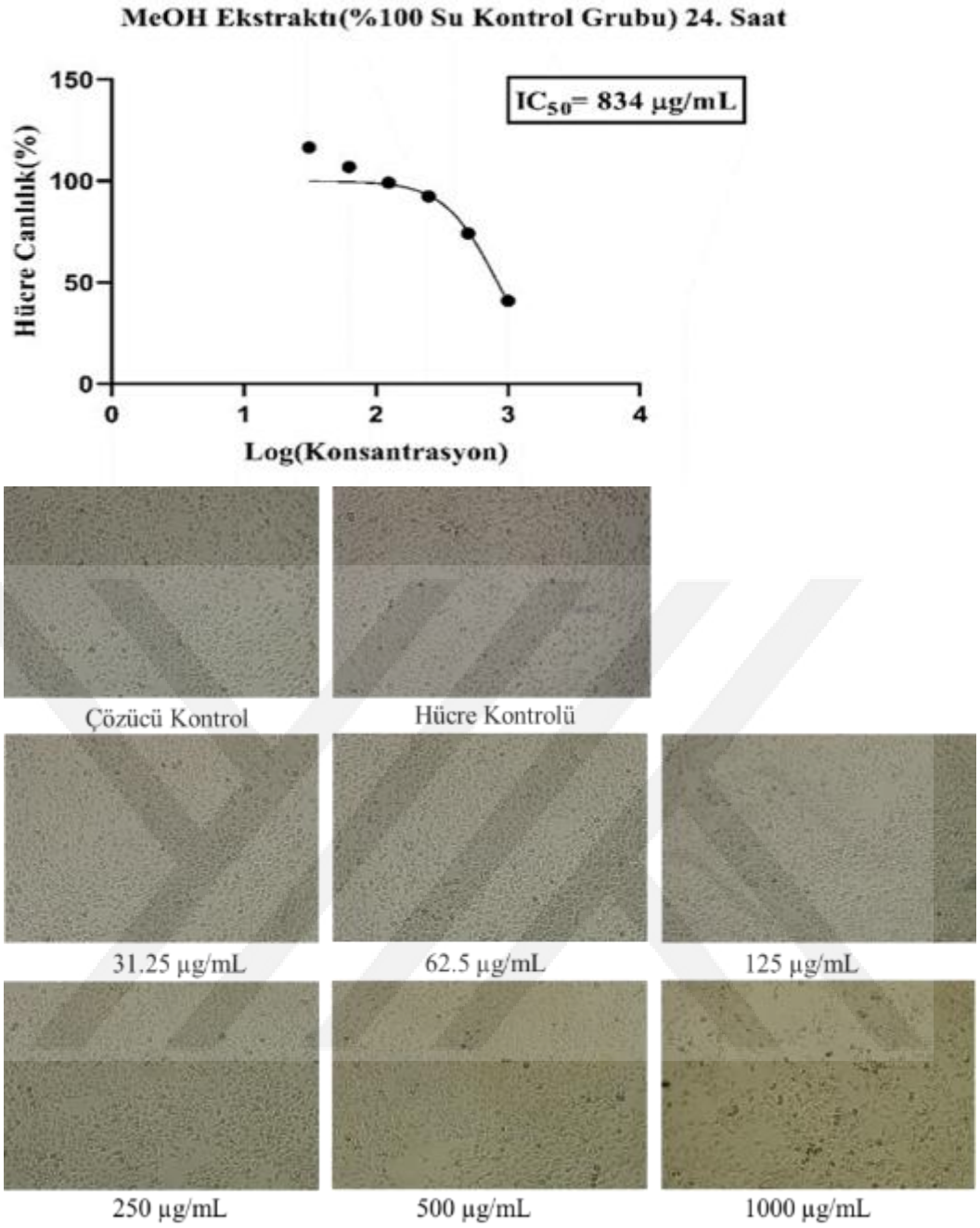
Şekil 4.10 %25 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değeri



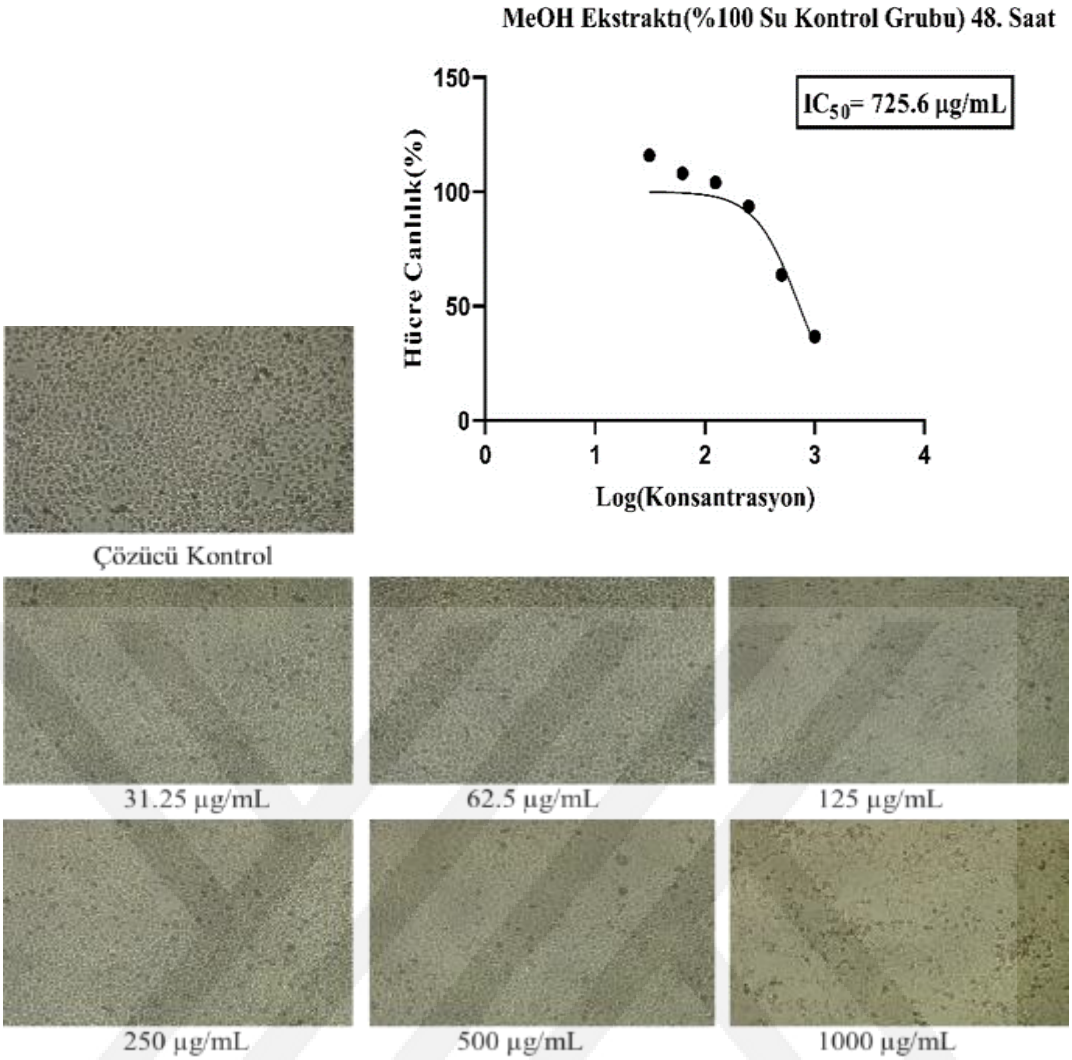
Şekil 4.11 %50 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri



Şekil 4.12 %50 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değeri



Şekil 4.13 %100 su grubu MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri

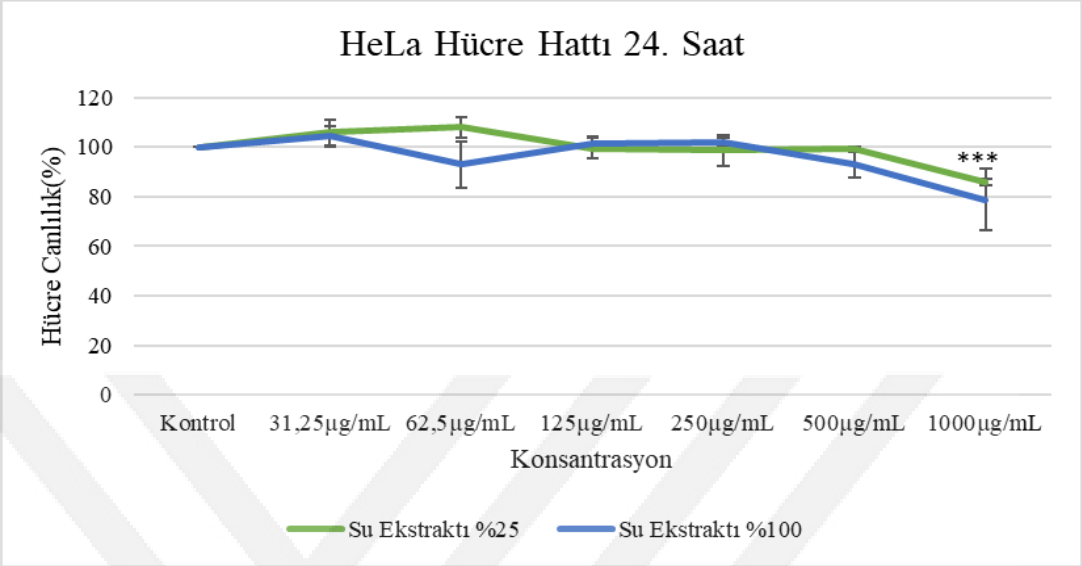


Şekil 4.14 %100 su grubu MeOH ekstraktı HeLa hücrelerinde 48. saat resmi ve IC_{50} değeri

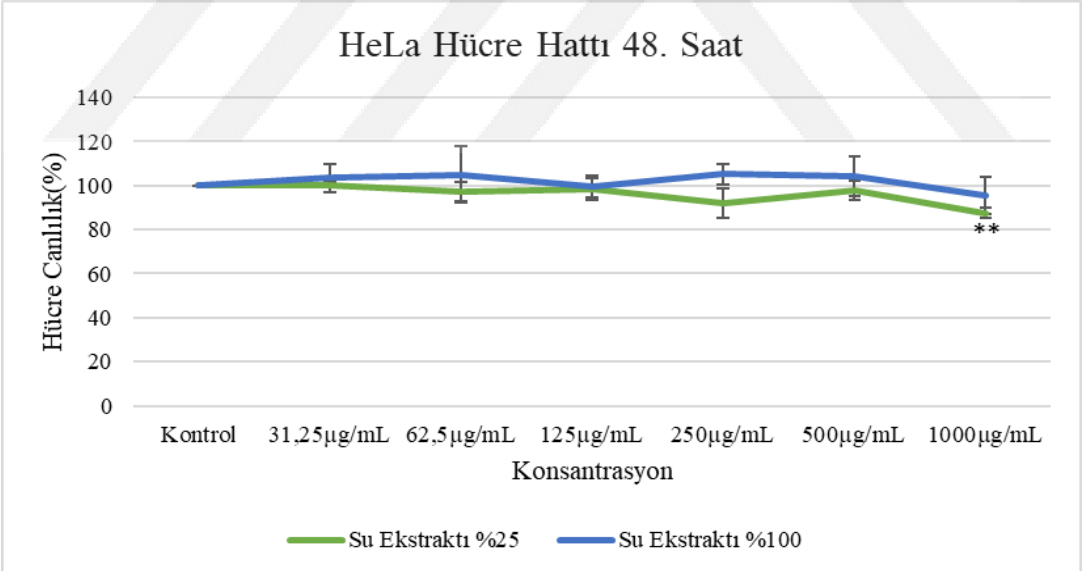
Tablo 4.2 MeOH ekstraktına ait IC_{50} değerleri

MeOH Ekstraktı	**24. Saat IC_{50} Değerleri (µg/mL)**	**48. Saat IC_{50} Değerleri (µg/mL)**
%100 Su Kontrol Grubu	834	725,6
%50 Su Stres Grubu	718,2	607,8
%25 Su Stres Grubu	429,1	435,6

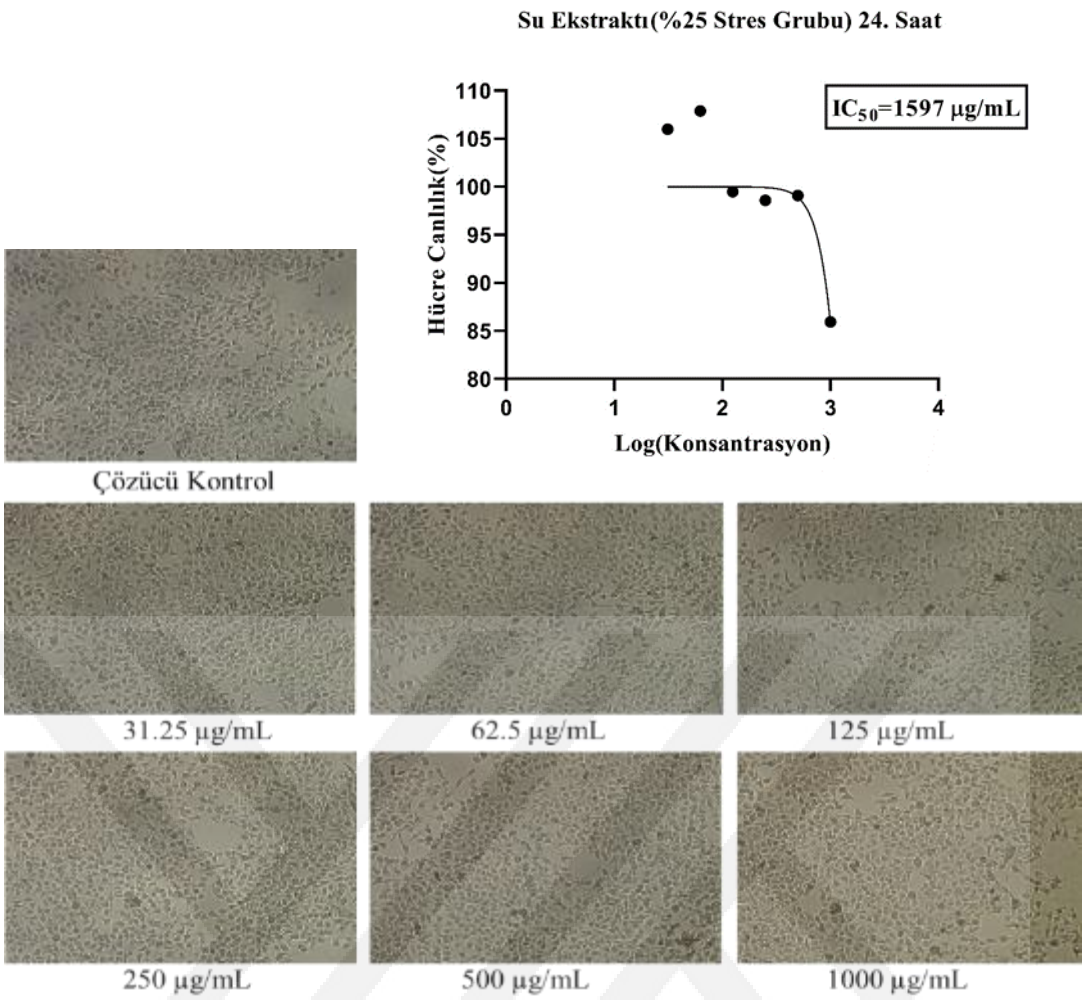
Stres gruplarından %25 oranında su uygulanmış ve kontrol grubu (%100 su) örneklerinin su ekstraktında 24. ve 48. saatlerde de tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığı %50'nin üzerinde belirlenmiştir. Su ekstraktına ait sonuçlar Grafik 4.11 ve Grafik 4.12'de verilmiştir.



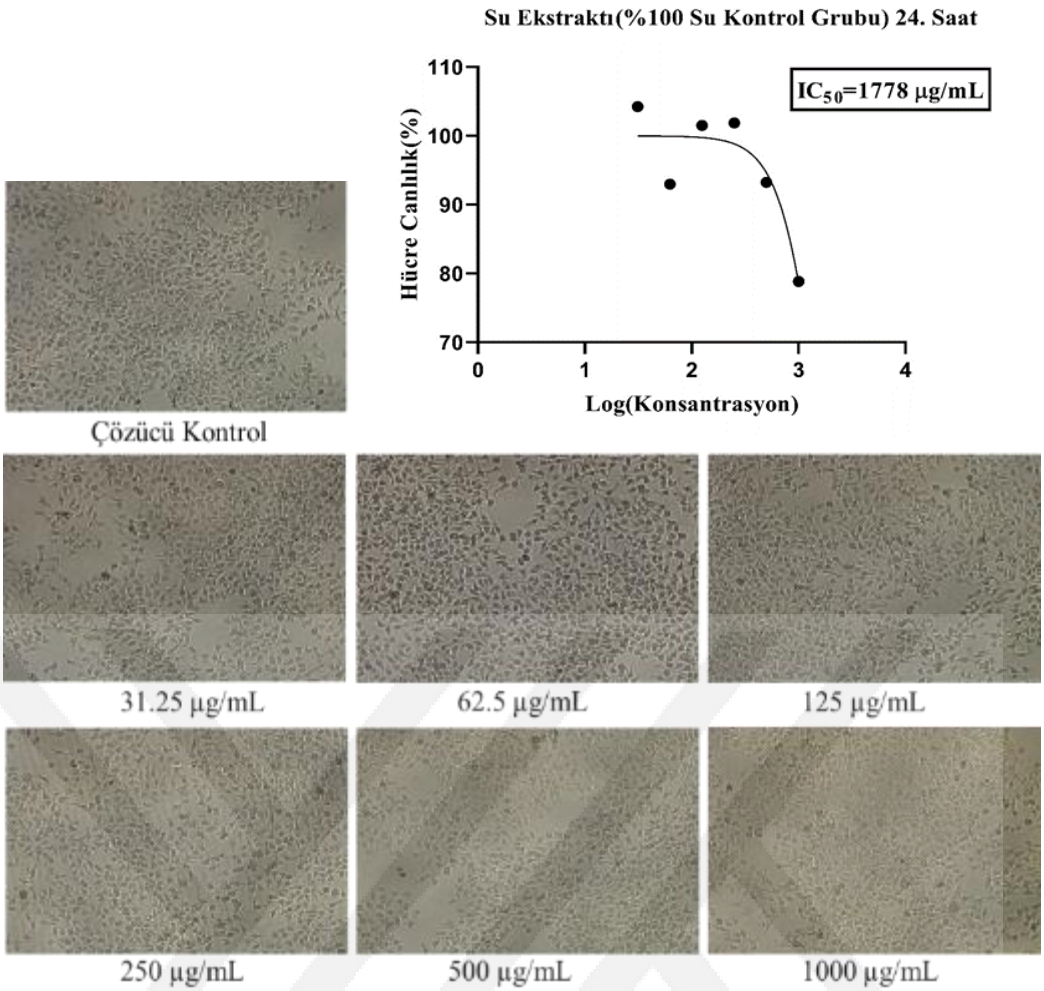
Grafik 4.11 %25 ve %100 su grupları su ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$



Grafik 4.12 %25 ve %100 su grupları su ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. Saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$



Şekil 4.15 %25 su grubu su ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri



Şekil 4.16 %100 su grubu su ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. saat resmi ve IC_{50} değeri

Tablo 4.3 Su ekstraktına ait hesaplanan IC_{50} değerleri

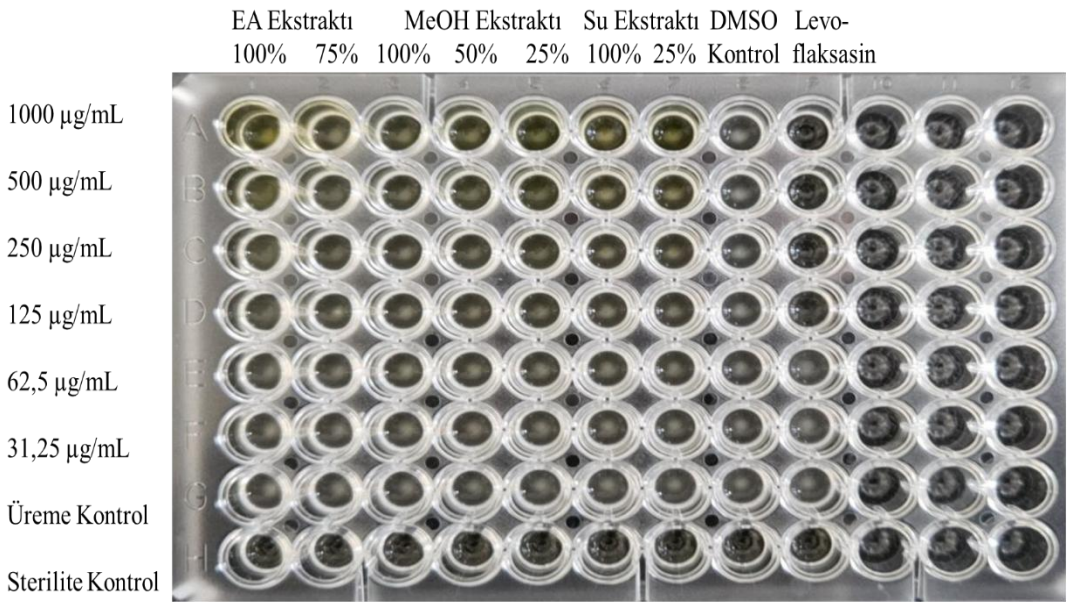
Su Ekstraktı	**24. Saat IC_{50} Değerleri (µg/mL)**	**48. Saat IC_{50} Değerleri (µg/mL)**
%100 Su Kontrol Grubu	1778	-
%25 Su Stres Grubu	1597	-

4.1.4 Antibakteriyel Aktivite Kapsamında Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Bulguları

Antikanser aktivite kapsamında HeLa hücreleri üzerinde test edilen ekstraktların antibakteriyel aktivitesi de sıvı mikrodilüsyon analizi ile değerlendirilmiş olup, gözle görülür üremenin saptanmadığı en düşük ekstrakt konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ekstraktların test edilen bakterilere karşı MİK değerleri en yüksek konsantrasyonların (1000 veya 2000 µg/mL) üzerinde tespit edilmiştir. Tüm MİK değerlerini içeren sonuçlar Tablo 4'de sunulmuştur. Test edilen bakterilerden sıvı mikrodilüsyon testi sonuçlarını temsil eden örnek plaka Şekil 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.4 Kuraklık stresine ait antibakteriyel aktivite sonuçları

MİK Değerleri (µg/mL)							
Suşlar / Ekstraktlar	*E. coli* ATCC 25922	*S. aureus* ATCC 25923	*P. aeruginosa* ATCC 27853	*S. typhimurium* ATCC 14028	*E. aerogenes* ATCC 13048	*E. faecalis* ATCC 29212	*S. aureus* ATCC 43300
EA %100	>1000		>2000				
EA %75	>1000		>2000				
MeOH %100	>1000		>1000				
MeOH %50	>1000		>2000				
MeOH %25	>1000		>2000				
Su %100	>1000		>2000				
Su %25	>1000		>2000				
DMSO	>%1,25		>%2,5				
Levofloksasin (Antibiyotik)	0,008	0,125	0,25	0,03	0,625	1	0,125



Şekil 4.17 *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 suşu için örnek mikroplaka görüntüsü

4.2 Bitki Besleme ve Büyüme Düzenleyici Uygulamalara Ait Bulgular

Tezin bu bölümünde *E. purpurea* bitkilerine uygulanan mikrobiyal ve mineral gübreler ile humik/fulvik asit ve giberellik asit uygulamalarının etkilerine ilişkin sonuçlar sunulmuştur. Ayrıca bitki yetiştirme süreci ile ilgili sonuçlar da sunulmuştur.

4.2.1 Bitkilerin Yetiştirilmesi ve Uygulamalar

Bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalar için tohumdan itibaren *E. purpurea* bitkisi kontrollü koşullar altında iklimlendirme odasında yetiştirilmiştir. Bitkiler vernalizasyon işleminin ardından viyollere 15 Ekim 2022 tarihinde ekilmiş olup yaklaşık bir ay içinde çimlenip büyümeye başlayan bitkiler ağız genişliği 17 cm çapındaki saksılara aktarılmıştır. Bitkilerin gelişim süreçleri takip edilerek fotoğraflanmış ve örnek görseller sırasıyla Şekil 4.18 ile Şekil 4.19'da gösterilmiştir.



Şekil 4.18 Yetiştirme sürecinin farklı zamanlarındaki *E. purpurea* bitkisi



Şekil 4.19 Yetiştirme sürecinin farklı zamanlarındaki *E. purpurea* bitkisi

Yetiştirilen bitkilerden yaklaşık 8 ila 10 yapraklı bitkiler kontrol grubu ile giberellik asit, Humik/Fulvik asit, mineral ve mikrobiyal gübre uygulamaları için ayrı ayrı gruplandırılmıştır. Kontrol bitkileri ile uygulamalar için gruplandırılan bitkilere ait öncesi ve sonrası fotoğrafları Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'de verilmiştir.



Şekil 4.20 Herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubu *E. purpurea* bitkileri



A B

Şekil 4.21 A) Giberellik asit ilk uygulama B) Giberellik asit son uygulama sonrası



A B

Şekil 4.22 A) Humik/Fulvik asit ilk uygulama B) Humik/Fulvik asit son uygulama sonrası



A B

Şekil 4.23 A) Mineral gübre ilk uygulama B) Mineral gübre son uygulama sonrası

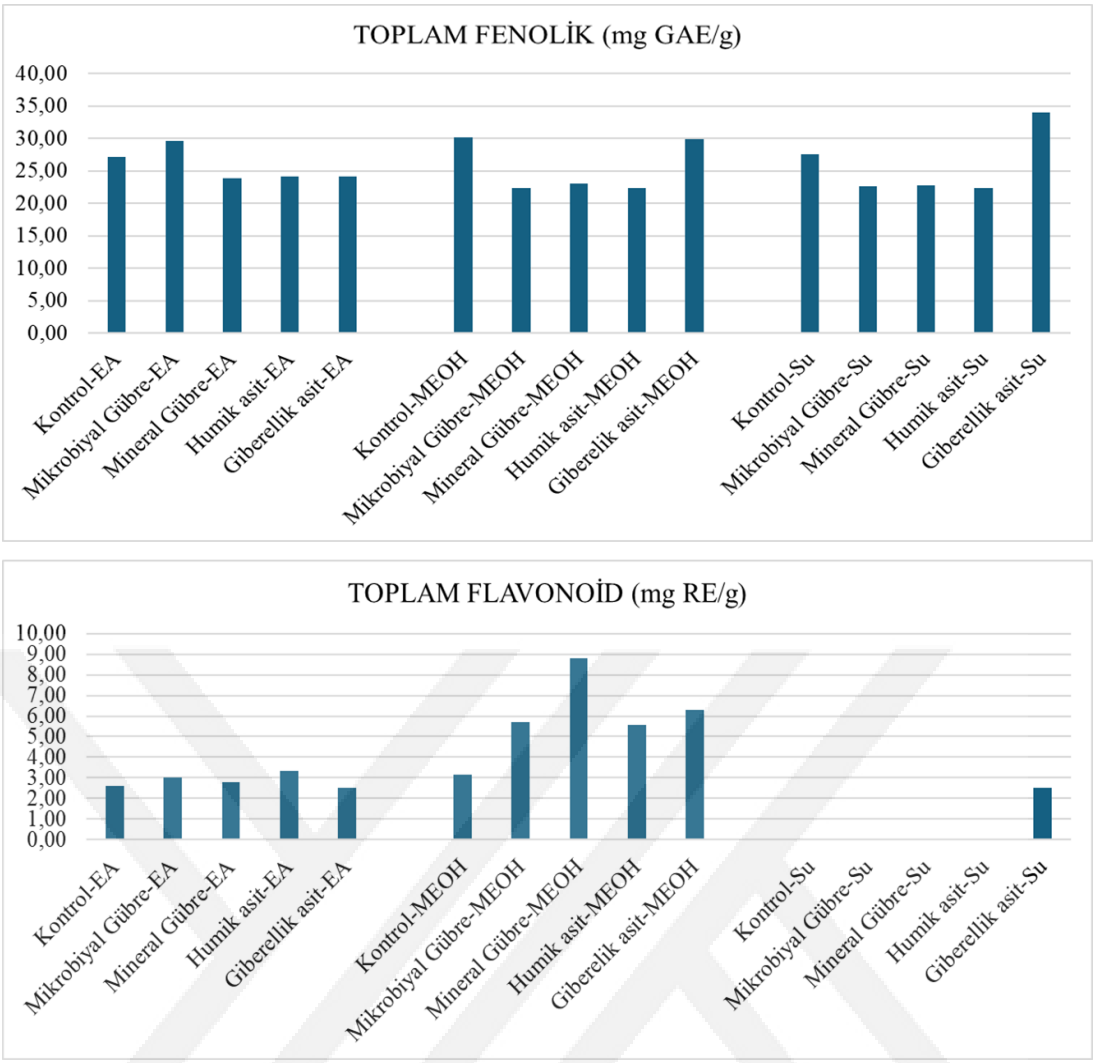


A B

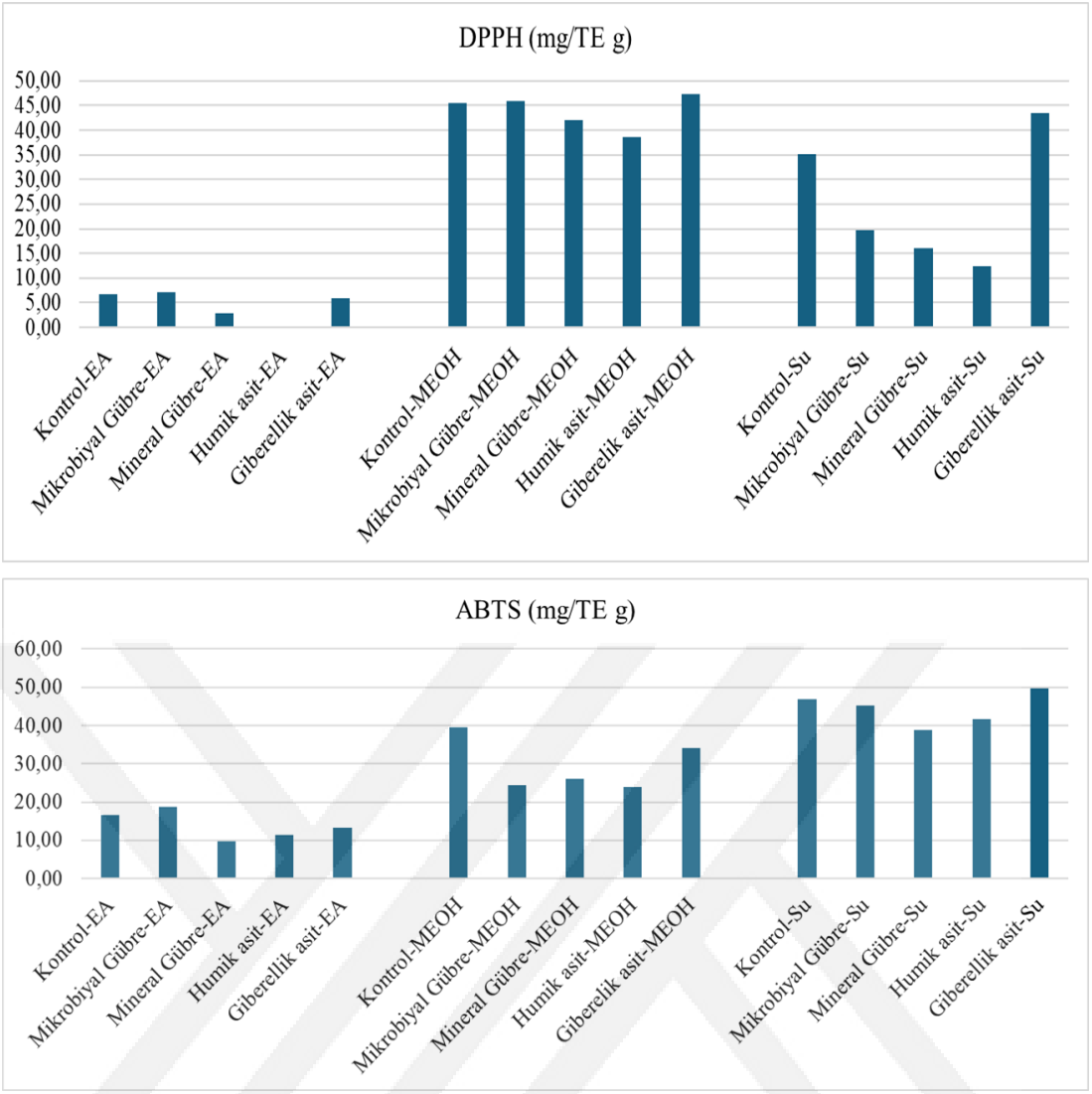
Şekil 4.24 A) Mikrobiyal gübre ilk uygulama B) Mineral gübre son uygulama sonrası

4.2.2 Uygulamalar Sonrası Ekstraktların Ön Değerlendirme Sonuçları

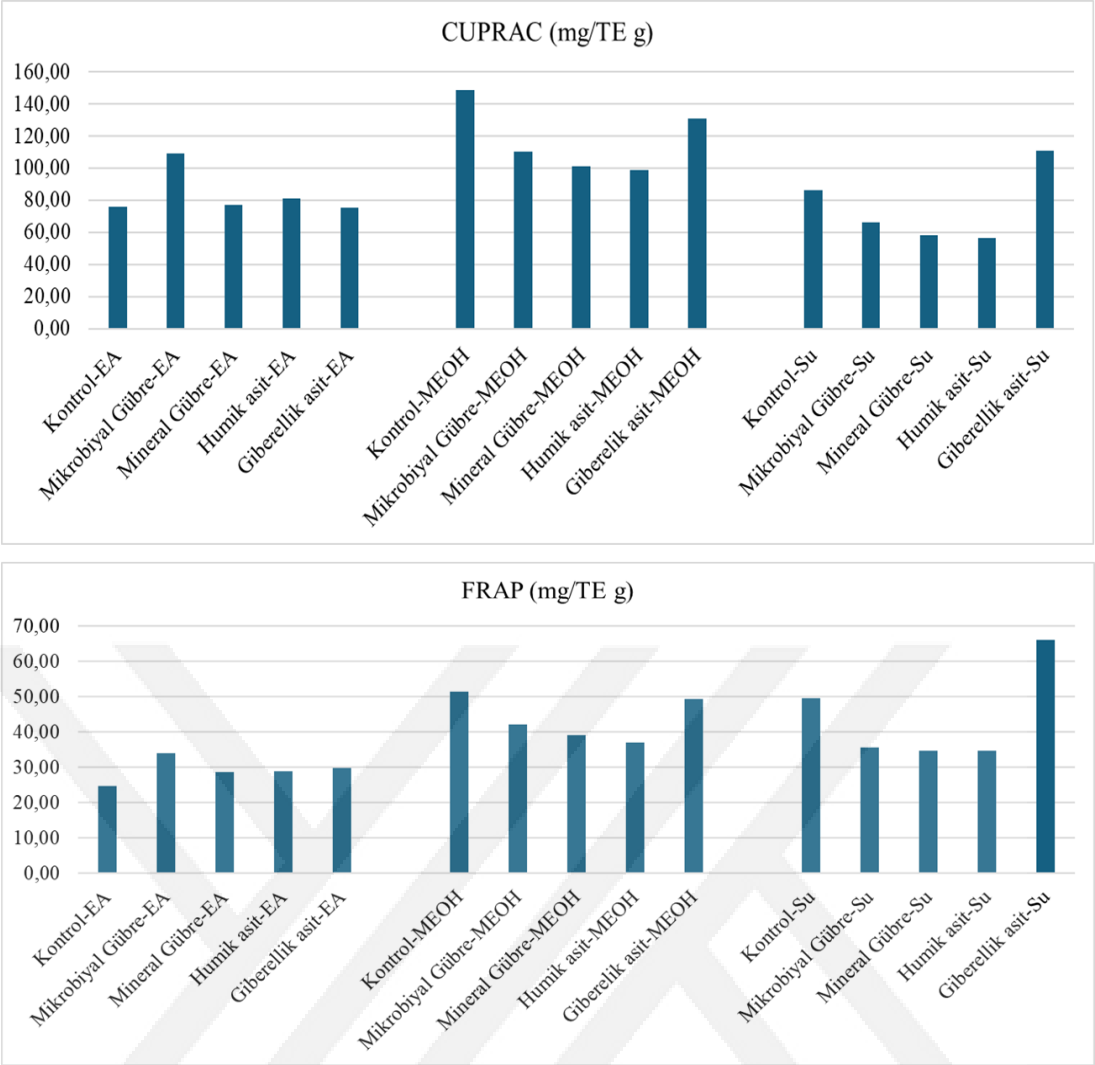
Bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamaların ardından, yaprak örneklerinden elde edilen ekstraktların toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri ile antioksidan kapasiteleri ön değerlendirme kapsamında belirlenmiştir. Antikanser ve antibakteriyel aktivite analizlerinde kullanılacak ekstraktlar bu ön değerlendirme sonuçları doğrultusunda seçilmiştir. Sonuçlara göre toplam flavonoid içeriği en fazla mineral gübre uygulanan örneklerin MeOH ekstraktında bulunmuştur. Toplam fenolik içerik, giberellik asit uygulanan örneklerin su ekstraktında en yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Antioksidan kapasitede ise ağırlıklı olarak giberellik asit uygulanan örneklerin su ekstraktında daha yüksek artışlar gözlenmiştir. Tüm sonuçlar Grafik 4.13, Grafik 4.14, Grafik 4.15'de verilmiştir.



Grafik 4.13 Uygulamalara ait ekstraktların toplam flavonoid ve fenolik içerik sonuçları



Grafik 4.14 Uygulamalara ait ekstraktların DPPH ve ABTS antioksidan sonuçları

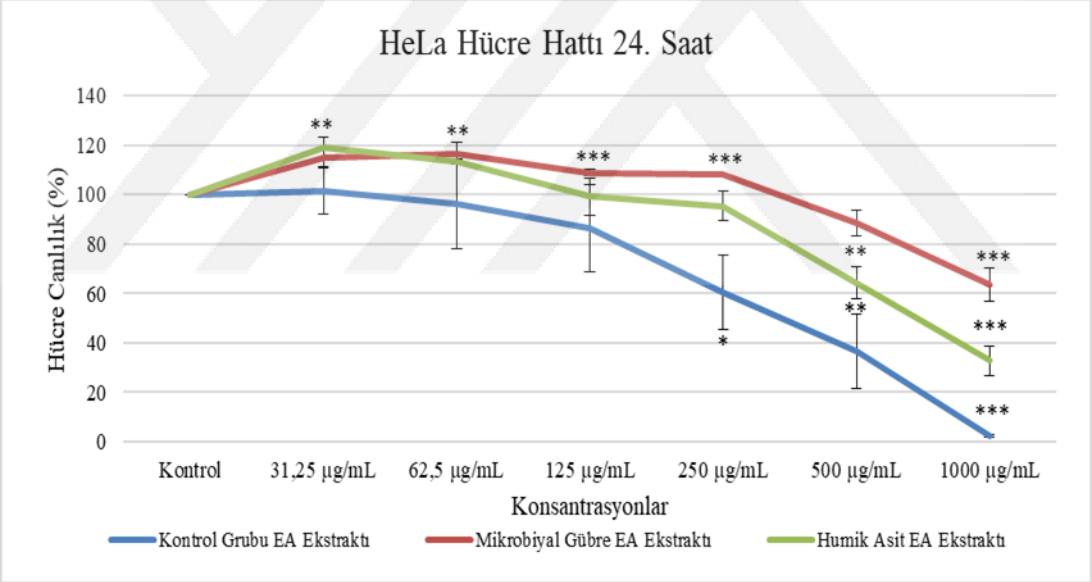


Grafik 4.15 Uygulamalara ait ekstraktların CUPRAC ve FRAP antioksidan sonuçları

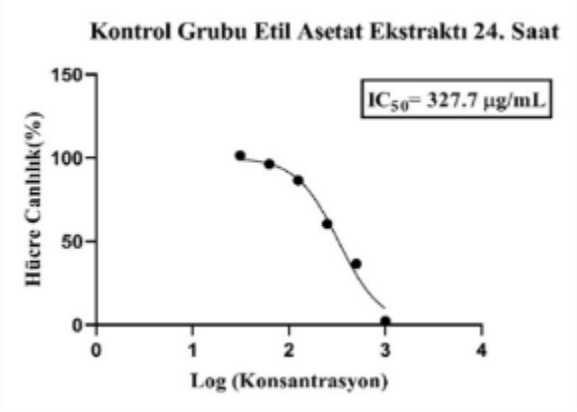
4.2.3 Uygulamalar Sonrası Antikanser Aktiviteye Ait Hücre Canlılık Sonuçları

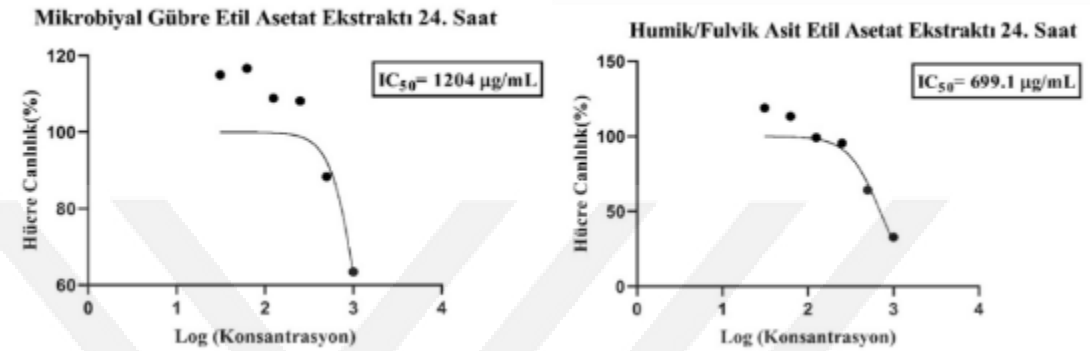
Bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalardan sonra toplanan yaprak örnekleri 40 °C'de etüvde kurutulmuş ve ardından bu örneklerden EA, MeOH ve su ekstraktları elde edilmiştir. Bu ekstraktların toplam fenolik, flavonoid içerikleri ve antioksidan kapasite analizleri ön değerlendirme kapsamında gerçekleştirilmiş olup hücre canlılık testi için kullanılacak bitki ekstraktları bu doğrultuda seçilmiştir. Antioksidan kapasitede en yüksek artış gösteren mikrobiyal gübre uygulanan örneklerden EA ekstraktı ve giberellik asit uygulanan örneklerden su ekstraktı antikanser analizi için seçilmiştir. Toplam flavonoid içeriğinin en fazla görüldüğü mineral gübre uygulanan

örneklerden MeOH ekstraktı ile humik asit uygulanan örneklerden EA ekstraktı yine antikanser aktivite analizleri için seçilmiştir. Kontrol grubu olarak uygulama yapılmamış bitki örneklerinden elde edilen EA, MeOH ve su ekstraktları kullanılmıştır. Ekstraktların HeLa hücre canlılığına etkisi 24. ve 48. saatlerde incelenmiş olup hücre canlılık sonuçları Grafik 4.16, Grafik 4.17, Grafik 4.18, Grafik 4.19, Grafik 4.20 ve Grafik 4.21'de verilmiştir. Mikrobiyal gübre ve humik/fulvik asit uygulamaları ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının Grafik 4.7'de verilen 24. saatteki sonuçları incelendiğinde doza bağımlı bir azalış gözlenmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 1000 µg/mL konsantrasyonda mikrobiyal gübre için hücre canlılığı %63,46, humik/fulvik asit için %32,84 ve kontrol grubu için ise %2,30 olarak bulunmuştur. Hesaplanan IC_{50} değerlerine göre ise en düşük değer kontrol grubu EA ekstraktında 327,7 µg/mL, humik/fulvik asit EA ekstraktında 699,1 µg/mL ve son olarak mikrobiyal gübre EA ekstraktında 1204 µg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca 24. saat için hesaplanan IC_{50} değerlerinin görselleri ve test edilen konsantrasyonlara ait hücre resimleri Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27, Şekil 4.28'de verilmiştir.

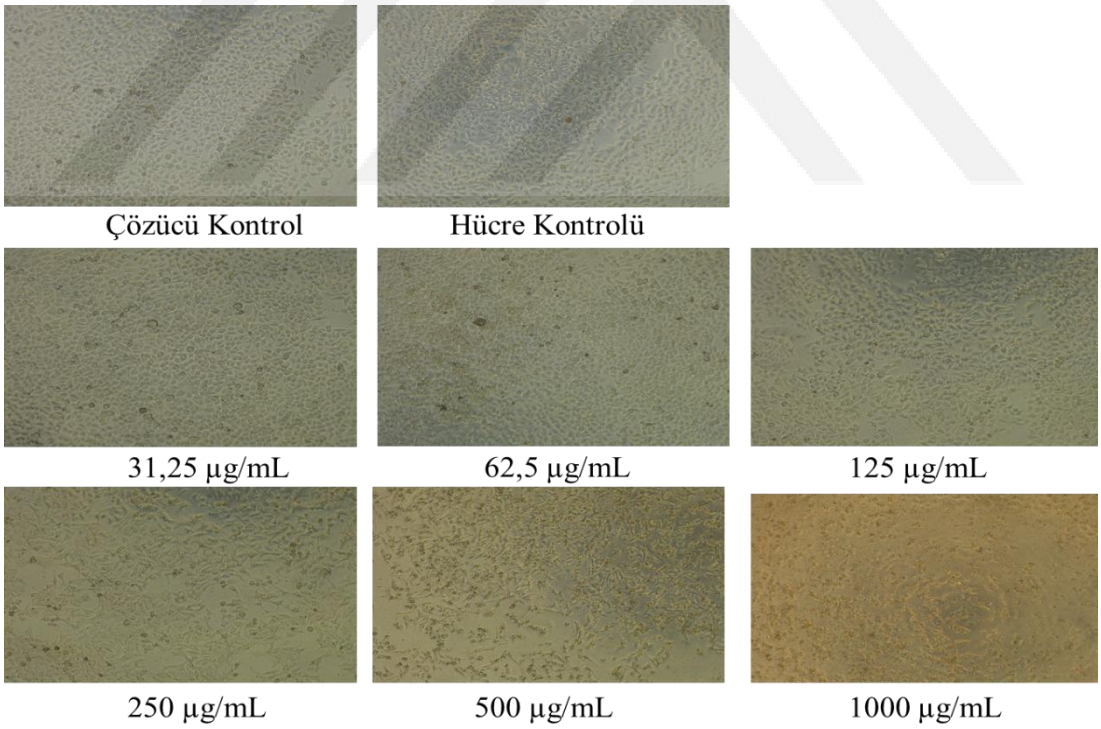


Grafik 4.16 Mikrobiyal gübre ve humik/fulvik asit uygulamaları ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

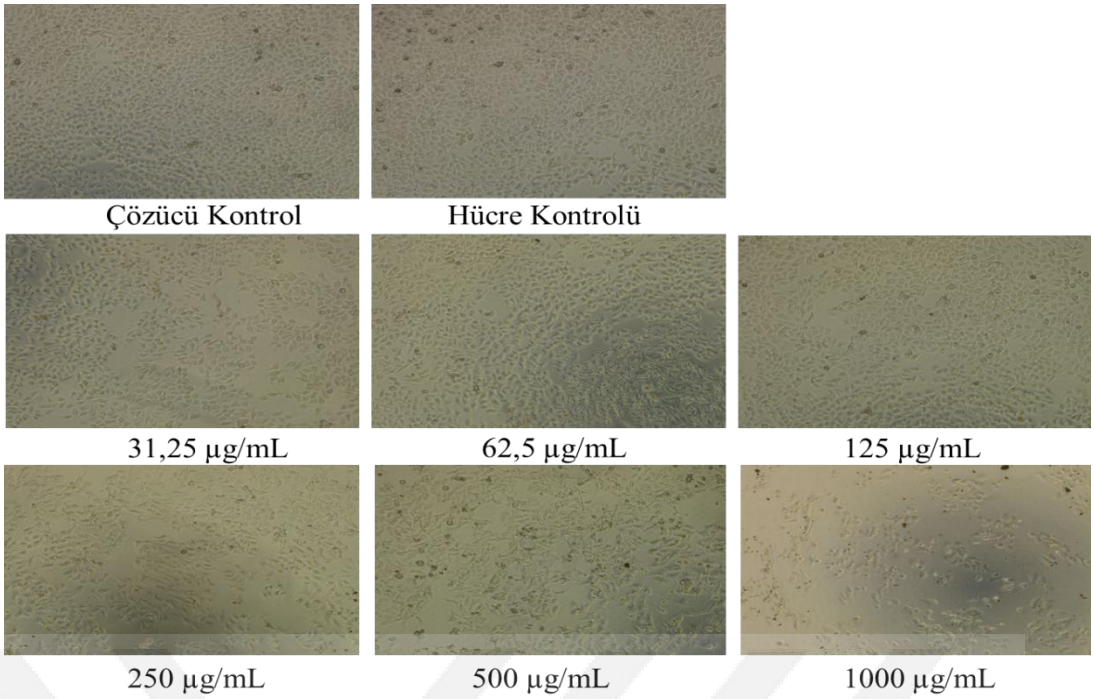




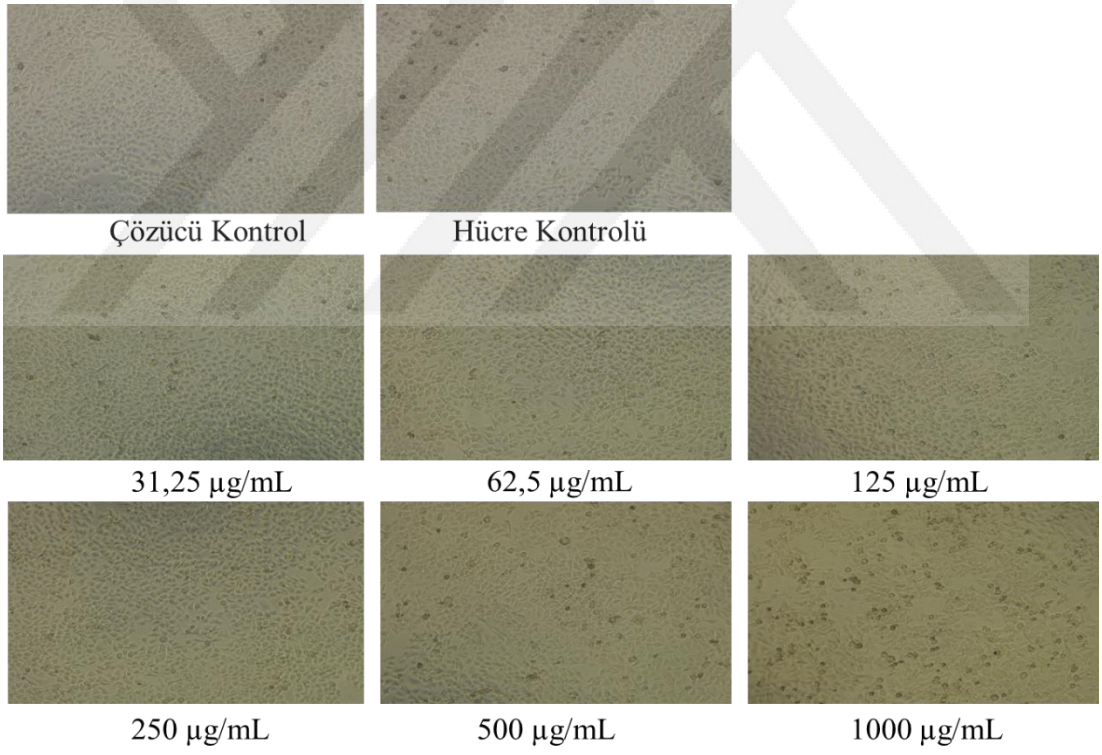
Şekil 4.25 Uygulamalar ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının 24. saat IC_{50} değerleri



Şekil 4.26 Kontrol grubu EA ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri

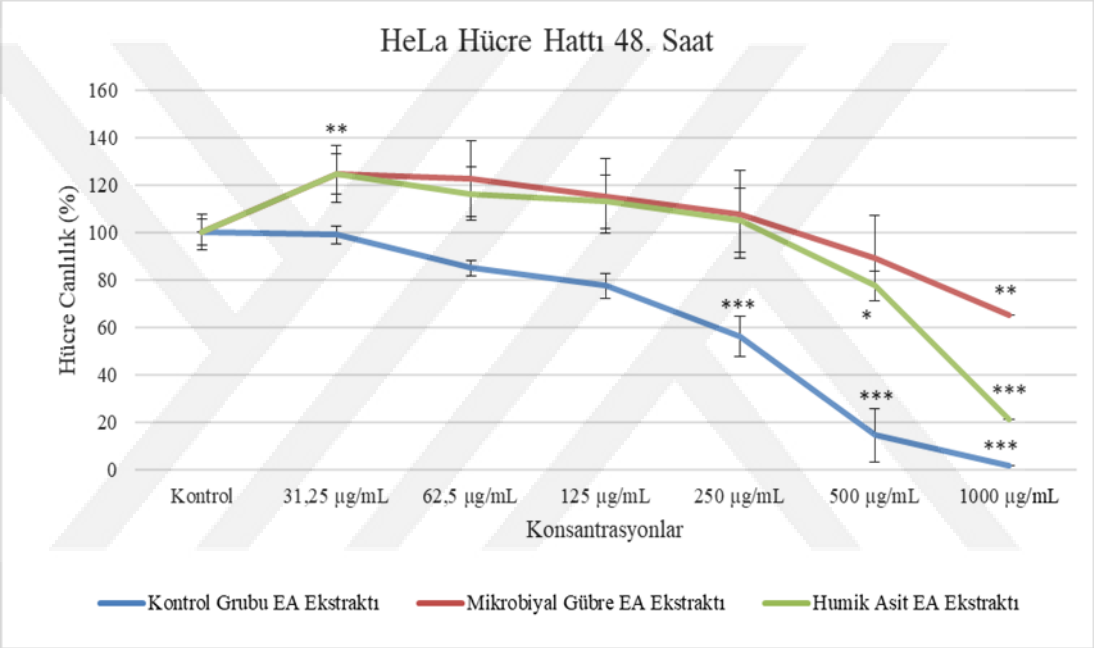


Şekil 4.27 Humik/fulvik asit EA ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri

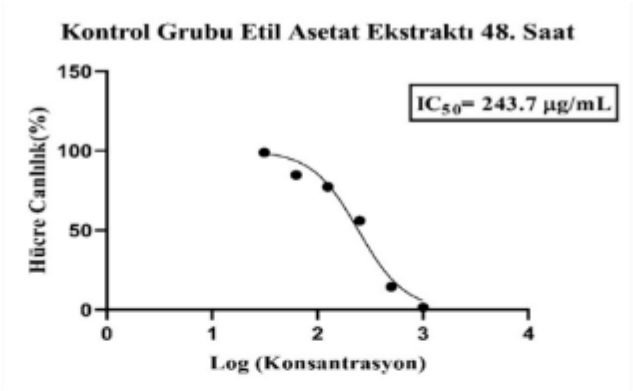


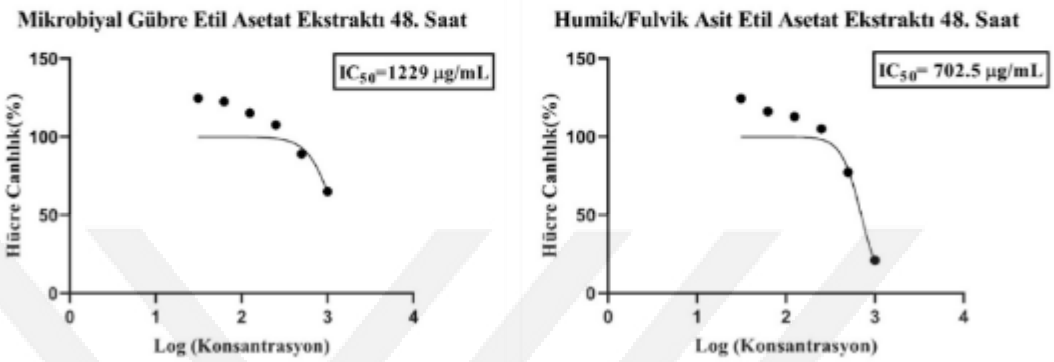
Şekil 4.28 Mikrobiyal gübre EA ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri

Mikrobiyal gübre ve humik/fulvik asit uygulamaları ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının Grafik 4.17'de verilen 48. saatteki sonuçları incelendiğinde doza bağımlı bir azalış gözlenmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 1000 µg/mL konsantrasyonda mikrobiyal gübre için hücre canlılığı %65,03, humik/fulvik asit için %21,07 ve kontrol grubu için ise %1,38 olarak bulunmuştur. Hesaplanan IC_{50} değerlerine göre en düşük değer, kontrol grubu EA ekstraktında 243,7 µg/mL, humik/fulvik asit EA ekstraktında 702,5 µg/mL ve son olarak mikrobiyal gübre EA ekstraktında 1229 µg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca 48. saat için hesaplanan IC_{50} değerlerinin görselleri ve test edilen konsantrasyonlara ait hücre resimleri Şekil 4.29, Şekil 4.30, Şekil 4.31, Şekil 4.32'de verilmiştir.

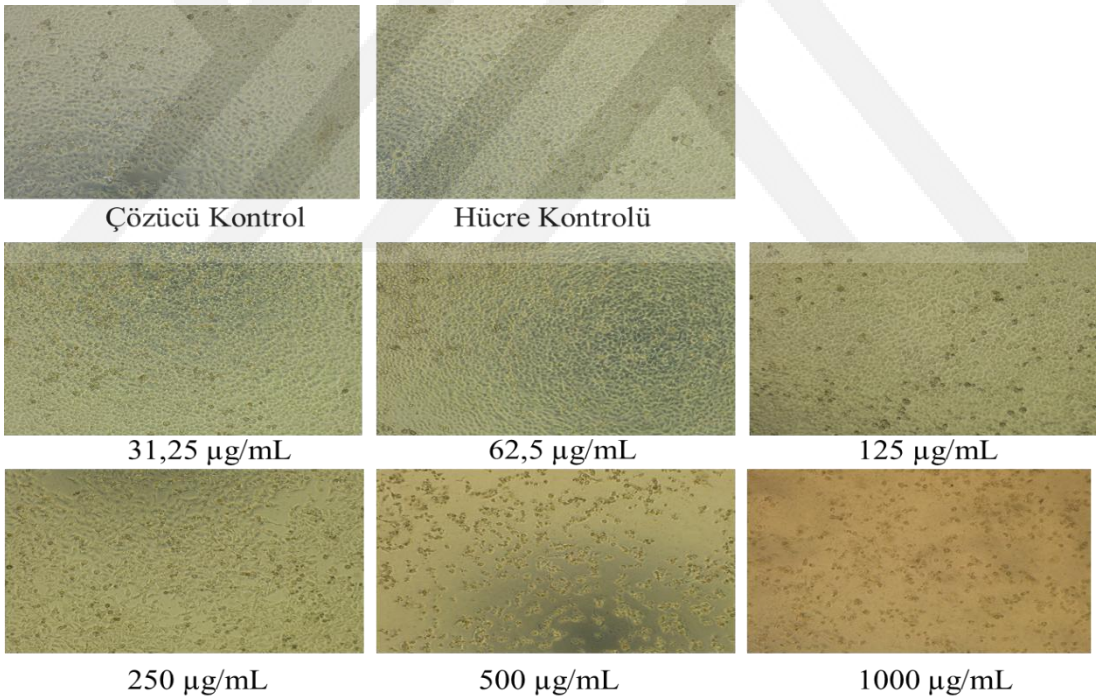


Grafik 4.17 Mikrobiyal gübre ve humik/fulvik asit uygulamaları ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$,*** $p < 0,001$

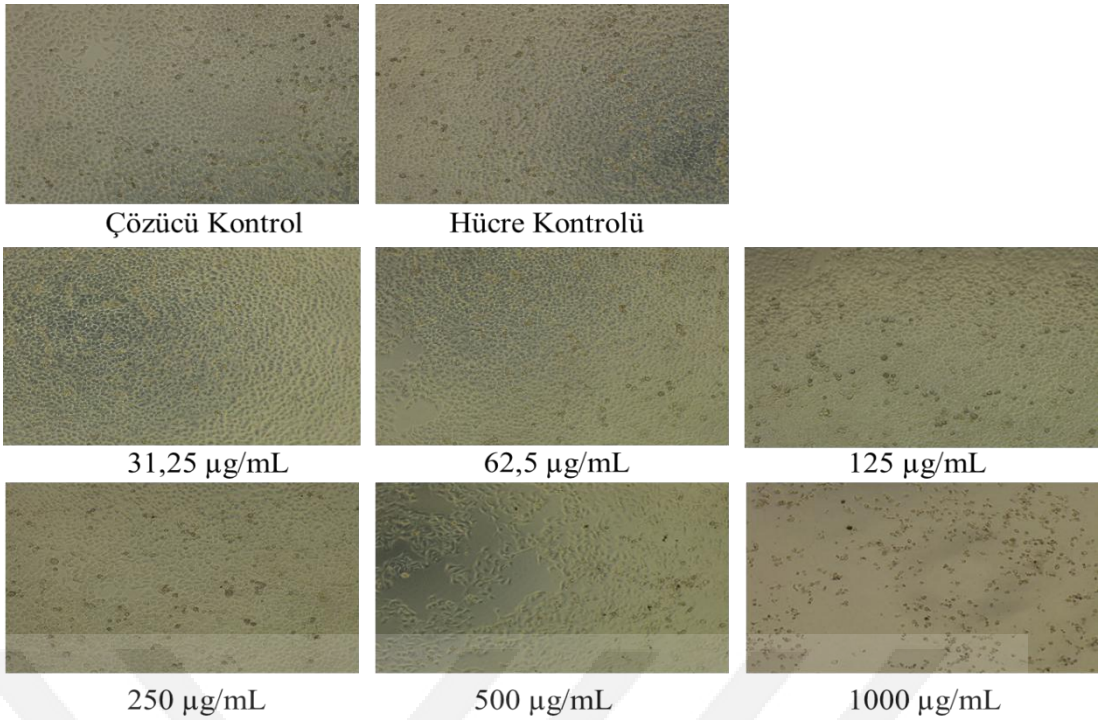




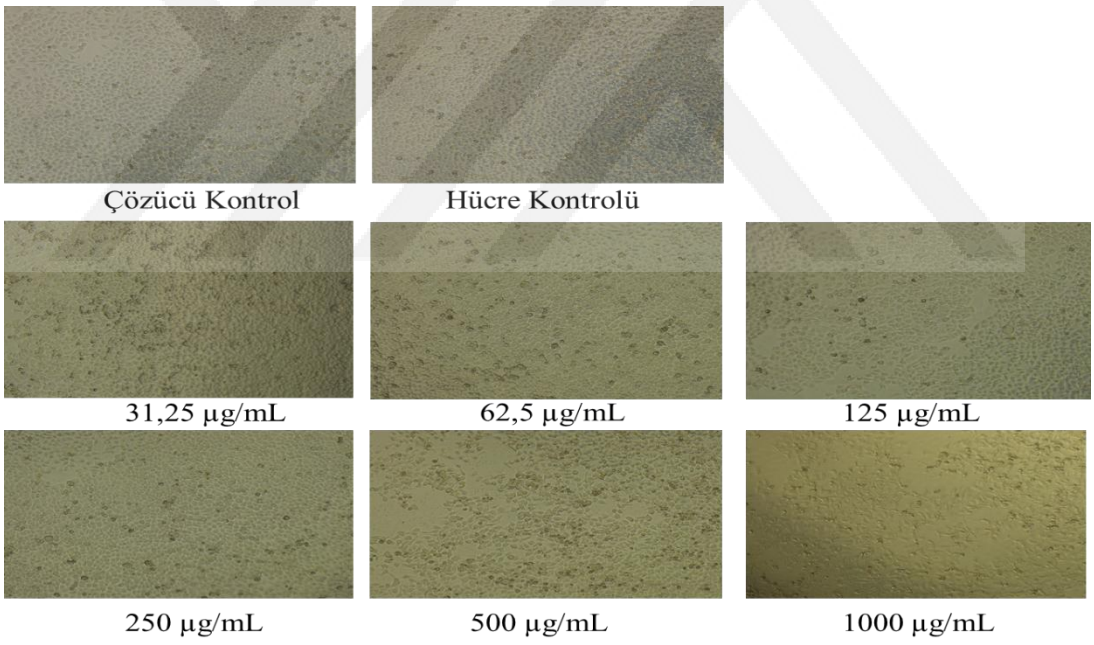
Şekil 4.29 Uygulamalar ile kontrol grubuna ait EA ekstraktlarının 48. saat IC_{50} değerleri



Şekil 4.30 Kontrol grubu EA ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri



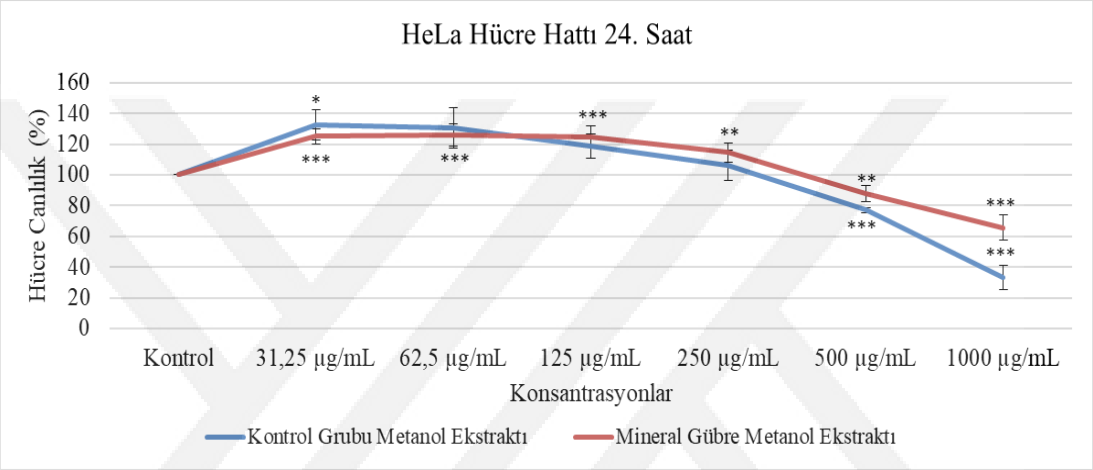
Şekil 4.31 Humik/fulvik asit EA ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri



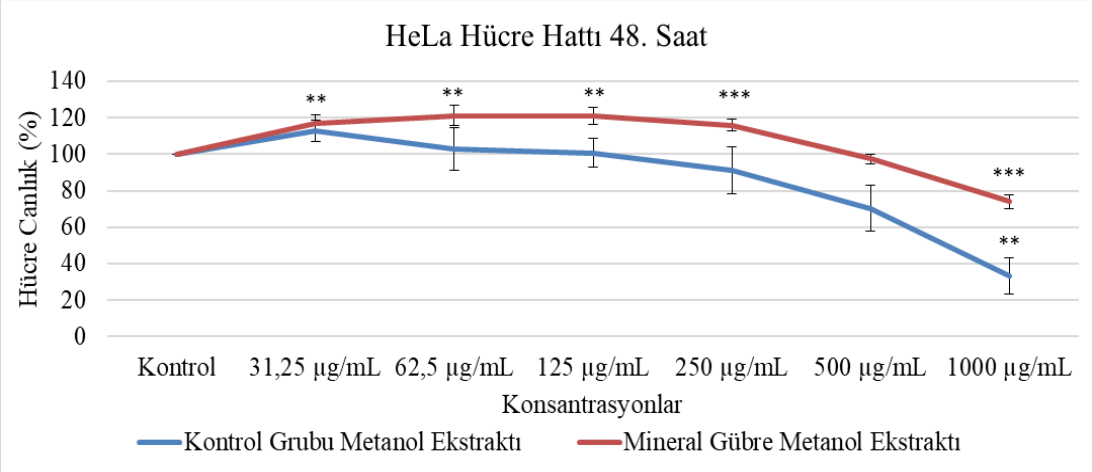
Şekil 4.32 Mikrobiyal gübre EA ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri

Mineral gübre uygulaması ile kontrol grubuna ait MeOH ekstraktlarının Grafik 4.18 ve Grafik 4.19'da verilen 24. ile 48. saatteki sonuçları incelendiğinde genel olarak doza bağımlı bir azalış gözlenmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 1000 µg/mL

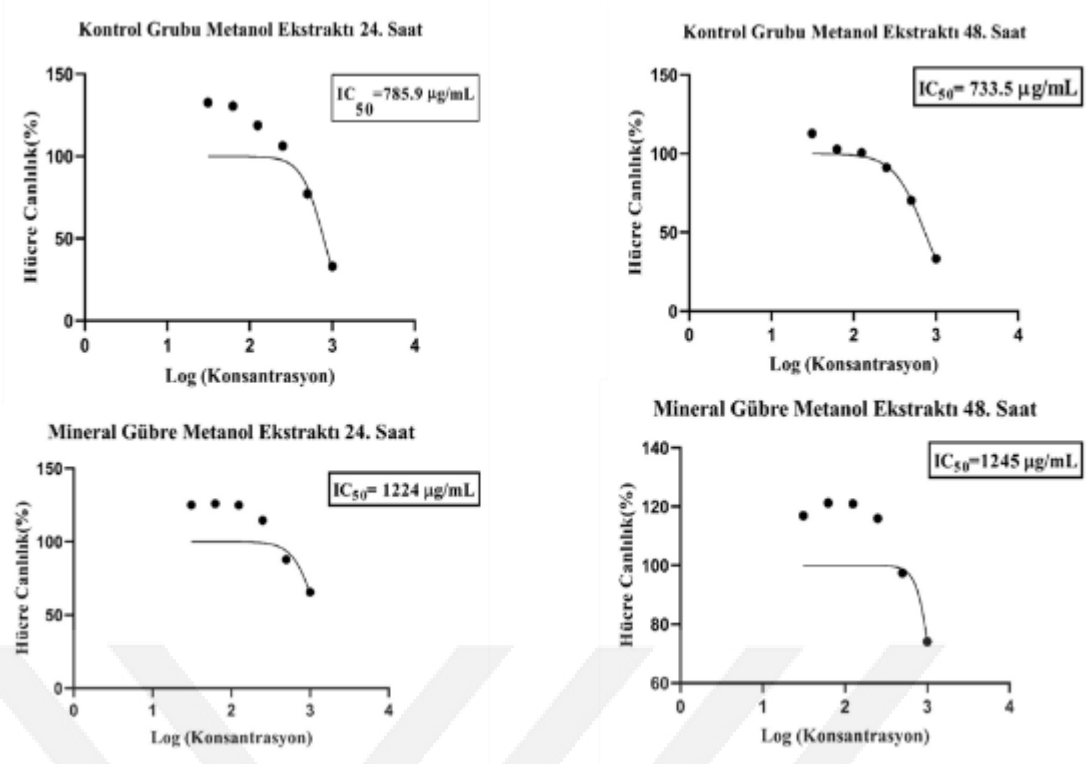
konsantrasyonda 24. saatte mineral gübre için hücre canlılığı %65,60, kontrol grubu için %33,05, 48. saatte ise mineral gübre için hücre canlılığı %74,08, kontrol grubu için %33,28 olarak bulunmuştur. Hesaplanan IC_{50} değerlerine göre ise sırasıyla en düşük değer kontrol grubu MeOH ekstraktında 48. saatte 733,5 µg/mL, sonra kontrol grubu MeOH ekstraktında 24. saatte 785,9 µg/mL, ardından mineral gübre MeOH ekstraktı 24. saatte 1224 µg/mL ve son olarak mineral gübre MeOH ekstraktında 1245 µg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca 24. ve 48. saatler için hesaplanan IC_{50} değerlerinin görselleri ve test edilen konsantrasyonlara ait hücre resimleri Şekil 4.33, Şekil 4.34, Şekil 4.35, Şekil 4.36'da verilmiştir.



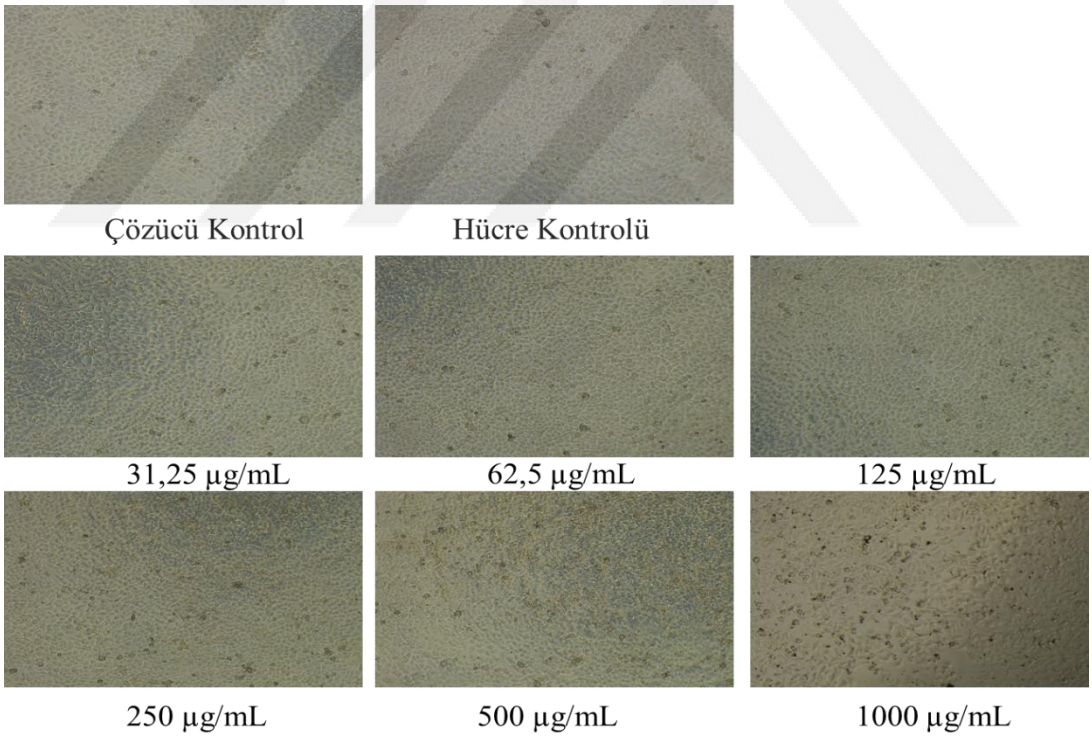
Grafik 4.18 Mineral gübre ile kontrol grubuna ait MeOH ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$



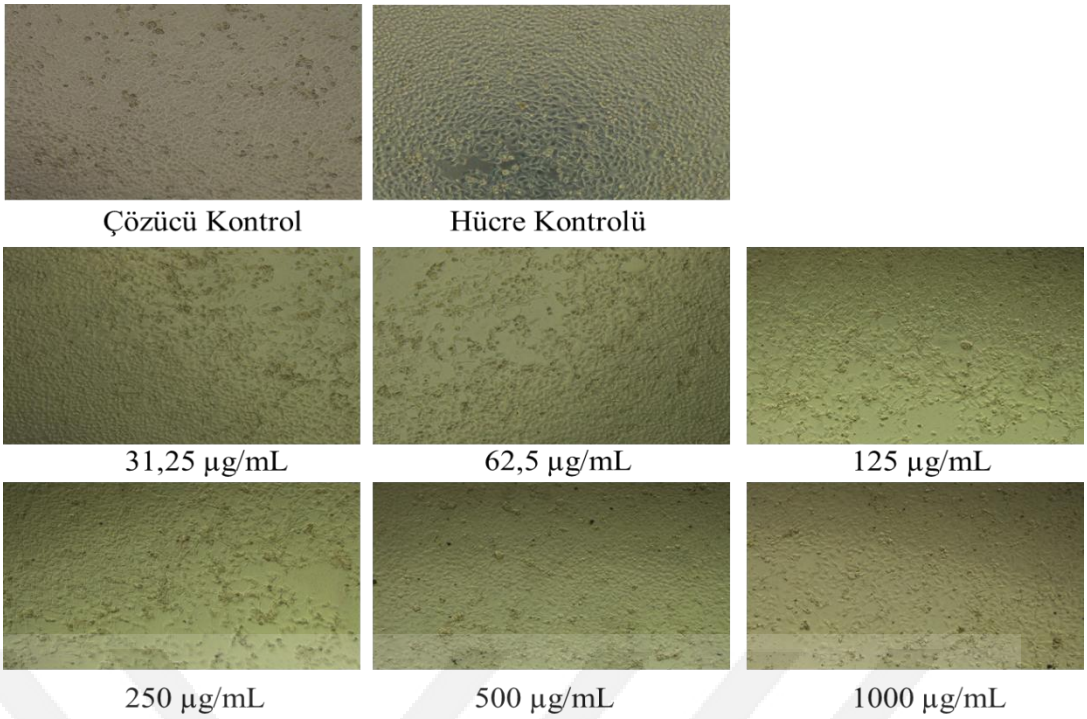
Grafik 4.19 Mineral gübre ile kontrol grubuna ait MeOH ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$,*** $p < 0,001$



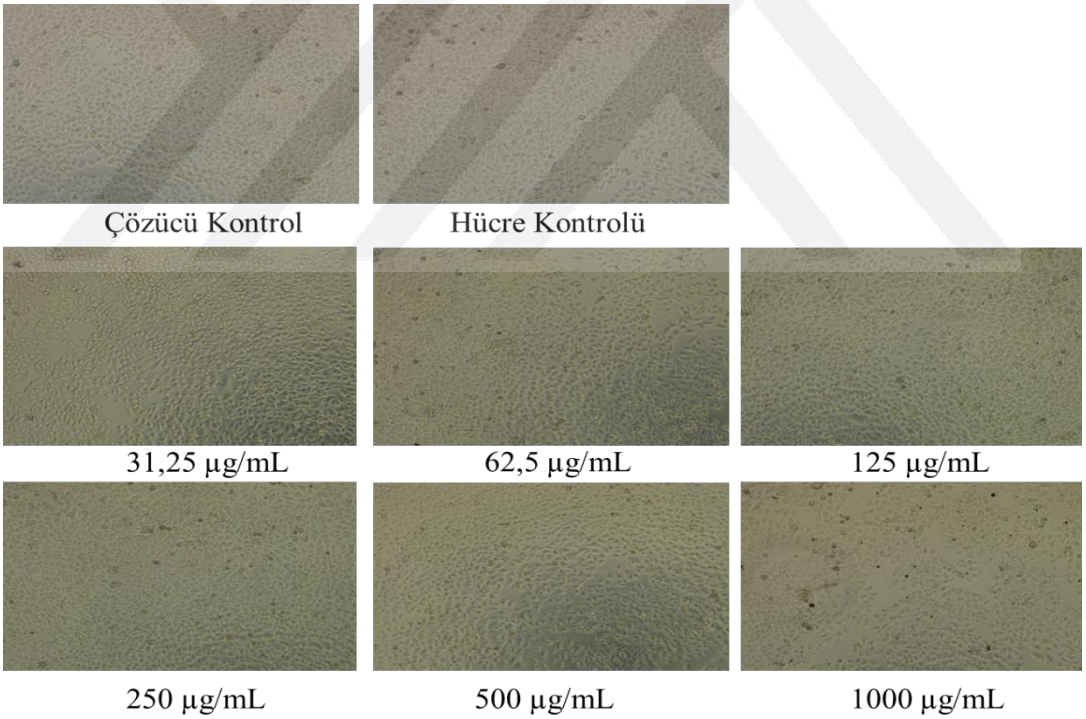
Şekil 4.33 Mineral gübre ve kontrol grubu MeOH ekstraktları HeLa hücreleri IC_{50} değerleri



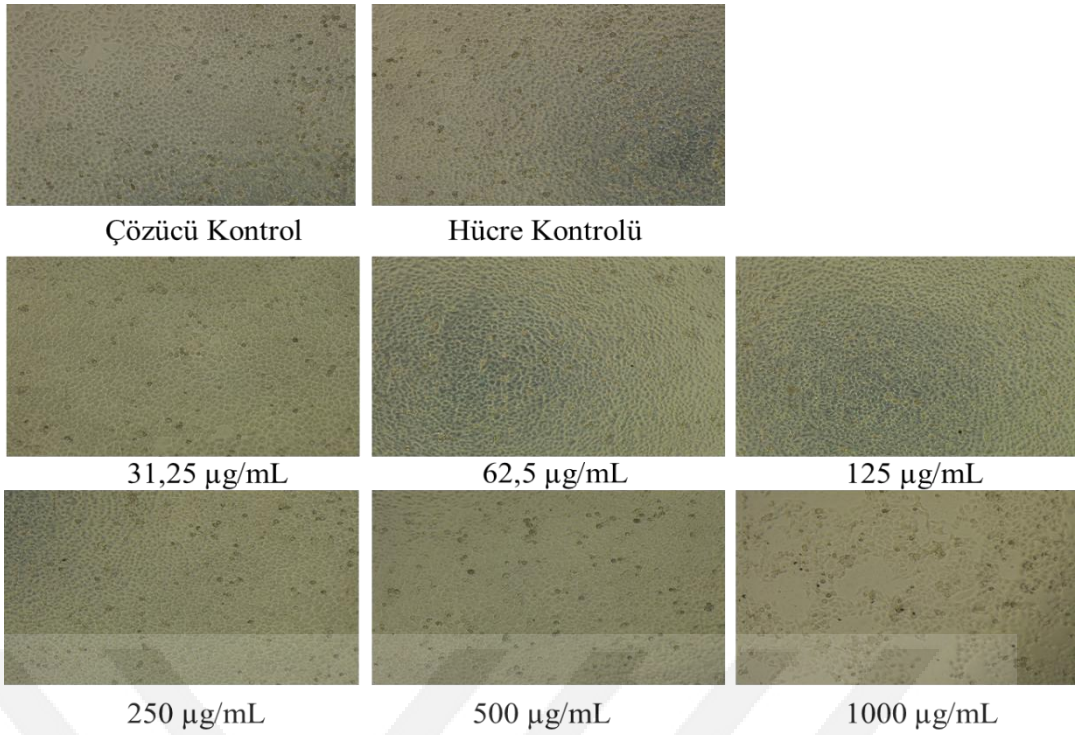
Şekil 4.34 Kontrol grubu MeOH ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri



Şekil 4.35 Kontrol grubu MeOH ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri

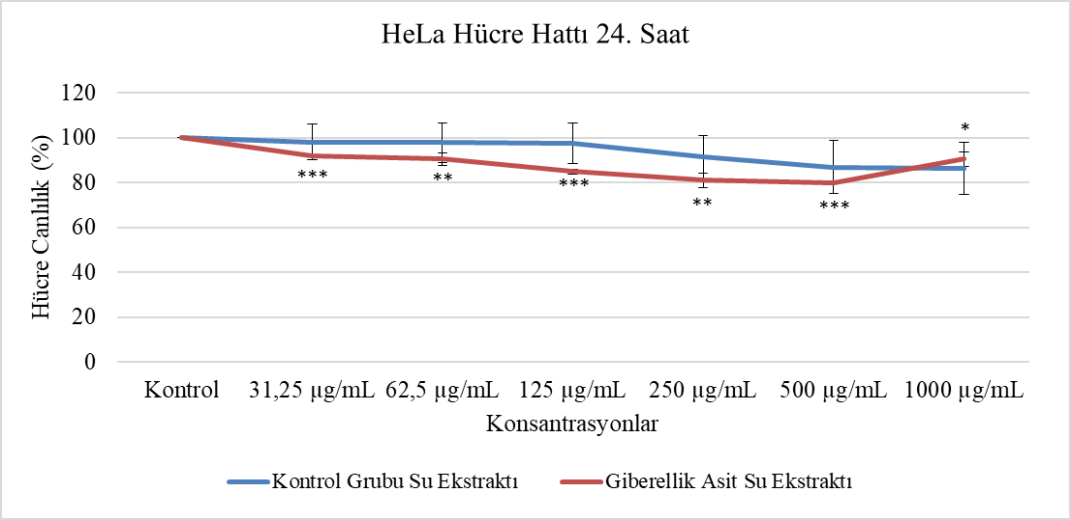


Şekil 4.36 Mineral gübre MeOH ekstraktının HeLa hücre hattında 24. saatteki görüntüleri

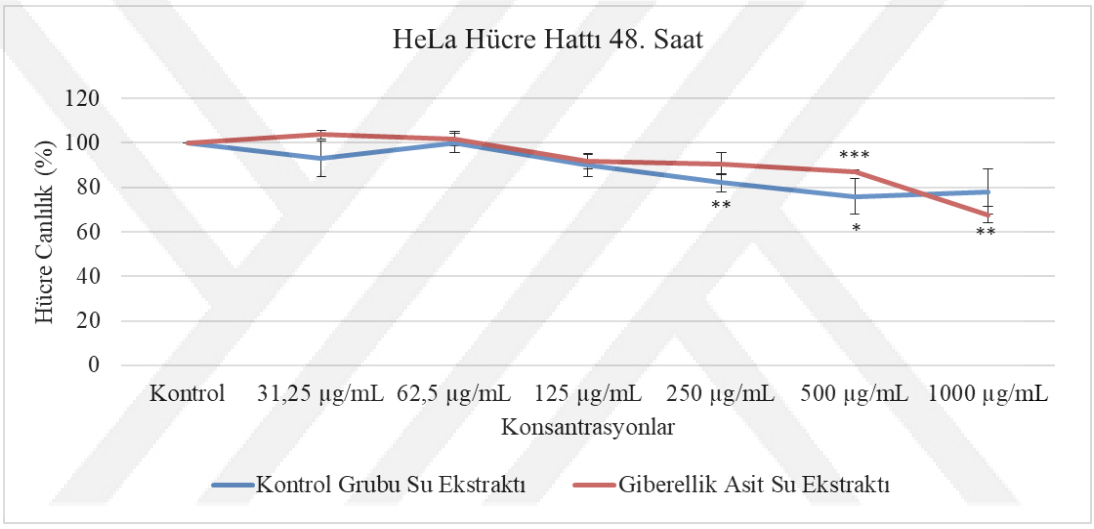


Şekil 4.37 Mineral gübre MeOH ekstraktının HeLa hücre hattında 48. saatteki görüntüleri

Giberellik asit uygulaması ile kontrol grubuna ait su ekstraktlarının 24. ve 48. saatlerdeki hücre canlılığına etkisi Grafik 4.20 ve Grafik 4.21'de verilmiştir. Kontrol grubu su ekstraktı ve giberellik asit su ekstraktına ait hücre canlılık değerleri, farklı konsantrasyonlarda değerlendirildiğinde; kontrol grubu ekstraktında canlılık oranlarının 24. saatte %86,27–98,14 aralığında, giberellik asit uygulamasına ait su ekstraktında ise %79,77–91,80 aralığında değiştiği gözlenmiştir. Benzer şekilde kontrol grubu ekstraktında 48. saatte canlılık oranlarının %75,82–99,98 aralığında, giberellik asit uygulaması su ekstraktında ise %67,68–103,69 aralığında olduğu belirlenmiştir.



Grafik 4.20 Giberellik asit ile kontrol grubuna ait su ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 24. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$



Grafik 4.21 Giberellik asit ile kontrol grubuna ait su ekstraktlarının HeLa hücrelerinde 48. saat canlılık sonuçları (±SH, n=3). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$,*** $p < 0,001$

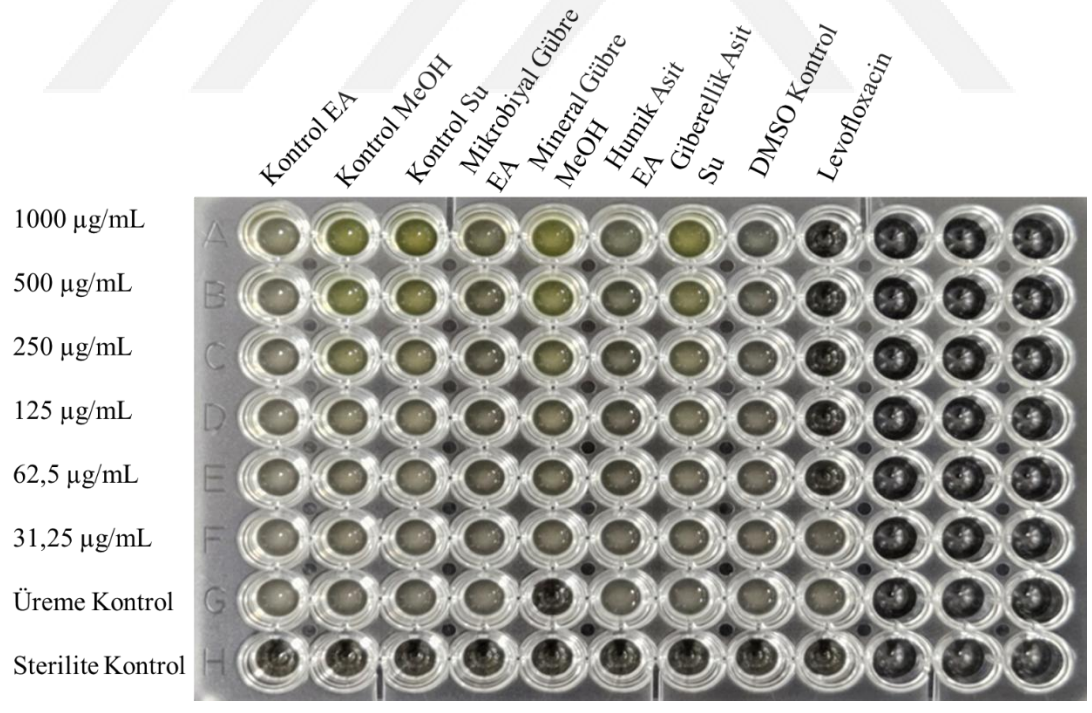
4.2.4 Uygulamalar Sonrası Antibakteriyel Aktiviteye Ait Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Bulguları

Uygulamalar sonrası antikanser aktivite kapsamında HeLa hücreleri üzerinde test edilen ekstraktların antibakteriyel aktivitesi de sıvı mikrodilüsyon analizi ile değerlendirilmiş olup çıplak göz ile bakıldığında üremenin görülmediği en düşük ekstrakt konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm ekstraktların test edilen bakterilere karşı MİK değeri >2000 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Tüm MİK değerlerini içeren sonuçlar Tablo 5'de sunulmuştur. Test edilen

bakterilerden sıvı mikrodilüsyon testi sonuçlarını temsil eden örnek plaka Şekil 4.38'de verilmiştir.

Tablo 4.5 Uygulamalara ait antibakteriyel aktivite sonuçları

MİK Değerleri (µg/mL)							
Suşlar / Ekstraktlar	*E. coli* ATCC 25922	*S. aureus* ATCC 25923	*P. aeruginosa* ATCC 27853	*S.* Typhimurium ATCC 14028	*E. aerogenes* ATCC 13048	*E. faecalis* ATCC 29212	*S. aureus* ATCC 43300
Mikrobiyal Gübre-EA	>2000						
Humik/Fulvik Asit- EA	>2000						
Mineral Gübre-MeOH	>2000						
Giberellik Asit-Su	>2000						
Kontrol- EA	>2000						
Kontrol-MeOH	>2000						
Kontrol-Su	>2000						
DMSO	>%2,5						
Levofloksasin (Antibiyotik)	0,008	0,25	0,5	0,03	0,0625	0,5	0,25



Şekil 4.38 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşu için örnek mikropleyt görüntüsü

5. TARTIŞMA

Mevcut tez çalışmasında *Echinacea purpurea* bitkisi için kuraklık stresi ve farklı besleme ile büyüme düzenleyici uygulamaların bitkinin fitokimyasal içeriğine bağlı olarak bazı biyolojik aktivitelerini nasıl etkilediği değerlendirilmiştir. Uygulanan çevresel ve düzenleyici faktörlerin bu biyolojik aktivitelerden antikanser ve antibakteriyel aktiviteyi ne düzeyde etkilediği belirlenmiştir. Önemli çevresel faktörlerden biri olarak kuraklık stresinin, bitkilerde ikincil metabolit üretimini etkilediği bilinmektedir (Yadav vd., 2021). Çalışmada antikanser ve antibakteriyel analizlerinde kullanılan örnekler ön değerlendirme kapsamında belirlenen toplam fenolik, flavonoid ve antioksidan kapasite sonuçları dikkate alınarak seçilmiştir. İlk olarak bu kriterlere göre antioksidan, total flavonoid ve fenolik içerikte önemli artış gösteren kuraklık stresine maruz kalan örneklerden %75 su uygulanan gruptan EA ekstraktı, %50 su uygulanan gruptan MeOH ekstraktı, %25 su uygulanan stres grubundan ise MeOH ve su ekstraktları analizler için seçilmiştir. Kontrol grubu olarak da %100 su uygulanmış kuraklık stresi oluşturulmamış örneklerden elde edilen EA, MeOH ve su ekstraktları kullanılmıştır. Bu örnekler ile yapılan antikanser aktivite analizlerinin sonuçlarında HeLa hücre canlılığını en fazla azaltan ve 429,1 µg/mL olarak hesaplanan en düşük IC_{50} değerini %25 su uygulanan stres grubundan MeOH ekstraktı göstermiştir. En düşük ve en etkili olarak bulunan bu değer 24. saatteki sonuç olup 48. saatteki IC_{50} değeri de 435,6 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu sonuçları 48. saatte 607,8 µg/mL ve 24. saatte 718,2 µg/mL IC_{50} değerleri ile %50 su uygulanan gruptan MeOH ekstraktı takip etmiştir. Son olarak ise en yüksek IC_{50} değerleri kuraklık stresi uygulanmamış kontrol grubundan elde edilen MeOH ekstraktında 48. saatte 725,6 µg/mL ve 24. saatte 834 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar uygulanan kuraklık stresinin bitkideki fenolik ve flavonoid bileşikleri etkileyerek biyolojik aktiviteyi değiştirdiğini düşündürmektedir. Literatürde *E. purpurea* bitkisinin antikanser aktivitesinin değerlendirildiği çalışmalar incelendiğinde çalışma ekibimiz tarafından yapılan bir araştırmada (Sharif vd., 2021) Kastamonu bölgesinden toplanan *E. purpurea*'nın yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen EA, MeOH ve su ekstrakları biyolojik aktivite özellikleri açısından incelenmiştir. Çalışmada bitkinin yaprak kısmından elde edilen MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. ve 48.

saatlerde antikanser aktivitesi tespit edilmiş olup IC_{50} değerleri sırasıyla 928 µg/mL ve 743 µg/mL olarak bildirilmiştir. Bu mevcut makalede verilen IC_{50} değerleri ile tez çalışmamızda bulduğumuz IC_{50} değerleri karşılaştırıldığında makaledeki değerler tez çalışmasındaki kontrol grubundan elde edilen değerler ile paralellik gösterirken %25 su uygulanan en şiddetli kuraklık stresi örneklerinden elde edilen IC_{50} değerleri çok daha düşük ve dolayısıyla daha etkili bulunmuştur. Bu IC_{50} değerleri arasındaki fark yüzdesel olarak hesaplanıp kıyaslandığında ise %25'lik su uygulanan kuraklık stresi örneklerine ait IC_{50} değerlerinin %100 su uygulanan kontrol grubuna kıyasla 24. saatte yaklaşık %48,6, 48. saatte ise %40 oranında azaldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde, makalede bildirilen değerlere kıyasla da %25'lik su uygulanan kuraklık stresi örnekleri için 24. saatte %53,8, 48. saatte ise %41,4 oranında daha düşük IC_{50} değerleri elde edilmiştir. Tez çalışmamızdaki %100 su uygulanan kontrol grubuna ait IC_{50} değerleri ise makalede bildirilen değerlere kıyasla 24. saatte %10,1, 48. saatte ise %2,3 oranında daha düşük tespit edilmiştir. Tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, kontrollü koşullarda yetiştirilen bitkilerden elde edilen kontrol grubu MeOH ekstraktı, doğadan toplanan bitki materyaline ait aynı ekstraktın sonuçları ile kıyaslandığında bir miktar daha düşük IC_{50} değerleri ile kısmen daha güçlü antikanser aktivite göstermiştir. Buna karşılık, kuraklık stresi uygulanan gruplardan elde edilen daha düşük IC_{50} değerleri, antikanser etkinliğin daha belirgin hale geldiğini düşündürmektedir. Bu durumun sebebi, kuraklık stresinin bitkide savunma yanıtını tetikleyerek biyolojik aktivite ile ilişkili bazı sekonder metabolitlerin sentezini artırmış olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Ayrıca ekibimizin mevcut makalesinde (Sharif vd., 2021) MeOH ekstraktı için HPLC metodu ile yapılan içerik analizinde şikorik asit ve izomerleri en fazla bulunan doğal bileşikler olarak rapor edilmiştir. Tez çalışmamızda uyguladığımız kuraklık stresi şikorik asit ve izomerlerinde artışa sebep olarak daha düşük ve daha etkili IC_{50} değerleri bulunmasına sebep olmuş olabilir. Literatürde de *Echinacea purpurea* L. bitkisine dört farklı sulama seviyelerinde (tarla kapasitesinin %40, %60 ve %80'i) uygulanan kuraklık stresinin şikorik asit ve klorojenik asit içeriklerini sırasıyla %91,1 ve %5,1 oranında arttığını gösteren bir çalışma mevcuttur. Çalışma sonuç olarak bitkinin optimum gelişimi için orta düzeyde sulama koşullarını önermiştir (Khorasaninejad vd., 2018). Ayrıca Driggins vd. (2017) tarafından *E. purpurea* ve *Echinacea pallida*'nın antikanser aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada bu bitkilerden elde edilen farklı çözücülerle hazırlanmış ekstraktlar (MeOH ve su) BT-

549 meme kanseri hücre hattı ve doğal öldürücü (NK) hücrelerinin üzerinde test edilmiştir. Çalışmanın sonuçları bu ekstraktların BT-549 meme kanseri hücre hattı üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini, buna karşılık doğal öldürücü (NK) hücrelerin aktivitesini baskılamadığını, aksine destekleyebildiğini bildirmiştir. Bu aktiviteden sorumlu olarak başlıca bileşiklerin özellikle şikorik asit, kaftarik asit, alkamidler ve flavonoidler olduğu belirtilmiştir. Yine *E. purpurea'*nın toprak üstü ile kök kısımlarının antikanser aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada *Allium jesdianum* ekstraktı kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle ZnO nanoparçacıkları (NP) elde edilmiş ve bu nanoparçacıklarla muamele edilen MeOH ekstraktları MCF-7 (meme kanseri), MCF-10 (normal hücre hattı) ve periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) üzerinde test edilmiştir. Sonuçlara göre ZnO NP ile muamele edilen ekstraktların antikanser aktivitesinin, kontrol ve ZnO mikropartikül (MP) uygulamalarına kıyasla arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca çalışmada MeOH ekstraktlarına yapılan HPLC analizleri, ZnO NP uygulaması ile şikorik asit içeriğinin kontrol grubuna göre yaklaşık 3,5 kat arttığını ortaya koymuştur (Karimi vd., 2019). Tez çalışmamızda MeOH ekstraktı ile elde edilen bulgular, literatürde *E. purpurea* MeOH ekstraktına ait bu sonuçlar ve uygulanan kuraklık stresinin bulguları ile tutarlılık göstermektedir. EA ve su ekstraktlarından elde edilen antikanser aktivite sonuçlarında ise EA ekstraktı için en düşük IC_{50} değeri 48. saatte 429,6 µg/mL olarak kontrol grubunda, ardından en düşük IC_{50} değeri 24. saatte 474,6 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu değerleri EA ekstraktı için %75 su uygulanmış stres grubu örnekleri takip etmiş olup 48. saatte 504,2 µg/mL, 24. saatte ise 567,2 µg/mL olarak IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Su ekstraktı için de IC_{50} değerleri 24. saatte 1597 µg/mL olarak %25 su uygulanmış stres grubu örneklerinden ve 24. saatte 1778 µg/mL olarak kontrol grubu örneklerinden elde edilmiştir. Su ekstraktının 48. saatteki uygulamasından elde edilen sonuçlar ile IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır. Su ve EA ekstraktlarına ait bu bulgular çalışma ekibimiz tarafından yapılan *E. purpurea* bitkisine ait araştırmadaki (Sharif vd., 2021) sonuçları ile kıyaslandığında ise beklenilenin aksine IC_{50} değerleri olarak daha yüksek seviyede tespit edilerek antikanser etkinliğin daha düşük olduğunu göstermiştir. Literatürdeki mevcut makalede (Sharif vd., 2021) su ekstraktı için bu IC_{50} değerleri 24. saatte 614 µg/mL, 48. saatte ise 194 µg/mL olarak bildirilmiştir. EA ekstraktı için ise makaledeki IC_{50} değerleri 24. saatte 327 µg/mL, 48. saatte ise 305 µg/mL olarak bildirilmiştir. Tez çalışmamızda EA ve su ekstraktı için elde edilen IC_{50} değerleri ile ekibimizin yaptığı

çalışmadaki (Sharif vd., 2021) IC_{50} sonuç farklılığının çeşitli değişkenlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. EA ve su ekstraktına ait bu bulgular, kuraklık stresinin *E. purpurea*'da tüm ekstrakt fraksiyonlarını aynı yönde etkilemediğini göstermektedir. Nitekim MeOH ekstraktında daha düşük IC_{50} değerleri ile daha belirgin bir antikanser aktivite tespit edilmişken, EA ve özellikle su ekstraktlarında aynı yönde bir artış saptanmamıştır. Kuraklık stresi biyolojik aktiviteden sorumlu bazı fenolik ve ilişkili sekonder metabolitlerin birikimini artırmış olsa da, bu artış EA ve su ekstraktlarında HeLa hücreleri üzerinde daha güçlü sitotoksik aktivite oluşturan bileşiklerin miktarını artırmamış olabilir. Özellikle su ekstraktı için 48. saatte IC_{50} değerlerinin hesaplanamaması, suda çözünen bileşik fraksiyonunun antikanser etkinlik açısından daha zayıf veya daha değişken bir profile sahip olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca kontrol grubuna ait EA ve su ekstraktı sonuçlarının daha önce ekibimize ait makalede (Sharif vd., 2021) bildirilen değerlerden daha yüksek bulunması, bu farklılığın yalnızca kuraklık stresine bağlanamayacağını; kontrollü yetiştirme koşulları, bitki materyalinin fizyolojik durumu ve ekstrakt kompozisyonundaki değişikliklere de bağlı olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada kontrol edilen deneysel koşullara rağmen, kuraklık stresinin bitki metabolizmasını ve dolayısıyla ekstrakt kompozisyonunu değiştirebileceği göz önüne alındığında, elde edilen IC_{50} değerlerinin farklılık göstermesi beklenen bir durum olarak değerlendirilebilir. Aarland vd. (2017), C olarak isimlendirdikleri *E. purpurea*'nın toprak üstü ve kök kısımları ile *E. angustifolia* köklerini içeren hidroetanolik ekstraktında HeLa hücreleri için 270 µg/mL düzeyinde antiproliferatif etki belirlerken, diğer ekstraktlarda benzer düzeyde bir etkinlik saptanmadığını belirtmiştir. Bu bulgu, ekstrakt içeriğinin ve özellikle farklı bitki kısımlarının veya türlerin bir arada bulunmasının biyolojik aktiviteyi belirgin biçimde etkileyebileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde Driggins vd. (2017), *E. purpurea* kök ve yapraklarından elde edilen suda çözünebilen ekstraktların BT-549 hücre hattında proliferasyonu azalttığını ve yaklaşık 1050 µg/mL düzeyinde bir IC_{50} değerini bildirmiştir. Bu değer, çalışmamızda su ekstraktı için elde edilen yüksek IC_{50} aralığı ile genel olarak uyumlu görünmekte ve su ekstraktlarının antikanser etkisinin görece sınırlı kalabileceğini düşündürmektedir. Buna karşılık Cichello vd. (2016) tarafından bildirilen hidroetanolik *E. angustifolia* ve *E. purpurea* kök ekstraktı karışımının HeLa hücrelerinde proliferatif etki göstermesi, *Echinacea* ekstraktlarının biyolojik etkisinin her zaman antiproliferatif olmayabileceğini ortaya

koymaktadır. Bu durum, aynı cins bitkilere ait ekstraktların dahi kullanılan bitki materyalinin kaynağına (ticari vb.), hasat zamanına, kullanılan çözücüye, bitki kısmına ve kimyasal bileşim farklılıklarına bağlı olarak sitotoksik, zayıf etkili veya proliferasyonu artırıcı sonuçlar verebileceğini göstermektedir. Dolayısıyla çalışmamızda su ve EA ekstraktları için elde edilen sonuçların, literatürde bildirilen farklı yönlü etkilerle birlikte değerlendirildiğinde, *Echinacea* ekstraktlarının antikanser aktivitesinin standart ve tek yönlü bir özellik taşımadığı; aksine çoklu değişkenlere bağlı olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında seçilen bakteri suşları (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 67101) için MİK değerlerinin 1000 µg/mL'nin üzerinde kalması, test edilen ekstraktların çalışılan konsantrasyon aralığında belirgin antibakteriyel aktivite göstermediğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, aynı araştırma ekibinin önceki çalışmasında (Sharif vd., 2021) tüm ekstraktlar için bildirilen 62,5–500 µg/mL aralığındaki MİK/MBK değerlerinden daha zayıf bir aktiviteye işaret etmektedir. Bu çalışmada antibakteriyel aktivite bakımından MİK değerlerinin 1000 µg/mL'nin üzerinde kalması, önceki ekip çalışmasında aynı çözücü sistemleri ile elde edilen daha düşük MİK değerlerinden farklılık göstermiştir. Her iki çalışmada da aynı ekstraksiyon yaklaşımı kullanıldığı için bu farkın çözücüden kaynaklanmadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, bitkisel ekstraktların biyolojik aktivitesinin yalnızca çözücüye değil, bitki materyalinin fizyolojik durumuna, yetiştirme koşullarına, hasat zamanına, ekstraksiyon yöntemine, bitki materyalinin işlenme biçimine ve ikincil metabolit profiline bağlı olarak değişebildiği bilinmektedir (Ahmadi vd., 2024; Momchev vd., 2020; Ozcan vd., 2025; Şahin ve Şenkal 2024; Tolan vd., 2025). Bu çalışmada kullanılan bitkilerin kontrollü koşullar altında yetiştirilmesi ve ardından kuraklık uygulamasına maruz bırakılması kontrol grubunda dahi önceki çalışmadan (Sharif vd., 2021) farklı bir fitokimyasal kompozisyon oluşmasına neden olmuş olabilir. Bununla birlikte, literatürde *Echinacea* türlerine ait ekstraktlarının antibakteriyel etkisinin seçici olduğu ve kullanılan ekstrakt tipine bağlı olarak değişebildiği bildirilmektedir. Sharma vd. (2008), ticari kaynaklı altı farklı *Echinacea* ekstraktını incelemiş olup çalışmalarında iki *E. angustifolia* kök

preparatı, iki *E. purpurea* toprak üstü kısım preparatı ve iki *E. purpurea* kök + toprak üstü kısım karışımını kullanmışlardır. Bu ekstraktlar içinde *E. angustifolia* kök preparatlarının alkamidce zengin ve polisakkaritçe düşük, *E. purpurea* toprak üstü kısım preparatlarının ise yüksek polisakkarit içerikli ve alkamid içermeyen yapıda olduğu bildirilmiştir. Çalışmada 15 insan patojeni bakteri ve iki patojen mantar test edilerek bunlar arasında özellikle *Streptococcus pyogenes, Haemophilus influenzae, Legionella pneumophila, Clostridium difficile* ve *Propionibacterium acnes* suşlarının bir veya daha fazla ekstrakta belirgin duyarlılık gösterdiği rapor edilmiştir. Buna karşılık diğer bakteri ve mantarların yalnızca hafif duyarlılık gösterdiği ya da duyarsız kaldığı belirtilmiş, ayrıca antibakteriyel duyarlılık ile ekstraktlardaki standart marker bileşik düzeyleri arasında doğrudan bir korelasyon saptanmamıştır. Bu mikroorganizmalar arasında tez çalışmamızda da kullandığımız *Enterococcus faecalis, Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşları da yer almaktadır. Literatürdeki bu sonuçlar *Echinacea* ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesinin seçici ve değişken karakter gösterebildiğini bildirdiğinden, çalışmamızda belirgin MİK değerleri elde edilememesi bitki materyalinin biyolojik özellikleri ile ilişkili bir durum olarak değerlendirilebilir.

Tez çalışmamızın bir diğer bölümü olarak, yetiştirdiğimiz *E. pupurea* bitkilerine farklı besleme ile büyüme düzenleyici uygulamalar (Humik/fulvik asit, mikrobiyal gübre, mineral gübre, giberellik asit) yapılmış olup ardından elde edilen bitki ekstraktlarının antikanser ve antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu analizlerde kullanılacak ekstraktlar ön değerlendirme kapsamında belirlenen toplam flavonoid ve antioksidan kapasite test sonuçları dikkate alınarak seçilmiştir. Buna göre mikrobiyal gübre uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen EA ekstraktı ile giberellik asit uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen su ekstraktı antioksidan kapasite test sonuçlarında en yüksek değeri verdiği için seçilen ekstraktlar olmuştur. Bunun yanında mineral gübre uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen MeOH ekstraktında toplam flavonoid miktarı en yüksek belirlenmiş olup analizler için seçilmiştir. Elde edilen EA ekstraktları arasında humik/fulvik asit uygulanmış bitkilerden elde edilen EA ekstraktı ile giberellik asit uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen su ekstratında toplam flavonoid miktarı öne çıktığı için seçilmiştir. Kontrol grubu olarak da uygulama yapılmamış bitki örneklerinden elde edilen EA, MeOH ve su ekstraktları

kullanılmıştır. Bu ekstraktlar ile yapılan antikanser aktivite analizleri sonucunda HeLa hücre canlılığını en fazla azaltan ve 243,7 µg/mL olarak hesaplanan en düşük IC_{50} değerini kontrol grubu bitkilerinden elde edilen EA ekstraktı vermiştir. Bu IC_{50} değeri 48. saatteki sonuç olup bu değeri 327,7 µg/mL olarak 24. saatteki bulgu takip etmiştir. Ardından ise humik/fulvik asit uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen EA ekstraktının sırasıyla 24. ve 48. saatteki IC_{50} değerleri olan 699,1 µg/mL 702,5 µg/mL belirlenmiştir. Son olarak ise mikrobiyal gübre uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen EA ekstraktında HeLa hücreleri için sırasıyla 24. ve 48. saatteki IC_{50} değerleri 1204 µg/mL ve 1229 µg/mL olarak belirlenmiştir. MeOH ekstraktı için belirlenen örneklerden elde edilen sonuçlara baktığımızda en düşük IC_{50} değeri 48. saatte 733,5 µg/mL olarak 24. saatte ise 785,9 µg/mL olarak kontrol grubu bitkilerinden elde edilmiştir. Mineral gübre uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen MeOH esktraktında ise IC_{50} değeri 24. saatte 1224 µg/mL olarak, 48. saatte 1245 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Giberellik asit uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen su ekstraktının HeLa hücreleri üzerinde 24. ve 48. saatte IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır. Çalışma ekibimizin araştırma makalesinde (Sharif vd., 2021) bitkinin yaprak kısmından elde edilen MeOH ekstraktının HeLa hücrelerinde 24. ve 48. saatlerde tespit edilen antikanser aktivitesi için IC_{50} değerleri sırasıyla 928 µg/mL ve 743 µg/mL olarak bildirilmiştir. Bu mevcut makalede verilen IC_{50} değerleri ve tez çalışmamızın bu bölümünde MeOH ekstraktı için elde ettiğimiz IC_{50} değerleri karşılaştırıldığında makaledeki değerler tez çalışmasındaki kontrol grubu bitkilerinden elde edilen değerler ile paralellik göstermektedir. Mineral gübre uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen MeOH ekstraktı için ise IC_{50} değerleri biraz daha yüksek seviyede tespit edilerek antikanser aktivitenin daha düşük olduğunu göstermiştir. Mevcut makalede (Sharif vd., 2021) EA ekstraktı için IC_{50} değerleri 24. saatte 327 µg/mL, 48. saatte ise 305 µg/mL olarak bildirilmiştir. EA ekstraktı için tez çalışmamızın bu bölümünde elde ettiğimiz IC_{50} değerlerinden kontrol grubu örneklerine ait IC_{50} değerleri 24. saatte 327,7 µg/mL olarak makaledeki ile yaklaşık olarak aynı sonucu vermiş ve tutarlılık göstermiştir. Elde ettiğimiz 48. saatteki IC_{50} değeri ise 243,7 µg/mL olarak makalede bildirilen sonuç (305 µg/mL) ile yakın bir değer göstermiştir. Humik/fulvik asit ve mikrobiyal gübre uygulanmış bitki örneklerinden elde edilen EA ekstraktları için IC_{50} değerleri mevcut makalede bildirilen IC_{50} değerlerinden daha yüksek seviyede hesaplanarak antikanser aktivitenin

daha düşük olduğunu göstermiştir. Su ekstraktı için karşılaştırma yaptığımızda ise var olan araştırma makalemizde (Sharif vd., 2021) IC_{50} değerleri 24. saatte 614 µg/mL, 48. saatte ise 194 µg/mL olarak bildirilirken tez çalışmamızın bu bölümündeki su ekstraktının HeLa hücreleri üzerinde antikanser aktivitesi tespit edilememiştir. Tüm bu sonuçlarımız ve karşılaştırmalarımız bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamaların HeLa hücreleri üzerinde etkili olan bileşiklerin birikimini artırmadığını veya ekstrakt kompozisyonunu farklı bir yöne kaydırdığını düşündürmektedir. Nitekim literatürde *E. purpurea* bitkisine yapılan uygulamaların ikincil metabolitler üzerinde farklı yönlerden etki gösterdiğine yönelik yapılan çalışmalar arasında Khorasaninejad vd. (2018), uyguladıkları kuraklık stresinin *E. purpurea*'da şikorik asit ve klorojenik asit düzeylerini artırırken, tek başına humik asit uygulamasının özellikle klorojenik asit birikimini arttırdığını bildirmişlerdir. Tez çalışmamızdaki bir uygulamaya benzer olarak mikrobiyal gübrenin uygulandığı literatürdeki başka bir çalışmada ise kontrol grubu (gübre yok) ile birlikte azot bakterileri (*Azospirillum lipoferum, Azotobacter chroococcum*), fosfor çözücü bakteriler (*Pseudomonas fluorescens, Glomus intraradices*) ve bunların kombinasyonları bitkiye uygulanmıştır. HPLC analizleri sonucunda, bitkinin yetişme döneminde her iki yılda da kateşin içeriğinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kafeik asit, klorojenik asit ve epikateşin içeriklerinin özellikle ilk yılda yetişme döneminde daha yüksek olduğu; bu bileşikler açısından kontrol, *Azotobacter chroococcum* ve *Azospirillum lipoferum* uygulamalarının öne çıktığı bildirilmiştir. Ferulik asit birikiminin ise *Pseudomonas fluorescens* ve *Glomus intraradices* uygulamalarının ardından daha yüksek değerler verdiği, kuersetin içeriğinin ise ilk yıl kök örneklerinde *Azotobacter chroococcum* uygulanması ile yüksek seviyede bulunduğu bildirilmiştir (Hajagha vd., 2019). Yine çeşitli yaklaşımlar doğrultusunda yapılan bir çalışmada *E. purpurea* bitkisi sera koşullarında hidroponik olarak yetiştirilerek farklı perlit partikül boyutları, perlit–torf karışım oranları ve NO_3^-/NH_4^+ oranlarının büyüme ve fitokimyasal özellikler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar yetiştirme ortamına bağlı olarak toplam fenolik madde, toplam flavonoid içeriği ve anti-radikal temizleme aktivitesi gibi fitokimyasal özelliklerin de değiştiğini göstermiştir. HPLC yöntemi ile yapılan analizler sonucunda kafeik asit türevleri (şikorik asit, kaftarik asit, klorojenik asit, sinarin ve ekinakozit) ile alkamid miktarının en yüksek düzeyinin özellikle çok ince perlit içeren ve 50:50 perlit–torf oranına sahip ortamda yetiştirilen bitkilerde olduğu

rapor edilmiştir. Bunun yanında perlit partikül boyutunun küçülmesi ve NO_3^-/NH_4^+ oranının artmasıyla bu bileşiklerin miktarının yükseldiği de belirlenmiştir (Ahmadi vd., 2021). Hormon uygulamaları kapsamında gerçekleştirilen bir çalışmada ise *in vitro* olarak yetiştirilen *E. purpurea* L. bitkisinin saçaklı köklerine 0,005 ila 1,0 µM arasında değişen sekiz farklı konsantrasyonda Gibberellik asit (GA3) uygulanmıştır. En iyi sonuçların 0,025 µM GA_3 dozunda elde edildiği bildirilmiş olup bu dozda şikorik asit, kaftarik asit ve klorojenik asit miktarlarının yanı sıra Fenilalanin amonyak liyaz (PAL) aktivitesi, hücre canlılığı ve serbest radikal süpürme aktivitesinin de arttığı belirlenmiştir. Daha düşük ve daha yüksek GA_3 doz uygulama sonuçlarında ise bu parametrelerin kontrol grubuna göre azaldığı gözlenmiştir. Sonuç itibariyle uygun dozda GA_3 uygulamasının *E. purpurea*'da ikincil metabolit üretimini artırmak için etkili bir strateji olabileceği, ancak dozun oldukça kritik bir öneme sahip olduğu belirtilmiştir (Abbasi vd., 2012). Tez çalışmamızda *E. purpurea* bitkilerine uygulanan giberellik asit sonrasında elde edilen su ekstraktlarında antikanser aktivite belirlenememesi, bu uygulamada optimum GA_3 dozunun sağlanamamış olabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte, benzer durumun kontrol grubundan elde edilen su ekstraktlarında da gözlenmesi, bu farklılığın yalnızca GA_3 uygulamasına ve dozuna bağlanamayacağını da göstermektedir. Literatürde, *E. purpurea* ekstraktlarının kimyasal profili ve biyolojik aktivitesinin hasat zamanı, bitki organı, bitki materyalinin işlenme biçimi ve ekstraksiyon koşulları ile yöntemine bağlı olarak değişebildiği bildirilmektedir (Momchev vd., 2020; Ozcan vd., 2025; Tolan vd., 2025). Bu faktörlerin, su ekstraktlarının biyolojik aktivitesinde gözlenen çalışmalar arası farklılıklarda önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Öte yandan, tez çalışmamızın kontrol grubu bitkilerinden elde edilen EA ve MeOH ekstraktlarına ait IC_{50} değerlerinin, araştırma ekibimiz tarafından daha önce bildirilen sonuçlarla büyük ölçüde uyum göstermesi, elde edilen bulguların deneysel tutarlılığını desteklemektedir. Özellikle EA ekstraktı için 24. saatte belirlenen 327,7 µg/mL'lik IC_{50} değerinin, makalede bildirilen 327 µg/mL değeri ile örtüşmesi dikkat çekicidir. Benzer şekilde, kontrol grubu bitkilerinden elde edilen MeOH ekstraktına ait sonuçların da mevcut makaledeki değerlerle paralellik göstermesi, kullanılan yöntem ve analiz yaklaşımının tekrarlanabilirliğine işaret etmektedir. Bu durum, uygulama gruplarında gözlenen farklılıkların rastlantısal değil, uygulamaların bitki ekstraktlarının biyolojik aktivitesi üzerindeki etkileriyle ilişkili olabileceğini

düşündürmektedir. Kontrol grubuna ait sonuçlar ile araştırma ekibimize ait mevcut makaledeki sonuçların genel uyumunun yanında, kontrol grubuna ait IC_{50} değerlerinde bazı zaman noktalarında küçük farklılıklar da gözlenmiştir. Nitekim MeOH ekstraktında tez çalışmamızda kontrol grubuna ait IC_{50} değerleri 24. saatte 785,9 µg/mL ve 48. saatte 733,5 µg/mL olarak belirlenmiş; bu değerler daha önce ekibimize ait makalede bildirilen 24. saatte 928 µg/mL ve 48. saatte 743 µg/mL sonuçlarına göre bir miktar daha düşük bulunmuştur. Benzer şekilde EA ekstraktı için tez çalışmamızdaki kontrol grubuna ait IC_{50} değeri 48. saatte 243,7 µg/mL olarak hesaplanırken; bu değer makalede 48. saatte 305 µg/mL olarak belirtilmiştir. Bu sınırlı farklılığın, kontrollü koşullarda yetiştirilen bitkiler ile doğal koşullarda yetişen bitkilerin maruz kaldığı çevresel faktörlerin farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Doğal koşullarda yetişen bitkilerin kuraklık, sıcaklık, tuzluluk veya biyotik stres etmenleri gibi tekli ya da kombine streslere maruz kalabilmesi, sekonder metabolit profillerinin kontrollü koşullarda yetiştirilen bitkilerden farklılaşmasına neden olmuş olabilir.

Tez çalışmasının bir parçası olarak besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalar sonrasında elde edilen ekstraktların antibakteriyel aktivitesi de seçilen bakteri suşları (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300) için değerlendirilmiş olup MİK değerlerinin 2000 µg/mL'nin üzerinde kalması, test edilen ekstraktların çalışılan konsantrasyon aralığında belirgin antibakteriyel aktivite göstermediğini ortaya koymuştur. Bu uygulamaların bitkide biyolojik aktivite ile ilişkili tüm bileşikleri aynı yönde artırmadığı ya da bu bileşiklerdeki değişimlerin antibakteriyel aktiviteye doğrudan yansımadığı düşünülmektedir. Bu bulgular kuraklık stresi uygulamalarından elde edilen ekstraktların da antibakteriyel aktivite sonuçları ile benzerlik göstermekte olup yine araştırma ekibimizin önceki makalesinde (Sharif vd., 2021) tüm ekstraktlar için bildirilen 62,5–500 µg/mL aralığındaki MİK/MBK değerlerinden çok daha zayıf bir aktiviteye işaret etmektedir. Makale ile aynı olacak şekilde tez çalışmamızdaki analizlerde de aynı ekstraksiyon yaklaşımı kullanıldığı için bu farkın çözücüden kaynaklanmadığı düşünülmektedir. Çalışmalar arası farklılık, bitkinin biyolojik aktivitesini değiştirebilecek ve etkileyebilecek birçok faktör (bitkinin fizyolojik

durumu, yetiştirme koşulları, hasat zamanı vb.) ile ilişkili olabilir (Ahmadi vd., 2024; Momchev vd., 2020; Ozcan vd., 2025; Tolan vd., 2025). Bununla birlikte, literatürde *Echinacea* türlerine ait ekstraktların antibakteriyel aktivitesinin kullanılan doza, bitki kısmına ve ekstrakt tipine bağlı olarak değişebildiği bildirilmektedir. Nitekim Burlou-Nagy vd. (2023), maserasyon yöntemiyle yapraklardan elde edilen *E. purpurea* etanol ekstraktlarında toplam fenol ve flavonoid içerikleri ile birlikte antimikrobiyal aktiviteyi incelemiş; antimikrobiyal aktivite değerlendirmesini disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleriyle *P. aeruginosa* ATCC 27853 (-), *E. coli* ATCC 25922 (-) ve *S. aureus* ATCC 25923 (+) üzerinde gerçekleştirmiştir. Çalışmada özellikle *E. coli*'ye karşı daha belirgin antibakteriyel etkinlik gözlenmiş ve aktivitenin ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada ise Petkova vd. (2023), *E. purpurea* köklerinden ardışık ekstraksiyonla hekzan, kloroform, EA ve su fraksiyonları olmak üzere dört farklı ekstrakt tipi elde etmiş ve ardından Gaz kromatografisi–kütle spektrometrisi (GC-MS) analizi ile kimyasal bileşimlerini incelemiştir. Çalışmada antimikrobiyal aktivite agar kuyucuk metodu ile 18 mikroorganizma üzerinde değerlendirilmiş olup EA, hekzan ve kloroform esktraktlarının (*B. cereus, B. amyloliquefaciens, L. monocytogenes, S. aureus, S. enteritidis, E. coli, E. faecalis, P. aeruginosa, C. albicans, S. cerevisiae* ve *Penicillium* sp.) 11 mikroorganizma üzerinde aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu ekstraktlar arasında ise en yüksek aktiviteyi EA ekstraktının gösterdiği rapor edilmiştir. Su ekstraktı ise antimikrobiyal aktivite analizine dahil edilmemiştir.

Tez çalışmamız kapsamında yapılan kuraklık stresi uygulamaları ile bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamaların sonuçları birlikte değerlendirildiğinde biyolojik aktivite üzerinde daha belirgin etkinin kuraklık stresi altında elde edildiği görülmektedir. Kuraklık stresi uygulamalarında özellikle MeOH ekstraktında daha düşük IC_{50} değerleri elde edilmiş ve kontrol grubuna kıyasla daha güçlü bir antikanser aktivite ortaya konulmuştur. Buna karşılık humik/fulvik asit, mikrobiyal gübre, mineral gübre ve giberellik asit uygulamalarında, bazı ön değerlendirme parametrelerinde artış gözlenmiş olsa da, antikanser aktivite bakımından kontrol grubundan daha belirgin bir aktivite saptanmamıştır. Antibakteriyel aktivite açısından ise hem kuraklık stresi hem de bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalar sonrasında test edilen ekstraktlarda seçilen bakteri suşlarına karşı belirgin inhibitör

etki tespit edilememiştir. Bu bulgular ışığında genel olarak kuraklık stresinin *E. purpurea*'da biyolojik aktivite ile ilişkili etkili bileşiklerin birikimini artırmada, bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalara kıyasla daha etkili bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir.

Tez çalışmamızın en önemli yönlerinden biri, *E purpurea*'da kuraklık stresi ile farklı bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamaların, aynı bitki materyalinden elde edilen ekstraktların antikanser ve antibakteriyel aktiviteleri üzerindeki etkilerini birlikte değerlendirmesidir. Yapılan analizlerden elde edilen bulgular kuraklık stresi uygulamalarının özellikle antikanser aktivite bakımından daha belirgin sonuçlar verdiğini, buna karşılık bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamaların biyolojik aktiviteyi her zaman aynı yönde artırmadığını ortaya koymuştur. Çalışmamız, bu yönüyle *E. purpurea*'da çevresel stres ve yetiştirme uygulamalarının biyolojik aktiviteye yansımasını karşılaştırmalı olarak ortaya koyması bakımından literatüre katkı sağlamaktadır. Ayrıca bundan sonrası için fitokimyasal ile biyolojik aktivite odaklı araştırmalara temel oluşturabilecek nitelikte bir çalışma olarak değerlendirilmektedir.

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışması kapsamında, ilk olarak kontrollü koşullar altında *E. purpurea* bitkileri yetiştirilmiş olup ardından bitkilere çeşitli seviyelerde kuraklık stresi (%25, %50, %75) ile farklı besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalar (Humik/fulvik asit, mikrobiyal gübre, mineral gübre, giberellik asit) yapılmıştır. Bu uygulamalar sonrası bitkilerin bazı biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmanın bulguları, literatürdeki araştırma ekibimiz tarafından daha önce bildirilen verilerle (Sharif vd., 2021) ve başka ilgili makalelerle karşılaştırılarak yapılan uygulamaların, bitkinin biyolojik aktivitesi üzerinde aynı yönde sonuç vermediğini, etkinin ekstrakt tipi ve uygulama koşullarına bağlı olarak farklılaşabildiğini ortaya koymuştur. Çalışmadan elde edilen temel sonuçlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

1. *E. purpurea* bitkilerine uygulanan kuraklık stresi ve farklı besleme ile büyüme düzenleyici uygulamalar, bitkilerden elde edilen EA, MeOH ve su ekstraktlarının antikanser aktivitelerini aynı yönde etkilememiştir.

2. Ekstrakt tipi ve kuraklık stres seviyesine bağlı olarak antikanser aktivitede farklılıklar gözlenmiştir.

3. Kuraklık stresinin en şiddetli şekilde, %25 oranında su verilerek uygulandığı bitkilerden elde edilen MeOH ekstraktı HeLa kanser hücreleri üzerinde 24. saatte 429,1 µg/mL, 48. saatte ise 435,6 µg/mL olmak üzere en düşük ve en etkili IC_{50} değerlerini göstermiştir. Ayrıca bu değerler, araştırma ekibimiz tarafından doğal koşullarda yetişen bitkilerden elde edilen MeOH ekstraktı için daha önce bildirilen IC_{50} değerlerinden daha düşük bulunmuştur.

4. Kuraklık stresi uygulamalarından elde edilen su ekstraktının ve kontrol grubunun antikanser aktivitesi EA ve MeOH ekstraktlarına göre daha zayıf bulunmuştur. HeLa hücrelerinde yapılan canlılık testine göre IC_{50} değerleri 24. saatte kontrol grubu için 1778 µg/mL, stres grubu için 1597 µg/mL olarak bulunmuştur. Her iki grubun 48. saatteki IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır.

5. Bitki besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalar (humik/fulvik asit, mikrobiyal gübre, mineral gübre ve giberellik asit) sonrasında elde edilen ekstraktlar arasında, HeLa hücre canlılığını en fazla azaltan ve en güçlü antikanser aktiviteyi gösteren ekstrakt kontrol grubuna ait EA ekstraktı olmuştur. Bu ekstrakta ait IC_{50} değerleri 24. saatte 327,7 µg/mL, 48. saatte ise 243,7 µg/mL olarak belirlenmiştir.

6. Humik/fulvik asit uygulanmış bitkilerden elde edilen EA ekstraktı, kontrol grubunun ardından uygulamalar arasında en düşük IC_{50} değerlerini vermiş olup antikanser aktivite göstermiştir. Sonuç olarak IC_{50} değeri 24. saatte 699,1 µg/mL, 48. saatte ise 702,5 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

7. Giberellik asit uygulanmış bitkilerden elde edilen su ekstraktının HeLa hücreleri üzerinde 24. ve 48. saatler için IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır. Bu sebeple belirgin bir antikanser aktivitesi saptanamamıştır.

8. Kuraklık ve uygulamalar sonrası elde edilen ekstraktların antikanser aktivite analizlerinde kontrol gruplarına ait EA ve MeOH ekstraktlarının sonuçları çalışma ekibimizin makalesinde (Sharif vd., 2021) bildirilen sonuçlarla genel olarak paralellik göstermiştir. Bu durum deneysel sistemin ve analiz yaklaşımının tutarlı olduğunu desteklemektedir.

9. Buna karşılık, kuraklık ve uygulamalar sonrası elde edilen su ekstraktının sonuçları çalışma ekibimizin makalesi (Sharif vd., 2021) ile aynı düzeyde paralellik göstermemiş; kontrol ve uygulama gruplarında antikanser aktivite daha zayıf bulunmuştur. Bu durum, su fraksiyonunun biyolojik aktivitesinin daha değişken olabileceğini düşündürmektedir.

10. Hem kuraklık stresi uygulamaları hem de besleme ve büyüme düzenleyici uygulamalar sonrasında elde edilen ekstraktların antibakteriyel aktivite analizlerinde, seçilen bakteri suşları için belirgin bir etki tespit edilememiştir. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri 1000 µg/mL'nin üzerinde kaldığı için çalışılan konsantrasyon aralığında inhibisyon saptanmamıştır.

11. Antikanser ve antibakteriyel aktivite analizlerinde kullanılan ekstraktlar ön değerlendirme kapsamındaki toplam flavonoid, toplam fenolik ve antioksidan kapasite sonuçlarına göre seçilmiş olsa da, bu ön seçimin antikanser veya antibakteriyel aktiviteye her zaman doğrudan yansımadığı görülmüştür.

12. Tez çalışmasından genel çıkarım olarak, *E. purpurea*'nın EA, MeOH ve su ekstraktlarının biyolojik aktivitesinin kuraklık stresi ile humik/fulvik asit, mikrobiyal gübre, mineral gübre ve giberellik asit gibi uygulama türlerine, ekstrakt tipine ve muhtemel kimyasal profiline bağlı olarak değiştiği, ancak bu değişimin tüm uygulamalarda antikanser ya da antibakteriyel etkinliği artırmadığı sonucuna varılmıştır. Buna ek olarak, kontrollü koşullarda yetiştirilen bitkilerden elde edilen bazı ekstraktların doğal koşullarda yetişen bitkilerden elde edilen ve daha önce araştırma ekibimiz tarafından bildirilen ekstraktlarla karşılaştırıldığında farklı biyolojik aktivite profilleri gösterebildiği belirlenmiştir.

7. ÖNERİLER

Tez çalışmamızdan elde edilen bulgular doğrultusunda, kuraklık stresi ve farklı besleme ile büyüme düzenleyici uygulamalar yapılan *Echinacea purpurea* bitkisinin biyolojik aktivitelerinin daha ayrıntılı ortaya konulabilmesi için ileri çalışmalarda farklı yeni nesil ekstraksiyon yöntemleri ve çözücü sistemleri birlikte değerlendirilebilir. Özellikle su ekstraktlarında belirgin antikanser ve antibakteriyel etkinlik elde edilememesi nedeniyle, suda çözünen bileşik profili daha ayrıntılı incelenebilir. Literatürdeki çalışmalarda ağırlıklı olarak *E. purpurea*, *E. angustifolia* ve *E. pallida* türlerinin köklerinden, çiçeklerinden ve yapraklarından elde edilen ekstrakların kullanıldığı görülmektedir. Bunların yanında ekinezya bitkilerinin her bir bölümü farklı ikincil metabolitler barındırabilir ve bu da çeşitli tıbbi uygulamaların yolunu açabilir. Daha az bilinen ekinezya türlerinin ve farklı bitki kısımlarının bilinmeyen potansiyellerini araştırmak, hem araştırma hem de endüstri için umut vadeden bir yol olabilir. Humik/fulvik asit, mikrobiyal gübre, mineral gübre ve giberellik asit gibi uygulamaların *E. purpurea* üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı ortaya konulabilmesi için, farklı doz ve uygulama kombinasyonlarını içeren kapsamlı çalışmalar planlanabilir. Bu çalışmalarla, söz konusu uygulamaların ekinezya bitkilerindeki şikorik asit, kaftarik asit, klorojenik asit, alkamidler gibi biyolojik aktivite ile ilişkili özgül ikincil metabolitleri nasıl etkileyeceği ayrı ayrı değerlendirilebilir. Kuraklık stresi dahil tüm uygulamalar sonrasında elde edilen ekstraktların antikanser aktivite çalışmalarında farklı kanser hücre hatları ve sağlıklı hücre hatları üzerinde de analizler yapılarak ekstraktların seçici sitotoksik etkileri daha kapsamlı şekilde değerlendirilebilir.

Antibakteriyel aktivite açısından ise farklı Gram-pozitif ve Gram-negatif suşların birlikte değerlendirilmesi yararlı olabilir. Çeşitli antimikrobiyal test yöntemlerinin birlikte kullanılması, farklı konsantrasyon aralıklarının denenmesi ekstraktların aktivitesinin daha kapsamlı ortaya konulmasına katkı sağlayabilir. Ayrıca kök, yaprak, çiçek ve diğer toprak üstü kısımlardan elde edilen ekstraktların ayrı ayrı ve kombine incelenmesi, antibakteriyel aktiviteden sorumlu olabilecek bileşiklerin nasıl ve hangi

bitki organında yoğunlaştığının anlaşılmasına yardımcı olabilir. Bu tür çalışmalar, *E. purpurea*'nın olası antibakteriyel potansiyelinin netleştirilmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Aarland, R. C., Bañuelos-Hernández, A. E., Fragoso-Serrano, M., Sierra-Palacios, E. D. C., Díaz de León-Sánchez, F., Pérez-Flores, L. J., Rivera-Cabrera, F., & Mendoza-Espinoza, J. A. (2017). Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* extracts. *Pharmaceutical Biology*, *55*(1), 649-656.

Abbasi, B. H., Stiles, A. R., Saxena, P. K., & Liu, C. Z. (2012). Gibberellic acid increases secondary metabolite production in *Echinacea purpurea* hairy roots. *Applied biochemistry and Biotechnology*, *168*(7), 2057-2066.

Abbood, R. S., Alshammary, R. A., & Al-Attar, M. M. (2024). Overview of pathophysiology of cancer, types, causes, treatment. *Prospectıve Researches*, *24*(4), 17-24.

Abd El-Aal, M. S., Rabie, K. A., & Manaf, H. H. (2016). The effect of UV-C on secondary metabolites production of *Echinacea purpurea* culture in vitro. *J. Biol. Chem. Environ. Sci*, *11*, 465-483.

Ahmadi, F. (2025). Genomic Innovations and Marker-Assisted Breeding in *Echinacea* Species: Insights and Applications. *Sci*, *7*(2), 43.

Ahmadi, F., Kariman, K., Mousavi, M., & Rengel, Z. (2024). Echinacea: Bioactive Compounds and Agronomy. *Plants, 13 (9), 1235*.

Ahmadi, F., Samadi, A., Sepehr, E., Rahimi, A., & Shabala, S. (2021). Perlite particle size and NO3-/NH4+ ratio affect growth and chemical composition of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) in hydroponics. *Industrial Crops and Products*, *162*, 113285.

Al-Khayri, J. M., Rashmi, R., Toppo, V., Chole, P. B., Banadka, A., Sudheer, W. N., Nagella, R., Shehata, W. F., Al-Mssallem, M. Q., Alessa, F. M., Almaghasla, M. I., & Rezk, A. A. S. (2023). Plant secondary metabolites: the weapons for biotic stress management. *Metabolites*, *13*(6), 716.

Arun, M. N., Hebbar, S. S., Bhanuprakas, K., & Senthivel, T. (2017). Seed priming improves irrigation water use efficiency, yield and yield components of summer cowpea under limited water conditions. *Legume Research*, *40*(5), 864-871.

Bat, M., Tunçtürk, R., & Tunçtürk, M. (2020). Ekinezya (*Echinacea purpurea* L.) bitkisinde kuraklık stresi ve deniz yosunu uygulamalarının bazı fizyolojik parametreler üzerine etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, *23*(1), 99-107.

Bitwell, C., Indra, S. S., Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African.*, *19*, e01585.

Brown, P. H., Zhao, F. J., & Dobermann, A. (2022). What is a plant nutrient? Changing definitions to advance science and innovation in plant nutrition. *Plant and Soil*, *476*(1), 11-23.

Bulgari, R., Franzoni, G., & Ferrante, A. (2019). Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. *Agronomy*, *9*(6), 306.

Burlou-Nagy, C., Bănică, F., Negrean, R. A., Jurca, T., Vicaș, L. G., Marian, E., Bácskay, I., Kiss, R., Fehér, P., Vicaş, S. I., Miere, F., Memete, A. R., & Pallag, A. (2023). Determination of the bioactive compounds from *Echinacea purpurea* (L.) Moench leaves extracts in correlation with the antimicrobial activity and the *in vitro* wound healing potential. *Molecules*, *28*(15), 5711.

Burmeister, C. A., Khan, S. F., Schäfer, G., Mbatani, N., Adams, T., Moodley, J., & Prince, S. (2022). Cervical cancer therapies: Current challenges and future perspectives. *Tumour Virus Research*, *13*, 200238.

Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, *383*(1), 3-41.

Cichello, S. A., Yao, Q., & He, X. Q. (2016). Proliferative activity of a blend of *Echinacea angustifolia* and *Echinacea purpurea* root extracts in human vein epithelial, HeLa, and QBC-939 cell lines, but not in Beas-2b cell lines. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, *6*(2), 193-197.

Çalışkan, S., Hashemı, M. S., Akkamış, M., Aytekin, R. İ., & Bedir, M. (2021). Effect of gibberellic acid on growth, tuber yield and quality in potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, *26*(2), 136-146.

Demirci, T. (2022). Determination of secondary metabolite production efficiency in *Echinacea purpurea* callus, shoot, and root in vitro cultures with methyl jasmonate applications. *Acta Physiologiae Plantarum*, *44*(12), 128.

Dinler, B. S., & Çetinkaya, H. (2020). Bitkilerde giberellik asit hormonunun sentezi, sinyal iletimi ve tuz stresi altındaki etkileri. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, *15*(1), 56-63.

Diori Karidio, I., & Sanlier, S. H. (2021). Reviewing cancer's biology: an eclectic approach. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, *33*(1), 32.

Driggins, S. N., Whalen, M., & Myles, E. L. (2017). The inhibitory effect of *Echinacea purpurea* and *Echinacea pallida* on BT-549 and natural killer cells. *MOJ Cell Sci Rep*, *4*(3), 00091.

Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia horticulturae*, *196*, 3-14.

El-Kady, M. S., Helmy, S. A., & El-Zeny, M. (2019). The influence of gibberellic acid and different irrigation resources on morphological, quality and yield parameters of some sweet sorghum varieties in new reclaimed area. *Alexandria Science Exchange Journal*, *40*(OCTOBER-DECEMBER), 585-598.

El-Kamar, F. A., Shaban, K. A., & Rashad, R. T. (2013). The efficiency of using salicylic acid, gibberellic acid and silicon, on the productivity of the maize plant (*Zea maize* l.) under salt-affected soil conditions. *Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering*, *4*(10), 1021-1035.

El-Ramady, H., Hajdú, P., Törős, G., Badgar, K., Llanaj, X., Kiss, A., Abdalla, N., El-Dein Omara, O., Elsakhawy, T., Elbasiouny, H., Elbehiry, F., Amer, M., El-Mahrouk, M. E., & Prokisch, J. (2022). Plant nutrition for human health: a pictorial review on plant bioactive compounds for sustainable agriculture. *Sustainability*, *14*(14), 8329.

Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(4), 3266.

Erenler, R., Telci, I., Ulutas, M., Demirtas, I., Gul, F., Elmastas, M., & Kayir, O. (2015). Chemical Constituents, Quantitative Analysis and Antioxidant Activities of *Echinacea purpurea* (L.) Moench and *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt. *Journal of Food Biochemistry*, *39*(5), 622-630.

Farad, F., Basir, A., Wahid, F., Adnan, M., Ahmad Khan, M., Moghanm, F. S., & Ghoneim, A. (2025). Interactive effect of gibberellic acid and nitrogen sources on quality and yield of wheat under different tillage systems. *Egyptian Journal of Soil Science*, *65*(1), 149-162.

Farruggia, D., Di Miceli, G., Licata, M., Leto, C., Salamone, F., & Novak, J. (2024). Foliar application of various biostimulants produces contrasting response on yield, essential oil and chemical properties of organically grown sage (*Salvia officinalis* L.). *Frontiers in Plant Science*, *15*, 1397489.

Fusco, G. M., Nicastro, R., Rouphael, Y., & Carillo, P. (2022). The effects of the microbial biostimulants approved by EU regulation 2019/1009 on yield and quality of vegetable crops. *Foods*, *11*(17), 2656.

Ganugi, P., Martinelli, E., & Lucini, L. (2021). Microbial biostimulants as a sustainable approach to improve the functional quality in plant-based foods: A review. *Current Opinion in Food Science*, *41*, 217-223.

Gaspar, T., Franck, T., Bisbis, B., Kevers, C., Jouve, L., Hausman, J. F., & Dommes, J. (2002). Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regulation*, *37*(3), 263-285.

Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, *2012*(1), 963401.

Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, *18*(1), 241-272.

Göre, M. (2024). Tıbbi ve aromatik bitkilerde biyostimülant uygulamaları: Avantajlar, zorluklar ve gelecek perspektifleri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, *12*(11), 1944-1952.

Gray, D. E., Pallardy, S. G., Garrett, H. E., & Rottinghaus, G. E. (2003). Acute drought stress and plant age effects on alkamide and phenolic acid content in purple coneflower roots. *Planta Medica*, *69*(01), 50-55.

Grochowski, D. M., Uysal, S., Aktumsek, A., Granica, S., Zengin, G., Ceylan, R., Locatelli, M., & Tomczyk, M. (2017). In vitro enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phytochemical profile of *Potentilla thuringiaca*. *Phytochemistry Letters*, 20, 365–372.

Haifaa, M. I., & Moses, C. (2022). Effects of foliar and soil application of gibberellic acid (GA3) at different growth stages on agronomic traits and yield of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agricultural Science*, *14*(6), 55-67.

Hajagha, R. I., Tabrizi, L., Kafkas, E., & Kırıc, S. (2019). Evaluation of antioxidant activity and some secondary metabolites of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) in response to biological and chemical fertilizers. *Journal of Agricultural Science*, *11*, 1-10.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, *100*(1), 57-70.

Hassanpour, S. H., & Dehghani, M. (2017). Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*, *4*(4), 127-129.

Ho, T. T., Murthy, H. N., & Park, S. Y. (2020). Methyl jasmonate induced oxidative stress and accumulation of secondary metabolites in plant cell and organ cultures. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(3), 716.

Hossain, T. J. (2024). Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology*, *14*(2), 97-115.

Hussien, R., Rashad, R., El-Kamar, F., & Mohamed, M. (2018). The effect of some growth regulators foliar sprayed with the fertilization by Fe and Zn on the yield and quality of lentil grown in sandy soil. *Asian Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *3*(2), 1-10.

Islam, M. S., Hasan, M. K., Islam, B., Renu, N. A., Hakim, M. A., Islam, M. R., Chowdhury, M. K., Uedo, A., Saneoka, H., Raza, M. A., Fahad, S., Barutçular, C., Çig, F., Erman, M., & El Sabagh, A. (2021). Responses of water and pigments status, dry matter partitioning, seed production, and traits of yield and quality to foliar application of GA3 in Mungbean (*Vigna radiata* L.). *Frontiers in Agronomy*, *2*, 596850.

Jimenez-Garcia, S. N., Vazquez-Cruz, M. A., Guevara-Gonzalez, R. G., Torres-Pacheco, I., Cruz-Hernandez, A., & Feregrino-Perez, A. A. (2013). Current approaches for enhanced expression of secondary metabolites as bioactive compounds in plants for agronomic and human health purposes-A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *63*(2).

Jurczuk, A., Bałdyga, P., Froń, O., Romaniuk, S., Kaczmarek, A., Kaczmarek, W., & Krakowiak, M. (2025). Echinacea as a Functional Ingredient in Immunocosmetics: Health and Educational Perspectives–A review. *Journal of Education, Health and Sport*, *85*, 66586-66586.

Karimi, N., Behbahani, M., Dini, G., & Razmjou, A. (2019). Anticancer effects of Echinacea purpurea extracts, treated with green synthesized ZnO nanoparticles on human breast cancer (MCF-7) and PBMCs proliferation. *Materials Research Express*, *6*(9), 095402.

Khorasaninejad, S., Álizadeh Ahmadabadi, A., & Hemmati, K. (2018). The effect of humic acid on leaf morphophysiological and phytochemical properties of *Echinacea purpurea* L. under water deficit stress. *Scientia Horticulturae*, *239*, 314-323.

Khorasaninejad, S., Sadeghi, M., & Ebrahimi, P. (2019). The effect of irrigation intervals on growth, physiological and biochemical indices of coneflower (*Echinaceae purpurea* (L.) Monch) under humic acid foliar application. *Journal of Crop Production*, *12*(3), 101-120.

Kranner, I., Minibayeva, F. V., Beckett, R. P., & Seal, C. E. (2010). What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist*, *188*(3), 655-673.

Laher, F., Aremu, A. O., Van Staden, J., & Finnie, J. F. (2013). Evaluating the effect of storage on the biological activity and chemical composition of three South African medicinal plants. *South African Journal of Botany*, *88*, 414-418.

Le, V. N., Nguyen, Q. T., Nguyen, N. T., Janda, T., Szalai, G., Nguyen, T. D., & Le, T. G. (2021). Foliage apllied gibberelic acid influences growth, nutrient contents and quality of lettuces (*Lactuca sativa* L.). *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, *31*(6).

Lim, T. K. (2013). *Echinacea purpurea*. In *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants: Volume 7, Flowers* (pp. 340-371). Dordrecht: Springer Netherlands.

Loos, G., Duclos, M., & Ennequin, G. (2026). Physical activity and exercise in cervical cancer: a state-of-the-art review. *Cancer Causes & Control*, *37*(3), 41.

Lyapun, I. N., Andryukov, B. G., & Bynina, M. P. (2019). HeLa cell culture: Immortal heritage of henrietta lacks. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, *34*(4), 195-200.

Machado, W., Franchini, J. C., de Fátima Guimarães, M., & Tavares Filho, J. (2020). Spectroscopic characterization of humic and fulvic acids in soil aggregates, Brazil. *Heliyon*, *6*(6).

Marston, H. D., Dixon, D. M., Knisely, J. M., Palmore, T. N., & Fauci, A. S. (2016). Antimicrobial resistance. *Jama*, *316*(11), 1193-1204.

Mera, I. G., Falconí, D. G., & Córdova, V. M. (2019). Secondary metabolites in plants: Main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities. *Rev. Bionatura*, *4*(4).

Momchev, P., Ciganović, P., Jug, M., Marguí, E., Jablan, J., & Zovko Končić, M. (2020). Comparison of maceration and ultrasonication for green extraction of phenolic acids from *Echinacea purpurea* aerial parts. *Molecules*, *25*(21), 5142.

Moradi, K., & Khalili, F. (2018). Assessment of pattern expression of miR172 and miR169 in response to drought stress in *Echinacea purpurea* L. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *16*, 507-512.

Nadaf, M., Abad, M. H. K., Omidipour, R., Soorgi, H., Riahi-Madvar, A., & Ghamari, E. S. (2025). Ethnobotanical knowledge, chemistry, and pharmacology of the Asteraceae Family in Iran: A review. *Ethnobotany Research and Applications*, *30*, 1-27.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, *34*(11), 1527-1536.

Nenclares, P., & Harrington, K. J. (2020). The biology of cancer. *Medicine*, *48*(2), 67-72.

Ozcan, B., Sen, N., Demiray, M. R., Bulduk, I., Sarihan, E. O., & Yildirim, M. U. (2025). Determination of morphogenetic and diurnal variability in phenolic and flavonoid content of *Echinacea purpurea* (L.) moench: a potential source of natural anioxidants. *Plant Foods for Human Nutrition*, *80*(1), 88.

Pal, P., Yadav, K., Kumar, K., & Singh, N. (2016). Effect of gibberellic acid and potassium foliar sprays on productivity and physiological and biochemical parameters of parthenocarpic cucumber cv.'Seven Star F1'. *Journal of Horticultural Research*, *24*(1).

Peng, Y., Guo, C., Yang, Y., Li, F., Zhang, Y., Jiang, B., & Li, Q. (2015). Baicalein induces apoptosis of human cervical cancer HeLa cells in vitro. *Molecular Medicine Reports*, *11*(3), 2129-2134.

Perkins, R. B., Wentzensen, N., Guido, R. S., & Schiffman, M. (2023). Cervical cancer screening: a review. *Jama*, *330*(6), 547-558.

Petkova, N., Petrova, A., Ivanov, I., Hambarlyiska, I., Tumbarski, Y., Dincheva, I., Ognyanov, M., & Denev, P. (2023). Chemical composition of different extracts

from *Echinacea purpurea* (L.) Moench roots and evaluation of their antimicrobial activity. *ChemEngineering*, *7*(5), 94.

Pina-Sanchez, P., Chavez-Gonzalez, A., Ruiz-Tachiquin, M., Vadillo, E., Monroy-Garcia, A., Montesinos, J. J., Grajales, R., Guti´errez de la Barrera, M., & Mayani, H. (2021). Cancer biology, epidemiology, and treatment in the 21st century: current status and future challenges from a biomedical perspective. *Cancer Control*, *28*, 10732748211038735.

Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, *109*(7), 309-318.

Rady, M. R., Aboul-Enein, A. M., & Ibrahim, M. M. (2018). Active compounds and biological activity of in vitro cultures of some *Echinacea purpurea* varieties. *Bulletin of the National Research Centre*, *42*(1), 20.

Rashad, R. T. (2020). Effect of soaking seeds in some growth regulators on wheat grown in sandy soil. *Egyptian Journal of Soil Science*, *60*(2), 99-108.

Rehman, F., Sudhaker, M., Roshan, S., & Khan, A. (2012). Antibacterial activity of *Eachinacia angustfolia*. *Pharmacognosy Journal*, *4*(31), 67-70.

Rejeb, I., Pastor, V., & Mauch-Mani, B. (2014). Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants*, *3*(4),458–475.

Rizzello, C. G., Coda, R., Macías, D. S., Pinto, D., Marzani, B., Filannino, P., Giuliani, G., Paradiso, V. M., Cagno, R. D., & Gobbetti, M. (2013). Lactic acid fermentation as a tool to enhance the functional features of *Echinacea* spp. *Microbial Cell Factories*, *12*(1), 44.

Roche, D., Rickson, J. R., & Pawlett, M. (2024). Moving towards a mechanistic understanding of biostimulant impacts on soil properties and processes: a semisystematic review. *Front. Agron. 6,* 1271672.

Rolnik, A., & Olas, B. (2021). The plants of the *Asteraceae* family as agents in the protection of human health. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(6), 3009.

Russo, D., Lela, L., Benedetto, N., Faraone, I., Paternoster, G., Valentão, P., Milella, L., & Carmosino, M. (2025). Phytochemical Composition and Wound Healing Properties of *Echinacea angustifolia* DC. Root Hydroalcoholic Extract. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(6), 2562.

Sabra, A., Adam, L., Daayf, F., & Renault, S. (2012). Salinity-induced changes in caffeic acid derivatives, alkamides and ketones in three *Echinacea* species. *Environmental and Experimental Botany*, *77*, 234-241.

Sardoei, A. S., Ghoje-Biglou, H. A., & Ghasemi, H. (2023). The effect of gibberellic acid application methods on morphophysiological traits, biochemistry indices,

and fruit number of Jerusalem Cherry (*Solanum pseudocapsicum* L.). *Iranian Journal of Plant Physiology*, *13*(1), 4379-4388.

Shahrajabian, M. H., Petropoulos, S. A., & Sun, W. (2023). Survey of the influences of microbial biostimulants on horticultural crops: Case studies and successful paradigms. *Horticulturae*, *9*(2), 193.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A., & Zhao, C. X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*, *331*(3), 215-225.

Sharif, K. O. M., Tufekci, E. F., Ustaoglu, B., Altunoglu, Y. C., Zengin, G., Llorent-Martínez, E. J., Guney, K., & Baloglu, M. C. (2021). Anticancer and biological properties of leaf and flower extracts of *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Food Bioscience*, *41*, 101005.

Sharma, M., Vohra, S., Arnason, J. T., & Hudson, J. B. (2008). *Echinacea*. Extracts contain significant and selective activities against human pathogenic bacteria. *Pharmaceutical Biology*, *46*(1-2), 111-116.

Six, J. (2011). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Plant and Soil*, *339*(1), 1-2.

Snowden, R., Harrington, H., Morrill, K., Jeane, L., Garrity, J., Orian, M., Lopez, E., Rezaie, S., Hassberger, K., Familoni, D., Moore, J., Virdee, K., Albornoz-Sanchez, L., Walker, M., Cavins, J., Russell, T., Guse, E., Reker, M., Tschudy, O., Wolf, J., True, T., Ukaegbu, O., Ahaghotu, E., Jones, A., Polanco, S., Rochon, Y., Waters, R., & Langland, J. (2014). A comparison of the anti-*Staphylococcus aureus* activity of extracts from commonly used medicinal plants. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine: Paradigm, Practice, and Policy Advancing Integrative Health*, *20*(5), 375-382.

Sorour, S. G., Geries, L. S., & EL-Sabaawy, M. A. E. (2025). Optimization of onion seed production using a combination of molasses, lithovit fertilizer, and plant growth regulators. *Egyptian Journal of Soil Science*, *65*(1), 659-672.

Stanisavljević, I., Stojičević, S., Veličković, D., Veljković, V., & Lazić, M. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of *Echinacea* (*Echinacea purpurea* L.) extracts obtained by classical and ultrasound extraction. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, *17*(3), 478-483.

Şahin, R. V., & Şenkal, B. C. (2024). Determination of Antioxidant Activities of *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Plant Extracts Harvested at Different Times. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, *8*(4), 926-937.

Thuc, L. V., Sakagami, J., Khuong, N. Q., Orgill, S., Huu, T. N., Lang, N. T. T., & Nhan, P. P. (2021). Effects of spraying gibberellic acid doses on growth, yield and oil content in black sesame (*Sesamum indicum* L.). *Asian J. Crop Sci*, *13*, 1-8.

Tolan, K., Selo, M. A., Obaidi, I., O'Connell, P., Carty, M., Nagar, S., Healy, A. M., & Sheridan, H. (2025). The effects of upstream processing on the chemical profile and immunomodulating activity of *Echinacea purpurea* tinctures. *Phytochemistry Letters*, *68*, 102971.

Tsai, Y. L., Chiu, C. C., Chen, J. Y. F., Chan, K. C., & Lin, S. D. (2012). Cytotoxic effects of Echinacea purpurea flower extracts and cichoric acid on human colon cancer cells through induction of apoptosis. *Journal of Ethnopharmacology*, *143*(3), 914-919.

Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources: types, synthesis, and their therapeutic uses. *International Journal of Plant Biology*, *13*(1), 4-14.

Unlu, H. O., Unlu, H., Karakurt, Y., & Padem, H. (2011). Changes in fruit yield and quality in response to foliar and soil humic acid application in cucumber. *Scientific Research and Essays*, *6*(13), 2800-2803.

Valida, G., & Cagasan, U. (2022). A Review Article on Mineral Nutrition and Fertilizer Management of Cereal Crops. *Eurasian Journal of Agricultural Research*, *6*(2), 62-73.

Vojvodić, S., Božović, D., Aćimović, M., Gašić, U., Zeković, Z., Bebek Markovinović, A., Bursać Kovačević, D., Zlatković, B., & Pavlić, B. (2025). A preliminary insight into under-researched plants from the Asteraceae family in the Balkan peninsula: Bioactive compound diversity and antioxidant potential. *Plants*, *14*(18), 2904.

Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, *12*, 1227-1249.

Wu, J., Jin, Q., Zhang, Y., Ji, Y., Li, J., Liu, X., Duan, H., Feng, Z., Liu, Y., Zhang, Y., Lyu, Z., Yang, L., & Huang, Y. (2025). Global burden of cervical cancer: current estimates, temporal trend and future projections based on the GLOBOCAN 2022. *Journal of the National Cancer Center*, *5*(3), 322-329.

Yadav, B., Jogawat, A., Rahman, M. S., & Narayan, O. P. (2021). Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: A review. *Gene Reports*, *23*, 101040.

Zahran, M. M. A. A., & Hefzy, M. (2025). Integrated effects of microbial gibberellic acid and vitamıns on nutrient uptake, onion and water productivity, and calcareous soil fertility. *Menoufia Journal of Soil Science*, *10*(11), 223-255.

Zengin, G., & Aktumsek, A. (2014). Investigation of antioxidant potentials of solvent extracts from different anatomical parts of *Asphodeline anatolica* E. Tuzlaci: An endemic plant to Turkey. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *11*, 481–488.