

**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI GÜBRE UYGULAMALARININ *Nigella damascena* L. (ŞAM
ÇÖREKOTU) BİTKİSİNDE SEKONDER METABOLİT VE SİTOTOKSİK
AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Funda ULUSU

Biyoloji Anabilim Dalı

MART 2021

**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI GÜBRE UYGULAMALARININ *Nigella damascena* L. (ŞAM
ÇÖREKOTU) BİTKİSİNDE SEKONDER METABOLİT VE SİTOTOKSİK
AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

**Funda ULUSU
(140812202)**

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali ŞAHİN

MART 2021

TEZ ONAYI

Funda ULUSU tarafından hazırlanan “**Farklı Gübre Uygulamalarının *Nigella damascena* L. (Şam Çörekotu) Bitkisinde Sekonder Metabolit ve Sitotoksik Aktivite Üzerine Etkisi**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Prof.Dr. Ali ŞAHİN

Jüri Üyeleri

İmza:

Prof. Dr. Ali ŞAHİN

Prof Dr. İsa GÖKÇE

Prof.Dr. Abdullah KAYA

Prof.Dr. Mevlüt BAYRAKCI

Doç. Dr. Gökhan SADİ

Tez Savunma Tarihi: 25/03/2021

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doç. Dr. Ahmet KAYABAŞI
Enstitü Müdürü



BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

(İmza)
Funda ULUSU







Eşime ve kıymetli evlatlarıma,



ÖNSÖZ

Tez çalışma sürecinde değerli bilgi, birikim ve deneyimleri ile bana ışık tutan, yardımlarını esirgemeyen, hoşgörü ve sabrını eksik etmeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Ali ŞAHİN'e daima teşekkür ve saygılarımı sunarım. Fikir ve önerilerinden yararlandığım, her daim ilgi ve desteklerini göstermekten kaçınmayan, sorularımı rahatlıkla yöneltebilme imkânı bulduğum değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Mevlüt BAYRAKCI ve Doç. Dr. Gökhan SADİ'ye yardımlarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim. Laboratuvar çalışmalarım süresince ihtiyaç duyduğum zamanlarda yardımlarını eksik etmeyen kıymetli meslektaşlarım Arş. Gör. Dr. Bahar YILMAZ ve Arş. Gör. Berke Bilgenur ŞENER'e çok teşekkür ederim. Doktora eğitimim boyunca laboratuvar imkânlarından yararlanma fırsatı sağlayan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, olumsuzluklarla beraber umutsuzlukların üstesinden gelme konusunda yol gösteren ve ayrıca tezin her aşamasında her daim büyük fedakârlıklarla yanımda ve arkamda desteğini hissettiğim sevgili eşim Doç. Dr. Yakup ULUSU'ya, sabırla annelerini bekleyen, insanın boynunda taşınabilecek en değerli mücevherin evlat kolları olduğunu bir kez daha gösteren, küçücük bedenlerinde kocaman bir yüreğe ve sonsuz sevgiye sahip olan kıymetli evlatlarım Efe ve Yusuf Ege'ye, ayrıca bugünlere gelmemde paha biçilemez emekleriyle birlikte beni bu yolda cesaretlendiren, maddi ve manevi desteklerini her an hissettiğim sevgili annem Meral ÇAVUŞOĞLU ve babam Mehmet ÇAVUŞOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje no:03-D-18)tarafından desteklenmiştir. BAP birimine bu proje kapsamında fon sağladığı için teşekkür ederiz.

Mart 2021

Funda ULUSU



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xv
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xxi
ÖZET.....	xxiii
ABSTRACT	xxv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	7
2.1 <i>Nigella</i> Türlerinin Fenolojik, Morfolojik, Verim ve Kalite Özellikleri	7
2.1.1 <i>Nigella sativa</i> L. (Adi çörekotu, siyah kimyon).....	8
2.1.2 <i>Nigella damascena</i> L. (Şam çörek otu).....	13
2.1.3 <i>Nigella arvensis</i> L. (Tarla çörek otu)	17
2.2 Sekonder Metabolitler	18
2.2.1 Alkoloidler	22
2.2.2 Terpenoidler	23
2.2.3 Fenolik bileşikler.....	26
2.3 Gübreler ve Sekonder Metabolitler Üzerine Etkileri	32
2.3.1 Organik gübreler	33
2.3.1.1 Hayvansal gübreler	35
2.3.1.2 Yeşil gübre	37
2.3.1.3 Kompost	37
2.3.1.4 Torf (Turba toprağı)	38
2.3.2 Solucan gübresi (Vermikompost)	39
2.3.3 Kimyasal gübreler	40
2.4 <i>Nigella</i> türlerinin Biyolojik Aktiviteleri.....	42
2.4.1 Sitotoksikite ve antikanserojen etkisi	42
2.4.1.1 MCF-7	43
2.4.1.2 MIA PaCa-2	44
2.4.1.3 HEK-293	44
2.4.2 Antimikrobiyal etkisi	48
2.4.3 In vitro ve In vivo antioksidan etkisi	49
2.4.4 Analjezik ve anti-enflamatuvar aktivite	53
2.4.5 Antidiabetik aktivite.....	54
3. MATERYAL VE METOT	59
3.1 <i>Nigella damascena</i> Bitkisinin Yetiştirilmesi ve Gübreleme	59
3.2 Fenolojik, Morfolojik, Verim ve Kalite Analizleri:	61
3.2.1 Fenolojik gözlemler	61
3.2.1.1 Çıkış süresi (gün)	61
3.2.1.2 Çiçeklenme süresi (gün).....	61
3.2.1.3 Vejetasyon süresi (gün).....	61
3.2.2 Morfolojik analizler:	62
3.2.2.1 Bitki boyu (cm)	62
3.2.2.2 Dal sayısı (adet).....	62
3.2.2.3 Kök uzunluğu (cm)	62
3.2.2.4 Bitkide kapsül sayısı (adet/bitki).....	62
3.2.2.5 Kapsül eni ve boyu (mm).....	62

3.2.3 Verim ve kalite analizleri	63
3.2.3.1 Tohum verimi (kg/da)	63
3.2.3.2 Kapsüldeki tohum ağırlığı (g/kapsül).....	63
3.2.3.3 Bin dane ağırlığı (g):	63
3.2.3.4 Bitki başına tohum ağırlığı (g/bitki).....	63
3.2.3.5 Sabit yağ oranı (%).....	64
3.2.3.6 Sabit yağ verimi (kg/da).....	64
3.2.4 Bitki ve kapsül elementel analizi	64
3.2.5 Toprak fizikokimyasal analizi	64
3.3 Fitokimyasal Analizler ve Ekstraksiyon İşlemleri	65
3.3.1 Sabit yağ ekstraksiyonu ve analizi	65
3.3.1.1 Metilasyon prosedürü	65
3.3.1.2 Sabit yağın GC-FID analiz prosedürü	66
3.3.2 Uçucu yağ ekstraksiyonu	66
3.3.2.1 Uçucu yağın GC-MS analiz prosedürü	67
3.3.3 Fenolik bileşik ekstraksiyonu.....	68
3.3.3.1 Fenolik bileşik HPLC analiz prosedürü	68
3.3.4 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi	69
3.3.5 Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi	69
3.4 Biyolojik Uygulamalar	70
3.4.1 Hücre kültürü çalışmaları	70
3.4.2 Alamar mavisi testi.....	71
3.4.3 Sitotoksikite testi	71
3.5 İstatistik Analiz.....	72
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	73
4.1 Fenolojik Gözlemler.....	73
4.1.1 Çıkış süresi (gün)	73
4.1.2 Çiçeklenme süresi (gün):.....	73
4.1.3 Vejetasyon süresi (gün).....	74
4.2 Morfolojik Değerlendirmeler	75
4.2.1 Bitki boyu (cm)	75
4.2.2 Dal sayısı (adet).....	76
4.2.3 Kök uzunluğu (cm).....	76
4.2.4 Bitkide kapsül sayısı (adet/bitki).....	76
4.2.5 Kapsül eni ve boyu (mm).....	77
4.3 Verim ve Kalite Analizleri	79
4.3.1 Kapsüldeki tohum ağırlığı (g/kapsül).....	79
4.3.2 Bitki başına tohum ağırlığı (g/bitki).....	79
4.3.3 Bin dane ağırlığı (g)	80
4.3.4 Tohum verimi (kg/da)	81
4.3.5 Sabit yağ oranı (%).....	81
4.3.6 Sabit yağ verimi (kg/da).....	82
4.4 Bitki ve Kapsül Elementel Analizi	85
4.5 Toprak Fizikokimyasal Analizi	87
4.6 GC-FID’de Sabit Yağ Analizi	89
4.7 GC-MS’te Uçucu Yağ Analizi	94
4.8 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi.....	99
4.9 Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi	101
4.10 HPLC’de Fenolik Bileşik Analizi	102
4.11 <i>N. damascena</i> Ekstrelerinin Sitotoksik Aktivite Sonuçları	104

5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	111
KAYNAKLAR	115
EKLER.....	137





KISALTMALAR

°C	: Celsius
µM	: Mikromolar
3T6	: Fare fibroblast hücre kültürü
A375	: İnsan melanom hücre hattı
A-549	: Adenokarsinomik insan alveolar bazal epitel hücreleri
AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
ACHN	: Böbrek kanseri hücre hattı
AlNO ₃	: Alüminyum nitrat
ATCC	: American Type Culture Collection (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu)
Aβ1-42	: Amyloid beta peptide
BDF1	: Deneysel hibrit fareler
BEL-7402	: İnsan hepatomu hücre hattı
Bel7402	: Karaciğer karsinom hücre hattı
BSR	: Fare böbrek karsinom hücre hattı
BuOH	: Bütanol
CaCO ₃	: Kalsiyum karbonat
CAT	: Katalaz
CCl ₄	: Karbon Tetraklorür
CH ₄	: Metan
cm	: Santimetre
CO ₂	: Karbondioksit
COX	: Siklooksijenaz
Cox-2	: Siklooksijenaz-2
CP	: Sisplatin
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity
Da	: Dekar
DCFH-DA	: 2',7'-dichlorofluorescein-diacetate
dH ₂ O	: Distile su
dk	: Dakika
DLD-1	: İnsan kolon adenokarsinomu
DMBA	: 7,12-dimethylbenz[a]anthracene

DMEM	: Hücre kültürü için besiyeri
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DTQ	: Dithymoquinone
EC	: Elektriksel kondüktivite
ETDA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FBS	: Fetal bovin serum
FEO	: Fresh extract oil (Taze ekstrakt yağı)
FRAP	: Ferric reducing ability of plasma (Plazmanın ferrik indirgeme yeteneği)
FTC	: Ferriktiyosiyanat
g	: Gram
GAE	: Gallik asit ekivalanı
GC-FID	: Gas Chromatography Flame Ionization Detector (Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektör)
GC-MS	: Gas chromatography–mass spectrometry (Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi)
GSH-Px	: Glutathione peroxidase
Gy	: Gray
HCT116	: İnsan kolon kanseri hücre hattı
HCT-8	: Kolon adenokarsinomu
HD	: Hidrodistilasyon
HEK-293	: Embriyonik böbrek hücre hattı
HEP-2	: Larinks epidermoid karsinom hücre hattı
HepG2	: İnsan karaciğer kanseri hücre hattı
HL-60	: İnsan lösemi hücre hatları
HL-60	: İnsan lösemi hücre hattı
HPCCC	: High Performance Countercurrent Chromatography (Yüksek Performanslı Karşı Akım Kromatografisi)
HPLC	: High-performance liquid chromatography(Yüksek basınçlı Sıvı Kromatografisi)
IC50	: Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu
IL	: İnterlökin
K₂O	: Potasyum oksit
K562	: İnsan lösemi hücre hatları
Kg	: Kilogram
KOH	: Potasyum hidroksit

L	: Litre
L428	: Lenfoma hücre hattı
L929	: Fare fibroblast hücre hattı
LL/2	: Lewis akciğer karsinomu
LPO	: Lipid peroxide
M.Ö.	: Milattan önce
MAE	: Microwave-assisted extraction (Mikrodalga destekli ekstraksiyon)
MC38	: Fare kolon karsinom hücre hattı
MCF-7	: Meme kanseri hücre hattı
MCP-1	: Monocyte chemoattractant protein-1
MDA	: Malondialdehit
MIA PaCa-2	: Pankreas kanser hücre hattı
MIC	: Minimum inhibitory concentration (Minimum inhibitör konsantrasyonu)
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mmhos	: Milimhos
MNU	: Methyl nitrosourea
MRSA	: Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>)
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
Na₂SO₄	: Sodyum sülfat
NaClO	: Sodyum hipoklorit
NaNO₃	: Sodyum nitrat
NaOH	: Sodyum hidroksit
NFB	: Nitrogen fixing bacteria (Azot bağlayan bakteri)
NME	: <i>Nigella</i> metanol ekstresi
NO	: Nitrik oksit
NO₃	: Nitrat
NSE	: <i>Nigella sativa</i> ekstraktı
NSP	: <i>Nigella sativa</i> polifenolleri
NSY	: <i>Nigella sativa</i> yağı
NUGC-4	: İnsan mide adenokarsinom hücre hattı
OH⁻	: Hidroksil
P₂O₅	: Fosfor pentoksit

P388	: Fare lösemi hücre hattı
P815	: Mastositoz hücre hattı
PBS	: Phosphate-buffered saline
PCV	: Hematokrit
PDA	: Pankreatik duktal adenokarsinomu
PSB	: Phosphate solublising bacteria (Fosfat çözen bakteri)
RAW 264.7	: Murin makrofaj hücre hattı
RBC	: Red blood cells (Kırmızı kan hücreleri- eritrosit)
ROS	: Reactive oxygene species (Reaktif oksijen türleri)
RPMI 1640	: Hücre kültürü için besiyeri
SCL	: İnsan adenokarsinomu
SCL-6	: İnsan kanser hücre hattı
SEO	: Stock extract oil (Depolanmış ekstrakt yağı)
SGC-7901	: İnsan mide kanseri hücre hattı
SOD	: Süperoksit dismutaz
TEAC	: Trolox equivalent antioxidant capacity (Trolox eşdeğer antioksidan kapasitesi)
THP-1	: İnsan monositik hücre hattı
THQ	: Thymohydroquinone
THY	: Thymol
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü alfa
TQ	: Thymoquinone
TTM	: Toplam tiyol molekülleri
UV	: Ultraviyole
Vero	: Maymun böbrek karsinom hücre hattı
W8N08	: Veritabanı
WBC	: White blood cells (beyaz kan hücreleri-lökosit)
WHO	: Dünya sağlık örgütü
YD-38	: Dişeti kanseri hücre hattı
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1: Önemli bitkisel kaynaklı ilaçlar.	3
Çizelge 2.1: <i>Nigella</i> cinsinin taksonomik pozisyonu.	7
Çizelge 2.2: <i>Nigella sativa</i> 'nın (çörek otu-black cumin) kimyasal bileşimi	9
Çizelge 2.3: Bazı sekonder metabolitler, etki şekilleri ve kaynak bitkiler.	20
Çizelge 2.4: Bitki sekonder metabolitlerinin bazı önemli molekülleri.	21
Çizelge 2.5: Terpenoidlerin alt sınıfları.	23
Çizelge 2.6: En çok bilinen monoterpenler.	24
Çizelge 2.7: Ana grup doğal bileşiklerin biyolojik aktiviteleri.	31
Çizelge 2.8: Çörek otu bitkisinin bazı farmakolojik etkileri.	56
Çizelge 3.1: Uygulanan gübrelerin çeşit ve miktarları.	60
Çizelge 4.1: <i>Nigella damascena</i> bitkisinde elde edilen fenolojik gözlemler.	74
Çizelge 4.2: <i>Nigella damascena</i> bitkisine ait morfolojik veriler.	78
Çizelge 4.3: <i>Nigella damascena</i> verim ve kalite analizlerine ait veriler.	84
Çizelge 4.4: <i>Nigella damascena</i> bitki element analizi.	86
Çizelge 4.5: <i>Nigella damascena</i> kapsül element analizi.	86
Çizelge 4.6: Toprak örneklerinin fizikokimyasal analizi.	88
Çizelge 4.7: <i>Nigella damascena</i> tohum sabit yağının % doymuş ve doymamış yağ asitlerinin kompozisyonu.	92
Çizelge 4.8: <i>Nigella damascena</i> tohum % uçucu yağ kompozisyonu.	97
Çizelge 4.9: <i>Nigella damascena</i> tohumlarından elde edilen metanol ekstraktlarına ait % verimler.	99
Çizelge 4.10: <i>Nigella damascena</i> tohumlarının toplam fenolik ve flavonoid içeriği (mg/g).	100
Çizelge 4.11: Fenolik bileşik standartlarına ait alıkonma zamanları (dk).	103
Çizelge 4.12: n-Hekzan ekstraktlarına ait IC50 değerleri.	108



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: <i>N.arvensis</i> , <i>N. damascena</i> , <i>N. sativa</i> türlerinin çiçek ve tohum yapıları....	8
Şekil 2.2: <i>p</i> -simen (a), Timokinon (b).	10
Şekil 2.3: Timokinon'un bazı farmakolojik etkileri.	13
Şekil 2.4: <i>Nigella damascena</i> çiçek (a), kapsül (b) ve tohum (c).	14
Şekil 2.5: <i>Nigella damascena</i> uçucu yağ ana bileşikleri.	16
Şekil 2.6: <i>Nigella arvensis</i> bitkisinin çiçeği.	17
Şekil 2.7: Karvakrol metil eter (a), β -pinen (b)	17
Şekil 2.8: Primer ve sekonder karbon metabolizması	19
Şekil 2.9: Efedrin alkaloidi.	23
Şekil 2.10: Kuercetin (a), Kaempferol (b)	26
Şekil 2.11: Önemli fenolik bileşik grupları	27
Şekil 2.12: Kafeik asit (a), <i>p</i> -Kumarik Asit (b), Flavonoid (c), Tannik Asit (d).....	28
Şekil 3.1: <i>Nigella damascena</i> 'da gerçekleştirilen analizler.	59
Şekil 3.2: Serada yetiştirilen <i>Nigella damascena</i> bitkileri.	60
Şekil 3.3: Dijital kumpas ile kapsül eni ve boyunun ölçülmesi.	62
Şekil 3.4: Soxhlet cihazında ekstraksiyon (a) ve Rotary Evaporatör de evaporasyon (b).	65
Şekil 3.5: Clevenger tipi aparatla uçucu yağların ekstraksiyonu (a), Sıvı-sıvı ekstraksiyon (b).	67
Şekil 3.6: Sitotoksik aktivite için yapılan Alamar mavisi testi.	72
Şekil 4.1: <i>Nigella damascena</i> bitkisinin generatif gelişim dönemleri.	74
Şekil 4.2: Yağ asiti standartlarına ait kromatogram (GC-FID).	89
Şekil 4.3: <i>Nigella damascena</i> tohum sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.	90
Şekil 4.4: β -elemene standardına ait GC-MS kromatogramı.	94
Şekil 4.5: <i>Nigella damascena</i> tohum uçucu yağ bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı	95
Şekil 4.6: Gallik asit kalibrasyon eğrisi.	100
Şekil 4.7: Quercetin kalibrasyon eğrisi.	101
Şekil 4.8: Fenolik bileşik standartlarına ait HPLC kromatogramı.	102
Şekil 4.9: <i>Nigella damascena</i> tohum metanol ekstresinde bulunan fenolik bileşiklere ait HPLC kromatogramı.	103
Şekil 4.10: 24 saat n-hekzan ekstresi uygulamasıyla MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarındaki % hücre canlılıkları.	105
Şekil 4.11: 48 saat n-hekzan ekstresi uygulamasıyla MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarındaki % hücre canlılıkları.	105
Şekil 4.12: 24 saat metanol ekstresi uygulamasıyla MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarındaki % hücre canlılıkları.	106
Şekil 4.13: 48 saat metanol ekstresi uygulamasıyla MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarındaki % hücre canlılıkları	107



ÖZET

Doktora Tezi

FARKLI GÜBRE UYGULAMALARININ *Nigella damascena* L. (ŞAM ÇÖREKOTU) BİTKİSİNDE SEKONDER METABOLİT VE SİTOTOKSİK AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİSİ

Funda ULUSU

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali ŞAHİN

MART, 2021, 153 sayfa

Nigella damascena L. Ranunculaceae (Düğünçiçeğigiller) familyasına ait farmakolojik açıdan son derece önemli sekonder metabolitler içeren ve pek çok terapötik özelliği bulunan değerli tıbbi ve aromatik bir bitkidir. Bu tez çalışmasında *Nigella damascena* bitkisi sera koşullarında yetiştirilmiş, vejetatif ve generatif gelişme dönemlerinde farklı dozlarda uygulanan sıvı formdaki organik, solucan ve kimyasal gübrelerin, bitkinin hem fenolojik, morfolojik, verim ve kalite üzerine hem de elde edilen tohumların sekonder metabolit (sabit yağ-GC-FID, uçucu yağ-GC-MS, fenolik bileşik-HPLC, toplam fenolik ve flavonoid içeriği-spektrofotometrik) içeriğine olan etkilerinin aydınlatılması amaçlanmıştır. Ayrıca tohumlardan oluşturulan ekstraktların (0-300µg/mL) meme (MCF-7) ve pankreas (MIA PACA-2) kanser ve emrionik böbrek (HEK 293) hücre hatlarına karşı sitotoksik aktiviteleri, alamar mavisi testi ile analizleri yapılarak bu ekstraktların olası antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. *N. damascena* bitkisinde organik iki katı gübre uygulamasının en kısa sürede çimlenmeye ve çiçeklenmeye neden olduğu, morfolojik, verim ve kalite kriterlerini kimyasal iki katı hariç tüm gübre uygulamalarının kontrol grubuna kıyasla istatistiki açıdan önemli bir şekilde teşvik ettiği belirlenmiştir. Tohumlarda 17 farklı yağ asidi belirlenmiş ve doymamış yağ asitlerinin ana bileşenleri sırasıyla linoleik asit (18:2) (%47.34-57.21), oleik asit (18:1) (%23.2-32.5) olarak bulunmuştur. GC-MS ile 18 farklı uçucu yağ bileşiği tespit edilmiş, ana bileşeni β-elemene (%19.47-62.32) olarak görülmüştür. HPLC ile kalitatif olarak tanımlanan fenolik bileşikler epikateşin, p-kumarik asit, ferulik asit, rutin hidrat, apigenin ve naringenin'dir. Ayrıca n-hekzan tohum ekstraktları (0-300 µg/mL) MIA PACA-2'ye (IC₅₀: 77.65 ± 1.82 µg/mL-24sa, IC₅₀: 55.16 ± 2.44 µg/mL-48sa) karşı, MCF-7'den (IC₅₀: 141.05 ± 2.76 µg/mL-24sa, IC₅₀: 89.97 ± 7.98 µg/mL-48sa) daha fazla sitotoksik aktiviteye sahip olurken, HEK 293'te %50 hücre inhibisyonu gerçekleştirememiştir. Özellikle organik ile vermikompost gübre uygulamalarına ait n-hekzan ekstraktlarında daha güçlü sitotoksikite görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Nigella damascena*, sekonder metabolit, gübre, sitotoksik aktivite



ABSTRACT

Ph.D. Thesis

THE EFFECT OF DIFFERENT FERTILIZER APPLICATIONS ON SECONDARY METABOLITE AND CYTOTOXIC ACTIVITY IN *Nigella damascena* L.

Funda ULUSU

Karamanoğlu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof.Dr. Ali ŞAHİN

MARCH, 2021, 153 pages

Nigella damascena L. is a valuable medicinal and aromatic plant belonging to the Ranunculaceae family, containing pharmacologically very important secondary metabolites and having many therapeutic properties. In this thesis study, it was aimed to investigate the effects of organic, vermicompost and chemical fertilizers in liquid form applied in different doses in vegetative and generative growth periods on both the phenological, morphological, yield and quality of the plant and on the secondary metabolite (fixed oil-GC-FID, essential oil-GC-MS, phenolic compound-HPLC, total phenolic and flavonoid content-spectrophotometrically) content of the seeds obtained. In addition, the cytotoxic activities of extracts (0-300 µg/mL) produced from seeds against breast (MCF-7) and pancreatic (MIA PACA-2) cancer and embryonic kidney (HEK 293) cell lines were analyzed with alamar blue test and these extracts were investigated for possible anticancer activities. It was determined that the application of organic double fertilizer in *N. damascena* plant caused germination and flowering in the shortest time, and all fertilizer applications except for chemical two times the morphological, yield and quality criteria were statistically significantly encouraged compared to the control group. 17 different fatty acids were determined in the seeds and the main components of unsaturated fatty acids were respectively linoleic acid (18:2) (47.34-57.21%), oleic acid (18:1) (23.2-32.5%). Eighteen different essential oil compounds were determined by GC-MS, the main component was seen as β-elemene (19.47-62.32%). Phenolic compounds that are qualitatively identified by HPLC are epicatechin, p-coumaric acid, ferulic acid, rutin hydrate, apigenin and naringenin. In addition, while n-hexane seed extracts (0-300 µg/mL) had more cytotoxic activity against MIA PACA-2 (IC₅₀: 77.65 ± 1.82 µg/mL-24h, IC₅₀: 55.16 ± 2.44 µg/mL-48h) than MCF-7 (IC₅₀: 141.05 ± 2.76 µg/mL-24h, IC₅₀: 89.97 ± 7.98 µg/mL-48h), it could not achieve 50% cell inhibition in HEK 293. Especially, stronger cytotoxicity was observed in n-hexane extracts of organic and vermicompost fertilizer applications.

Keywords: *Nigella damascena*, secondary metabolite, fertilizer, cytotoxic activity

1. GİRİŞ

Geçmişten günümüze insanoğlu gerek tüm dünyada gerekse ülkemizde sağlıklı yaşayabilmek ve hastalıklardan korunabilmek için geleneksel tedavi yöntemlerinde tıbbi açıdan önemli, farmasötik özelliği olan bitkiler kullanmıştır. Dünya nüfusunun %80'i bitkisel temelli alternatif ilaç sistemine dayalı tedavi yöntemlerinden yararlanmaktadır (Başer, 1995). Fitoterapi (tıbbi bitkilerle tedavi)'de kullanılan bitkilerin miktarı antik çağdan beri devamlı olarak artmakta olup günümüzde tıbbi açıdan değerli olan bitkilerden elde edilen biyoaktif maddelerin özellikle insanlar ve hayvanlar üzerindeki etkisi merak uyandırmakta ve böylece bu alandaki çalışmalar artarak devam etmektedir. Bu biyoaktif bileşiklere ilgiyi; özellikle kimya endüstrisi alanında geri kalmış ülkeler için ucuz ve kolay bir tedavi yöntemi olması, sentetik olarak üretilen maddelerde tehlikeli oranlarda yan etkilerinin görülmesi ancak bitkilerin uzun zamandan beri kullanılıp yarar ve zararlarının (yan etki) ne derecede olduğunun biliniyor olması, bitkisel drogların sentetiklere kıyasla birden fazla etkiye sahip olması gibi nedenler arttırmıştır (Baytop, 1984).

Homeopati dışında iyileştirici bitkilerin aktiviteleri kimyasal bileşenleri ile değerlendirilir ve tıpta alt türler dahil tahmini 70.000 bitki çeşidi kullanılmaktadır. Bitkilerden elde edilen fitokimyasallar büyük ölçüde farmasötik, zirai ilaç, kozmetik, gıda gibi endüstri sektörlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu manada ülke ekonomisi açısından değerli olan bitkiler eşi benzeri bulunmaz kaynaklara sahiptir ki bunlar; endüstriyel yağlar (uçucu ve sabit yağ), zamklar, reçineler, doğal kauçuk, tatlar ve kokular, boyalar, saponinler, böcek ilaçları ve daha birçok sanayi açısından değerli bileşiklerdir (Lubbe ve Verpoorte, 2011). Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de tıbbi açıdan önemli ve farmakolojik açıdan değerli bulunan bitkiler yüzyıllardan beri hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Hayta ve diğerleri, 2014).

İlaç, WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından "Fizyolojik sistemleri veya patolojik durumları alanın yararı için değiştirmek veya incelemek amacıyla kullanılabilen bir madde" olarak tanımlanmıştır. Günümüzde ilaçlar kimyasal, mikroorganizmalar, mantarlar, bitkiler, hayvanlar, inorganik maddeler gibi doğal veya sentetik yollarla da

elde edilmektedir ve bu çeşitli kaynaklardan önemli bir kısmını bitkiler oluşturmaktadır ki, bitkiler alemi içerisinde farmakoloji alanında kullanılan tıbbi ve aromatik açıdan değeri olanlar özel bir yere sahiptir.

Bitkiler çok çeşitli, karmaşık ve etkileyici organik moleküller sentezlerler. Sentezledikleri bu doğal ürünlerinin ya da bitkinin kendisinin şifa kaynağı olarak tüketilmesi tıbbın kendisi kadar eski ve evrenseldir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, insanların %75'i hala hastalıkları iyileştirmek ya da sağlığı sürdürebilmek için bitkisel bazlı geleneksel ilaçlara güvenmektedir (Sarker ve diğerleri, 2006). İlaçların %40'ından fazlasının kökeni bu doğal ürünlerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

Dünya üzerinde yaklaşık 300.000'den fazla çiçekli bitki türü bulunduğu ve bunların 20.000 civarında ki tür tıbbi açıdan değerlendirilmektedir. Ülkemizde de yaklaşık olarak 12.000 kadar takson bulunmakla birlikte bunların son verilere göre 3.750 kadarı endemik olarak gözükmektedir. Dünya'da bu bitkiler açısından zengin bir floraya sahip olan Türkiye'nin bulunduğu konum itibarıyla farklı ekolojik özelliklere sahip olması hem bitki çeşitliliğinin fazla olmasına hem de özellikle tıbbi ve aromatik bitkilerin üretilmesine olanak sağlamaktadır (Artukoglu ve diğerleri, 2002). Ayrıca ülkemizde endemik bitkiler de dahil olmak üzere doğal olarak yetişen pek çok bitkinin tıbbi ve aromatik değeri oldukça yüksektir (Baydar, 2009).

Tıbbi ve aromatik bitkiler; yapısında bulunan çeşitli biyoaktif maddelerle (sekonder metabolit veya fitokimyasal) hastalıkları önlemek, iyileştirmek, genel anlamda tedavi edici niteliklere sahip geleneksel ve modern ilaç yapımında kullanılan kaynaklardır. Bu bitkilerdeki sekonder metabolitler, geniş yapısal çeşitlilik ve farmakolojik etkilerinden dolayı yeni ilaç geliştirilmesi adına yüksek potansiyele sahip kaynaklar olarak kabul edilmektedir. Hatta bundan dolayı bitkiler yeni ürünlerin “Kimyasal Altın Madeni” olarak tanımlanmaktadır (Padalia, 2013).

Türkiye'de yetiştirilerek katma değer yaratılmasını sağlayan ve alternatif tıp çalışmalarında sıklıkla kullanılan bu bitkilerden bazıları; çörekotu, safran, adaçayı, lavanta, semizotu, dereotu, çay, rezene, anason, kişniş, nane, kimyon, fesleğen, çemen, şerbetçi otu ve kırmızı biberdir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin biyolojik ve kimyasal içerik çeşitliliği; drog (kök, rizom, yumru, yaprak, çiçek, meyve vb.) ekim alanı, bitki örtüsü, iklim koşulları, bitkinin

çeşidi, hasat şekli ve zamanlarına, hayat devreleri ve genetik modifikasyonlar gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Miliauskasa ve diğerleri, 2004).

Farmakoloji alanında bazı ilaçların yapımında kullanılan doğal ürünler bitkisel kaynaklı olup insanlık açısından da önem taşımaktadır (Balandrin ve Klocke,1988; Ravishankar ve Rao, 2000). İlaç yapımında kullanılan bitkisel bazı doğal ürünler Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Çizelge 1.1: Önemli bitkisel kaynaklı ilaçlar.

Ürün	Kullanım alanı	Bitki türü
Morfin ve Kodein	Analjezik	<i>Papaver somniferum</i> L.
Kokain	Lokal Anestetik	<i>Erythroxylon coca</i> Lam.
Camptothecin	Antitümör	<i>C. acuminata</i> Decne.
Kolsişin	Antitümör	<i>Colchium autumnale</i> L.
Taxol	Antikanser	<i>Taxus brevifolia</i> L.
Shikonin	Antibakteriyal	<i>L. erythrorhizon</i>
Forskolin	Bronşial Astım	<i>C. forskohlii</i> Andrews.
Ellipticine	Antitümör	<i>O. elliptica</i> Labill.
Digoxin	Kalp Uyarıcı	<i>Digitalis lanata</i> Ehrh.
Vincristine, Vinblastine	Antilösemik	<i>Cath. Roseus</i> L.
Berberine	Bağırsak Hastalığı	<i>Camellia japonica</i> L.
Piretrum	İnsektisit	<i>Tanacetum coccineum</i> L.
Azadirachtin	İnsektisit	<i>A. indica</i> A.Juss

Her şifalı bitki içeriğinde bir dizi aktif moleküller bulundurmaktadır ve iyileştirici özelliği de bu bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca son yıllarda biyomedikal uygulamalar için yeni bileşiklerin taranması ve tanımlanması, yeni bir araştırma alanı haline gelmiştir. Bu bileşiklerin moleküler mekanizmalarını tanımlamak ve antikanser gibi birçok hastalık üzerine olan etkilerinin araştırılmasının önemi günden güne artmaktadır (Jiang ve diğerleri, 2017). Bu fitokimyasallar özellikle tıbbi ve aromatik bitkiler tarafından sentezlenen çeşitli sekonder metabolitler (fenolik bileşikler, uçucu yağlar, alkaloidler, terpenoidler) olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca bu biyoaktif bileşikler hastalıklarda ve tedaviye yönelik ilaç geliştirilmede tamamlayıcı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya devam etmektedir (David ve diğerleri, 2015; Georgiev, 2014).

Bitkiler, farklı endüstri sektörlerine (ilaç, tekstil, inşaat, nutrasötik, kozmetik, boya, koku vb.) hammadde sağlayan yenilenebilir kaynaklar olmasıyla ülke ekonomisi açısından fosil kaynaklara daha az bağımlı bir biyoekonomiye geçişi desteklemektedir (Guerriero ve diğerleri, 2016).

Dünyada yayılış gösteren 300'den fazla çiçekli bitki familyası bulunmaktadır (Heywood ve diğerleri, 1978). Bu familyalardan Ranunculaceae (dügün çiçeğigiller) çoğunlukla otsu ve tek yıllık ya da uzun ömürlü olup tırmanıcı özelliğe sahiptir. Bu familya yaklaşık olarak 60 cins ve 2500 tür bulundurmaktadır (Heywood ve diğerleri, 2007). Türkiye de ise 19 cins ve 203 türle yayılış göstermekte ve %21.5 endemizim oranına sahiptir (Güner ve Aslan, 2012). Ranunculaceae familyası içerisinde pek çok tıbbi ve aromatik özelliğe sahip olan türler mevcuttur (Çizelge 2.1). Bunlardan *Nigella* cinsi bitkilerinin tohumları fazla miktarda besin ve tıbbi bileşenler içermeleri nedeniyle gıda müstahzarlarında, tıpta ve farmakoloji alanında dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin *Nigella glandulifera* türü tohumları, galaktagog, diüretik, bronkodilatör ve analjezik aktiviteleri ve bronşiyal astımı ve ödemi iyileştirme özelliklerinden dolayı yaygın bir Uygur ilacıdır (Gholamnezhad ve diğerleri, 2016). Yine *N. sativa* tohumlarının diüretik ve böcek kovucu olarak kullanılmasında uzun bir geçmişi vardır (Ahmad ve diğerleri, 2013). Ayrıca *N. damascena* tohumları ekmekte ve peynirde aromatik ajan olarak, aynı zamanda menstrual bozukluklarının tedavisi için halk hekimliğinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Agradi ve diğerleri, 2001). *Nigella* cinsi 20 kadar tür bulundurmakla birlikte yaklaşık 15'i ülkemizde yetişmektedir (Ayhan, 2012; Baser ve diğerleri, 2010).

Bitkisel üretim faaliyetlerinde verim ve kaliteyi arttırmak amacıyla toprağa veya doğrudan bitkiye gübrelerin (doğal ya da kimyasal) uygulanması sıklıkla başvurulmuş bir yöntemdir (Dictionary, 2016). Toprakta bulunan değerli besin elementlerinden biri olan karbonun (C) atmosfere bitkilerin solunumu ile CO₂ olarak verilmesi sonucunda karbon içeriğinin çoğu kaybedilir. Bunun gibi faaliyetler sonucunda kaybedilen veya azalan besin elementleri karşılanmadığı takdirde yetiştirilen mahsüller büyüyemez ya da ürünlerden iyi verim alınamaz. Bu yüzden azalan besin elementlerinin tekrardan toprağa aktarılması yönünde gübreler kullanılır. Sağlıklı bitki yaşamı için gerekli olan elementler 3 önemli makrobesin olarak azot (N), fosfor (P), potasyum (K); ikincil üç makrobesin: kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve kükürt (S) ve mikrobesinler; bakır

(Cu), demir (Fe), manganez (Mn), molibden (Mo), çinko (Zn) ve nikel (Ni) ve bazen bor (B), silisyum (Si), kobalt (Co), vanadyum (V) olarak değerlendirilmektedir. Ancak elementler tek başına gübre olarak kullanılmadığından bunun yerine bu elementleri içeren bileşikler gübrelerin temelini oluşturmaktadır (Bohari ve diğerleri, 2020). Birçok gübre çeşidi de bitkilerin hızlı ve sağlıklı büyüebilmeleri için yeterli miktarda bazı kimyasalları, mineralleri ve elementleri içermektedirler (Prasad, 2009; Camargo ve Alonso, 2006). Gübreler bütün bitki veya mahsuller için zorunlu olmasına rağmen, çevreye bazı olumsuz etkileri de bulunmaktadır. Özellikle kimyasal gübrelerin fazlalığı, toprak verimliliğini tahrip etmenin yanı sıra farklı çevresel kirliliklere de neden olmaktadır (Camargo ve Alonso, 2006; Hazra ve Das, 2014).

Artan dünya nüfusuna karşın ekilebilir tarım arazilerinin azalması, insanoğlunu birim alandan daha fazla ürün elde edebilmesine yönlendirmiştir ki, bunun gerçekleşebilmesi için de ihtiyaç duyulan en önemli faktör gübreleme yoluyla bitkisel üretimde verimin artırılması olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu tez çalışması ile üzerine daha önce sınırlı sayıda çalışma yapılmış olan ve değerli tıbbi özellikleri bulunan *N. damascena* bitkisine farklı gübre çeşitlerinin hem vejetatif hem de generatif gelişme dönemine ait bitkisel özelliklerine (fenolojik, morfolojik, verim ve kalite) olan etkisinin kapsamlı bir şekilde araştırılması hedeflenmiştir. Ayrıca elde edilen tohumların fitokimyasal (sabit yağ, uçucu yağ, fenolik bileşikler) ve farklı hücre hatlarındaki sitotoksik aktivite yönünden incelenmesi ile bu türün gıda ve tıbbi değerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



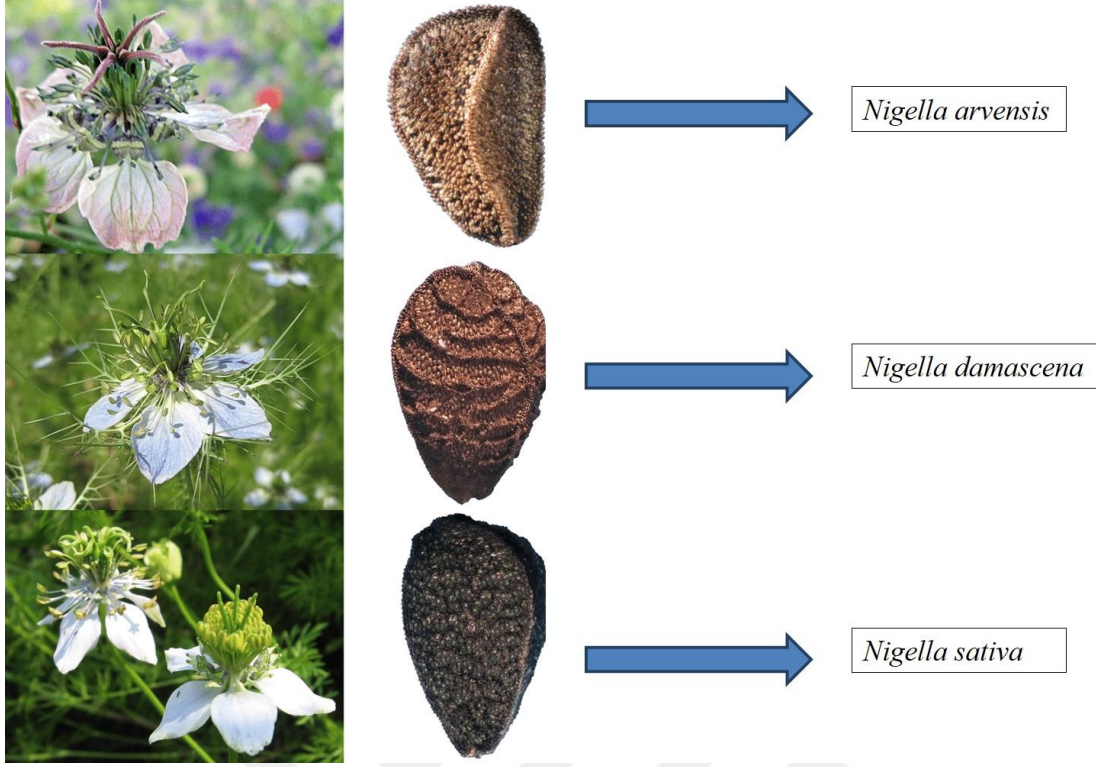
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 *Nigella* Türlerinin Fenolojik, Morfolojik, Verim ve Kalite Özellikleri

Türkiye’de yetişen *Nigella* türlerinden 3 tanesi *Nigella lancifolia*, *Nigella turcica* ve *Nigella icarica* ülkemizde endemik olarak ön plana çıkmaktadırlar (Davis, 1965). Ayrıca *Nigella* cinsine ait olan 3 tür *Nigella sativa*, *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis*’in tohumları geçmişten günümüze halk hekimliğinde ve baharat bitkisi olarak yoğun bir şekilde kullanılmaya devam etmektedir (Şekil 2.1) (Baytop, 1984). *N. damascena* ve *N. sativa* Güney Avrupa ve Yakın Doğu’da en çok kullanılan tıbbi ve baharat bitkisi olmakla birlikte her ikisinin de tohumları aromatik bir tada sahiptir (Heiss ve Oegg, 2005). *Nigella* terimi tohumların yoğun siyah rengine referans olarak latince siyah anlamına gelen Nijer veya Nijer Cumhuriyeti’nden gelmektedir.

Çizelge 2.1: *Nigella* cinsinin taksonomik pozisyonu.

Alem (Kingdom): Bitkiler (Plantae)
Alt alem (Subkingdom): Vasküler bitkiler (Tracheobionta)
Bölüm (Superdivision): Tohumlu bitkiler (Spermatophyta)
Bölüm (Division): Kapalı tohumlular (Magnoliophyta)
Sınıf (Class): İki çenekliler (Magnoliopsida)
Alt sınıf (Subclass): Magnoliidae
Takım (Order): Ranunculales
Aile (Family): Düğünçiçeğigiller (Ranunculaceae)
Cins (Genus): <i>Nigella</i>
Tür (Species): <i>N. sativa</i>, <i>N. damascena</i>, <i>N. arvensis</i>, <i>N. carpatha</i>, <i>N. degenii</i>, <i>N. deserti</i>, <i>N. doerfleri</i>, <i>N. elata</i>, <i>N. fumariifolia</i>, <i>N. hispanica</i>, <i>N. latisecta</i>, <i>N. nigellastrum</i>, <i>N. orientalis</i>, <i>N. oxypetala</i>, <i>N. papillosa</i>, <i>N. segetalis</i>, <i>N. stricta</i>, <i>N. unguicularis</i>, <i>N. lancifolia</i> vb.



Şekil 2.1: *N. arvensis*, *N. damascena*, *N. sativa* türlerinin çiçek ve tohum yapıları.

2.1.1 *Nigella sativa* L. (Adi çörekotu, siyah kimyon)

Nigella sativa (adi çörekotu, siyah kimyon), 20-30 cm yüksekliğinde, tek yıllık, az tüylü, dik gövdeli, alt yapraklar saplı, üst yapraklar sapsız, otsu bir tür olmakla birlikte tohumları 2-4 mm uzunluğunda ve ~2 mm genişliğinde, siyah renkli ve aromatik tada sahip tohumları ile karakterize edilir. Bu tohumlar bir hafta içerisinde çimlenerek ortalama 15-25 günde de topraktan çıkabilmeleriyle bilinirler (Margout ve diğerleri, 2013). Bitkinin çıkış sonrasındaki vejetasyon süresi yaklaşık 3-4 ay kadardır. Çiçekleri involukrumsuz, mavi-beyaz renkte ve 5 parçalı olup meyvada karpeller uç kısımda birleşmiştir (Şahin, 2013).

Bu bitki özellikle Doğu Akdeniz Ülkeleri'nde yayılış göstermekle birlikte Mısır, Hindistan, Kuzey Afrika, Türkiye gibi ülkelerde de *Nigella* cinsinin diğer türlerine oranla daha fazla yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ülkemizde Afyon, Burdur, Konya, Kütahya ve Isparta başta olmak üzere pek çok ilde yetiştirilmektedir (Baytop, 1984). Tohumları Orta Doğu, Kuzey Afrika ve Hindistan'da asırlarca astım, bronşit, baş ağrısı, romatizma, grip, ateş gibi hastalıklarda geleneksel olarak kullanılmış, dahası ekmek ve çöreklerde baharat olarak da değerlendirilmiştir. Ayrıca yapılan araştırmalar

sonucunda *Nigella sativa*'nın farklı farmakolojik etkilere (antiülser, antioksidan, antibakteriyel, antikanser, antimikrobiyal, antiparazitik, vb.) sahip olduğu belirlenmiştir (Ali ve Blunden, 2003; Salem, 2005). Türkiye’de tarımı ve ticareti yoğun olarak yapılan tür *N. sativa*’dır (Kar ve diğerleri, 2007).

Nigella sativa tohumlarının içeriğinde %45’den fazla sabit yağ ve %0.41-0.44 arasında uçucu yağ, alkaloid ve saponin taşıdığı bilinmekle birlikte yapılan bir çalışmada *Nigella sativa*’nın kimyasal kompozisyonunda protein, yağ, nişasta gibi değerli organik bileşiklerin varlığı da belirlenmiştir (Çizelge 2.2) (Shah ve Ray, 2003; Kabir ve diğerleri, 2019).

Çizelge 2.2: *Nigella sativa*’nın (çörek otu-black cumin) kimyasal bileşimi

<i>Nigella sativa</i>’nın kimyasal bileşenleri	Kimyasal bileşenlerin konsantrasyonları (%)
Su	7.12 ± 0.22
Kül	7.39 ± 0.27
Protein	20.3 ± 0.63
Yağ	45.4 ± 0.53
Toplam karbonhidrat	19.7 ± 0.44
Mineral	mg/100g
Potasyum	1498.3 ± 25.0
Fosfor	481.5 ± 47.4
Sodyum	44.8 ± 3.7
Kalsiyum	366.7 ± 20.1
Magnezyum	355.2 ± 2.3
Çinko	6.7 ± 0.1
Demir	42.6 ± 2.5
Mangan	3.1 ± 0.1
Bakır	1.5 ± 0.03
Kadmiyum	0.006 ± 0.001
Molibden	0.03 ± 0.002

(Kabir ve diğerleri, 2019).

Sabit yağ bileşiminde laurik asit, miristik asit, palmitik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit, linolenik asit, eicosadienoic asit gibi değerli yağ asitleri bulunmaktadır.

Uçucu yağ bileşiminde GC-MS analizi ile 32 bileşik tanımlanmış olup ana bileşikleri timokinon (%30–48), *p*-simen (%7–15), (Şekil 2.2) karvakrol (%6–12), 4-terpineol (%2–7), t-anetol (%1–4) ve seskiterpenler longifolen (%1–8) olduğu belirlenmiştir (Burits ve Bucar, 2000).



Şekil 2.2: *p*- simen (a), Timokinon (b).

Nigella türlerinin yetiştirme koşullarının farklılaşması neticesinde vejetatif ve generatif özellikler ile birlikte tohumların fizikokimyasal yapıları da değişikliğe uğrayarak elde edilen veriler değişen aralıklarda olmuştur. *Nigella* türleri üzerine yapılan çalışmaların çok büyük bir kısmını *N. sativa* türü oluşturmaktadır ki böylece bu türün bitkisel karakterleri diğer *Nigella* türlerine kıyasla daha fazla aydınlatılmıştır. Mesela Bursa ili ekolojik koşullarında 2016 ve 2017 yılları arasında 13 farklı genotipteki çörek otu (*N. sativa*) bitkilerinin agronomik özelliklerinin belirlenmesi amaçlandığı bir çalışmada pek çok morfolojik karakter ile birlikte verim ve kalite değerlendirilmesi yapılmıştır. böylece bu farklı genotipe sahip türlerin bitki boyunun 25.58- 50.50 cm, dal sayısının 3.53-4.31 adet, bitkide kapsül sayısının 5.36-8.05 adet, bin tohum ağırlığının 2.23-3.42 g, tohum veriminin 38.75-89.08 kg/da, sabit yağ oranının %29.14-32.98 ve sabit yağ veriminin 12.13-27.27 kg/da aralığında tespit edilmiştir. Böylece verim kriterleri açısından yerel tohumların yurt dışından temin edilen genotiplere kıyasla daha üstün niteliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Özdemirel, 2019).

Ekim zamanı ve tohum miktarı farklılığının çörek otunda ki verim ve kalite üzerine etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise bitki boyu 39.33 – 78.90 cm, dal sayısı 4.43-9.17 adet, bitkide kapsül sayısı 5.55-16.17 adet/bitki, kapsüldeki tohum ağırlığı

0.22-0.31 g/kapsül, bin tohum ağırlığı 1.85-2.59 g, tohum verimi 28.07-92.35 kg/da, sabit yağ oranı %32.28-38.17, sabit yağ verimi 9.90-34.81 L/da bulguları elde edilmiştir. Yetiştirildiği bölgeye göre çörek otunun en uygun ekim zamanı Ekim ayı ve tohumluk miktarının ise 2 kg/da olduğu belirlenmiştir (Arabacı ve Kılıç, 2016).

Telci'nin 1995 yılında *N. sativa* bitkisinde ekim sıklığının verim ve bazı bitkisel özellikler üzerine olan etkisinin araştırıldığı çalışmada 15-16. günde çimlenmenin gerçekleştiğini belirtmiştir. Yine bu çalışmada bitki boyunun 42.83-53.46 cm, dal sayısının 4.13-5.43 adet, kapsül sayısının 5.97-11.47 adet, sabit yağ veriminin 36.78-52.73 kg/da arasında değiştiği tespit edilmiştir (Telci, 1995).

Harran Ovası ekolojik şartlarında tohum miktarının *N. sativa* türünün verim ve kalite özelliklerine etkisine bakıldığı bir araştırmada çiçeklenme süresi 139 gün, vejetasyon süresi 203 gün olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada bitki boyu 63.87-70.37 cm, dal sayısı 6.70-8.17 adet/bitki, kapsül sayısı 25.10-15.23 adet/bitki, kapsülde tohum sayısı 81.65-90.80 adet/kapsül, bin tane ağırlığı 2.40-2.90 g, tohum verimi 71.90-118.77 kg/da, uçucu yağ oranı %0.08-0.20, sabit yağ oranı %27.90-41.20 aralığında saptanmıştır ve tohum miktarındaki değişkenlik bütün parametreleri farklı oranlarda etkilemiştir. Bulgulara göre en fazla dal, kapsül ve kapsüldeki tohum sayısı 100 tohum/m², en yüksek bin dane ağırlığı ve sabit yağ oranı 400 tohum/m², en yüksek uçucu yağ değerleri 450 tohum/m², en yüksek bitki boyu 500 tohum/m² uygulaması ile tespit edilmiştir (Tektaş, 2015).

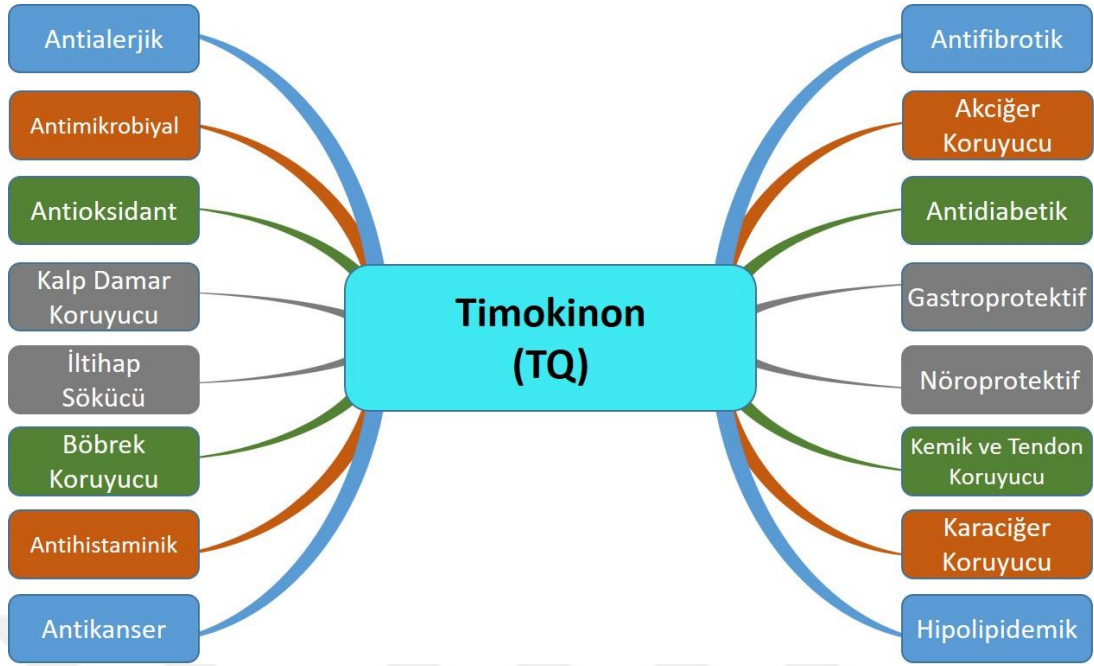
Koşar (2019) tarafından 2015-2016, 2016-2017 kışlık yetiştirme sezonunda 32 farklı genotipe sahip çörekotu çeşidinin karakterizasyonu araştırılmış ve çalışmada çıkış süresinin 48-57 gün, vejetasyon süresinin 167-185 gün arasında değiştiğini belirleyerek genotipik farklılıkların ve ekim zamanının fenolojik özellikleri etkileyebileceğini belirtmiştir. Ayrıca morfolojik özellikleri açısından bitki boyunun 47.77-68.63 cm, dal sayısının 2.77-4.63 adet/bitki, kapsül sayısının 4.03-7.93 adet/bitki, kapsül eninin 0.96-1.09 mm, kapsül boyunun 1.06-1.46 mm aralığında belirlenmiştir. *Nigella* genotiplerinin verim ve kalite analizlerinde ise kapsülde tohum sayısının 80.00-106.60 adet/kapsül, bin dane ağırlığının 1.81-3.16 g, bitki başına tohum ağırlığının 0.43-1.80 g/bitki, tohum sayısının 208.17-685.33 adet/bitki, tohum veriminin 28.23–109.47 kg/da olduğu, tohum ekstraksiyonu sonucunda sabit yağ oranı ile veriminin sırasıyla %36.42-40.17 ve 15.14-43.59 kg/da arasında değiştiğini

belirlemiştir. Veriler doğrultusunda çörek otunun geniş genotipik varyasyona sahip olduğu ve seçilen doğru genotip ile verim ve kalitenin artırılabilceği ön görülmüştür.

Sağlık (2020), Çukurova ekolojik koşullarında *N.sativa* bitkisine uygulanan organik ve ticari gübrelerin verim ve kaliteye olan etkileri incelenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, NPK gübre uygulamasının en yüksek bitki boyuna (76.55 cm), tohum verimine (82.80 kg/da), sabit yağ oranına (%19.95) ve sabit yağ verimine (%16.5); tavuk gübre uygulamasının ise en yüksek dal sayısına (9.80 adet/bitki), kapsül sayısına (9.25 adet/bitki) ve kapsüldeki tohum sayısına (55.07 adet/kapsül), vermikompost gübre uygulamasının da en yüksek bin tane ağırlığına (1.94 g/kapsül) neden olduğunu belirlemiştir. Böylece çörek otu yetiştiriciliğinde uygulanan gübrelerin hem morfolojik karakterler hem de verim ve kalite özellikleri açısından daha iyi sonuçlar elde edilmiştir.

Çörek otunda (*N. sativa*) farklı sulama aralıklarının (8-16 gün) ve terleme önleyici bileşiklerin verim ve kalite kriterlerine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada elde edilen bulgulara göre 8-16 günlük sulama aralıklarının sırasıyla bitki başına kapsül sayısı (6.1-5.6), kapsül başına tohum sayısı (61.48-58.73), bitki başına tohum sayısı (353.25-314.22), bitki başına tohum ağırlığı (0.78-0.68 g), tohum verimi (621.56-484.23 kg/ha), biyolojik verim (1981.53-1871.66 kg/ha) ve % hasat indeksi (31.36-30.32) üzerinde önemli etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Fakat bu farklı sulama aralıklarının 1000 tohum ağırlığına önemli bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada en yüksek tohum verimi (760 kg/ha) 8 gün sulama aralığı ile anti-terleme bileşiği olan %1 kitosan ile elde edilmiş ve kuraklık stresi altında %1 kitosan bileşiğinin uygulanması çörek otunda verimi arttırabileceği sonucunu desteklemiştir (Safaei ve diğerleri, 2014).

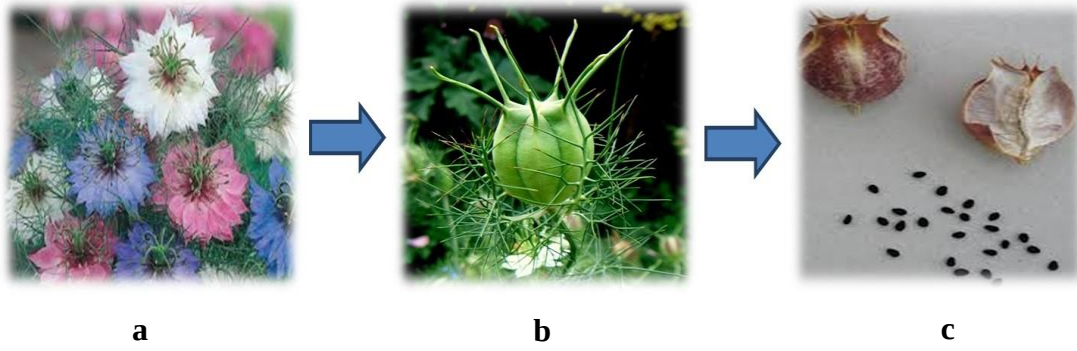
Nigella sativa tohumlarının biyolojik aktivitesinin çoğunun uçucu yağın ana bileşiği olan timokinon'dan kaynaklandığı ve bu bileşiğin de birçok farmakolojik (antikanser, antineoplastik, antioksidan, antienflamatuar, analjezik, antipiretik vb.) etkiye neden olduğu (Şekil 2.3) pek çok çalışmada açığa çıkarılmıştır (Ali ve Blunden, 2003; Khan ve diğerleri, 2011).



Şekil 2.3: Timokinin'in bazı farmakolojik etkileri.

2.1.2 *Nigella damascena* L. (Şam çörek otu)

Nigella damascena (Şam çörekotu), otsu, tek yıllık, ince kazık bir kök sistemi olan ve diploid ($2n=12$) kromozoma sahip bir bitkidir (Ghosh ve Datta, 2006). Bu *Nigella* türü 90-120 gün vejetasyon süresine sahip olup, bu süre sonunda 20-50 cm büyüyeabilen, iplik benzeri alternat yaprakları bulunan ve birçok tıbbi özelliği barındıran, aynı zamanda çilek kokusunu andıran tıbbi ve aromatik bir bitki türüdür (D'Antuono ve diğerleri, 2002). Çoğunlukla yaz aylarının başında çiçek açan ve 5-25 arasında çanak yaprakları (sepal), ayrıca daha çok mavi ama pembe-beyaz renkte de taç (petal) yaprakları olabilen bu değerli tıbbi ve aromatik bitki, kumlu-tınlı ve besin elementleri bakımından zengin topraklarda iyi bir gelişme gösterebilmektedir (Baydar, 2009). Meyvesi büyük ve şişkin bir kapsülde, birleşik bir ovaryumda gelişir, kapsül ise her biri çok sayıda tohum içeren kompoze foliküllerden oluşmaktadır. Yeşil olan kapsüllerin yaz sonunda gelişerek kahverengiye dönüşmesi içindeki tohumların olgunlaştığı anlamına gelmektedir. Bitkinin yetiştirilmesi generatif olup tohumları *N. sativa*'nın tohumlarına benzemekte siyah renkte ve daha küçüktür (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: *Nigella damascena* çiçek (a), kapsül (b) ve tohum (c).

6 farklı *Nigella* genotipi üzerine yazlık ve kışlık ekim farklılığının agronomik özelliklerin yanı sıra verim ve kalite üzerine oluşturabileceği etkilerin araştırıldığı bir çalışmada, ilk yılda sert bir kış döneminin yaşanması ve ilkbaharda kuraklığın gerçekleşmesinin biyolojik gelişmeleri olumsuz etkilemesine rağmen ikinci yılda iklim şartlarının iyileşmesi ile birlikte kışlık ekimlerde daha yüksek verim elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada *N. damascena* türünün 2012 kış-yaz döneminde elde edilen agronomik özelliklerin sırasıyla bitki boyu 27.88- 46.51 cm, dal sayısı 3.80 - 6.23 adet, kapsül sayısı 4.93- 6.78 adet, bin dane ağırlığı 2.20 -1.98 g, bitki başına tohum verimi 0.16 -0.78 g/bitki, biyolojik verim 48.5 -232.2 kg/da, tohum verimi 17.3- 50.5 kg/da, sabit yağ oranı %37.6 -33.1, sabit yağ verimi 6.5- 23.3 kg/da olarak bildirilmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda kış döneminin sert geçmesi çörek otu bitkisinin zarar görebileceğine ve ilkbahar dönemi yağışlarının verim kalite açısından son derece önemli olduğuna değinilmiştir (Ertaş, 2016).

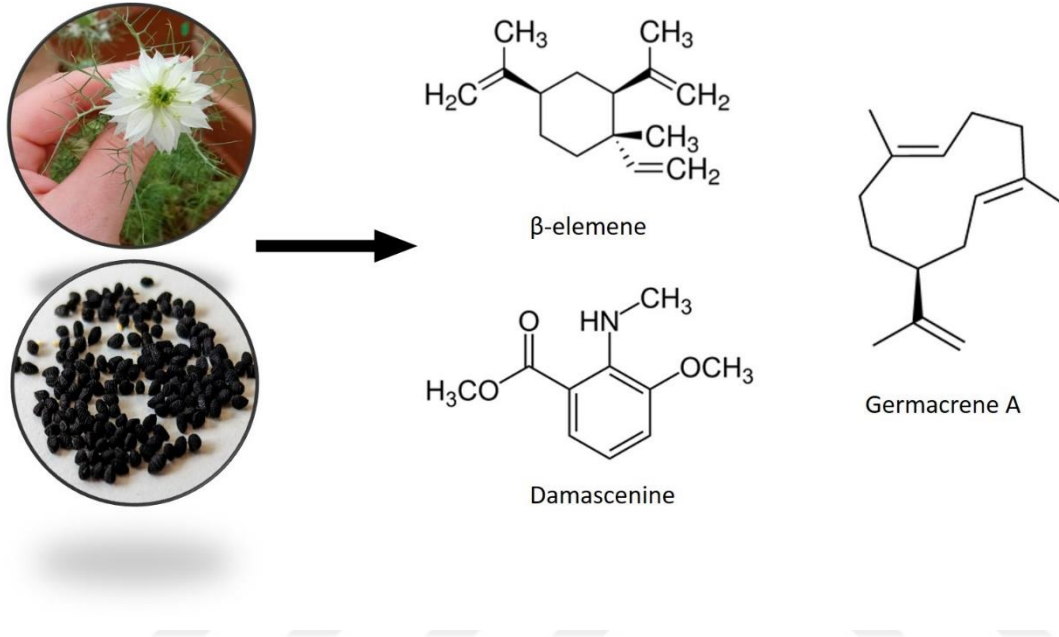
Selicioğlu (2018)'nin Kırşehir-Boztepe ekolojik koşullarında 8 farklı çörek otu populasyonunun hem bitkisel hem de tarımsal özelliklerin değerlendirdiği bir çalışmada çıkış süresinin 17-25 gün arasında değiştiğini ve en geç çimlenmenin ise 25. günle *N. damascena* türünde olduğunu belirlemiştir. Ayrıca *N. damascena* türü bitki boyu (22.7 cm), dal sayısı (2.3 adet), bitki başına tohum verimi (0.23 g/bitki), bin dane ağırlığı (2.02 g), tohum verimi (58.4 kg/da) kriterleri açısından en düşük populasyonlar arasında değerlendirilirken, sabit yağ oranı açısından en yüksek değere (%35.3) sahip olduğu görülmüştür. Çalışmada diğer çörek otu populasyonlarından elde edilen sonuçlarla bağlantılı olarak bu bitkinin gerek morfolojik gerekse verim kriterlerinin genotipik varyasyonlar ile birlikte iklim ve yetiştirme faktörlerinin etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür.

N. damascena'nın arkeolojik buluntuları Orta Avrupa'da Geç Tunç Çağı'na (MÖ 1410–920) kadar uzanmaktadır ve Anavatani, Kuzey Afrika ve Güneybatı Asya olup özel ismi Suriye'nin Şam (Damascus) ilinden gelmektedir. Özellikle Güney Avrupa ve Yakın Doğu'da en çok kullanılan *Nigella* türlerinden olup geleneksel doğu tıbbında birçok hastalığın tedavisinde, ayrıca kendine has çilek aromasından dolayı çoğunlukla Asya kültürlerinde gastronomi alanında sıklıkla kullanılmaktadır (Heiss ve Oegg, 2005; Alamgir, 2017; Fico ve diğerleri, 2004). Çiçeklerinin farklı renkte olması peyzaj alanında da genellikle süs bitkisi olarak yetiştirilmesine olanak sağlamaktadır (Kökçil, 2006). *N. sativa*'dan daha az yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen, tarih boyunca baharat ve şifalı bitki olarak insan popölasyonları tarafından özellikle Akdeniz bölgesinde geleneksel kullanımları söz konusu olmuştur (Heiss ve diğerleri, 2013).

Zaitoun ve diğerleri (2008)'nin arı ziyaretçilerini ve yarı kurak koşullarda yetişen *Nigella* çiçeklerinin tozlaşma gereksinimlerini belirlemek amacıyla iki farklı *Nigella* türünün (*N. sativa* L. ve *N. damascena* L.) kullanıldığı çalışmasında her iki *Nigella* türünün çiçeklerinin yedi farklı arı tarafından ziyaret edildiğini, bununla birlikte arılar için *N. damascena* çiçeklerinin *N. sativa* çiçeklerinden daha çekici olduğunu, öte yandan *N. sativa* çiçeklerinin ve *N. damascena*'dan yaklaşık iki hafta önce olgunlaştığını belirtmişlerdir. *N. damascena*, *N. sativa*'ya kıyasla sırasıyla ortalama olarak daha yüksek, bitki boyu (50-35 cm), bitki başına daha fazla dal sayısı (20.7-9.5), daha fazla tohum verimi (1386-597 kg/ha), toplam tohum ağırlığı (5.6-2.5 g) ve bitki başına daha fazla sayıda kapsül ürettiği (18-8.5) vurgulanmıştır. Ayrıca çalışmada *N. damascena*'nın *N. sativa*'ya kıyasla daha uzun vejetasyon süresine sahip olduğu da gözlemlenmiştir.

Nigella damascena L. tohumlarında sabit ve uçucu yağlar, alkaloidler, fenolik bileşikler, flavonoidler, saponinler, terpenoidler (seskiterpenler, monoterpenler), tokoferoller, steroidler, proteinler gibi farklı fitokimyasalların bulunmasının yanı sıra pekçok makro (potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir) ve mikroelementler (manganez, magnezyum, çinko, bakır, molibden, stronsiyum, selenyum, krom, kurşun, bor, iyot) de bulunmaktadır (Farag ve diğerleri, 2014; Fico ve diğerleri, 2000; Fico ve diğerleri, 2001; Sajfirtova ve diğerleri, 2014). Tohum ekstraksiyonu sonucu elde edilen sabit yağın yapısındaki doymamış yağ asitlerinin ana bileşenleri linoleic asit (%45) ve oleic asit (%32) olarak belirlenmiştir (Telci ve diğerleri, 2014). Ayrıca tohumlar, %0.5 oranında toksik olmayan uçucu yağ taşımakta ve bu uçucu yağların ana bileşenleri β -

elemene (seskiterpen), germacrene A (seskiterpen), damascenine (alkoloid) olup (Şekil 2.5), viridiflorene, 7-epi- α -selinene ve 9-octadecen-1-ol diğer önemli bileşenleri arasında yer almaktadır. Bunların yanı sıra pek çok monoterpen de (α -pinen, β -pinen, p-simen, mirsen, 1,8-sineol, limonen, kamfor, γ -terpinen ve pulegon) değişen oranlarda bulunmaktadır (Fico ve diğerleri, 2003; Sieniawska ve diğerleri, 2018; Wajs ve diğerleri, 2009).



Şekil 2.5: *Nigella damascena* uçucu yağ ana bileşikleri.

N. damascena türünde bulunan bu değerli fitokimyasallardan ötürü, araştırmacılar bazı farmasötik özellikleri aktif olarak araştırmıştır (Agradı ve diğerleri, 2002; Fico ve diğerleri, 2004; Toma ve diğerleri, 2015).

Damascenine bileşiğinin *N. damascena* L. türüne ait bir alkoloid olması ve çok sayıda farmakolojik etkisinin bulunması bu türün daha önemli hale gelmesini sağlamaktadır. Yukarıda bahsi geçen diğer uçucu yağ bileşenlerinin de antioksidan, antiseptik, antienflamatuar, antihistaminik, analjezik, antimikrobiyal, antitümör, strese karşı koruyucu gibi değerli farmakolojik özelliklerinden dolayı *N. damascena*, eczacılıkta hastalıkların tedavisi ve önlenmesi amacıyla drog üretiminde kullanılan bitkilerin bulunduğu Farmasötik Botanik alanında yer almaktadır (Efremova ve diğerleri, 2017). Ayrıca doymamış yağ asitleri ve organik asitlerin yüksek içeriği nedeniyle, *N. damascena* tohumları, *N. arvensis* türüne kıyasla antikolosterinemik, antioksidan ve

antiseptik ilaçlar açısından daha umut verici bir potansiyel kaynak olarak düşünülmektedir (Shanida, 2019).

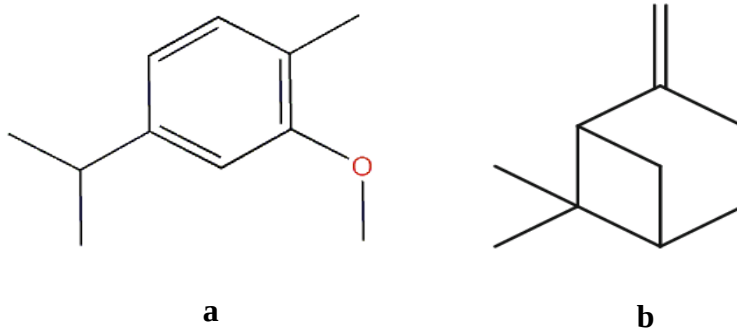
2.1.3 *Nigella arvensis* L. (Tarla çörek otu)

Nigella arvensis (yerel adı 'siyah ekmek otu' veya 'yabani rezene') 30 cm uzunluğa kadar gelişebilen, yaprakları yumuşak ve pinnatisect (tek saplı), 20-30mm çapında mavimsi çiçeklere sahip bir bitkidir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: *Nigella arvensis* bitkisinin çiçeği.

Orta ve Güney Doğu Avrupa'dan Rusya Federasyonuna, ayrıca Yakın Doğu Bölgesi ve Kuzey Afrika'ya kadar dağılmış yaygın bir *Nigella* türüdür (Tutin ve diğerleri, 1964). Tohumlarında sabit yağ verimi %41.3 olup bu yağın ana bileşenleri %63.43 linoleik asit ve %16.88 oleik asittir (Kökçil ve Yılmaz, 2005). Ayrıca uçucu yağ içeriğinde esas olarak monoterpenlerin (hidrokarbonlu %39.8 ve oksijenli %28.9) bulunmasıyla *N. sativa* türüne benzerlik göstermekle birlikte düşük miktarda seskiterpenler de (%4.6) içermektedir. Uçucu yağın ana bileşenleri karvakrol metil eter (%26.4), β -pinen (%21.4) (Şekil 2.7), n-undekan (%13.2) ve α -pinen (%5.7) olup GC-MS'te toplamda 62 farklı bileşen tanımlanmıştır (Havlik ve diğerleri, 2006).



Şekil 2.7: Karvakrol metil eter (a), β -pinen (b).

Yapılan uygulamalarla bu türün sahip olduğu bileşenlerin gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarında antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, bununla birlikte siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2)'da antiinflatuar etkisinin olduğu görülmüştür (Dorman ve Deans, 2000; Landa ve diğerleri, 2009).

2.2 Sekonder Metabolitler

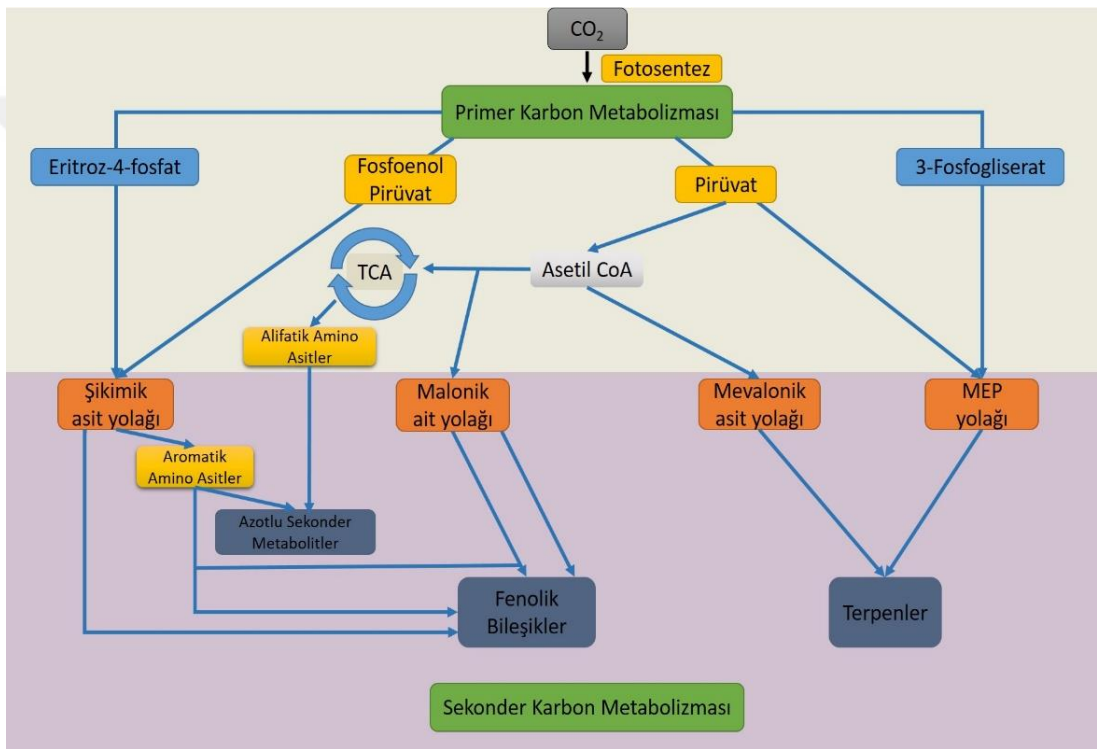
Bitkilerde doğal ve düşük molekül ağırlıklı olarak sentezlenen bileşiklerin 50.000'e yakını aydınlatılmış olmasına rağmen hala çalışılması gereken 100.000'lerce bileşik bulunmaktadır ki, geçmiş yıllarda olduğu gibi önümüzde ki yıllarda da bitkiler yeni ürünler ve yeni ilaçlara kimyasal model sunmaya devam edecektir. Bitkilerde farklı kimyasal yollarda sentezlenen bu bileşikler primer ve sekonder metabolitler olmak üzere 2'ye ayrılmaktadır.

Bitkilerin tüm hücrelerinde bulunan ve temel yapısını oluşturan, besin depo maddeleri olarakta üretilen, büyüme, gelişme ve üremede doğrudan ilişkili ve tüm bitkisel organizmalar için ortak olan bileşikler (karbonhidrat, proteinler, aminoasitler, vitaminler, yağlar, nükleik asitler, vb.) primer metabolitler olarak adlandırılırlar. Primer metabolitler bitkilerin hayati fonksiyonları için mutlak gerekli olan bileşiklerdir. Geriye kalan bileşikler ise sekonder metabolit olarak değerlendirilir bunlarda fotosentetik aktivitenin sonucu olarak ortaya çıkmaktadırlar (Pichersky ve Gang, 2000; Rao ve Ravishankar, 2002).

Sekonder metabolitler aslında bitkide yaşamsal faaliyetleri açısından gerekli olmayan hatta bazı spesifik durumlarda (patojenleri, haşereleri ve herbivorları engellemek, komşu bitkilerin büyümesini bastırmak-allelpati vs.) sentezlenmiş, miktarları ölçülemeyecek düzeyde olan ama bitkide özellikle korunma, adaptasyon, savunma ve üreme faaliyetleri (polinasyon) amacıyla üretilen moleküller olarak tanımlanmaktadır (Bennet ve Wallsgrove, 1994; Mitchel-Olds ve diğerleri, 1998; Rao ve Ravishankar, 2002; Seigler, 1998). Bu fitokimyasallar yüksek yapılı bitkilerde primer metabolitlerden (karbonhidrat, aminoasit, lipid vs.) sentezlenir ve 30.000'den fazla çeşidi (alkoloid, uçucu yağ, glikozit, heterozit, steroid, saponin, flavonoid, tanen, renk maddeleri, reçine vb.) bulunmakla birlikte her bir fitokimyasalın bitkide göstermiş olduğu etki farklılık arz etmektedir. Örneğin; Kök boya-rizom (*Rubia tinctorium* L.)'da

ki alizarin, Safran–çiçek (*Crocus sativus* L.)’deki krosin, Kırmızıbiber (*Capsicum annuum* L.)’deki kapsisin maddeleri renk verme, Hardal-tohum (*Sinapis arvensis* L.)’daki sinapin, Meyan kökü–rizom (*Glycyrrhiza glabra* L.)’daki glisirhizin, Sarımsak (*Allium sativum* L.)’daki allisin koku verme özelliğine sahip fitokimyasallardır.

Sekonder metabolitler glikoliz reaksiyonunda şikimik asit (fenolik bileşikler), malonik asit (fenolik bileşikler), mevalonik asit (terpenler) ve aminoasitten (alkoloidler) türevlenmektedirler (Bennett ve Wallsgrove, 1994) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Primer ve sekonder karbon metabolizması.

Gün geçtikçe yeni bileşenlerle karşılaştığımız ve pek çok tıbbi özelliği bulunan (antifungal, antivirütik, antioksidan, vb.) sekonder metabolitler sentezlendikleri bitkide göstermiş olduğu etkiyi benzer şekilde diğer canlı organizmaların üzerinde de göstermesi ilaç endüstrisine bir kaynak oluşturarak farmakoloji alanının ilerlemesine katkı sağlamaktadır.

Çizelge 2.3: Bazı sekonder metabolitler, etki şekilleri ve kaynak bitkiler.

Sekonder Metabolit	Etki Şekli	Kaynak Bitki
Arekolin	Solucan düşürücü	<i>Areca catechu</i> L.
Betulinik asit	Antitümör	<i>Betula alba</i> L.
Glasiovin	Antidepresan	<i>Ocotea glaziovii</i> Mez.
Kodein	Ağrı kesici	<i>Papaver somniferum</i> L.
Lobellin	Sigara içmeyi önleyici	<i>Lobelia inflata</i> L.
Palmatin	Ateş düşürücü	<i>Coptis japonica</i> Salisb.
Timol	Antifungal	<i>Thymus vulgaris</i> L.
Vinkristin	Lösemi tedavisi	<i>Catharanthus roseus</i> L.
Nikotin	İnsektisit	<i>Nicotiana tabacum</i> L.
Atropin	Yatıştırıcı	<i>Atropa belladonna</i> L.

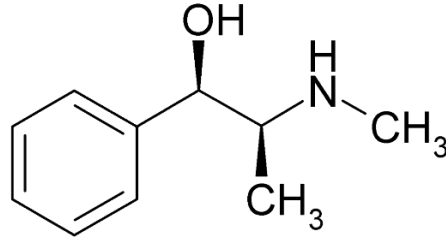
Bu biyoaktif moleküller alkaloidler (12.000 tip), terpenoidler (25.000 tip), fenolik bileşikler (8.000 tip) olmak üzere 3 ana grup altında toplanmakta (Baydar, 2009; Croteau ve diğerleri, 2000) ve pekçok önemli bileşen içermektedirler (Çizelge 2.3, 2.4).

Çizelge 2.4: Bitki sekonder metabolitlerinin bazı önemli molekülleri.

Sekonder metabolitler (Fitokimyasallar)	Önemli moleküller	Referanslar
Alkoloidler	Kafein, piperin, atropin, berberin, morfin, kokain, nikotin, kodein, efedrin, dopamin, serotonin, vinblastin, kapsasin, solanin vs.	Shakya, 2016; Woolley, 2001; Kabera ve diğerleri, 2014
Terpenler	Menthol, citral, provitamin A, karotenoidler (α -karoten, β -karoten) likopen, ökaliptol vs.	Shakya, 2016; Kabera ve diğerleri, 2014
Flavonoidler	Apigenin, taksifolin, quercetin, kaempferol, quercitrin, silymarin, naringenin vs.	Shakya, 2016; Kumar ve Pandey, 2013; Falcone ve diğerleri, 2012)
Fenolik asitler	Sinamik asit, benzoik asit, ferulik asit, kumarik asit, kafeik asit, salisilik asit, gallik asit, tannik asit vs.	Shakya, 2016; Robbins, 2003
Saponinler	Diosgenin vs.	Shakya, 2016

2.2.1 Alkoloidler

Alkoloidler bitkiler, hayvanlar ve mantarlar tarafından doğal olarak üretilen amin yapısındaki kimyasal bileşikler olup genellikle acı, yakıcı tadları ve kokusuz olmalarıyla bilinirler (Şekil 2.9). Bu bileşikler ekonomik açıdan değerli olarak bilinen yüksek bitkilerin yaklaşık %20'sine dağılmış 20.000'den fazla farklı molekül içeren, yapı ve biyosentetik yollar açısından son derece farklı olan sekonder metabolitlerin en büyük grupları arasında yer alırlar (Yang ve Stöckigt, 2010). Bu moleküller toksisiteleri nedeniyle biyotik (patojenler-yırtıcılar) ve abiyotik streslere karşı bitkilerde savunma ile görevli olmalarının yanı sıra, tozlaşmayı da arttırmada etkilidirler (Matsuura ve Fett-Neto, 2015; Irwin ve diğerleri, 2014). Tarih boyunca bitki alkoloidlerinin tıbbi, terapötik ve dini gibi çok farklı amaçlarla kullanıldığı bildirilmektedir. Örneğin Doğu Akdeniz'de Afyon, haşhaş (*Papaver somniferum*) lateksinin kullanımı M.Ö. 1400 ila 1200 yılları arasında kaydedilmiştir. Yine *Rauvolfia serpentina* (yılan kökü) bitkisinin kökleri tedavi edici olarak M.Ö. 1000'da Hindistan'da kullanılmaya başlanmış ve hala kullanılmaya devam etmektedir (Croteau ve diğerleri, 2000; Hofmann, 2006). 1806 yılında Friedrich Wilhelm Sertürner tarafından morfinin izole edilmesi hem bitki sekonder metabolitlerinin resmi olarak başlangıcı olmuş hem de insanlık tarihinde alkoloidlerin en önemli ilaç grubunda yer almasını sağlamıştır. Omurgalılar üzerinde antioksidan, antitümöral, analjezik, anti-enflamatuar ve uyarıcı gibi önemli sayısız farmakolojik etkileri bulunmaktadır (Yang ve Stöckigt, 2010). Örneğin günlük olarak tüketilen kahve (*Coffea arabica* L.), çay (çoğunlukla *Camellia sinensis* L.) veya kakao (*Theobroma cacao* L.) yiyecek ya da içeceklerin yapısında değişik oranlarda bulunan alkoloidler merkezi sinir sistemi üzerinde uyarıcı etkilere sahiptir. *Papaver somniferum* L. türünden elde edilen morfin, bir alkoloid çeşidi olup bilinen en güçlü analjeziklerden biridir. Yine bu türden elde edilen kodeinin hem yatıştırıcı-sakinleştirici (sedatif) hem de öksürük kesici (antitusif) etkisi bulunmaktadır (Koleva ve diğerleri, 2012; Senchina ve diğerleri, 2014). *Strychnos nux-vomica* L. (kargabüken) ağacından elde edilen çok zehirli bir alkoloid olan striknin homeopati ve sıçan zehiri olarak kullanılmaktadır (Croteau ve diğerleri, 2000).



Şekil 2.9: Efedrin alkaloidi.

2.2.2 Terpenoidler

Terpenoidler (izoprenoidler), bitkiler tarafından üretilen sayısız bileşikler arasında en büyük, en yaygın ve en çeşitli kimyasal sınıfını temsil eden hidrokarbon yapılı sekonder metabolitlerdir. Bilinen doğal ürünlerin yaklaşık %60'ı terpenoiddir (Firn, 2010). Çoğu oksijen içeren fonksiyonel gruplara sahip multisiklik yapıdaki terpen türevleridir. Terpenoidler yapılarında bulundurdıkları izopren halkalarına göre alt sınıflara ayrılırlar (Çizelge 2.5) (Hanson, 2003; Las Heras ve diğerleri, 2003).

Çizelge 2.5: Terpenoidlerin alt sınıfları.

Terpenoidler	İzopren sayısı	Karbon atomları
Hemiterpenoidler (isoprene)	1	5
Monoterpenoidler (mentol)	2	10
Sesquiterpenoidler (farnesol)	3	15
Diterpenoidler (retinol)	4	20
Sesterterpenoidler (bulgarene),	5	25
Triterpenoidler (provitamin A, cymarin)	6	30
Tetraterpenoidler (karotenoidler)	8	40
Politerpenoidler (vitamin E)	>100	>500

Kendi içinde hemiterpenoidler, monoterpenoidler, seskiterpenoidler, diterpenoidler, sesterterpenoidler, triterpenoidler (sterols), tetraterpenoidler (karotenoidler),

politerpenoidler (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 ve daha fazla izopren halkası) olarak sınıflandırılırlar.

Terpenoidler fiziksel özelliklerine göre iki gruba ayrılırlar;

1-Uçucu terpenoidler; Su ya da buhar destilasyonu ile taşınabilen küçük moleküllü monoterpenler ve bazı seskiterpenlerdir.

2-Uçucu olmayan terpenoidler; Büyük moleküllü seskiterpenler, diterpenler, sesterpenler, triterpenler ve politerpenlerdir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerden ekstraksiyon sonucu elde edilen esansiyel yağların yapısında çoğunlukla monoterpen ve seskiterpen bileşikleri bulunmaktadır.

Monoterpenoidler aromatik özelliğe sahip bitkilerde koku molekülleri oluşturan ve ekstrakte edilen esansiyel (uçucu) yağların temel bileşikleri olup bulunduğu bitkiye hem koku hem de aroma açısından katkı sağlamaktadır. En çok bilinen monoterpenlerden birkaçı Çizelge 2.6'da verilmiştir.

Çizelge 2.6: En çok bilinen monoterpenler.

<i>Kaynak bitki</i>	<i>Monoterpenoid</i>
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.-Biberiye	Kamfor
<i>Laurus nobilis</i> L. -Defne	Mirsen
<i>Origanum onites</i> L.- Kekik	Karvakrol
<i>Rosa damascena</i> Mill. -Gül	Sitronellol
<i>Coriandrum sativum</i> L.-Kişniş	Linalool

Monoterpenler bitkilerin özellikle epidermis hücrelerinde sentezlenir ve depolanır ki bu dışa dönük hücrelerde sentezlenmesi onların zararlılara karşı korunma (geraniol, myrcene vb.) tozlayıcılar için çekicilik (limonene, geranil vb.) ve allelopatik gücünü oluşturma gibi pek çok stratejik yaklaşımı artırmaktadır. Bu ekolojik rollere ek olarak bazı monoterpenler gıda, kozmetik, tarım ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Aharoni ve diğerleri, 2005; Baydar, 2009).

Seskiterpenler ise bazı uçucu yağların temel koku moleküllerini oluşturan özellikle patojenlere karşı savunma amaçlı sentezlenen antibakteriyal (chlorojanerin),

antimikrobiyal (kadinen), antiviral (sentaurepensin), sitotoksik ve antikanser (helanalin) aktivitesine sahip önemli terpenoid grubudur (Izbosarov ve diğerleri, 2000; Liu ve diğerleri, 2008; Ma ve diğerleri, 2009; Meng ve diğerleri, 2001; Özçelik ve diğerleri, 2009). Uçucu yağlar ise monoterpen, seskiterpen, diterpen bileşikleri ve fenilpropan türevlerinin çok bileşenli karışımlarıdır. Farklı uçucu yağların bileşiminde, hidrokarbonlar, alkoller, aldehytler, ketonlar ve esterler gibi 1500'den fazla bileşik tanımlanmıştır. Bunlara ek olarak uçucu yağlarda kükürt ve azotlu bileşikler, asetilen türevleri, kumarinler ve organik asitlerle de karşılaşmaktadır (Alizadeh ve diğerleri, 2010; Baj ve diğerleri, 2010; NurzyEska-Wierdak, 2012; Tajuddin ve Yusoff, 2010;).

Beslenme, tüm mahsul bitkilerinin büyümesinde ve gelişmesinde anahtar rol oynar. Uçucu yağları sentezleyen şifalı bitkiler söz konusu olduğunda, bitki besin elementleri etkili bir şekilde yağ verimini ve kalitesini artırabilir (Aziz ve diğerleri, 2010; Jabbari ve diğerleri, 2011; Sharafzadeh ve diğerleri, 2011a, 2011b; Zheljazkov ve diğerleri, 2010, 2011). Temel minerallerden biri olan azot, bitkiler tarafından amino asitler, proteinler, enzimler ve nükleik asitler gibi birçok organik bileşiği oluşturmak için kullanılır. Amino asitler ve enzimler, uçucu yağ bileşenleri olan çok sayıda bileşiğin biyosentezinde anahtar rol oynar (Koeduka ve diğerleri, 2006).

Bitkiler terpenoidleri büyüme ve gelişmede gerekli olan çeşitli temel fonksiyonlar için kullanmanın yanında tozlaşmada, abiotik ve biyotik ortamda savunma ve korunma amaçlı da (patojenik bakteri, mantar, virüs) üretirler. Geleneksel olarak, bitki bazlı terpenoidler gıda, ilaç ve kimya endüstrilerinde insanlar tarafından kullanılmıştır ve son zamanlarda biyoyakıt ürünlerinin geliştirilmesinde kullanılmaktadır (Tholl, 2015).

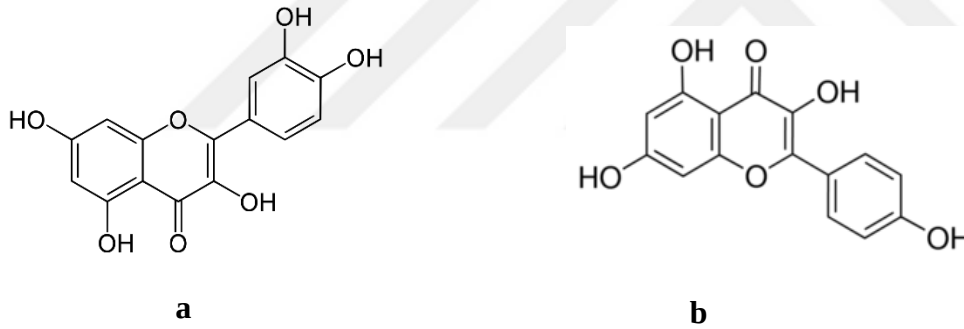
2004 yılında Hajhashemi ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada *N. sativa* tohumlarının buhar distilasyonu sonucunda elde edilen uçucu yağın analjezik ve anti-inflamatuar özellikleri sıçanlar üzerinde değerlendirilmiştir. GC-MS analizinde %0.4 (v/w) verimle elde edilen yağda 20 bileşik tanımlanmış, p-simen (%37.3) ve timokinon (%13.7) ana bileşik olarak belirlenmiştir. Uçucu yağın (200, 400 ve 800 µL/kg) hem oral hem de intraperitoneal uygulaması formalin testinin erken ve geç aşamalarını, farelerde asetik asit kaynaklı kıvrınmayı, karragenan kaynaklı pençe ödemi ve sıçanlarda kroton yağının neden olduğu kulak ödemi baskılamıştır. Her iki çalışmada da yazarlar nalokson ile tedavinin hem polifenollerin

hem de uçucu yağın analjezik aktivitelerini tersine çevirmede başarısız olduğunu bildirmişlerdir.

Yine başka bir çalışmada *N. sativa* uçucu yağının (0.66 mL ve 1.55 mL/kg) ve timoquinonun (0.5, 1.0, 5 mg/kg) intraperitoneal uygulaması, sıçanlarda karragenan kaynaklı arka pençe ödemeine karşı doza bağlı bir anti-enflamatuar etkiye sahip olduğu belirtilmiş (Mutabagani ve El-Mahdy, 1997), benzer şekilde AlGhamdi, (2001), *N. sativa*'nın sulu özütünün, karragenanın neden olduğu pençe ödeminde aspirine (100 mg/kg) benzer bir anti-enflamatuar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

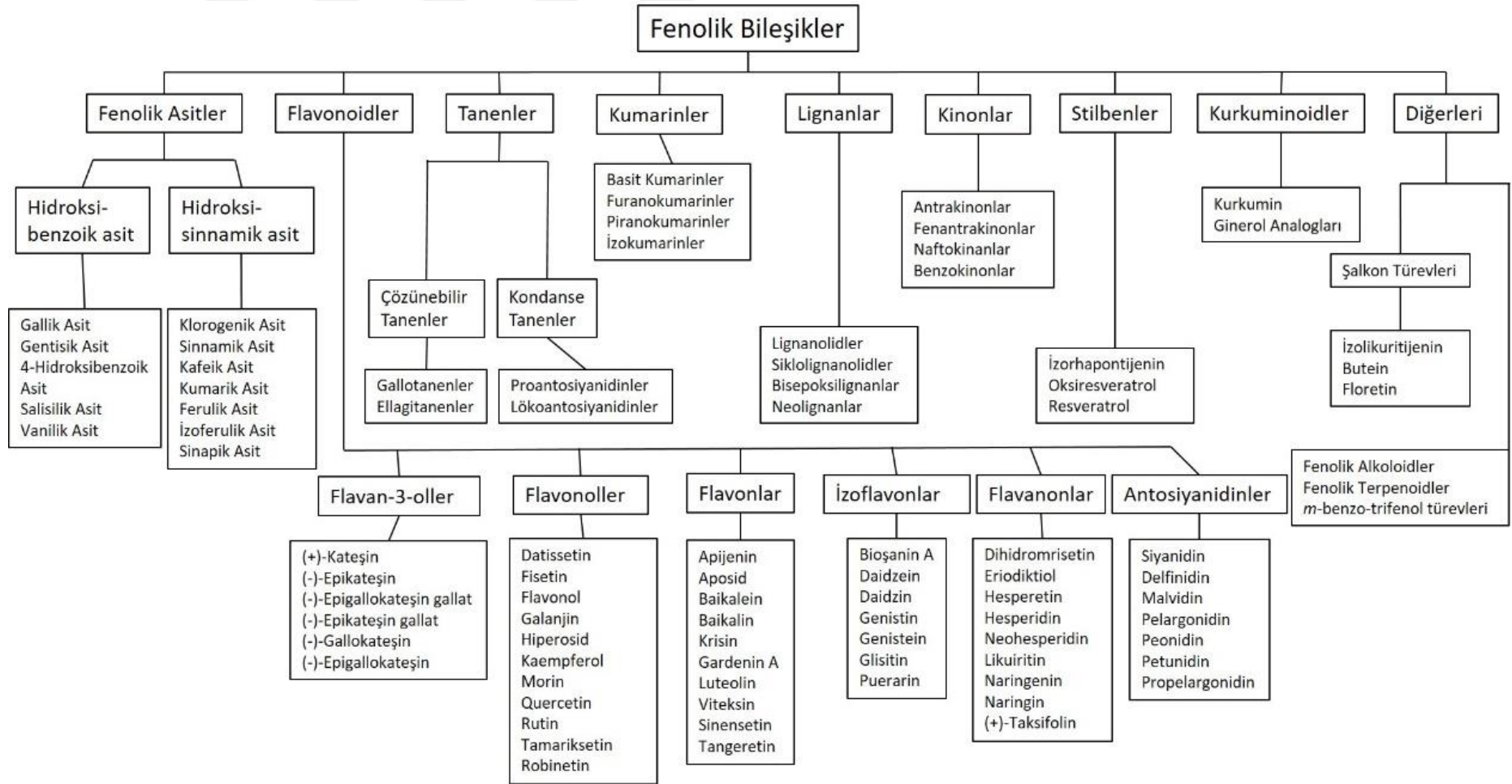
2.2.3 Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, en az bir fenol birimine sahip yapıları ile karakterize edilen bir grup küçük moleküldür. Ayrıca fenolikler, basit, düşük molekül ağırlıklı, tek aromatik halkalı bileşiklerden büyük, kompleks yapıları tanenlere ve türetilmiş polifenollere kadar uzanan geniş bir fitokimyasal gruptur (Şekil 2.10).

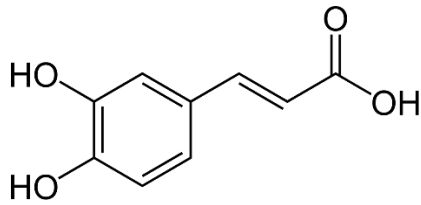


Şekil 2.10: Kuercetin (a), Kaempferol (b).

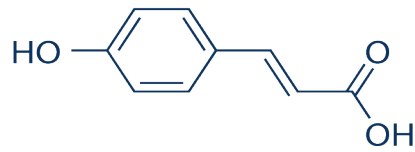
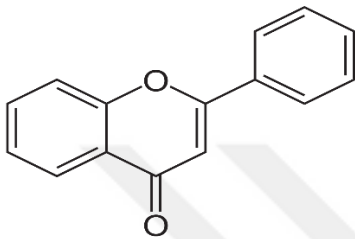
Kimyasal yapılarındaki farklılıklara göre fenolik bileşikler, basit fenoller ve polifenoller olmak üzere 2 ana gruba ayrılırken, yine bu gruplar kendi içinde fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, kumarinler, lignanlar, kinonlar, stilbenler ve curcuminoidler gibi farklı alt birimlere ayrılmaktadır (Gan ve diğerleri, 2019). Bu bileşiklerden fenolik asitler, flavonoidler, tanenler en çok bilinenleridir (Şekil 2.11) (Crozier ve diğerleri, 2006; Pereira ve diğerleri, 2009).



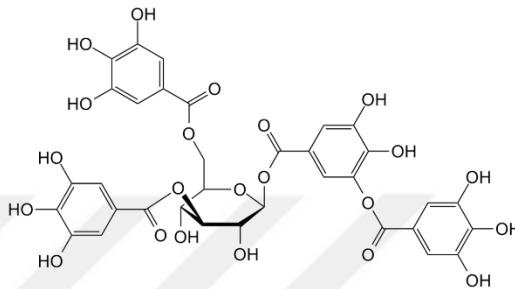
Şekil 2.11: Önemli fenolik bileşik grupları.



a

**b**

C



d

Şekil 2.12: Kafeik asit (a), p-Kumarik Asit (b), Flavonoid (c), Tannik Asit (d).

Fenolik bileşikler, bitki dokularında yaygın olarak üretilmektedir ki, özellikle meyve ve sebzelerde renk, lezzet ve acı-buruk tat vermede katkı da sağlamaktadır. Bu fitokimyasalların konsantrasyonu bitki çeşidine ve bitkide ki doku farklılığına göre değişebilmekle birlikte bitki dokularının her 100 g kuru ağırlığı için 0.5-5.0 g aralığında olduğu gözlemlenmiştir (Swanson, 2003).

Flavonoidler, üç karbonlu bir köprü ile bağlanan iki aromatik halkalı on beş karbon içeren polifenolik grubundan olup, bitkiler aleminde en fazla sayıda bulunan fenolik bileşik çeşididir (Şekil 2.12). Yaprak ve meyvelerin epidermisinde yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar ve UV ışınlarına karşı koruma, pigmentasyon, azot fiksasyon nodüllerinin uyarılması ve hastalıklara direnç gösterilmesi gibi süreçlerde önemli ve çeşitli rollere sahip sekonder metabolitlerdir. Suda çözünen önemli bir fenolik bileşik grubu olan ve renkli flavonoidler içinde yer alan antosiyaninler özellikle meyve ve çiçeklerde renk (kırmızı, mavi, mor) oluşumunda etkili olup antioksidan, antibakteriyel aktiviteleri ve diğer faydalı biyolojik özellikleri (tozlaşma, aşırı ışığa karşı koruma vb.) nedeniyle gıdaların çok fonksiyonlu bileşenleri olarak

kabul edilen en önemli bitki pigmentleri grubudur (Moreno ve diğerleri, 2010; Sadilova ve diğerleri, 2006).

In vitro antioksidan kapasitenin yanı sıra birçok yayın, antosiyaninler, kateşinler, proantosiyanidinler ve diğer flavonoidlerin, hücrenin hayatta kalması, büyümesi ve farklılaşmasında yer alan farklı sinyal yollarını düzenleyebildiğini göstermiştir (Ackland ve diğerleri, 2005; Vallejo ve diğerleri, 2002).

İnsan beslenmesinde yaygın olarak tüketilen bitkisel kaynaklı gıdaların yapısında bulunan fenolik bileşiklerin, antikanserojen ve canlı dokulardaki güçlü antioksidan etkileri nedeniyle çeşitli kronik hastalıkların (kardiyovasküler) gelişme risklerini azaltarak canlılarda koruyucu bir etki göstermektedir (Cartea ve diğerleri, 2011). Yine birçok karasal bitkide yaygın bir fenolik bileşik çeşidi olan tanenler, yüksek antioksidan kapasitesine sahip olmanın yanı sıra antikarsinojenik, antimutajenik vb. gibi önemli etkiler gösterebilen fitokimyasallardır (Okuda ve Ito, 2011).

Nigella glandulifera tohumlarından izole edilen fenolik bileşiklerin [Nigephenol A ve B (1-2) ve Nigephenol C (3), Salfredin B₁₁] Bel7402 (karaciğer karsinomu), HepG2 (karaciğer karsinomu), HCT-8 (kolon adenokarsinomu) ve A549 (küçük hücreli olmayan akciğer karsinomu) hücre hatlarına karşı in vitro sitotoksitesi MTT yöntemi ile değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlarda bu fenolik bileşiklerin özellikle HepG2 hücre hattına karşı daha seçici aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir. Nigephenol B (1-2) bileşiğinin ise dört insan tümör hücre hatlarına karşı önemli inhibitör etkilere neden olduğu ortaya çıkarılmıştır (Sunve diğerleri, 2015). Yine bu türün tohumlarından izole edilen kalopanaxaponins A ve I (triterpenoid) bileşiklerinin HepG2 (IC₅₀:18.12 ± 1.03, 8.95 ± 0.62 µM) ilaca dirençli HepG2 (R-HepG2) (IC₅₀:13.09 ± 0.94, 9.05 ± 0.71 µM) ve fare hepatositlerine (IC₅₀:2.45 ± 0.23, 8.26 ± 0.08 µM) karşı belirgin sitotoksik aktiviteleri gözlenmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin apoptozu indükleyerek hepatom proliferasyonunu inhibe ettiğini ve sonuçta kalopanaxaponin A ve I'nin HepG2 ve ilaca dirençli hepatomun tedavisi için potansiyel terapötik ajanlar olabileceği belirtilmiştir (Tian ve diğerleri, 2006).

Chen ve diğerleri (2008)'nin fitokimyasal çalışmasında *Bulbophyllum odoratissimum* (J.E. Smith) bitkisinin etil asetat ekstraktından dokuz farklı fenolik bileşik (moskatin, 7-hidroksi-2,3,4-trimetoksi-9,10-dihidrofenantren, coelonin, densiflorol B, gigantol, batatasin III, tristin, vanillic asit ve syringaldehide) izole edilmiştir. İzole edilen bu

bileşiklerin insan lösemi hücre hatları K562 ve HL-60, insan akciğer adenokarsinomu A549, insan hepatomu BEL-7402 ve insan mide kanseri SGC-7901 hücrelerinin büyümesine karşı inhibe etme yetenekleri in vitro olarak değerlendirilerek sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre densiflorol B, test edilen beş hücre hattına karşı en aktif sitotoksik bileşik (IC₅₀:0.08–3.52 µg/mL) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sentezlenen bileşiklerden Tristin SGC-7901'e karşı 2.08 µg/mL IC₅₀ değeriyle, syringaldehyde ise BEL-7402'ye karşı 1.54 µg/mL IC₅₀ değeri ile seçici sitotoksosite özelliğine sahip olmuşlardır. Fakat izole edilen diğer bileşikler bu kanser hücre hatları üzerinde daha az toksisite göstermişlerdir.

Bitkilerin sentezlemiş olduğu sekonder metabolitlerin çoğu dünya çapında farklı endüstriyel alanlarda (koku, aroma, farmasötik formülasyonlar v.b.) kullanılan önemli biyokimyasallardır. Sıcaklık, ışık yoğunluğu, nem, CO₂, mineraller, su miktarı gibi abiyotik faktörler bitkilerin bu biyoaktif bileşiklerinin üretilmesine katkı sağlamaktadır. Fakat kuraklık, yüksek tuzluluk, iklimsel değişiklikler, düşük sıcaklıklar ve benzeri olumsuz çevre koşulları, bitkilerin büyümesi ve verimliliği üzerinde olumsuz etkilere neden olmakla birlikte, sentezlenen sekonder metabolitler özellikle bitkinin bahsi geçen çevresel stres koşullarının üstesinden gelmesi ve çevreye daha iyi adaptasyonunun sağlanmasında etkilidir. Genel olan bir çevresel sorunun kimyasal çözümü bitki çeşitliliğine göre farklılık arz etmektedir. Örneğin çiçek kokularını oluşturan bileşikler türlerden türlere, hatta aynı tozlayıcıda (ör. güve) bile farklılık göstermektedir (Knudsen ve Tollsten, 1993).

Bitki büyümesi için son yıllarda geliştirilen, in vitro koşullar altındaki bitki hücresi kültürü teknolojileri, sekonder metabolit üretimi ve mekanizması üzerinde önemli bir araç olmuştur (Akula ve Ravishankar, 2011).

Sekonder metabolitlerin birçoğu ilaç yapımında kullanılmasından ötürü bu fitokimyasallara olan ilgi her geçen gün bilimsel ve endüstriyel alanda artmaya devam etmektedir. Bitkiler tarafından sentezlenen biyoaktif maddelerin insan metabolizması üzerindeki pozitif etkileri yapılan pekçok çalışma ile de desteklenmiştir (Çizelge 2.7).

Çizelge 2.7: Ana grup doğal bileşiklerin biyolojik aktiviteleri.

Bileşik tipi	Farmakolojik etkileri	Referanslar
Terpenoid	Antimikrobiyal, antiviral, antihelmintik, antibakteriyel, antikanser, antiinflamatuvar	(Kabera ve diğerleri, 2014; Shakya, 2016)
Fenolik asitler	Antikarsinojenik, antimutaneik, antiinflamasyon, antialerjik	(Capasso ve diğerleri, 2003; Kabera ve diğerleri, 2014; Anulika ve diğerleri, 2016; Saxena ve diğerleri, 2013; Lattanzio, 2013; Balasundram ve diğerleri, 2006; Robbins, 2003; Ozcan ve diğerleri, 2014)
Alkaloidler	Analjezik, antispazmodik, antimalaryal, antiastım, bakterisidal	(Chikezie ve diğerleri, 2015; Shakya, 2016; Capasso ve diğerleri, 2003; Anulika ve diğerleri, 2016; Woolley, 2001)
Flavonoidler	Antioksidan aktivite, kardiyovasküler koruma, antiinflamatuvar, antiviral, antibakteriyel, hepatoprotektif	(Anulika ve diğerleri, 2016; Kumar ve Pandey, 2013; Falcone ve diğerleri, 2012; Negi ve diğerleri, 2013; Kabera ve diğerleri, 2014)
Saponinler	Antitümör, antiviral, antifungal, antihipoglisemik, immünostimülant, antihepatotoksik, antikoagulant, nöroprotektif, antioksidant	(Capasso ve diğerleri, 2003; Anulika ve diğerleri, 2016; Negi ve diğerleri, 2013; Kareru ve diğerleri, 2008; Man ve diğerleri, 2010; Saxena ve diğerleri, 2013; Kabera ve diğerleri, 2014)
Tanenler	Antioksidant, antikarsinojenik, diüretik, hemostatik, antimutajenik, antiseptik	(Chikezie ve diğerleri, 2015; Capasso ve diğerleri, 2003; Anulika ve diğerleri, 2016; Saxena ve diğerleri, 2013; Hassanpour ve diğerleri, 2011; Khanbabae, 2001; Breitmaier, 2006; Lattanzio, 2013; Balasundram ve diğerleri, 2006)

İlaç yapımında kullanılan doğal veya sentetik maddeler olarak isimlendirilen drog, tıbbi bitkilerin özellikle bazı kısımlarında (yaprak, çiçek, tohum, kök, kabuk vb.) diğer bölgelerine oranla daha fazla bulunmaktadır ki, bunların yapılarında bulunan etkili bileşiklerden (sekonder metabolitler) hastalıkları tedavi etme sürecinde yararlanılmaktadır. Bitkisel kökenli drogların yapısındaki etkili bileşikler ve bu bileşiklerin canlılar üzerindeki etkisi 19. yüzyılın ortalarından itibaren bilinmeye başlanmıştır. Bitkilerdeki sekonder metabolitler, bitkilerin hayat dönemlerindeki (vejetatif-generatif) değişikliklere bağlı olarak oranları artıp azalırken, bazı dönemlerde en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Bu yüzden drog (etken madde içeren kısım) açısından en fazla üretildiği dönemde toplanır ki bu da her drog materyali için farklı hasat döneminin olduğu anlamına gelmektedir (Baytop,1984).

Bitkide oluşturulan sekonder metabolitlerin stres faktörlerinin (sıcaklık, kuraklık, UV, tuzluluk vb.) yanı sıra, yapılmış bazı çalışmalar sonucunda uygulanacak gübreleme ile de arttığı gösterilmiştir (Palumbo, 2007; Zheljazkov ve diğerleri, 2011).

2.3 Gübreler ve Sekonder Metabolitler Üzerine Etkileri

Bitkiler çimlenmesinden itibaren hayat formlarını düzenli devam ettirebilmeleri için mikro ve makro besin elementlerine ihtiyaç duyarlar. Bu besin elementlerinin karşılanamaması durumunda bitkinin gelişiminde aksaklıklar (büyüme geriliği, yaprakta nekrotik lekelenmeler, erken çiçek dökümü, dane eksikliği vb.) ve çeşitli fungal, virütik, bakteriyel hastalıklar meydana gelmektedir. Bu gibi durumların önlenmesi, daha yüksek verim ve kalitede bitkisel üretim yapılabilmesi adına gübreleme tarımsal faaliyetlerde yoğunlukla uygulanmaktadır.

Çay (*Camellia sinensis*) bitkisindeki sekonder metabolit miktarı üzerine gübrelemenin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada özellikle teanin ve kafein'nin N, P ve K ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği, fakat kateşin konsantrasyonuna anlamlı bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada P ve K'nın çay kalitesinin belirlenmesinde daha hayati roller oynadığı görülmüştür (Sun ve diğerleri, 2019). Yine Ruan ve diğerleri (2013), K uygulanması ile çaydaki serbest amino asitler ve toplam polifenollerin arttığını, böylece de çay kalitesini etkilendiğini belirtmişlerdir.

Safran (*Crocus sativus*) bitkisine tarla koşullarında sığır gübresi (0, 10, 20 ve 30 t/ha) ve fulvik asit (0, 5 ve 10 kg/ha) verilerek stigmada bulunan aktif bileşik (pikrokrosin,

safranal ve krosin) oranlarının iyileştiği gözlenmiş ve ayrıca çalışmanın ikinci yılında petalde antioksidan bileşiklerin (toplam fenol ve antosiyanin) özellikle sığır gübresinden etkilendiği bulunmuştur. Çalışmada en yüksek safranal bileşiği, deneyin ilk yılında 10 t/ha sığır gübresi ile muamele edilen bitkilerden elde edilirken, en yüksek antosiyanin ve toplam fenol oranına 5 kg/ha fulvik asit ile ulaşılmıştır (Aminifard ve Ahmadi, 2018).

Brassica oleracea L. bitkisine 2 farklı (15 kg/ha, 150 kg/ha) oranda kükürt gübresi uygulanmasıyla tüm brokoli çeşitlerinde varolan sinapik ve ferulik asit türevlerinden 1,2-diferuloylgentiobiose, 1,2,2'-trisinapoylgentiobiose ve 1,2'-disinapoyl-2-feruloylgentiobiose bileşiklerine ilaveten HPLC'de 1,2-diferuloylgentiobiose, 1-sinapoyl-2,2'-diferuloylgentiobiose ve 1,2,2'-triferuloylgentiobiose bileşikleri bu bitkide ilk kez tanımlanmıştır. Sonuçta bitkide farklı stres durumlarına neden olabilecek zengin kükürt gübrelemesi fenolik içeriği artırmıştır (Vallejo ve diğerleri, 2003). Ayrıca sera koşullarında soğan bitkilerine farklı dozlarda mineral gübrelerin uygulanarak fenolik bileşikler ve flavonoid içerikleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 150 gün sonra tüm gübre uygulanan bitki gruplarında kontrole kıyasla hem fenolik bileşiklerin hem de flavonoid içeriklerinin arttığı tespit edilmiştir (Ortega ve diğerleri, 2015).

Gübreler, içerdiği bileşiklere ve besin salım mekanizmasına bağlı olarak organik, kimyasal ve mikrobiyal olmak üzere 3'e ayrılmaktadır.

2.3.1 Organik gübreler

Organik gübreler bitki besin elementlerinin döngülerini sağlayan değerli, yenilenebilir enerji kaynaklarıdır (Chew ve diğerleri, 2019). Bu gübreler bir tohumun çimlenmesinden sonra bir bitkinin büyümesi için gerekli olan besin elementlerini karşılar. En önemli besin elementleri azot (N), fosfor (P), potasyum (K), magnezyum (Mg), kükürt (S)'tür ki bunlar makroelement kategorisine girerler. Ayrıca bitkilerin düşük miktarlarda da olsa ihtiyaç duyduğu kimyasal maddeler vardır ki bunlar demir (Fe), bakır (Cu), mangan (Mn) ve diğer birçok element mikro elementler (iz element) olarak adlandırılırlar (Maathuis, 2009).

Sağlıklı bir toprak %12-20 oranında organik madde bulundurur. Organik madde; toprağın verimliliğinin devam ettirilmesi ve yetiştirilen bitkinin beslenmesinde ve

gelişmesinde katkı sağlayan her türlü besin elementlerini toprağa kazandıran bitkisel, hayvansal materyallerdir. Organik madde toprakta bakteri, mantar ve diğer organizmalar için bir enerji kaynağı olarak iş görmektedir. Bu organizmalar ölü bitkiler ile hayvanları ve bunların kalıntılarını mineral tuzlara, nitrata, fosfata ve birçok bitkilerin alabileceği inorganik besin formuna dönüştürürler (Dexter ve diğerleri, 2008).

Organik gübreler genellikle hayvan dışkısı, kompost gibi tarımsal atıklardan meydana gelip kimyasal gübrelerle oranla daha yüksek miktarda organik madde içerirler (Olfati ve diğerleri, 2008; Peyvast ve diğerleri, 2007, 2008; Shabani ve diğerleri, 2011). Bazı çalışmalara göre organik gübre uygulaması yapılan toprakların organik madde miktarında artış olduğu gösterilmiştir (Edmeades, 2003; Monaco ve diğerleri, 2008). Ayrıca organik gübre, toprağın su tutma kapasitesini arttırarak nem oranının belirli bir oranda tutulması, mikrobiyolojik faaliyetlerin optimum düzeyde gerçekleştirilerek ayrışmanın arttırılması, tuzluluk ve pH düzenlenmesine katkıda bulunması, toprağın sıkışmasını engellenmesi ve genel anlamda toprağın sürdürülebilirliği yani fiziksel, kimyasal, biyolojik yapısı konusunda yardımcı olmaktadır (Zhang ve diğerleri, 2009; Diacono ve Montemurro, 2011). Organik gübrelerin ilave edilmesiyle birlikte hem toprağın organik madde miktarı arttırılacak hem de yetiştirilen bitkinin ihtiyaç duyduğu besin elementleri karşılanarak oluşabilecek hastalıklarında önüne geçilecek ve böylece de elde edilen ürünün verim ve kalitesi arttırılmış olacaktır. Bu çevre dostu gübreler ile sadece toprağa besin elementleri sağlanmakla kalınmaz aynı zamanda toprakta çözünmeyen bileşikler üzerinde etki yapma gücünde olan maddelerin eklenmesi gerçekleştirilir.

Topraktaki suyun bir kısmı özellikle kil parçacıkları tarafından tutulur ve bu higroskopik su bitkiler tarafından kullanılamaz. Ancak toprak parçacıklarının arasında ki boşlukta bulunan sudan faydalanabilir ve gelişebilirler (Ayberk, 2002). Bu manada organik gübre toprağa humus (organik madde) kazandırarak ağır killi toprakları daha kullanılabilir hale, kumlu ve hafif toprak parçacıklarını bir arada belirli oranlarda birbirine bağlayarak daha strüktürlü ve suyu tutabilecek duruma getirir ki böylece kumlu toprakların kuraklık döneminde suyu muhafaza etme gücü arttırılmış olur.

Bozulabilme potansiyeli olan doğal dengenin önüne geçilebilmesi, toprağın sürdürülebilirliği ve kalitesinin devam ettirilmesi açısından tarımsal faaliyetlerde organik kökenli maddeler kullanılması son derece önemlidir (Bender ve diğerleri,

1998). Ülkemiz topraklarının organik madde miktarı açısından oldukça yetersiz olması ve konvansiyonel tarımda kimyasal gübrelerin bitki beslenmesi adına kontrolsüzce ve aşırı kullanılmasından kaynaklanan toprağa, doğaya ve hayata karşı birçok tehdit barındırması gibi zararları göz önünde bulundurulursa bu olumsuzlukların azaltılması ve doğal dengenin sürdürülebilirliği için, tarımsal uygulamalarda organik girdilerin daha fazla kullanılmasının gerektiği her geçen gün daha da önem kazanmaktadır.

Organik gübrelerin yukarıda sayılan birçok avantajının olmasının yanı sıra kimyasal gübrelere oranla daha az miktarda azot, fosfor ve potasyum içermeleri dezavantajlar arasında yer almaktadır. Bu yüzden bazı araştırmacılara göre, organik gübrelerin kimyasal gübrelerle birlikte kullanımı sonucunda yetiştirilen bitkiden daha fazla ürün verimi desteklenecektir (Palm ve diğerleri, 1997). Bununla birlikte, bazı organik gübrelerin kullanımıyla besinler toprağa yavaş salınım şeklinde aktarılır, bundan dolayı uygulamadan sonraki ilk yılda sadece N ve diğer besinlerin bir kısmı bitkiler için uygun hale gelebilir, ama bu besin maddeleri mahsullerin yeterli besin ihtiyacını karşılamayabilir (Hartl ve diğerleri, 2003). Yine organik gübrelerin toprakta tekrar tekrar uygulanmasının mahsullerde ağır metal birikimine yol açabileceği (Zhao ve diğerleri, 2006; Kumpiene ve diğerleri, 2008), fazla miktarda kullanılmasının tuzluluğa (Hao ve Chang, 2003) ve atmosfere sera gazı (CO₂, CH₄) salınımına neden olabileceği (Iqbal ve diğerleri, 2009) dezavantajları arasında bulunmaktadır.

Organik gübreler; hayvansal gübreler (ahır-tavuk gübresi), yeşil gübre, kompost, torf, humik asit, ticari organik gübre (katı-sıvı) ve vermikompost gibi farklı formülasyonlara sahiptir.

2.3.1.1 Hayvansal gübreler

Ahır, ağıl ve kümeste yaşayan hayvanların katı ve sıvı dışkılarından oluşan, toprak verimliliği ve ürün kalitesi açısından oldukça değerli olan gübre çeşitleridir. Bu gübreler organik yapıda olduğu için mikroorganizmaların besin elementlerini bitkilerin alabileceği forma dönüştürmesi zaman alabilir ve böylelikle uzun süre toprağın mineral içeriği korunmasıyla birlikte kalitesi ve verimide arttırılmış olur. Ayrıca bu tip gübreler, bitkiler için gerekli olan önemli besin element ihtiyaçlarını büyük ölçüde karşılamaktadır (N-Azot: %70-80, P-fosfor: %60-85 ve K-potasyum %80-90) (Herbert, 1998).

Hayvansal gübrelerin tekrarlanan uygulamaları toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini iyileştirmenin yanında yetiştirilen ürünün verim ve kalitesi üzerinde olumlu etkilere sahip olmaktadır (Bacca ve diğerleri, 2020; Comin ve diğerleri, 2013; Lourenzi ve diğerleri, 2016; Gong ve diğerleri, 2009). Hayvansal gübre çeşitleri toprağa doğrudan C eklemenin yanı sıra dolaylı olarak mahsül kalıntı girdisinin arttırılmasıyla topraklarda karbon oranını arttırabilir (Maillard ve diğerleri, 2016). Böylelikle bu ikili etki, toprağa carbon girdisi üzerinde sadece dolaylı etkiye sahip olan mineral gübrelerden daha verimli olabileceğini göstermektedir (Li ve diğerleri, 2020).

Bitkisel ürün yetiştirmede kullanılan hayvan gübrelerinin yaklaşık olarak %65'i sığırlardan, %6'sı koyun ve keçiden, %4'ü ise kümes hayvanları gibi kaynaklardan elde edilmektedir (Lekasi ve diğerleri, 2001). Hayvan gübresinin türü ile ilgili olarak, farklı iklim ve toprak koşullarında yapılan son araştırmalarda, katı hayvan gübresinin, yüksek kuru madde ve C içeriği nedeniyle sıvı gübreye göre toprak karbon oranını arttırmada daha etkili olduğu gösterilmiştir (Romanya ve diğerleri, 2012; Domingo-Olive ve diğerleri, 2016). Ek olarak, katı gübrenin sıvı gübreye oranla daha yüksek nemlendirme katsayısına sahip olması, katı gübrenin toprak karbon oranını arttırmadaki etkisini açıklayabilmektedir (Berti ve diğerleri, 2016).

Çörek otu (*N. sativa*) bitkisi gelişimine sığır gübresi, biyofertilizatörler (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum*, *Bacillus polymyxa*) ve bunların kombinasyonlarının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada bitki boyu 38.54- 54.72 cm, dal sayısı 6.72-11.47 adet, kapsül sayısı 13.35-27.89 adet, bin dane ağırlığı 1.23-1.67 g, tohum verimi 1.89-3.99 g/bitki aralığında değerler elde edilmiştir. Kontrole kıyasla farklı gübreleme işlemlerinin uygulanması sonucunda büyüme karakterleri ve tohum verimi bileşenlerinin arttığı ayrıca, uçucu ve sabit yağ içerikleri ve bunların ana bileşenlerinin de oransal olarak zenginleştiği görülmüştür. Yine uygulanan tüm gübre ve biyofertilizatörlerin, hem bitki hem de tohumlarda toplam klorofil içeriğini, karbonhidrat yüzdelerini ve NPK yüzdelerini arttırdığı belirlenmiştir. Uygulama gruplarında en iyi sonuçların sığır gübresinin 30 m³ ile NFB+PSB biyo gübre karışımının kombine edilmesi sonucunda olduğu belirtilmiştir (Ali ve Hassan, 2014).

2.3.1.2 Yeşil gübre

Yeşil gübre, baklagil olan (yonca, soya fasülyesi, kırmızı üçgül vb.) ve olmayan (çavdar, yulaf, arpa vb.) bazı bitkilerin toprağın organik madde miktarını arttırmak amacıyla yetiştirilip henüz yeşil halde iken toprağın sürülerek bitkilerin toprağa karıştırılmasıyla elde edilir. Baklagil bitkilerinin yeşil gübre amacıyla yetiştirilmesi, hem toprağı hem de bitkiyi özellikle azot (N) ve fosfor (P) açısından zenginleştirir (Kacar ve Katkat, 1999; Shipley ve diğerleri, 1992; Ülger ve diğerleri, 1999). Çünkü yeşil gübreleme sonrasında saprofitlerin devreye girerek ayrışma faaliyetinin başlaması ve böylelikle besin elementlerinin dönüşüm süreçlerinin hızlanması söz konusu olmaktadır. Tüm bu süreçler sonucunda bitkiler tarafından daha fazla besin elementlerinin alındığı ve kullanıldığı ortaya çıkmaktadır (Yılmaz ve Şahin, 2014). Yeşil gübre bitkilerinin yetiştirilmesi ile toprağın daha strüktürlü yapı kazanarak erozyonun oluşması engellenir, daha kolay tava gelmesi sağlanır ve infiltrasyonu artırılarak (Aygün, 2004), toprakta çeşitli fiziksel özellikler iyileştirilmiş olur. Bu gübreleme çeşidinde dikkat edilmesi gereken konulardan bir tanesi farklı kültür bitkilerinin birbiri ardına ekilmesidir ki, böylece toprak farklı besin elementleri ile zenginleştirilebilir (Duman ve Algan, 2012).

2.3.1.3 Kompost

Toprağın humus ve besin elementleriyle beslenmesinde yardımcı olan organik gübrelerden biri de komposttur. Kompost, hem kuru hem de yeşil bitki materyalleri, yemek artıkları (yiyecek ve içecek), mahsul artıkları (yaprak, sap, saman vb.), kağıt-karton, gibi doğal malzemeler üzerine karbon kaynaklı bir materyal örtülerek, nem içeriğinin %45-60 civarında tutulması ile mikrobiyal parçalanmanın sağlanması yoluyla yaklaşık 6-12 ay süre sonunda humus görünümüne sahip stabil bir madde sağlanmasıyla elde edilir. Humus kendisinin altı katı oranında su tutma kapasitesine sahip olduğu için toprakta hem suyun hem de havanın tutulmasına yardımcı olur. Ekilebilir toprakların çoğu, ağırlığının %2-4'ü arasında organik madde içermektedir. Bu miktarın yeterli olmamasına rağmen Türkiye topraklarında bu oran daha da düşüktür. Yapısında organik madde içeriği %15-50, humik asit içeriği %15-45 arasında olup, humusun C/N oranına benzemesinden dolayı toprak organik maddesinin artırılması konusunda kompost kullanımının yaygınlaştırılması oldukça önemlidir. Tarım topraklarına düzenli kompost ilavesi toprak faunasını artırarak

toprak mikrobiyal biyokütlesini ve enzim aktivitesini uyarır. Ayrıca organik madde mineralizasyonunun artmasına, bitkilerin hastalık ve zararlılara karşı direncini de geliştirmeye olanak sağlamaktadır. Kompost, organik tarımda kullanılmasına rağmen ağır metallerin ve organik kirleticilerin birikmesiyle ilgili de bazı riskler barındırmaktadır (Diez ve Krauss 1997; Smidt ve Tintner, 2007; Zethner ve diğerleri, 2000).

2.3.1.4 Torf (Turba toprağı)

Torf, turbalık, bataklık adı verilen doğal alanlara özgü olarak oluşan bir toprak çeşididir. Turbalıklar ise sulu ve bataklık ortamlarında gelişen bitkilerin (ör: *Sphagnum*) artıklarının anaerob şartlarda üst üste birikmesiyle uzun yıllar sonucunda oluşmaktadır. Turbalar atmosfere doğal olarak karbondioksit (CO₂), metan (CH₄), sera gazı ve ayrıca organik malzemenin ayrışmasından kaynaklanan suda çözünmüş organik karbon salınımlarından dolayı evrende en verimli karbon havuzu olarak değerlendirilir. Turbalıklar, organik madde kısmını oluşturan kısmen ayrılmış bitki örtüsünü biriktirme kapasitesindedir ve doğal turbalıklarda yıllık biyokütle üretim miktarı ayrışma oranından daha büyüktür. Torf'un elde edildiği turbalık alanlar sulak arazilerin içinde en yaygın olanıdır ve %50-60 oranında temsil edilmekle birlikte yeryüzünün sadece %3'ünü kaplamaktadır. İklim değişikliği bağlamında turbalıklarda sera gazı emisyonu, son derece önemli bir ekosistem olarak karşımıza çıkmaktadır (Aksoy,1988; Hugron ve diğerleri, 2013; Joosten ve Clarke, 2002).

Torf, su tutma ile havalanma kapasitesi ve organik madde miktarı (en az %30) yüksek, doğal bir maddedir. Ayrıca her türlü bitki yetiştirilmesine uygun bir bünyeye sahiptir. Fakat torf'un fiziksel ve kimyasal özellikleri, içeriğinde bulunan bitkilerin çeşitliliğine ve oluşma koşullarına göre değişiklik göstermektedir (Aksoy,1988). Sazlar, çimler, *Sphagnum* cinsi yosunlar ve diğer yosun türleri, odunsu bitkiler gibi pek çok bitki çeşidi torf oluşumuna katkı sağlamaktadır (Joosten ve Clarke, 2002). Türkiye tarım arazilerindeki organik madde oranını yükseltmek, fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirip elde edilecek ürünün verim ve kalitesini arttırmak için başvurulan yöntemlerden biri de torf kullanımıdır. Ancak tarımsal amaçla kullanılacak olan torfun genellikle asidik karakterli olmasından dolayı toprağın pH'ını düşürmesi için kireç uygulamasını, makro ve mikro besin elementleri açısından da yeterli olmadığı için

gübreleme ile zenginleştirilmesi ve bitkilere hastalık bulaşmaması açısından steril hale getirilmesi gerekmektedir.

2.3.2 Solucan gübresi (Vermikompost)

Solucan yetiştirme bilimi olarak bilinen vermikültür ekolojik dengeyi korumak amacıyla atık azaltma ve gübre üretimi açısından oldukça önemli bir potansiyele sahiptir. Solucanlar biyolojik olarak parçalanabilen herhangi bir maddeyle beslendiklerinden dolayı vermikültür çevre dostu bir üretim şeklidir. Vermikompost, dünyada nüfus artış hızına bağlı olarak evsel ve endüstriyel atıkların artması sonucunda büyük çevre sorunlarının açığa çıkmasıyla beraber ekolojik dengeyi korumak adına 1970’li yıllarda sürdürülebilir bir yöntem olarak karşımıza çıkmıştır (Erşahin, 2007).

Solucan gübresi (vermikompost), toprağa atılan bitki artıklarının (sebze ve meyve artıkları, ağaç kabukları vb.), hayvansal artık maddeler veya organik artıkların solucanlar tarafından tüketilip sindirim sistemlerinden geçirilerek oluşan, humus ve toprak verimliliği açısından değerli bir organik gübredir (Edwards ve Bohlen, 1996; Demir ve diğerleri, 2010). Solucanlar özellikle toprakta kanallar açarak toprağın sıkışmasını önleyerek havalanmasını sağlarlar. Ayrıca oluşturdıkları vermikestin (solucan dışkısı-kest) içeriğinde bulunan bitki besin elementlerinin suda çözünebilme hızının, tükettikleri besinlerin çözünebilme hızından daha yüksek olması bitkinin beslenmesi açısından daha faydalı olacağını göstermektedir (Buchanan ve diğerleri, 1988). Vermikompost yüksek organik madde içermesi nedeniyle hem makro ve mikro besinler açısından toprağın besin durumunu iyileştirerek bitkilerin besin emilimini destekler hem de toprağın su tutma kapasitesini artırır. Aynı zamanda yapısında bulunan azotobakter ve simbiyotik bakterilerin azot fiksasyonunu gerçekleştirmesiyle bitkilerin direncinin artırılmasına katkı sağlar (Demir ve diğerleri, 2010). Ürün verimliliğini arttırmak için yapılan kimyasal gübrelemeye alternatif vermikompostun uygulanması, istenilen ürünün verim ve kalitesinde belirli bir standarda ulaşması, tarımda sürdürülebilirlik, toprak, bitki ve çevre üzerinde olumsuz bir etkisinin olmaması yönüyle iyi bir seçenek olarak değerlendirilmektedir (Erşahin, 2007).

2.3.3 Kimyasal gübreler

Kimyasal gübreler toprakta eksik olan inorganik maddeleri bitki beslenmesi açısından desteklemek amacı ile ilave edilen yarı veya tam sentetik materyallerdir. Sanayi devriminin ardından artan nüfusun gıda taleplerini karşılamak, birim alan başına verim artışının sağlanabilmesi için tarımda sentetik gübre kullanımını arttırmıştır. 1930'lu yıllardan itibaren kısa vadede elde edilen ürün miktarını arttırmak amacıyla çiftçiler tarafından kullanılan sentetik gübrelerin kullanımı dünyanın birçok farklı bölgesinde besin yetersizliğinden kaynaklanan ölümün kontrol altına alınmasını sağlamıştır. Bitkilerin besin elementi ihtiyacına bağlı olarak (makroelementler) kimyasal gübrelerin genellikle azotlu, fosforlu, potasyumlu ve kompoze olmak üzere farklı içeriklere sahip çeşitleri bulunmaktadır. Sentetik gübreler genellikle sadece bitki büyümesi üzerine etkili olup, toprak verimliliği açısından değerlendirilmez. Çünkü pek çok kimyasal gübrenin yapısında bulunan sülfirik ve hidroklorik asit toprağın pH'ını düşürerek faydalı mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerini azaltıcı yönde etki yaparak organik-inorganik madde döngüsü engellenmektedir. Yine asit oluşumuna neden olan azotlu gübrelerin sürekli kullanımı, toprak pH'ında bir azalmaya ve beraberinde özellikle tarla bitkilerinin verimliliğinin düşmesine sebep olmaktadır. Kimyasal gübrelerin bazıları ağır metal içermelerinden dolayı fazla kullanıldığında toprakta ve bitkide inorganik kirleticilerin birikimi, su kaynaklarının kirlenmesi, ürün ve toprak kalitesinin bozulması, toprak organik maddesinin azalması, sera gazlarının serbest bırakılması ve bununla birlikte atmosfer kirliliğine neden olması gibi pek çok çevresel soruna yol açmaktadır (Savci, 2012). Örneğin toprağa uygulanan azotlu gübrenin %50'si bitkiler tarafından kullanılırken %2-20'si buharlaşmayla atmosfere verilir, %15-25'si topraktaki organik bileşiklerle reaksiyona girer ve geri kalan %2-10'u yüzey ve yeraltı sularına karışır (Sönmez ve diğerleri, 2008; Korkmaz, 2007). Suda çözünebilir olmasından dolayı yıllarca yeraltı sularında kalabilir ve oranı yıllar içinde kullanılan azotlu gübre miktarına paralel şekilde kümülatif olarak değişir (Zaman, 2019). İçme sularında yüksek konsantrasyonlarda (50 mg/L NO₃ ve fazlası) nitrat bulunması insan ve hayvan sağlığı açısından pek çok toksik sorunlara neden olmaktadır (WHO, 2011). Yine fosfor suda çözünemez ve fosforlu sentetik gübrelerin aşırı kullanımına bağlı olarak toprak sertleşmesi ile birlikte uzun vadede toprak verimsizliği meydana gelmektedir (Zaman, 2019).

Kimyasal gübreler bitkilerin daha hızlı büyümesine yardımcı olsa da yetiştirilen bitkiler; iyi bir kök büyümesi, güçlü saplar, besleyici meyve ve sebzeler geliştirip olgunlaşmak için yeterli zamana sahip olmadığından zararlılarla mücadele aşamasında yeterince güçlü olamayacaktır. Ayrıca azot tuzları toprak tarafından çok hızlı bir şekilde emildiğinde, bitkiyi dehidre ederek kurumasına ve topraktaki mikrobiyal aktivitenin azalmasına neden olmaktadır. Dünya çapında tarımda inorganik gübrenin yoğun kullanımı kısa vadede birim alandan alınacak ürün miktarı ve verimdeki artışı sağlamasına rağmen uzun vadede hem toprağın yapısına zarar vermekte (toprak strüktürünü bozarak su tutma kapasitesini azaltmak) hem de ekolojik dengenin bozulmasına yol açmaktadır (Chandini, 2019). Bu gübre çeşidinin pekçok bitkinin fitokimyasalların sentezine olan etkinliği araştırılmış ve karşılaştırmalı sonuçlar elde edilmiştir.

Azot (N) gübrelemesinin, ceviz çekirdeklerindeki lipid ve fenolik bileşik içeriği üzerindeki etkisini art arda üç büyüme yılı boyunca incelendiği bir çalışmada mevcut ana doymamış yağ asidi olan linoleik asit içeriğini kontrole kıyasla arttırdığı belirlenmiştir. Fakat bu gübre uygulamasının oleik asit ve linolenik asit içeriğini azalttığı tespit edilmiş, benzer bir şekilde fenolik bileşiklerin oranında da azalmaya neden olduğu ve böylece N gübrelemesinin fenolik bileşik sentez mekanizması üzerine olumsuz bir etkisinin olduğu belirtilmiştir. (Verardo ve diğerleri, 2013).

Uçucu yağlar, büyük bir geleneğe sahip olan ve tedavide hala geniş bir uygulama alanı olan çok sayıdaki tıbbi hammadde grubudur. Yetiştirme yöntemi, gübreleme, sulama, bitki materyalinin hasat tarihi gibi faktörler uçucu yağın hem içeriğini hem de bileşimini önemli ölçüde değiştirebilir (Nurzyńska-Wierdak, 2013). Örneğin organik ya da inorganik gübreler tıbbi ve aromatik bitkilerde uçucu yağ içeriğini ve verimi değiştiren önemli bir faktördür. *Melissa officinalis* L.söz konusu olduğunda, yavaş salınan üre gübreleri ile beslenen bitkilerde uçucu yağ verimi diğerlerine kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğu (Aziz ve El-Ashry, 2009), kompostun *Ocimum basilicum* L.'deki uçucu yağ bileşimini, inorganik gübrelemeye (amonyum nitrat) benzer şekilde etkilediği, fesleğen yetiştiriciliğinde kompost uygulamasının sadece uçucu yağ içeriğinde bir artışa katkıda bulunmakla kalmadığı, aynı zamanda metil chavicol ve 1,8-sineol içeriğinde eş zamanlı bir azalma ile yağdaki linalol ve borneol konsantrasyonunu da artırdığı, potasyum uygulanmasında ise fesleğen yağındaki 1.8-sineol, linalol, eugenol ve γ -cadinene yüzdesinde bir artışa katkı sağladığı

belirlenmiştir (Kandil ve diğerleri, 2009; Taie ve Radwan, 2010; Nurzyńska-Wierdak ve Borowski, 2011). Yine yapraktan azot uygulaması kekikteki (*Thymus vulgaris* L.) uçucu yağ içeriğini arttırmış ve kimyasal bileşimini de etkilemiştir (Jabbari ve diğerleri, 2011). *Foeniculum vulgare* Mill. uçucu yağındaki en yüksek anethole miktarı, yarım oranda NPK uygulanmasında ve fosfor alımını artıran *Bacillus megaterium* mikroorganizmaları ile aşılama durumunda tespit edilmiştir (Mahfouz ve Sharaf-Eldin, 2007). *Rosa damascena* Mill. bitkisinde potasyumun 30 kg/ha oranında uygulanması, uçucu yağ konsantrasyon artışına katkıda bulunmuştur (Daneshkhah ve diğerleri, 2007). Papatya yetiştiriciliğinde NPK uygulanması, kontrole göre uçucu yağ içeriği ve veriminde olduğu gibi, yağdaki germacrene D ve α -bisabolol konsantrasyonunda bir artışa (Hendawy ve Khalid 2011), yine kimyon yetiştiriciliğinde uygulanan potasyum, karvon üretiminin artmasını desteklemiştir (Valkovszki ve Nemeth-Zambori, 2011). *Artemisia pallens* Wall. bitkisine azot, fosfor ve biyo gübrelerin artan oranlarda uygulamasıyla uçucu yağdaki linalool içeriğinin önemli ölçüde farklılaşmadığı görülmüş (Kumar ve diğerleri, 2009), rezene uçucu yağının bileşimi ve veriminin de uygulanan azot ile oranının değişmediği gözlemlenmiştir (Chatzopoulou ve diğerleri, 2006). Yukarıda yapılan çalışmalar arasındaki farklılıkların, sekonder metabolitlerin biyosentezinin genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklanabileceğini açıklamaktadır.

2.4 Nigella türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

2.4.1 Sitotoksikite ve antikanserojen etkisi

Kanser, vücudun diğer bölgelerine yayılma veya istila etme potansiyeli olan anormal hücre büyümesini içeren bir hastalık çeşididir. Normal hücreler, belirli işlevlere sahip çok farklı hücre tiplerine dönüşüp olgunlaşırken, kanser hücreleri olgunlaşmaz. Bu da, normal hücrelerin aksine, kanser hücrelerinin durmadan bölünmeye devam etmelerinin bir nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Ek olarak, kanser hücreleri normalde hücrelere bölünmeyi durdurmalarını söyleyen veya vücudun gereksiz hücrelerden kurtulmak için kullandığı programlanmış hücre ölümü veya apoptoz olarak bilinen bir süreci başlatan sinyalleri de görmezden gelebilmektedir.

2015 yılında yaklaşık 90,5 milyon insana kanser tanısı konmuştur ve 2019 itibarıyla yılda yaklaşık 18 milyon yeni vaka ortaya çıkmaktadır (Vos ve diğerleri, 2016; Faro,

2016). Ayrıca yılda yaklaşık 8.8 milyon ölüme (ölümlerin %15.7'si) neden olmaktadır. Erkeklerde en sık görülen kanser türleri akciğer kanseri, prostat kanseri, kolorektal kanser ve mide kanseri iken, kadınlarda meme kanseri, kolorektal kanser, akciğer kanseri ve rahim ağzı kanseridir (Bernard, 2014).

Kanserlerin yaklaşık %90-95'i çevresel ve yaşam tarzı faktörlerinden [tütün kullanımı (%25-30), diyet ve obezite (%30-35), enfeksiyonlar (%15-20), radyasyon (%10) , fiziksel aktivite eksikliği, kirlilik vb.] kaynaklanan genetik mutasyonlardan, kalan %5-10'u ise kalıtsal olarak meydana gelmektedir (İslami ve diğerleri, 2018). Kanser için birçok ameliyat, kemoterapi, radyasyon tedavisi, hormon tedavisi, immünoterapi, hedefe yönelik tedavi gibi birçok tedavi seçeneği mevcuttur. Bunlara ek olarak yüzyıllardır kanser dahil birçok hastalığın tedavisine yönelik tamamlayıcı alternatif tıp uygulamaları (fitoterapi, vitaminler, mineraller, antioksidanlar, sekonder metabolitler, vb.) gerçekleştirilmektedir (Tascilar ve diğerleri, 2006). Hangi tedavi ya da tedavilerin kullanılacağı kanserin türü, yeri ve derecesi ile hastanın tercihlerine bağlı olarak değişmektedir.

Kansere dair etkili tanı araçlarının ve terapötik eksikliklerinin ana nedenlerinden biri, kanserin başlaması ve ilerlemesi konusundaki sınırlı bilgi kaynağıdır. Kanser patobiyolojisi çalışmasındaki gelişmeler, bu hastalığın biyolojisini deşifre etmek için farklı deneysel model sistemleri ile ilişkilidir (Van Staveren ve diğerleri, 2009). Bu yüzden kanser hücre hattı modelleri, biyomedikal araştırmalar açısından oldukça önemli olup, insan kanser araştırmalarında kritik gen keşif araçları olarak değerlendirilirler. Kanser çalışmalarında deneysel model olarak kullanılan farklı hücre hatları sayesinde genetik manipülasyon ve moleküler karakterizasyon çalışmaları daha kolay ve düşük maliyetli bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Bu hücre hatları, kanserde sinyal yollarını ortaya çıkarmak, ilaç ve tedavileri test etmek ve geliştirmek için kullanılmaktadır ve böylelikle araştırmacılara karsinogenez hakkında bilgi sağlayabilmektedir (Ferreira ve diğerleri, 2013).

2.4.1.1 MCF-7

MCF-7, 1970 yılında 69 yaşındaki bir kadından izole edilmiş östrojen, progesteron ve glukokortikoid reseptörleri olan bir meme kanseri hücre hattıdır (Camarillo ve diğerleri, 2014).

2.4.1.2 MIA PaCa-2

1977'de 65 yaşındaki bir erkeğin karsinomundan türetilen MIA PaCa-2, pankreas kanseri araştırma ve tedavi geliştirmede yaygın olarak kullanılan bir insan pankreas kanseri hücre hattı olup, tüm pankreas tümörlerinin yaklaşık %90'ını temsil eden bir adenokarsinomdur (Gradiz ve diğerleri, 2012).

2.4.1.3 HEK-293

HEK 293, 1973 yılında kesilmiş adenovirüs 5 DNA'sı ile normal insan embriyonik böbrek hücre kültürlerinin transfeksiyonu sonucunda üretilen epitel morfolojisine sahip bir hücre hattıdır (Yirrell ve diğerleri, 1983).

Yapılan pek çok araştırmada bazı *Nigella* türlerinden elde edilen ekstraktların farklı kanser hücre hatlarında (in vitro) sitotoksik etkilere sahip olduğu belirlenmiştir.

N. sativa tohumlarından polar (alkol) ve apolar (petrol eteri) çözücülerle hazırlanan ekstraktlardan açığa çıkan tohum ekstraktı (NSE) ve tohum sabit yağının (NSY) antikanser aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada insan akciğer kanseri hücre hattına (A-549) karşı NSE ve NSY ile 24 saat maruz bırakılan hücrelerde, NSE uygulamasında hücre canlılığı yüzdesi, MTT testi ile 0.25, 0.5 ve 1 mg/mL dozlarında sırasıyla %75, %50 ve %26 ve NRU testiyle ise 0.25, 0.5 ve 1 mg/mL dozlarında ise % 73, %48 ve % 23 olarak kaydedilmiştir. Ayrıca çalışmada A-549 hücre hattının 24 saat boyunca 0.1 mg/mL ve üzerindeki NSY konsantrasyonlarına maruz kalmasının da sitotoksik olduğu bulunmuştur. Sonuçta *N. sativa* tohum özütünün (NSE) ve tohum yağının (NSY), insan akciğer kanseri hücre hattının (A-549) hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığı ve hücre morfolojisini konsantrasyona bağlı bir şekilde değiştirdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte elde edilen veriler A-549 hücrelerinin NSY'ya karşı NSE'den daha duyarlı olduğunu ve sitotoksitenin daha düşük NSY konsantrasyonların da bile olduğunu ortaya çıkarmıştır (Al-Sheddi ve diğerleri, 2014).

N. sativa tohum uçucu yağında 4 farklı farmakolojik etkiye sahip önemli bileşen [timokinon (TQ), ditimokinon (DTQ), timohidrokinon (THQ), ve timol (THY)], HPLC'de tespit edilmiştir (Ghosheh ve diğerleri, 1999). Bu bileşenlerden özellikle timokinon (TQ) bileşiğinin antioksidan (Badary ve diğerleri, 2001), antikarsinojen ve antimutajenik ajan (Bourgou ve diğerleri, 2008; Khader ve diğerleri, 2010) gibi pek

çok özelliği bulunmaktadır. Örneğin, El-Mahdy ve diğerleri (2005) çalışmalarında TQ'nun insan miyeloblastik lösemi HL-60 hücrelerinde anti-proliferatif etki sergilediğini bildirmiş, ayrıca yapılan bir başka çalışmada *N. sativa*'nın su ve alkol ekstraktlarının, in vitro olarak MCF-7 meme kanseri hücrelerinin inaktive edilmesinde etkili olduğu bulunmuş (Farah ve Begum, 2003) ve timokinon (TQ) bileşiğinin melatonin ve retinoik asit ile kombinasyon halinde, sıçanların meme kanserinde DMBA'nın (7,12-di metilbenz (a) antrasen) kanserojen etkilerini azalttığı gözlemlenmiştir (El-Aziz ve diğerleri, 2005).

Tunus kökenli *N. sativa* uçucu yağının antikanser aktivitesi, insan akciğer karsinomu (A-549) ve kolon adenokarsinoma (DLD-1) hücre hatlarına karşı değerlendirilmiş ve bu yağın sırasıyla 43.0 ve 46.0 µg/mL IC50 değerleri ile A-549 ve DLD-1'e karşı aktif olduğu belirlenmiştir. Ayrıca yağda GC-MS ile tespit edilen ana bileşiklerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde, timokinonun A-549 hücre hattında 5.9 µM (1.0 µg/mL), DLD-1 hücre hattında ise 13.0 µM (2.1 µg/mL) IC50 değerleri ile tümör büyümesini inhibe eden en aktif bileşik olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte, ana uçucu bileşenlerin biyoaktivitelerine ilişkin sonuçlarda, bazı terpenlerin doğrudan antioksidan (timokinon), anti-inflamatuar (karvakrol, p-simen, β-pinen, γ-terpinen ve longifolen), antikanser ve antibakteriyel (longifolene) özelliklere sahip olduğu potansiyeli kanıtlanmıştır (Bourgou ve diğerleri, 2010).

Islam ve diğerleri (2004)'nin, Bangladeş kökenli *N. sativa* tohum uçucu yağının SCL, SCL-6, NUGC-4 kanser hücre ve 3T6 fibroblast hatlarına karşı sitotoksik özelliğini test ettikleri araştırmanın sonucunda, 120-384 µg/mL arasında olan IC50 değerleri belirlenmiş ve bu uçucu yağın potansiyel bir immünosupresif sitotoksik ajan olduğunu kabul etmişlerdir.

Gali-Muhtasib ve diğerleri (2004), TQ'nun anti-neoplastik ve kolon kanseri hücre hattı HCT116'ya karşı pro-apoptotik olduğunu öne sürmüşler, Salim ve Fukushima (2003) ise, *N. Sativa* tohumlarından elde edilen uçucu yağın, başlama sonrası aşamada sıçanların kolon karsinogenezini belirgin bir yan etki olmaksızın inhibe etme kabiliyetine sahip olduğunu göstermişlerdir.

Chehl ve diğerleri (2009), *N. sativa* yağı özütünün ana bileşeni olan TQ'nun PDA (pankreatik duktal adenokarsinom) hücrelerinde apoptozu indüklediğini ve proliferasyonu inhibe ettiğini göstermişler; antiinflamatuar ve proapoptotik etki

tarzlarını birleştiren umut verici bir strateji sağlayan yeni bir proinflatuar yolların inhibitörü olarak TQ'u önermişlerdir.

Thabrew ve diğerleri (2005), *N. sativa* tohumundan dekoksasyon yöntemi ile elde ettikleri özütün insan hepatom HepG2 hücre hattı üzerinde sitotoksik aktivitesini değerlendirmiş ve *N. sativa* ekstraktının farklı konsantrasyonları (0-50 mg/mL) ile 24 saatlik bir inkübasyondan sonra HepG2 hücre hatlarında %88 inhibitör etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca Nagi ve Almakki (2009), TQ'nun oral uygulamasının kinon redüktaz ve glutatyon transferaz aktivitelerini artırmada etkili olduğunu ve TQ'u hepatik kanserde kimyasal karsinogenez ve toksisiteye karşı umut verici bir profilaktik ajan haline getirdiğini bildirmişlerdir.

Huat ve Swamy (2003), *N. sativa* tohumlarının etanol ekstraktının biyoanalizinde in vitro olarak çeşitli kanser hücre dizilerine karşı sitotoksisiteye sahip olan α -hederin'i belirlemişlerdir. α -hederin'in BDF1 farelerinde LL/2 (Lewis Lung karsinom)'ye karşı antitümör aktivitesinin olduğunu, ayrıca α -hederin'in in vivo P388 lösemi hücrelerinde apoptozu indükleyebildiğini (normal hücrelere karşı toksisite olmadan) ve olumlu bir terapötik indekse sahip olduğunu göstererek, elde edilen bulgular doğrultusunda α -hederin'in umut verici bir antitümör ajan olduğunu ifade etmişlerdir. Yine *N. sativa* farklı tohum ekstraktlarının (uçucu yağ, etilasetat ve bütanol ekstraktları) P815, Vero ve BSR hücre hatlarında in vitro olarak anti-kanser etkisinin araştırıldığı bir çalışmada P815 hücre hattına karşı uçucu yağ ve etil asetat özütlerinin, bütanol özütünden daha sitotoksik olduğunu [sırasıyla IC₅₀ = %0.6, 0.75 ve 2 v/v] belirlemişlerdir. Vero hücre hattında da buna benzer sonuçlar elde edildiği ancak, BSR hücre hattı üzerinde yapılan testlerde, etil asetat ekstraktının (IC₅₀ = %0.2) uçucu yağa (IC₅₀ = %1.2) kıyasla yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır ki bu veriler, her bir ekstraktın sitotoksitesinin tümörün hücre tipine bağlı olduğunu açıkça göstermiştir. Aynı çalışmada in vivo olarak, DBA2/P815 (H2d) fare modelinde uçucu yağın tümör bölgesine enjeksiyonunun katı tümör gelişimini önemli ölçüde engellediğini açıkça gösterilmiştir. Tedavinin 30. gününde, kontrol hayvanlarının tümör hacmi 2.5 ± 0.6 cm³ iken, uçucu yağ ile tedavi edilen hayvanların tümör hacimleri, 0.22 ± 0.1 (48 saatte 6 kez 30 μ L enjekte edildiğinde) ve 0.16 ± 0.1 (48 saatte 6 kez 50 μ L enjekte edildiğinde) cm³ olarak kaydedilmiş ve uçucu yağın, tümör hacmini azaltmada, karaciğer metastazının gelişimini önlemede ve P815 tümör taşıyan farelerin ölüm

oranını geciktirmede çok yüksek bir etkinliğinin olduğu bildirilmiştir (Ait Mbarek ve diğerleri, 2007).

Mabrouk ve diğerlerinin (2002), beslenmenin bal ve *N. sativa* tohumları ile desteklenmesinin MNU (metilnitrosourea) kaynaklı oksidatif stres, inflamatuvar yanıt ve akciğer, deri ve kolonda karsinogenez'e karşı koruyucu bir etkiye sahip olacağını bildirmiş olmalarına rağmen; Rooney ve Ryan (2005), *N. sativa*'nın iki temel biyoaktif bileşeni olan α -hederin ve timokinin'in A549 (akciğer karsinomu), HEP-2 (larinks epidermoid karsinom), MIA PaCa-2 (pankreas karsinomu) hücreslerinde ne sitotoksiteyi ne de apoptozu artırmadığını bildirmişlerdir.

Yacine ve diğerleri (2013) tarafından, akut ve subkronik toksisite için *N. damascena* tohumlarından elde edilen metanol ekstresi (NME) 42 yetişkin erkek İsviçre albino fareleri üzerinde denenmiştir. Çalışmada akut ve subkronik oral toksisitede herhangi bir toksik belirti veya belirgin semptomun gerçekleşmediği, ayrıca herhangi bir letaliteye, kayda değer histopatolojik belirtiye veya kanda kimyasal bir değişikliğe neden olmadığı gösterilmiştir. Böylelikle bu çalışma ile yetişkin erkek İsviçre albino fareler üzerinde belirgin bir toksisitesi bulunmayan NME'nin olası yan etkilerin azaltılmasıyla *N. damascena*'nın terapötik özellikleri açısından alternatif çalışmalara yn verilmiştir.

N. damascena tohum uçucu yağının ana bileşiği olan β -elemene ile yapılan pek çok çalışmada farmakolojik etkilerin bulunduğu gösterilmiştir. Mesela *Curcuma zedoaria* Rosc. (beyaz zerdeçal) rizomundan elde edilen β -elemen'in, THP-1 hücresine karşı doza ve zamana bağlı bir şekilde sitotoksite özelliğinin belirlenmesinin amaçlandığı bir çalışmada, THP-1 hücresinin IC₅₀ değerlerinin 24, 48, 72 ve 96 saatte sırasıyla 64.71, 42.19, 25.29 ve 20.21 μ g/mL olduğu ve lösemi için potansiyel bir terapötik ajan olabileceği belirtilmiştir (Jiangve diğerleri,2019).

in bitkisi olan *Rhizoma zedoariae*'dan izole edilen β -elemene'nin sisplatin ile kombinasyonunun gingival skuamöz hücreli karsinom YD-38 hücre hattına uygulandığı bir çalışmada, proliferatif inhibisyonu ve sisplatin kaynaklı apoptozu önemli ölçüde artırdığı görülmüştür (Huang ve Yu, 2017). Yine *Curcuma zedoaria*'dan izole edilen antikanser içerik maddesi olan β -elemene, kanser hücresi apoptozunu, hücre döngüsü durmasını indkleyebilmekte, ayrıca karaciğer ve böbreğe zararı olmaksızın radyoterapi ve kemoterapinin duyarlılığını artırabilmektedir (Zhang ve

diğerleri, 2013; Mu ve diğerleri, 2016; Liu ve diğerleri, 2015). Dahası, β -elemene hem melanom metastazı üzerinde in vitro ve in vivo olarak önemli inhibisyon göstermiş hem de klinik verilerin meta-analizine dayalı olarak metastazlı hastalar üzerindeki kemoterapötik etkiyi arttırdığı tespit edilmiştir (Cao ve diğerleri, 2016; Chen ve diğerleri, 2011).

Balavandi ve diğerlerinin (2020) radyoterapi ile birlikte β -elemene'in A375 hücre hattının (insan melanomu) üzerindeki terapötik etkilerinin araştırıldığı çalışmada, MTT testi sonuçlarına göre β -elemene bileşiğinin radyasyona maruz kalan hücrelerde doza ve zamana bağlı olarak hücre proliferasyonunu azalttığı belirlenmiştir. Flow sitometri analizinde ise, 40 μ g/mL β -elemene maruz kalan bir grupta hücre canlılığı % 80 iken, 2 Gy'lik bir dozda 6 MV X ışını ile kombinasyon tedavisinde hücre canlılığının %61'e düştüğü gözlemlenmiştir. Böylelikle A375 hücre hattında apoptozun arttığı ve hücre canlılığının azaldığı belirlenen bu çalışmada, β -elemene'in melanom hücrelerinin tedavisindeki etkinliğini ve bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu gösterilmiştir.

2.4.2 Antimikrobiyal etkisi

Nigella türlerinden elde edilen farklı ekstraktların pekçok mikroorganizma üzerinde ki etkinliği araştırılarak olası antimikrobiyal etkinlikleri tespit edilmiştir.

N.sativa tohum ekstraktlarının antibakteriyel etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada etanol ekstrakt aktivitesinin, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Bacillus cereus*'a (MIC değeri 0.25 mg/mL) karşı metanol ekstraktından daha iyi olduğunu, metanol ekstraktının ise *Listeria monocytogenes*'e karşı daha aktif olduğu bulunmuştur (Naeemve diğerleri, 2018). Yine Alsulami ve Gull (2018) çalışmalarında *N.sativa* tohumlarından elde edilen metanol ekstresinin kullanıldığı disk difüzyon testinde *Corynebacterium*, *Staphylococcus aureus* ve *S. viridians*'a karşı siprofloksasin antibiyotiğinden daha güçlü bir bakterisidal aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Mikroorganizmalarda görülen antibiyotik direnci önemli bir sorun haline geldiğinden, *N. sativa* tohumları da direnç suşlarına karşı test edilmiştir ve *N. sativa* tohumlarının metanol ekstresi, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarına karşı 0.39-1.5 mg / mL ($p < 0,001$) aralığında MIC değeri göstermiştir. Daha sonra, bu araştırmada, sefoksitin ile *N. sativa* metanolik özütü birleştirilip sinerjik bir etkinin oluşması

sağlanarak bu kombinasyonun yalnızca sefoksitin kullanımından 64 kat daha düşük dozda (0.312 µg/mL) MRSA suşlarını inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Böylece bu sinerjizmin geliştirilmesi, antibiyotik direnç sürecini azaltmak için seftoksitin aktivitesini arttırmanın önemli bir yolu olabileceği sonucuna varılmıştır (Uzair ve diğerleri, 2017). Yine benzer bir çalışmada *N. sativa* esansiyel yağının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı sırasıyla 12.0 ve 62.0 µg/mL IC50 değerleri ile antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Bourgou ve diğerleri, 2010).

Fico ve diğerleri (2014), *N. damascena* tohumlarından elde edilen uçucu yağın *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus* (Gram +)'a karşı 6 mm'den büyük bir inhibisyon zonu oluşturarak antibakteriyel etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı antibakteriyel aktivite sadece *Pseudomonas aeruginosa* (MIC-2.25 mg/mL) ve *Staphylococcus aureus*'a (MIC-1.125 mg/mL) karşı etki gösteren bütanol ekstresi için tespit edilmiştir.

Sieniawska ve diğerleri (2018), *N.damascena* tohum esansiyel yağının ana bileşiği olan β-elemene'i yüksek performanslı karşı akım kromatografisi (HPLC) ile izole ederek Gram (+) ve Gram (-) bakteriler, mantarlar ve mikobakteriyel suşlar (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra, *Candida albicans* ve *Candida parapsilosis*) üzerine antimikrobiyal etkinliğini araştırmış ve sonuçta *N. damascena* uçucu yağının ve izole edilmiş β-elemene'in sadece *Mycobacterium tuberculosis* suşu (H37R)'na karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

2.4.3 In vitro ve In vivo antioksidan etkisi

Nigella türleri üzerinde in vitro ve in vivo yapılan araştırmaların çoğu bu bitkinin antioksidan etkilere sahip olduğunu göstermiştir.

N. sativa türünün sürgün, kök ve tohum kısımlarının farklı çözücülerle(metanol, hekzan ve su) oluşturulan ekstraktların in vitro ve ex vivo olarak antioksidan özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, her bir ekstraktın önemli antioksidan aktivite sergilediği, özellikle sürgün ekstresinin en fazla aktiviteye sonra sırasıyla köklerin, tohum su fraksiyonu ve tohum hekzan özütünün sahip olduğu bulunmuş olup, tohum metanol özütünün aktivitesi (4.07 ± 0.50 µmol trolox/mg) hekzan fraksiyonundan

(0.23 ± 0.05 $\mu\text{mol trolox/mg}$) sekiz kat daha güçlü olduğunu belirlemişlerdir. Böylece bu bitkinin hem doğal antioksidan kaynağı olarak hem de serbest radikal aracılı organoleptik bozulmayla savaşmak için olası bir gıda takviyesi olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Bourgou ve diğerleri, 2012).

İtalya'nın Marche bölgesinde üretilen bir *N. sativa* çeşidinin tohumlarının taze ekstrakte edilmiş (FEO), ve ekstrakte edildikten sonra uygun şartlarda depolanmış yağın (SEO) antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinin değerlendirildiği ve timokinon içeriği ile biyolojik aktivitesinin belirlendiği çalışmada FEO'nun SEO'dan %33 daha fazla timokinon içerdiği belirlenmesine rağmen, SEO'nun FEO'dan önemli ölçüde daha yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Bu da antioksidan kapasitenin tam olarak timokinon içeriğine değil, aynı zamanda yağın diğer antioksidan bileşenlerine de bağlı olduğunu açıklamaktadır. Ayrıca bu çalışmada Marche bölgesi çeşidinden elde edilen *N. sativa* yağındaki timokinon içeriğinin, Orta Doğu ve diğer Akdeniz bölgelerinde üretilen *N. sativa* yağlarına kıyasla daha yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir (Bordoni ve diğerleri, 2019).

N. sativa esansiyal yağının antioksidan aktivitesinin in vitro olarak araştırıldığı başka bir çalışmada bu yağın, DPPH testinde antioksidan aktivite gösterdiği ve hem non-enzimatik lipid peroksidasyonu testinde hem de deoksiriboz degradasyon testinde OH⁻ radikal süpürücü özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. *N. sativa*'nın radikal temizleme aktivitesini gösteren bu çalışmanın sonuçları, çeşitli iltihaplı hastalıkların tedavisi için çörek otu tohumlarının kullanımının oldukça faydalı olacağını ifade etmektedir (Burits ve Bucar, 2000). Ayrıca Tunus *N. sativa* tohumlarının hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağının, toplam hücrel reaktif oksijen türlerinde (ROS) bir indikatör olarak kullanılan DCFH-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate) 1.0 $\mu\text{g/mL}$ IC50 değeri gözlemlenerek DCFH-DA oksidasyonunu inhibe ettiği ve LPS ile uyarılan RAW 264.7 hücrelerinde 6.3 $\mu\text{g/mL}$ 'lik bir IC50 değeri ile nitrik oksit (NO) üretimini inhibe ettiği, böylece bu uçucu yağın hem güçlü ex vivo antioksidan aktiviteye hem de yüksek anti-inflamatuvar aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Böylece *N. sativa* uçucu yağının, ROS bozukluklarını önlemek, aşırı nitrik oksit üretimi ile bağlantılı kronik inflamatuvar patolojileri tedavi etmek amacıyla kullanımının terapötik açıdan için faydalı olabileceği belirtilmiştir (Bourgou ve diğerleri, 2010).

2008 yılında Erkan ve diğerleri, yapmış oldukları çalışmada *Rosmarinus officinalis* L. ekstraktı, *Nigella sativa* esansiyel yağı, karnozik asit, rosmarinik asit ve sesamolün DPPH ve ABTS+ radikal temizleme deneyleri ve FTC (demir tiyosiyanat) testi uygulayarak antioksidant aktivitelerini incelemişlerdir. Elde edilen bitki ekstraktlarının HPLC analizinde biberiyenin yaklaşık %6 karnozik asit ve %8 rosmarinik asit içerdiğini, çörek otu tohum uçucu yağının yaklaşık %12 timokinon içerdiğini, toplam fenolik içeriklerinin ise sırasıyla 162 ve 28.2 mg gallik asit ekivalanı/g (GAE/g) olduğu bulunmuştur. Çalışmanın her üç test yönteminde de biberiye özütünün çörek otu uçucu yağından daha yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu kanıtlanmıştır. Ayrıca üç saf antioksidant bileşiğin (rosmarinik asit, karnozik asit ve sesamol) antioksidant aktivite sırası DPPH testinde rosmarinik asit <sesamol <karnozik asit, ABTS + testinde sesamol <rosmarinik asit <karnozik asit ve FTC testinde rosmarinik asit <karnozik asit <sesamol olarak belirlenmiştir.

Abedi ve diğerleri (2017), *Nigella sativa* L. tohumlarından mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) ve hidrodistilasyon (HD) yöntemiyle elde edilen uçucu yağın antioksidan aktivitesini 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve Ferrik indirgeyici (FRAP) testleri kullanılarak inceleyip, α -tokoferol ve askorbik asit gibi geleneksel antioksidanlarla karşılaştırmışlardır. Uçucu yağ veriminin 30 dakikada gerçekleştirilen MAE'nin (0.316 ± 0.01 w/w) 3 saat boyunca yapılan hidrodistilasyondan (0.23 ± 0.035 w/w) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. DPPH testinde MAE ve HD ile ekstrakte edilen uçucu yağın IC50 değerleri sırasıyla 28.10 ve 36.90 $\mu\text{g/mL}$ ve böylece MAE tarafından elde edilen uçucu yağın HD'den daha yüksek bir serbest radikal temizleme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca DPPH süpürme etkisinin askorbik asit>MAE>HD> α -tokoferol şeklinde olduğu belirtilmiştir. FRAP testinde de DPPH testine benzer şekilde MAE ile elde edilen uçucu yağın HD ile elde edilenden daha fazla ferik indirgeme gücüne sahip olduğu ve bu indirgenme gücünün standartlarla karşılaştırıldığında MAE>HD>askorbik asit> α -tokoferol sırası elde edildiğinden bahsedilmiştir.

N. sativa ve *N. damascena* tohumlarının etanol ekstraktlarının fenolik profilinin, antioksidan ve idrar söktürücü etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada her iki tür için fenolik bileşiklerin kalitatif ve kantitatif analizleri HPLC-UV/MS yöntemi kullanılmış, fenolik profil açısından iki tür arasında önemli farklar kaydedilmiştir. HPLC-UV/MS analizine göre farklı oranlarda 19 fenolik bileşik (kaftarik asit, gentisik

asit, kafeik asit, klorojenik asit, p-kumarikasit, ferulik asit, sinapik asit, sikorik asit, hiperosit, izokersitrin, rutin, mirisetin, fisetin, quercitrin, quercetin, patuletin, luteolin, kaempferol ve apigenin) belirlenmiştir ve hidroliz gerçekleştirilmeyen ekstraktlarda kaempferol yalnızca *N. sativa*'da ($6.06 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$), quercetin ise sadece *N. damascena* tohumlarında ($14.35 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$) tanımlanmış ve iki tür arasındaki farklılıkların hem niteliksel hem de niceliksel olduğu belirtilmiştir. *N. sativa* ve *N. damascena* tohumlarının etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi, DPPH, TEAC, FRAP ve bakır iyon azaltıcı antioksidan kapasitesi (CUPRAC) testleri açısından değerlendirilmiştir. DPPH testi için en yüksek radikal temizleme aktivitesi, *N. damascena*'da ($\text{IC}_{50} = 177.6 \pm 3.71 \mu\text{g/mL}$) gözlemlenirken, *N. sativa* ($\text{IC}_{50} = 624.7 \pm 12.77 \mu\text{g/mL}$) 3.5 kat daha az antioksidan aktivite sergilemiştir. TEAC sonuçları da DPPH değerleri ile benzer bir şekilde, *N. damascena* tohumlarının ($\text{IC}_{50} = 31 \pm 0.26 \mu\text{g/mL}$) *N. sativa* 'ya ($\text{IC}_{50} = 77.7 \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$) göre önemli ölçüde daha yüksek bir antioksidan etki sergilediği belirtilmiştir. Ayrıca toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin *N. damascena*'da daha yüksek olması DPPH, TEAC ve CUPRAC yöntemlerinin sonuçlarına da yansyarak bu türün önemli ölçüde daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Toma ve diğerleri, 2015).

Sıçanlarda *N. sativa* L. yağının sisplatin (CP) kaynaklı testis hasarına karşı koruyucu aktivitesini biyokimyasal ve histopatolojik açıdan incelemek için tasarlanmış bir çalışmada üç hayvan grubu kullanılmıştır (kontrol, CP ve CP + NS yağı). *N. sativa*'nın antioksidatif özelliklerinin de belirlendiği bu çalışmada, erkek yetişkin sıçanlara 21 gün boyunca günlük sisplatin (CP) (1 mg/kg vücut ağırlığı) verilmiştir. Sıçanlara sisplatin ile birlikte $0,5 \text{ mL/kg}$ vücut ağırlığı dozunda çörek otu yağı (NS yağı) verilmiştir. CP uygulaması, malondialdehit (MDA) konsantrasyonunun yanı sıra testislerin histolojik yapısını kontrol sıçanlarına karşı olumsuz etkilerken, ilginç bir şekilde, NS yağı uygulaması, lipid peroksidasyonunda ki değişikliği ve ayrıca testislerin histopatolojik değişikliklerini neredeyse kontrol grubundaki gibi görünür bir şekilde iyileştirmiştir. Sonuçta NS yağı, CP'nin hem biyokimyasal hem de histopatolojik parametrelerde toksik etkilerini önlemek için testislerde güçlü bir antioksidan görevi gördüğü bu çalışmayla doğrulanmıştır (Awadalla, 2012).

2.4.4 Analjezik ve anti-enflamatuvar aktivite

Geleneksel tıpta, *N. sativa* tohumu sabit yağı deri döküntüleri, sırt ağrısı, romatizma ve ilgili iltihaplı hastalıkları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar, çörek otu tohumu sabit yağının ve TQ'nun anti-enflamatuvar özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Umar ve diğerleri, 2012).

Eozinofiller, oksidanlar, sitokin, enflamatuvar makrofajlar ve nötrofiller vücutta enflamasyon durumu yaratmaktan sorumludurlar (Williams ve diğerleri, 1999). Sıçanlarda kalsiyum iyonoforla uyarılan nötrofillerde sulu *N. sativa* veya TQ özütünün uygulanmasının 5-lipooksigenaz üretimini inhibe ettiği bulunmuştur (Hadjzadeh ve diğerleri, 2006). Başka bir çalışmada, 15 astımlı hastanın hava yollarında *N. sativa* ekstresinin antiastmatik (bronkodilatör) etkisi incelenmiş ve sonuçlar ekstraktın tüm solunum fonksiyon testlerinde anlamlı artışa neden olduğunu ve güçlü bir antiastmatik etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Boskabady ve diğerleri, 2010).

N. sativa 'dan ekstrakte edilen polifenollerin farelerde ve sıçanlar üzerinde analjezik ve anti-enflamatuvar etkilerini incelendiği bir çalışmada, birçok farklı testler uygulanmış ve asetik asitle indüklenen kıvrınma testinde, *N. sativa* polifenollerinin (NSP) oral olarak uygulaması, abdominal daralma sayısını azaltmış ancak farelerde hafif kuyruk sallama testinde önemli bir analjezik etki göstermemiştir. NSP'nin ağızdan verilmesi, karragenanın neden olduğu pençe ödeminde önemli bir azalma sağlamamakla birlikte, intraperitoneal olarak enjekte edildiğinde, doza bağımlı bir şekilde pençe ödeminin inhibe ettiği belirtilmiştir ve elde edilen sonuçların NSP'nin analjezik ve anti-enflamatuvar etkilere sahip olduğunu gösterdiği belirtilmiştir (Ghannadi ve diğerleri, 2005). Ayrıca yetişkin erkek sıçanların hipokampusu içine Aβ1-42 enjeksiyonu ile Alzheimer modelinin oluşturulduğu bir çalışmada, soğuk sıkım *N. sativa* yağından 0.5 mL/kg, 1 mL/kg, 2 mL/kg ve Timokinon 3 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg oranında mide sondası ile sıçanlara uygulanmıştır. Özellikle *N. sativa* yağından 1 mL/kg, 2 mL/kg ve Timokinon 3 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg oranında uygulanan grublarında ki Aβ1-42 enjeksiyonunun neden olduğu öğrenme ve hafızada oluşan gerilemenin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığı tespit edilerek, *N. sativa* yağının ve Timokinon bileşiğinin ciddi bir anti-nöroenflamatuvar etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Çam, 2019).

2018 yılında Zakaria ve çalışma arkadaşları *E. cottonii* ve *N. sativa* sulu ekstraktlarının fareler üzerinde analjezik özelliklerini araştırmış ve her iki ekstraktın analjezik özelliklerini, asetik asit kaynaklı kıvrınma testinin deneysel bir modelinde değerlendirmişlerdir. Elde edilen bulgulara, *E. cottonii* ve *N. sativa* özütlerinin, pozitif kontrol grubuna kıyasla hayvanlarda ağrıyı azaltabildiği gösterilmiş ve bu ekstrelerin analjezik etkisi, *N. sativa*'da thymoquinone ve *E. cottonii*'de sülfatlanmış polisakkaritler, terpenler ve peptitler gibi çeşitli aktif bileşiklerin varlığıyla katkıda bulunabileceğinden bahsedilmiştir. Bununla birlikte, her iki özütten elde edilen sonuçların farelerde aspirinin etkilerine benzer bir mekanizmaya sahip olabileceğini belirtmişlerdir.

2.4.5 Antidiabetik aktivite

N. sativa, şeker hastalarında ve glukoz intoleransı olanlarda iştahı, bağırsakta glikoz emilimini, hepatik glukoneogenezi, kan şekeri seviyesini, kolesterolü, trigliseritleri azalttığı için faydalı olabilmektedir (Mathur ve diğerleri, 2011). Bu yüzden *Nigella* türleri birçok geleneksel tıp uzmanı tarafından diyabet tedavisi için önerilmiştir (Ali ve Blunden, 2003).

Nigella sativa'nın kan şekerinin düşürülmesi üzerindeki önemli etkilerinin muhtemelen tohumların yapısında ki uçucu yağ varlığından kaynaklandığı belirtilmektedir (Al-Yahya, 1986).

Nigella sativa yağının intraperitoneal enjeksiyonu (50 mg/kg), açlık düzeyi normal olan ve alloxan-diyabetik tavşanlarda önemli hipoglisemik etkiye neden olduğu ve tüm gruplarda bazal insülin seviyelerinde değişiklik olmaması nedeniyle, *N. sativa*'nın insülininden bağımsız bir mekanizma ile kan şekerini düşürdüğü belirtilmiştir (Benhaddou ve diğerleri, 2010). Yine, *N. Sativa* ekstraktının beta hücrelerinde rejenerasyona ve nispi proliferasyona, bununla birlikte streptozotosin-diyabetik sıçanlarda serbest radikal üretiminde bir azalmaya neden olduğunun belirtilmesine ek olarak *N. sativa* ekstraktı, yağı ve TQ (timokinon) ile gerçekleştirilen tedavide, sıçanlarda MDA ve serum glikozunu önemli ölçüde azaltmasının yanında kandaki insülin ve doku SOD (Süperoksit dismutaz) seviyelerini de arttırdığının gözlemlenmesi çörek otu ile TQ'nun bileşiğinin diyabet tedavisinde ve β hücrelerinin

oksidatif strese karşı korunmasında klinik olarak yararlı olabileceği gösterilmiştir (Abdelmeguid ve diğerleri, 2010; Kanter ve diğerleri, 2003).

Başka bir çalışmada, normal sıçanlara 6 hafta süreyle (günde 2 g/kg) *N. sativa* sulu özütü 0.1 pg/mL - 100 ng/mL doz aralığında oral yoldan verilerek, glukoz toleransını metformin (günlük 300 mg / kg) kadar güçlü bir şekilde geliştirdiği belirtilerek herhangi bir toksik etki olmaksızın vücut ağırlığını azalttığı tespit edilmiştir (Meddah ve diğerleri, 2009).

Nigella sativa ekstresinin, alloksan kaynaklı diyabetik tavşanlarda kalp hızı ve bazı hematolojik değerler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, tavşanların iki ay süreyle *N. sativa* ekstraktının tüketimine bağlı olarak, kan şekerinde ve diyabete bağlı kalp atış hızı bozukluklarını ve bazı hematolojik parametreleri azaltabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca karaciğer hasarının histolojik ve biyokimyasal belirtilerini iyileştirdiği de belirtilmiştir (Meral ve diğerleri, 2004).

Çörekotu bitkisinden elde edilen farklı ekstrelerin belirli dozlarda farmakolojik açıdan değerlendirilmesi kapsamında yapılan çalışmalarla bu bitkinin pekçok farmakolojik etkilerinin (antibakteriyal, antifungal, antioksidan, antikanser vb.) olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 2.8).

Çizelge 2.8: Çörek otu bitkisinin bazı farmakolojik etkileri.

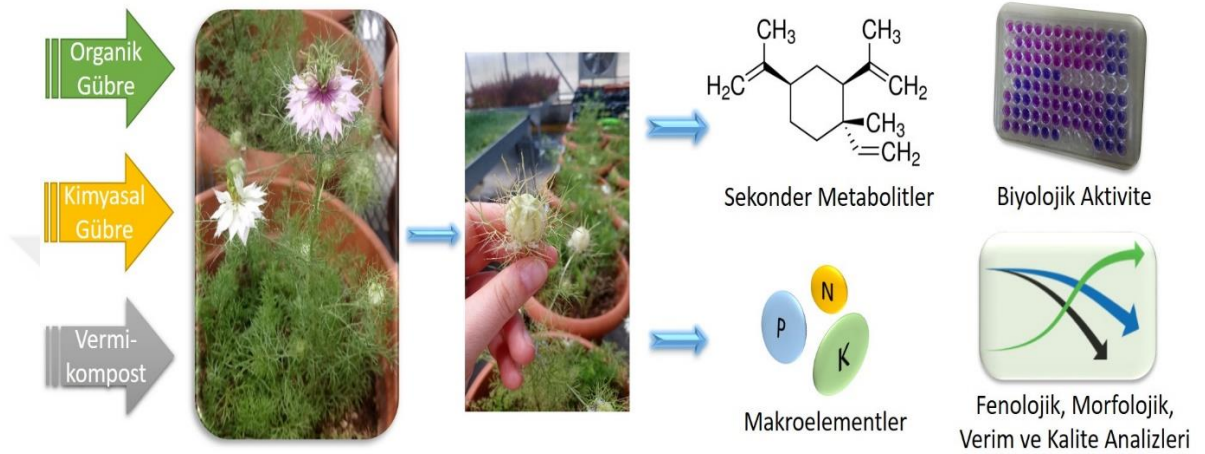
Farmakolojik etkileri	Ekstrakt çeşidi	Ekstrakt dozu	Ana sonuçlar	Referans
Antibakteriyal aktivite	Eter	25–400 µg/mL	Bitki preparatların antibakteriyel ilaçlarla birlikte verilmesi, etkinliklerini arttırmıştır.	Hanafy ve Hatem, 1991
	Etanol	3–200 µg/mL	İncelenen tüm patojenik bakterilerin büyümesi inhibe edilmiştir.	Gharibi ve diğerleri, 2012
	Uçucu yağ	120–600 µg/mL	İncelenen tüm organizmalara güçlü bir hassasiyeti tespit edilmiştir.	Ara ve diğerleri, 2005
Antifungal aktivite	Eter	2.5–40 mg/mL	Sekiz dermatofit klinik izolatında büyüme inhibisyonu belirlenmiştir.	Aljabre ve diğerleri, 2005
Antioksidan aktivite	Dekoksiyon (kaynatma)	3 mg/kg	Kan LPO'su azalmıştır. Plazma TTM artmıştır.	Sharieatzadeh ve diğerleri, 2011

	TQ	5 mg/kg	-CAT (katalaz), glutatyon peroksidaz ve SOD (Süperoksit dismutaz) aktivitelerindeki artış yavaşlamıştır.	Sheikh ve Mohamadin, 2012
	Yağ	0.3–0.6 mL/kg	SOD ve GSH-Px'ın serum enzimatik aktiviteleri gelişmiştir. -Toplam oksidan durumu azalmıştır. -Toplam antioksidan kapasite artmıştır. -Serum ve doku malondialdehit ve NO (nitrik oksit) konsantrasyonu azalmıştır.	Bayrak ve diğerleri, 2008
	TQ	25–75 mmol/L	MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), TNF-alfa, interlökin (IL) -1 beta sentezi ve Cox-2 azalmıştır.	Chehl ve diğerleri, 2009
Antiinflamatuvar aktivite	TQ	3 mg/kg	IC50 ve akciğer lavaj sıvısı nötrofil sayısı arttı. Metakoline karşı akciğer lavaj sıvısı ve trakeal duyarlılık azalmıştır.	Pejman ve diğerleri, 2014

	Etanol	0–2000 µg/mL	750 µg/mL ve daha yüksek konsantrasyonlarda canlı hücrelerde morfolojik değişikliklere, canlı hücrelerdeki yüzdenin azalmasına, 1000 ve 1250 µg/mL’de ACHN hücrelerinde, 1500 µg/mL’de ise L929 hücrelerine maksimum apoptoza (%92) neden olmuştur.	Tabasi ve diğerleri, 2010
Antikanser aktivite	Sulu	1-100 µg/mL	YAC-1 tümör hücrelerine karşı NK sitotoksik aktivitesini önemli ölçüde arttırmıştır.	Majdalawieh ve diğerleri, 2010.
	Yağ	50–100 µg/mL	Plazminojen aktivatör inhibitör-tip 1 artmıştır.	Awad ve Binder, 2005
Kardiyovasküler koruyucu aktivite	Sulu	20 mL/kg	-Yüksek glikoz konsantrasyonu azalmıştır. -RBC ve WBC sayıları düşmüştür. -PCV ve nötrofil yüzdesi artmıştır- Yüksek kalp atış hızı azaldı.	Meral ve diğerleri, 2004
	Thymoquinone	6 mg/kg	-IL-6 konsantrasyonu artmıştır. -Plazmadaki SOD aktivitesi azalmıştır.	Nemmar ve diğerleri, 2011

3. MATERYAL VE METOT

Tez çalışmasında *Nigella damascena* bitkisine uygulanan farklı gübrelerin bitki gelişim dönemi, sekonder metabolit üretimi ve biyolojik aktivite özelliklerine olan etkilerinin araştırılmasına dair deneysel prosedürler ve yapılan çalışmalar alt başlıklar halinde verilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: *Nigella damascena*’da gerçekleştirilen analizler.

3.1 *Nigella damascena* Bitkisinin Yetiştirilmesi ve Gübreleme

Araştırmada bitki materyali olarak kullanılan Şam Çörekotu tohumları (*Nigella damascena*) Vilmorin Garden (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edilerek, yüzey sterilizasyonundan sonra (%1’lik NaClO’da 1 dk bekletme) 1/10 oranında seyreltilmiş gübre çözeltilerinde 6 saat bekletilmiş ve %50 torf-%50 bahçe toprağı ile hazırlanmış 27.5 cm çapındaki saksılara kontrol grubu dahil her bir gübre uygulamasının (sıvı organik, sıvı kimyasal ve sıvı vermikompost) farklı dozajlarda verilmesi çerçevesinde 4 tekerrürlü olmak üzere tesadüf parselleri deneme desenine göre toplamda 40 saksıya dikimi gerçekleştirilmiştir. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi araştırma serasında (25-30 °C’de, yeterli ışık ve nem koşullarında) belirli periyodik aralıklarla (3-4 gün) sulaması yapılarak yetiştirilmiştir (Şekil 3.2). Dikim tarihinden yaklaşık 15 gün sonra tohumlar çimlenmiş olup, bitkilerin %80’inde bitki boyları 10-15 cm uzunluğa eriştikten sonra toprağı ilk gübre uygulamaları farklı dozlarda verilmiştir. İlerleyen dönemlerde bitkilerde çiçeklenme döneminin (~%50’den fazla bitkide çiçeklenme görüldükten sonra) başlamasıyla 2. kez gübre uygulamaları 1. uygulamanın tekrarı şeklinde yapılmıştır. Gübrelerin uygulamaları üretici firmalarının önerdiği dönem

itibariyle (negatif kontrol hariç) yapılmış olup, saksılar verilen gübre çeşidine ve miktarına göre etiketlenmiştir. Gübre uygulamalarındaki doz, üretici firmaların önerdiği dozda, yarısı ve iki katı şeklinde belirlenmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1: Uygulanan gübrelerin çeşit ve miktarları.

Uygulama No	Uygulama Adı	Kimyasal Bileşimi	Uygulama Dozajı		
			Yarısı	Önerilen	İki katı
1	Negatif kontrol	-	-	-	-
2	Sıvı Sentetik	N: P: K (%7: 7: 7)	1-1.5 L/da	2-3 L/da	4-6 L/da
3	Sıvı Organik (Bitkisel kökenli)	Toplam organik madde: %45 Organik C: %19.5 N: %3, K ₂ O:7	150-300 mL/da	300-600 mL/da	600-1200 mL/da
4	Sıvı Vermikompost (Bitkisel ve hayvansal kökenli)	Toplam organik madde: %5 N: %1 Hümk+fölvikasit: %10	0.75- 1 L/da	1.5-2 L/da	3-4 L/da



Şekil 3.2: Serada yetiştirilen *Nigella damascena* bitkileri.

Çiçeklenme döneminden sonra oluşan kapsüller olgunlaştıktan sonra (kapsüllerin kahverengiye dönüşmesi) çörekotu hasatı yapıldı. Hasadı yapılan kapsüller verim ve kalite analizi ve ekstraksiyon aşamalarına kadar +4 °C’ de muhafaza edilmiştir.

3.2 Fenolojik, Morfolojik, Verim ve Kalite Analizleri:

Çörek otu bitkilerine uygulanan gübrelerin bitki gelişimi üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla fenolojik, morfolojik değerlendirmeler, verim ve kalite analizleri yapılmıştır. Fenolojik gözlemler çıkış süresi (gün), çiçeklenme süresi (gün) olarak değerlendirilmiştir. Morfolojik gözlemler ise bitki boyu (cm), dal sayısı, kök uzunluğu (cm), bitkide kapsül sayısı (adet/bitki), kapsül eni (mm), kapsül boyu (mm) olarak değerlendirilmiş ve istatistik analizleri yapılmıştır. Verim ve kalite analizleri bitki başına tohum ağırlığı (g/bitki), bin dane ağırlığı (g), kapsül başına tohum ağırlığı (g/kapsül), tohum verimi (kg/da), sabit yağ oranı (%), sabit yağ verimi (kg/da), bitki-kapsül elementel analizi ve toprak fizikokimyasal analizi, olarak değerlendirilmiştir. Verilerin istatistiki analizi Duncan testine göre ortalamaların farklılık gruplandırmaları yapılarak karşılaştırılmalı sonuçlar kaydedilmiştir.

3.2.1 Fenolojik gözlemler

3.2.1.1 Çıkış süresi (gün)

Tohum ekimi tarihinden sonra, yaklaşık %70-80 oranında çıkışın gerçekleştiği tarihe kadar geçen süre çıkış süresi olarak tanımlanmıştır (Telci, 1995). Bitkiler günlük olarak gözlemlenerek çıkış süreleri kaydedilmiş, uygulama grupları arasındaki farklılıklar istatistiki olarak analiz edilmiştir.

3.2.1.2 Çiçeklenme süresi (gün)

Tohum ekim tarihi ile bitkilerin %50'den fazlasının çiçeklendiği tarih arasındaki gün sayısı çiçeklenme süresi olarak ifade edilmektedir (Telci, 1995). Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi araştırma serasında yetiştirilen bitkilerin çiçeklenme tarihleri kaydedilerek uygulama grupları arasındaki farklılıklar gözlemlenmiştir.

3.2.1.3 Vejetasyon süresi (gün)

Bitki çıkışının gerçekleştiği tarih ile hasat tarihi arasında kalan süre, vejetasyon süresi olarak değerlendirilmektedir (Telci, 1995; Akgören, 2011). *N. damascena* bitkilerinin ilk çıkış tarihinden itibaren hasat zamanına kadar geçen süreler gün olarak kaydedilerek gübrelerin vejetasyon süresi üzerine etkinliği belirlenmiştir.

3.2.2 Morfolojik analizler:

3.2.2.1 Bitki boyu (cm)

Vejetasyon süresinin sonuna kadar yetiştirilen bitkilerin boyları toprak seviyesinden bitkinin en üst noktasına kadar olan mesafenin ölçülmesiyle belirlenmiştir.

3.2.2.2 Dal sayısı (adet)

Tüm uygulama gruplarında tekerrürlü olarak yetiştirilen bitkilerde bulunan, ana sapa bağlı olan dallar sayılarak istatistiki olarak gruplar arasındaki farklılıklar analiz edilmiştir (Arslan,1993).

3.2.2.3 Kök uzunluğu (cm)

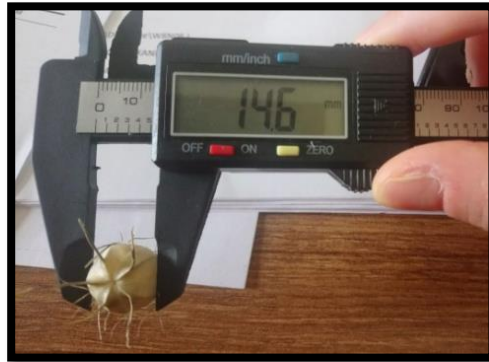
Bitkiler hasat edilip topraktan söküldükten sonra kök uzunluğunu belirlemek için kökün en uç kısmından toprak yüzeyine kadar olan kısım cm cinsinden ölçülmüştür.

3.2.2.4 Bitkide kapsül sayısı (adet/bitki)

Bitki başına elde edilen olgunlaşan kapsül sayısının ifadesidir. Tüm saksılardan elde edilen bitkilerdeki kapsüller uygulama grupları şeklinde ayrılarak bitki başına ortalama kapsül sayısı belirlenmiştir.

3.2.2.5 Kapsül eni ve boyu (mm)

Hasat edilen her bir kapsülün eni ve boyunun dijital kumpas ile ölçülmüş ve gübre uygulamaların kapsül büyüklüğüne olan etkisi istatistiki açıdan değerlendirilmiştir (Şekil 3.3)



Şekil 3.3: Dijital kumpas ile kapsül eni ve boyunun ölçülmesi.

3.2.3 Verim ve kalite analizleri

3.2.3.1 Tohum verimi (kg/da)

Saksıda yetiştirilen tüm bitkilerin hasat edildikten sonra, çörek otu tohumlarının kapsüllerinden ayrılıp, 0.01g duyarlı terazideki tohum ağırlığının dekara tohum verimine çevrilerek hesaplanmış değeridir.

3.2.3.2 Kapsüldeki tohum ağırlığı (g/kapsül)

Her saksıda bulunan bitkilerden elde edilen kapsüller sayılıp, kapsülden çıkarılan tohumlar 0,01g'lık hassas terazide tartılmıştır. Aşağıdaki formülden kapsül başına tohum ağırlığı hesaplanmıştır.

$$KTA = \frac{TTA}{TKS}$$

KTA: Kapsülde tohum ağırlığı(g)

TKS: Toplam kapsül sayısı

TTA: Toplam tohum ağırlığı (g)

3.2.3.3 Bin dane ağırlığı (g):

Saksı başına elde edilen tohumlardan (4 tekerrür) 100 tohum sayılarak analitik terazide tartılıp, ortalamaları alınmış, bulunan sonuçlar 10 ile çarpılarak 1000 tane ağırlığı hesaplanmıştır (Ahmed ve Hague,1986).

3.2.3.4 Bitki başına tohum ağırlığı (g/bitki)

Hasat döneminde saksılarda bulunan bitkilerden (4 tekerrür) elde edilen tohumlar 0.01g'lık hassas terazide tartılıp, bulunan değer bir saksıdaki bitki sayısına oranlanmasıyla bitki başına tohum ağırlığı elde edilmiştir.

$$BBTA = \frac{TT}{BS}$$

BBTA= Bitki başına tohum ağırlığı

TT= Toplam tohum (saksı başına)

BS= Bitki sayısı (saksı başına)

3.2.3.5 Sabit yağ oranı (%)

Nickavar ve diğerleri (2003), tarafından geliştirilen yöntem çerçevesinde gerçekleştirilen sabit yağ ekstraksiyonu sonrasında elde edilen n-hekzan'lı sabit yağ ekstraktının 40 °C'de evaporasyonu sağlanmış, evaporasyon sonunda (kuru ağırlığı önceden tespit edilen örneklerin) balonda kalan kalıntının miktarı (g cinsinden) hesaplanarak sabit yağ oranı (%) belirlenmiştir (Baytöre, 2011).

3.2.3.6 Sabit yağ verimi (kg/da)

Hasat sonrası elde edilen tohumların sabit yağ verimi açısından değerlendirilebilmesi için tohum verimi ve sabit yağ oranı önemli kriterlerdir. Sabit yağ verimi, her grupta birim alana (da) göre hesaplanan tohum verimleri ile o gruba ait sabit yağ oranı çarpılarak hesaplanmıştır (Palabıyık ve Aytaç, 2018).

3.2.4 Bitki ve kapsül elementel analizi

Denemenin hasat döneminden sonra negatif kontrol ve her uygulama dozunun bulunduğu 4 tekerrürlü saksıların her birinde bulunan kuru bitkiler ve kapsüller kantitatif elementel analiz tayini için naylon poşetlere konulduktan sonra etiketlenerek BSK Analiz Laboratuvarı (Konya)'nda 9 farklı element (N, P, K, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Ca) analizi hizmet alımıyla gerçekleştirilmiştir. N Kjeldahl, P₂O₅ Spektrofotometrik, K₂O, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Ca miktarları Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) yöntemleriyle belirlenmiştir.

3.2.5 Toprak fizikokimyasal analizi

Toprakların fizikokimyasal analizi BSK Analiz Laboratuvarı (Konya)'nda gerçekleştirilmiştir. Toprak örnekleri yaklaşık 2-2.5 kg ağırlığında olacak şekilde saksıdan naylon torbalara aktararak ve analize hazır hale getirilmiştir. Toprağın fizikokimyasal analizinde toprağın bünyesi, pH değeri, EC (tuz), kireç (CaCO₃), organik madde miktarı ve içerdiği elementler (P₂O₅, K₂O, Mg, Ca, Cu, Fe, Mn, Zn) durumu analiz edilmiştir.

3.3 Fitokimyasal Analizler ve Ekstraksiyon İşlemleri

Uygulama gruplarından elde edilen tohumların fitokimyasal analizi için GC-FID 'de sabit yağ karakterizasyonu ve oranı, GC-MS'te uçucu yağ karakterizasyonu ve oranı, toplam fenolik ve flavonoid içeriği, HPLC'de fenolik bileşik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.3.1 Sabit yağ ekstraksiyonu ve analizi

Hasat sonrası elde edilen tohumlardan sabit yağ ekstraksiyonu için her bir uygulama grubundan 5 g tohum tartılarak homojenizasyon sağlanması için öğütülmüş ve ekstraksiyon için Soxhlet cihazı kartuşuna yerleştirilmiştir. Tohumlar 200 mL n-hekzanla 8 saat boyunca muamele edilmiştir (Şekil 3.4a) (Nickavar ve diğerleri, 2003). Ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen n-hekzan'lı sabit yağ ekstraktının Rotary Evaporatör'de 40 °C'de evaporasyonu sağlanmıştır (Şekil 3.4b).



Şekil 3.4: Soxhlet cihazında ekstraksiyon (a) ve Rotary Evaporatör de evaporasyon (b).

3.3.1.1 Metilasyon prosedürü

Yağ asidi bileşimine, gaz kromatografisi (GC) analizi için yağ asidi metil esterleri oluşturmak üzere metilasyon işlemi uygulanmıştır. Bunun için, ekstrakte edilmiş yağ (20 mg) n-hekzan'da (3 mL) çözdürüldü ve üzerine 2 M metanollü KOH (2 mL) ilave edilerek 2 dk vortekslenmiştir. Daha sonra tüpte faz oluşana kadar inkübe edilmiştir. Faz oluşumundan sonra üstteki faz (sabit yağ metil esterleri içeren katman) başka bir tüpe alınarak GC-FID'de kalitatif ve kantitatif analizlerin gerçekleştirilmesine kadar -20 °C'de saklanmıştır (Özyürek ve diğerleri, 2020).

3.3.1.2 Sabit yağın GC-FID analiz prosedürü

Farklı uygulama gruplarından elde edilen *Nigella damascena* L.(Şam Çörekotu) tohumlarının sabit yağ ekstraksiyonundan sonra GC-FID’de standartlara göre doymuş ve doymamış yağ asit kompozisyonu ile oranı belirlenmiştir. Uygulama grupları arasındaki farklılıkların istatistik olarak analizi yapılmış, Duncan testine göre ortalamaların farklılık gruplandırmaları yapılarak karşılaştırılmalı sonuçlar kaydedilmiştir ($p<0.05$). Yağ asitlerinin teşhisi standart olarak 37 yağ asidinin metil esterleri karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

GC-FID Analizine Ait Teknik Bilgiler;

Yağ asitlerinin analizi Perkin Elmer Clarus 500 marka gaz kromatografi cihazında yapılmış olup; FID (alev iyonlaştırma dedektörü) ve Restek (Rtx-2330) kapiler kolon (30 m x 0.25 mm x 0.2 μ m) kullanılmıştır. Yağ asitlerinin teşhisi standart olarak 37 yağ asidinin metil esterleri karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. GC cihazının dedektör sıcaklığı 250 °C, enjektör sıcaklığı 250 °C, enjeksiyon split 50/1, taşıyıcı gaz akış hızı helyum 1 ml/dk olacak şekilde ayarlanarak örnekler cihaza verilmiştir. Fırın sıcaklık programı 100 °C’de 2 dk bekletilmiş daha sonra 150 °C’ye kadar dakikada 2 °C artması sağlanmıştır. Daha sonra 150 °C’de 10 dakika bekletilmiş ve 170 °C’e kadar dakikada 2 °C hızla sıcaklık artırılmıştır. 170 °C’de 10 dakika beklettikten sonra sıcaklık 200 °C’ye kadar dakikada 1.5 °C ısıtılarak fırın programı sonlandırılmıştır. Toplam analiz süresi 77 dakikada bitirilmiştir.

3.3.2 Uçucu yağ ekstraksiyonu

Uçucu yağ analizinde farklı ekstraksiyon metodları denenmiş olmasına rağmen en fazla uçucu yağ bileşiği hidrodistilasyon yöntemi ile belirlenmiştir (Wajs ve diğerleri, 2009). Her bir gruptan (4 tekerrür) hasat edilen tohumlardan 5 g numune alınarak hassas terazide tartılmış ve öğütülerek toz haline getirilmiştir. Hidrodistilasyon işlemi Clevenger tipi aparatla 4 saat boyunca gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3a). Distilasyon sonucunda elde edilen örneklerin n-hekzanla sıvı-sıvı ekstraksiyonu (3 kez) yapılmıştır (Şekil 3.3b). Elde edilen n-hekzan ekstraktı (üst faz) balona alınarak evaporasyona (40 °C) tabi tutulmuş ve evaporasyon sonunda balonda kalan su Na_2SO_4 ile kurutulmuştur (Fico ve diğerleri, 2003; Nickavar ve diğerleri, 2003; Wajs ve diğerleri, 2009).

Daha sonra n-hekzanlı ekstrakt falcon tüpüne alınarak -20 °C’de GC-MS’te analizine kadar muhafaza edilmiştir. Kantitatif tayin için β -elemene standartının farklı

konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 50, 100, 250 ppm) hazırlanan çözeltilerinin GC-MS spektrumları alınmıştır.



Şekil 3.5: Clevenger tipi aparatla uçucu yağların ekstraksiyonu (a), Sıvı-sıvı ekstraksiyon (b).

3.3.2.1 Uçucu yağın GC-MS analiz prosedürü

N. damascena tohumundan elde edilen uçucu yağın kalitatif ve kantitatif analizi için GC-MS cihazı kullanılmıştır. GC-MS analiz şartları aşağıda belirtilmiştir;

GC-MS Analizine Ait Teknik Bilgiler;

Gaz Kromatografisi:	Agilent Technologies 7890A Network GC System
Kütle spektrometresi:	Agilent G4513A series auto sampler and a 5975C VL Mass Selective Detector
Kolon:	HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm film kalınlığı)
Isı programı:	60-260 °C'de 4°C/dk
Enjeksiyon sıcaklığı:	250 °C
Transfer line sıcaklığı:	280 °C
Akış hızı:	0.8 mL/dk
Taşıyıcı gaz:	Helyum
Split oranı:	1:10

3.3.3 Fenolik bileşik ekstraksiyonu

N. damascena tohumundan elde edilen fenolik bileşiklerin kalitatif analizi için HPLC cihazı kullanılmıştır. Ekstraksiyon için 5 g öğütülmüş *N. damascena* tohumları %1 formik asit içeren metanol çözeltisi içinde manyetik karıştırıcıda 30 °C'de (4 saat) karıştırılmış ve whatman kağıdından süzülüp, elde edilen kalıntıya 3 kez bu işlem tekrarlanmıştır. Süzüntüler birleştirilerek 3 saat boyunca sonikatöre maruz bırakılmıştır. Elde edilen çözelti 0,22 µm'lık filtreden geçirilerek Rotary evaporatörde (40 °C) kuruluğa kadar uçurulmuş ve ekstraktlar HPLC analizine kadar +4 °C' de saklanmıştır (Bourgou ve diğerleri, 2008).

3.3.3.1 Fenolik bileşik HPLC analiz prosedürü

HPLC cihazı: Shimadzu Nexera-i LC-2040C 3D Plus
Analitik Kolon: Reverse phase C18 Phenylhexyl 4.6 x 150mm, 3 µm (UP)
Mobil faz: A) %0.1 Formik asit (Su içerisinde)
B) Asetonitril
Dedektör: Photodiode Array Detector (PDA), 271nm
Mobil faz akış hızı: 1 mL/dk
Enjektör Hacmi: 1.0 µL
Kolon sıcaklığı: 30 °C
Gradyan Programı:

dk	Mobil faz B (%)	Mobil faz A (%)
0.01	5	95
7	9,5	90,5
20	17	83
35	40	60
40	0	100
40.01	Bitiş	

3.3.4 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Ekstraksiyon (maserasyon) için 6 g tohum ezildikten sonra üzerine 20 mL metanol ilave edilerek 30 °C'de 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve 2 saat sonunda Whatman filtre kağıdıyla süpernatant kısmı süzölmüştür. Elde edilen kalıntıya bu ekstraksiyon ve süzme işlemi iki kez daha tekrar edilmiştir. Üçüncü kez elde edilen karışımın süpernatantı alınarak darası alınmış balonda metanollü ekstreler birleştirilerek, 0,22 µm'lik steril filtreden geçirilmiştir. Rotary evaporatörde (40 °C) kuruluğa kadar uçurulmuş ve kalıntı tartılarak % verimi hesaplanmıştır. Ekstraktlar toplam fenolik bileşik analize kadar +4 °C' de tutulmuştur. Ayrıca elde edilen bu ekstreler sitotoksiste çalışmalarında da kullanılmıştır.

Nigella damascena tohumlarının toplam fenolik bileşiklerinin konsantrasyonları Ulusu, (2007) tarafından bildirilen Folin-Ciocalteu metodunda gerçekleştirilen bazı küçük modifikasyonlarla spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bu yöntemde, çeşitli konsantrasyonlarda gallik asit (0.1-1.0 mg/mL) standart fenolik bileşik olarak kullanılmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarındaki toplam fenolik bileşik miktarları ise gallik asitten hazırlanan standart grafik kullanılarak hesaplanmış olup, örnekler 3 tekerrür halinde analiz edilmiştir. Evaporasyonun ardından kalıntıdan toplam fenolik bileşik tayini için 10 mg/mL konsantrasyonunda olacak şekilde kalıntı çözölmüştür. Ekstrakt ve standarttan 100 µl (10mg/mL), 9mL dH₂O, 200 µl Folin-Ciocalteu reaktifi, 600 µl %2'lik Na₂CO₃ (w/v) ilave edilerek, son hacim 10mL'ye dH₂O ile tamamlanmış ve karanlıkta 2 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bundan sonra 750 nm'de absorbans değeri ölçölerek ve sonuçlar gallik asit kalibrasyon eğrisinden ortalama ± standart ortalama hatası olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.5).

3.3.5 Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi

Nigella damascena tohumlarının metanol ekstrelerinin toplam flavonoid içeriği Zhishen ve diğerleri (1999) ve Bouasla ve diğerleri (2014) tarafından bildirilen yöntemlerde gerçekleştirilen bazı modifikasyonlarla belirlenmiştir. Çeşitli konsantrasyonlarda (0,05-0,5 mg/mL) Quercetin hazırlanmış ve standart flavonoid bileşik olarak kullanılmıştır. Yöntemde ekstrakt veya standarttan 250µL, 1.25mL dH₂O, 75µl (%5 w/v) NaNO₃, 6 dk sonra 150 µl (%10 w/v) AlNO₃, 5 dk sonra 0.5mL

1M NaOH eklenmiş ve son hacim 2.5 mL'ye dH₂O ile tamamlanmıştır. Çözeltinin iyice karıştırılmasının ardından 415 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür.

3.4 Biyolojik Uygulamalar

3.4.1 Hücre kültürü çalışmaları

Farklı gübre uygulamalarının sonucunda elde edilen tohumlardan fitokimyasal analizlerde oluşturulan n-hekzan (sabit yağ) ve metanol (fenolik bileşik) ekstraktları hücre kültürü çalışmalarında olası sitotoksik aktivitesini değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Sabit yağ ekstraksiyonu 3.3.1.'de, fenolik bileşik ekstraksiyonu ise 3.3.3.'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

Bu ekstreler farklı konsantrasyonlarda (0, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 175, 200, 250, 300 µg/mL) ve 3 farklı (MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293) hücre hattında 24 ve 48 saat süre muamelesi ile Alamar mavisi yöntemi çerçevesinde hücre kültürü testleri gerçekleştirilmiştir.

25 mL'lik flasklarda Meme kanseri hücre hattı MCF-7 (ATCC® HTB-22™), pankreas kanseri hücre hattı MIA PaCa-2 (ACC 733, DSMZ) ve embriyonik böbrek hücre hattı HEK 293 (ATCC® CRL-1573™), Mr.Frosty kabından (-80 °C) alınarak su banyosunda (37°C) çözdürülmüştür. Hücre süspansiyonu 500 rcf'de 5 dk santrifüjlendikten sonra MCF-7 için RPMI-1640 (%10 FBS-fetal sıgır serumu, %1 penisilin- streptomisin, %0,01 gentamisin içeren), MIA PaCa-2 ve HEK 293 için ise DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (%10 FBS-fetal sıgır serumu, %1 penisilin- streptomisin, %0,01 gentamisin içeren) solüsyonunda 37 °C ve % 5 CO₂ nem kontrollü inkübatörde kültüre alınmıştır. Günden güne logaritmik olarak artış gösteren aktif hücreler flasklarda %80-90 oranında doluluk oranına ulaştıktan sonra pasajlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Pasajlama işleminde hücreler Ca ve Mg içermeyen PBS ile yıkanarak, tripsin (%0.25) ve EDTA (0.53 mM) solüsyonu tripsinizasyon işleminde kullanılmıştır. Tripsini inhibe etmek için besiyeri eklenip 500 rcf'de 5 dk santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında elde edilen hücre peletlerine yeni besiyeri eklenmiş, homojenizasyonu sağlanarak seyreltme işleminin ardından besiyeri-hücre karışımı yeni hücre kültür kaplarına (25 mL) alınarak pasajlama işlemi sağlanmıştır. Sitotoksiste testi için pasajlama ile elde edilen hücre peleti besiyeri eklenerek seyreltilip ardından buhücre besiyeri karışımından 2 µL alınıp üzerine tekrar 50 µL besiyeri eklenir. Ölü hücrelerin ayrımı için bu karışımın üzerine 48 µL tripan mavisi

eklenip thoma lamında (hematosimetre) (10 µL) hücre sayımı gerçekleştirilmiştir (Grimm ve diğerleri, 1979). Hesaplanan hücrelere uygun miktarda besiyeri eklenerek sitotoksiklik testinde kullanılmıştır. Sitotoksik aktivite için yapılan işlemler Laminer Akış Ünitesi'nde (Metisafe, Type II Laminer Akış Kabini, Türkiye) gerçekleştirilmiştir.

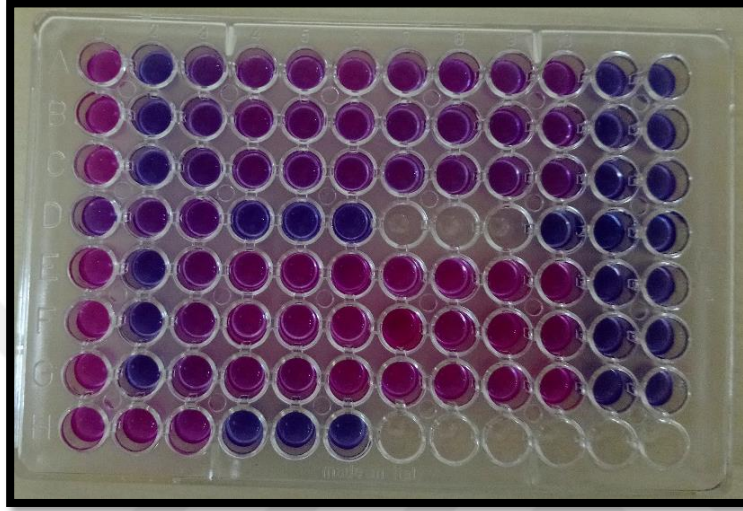
3.4.2 Alamar mavisi testi

Metabolik aktiviteye yanıt olarak rengi veya floresanı değiştiren bir redoks göstergesi içeren Alamar Mavisi testi, memeli hücrelerinin ve mikroorganizmaların canlılığını ve/veya proliferasyonunu nicel olarak değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu metot resazurin bileşiğinin canlı hücreler tarafından resorufin bileşiğine dönüştürülmesinin ardından florometrik olarak ölçüm yapılan bir canlılık testidir (Back ve diğerleri, 1999). Bu mavi renkli çözeltideki resazurin molekülü canlılığın olmadığı ortamlarda floresans özelliği göstermemektedir. Ama bu molekül canlı hücrelerde metabolize edildiğinde resorufin'e (kırmızı renk) dönüşerek 540-570 nm dalga boyları arasında floresans özellik göstermektedir.

3.4.3 Sitotoksiklik testi

Sitotoksiklik testlerinde kuyucuk başına hücre sayıları, ekstreinin konsantrasyonu, hem ekstreli hem de alamar mavisi reaktif ile gerçekleştirilen inkübasyon süresi MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarında optimize edilmiştir. Optimizasyon çalışmaları sonrasında 96 kuyucuklu kültür kaplarına (well cell culture plates) daha öncesinde hemasitometrede sayımı yapılan hücrelerin, kuyucuk başına 2×10^4 hücre olacak şekilde hazırlanıp, 24-48 saat ekstrakt inkübasyonu ve sonrasında 4 saat Alamar Mavisi inkübasyonu 3 hücre hattında da uygun yöntem olarak belirlenmiştir. *N. damascena* tohum ekstraktları sulu ortam çözeltisi içinde tamamen çözünür olmadığından 1 mg/mL DMSO (dimetilsülfoksit) stok içinde çözdürülmüştür. Kültür ortamında ki DMSO'nun etkisini en aza indirmek amacıyla konsantrasyonu %0.1'den fazla olmayacak şekilde, arzu edilen numune konsantrasyonları (0-300 µg/mL) için bir seri dilüsyon gerçekleştirilmiştir. Sadece %0.1 DMSO içeren kültür ortamı kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Sitotoksiklik testinde MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293

hücre hatları hem 24 hem de 48 saat boyunca *N. damascena* tohum ekstraktlarına (n-hekzan ve metanol ekstraktı) 3 tekrarlı olacak şekilde maruz bırakılmış ve Alamar Mavisi ile boyanıp 4 saat inkübasyon sonrasında 570-600 nm’de Multiscan GO™ mikrolaka okuyucu (Multiscan Go microplate spectrophotometer - Thermo Scientific, USA) ölçümleri alınmıştır (Şekil 3.6). Elde edilen sonuçlara göre % hücre canlılıkları hesaplanmış IC50 değerleri belirlenmiştir.



Şekil 3.6: Sitotoksik aktivite için yapılan Alamar mavisi testi.

3.5 İstatistiki Analiz

Kontrol ve uygulama grupları arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile belirlenmiştir (Duncan, 1955). Bu farklılıklar Duncan çoklu aralık testine göre $p < 0.05$ önemlilik değerinde 4 tekrarlı olarak analiz edilmiştir ($n=4$). İstatistiki analizler IBM SPSS Statistics Version 24 paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Hücre kültürü istatistiki analizlerinde GraphPad prism sürüm 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) kullanılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Fenolojik Gözlemler

Şam çörek otu (*N. damascena*) yetiştirilmesi esnasında toprağa uygulanan gübrelerin gelişmeleri üzerine olan etkilerinin fenolojik gözlemleri çıkış süresi (gün), çiçeklenme süresi (gün) ve vejetasyon süresi (gün) olarak değerlendirilmiştir.

4.1.1 Çıkış süresi (gün)

Çalışmada her bir saksıya ekimi yapılan Şam çörekotu tohumlarının çimlenme süresinin 12-28 gün aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Gübre uygulaması gruplar arasında çıkış süresi açısından farklılıklara neden olmuş en erken çimlenme organik iki katı (12 gün) uygulamasında görülürken, en geç çimlenmenin ise kontrol grubunda (28 gün) olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.1). Uygulanan gübrelerin besin element içeriği ve oranlarının değişikliği çıkış performansı üzerine etki etmiş ve istatistiksel anlamda da farklılığa neden olduğu görülmüştür. Çalışmadan elde edilen çıkış süresi sonuçlarının hem Selicioğlu (2018) hem de Telci (1995) sonuçları ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

4.1.2 Çiçeklenme süresi (gün):

Çalışmada çiçeklenme süresi 93-134 gün aralığında değişmektedir. Uygulama grupları arasında ilk çiçeklenmenin organik iki katı gübre uygulamasında, en geç çiçeklenmenin kimyasal öneri ve kontrol gruplarında meydana geldiği görülmüştür (Çizelge 4.1). Çalışmanın kış döneminde gerçekleştirilmesi bitkilerde çiçeklenme süresinin uzamasına neden olmuştur. D'Antuono ve diğerleri (2002) 55-100 gün, Akgören (2011) 55-92 gün aralığında çiçeklenme süresi belirlemişken, Taqı (2013) ise çalışmasında mevsimsel farklılığa bağlı olarak çiçeklenme süresinin de farklılaştığını (yazlık ekimde 70-73, kışlık ekim 170-180 gün) belirtmiştir.



Şekil 4.1: *Nigella damascena* bitkisinin generatif gelişim dönemleri.

4.1.3 Vejetasyon süresi (gün)

Vejetasyon süresi değerlendirmesinde hasat (kapsüllerin olgunlaşma) tarihi ilk ve son hasat tarihi olmak üzere 2'ye ayrılmıştır. İlk hasat süresi uygulama grupları arasında 167-231 gün olarak değişkenlik göstermekle birlikte en erken olgunlaşma organik iki katı grubunda görülmüştür. Son hasat süresi ise 223-309 gün aralığında olup en kısa vejetasyon süresi organik yarı grubunda (223 gün), en uzun vejetasyon süresi ise kontrol grubunda (309 gün) belirlenmiştir. Uygulama gruplarındaki ortalama vejetasyon süreleri Çizelge 4.1 gösterilmiştir.

Çizelge 4.1: *Nigella damascena* bitkisinde elde edilen fenolojik gözlemler.

Gruplar	Çıkış süresi (gün)	Çiçeklenme süresi (gün)	Vejetasyon süresi (ilk olgunlaşma) (gün)	Vejetasyon süresi (son olgunlaşma) (gün)
Neg. Kontrol	28 ± 0.62 ^a	134 ± 0.48 ^a	231 ± 0.40 ^a	309 ± 0.57 ^a
Org. Yarı	17 ± 0.94 ^e	112 ± 0.53 ^d	183 ± 0.57 ^d	223 ± 0.62 ^g
Org. Öneri	16 ± 0.40 ^e	112 ± 0.59 ^d	180 ± 0.57 ^e	226 ± 0.48 ^f
Org. İki Katı	12 ± 0.40 ^g	93 ± 0.81 ^g	167 ± 0.81 ^h	242 ± 0.53 ^e
Verm. Yarı	23 ± 0.62 ^c	127 ± 1.22 ^{bc}	179 ± 1.22 ^e	245 ± 0.61 ^d
Verm. Öneri	19 ± 0.53 ^d	125 ± 0.54 ^c	218 ± 0.57 ^b	248 ± 0.57 ^c
Verm. İki Katı	14 ± 0.58 ^f	98 ± 1.08 ^f	170 ± 1.08 ^g	249 ± 0.57 ^c
Kim. Yarı	24 ± 0.70 ^c	128 ± 0.57 ^b	188 ± 0.57 ^c	241 ± 0.45 ^e
Kim. Öneri	26 ± 0.81 ^b	132 ± 0.62 ^a	190 ± 0.57 ^c	249 ± 0.57 ^c
Kim. İki Katı	14 ± 0.67 ^f	101 ± 0.64 ^e	175 ± 0.57 ^f	300 ± 0.68 ^b

Ekim döneminin (yaz-kış) farklılığı vejetasyon süresi üzerine etki edeceği Ertaş (2016)'ın çalışmasında belirtilmiş olup vejetasyon süresinin yazlık ekimde 108-151 gün, kışlık ekimde ise 213-255 gün olarak ifade edilmiştir. Bahsedilen çalışmada her iki dönemde de en uzun vejetasyon süresinin *N. damascena* türüne ait olduğu belirtilmiştir. Kış döneminde gerçekleştirilen bu tez çalışmasında elde edilen veriler Ertaş (2016) ile uyumludur.

4.2 Morfolojik Değerlendirmeler

Morfolojik olarak değerlendirilen bitki boyu (cm), dal sayısı (adet), kök uzunluğu (cm), bitkide kapsül sayısı (adet/bitki), kapsül eni (mm), kapsül boyu (mm) özellikleri istatistik analizi sonucunda oluşturulan Çizelge 4.2'de verilmiştir.

4.2.1 Bitki boyu (cm)

İstatistik analiz sonucuna göre en düşük bitki boyu negatif kontrol ve kimyasal iki katında, en yüksek bitki boyu ise kimyasal yarısı'nda gözlemlenmiş ve bunu da organik iki katı grubu takip etmiştir. Organik yarısı, organik önerilen, vermikompost yarısı, vermikompost önerilen, vermikompost iki katı ve kimyasal önerilen uygulama grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı görülmüştür ($p < 0.05$). Kimyasal iki katı grubu hariç diğer gübre uygulamalarında bitki boyu açısından farklı oranlarda artış görülmüş ve bitki boylarının 25.03-37.20 cm arasında değiştiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2). Yapılan diğer çalışmalarda çörek otunda bitki boyunun Kalçın (2003), 25.85-28.82 cm, Ertuğul (1986) 48-55 cm, Ghamarnia ve diğerleri (2010) 29.67 - 38.53 cm, Tektaş (2015) 63.87 - 70.37 cm, Arabacı ve Kılıç (2016) 39.33 - 78.90 cm, Baytöre (2011) 34.53 - 53.58 cm, Arslan (1993) 21-53 cm, Ahmed ve Haque (1986) 33 - 53 cm, Telci (1995), 42.83 - 53.46 cm, Şahin (2013) 17.2 - 53.1 cm, Turan (2014) 34.81 - 37.48 cm, Taqi (2013) 33.15 - 43.05 cm, Selicioğlu (2018) 22 - 30cm arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Elde edilen bulgular Ertuğul (1986), Telci (1995) ve Tektaş (2015)'ın bildirdiği değerlerden düşük, Arabacı ve Kılıç(2016), Baytöre (2011), Şahin (2013), Arslan (1993), Kalçın (2003), Selicioğlu (2018) değerleri ile uyumludur. Ghamarnia ve diğerleri (2010) ve Turan (2014) sonuçlarına göre en düşük bitki boyundan az, en yüksek bitki boyu parametresine benzerlik göstermektedir. Çalışmada belirlenen bulgular ile literatür arasındaki

farklılıklar iklim, ekolojik faktörler, toprak özellikleri ve genotip gibi farklı yetiştirme koşullardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Rahnavard ve diğerleri, 2010).

4.2.2 Dal sayısı (adet)

Çalışmada bitki başına elde edilen dal sayısı 2.30 - 5.62 adet aralığında değişmektedir (Çizelge 4.2). En düşük dal sayısı negatif kontrol ve kimyasal iki katı gruplarında bulunmakla birlikte en fazla dal sayısı kimyasal yarısı grubunda kaydedilmiştir. Organik gübre uygulamasında en fazla organik önerilen grubunda, vermikompost gübresi uygulananlarda ise gübre miktarının artmasına paralel dal sayısının da arttığı gözlemlenmiş olup organik ve vermikompost gübre grupları ile kimyasal yarısı ve kimyasal önerilen uygulama grupları arasında istatistiki analiz sonuçlarına göre farklılıkların önemli olmadığı ($p < 0.05$) görülmüştür. Daha önceki yapılan çalışmalarda bulunan ortalama dal sayısı değerleri; *N. damascena* 'da Kalçın (2003) 3.00 - 5.42 adet, *N.sativa*'da Ertuğrul (1986) 4.78 adet, Arslan (1993) 5 - 8 adet, Telci (1995) 4.19 - 5.22 adet, Özel ve diğerleri, (2009) 2.30 - 4.43 adet, Baytöre (2011) 3.45 - 4.42 adet, Palabıyık ve Aytaç (2018) 3.10 - 4.57 olarak bildirilmiş ve bu tez çalışmasının da benzer sonuçlara sahip olduğu, ancak Tektaş (2015) 6.70 - 8.17 adet, Arabacı ve Kılıç (2016) 4.43 - 9.17 adet bulgularından düşük olduğu görülmüştür.

4.2.3 Kök uzunluğu (cm)

Çalışmada bitki gruplarındaki kök uzunlukları 5.33 - 8.62 cm arasında değişmektedir. Verilerin istatistiki analizi sonucunda kontrol grubuna oranla tüm gübre uygulama gruplarındaki bitki kök uzunluklarının daha fazla olduğu, özellikle vermikompost gübre grubunda doz artışına paralel kök uzunluğunun da arttığı, organik ve kimyasal gübre uygulamalarında ise en uzun kökün önerilen gübre gruplarında olduğu, ama bu farklılıkların varyans analiz sonucuna göre önemli olmadığı gözlemlenmiştir ($p < 0.05$) (Çizelge 4.2).

4.2.4 Bitkide kapsül sayısı (adet/bitki)

Bitki başına elde edilen kapsül miktarı 3.53 - 7.10 adet/bitki arasında değişmektedir. Gübre uygulamaları içerisinde en fazla kapsül sayısı kimyasal yarısı ve kimyasal öneri grubunda belirlenmiş, bunu ise vermikompost iki katı grubu izlemiştir. En az kapsül

sayısının kimyasal iki katı uygulamasında bulunduğu görülmekle birlikte diğer uygulama gruplarının istatistiksel anlamda birbirine yakın değerlere sahip olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2). Önceki çalışmalarda Ertuğrul (1986) 5.45 adet/bitki, Telci (1995) 5.97 - 11.47 adet/bitki, Özel ve diğerleri, (2009) 2.57 - 15.97 adet/bitki, Palabıyık ve Aytaç (2018) 5.60 - 9.17 adet/bitki, Kalçın (2003) 4.57 - 13.72 adet/bitki, Ali ve diğerleri, (2015) 10.10 - 18.28 adet/bitki, Baytöre (2011) 5.40 - 7.22 adet/bitki, Kulan ve diğerleri, (2012) 2.93 - 11.05 adet/bitki, Taqi (2013) 4.5 - 4.9 adet/bitki, Turan (2014) 3.533 - 4.058 adet/bitki, Tektaş (2015) 15.23 - 25.10 adet/bitki, Zaitoun (2008) 18 adet/bitki, Safaei ve diğerleri, (2014) 5.6 - 6.1 adet/bitki olarak belirtmişlerdir. Bu çalışma kapsamında elde edilen değerlerin Ertuğrul (1986), Baytöre (2011), Taqi (2013), Turan (2014), Safaei ve diğerleri (2014) ve Palabıyık ve Aytaç (2018) çalışmaları ile uygunluk gösterdiği, ancak Ali ve diğerleri (2015), Telci (1995), Özel ve diğerleri (2009), Kalçın (2003), Kulan ve diğerleri (2012) ve Tektaş (2015)'in elde etmiş oldukları sonuçlardan daha düşük miktarda olduğu görülmüştür. Diğer morfolojik analizlerin sonuçlarında da olduğu gibi, kimyasal gübre uygulamalarında doz ayarlaması oldukça önemlidir ki, yüksek dozlarda meydana gelen fizyolojik etkilerin ve stres şartlarının bir sonucu olarak hem vejetatif hem de generatif büyüme geriliği gözlenebilmektedir.

4.2.5 Kapsül eni ve boyu (mm)

Çalışmada hasat sonrasına kapsül eni 12.92 - 15.06 mm, kapsül boyu ise 13.85 - 16.29 mm aralığında elde edilmiştir. En yüksek kapsül eni kontrol grubuna ait iken, en düşük kapsül eni kimyasal önerilen ve kimyasal iki katı gruplarında bulunmuştur. En yüksek kapsül boyu ise vermikompost önerilen uygulamasında belirlenmişken bunu vermikompost iki katı ve negatif kontrol uygulamaları izlemiştir. Diğer morfolojik verilere benzer bir şekilde en düşük kapsül eni ve boyu kimyasal iki katında uygulamasında tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Bulunan bu değerler Iqbal ve diğerleri (2010)'nin (kapsül eni: 8.91 - 10.35 mm, kapsül boyu: 11.18 - 20.63 mm) ve Hosseini ve diğerleri (2018)'nin (kapsül eni: 8.29 - 9.74 mm, kapsül boyu: 8.62 - 11.33 mm), Ali ve diğerleri (2015)'nin (kapsül eni: 7.1-8.2 mm, kapsül boyu: 9.8-11.7 mm) çalışmalarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.2: *Nigella damascena* bitkisine ait morfolojik veriler.

Gruplar	Bitki Boyu (cm)	Dal Sayısı (adet/bitki)	Kök Uzunluğu (cm)	Kapsül Sayısı (adet/bitki)	Kapsül Boyu (mm)	Kapsül Eni (mm)
Neg. Kontrol	28.00 ± 1.4 ^c	2.30 ± 0.49 ^b	5.33 ± 0.80 ^b	4.16 ± 0.56 ^{bc}	15.90 ± 0.57 ^{ab}	15.06 ± 0.53 ^a
Org. Yarısı	33.04 ± 1.49 ^{ab}	5.00 ± 0.41 ^a	6.88 ± 0.53 ^a	4.55 ± 0.62 ^{bc}	14.09 ± 0.33 ^{cd}	13.25 ± 0.28 ^{de}
Org. Öneri	33.58 ± 1.86 ^{ab}	5.41 ± 0.42 ^a	7.91 ± 0.47 ^a	4.75 ± 0.41 ^{bc}	14.55 ± 0.22 ^{cd}	13.54 ± 0.18 ^{cde}
Org. İki Katı	32.69 ± 1.3 ^b	4.91 ± 0.42 ^a	7.45 ± 0.51 ^a	5.13 ± 0.21 ^{bc}	15.09 ± 0.26 ^{bc}	14.37 ± 0.23 ^{abc}
Verm. Yarısı	33.46 ± 1.6 ^{ab}	4.25 ± 0.67 ^a	7.56 ± 1.11 ^a	4.75 ± 0.52 ^{bc}	14.65 ± 0.42 ^{cd}	14.06 ± 0.42 ^{bcd}
Verm. Öneri	36.20 ± 1.35 ^{ab}	4.77 ± 0.48 ^a	8.30 ± 0.47 ^a	4.61 ± 0.42 ^{bc}	16.29 ± 0.34 ^a	14.70 ± 0.29 ^{ab}
Verm. İki Katı	33.35 ± 1.64 ^{ab}	5.40 ± 0.54 ^a	8.60 ± 0.40 ^a	5.70 ± 0.40 ^{ab}	15.94 ± 0.28 ^{ab}	14.54 ± 0.21 ^{ab}
Kim. Yarısı	37.20 ± 1.54 ^a	5.62 ± 0.38 ^a	7.85 ± 0.39 ^a	7.08 ± 0.41 ^a	14.60 ± 0.22 ^{cd}	13.50 ± 0.19 ^{cde}
Kim. Öneri	33.00 ± 1.45 ^{ab}	5.45 ± 0.62 ^a	8.62 ± 0.68 ^a	7.10 ± 0.60 ^a	14.05 ± 0.21 ^{cd}	12.92 ± 0.19 ^e
Kim. İki Katı	25.03 ± 1.96 ^c	2.61 ± 0.33 ^b	8.61 ± 0.67 ^a	3.53 ± 0.20 ^c	13.85 ± 0.36 ^d	12.93 ± 0.33 ^e

4.3 Verim ve Kalite Analizleri

Verim ve kalite analizleri kapsamında kapsül başına tohum ağırlığı (g/kapsül), bitki başına tohum ağırlığı (g/bitki), bin dane ağırlığı (g), tohum verimi (kg/da), bitki-kapsül elementel analizi, sabit yağ oranı (%), sabit yağ verimi (kg/da) belirlenlenmiştir.

4.3.1 Kapsüldeki tohum ağırlığı (g/kapsül)

Gübre uygulamaları sonucunda gruplarda kapsüldeki tohum ağırlıkları 0.104 - 0.158 g arasında değişiklik göstermekle birlikte en fazla vermikompost yarısı, organik öneri ve kimyasal öneri gübre uygulamalarında bulunmuştur. Ancak istatistiksel analiz sonucunda gruplar arasında herhangi bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p<0.05$) (Çizelge 4.3). *N. sativa* türünde yapılan çalışmalarda Baytöre (2011) 1.27-1.64 g, Telci (1995) 0.822-0.967 g, Saraç (2019) 0.243-0.30 g ve Özdemirel (2019)'in bildirmiş olduğu 0.178-0.251 g değerlerinden daha düşük miktarda elde edilmiştir. Kapsül içindeki tohum ağırlığı açısından, çalışmamızda kullanılan *N. damascena* bitkilerinin sera koşullarında ve saksı ortamında yetiştirilmiş olması, aynı zamanda *N. damascena* tohumlarının *N. sativa* tohumlarına göre daha küçük ve daha hafif olması önceki çalışmalardan farklılığı için değerlendirilebilir.

4.3.2 Bitki başına tohum ağırlığı (g/bitki)

Bitki başına tohum ağırlığı açısından uygulama grupları arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar elde edilmiştir ve bitki başına tohum ağırlıkları 0.32 - 0.87 g/bitki arasında değişmekle birlikte, en yüksek kimyasal öneri grubunda, en düşük ise negatif kontrol ve kimyasal iki katı grubunda izlenmiştir (Çizelge 4.3). Organik ve vermikompost gübre uygulamalarında gübre miktarı arttıkça bitki başına tohum ağırlıklarının arttığı, kimyasal gübre uygulamasında ise önerilen doza kadar artışın olduğu, kimyasal iki katı doz uygulamasında ise ani bir düşüşün olduğu görülmektedir. Bu noktada diğer verim ve kalite analizlerinde olduğu gibi kimyasal gübre uygulamasının belli bir sınırın üzerine çıktığında bitkiyi hızla olumsuz yönde etkileyerek toksisiteye neden olduğu düşünülmüştür. Yapılan diğer çalışmalarda, bitki başına tohum ağırlığı Selicioğlu (2018)'nin gerçekleştirdiği çalışmada 0.23-0.61 g/bitki arasında değişirken, *N.damascena* türünde 0.23 g/bitki olarak bulunmuştur.

Yine Kulan ve diğerleri (2012) tarafından verimin 0.26 - 1.59 g/bitki arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen değerlerin her iki çalışmanın sonuçlarıyla da uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Çörekotu bitkisinde fenolojik, morfolojik ve verim-kalite özelliklerini; çevresel faktörlerin ve sulama miktarı, gübreleme çeşidi - miktarı, ekim zamanı - sıklığı, tohum miktarı gibi farklı yetiştirme tekniklerinin uygulanmasının önemli düzeyde etkilediği yapılmış birçok çalışmayla da desteklenmektedir (Geren ve diğerleri, 1997; Özel ve Demirbilek, 2000; Telci, 1995; Özgüven, 1989; Tuncur ve diğerleri, 2012; Toncer ve Kizil, 2004; Forouzandeh, 2014).

4.3.3 Bin dane ağırlığı (g)

Bin dane ağırlıklarına ait elde edilen bulgular 2.31 - 2.84 g arasında değişmekte olup, en düşük bin dane ağırlığı kimyasal yarı uygulama grubunda bulunurken, en yüksek organik öneri uygulama grubunda tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Duncan testine göre tüm uygulama gruplarının arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p < 0.05$). *N. damascena* türünde bin dane ağırlıkları önceki çalışmalarda Kalçın (2003) 1.597 - 2.065 g, Ertaş (2016) 1.98 - 2.20 g, Selicioğlu (2018) 2.02 g, D'antuono ve diğerleri (2002) tarafından 2 - 2.2 g bulguları elde edilmiştir. *N.sativa* türünde ise bulunan bin dane ağırlıkları; Palabıyık ve Aytaç (2018) 1.23 - 2.62 g, Tektaş (2015) 2.40 - 2.90 g, Özel ve Demirbilek (2000) 1.86 - 2.19 g, Tunçtürk ve diğerleri (2005) 2.40 - 2.65 g, Özel ve diğerleri (2001) 2.05 g, Özel ve diğerleri (2002) 2.8 - 3.1 g, Özel ve diğerleri (2009) 2.30 - 2.40 g, Abdolrahimi ve diğerleri (2012) 2.49 - 3.27 g, Selicioğlu (2018) 1.95 - 2.96 g, Baytöre (2011) 1.97 - 2.30 g, D'antuono ve diğerleri (2002) 2.8 - 3.1 g, Telci (1995) 2.15 - 2.46 g, Ali ve diğerleri (2015) 2.0 - 2.38 g, Geren ve diğerleri (1997) 2.16 - 2.19 g, Bannayan (2008) 1.10 - 2.10 g, Kara ve diğerleri (2015) 2.12 - 2.95 g, şeklindedir. Bu tez çalışmasında bulunan değerler Özel ve Demirbilek (2000), Kalçın(2003) ve Baytöre (2011), Bannayan (2008) tarafından elde edilen bulgulardan yüksek olup, yukarıda bahsi geçen diğer çalışmalarla benzer değerlere sahiptir. Ayrıca bu çalışma Horvat (2017) çalışmasında azot ve fosforlu gübrelemenin verim ve kalite üzerindeki etkisi sonucu elde edilen bin dane ağırlığına da paraleldir. Organik gübrenin, toprak verimliliğini artıran ve mineral yüzeylerde besin elementlerinin mevcudiyetini artırarak bitki büyümesini ve verimini etkileyen birçok unsur içeren bir ürün olduğu pekçok çalışma ile bildirilmiştir ki, (El-

Sharkawy ve Abdel-Razzak, 2010; Ali ve Hassan, 2014) bu çalışmada da özellikle organik gübre uygulamalarının çörek otunun bin tane ağırlığına olumlu etki yaparak ağırlık artışına neden olduğu görülmüştür.

4.3.4 Tohum verimi (kg/da)

Çalışmanın sonucunda tohum verimi bakımından kaydedilen değerler 45.68 - 113.57 kg/da arasında değişmektedir (Çizelge 4.3). Gübre uygulama grupları arasında en yüksek tohum verimi kimyasal öneri grubunda bulunmakta olup, kimyasal iki katı uygulaması hariç diğer uygulama gruplarının negatif kontrole oranla tohum verimini arttırdığı gözlenmektedir. Organik ve vermikompost gübre uygulamalarında doz artışına paralel bir şekilde tohum veriminde arttığı, kimyasal gübre uygulamasında ise doz artışının iki katına kadar arttığı sonrasında ise düşüşün olduğu belirlenmiştir. *N. damascena*'da Ertuğrul (1986) en yüksek tohum verimini 27.3 kg/da, Özgüven ve Tansı (1989) 140 kg/da ve *N. sativa*'da ise 135.5 kg/da, D'Antuono ve diğerleri, (2002), *N. damascena*'da 52.7 – 149.6 kg/da, *N. sativa*'da 40.4 – 101.8 kg/da, arasında belirlemiştir. *N. sativa* türünde yapılan diğer çalışmalarda verimin İlisulu (1992), 80 - 200 kg/da arasında değiştiğini, hatta verimli ve sulanabilir topraklarda bu verimin 250 kg/da'a ulaşabileceğini, Kalçın (2003) 68.39 - 77.48 kg/da, Özel ve diğerleri, (2009) 143.63 - 248.23 kg/da, Telci (1995) 104.38 - 151.95 kg/da, Taqi (2013, 82.86 - 126.96 kg/da ve Akgören (2011) 90.53 - 188.13 kg/da, Selicioğlu (2018) 58.4-122 kg/da arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar Ertuğrul (1986) değerlerinden yüksek, İlisulu (1992), Özel ve diğerleri (2009) ve Akgören (2011)'nin bildirdiği değerlerden düşük, diğer çalışmaların sonuçlarına benzer aralıklarda yer almaktadır.

4.3.5 Sabit yağ oranı (%)

Hasat sonucunda elde edilen tohumların sabit yağ oranına ilişkin değerler incelendiğinde bütün gruplardaki sabit yağ oranı %34-36.48 aralığında değişmektedir (Çizelge 4.3). Tüm uygulama gruplarındaki sabit yağ oranları birbirlerine yakın değerlere sahip olmakla birlikte, en düşük oran negatif kontrol grubunda tespit edilmiştir. Selicioğlu (2018)'nin farklı populasyonlar üzerinde yapmış olduğu çalışmasında sabit yağ oranı %33.8-35.5 aralığında bulunmakla birlikte, populasyonlar içinde en yüksek sabit yağ oranı *N.damascena* türünde (%35.5) bulunmuştur. Yapılan

diğer çalışmalarda sabit yağ oranları Türker (1996) %24.96 - 37.17, Küçükemre (2009) %27.1 - 34.6, Kulan ve diğerleri, (2012) %38.91 - 40.58, Taqi (2013) %27.87 - 31.16, Baytöre (2011) %16.71 - 30.08, Kalçın (2003) %28.08 - 34.29, Kulan ve diğerleri (2012) %38.91 - 40.58, Bannayan ve diğerleri (2007) %25.29 - 29.20, Kara ve diğerleri (2015) %20.6 - 33.6, Şahin (2013) %26.90 - 44.00, Kılıç (2016) %32.28 - 38.17, Özdemirel (2019) %29.14 - 32.98 aralığında değişiklik göstermiştir. Bizim bulgularımız ile diğer araştırmacıların elde etmiş oldukları değerler arasında ki farklılıklar çevresel faktörlerin (ışık, sıcaklık, nem, rakım, bölgesel farklılıklar vb.) yanı sıra, populasyon ve zirai uygulamaların farklılaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.6 Sabit yağ verimi (kg/da)

Hasat sonrası elde edilen tohumların sabit yağ verimi açısından değerlendirilebilmesi için tohum verimi ve sabit yağ oranı önemli kriterlerdir. Bu açıdan tohum verimini ve sabit yağ oranını arttırabilen faktörler (gübreleme, sulama, genetik vb.) sabit yağ verimi üzerinde de etkili olacaktır. Bu tez çalışmasında elde edilen sabit yağ oranları tüm uygulama gruplarında birbirine çok yakın değerlere sahip olduğundan yağ verimini etkileyen en önemli faktör tohum verimi olmuştur. Gruplardaki sabit yağ verimi 15.53 - 41.43 kg/da aralığında değişiklik göstermektedir (Çizelge 4.3). Gübre uygulanmış grupların kontrol grubuna kıyasla daha yüksek yağ verimine sahip olduğu belirlenmiştir ve gübre uygulama grupları arasında en yüksek sabit yağ verimi kimyasal öneri (41.43 ± 2.7 kg/da) grubunda elde edilirken bu gübrenin yüksek dozda uygulanması yağ veriminin düşmesine (17.3 ± 1.6) neden olmuştur. Literatürde sabit yağ verimi uygulama farklılıklarına göre (ekim sıklığı, gübreleme, ekim zamanı, yetiştirme alanı vb.) değişiklik göstermiştir. Ayrıca uygulanacak gübrelerin yağ içeriğini artırma ve ana bileşenlerini değiştirme üzerindeki olumlu yönde etkileri daha önceki çalışmalarda rapor edilmiş ve özellikle organik kökenli gübrelerin sabit yağ verimine daha fazla katkı sağladığı belirtilmiştir (Jhaa ve diğerleri, 2011; Shaalan, 2005; Mahfouz ve Sharaf-Eldin, 2007; Hassan ve Ali, 2013; Valadabadi ve Farahani, 2013).

Yapılmış birçok çalışmada sabit yağ verimi Telci (1995) 36.78 - 52.73 kg/da, Ertaş (2016) 13.4 - 21.0 kg/da, Selicioğlu (2018) 19.7 - 43.3 kg/da, Kamçı (2019) 6.12 -

48.94 kg/da, Akgören (2011) 18.78 - 41.08 kg/da aralığında bulunmuş, sonuçlarımızın bu çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir.



Çizelge 4.3: *Nigella damascena* verim ve kalite analizlerine ait veriler.

Gruplar	Bitki başına tohum ağırlığı (g/bitki)	1000 dane ağırlığı (g)	Tohum verimi (kg/da)	Sabit yağ oranı (%)	Sabit yağ verimi (kg/da)	Kapsül başına tohum ağırlığı (g/kapsül)
Neg. Kontrol	0.33 ± 0.02 ^d	2.40 ± 0.25 ^a	45.68 ± 8.9 ^c	34 ± 0.25 ^d	15.53 ± 1.03 ^e	0.144 ± 0.024 ^a
Org. Yarı	0.36 ± 0.05 ^{cd}	2.78 ± 0.16 ^a	59.72 ± 9.2 ^{bc}	35.01±0.32 ^{bc}	20.9 ± 1.2 ^d	0.111± 0.006 ^a
Org. Öneri	0.44 ± 0.04 ^c	2.84 ±0.25 ^a	69.38±10.31 ^{bc}	36.04 ±0.31 ^a	25 ± 2.31 ^c	0.154± 0.019 ^a
Org. İki Katı	0.55 ± 0.03 ^{bc}	2.42 ±0.25 ^a	86.41 ± 7.4 ^b	36.23 ± 0.21 ^a	31.3 ± 2.4 ^b	0.127± 0.029 ^a
Verm. Yarı	0.36 ± 0.03 ^{cd}	2.51 ±0.25 ^a	53.17 ± 11.34 ^c	34.76 ± 0.26 ^c	18.48 ± 1.34 ^d	0.158± 0.024 ^a
Verm. Öneri	0.41 ± 0.04 ^{cd}	2.34 ± 0.23 ^a	65.53 ± 7.8 ^{bc}	35.68 ± 0.29 ^b	23.38 ± 2.8 ^c	0.128± 0.016 ^a
Verm. İki Katı	0.59 ± 0.06 ^{bc}	2.33 ± 0.18 ^a	77.47 ± 11.2 ^{bc}	36.2 ± 0.2 ^a	28.04 ± 1.4b ^c	0.104± 0.011 ^a
Kim. Yarı	0.66 ± 0.06 ^b	2.31 ± 0.15 ^a	104.55 ± 11.25 ^{ab}	35.44 ± 0.2 ^b	37.05 ± 2.05 ^{ab}	0.117± 0.019 ^a
Kim. Öneri	0.87 ± 0.04 ^a	2.66 ± 0.29 ^a	113.57 ± 5.7 ^a	36.48 ± 0.37 ^a	41.43 ± 2.7 ^a	0.154± 0.019 ^a
Kim. İki Katı	0.32 ± 0.03 ^d	2.33 ± 0.10 ^a	50.21 ± 11.1 ^c	34.6 ± 0.23 ^c	17.3 ± 1.6 ^e	0.133± 0.,026 ^a

4.4 Bitki ve Kapsül Elementel Analizi

Hasat sonrasında vejetatif aksamının ve tohumları çıkarılan kapsüllerin elementel analiz sonuçlarına göre yapılan istatistiki değerlendirme sonuçları Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5’de ifade edilmiştir.

Bitkinin vejetatif kısmı açısından en yüksek N (azot), kimyasal iki katı uygulamasında görülürken bunu vermikompost yarısı uygulaması takip etmiştir. Gübre uygulamaları içinde en düşük N miktarı kimyasal yarısı grubunda görülürken, tüm gruplar içinde en düşük azot kontrol grubunda belirlenmiştir. Öte yandan, fosfor (P) en yüksek organik önerilen uygulamasında bulunmuştur. Organik gübre uygulaması ile potasyum (K) önemli ölçüde artarken, magnezyum (Mg) miktarı tüm gübre uygulamalarında benzer oranlarda belirlenmiştir. Ayrıca kimyasal iki katı uygulamasında kalsiyum (Ca), bakır (Cu) ve mangan (Mn) miktarında önemli bir artışın olduğu gözlemlenirken, demir (Fe) ve çinko (Zn) ise en yüksek vermikompost iki katı uygulamasında elde edilmiştir. Özellikle N, K, Ca, Fe ve Zn açısından kontrol grubu bitkilerin en düşük oranlarda besin element içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Kapsüllerin elementel analizinde ise N, Cu, Mn ve Zn içerikleri en yüksek kimyasal, P, K, Ca içerikleri en yüksek vermikompost, Fe ise en yüksek organik gübre uygulama gruplarında belirlenmiştir. Ayrıca kapsüller açısından Mg elementinin hem vermikompost iki katı hem de kimyasal öneri gruplarında en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, hem vejetatif aksama hem de kapsüle ait element analiz verileri genel olarak *Nigella* bitkisinin gübre uygulamalarıyla birlikte topraktan daha fazla besin elementi alabildiğini göstermiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.4: *Nigella damascena* bitki element analizi.

Gruplar	N (%)	P (%)	K (%)	Mg (%)	Ca (%)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)
Neg. Kontrol	1.42 ± 0.015 ^g	0.55 ± 0.03 ^b	0.35 ± 0.01 ⁱ	0.25 ± 0.005 ^b	2.06 ± 0.31 ^e	10.4 ± 1.87 ^d	25 ± 1.9 ^e	90.4 ± 0.47 ^f	75.1 ± 1.02 ^g
Org. Yarı	1.58 ± 0.025 ^{ef}	0.25 ± 0.02 ^e	1.80 ± 0.01 ^{bc}	0.26 ± 0.01 ^a	2.4 ± 0.02 ^{cd}	12.2 ± 0.26 ^d	35 ± 0.17 ^{bc}	97.1 ± 0.78 ^e	81.9 ± 0.37 ^{ef}
Org. Öneri	1.79 ± 0.02 ^c	0.63 ± 0.01 ^a	1.83 ± 0.01 ^b	0.26 ± 0.005 ^a	2.38 ± 0.01 ^{cde}	7.9 ± 0.25 ^e	36.5 ± 0.56 ^b	77.5 ± 0.58 ^h	123.5 ± 0.57 ^c
Org. İki Katı	1.62 ± 0.005 ^e	0.45 ± 0.01 ^c	1.97 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.01 ^a	2.32 ± 0.02 ^{de}	17.8 ± 0.29 ^c	25.6 ± 0.31 ^e	94.8 ± 0.80 ^e	124.3 ± 1.03 ^c
Verm. Yarı	1.88 ± 0.015 ^b	0.34 ± 0.005 ^d	1.78 ± 0.005 ^c	0.26 ± 0.01 ^a	2.15 ± 0.01 ^{de}	16.8 ± 0.24 ^c	29.3 ± 0.23 ^d	74.1 ± 0.71 ⁱ	99.8 ± 0.64 ^d
Verm. Öneri	1.59 ± 0.005 ^{ef}	0.45 ± 0.02 ^c	0.54 ± 0.01 ^g	0.26 ± 0.005 ^a	2.35 ± 0.01 ^{cde}	6.3 ± 0.08 ^{ef}	34 ± 0.26 ^c	120.5 ± 1.88 ^b	135.8 ± 0.26 ^b
Verm. İki Katı	1.73 ± 0.01 ^d	0.56 ± 0.01 ^b	0.44 ± 0.005 ^h	0.27 ± 0.01 ^a	2.65 ± 0.005 ^{bc}	19.9 ± 0.22 ^b	55 ± 0.19 ^a	115.9 ± 0.82 ^c	159.2 ± 0.27 ^a
Kim. Yarı	1.57 ± 0.01 ^f	0.51 ± 0.02 ^{bc}	1.41 ± 0.01 ^e	0.27 ± 0.02 ^a	2.39 ± 0.005 ^{cde}	5.7 ± 0.07 ^f	26 ± 0.43 ^e	81.4 ± 0.49 ^g	85.2 ± 0.32 ^e
Kim. Öneri	1.74 ± 0.01 ^d	0.53 ± 0.01 ^b	0.88 ± 0.01 ^f	0.27 ± 0.01 ^a	2.88 ± 0.01 ^b	12.4 ± 0.3 ^d	25.4 ± 0.39 ^e	101 ± 0.68 ^d	96.9 ± 0.45 ^d
Kim. İki Katı	1.93 ± 0.01 ^a	0.33 ± 0.01 ^d	1.62 ± 0.02 ^d	0.26 ± 0.01 ^a	3.62 ± 0.02 ^a	23.3 ± 0.56 ^a	26.8 ± 0.13 ^e	132.3 ± 0.69 ^a	79.9 ± 0.43 ^f

Çizelge 4.5: *Nigella damascena* kapsül element analizi.

Gruplar	N (%)	P (%)	K (%)	Mg (%)	Ca (%)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)
Neg. Kontrol	1.38 ± 0.02 b	0.27 ± 0.01 ^{bc}	0.27 ± 0.005 ^{cd}	0.03 ± 0.003 ^{cd}	0.29 ± 0.012 ^d	8.03 ± 0.392 ^c	182.90 ± 1.618 ^b	33.36 ± 1.246 ^f	40.96 ± 1.189 ^e
Org. Yarı	1.30 ± 0.01 bc	0.21 ± 0.0 ^e	0.25 ± 0.005 ^{de}	0.04 ± 0.003 ^{ab}	0.32 ± 0.008 ^{bcd}	3.16 ± 0.218 ^{fg}	276.80 ± 4.794 ^a	40.3 ± 0.360 ^{de}	32.03 ± 1.270 ^g
Org. Öneri	1.25 ± 0.04 c	0.26 ± 0.01 ^{cd}	0.23 ± 0.008 ^e	0.03 ± 0.003 ^{bcd}	0.31 ± 0.008 ^{cd}	3.46 ± 0.437 ^{fg}	84.86 ± 1.940 ^d	41.96 ± 0.961 ^d	24.36 ± 1.596 ^h
Org. İki Katı	1.10 ± 0.02 d	0.25 ± 0 ^{cd}	0.28 ± 0.003 ^{bc}	0.04 ± 0.003 ^{ab}	0.33 ± 0.008 ^{bc}	11.06 ± 0.296 ^b	128.30 ± 1.209 ^c	46 ± 1.677 ^d	52.56 ± 0.993 ^c
Verm. Yarı	1.12 ± 0.02 d	0.23 ± 0 ^{de}	0.17 ± 0.011 ^f	0.04 ± 0 ^{abc}	0.25 ± 0.006 ^e	6.73 ± 0.405 ^d	25.40 ± 1.374 ^f	86.96 ± 1.650 ^b	80.73 ± 0.982 ^b
Verm. Öneri	1.12 ± 0.03 d	0.30 ± 0.01 ^{ab}	0.31 ± 0.005 ^a	0.03 ± 0 ^{de}	0.42 ± 0.012 ^a	2.63 ± 0.260 ^g	122.30 ± 4.321 ^c	55.4 ± 2.722 ^c	48.33 ± 0.938 ^d
Verm. İki Katı	0.91 ± 0.02 e	0.33 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.003 ^{ab}	0.04 ± 0.003 ^a	0.30 ± 0.009 ^d	3.60 ± 0.173 ^{fg}	128.90 ± 1.770 ^c	33.16 ± 1.733 ^f	27.23 ± 1.669 ^h
Kim. Yarı	0.83 ± 0.01 f	0.31 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.005 ^g	0.04 ± 0 ^{abc}	0.26 ± 0.008 ^e	20.36 ± 0.348 ^a	53.93 ± 1.555 ^e	118 ± 4.222 ^a	152.90 ± 2.313 ^a
Kim. Öneri	1.61 ± 0.03 a	0.30 ± 0 ^{ab}	0.25 ± 0.003 ^{de}	0.04 ± 0.003 ^a	0.32 ± 0.011 ^{cd}	3.73 ± 0.218 ^{ef}	81.63 ± 2.008 ^d	24.4 ± 1.307 ^g	36.80 ± 1.059 ^f
Kim. İki Katı	1.53 ± 0.01 a	0.23 ± 0 ^{de}	0.25 ± 0.006 ^{de}	0.03 ± 0.003 ^{bcd}	0.35 ± 0.008 ^b	4.56 ± 0.233 ^e	78.83 ± 1.707 ^d	34.93 ± 1.674 ^{ef}	27.73 ± 0.876 ^h

4.5 Toprak Fizikokimyasal Analizi

Çörek otu yetiştiriciliği açısından en uygun toprak bünyesi killi-tınlı olmasıdır (Baydar, 2009). Çalışmada kullanılan toprakların bünye analizi değerlendirmesinde tüm toprak gruplarının killi tınlı bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Diğer fiziksel özellikler açısından ise tuzsuz (0.22 - 0.47 mmhos/cm), çok kireçli (%16.1 - 23.37), organik madde miktarı yüksek (%4.03 - 5.2) olduğu tespit edilmiştir. Topraklar kimyasal özellikleri bakımından 7.1 - 7.5 pH aralığında hafif alkali, özellikte olduğu görülmüştür. En düşük pH değeri kimyasal iki katı grubunda, en yüksek pH değeri ise kimyasal yarıcı grubunda belirlenmiştir. P, K, Mg, Zn içeriklerinin kimyasal gübre uygulanan topraklarda en yüksek düzeyde; Ca, Fe ve Mn içeriklerinin ise organik gübre uygulamalarında en yüksek düzeye sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.6).

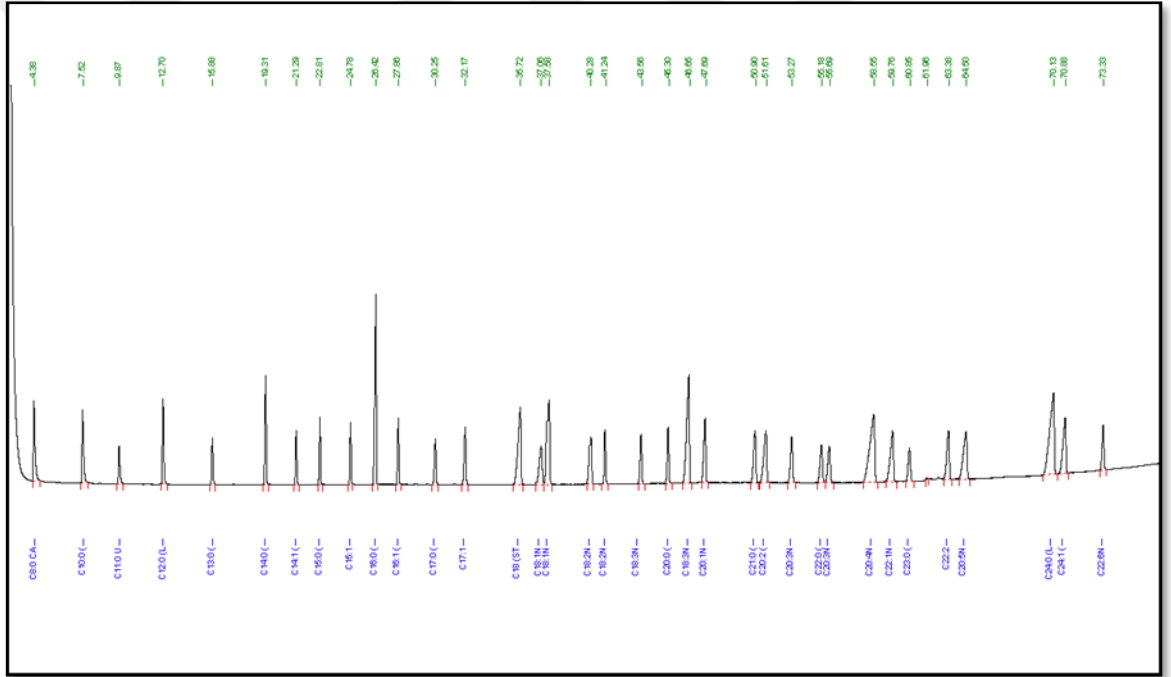
Çizelge 4.6: Toprak örneklerinin fizikokimyasal analizi.

Gruplar	pH	EC mhos/cm	% Kireç (CaCO ₃)	%Organik Madde
Neg. Kontrol	7.356 ± 0.02 ^d	0.38 ± 0.04 ^{ab}	17.77 ± 0.30 ^e	4.030 ± 0.01 ^f
Org. Yarısı	7.486 ± 0.01 ^b	0.24 ± 0.00 ^{bc}	23.03 ± 0.17 ^a	4.740 ± 0.02 ^{cd}
Org. Öneri	7.523 ± 0.00 ^{ab}	0.256 ± 0.02 ^{bc}	18.87 ± 0.17 ^d	5.016 ± 0.02 ^b
Org. İki Katı	7.400 ± 0.03 ^{cd}	0.383 ± 0.00 ^{ab}	22.31 ± 0.17 ^b	4.753 ± 0.00 ^c
Verm. Yarısı	7.490 ± 0.02 ^b	0.220 ± 0.02 ^c	16.10 ± 0.17 ^f	5.173 ± 0.01 ^a
Verm. Öneri	7.473 ± 0.04 ^{bc}	0.303 ± 0.04 ^{bc}	17.63 ± 0.24 ^e	5.023 ± 0.01 ^b
Verm. İki Katı	7.356 ± 0.03 ^d	0.336 ± 0.07 ^{abc}	18.68 ± 0.12 ^d	5.220 ± 0.02 ^a
Kim. Yarısı	7.596 ± 0.02 ^{ab}	0.47 ± 0.04 ^a	23.37 ± 0.21 ^a	4.693 ± 0.02 ^d
Kim. Öneri	7.446 ± 0.02 ^{bc}	0.373 ± 0.07 ^{ab}	20.31 ± 0.09 ^c	5.026 ± 0.01 ^b
Kim. İki Katı	7.196 ± 0.01 ^e	0.366 ± 0.04 ^{abc}	18.06 ± 0.08 ^e	4.286 ± 0.00 ^e

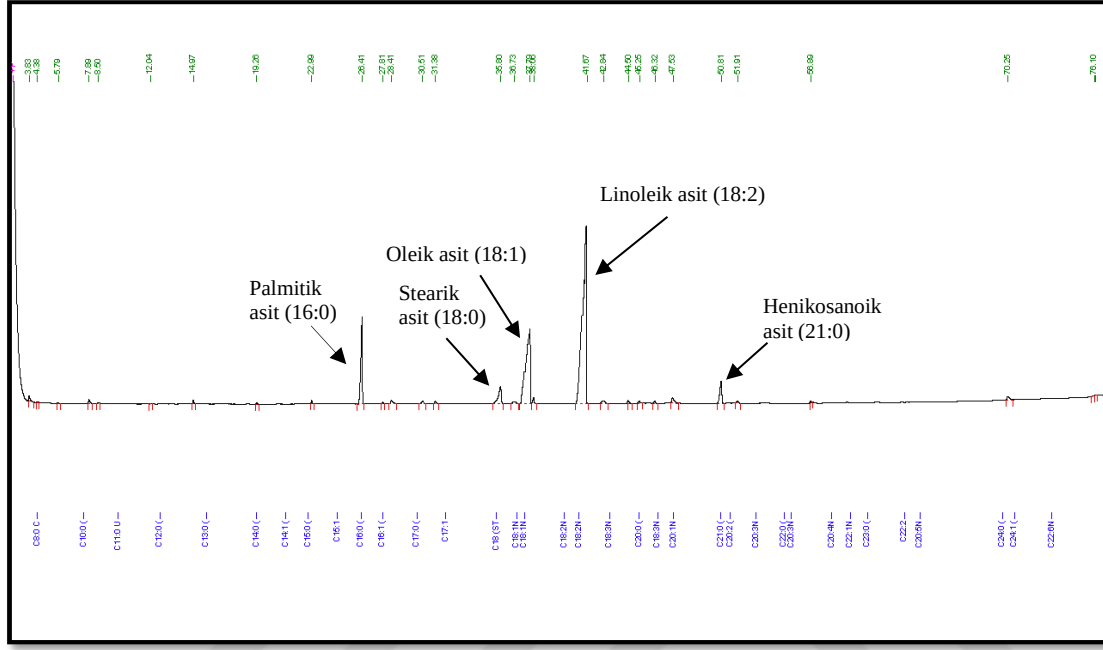
Gruplar	P (%)	K (%)	Mg (%)	Ca (%)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)
Neg. Kontrol	8.32 ± 0.23 ^{def}	72.07 ± 3.48 ^d	6.043 ± 0.10 ^{ab}	14.27 ± 0.45 ^c	3.54 ± 1.74 ^{ab}	3.156 ± 0.21 ^{ab}	16.57 ± 1.07 ^e	1.613 ± 0.10 ^{cde}
Org. Yarısı	9.486 ± 0.58 ^{bcde}	81.03 ± 5.57 ^{cd}	6.513 ± 0.50 ^{ab}	28.39 ± 1.93 ^a	4.413 ± 0.51 ^{ab}	3.153 ± 0.21 ^{ab}	17.07 ± 0.63 ^{de}	1.11 ± 0.27 ^e
Org. Öneri	8.453 ± 0.52 ^{def}	58.64 ± 0.51 ^e	5.513 ± 0.06 ^{ab}	18.58 ± 1.45 ^b	3.116 ± 0.56 ^{ab}	4.08 ± 0.09 ^a	19.38 ± 1.20 ^{bcd}	2.24 ± 0.34 ^{abc}
Org. İki Katı	8.723 ± 0.26 ^{cdef}	75.39 ± 2.08 ^{cd}	5.836 ± 0.41 ^{ab}	11.90 ± 0.89 ^c	1.716 ± 0.36 ^b	3.723 ± 0.14 ^{ab}	28.26 ± 1.26 ^a	1.38 ± 0.49 ^{de}
Verm. Yarısı	10.34 ± 0.49 ^{bcde}	73.96 ± 2.27 ^{cd}	4.65 ± 0.20 ^b	13.14 ± 0.57 ^c	1.716 ± 0.36 ^b	3.086 ± 0.45 ^{ab}	18.48 ± 0.80 ^{bcde}	2.10 ± 0.13 ^{bcd}
Verm. Öneri	7.516 ± 0.39 ^f	71.25 ± 4.22 ^d	5.733 ± 0.08 ^{ab}	14.80 ± 1.38 ^c	7.103 ± 2.92 ^a	3.666 ± 0.35 ^{ab}	20.74 ± 0.34 ^b	2.753 ± 0.04 ^{ab}
Verm. İki Katı	10.00 ± 0.55 ^{bcd}	92.90 ± 3.74 ^b	5.12 ± 0.52 ^{ab}	13.26 ± 0.40 ^c	4.37 ± 1.25 ^{ab}	3.00 ± 0.26 ^b	13.77 ± 0.46 ^f	1.58 ± 0.19 ^{cde}
Kim. Yarısı	10.78 ± 0.43 ^b	84.37 ± 3.92 ^{bc}	5.623 ± 0.93 ^{ab}	15.11 ± 0.33 ^c	1.246 ± 0.17 ^b	2.716 ± 0.25 ^b	17.45 ± 0.32 ^{cde}	1.346 ± 0.06 ^{de}
Kim. Öneri	13.49 ± 0.82 ^a	73.75 ± 4.05 ^{cd}	6.593 ± 0.21 ^a	18.93 ± 1.86 ^b	1.813 ± 0.69 ^b	3.736 ± 0.51 ^{ab}	19.74 ± 0.85 ^{bc}	2.883 ± 0.19 ^a
Kim. İki Katı	8.053 ± 0.67 ^{ef}	105.40 ± 4.37 ^a	6.253 ± 1.21 ^{ab}	14.29 ± 0.84 ^c	4.85 ± 0.34 ^{ab}	3.063 ± 0.25 ^{ab}	16.18 ± 0.29 ^e	2.630 ± 0.17 ^{ab}

4.6 GC-FID’de Sabit Yağ Analizi

N. damascena tohumundan Soxhlet ekstraksiyonu ile sabit yağ elde edildikten sonra analiz için metil esteri hazırlanmış ve GC-FID ile doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimleri standartlarla karşılaştırılarak kalitatif ve kantitatif olarak saptanmıştır (Şekil 4.2). Analiz sonucunda 17 yağ asidi belirlenmiş bu yağ asitlerinin 7’si doymamış (C16:1 Palmitoleik, C18:1 Oleik, C18:2 Linoleik, C18:3n3alpha Linolenik, C20:1 Eikosenoik, C20:2 cis 11.14 eikosadienoik, C24:1 Nervonik), 10’u ise doymuş (C8:0 Kaprilik, C14:0 Miristik, C15:0 Pentadekanoik, C16:0 Palmitik, C17:0 Heptadekanoik, C18:0 Stearik, C20:0 Araşidik, C23:0 Trikosanoik, C24:0 Lignoserik, C21:0 Henikosanoik) yağ asitlerinden oluşmaktadır (Şekil 4.3).



doymamış ve doymuş yağ asitleri sırasıyla Kökdil ve Yılmaz (2005)'de %80.47 - %16.63, Telci ve diğerleri (2014)'de %79 - 21, Matthaus ve Özcan (2011)'de %73.5 - 13.2 olarak bildirilmiştir. Ayrıca Rouhou ve diğerleri (2007) *N.sativa* türünde doymamış yağ asitlerini %77.3 - 74.8 aralığında, doymuş yağ asitlerini ise %22.7-25.5 aralığında bulmuştur.



Şekil 4.3: *Nigella damascena* tohum sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.

Uygulama grupları arasında en fazla toplam doymamış yağ asidi (% 82.44) organik gübre uygulamasında görülmüş ve gübredeki doz artışına paralel olarak linoleik (18:2) ve oleik (18:1) asitlerin yüzdesinin arttığı belirlenmiştir. Vermikompost ve kimyasal gübre uygulamalarında elde edilen toplam doymuş ve doymamış yağ asitlerinin birbirine yakın olmasının yanı sıra en yüksek toplam doymuş yağ asidi vermikompost iki katı (%19.93) uygulama grubunda elde edilmiştir. Ayrıca vermikompost ve kimyasal gübre uygulamalarındaki miktar artışının yağ asitleri oranı üzerinde anlamlı bir katkısı görülmemiştir ($p < 0.05$).

N. damascena türünün ana doymamış yağ asidi olan linoleik asit en fazla organik iki katı (%57.21) en düşük ise kimyasal yarı grubunda (%47.34), oleik asit ise en fazla kimyasal yarı (%32.5), en düşük vermikompost iki katı uygulamalarında belirlenmiştir. Doymuş yağ asitlerinin ana bileşeni olan palmitik asit en fazla kimyasal yarı (%10.77) en düşük ise vermikompost iki katı uygulama grubunda (%9.58) tespit

edilmiştir. Sunulan çalışmada elde edilen bulgular daha önce *Nigella* türlerinde yayınlanan verilerle benzer olmakla birlikte, 4 doymuş yağ asidi ve 1 doymamış yağ asidi varlığı (15:0, 21:0, 23:0, 24:0, 24:1) Kökdilve Yılmaz (2005)'ın, 7 doymuş yağ asidi ve 3 doymamış yağ asidinin varlığı (8:0, 14:0, 15:0, 18:3n3, 20:1, 21:0, 23:0, 24:0, 24:1) Daukšas ve diğerleri (2002)'nin, 6 doymuş yağ asidi ve 1 doymamış yağ asidi (8:0, 14:0, 15:0, 17:0, 23:0, 24:0, 24:1) ise Matthaus ve Özcan (2011)'in bulgularından farklı olarak bulunmuştur. Öte yandan Telci ve diğerleri (2014) bulgularından farklı olarak 6 doymuş yağ asidi ve 3 doymamış yağ asidi (8:0, 14:0, 15:0, 16:1, 17:0, 20:0, 20:2, 24:0, 24:1) tespit edilmiştir (Çizelge 4.7).



Çizelge 4.7: *Nigella damascena* tohum sabit yağının % doymuş ve doymamış yağ asitlerinin kompozisyonu.

Gruplar	Yağ Asitleri	Rt*	Neg.	Org.	Org. İki		Verm.	Verm.	Verm. İki	Kim.	Kim.	Kim. İki
			Kontrol	Yarısı	Org. Öneri	Katı	Yarısı	Öneri	Katı	Yarısı	Öneri	Katı
	C8:0 Caprylic	4.38	0.14 ± 0.005a	0.07 ± 0.005b	0.08 ± 0.005b	0.07 ± 0.005b	0.07 ± 0.005b	0.13 ± 0.005a	-	0.05±0c	0.05±0c	0.07 ± 0.005b
	C14:0 Myristic	19.26	0.11 ± 0.005a	0.1 ± 0.0033a	0.1 ± 0.005a	0.1 ± 0.005a	0.1 ± 0.010a	0.1 ± 0.005a	-	0.09±0.003a	0.1 ± 0.002a	0.1 ± 0.01a
	C15:0 Pentadecanoic	22.99	0.12± 0.005f	0.33 ± 0.006b	0.29 ± 0.011c	0.06 ± 0.005g	0.18 ± 0.011e	0.14 ± 0.005f	0.55 ± 0.008a	0.31±0.008bc	0.14 ± 0.005f	0.23 ± 0.008d
	C16:0 Palmitic	26.41	10.06 ± 0.011c	9.99 ± 0.005d	10.07 ± 0.008c	10.02 ± 0.005d	10.15 ± 0.008b	10.16 ± 0.011b	9.58 ± 0.005f	10.77±0.018a	10.16±0.011b	9.92 ± 0.011e
	C16:1 Palmitoleic	27.81	0.14 ± 0.006ab	0.14 ± 0.005ab	0.16 ± 0.012a	0.16 ± 0.011a	0.15 ± 0.014ab	0.15 ± 0.005a	-	0.13 ± 0.007b	0.16± 0.008a	0.14 ± 0.006ab
	C17:0 Heptadecanoic	30.05	-	0.71 ± 0.011b	-	-	-	-	1.94 ± 0.005a	-	0.41± 0.012c	-
	C18:0 Stearic	35.79	3.85±0.011abc	3.8 ± 0.115bc	3.84 ± 0.008abc	3.82 ± 0.012bc	3.9 ± 0.06a	3.79 ± 0.057bc	3.69 ± 0.057c	3.21 ± 0.011d	3.82±0.017bc	3.9 ± 0.005ab
	C18:1 Oleic	37.79	24.25 ± 1.23b	23.71 ± 1.03bc	23.94 ± 1.07bc	24.23 ± 1.21b	24.14 ± 1.32bc	23.99 ± 1.08bc	23.2 ± 1.023c	32.5 ± 2.21a	24.13 ± 1.82bc	24.2 ± 1.24bc
	C18:2 Linoleic	41.67	56.67 ± 1.24ab	55.33 ± 1.05b	56.02 ± 1.03ab	57.21 ± 1.28a	56.52 ± 1.33ab	56.66 ± 1.12ab	53.42 ± 1.07c	47.34 ± 2.32d	56.3 ± 1.78ab	56.55 ± 1.35ab
	C20:0Arachidic	45.25	0.29 ± 0.005ab	0.28 ± 0.012ab	0.28 ± 0.0115ab	0.28 ± 0.005ab	0.27 ± 0.0115b	0.28 ± 0.0120ab	-	0.21±0.0088c	0.29 ± 0.0145ab	0.31 ± 0.005a
	C18:3n3alpha Linolenic	46.31	0.28 ± 0.012b	0.26 ± 0.003c	0.3 ± 0.008b	0.28 ± 0.012bc	0.29 ± 0.013bc	0.28 ± 0.015bc	-	0.42 ± 0.005a	0.28±0.012bc	0.28 ± 0.003bc
	C20:1 Eicosenoic	47.52	0.54 ± 0.033g	1.22 ± 0.11b	0.94 ± 0.02c	0.44 ± 0.06g	0.57 ± 0.012f	0.75 ± 0.08d	3.46 ± 0.12a	0.69 ± 0.01e	0.82 ± 0.05d	0.46 ± 0.07g
	C21:0 Henicosanoic	50.81	3.24 ± 0.035ab	3.09 ± 0.045c	3.27 ± 0.030a	3.2 ± 0.058abc	3.19 ± 0.037abc	3.17 ± 0.038abc	3.12± 0.0152bc	2.61 ± 0.14d	3.16 ± 0.023abc	3.25 ± 0.020a
	C20:2 cis 11,14 eicosadienoic	51.39	0.14 ± 0.005d	0.35 ± 0.02b	-	-	-	-	-	0.78 ± 0.012a	-	0.24 ± 0.011c
	C23:0 Tricosanoic	60.76	-	-	-	-	-	0.02 ± 0.003a	-	-	-	-

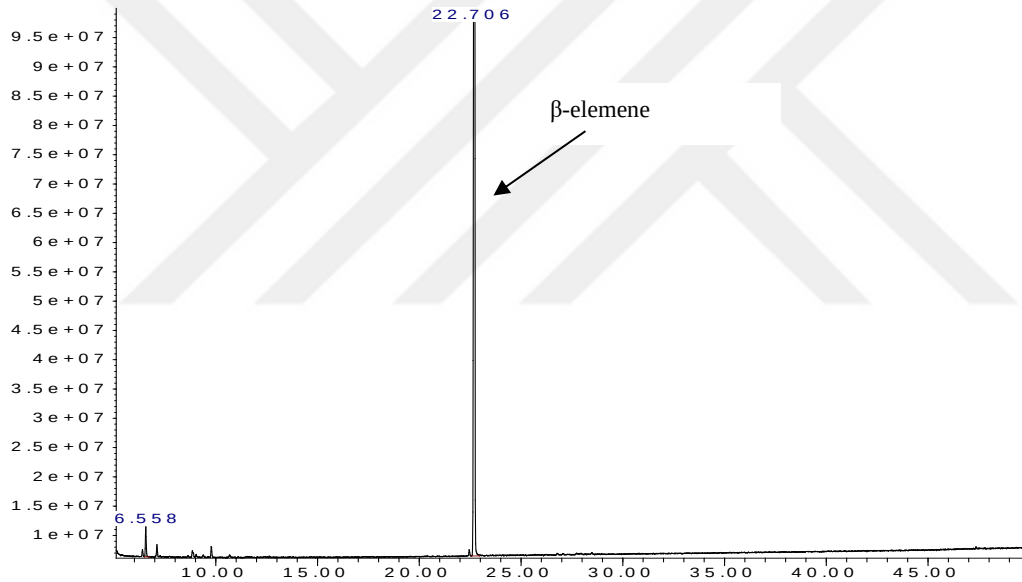
Çizelge 4.7: *Nigella damascena* tohum sabit yağının % doymuş ve doymamış yağ asitlerinin kompozisyonu.
(devamı).

C24:0 Lignoseric	70.24	0.14 ± 0.006g	0.62 ± 0.012d	0.72 ± 0.017c	-	0.47 ± 0.012e	0.39 ± 0.005f	1.05 ± 0.020a	0.88 ± 0.0145b	0.18 ± 0.005g	0.35 ± 0.0185f
C24:1 Nervonic	70.31	-	-	-	0.12 ± 0.007a	-	-	-	-	-	-
Toplam doymamış yağ asitleri (%)		82.02	81.01	81.36	82.44	81.67	81.83	80.08	81.86	81.69	81.87
Toplam doymuş yağ asitleri (%)		17.95	18.99	18.65	17.55	18.33	18.18	19.93	18.13	18.31	18.13
Toplam (%)		99.97	100	100	99.99	100	99.98	100	99.99	100	100

* Rt: Retention time – Alıkonma süresi (dk)

4.7 GC-MS'te Uçucu Yağ Analizi

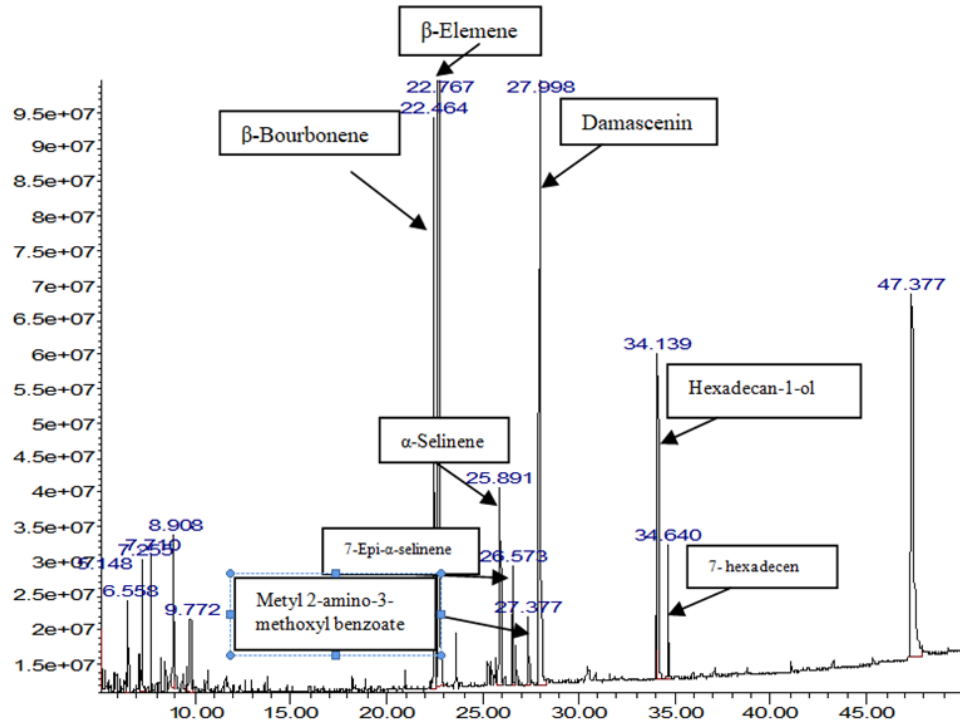
Tohumlardan hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağ bileşenleri GC-MS'te analiz edilmiştir. β -elemene standartına ait (250ppm) kromatogram Şekil 4.4'te, tohumlardan elde edilen uçucu yağın GC-MS analizi sonucu elde edilen kromatogram ise Şekil 4.5'te görülmektedir. β -elemene standartından oluşturulan kalibrasyon eğrisi Ek D1'de verilmiştir. Kromatogramdaki uçucu yağ bileşiklerine ait % miktarlar Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. Uçucu yağ bileşenleri, standart analiz sonucu, bilgisayar kütüphanesinde (W8N08) otomatik arama ve literatürde bileşiklerin kütle spektrumlarının tutulma indeksleriyle karşılaştırılarak tanımlanmıştır (Moretti ve diğerleri, 2004; Tillequin ve diğerleri, 1976; Sieniawska, 2018).



Şekil 4.4: β -elemene standartına ait GC-MS kromatogramı.

Nigella damascena tohumlarından elde edilen uçucu yağın kalitatif ve kantitatif analizi sonucunda kromatogramda 18 farklı bileşiğin varlığı görülmüş ve % (area) miktarları belirlenmiştir. Çalışmada ana bileşiğin %19.47 - 62.32 aralığında β -elemene (seskiterpen) olduğu, bunu da %6.91 - 34.53 aralığında Damascenine (alkoloid) bileşiğinin takip ettiği görülmüştür. Ayrıca uçucu yağ içeriğinde seskiterpenler (7-epi-selinene, cryophyllene, bourboene, β -elemene, selinene) ve alkoloidler (damascenine, methyl 2-amino-3-methoxyl benzoate) yoğun bulunmakla birlikte eser miktarda da monoterpen (p-simen)'e de rastlanmıştır (Şekil 4.4). Uygulama grupları içerisinde en

fazla oranda ana bileşik olan β -elemene'nin organik iki katı (%62.32) grubunda, Damasценine alkoloidinin ise kimyasal iki katı (%34.53) grubunda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Ayrıca bu çalışmada kimyasal iki katı grubu hariç diğer gübre uygulamalarının tümünde kontrole kıyasla daha fazla toplam uçucu yağ içeriği saptanmıştır ve gruplar içinde en yüksek toplam uçucu yağ içeriği (%98.72) kimyasal öneri grubunda elde edilmiştir. Tez çalışmasında tespit edilen uçucu yağ bileşenleri literatürde daha önceden bildirilenlerle de benzerlik göstermektedir (Sieniawska, 2018; Wajs ve diğerleri, 2009).



Şekil 4.5: *Nigella damascena* tohum uçucu yağ bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı.

Literatürde *N. damascena* türüne ait en yüksek β -elemene içeriği %73.2 ile Moretti ve diğerleri (2004) tarafından belirlenmiş olmasına rağmen, Fico ve diğerleri (2003) %49, Wajs ve diğerleri (2009) %59.1, Sieniawska (2018) ise %47.37 oranında elde etmişlerdir. Damasценine alkoloidi ise Wajs ve diğerleri (2009) çalışmasında farklı ekstraksiyon yöntemleri ile %4.6-10.6 arasında farklılaşırken, en fazla damascenine hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilmiştir. Ayrıca damascenine bileşiği Sieniawska (2018) çalışmasında %11.97 oranında bulunmuştur. Çalışmamızda bazı uygulama gruplarında hidrodistilasyon neticesinde elde edilen uçucu yağın yapısındaki ana bileşikler genel itibariyle diğer çalışmalardan daha fazla oranda tespit edilmiştir.

Yapılan alışmalar arasındaki farklılıklar değerlendirildiğinde bitki ekstraktlarının ve uçucu yağların kimyasal bileşimi ile oranları farklı çevresel faktörlerden etkilenir ki, bunların arasında iklim, yetiştirme koşulları veya hasat zamanı en çok üzerinde durulanlardır (Benckiser, 2006). Bu bakımdan Fico ve diğerleri (2003) İtalya’da yetişen tohumları incelemişken, Sieniawska (2018) ve Wajs ve diğerleri (2009) Polonya pazarından temin ettikleri ticari tohumları çalışmış ve elde edilen verilerdeki uçucu yağ bileşenlerinin farklı olmasının sadece bitki kökeninden değil, aynı zamanda bitki yetiştiriciliğinde gerçekleşen değişkenlikten de kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca tıbbi ve aromatik bitki üzerinde yapılan bazı çalışmalarda, gübrelemenin belirli dozlarda birçok uçucu yağ ve sabit yağ bileşenlerini arttırdığı, yüksek dozlarda ise düşürdüğünün belirtilmiş (Rioba ve diğerleri, 2015; Seyyedi ve diğerleri, 2015) olması, çalışmamızda elde edilen sonuçları destekleyici niteliktedir.

Çizelge 4.8: *Nigella damascena* tohum % uçucu yağ kompozisyonu.

Gruplar	Rt	Neg.	Org.	Org.	Org.	Verm.	Verm.	Verm.	Kim.	Kim.	Kim.
Bileşikler	(dk)	Kontrol	Yarısı	Öneri	İki Katı	Yarısı	Öneri	İki Katı	Yarısı	Öneri	İki Katı
p-Cymene	12.623	0.51	-	-	-	-	-	-	-	-	0.58
β-Bourbonene	22.464	2.1	6.41	7.52	4.29	5.76	8.87	8.44	4.79	16.7	0.73
β-Elemene	22.767	37.34	47.45	48.24	62.32	60.77	61.13	42.41	53.09	32.59	19.47
β-Caryophyllene	23.647	-	-	-	-	-	-	-	-	1.92	-
α-Selinene	25.891	1.06	3.04	3.97	1.88	2.83	2.4	3.77	2.18	9.03	0.41
7-Epi-α-selinene	26.573	0.52	1.3	1.78	0.82	1.27	1.62	1.6	0.95	4.03	0.42
Metyl 2-amino-3-methoxyl benzoate	27.377	1.3	0.9	1.38	0.71	0.89	1.43	0.72	1.36	1.48	2.04
Damascenine	27.998	20.29	17.61	23.09	16.04	12.71	6.91	17.17	23	18.13	34.53
Bilinmeyen	30.864	1.14	-	-	-	-	-	-	-	-	1.69
Bilinmeyen	31.850	0.65	-	-	-	-	-	-	-	-	0.95
Bilinmeyen	32.062	0.43	-	-	-	-	-	-	-	-	0.53
Bilinmeyen	32.244	0.93	-	-	-	-	-	-	-	-	0.54
Bilinmeyen	32.866	0.38	-	-	-	-	-	-	-	-	0.48
1.13 tetradecadiene	34.048	0.55	-	-	-	1.01	-	0.96	-	2.15	-
Hexadecan-1-ol	34.139	2.22	3.5	4.02	2.58	4.98	4.13	4.71	2.71	9.02	0.69
Unknown	34.549	0.67	-	-	-	-	-	-	-	-	1.05
7- hexadecen	34.640	1.31	1.38	1.5	1.14	1.8	1.55	1.81	1.08	3.67	0.41
Adipic acide	47.377	4.15	11.14	-	-	0.84	2.37	3.48	-	-	-
Toplam Bileşik (%)		75.55	92.73	91.5	89.78	92.86	90.41	85.07	89.16	98.72	64.52

*



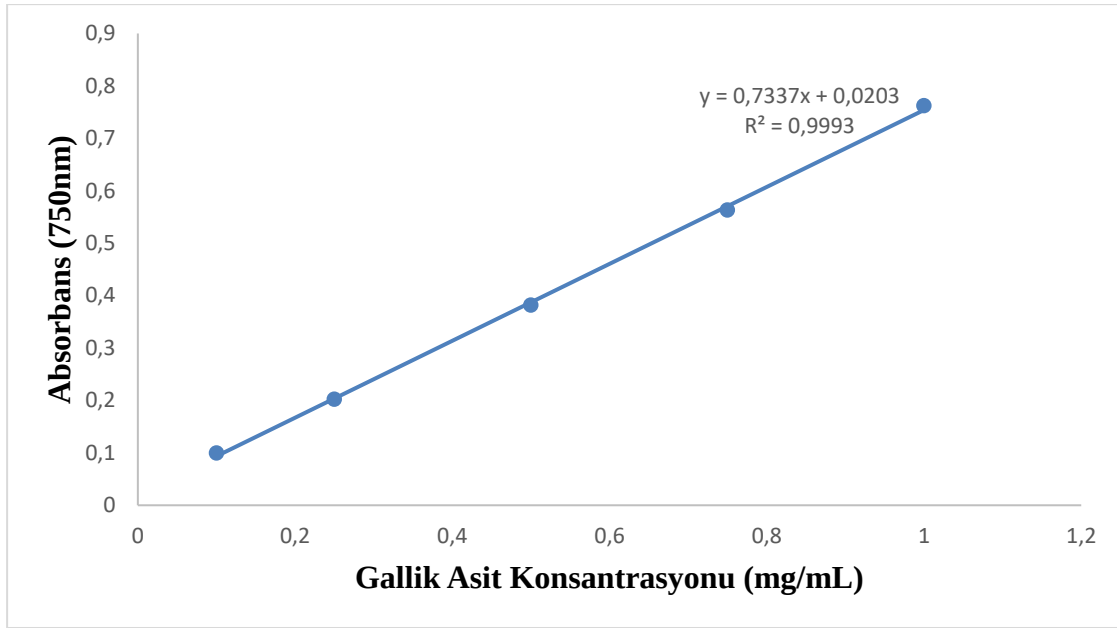
4.8 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Tohumlardan maserasyon yöntemi ile elde edilen metanollü ekstrelerin % olarak verimleri hesaplanmış ve uygulama grupları arasında en fazla % verim organik önerilen (%13.00), en düşük % verim ise kimyasal iki katı (%10.50) grubunda elde edilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9: *Nigella damascena* tohumlarından elde edilen metanol ekstrelerine ait % verimler.

Uygulama Grupları	Ekstre Miktarı (g)	% Verim
Neg. Kontrol	0.66	11.00
Org. Yarısı	0.71	11.83
Org. Öneri	0.78	13.00
Org. İki Katı	0.74	12.30
Verm. Yarısı	0.68	11.30
Verm. Öneri	0.70	11.60
Verm. İki Katı	0.73	12.10
Kim. Yarısı	0.71	11.83
Kim. Öneri	0.77	12.83
Kim. İki Katı	0.63	10.50

Kantitatif tayin için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit (0.1 - 1.0 mg/mL) standartının kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve regresyon denklemi hesaplandıktan sonra kontrol ve uygulama gruplarındaki toplam fenolik bileşik miktarları bu denkleme göre hesaplanmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: Gallik asit kalibrasyon eğrisi.

Uygulama gruplarında elde edilen toplam fenolik bileşik içeriği 0.10 – 0.19 mgGAE/g arasında değişmekte olup en yüksek kimyasal öneri grubunda, en düşük ise hem kontrol hem de kimyasal iki katı gruplarında belirlenmiştir. Gruplar arasında ki farklılıklar istatistiki anlamda önemli bulunmamıştır ($p < 0.05$) (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10: *Nigella damascena* tohumlarının toplam fenolik ve flavonoid içeriği (mg/g).

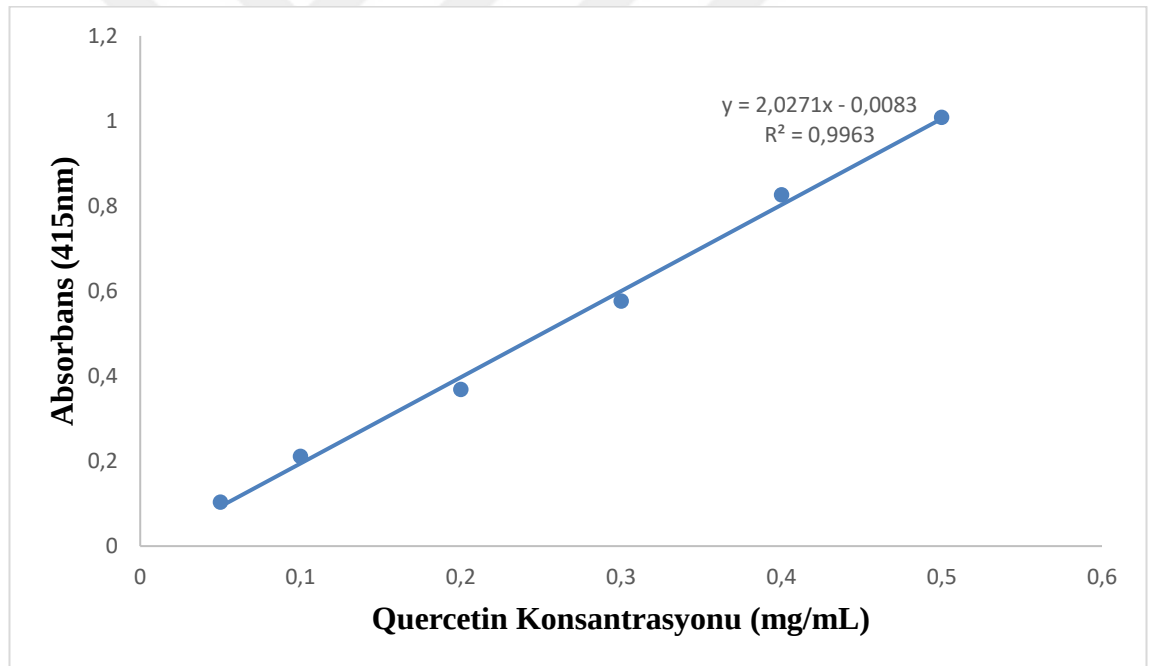
Gruplar	Total fenolik içeriği (mgGAE/g)	Total flavonoid içeriği (mgQE/g)
Neg. Kontrol	0.1036 ± 0.02a	3.15 ± 0.09cde
Org. Yarı	0.1239 ± 0.07a	3.46 ± 0.10abc
Org. Öneri	0.1752 ± 0.01a	3.81 ± 0.07ab
Org. İki Katı	0.1638 ± 0.06a	3.85 ± 0.04a
Verm. Yarı	0.1021 ± 0.09a	3.33 ± 0.20bcd
Verm. Öneri	0.1434 ± 0.01a	3.45 ± 0.06abc
Verm. İki Katı	0.1573 ± 0.08a	3.36 ± 0.17abcd
Kim. Yarı	0.1214 ± 0.06a	2.95 ± 0.10de
Kim. Öneri	0.1965 ± 0.03a	3.68 ± 0.05ab
Kim. İki Katı	0.1025 ± 0.01a	2.73 ± 0.30e

Toplam fenolik bileşik içeriği açısından *N. sativa*'da Thippeswamy ve diğerleri (2005) Soxhlet'te %80 metanol kullanarak elde edilen ekstraktan 4.1 mgGAE/g, öte yandan

oda sıcaklığında maserasyon yöntemi ile Hameed ve diğerleri (2018) %70 etanol ekstraktında 292.5 mgGAE/100 g, Al-Bishri ve diğerleri (2013) tarafından ise %95 etanol ekstraktında 15.8 mg/g olarak bildirilmiştir. Yine Mechraoui ve diğerleri (2018) polaritesi farklı çözücüler kullanarak elde etmiş olduğu ekstraktlardan 0.59 - 1.37 mgGAE/g aralığında toplam fenolik madde tespit etmişlerdir. Bulgularımız yukarıda bahsi geçen çalışmalardan daha düşük miktarda toplam fenolik bileşik elde edilmiştir.

4.9 Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan quercetin standartından (0.05 - 0.5 mg/mL) kantitatif tayin için kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve regresyon denklemi hesaplandıktan sonra tüm uygulama gruplarındaki toplam flavonoid içeriği bu denkleme göre hesaplanmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: Quercetin kalibrasyon eğrisi.

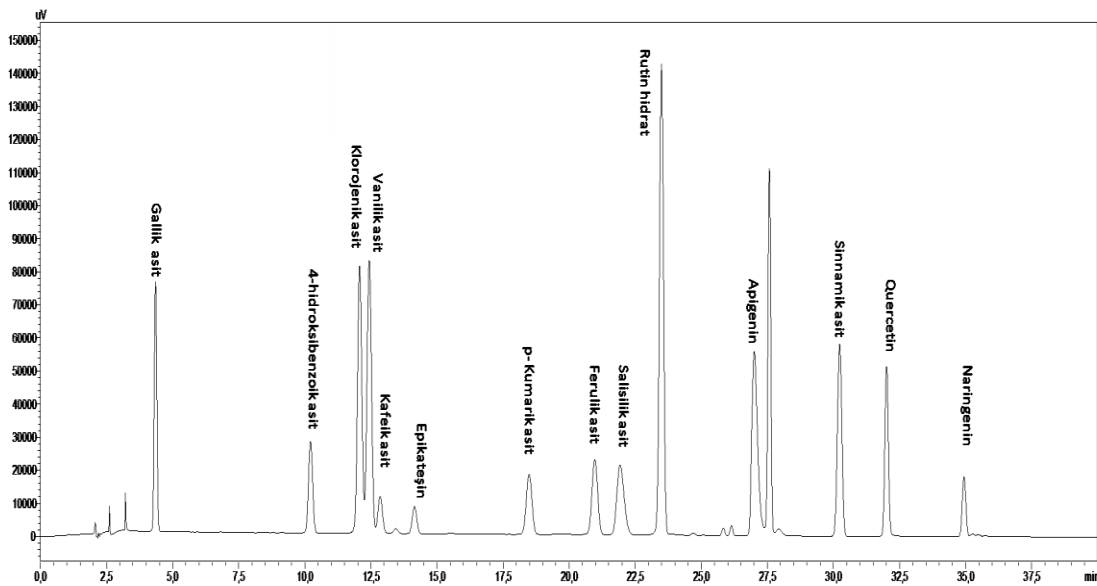
Hesaplamalar sonucunda uygulama gruplarına ait toplam flavonoid içeriği 2.73 – 3.85 mgQE/g arasında değişmiş, organik iki katı uygulamasında daha fazla toplam flavonoid miktarı görülmüştür. Kimyasal yarı ve kimyasal iki katı uygulamaları ise toplam flavonoid açısından en düşük değere sahip olmuştur (Çizelge 4.10). Önceki çalışmalarda *N. sativa*'nın toplam flavonoid içeriği ile ilgili olarak, Ratz-Lyko ve diğerleri (2014) %50 etanol ekstraktında quercetine eşdeğer en yüksek 19.25 mg/g,

Hameed ve diğeri (2018) %70 metanol ekstraksiyonu (maserasyon) sonucunda ekstraktta 188.8 mgQE/100g oranında bildirmişlerdir. Mechraoui ve diğeri (2018) ise %70 metanol ekstraktında 0.44 mgQE/g, %70 aseton ekstraktında ise 0.27 mgQE/g olarak tespit etmiştir. Toma ve diğeri (2015) tarafından Romanya kökenli *N. damascena* tohumlarından %70 etanol ile yapılan maserasyon sonucu elde edilen ekstraktların toplam flavonoid içeriği 14.53 mg/g olarak ifade edilmiştir.

Yetiştirilen bitkilerin gerek vejetatif gerekse generatif kısımlarının toplam fenolik ve flavonoid içeriği üzerine ekolojik ve genotipik farklılıklar, tarımsal uygulamalar gibi pek çok özelliğin etki etmesinin yanı sıra, ekstraksiyon prosedüründe (çözücü, cihaz, zaman vb.) gerçekleştirilen farklılıkların olması da hem kalitatif hem de kantitatif değişikliklere neden olmaktadır.

4.10 HPLC’de Fenolik Bileşik Analizi

Nigella damascena tohumlarından deneysel kısımda belirtilen şekilde, maserasyonla %10.5-13.0 aralığında verime sahip metanol ekstrelerinin fenolik bileşik analizi HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir. Metanol ekstrelerinin HPLC’de kalitatif analizleri için gallik asit, 4- dihidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, epikateşin, p-kumarik asit, ferulik asit, salisilik asit, rutin hidrat, apigenin, sinamik asit, quercetin ve naringenin olmak üzere 14 farklı fenolik bileşik standartı kullanılmıştır (Şekil 4.8). Örneklerde bulunan fenolik bileşenlerin analizleri, ilgili standartlara ait alıkonma zamanlarından yararlanılarak belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

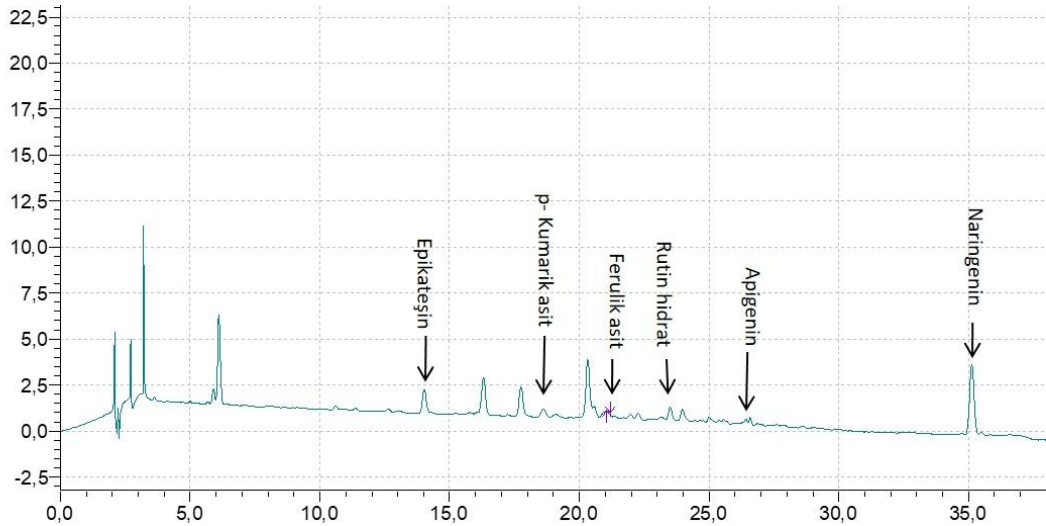


Şekil 4.8: Fenolik bileşik standartlarına ait HPLC kromatogramı.

Çizelge 4.11: Fenolik bileşik standartlarına ait alıkonma zamanları (dk).

Alıkonma Zamanı (Rt)	Standartlar
4.359	Gallik asit
10.301	4-Hidroksibenzoik asit
12.370	Klorojenik asit
12.418	Vanilik asit
13.061	Kafeik asit
14.200	Epikateşin
18.582	p-Kumarik asit
20.906	Ferulik asit
22.095	Salisilik asit
23.420	Rutin hidrat
27.435	Apigenin
30.246	Sinamik asit
32.013	Quercetin
34.783	Naringenin

N. damascena tohum metanol ekstralarının HPLC'deki kromotograma ilişkin fenolik bileşik profili ise Şekil 4.9'de verilmiştir.



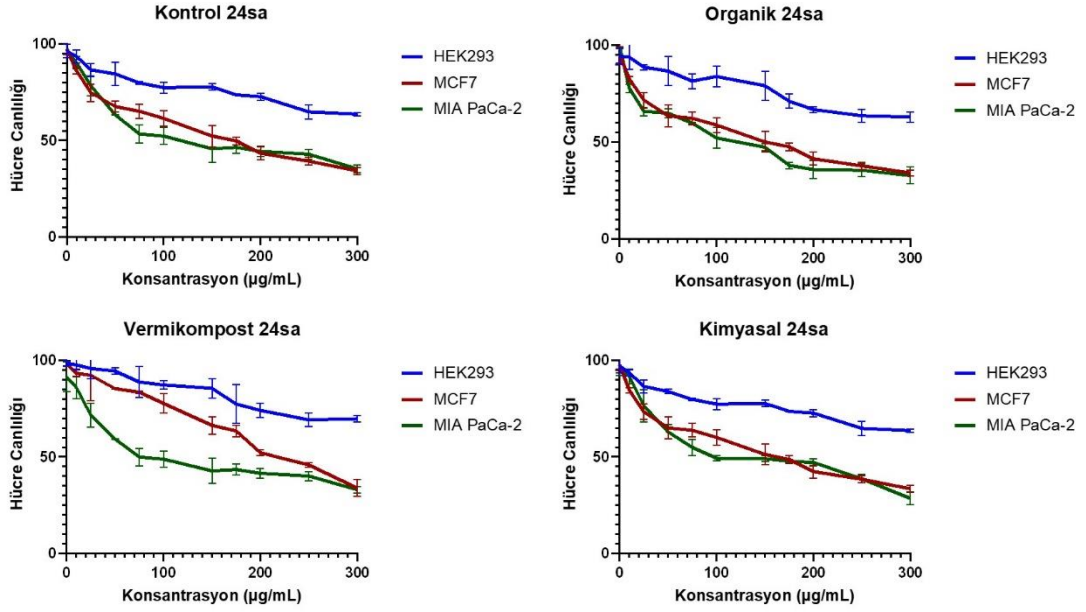
Şekil 4.9: *Nigella damascena* tohum metanol ekstresinde bulunan fenolik bileşiklere ait HPLC kromatogramı.

HPLC'de yapılan analiz sonucunda *N. damascena* tohumlarının yapısında genel itibariyle epikateşin, p-kumarik asit, ferulik asit, rutin hidrat, apigenin ve naringenin

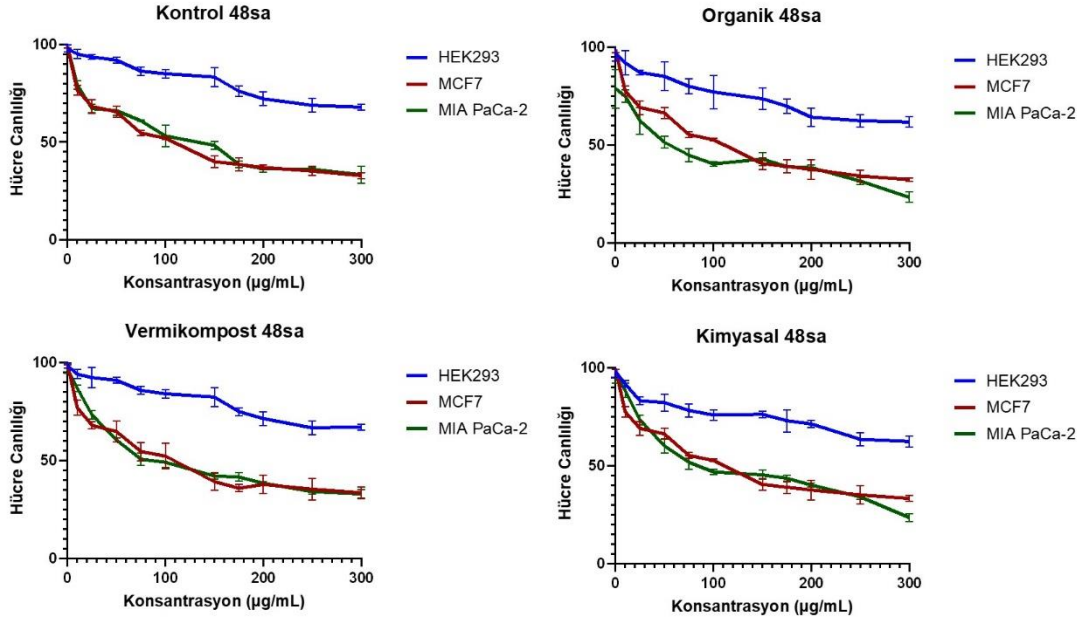
olmak üzere 6 farklı fenolik bileşik tanımlanmıştır. Bu çalışmada belirlenen fenolik bileşikler *Nigella* cinsine ait yapılmış diğer araştırmalarla benzerlik içermektedir (Bourgou ve diğerleri, 2008; Mechraoui ve diğerleri, 2018). Tohumların içeriğinde tespit edilen bu fenolik asit ve flavonoidler güçlü antioksidan olmalarının yanı sıra antibakteriyel, antiviral, antikarsinojenik, antiinflamatuvar ve vazodilatör etkilere sahip olmalarıyla önemlilik arz etmektedirler (Khanam ve diğerleri, 2015). Bitki yetiştiriciliği esnasında uygulanan gübrelerin hem çeşidi hem de uygulanma miktarı bitkilerin yaşamsal faaliyetleri açısından gerekli olan primer metabolitler üzerinde etkili olabileceği gibi, bitkinin diğer yaşamsal fonksiyonlarını ve çevreye karşı adaptasyonunu geliştirmede etkili olan sekonder metabolitlerin üretimini de olumlu ya da olumsuz bir biçimde değiştirmektedir (Sinkovič ve diğerleri, 2015).

4.11 *Nigella damascena* Ekstrelerinin Sitotoksik Aktivite Sonuçları

Bu tez çalışmasında farklı gübrelerin (değişen oranları) uygulanması ile yetiştirilen *N.damascena* bitkisinden hasat edilen tohumların farklı polariteye sahip solventlerle (n-hekzan, metanol) gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstrelerinin sitotoksik aktivitelerini değerlendirmek üzere 3 farklı hücre hattında (MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293) hücre kültürü çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Farklı uygulama gruplarındaki tohumların n-hekzan ekstrelerinin 0-300 µg/mL konsantrasyon aralığında MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarında 24 ve 48 saatlik inkübasyonu sonucundaki % hücre canlılığı Şekil 4.10 ve 4.11’de gösterilmiştir. Benzer şekilde metanol ekstrelerinin (0-300 µg/mL) MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarında ki % indirgeme gücü Şekil 4.12 ve 4.13’de sunulmuştur.



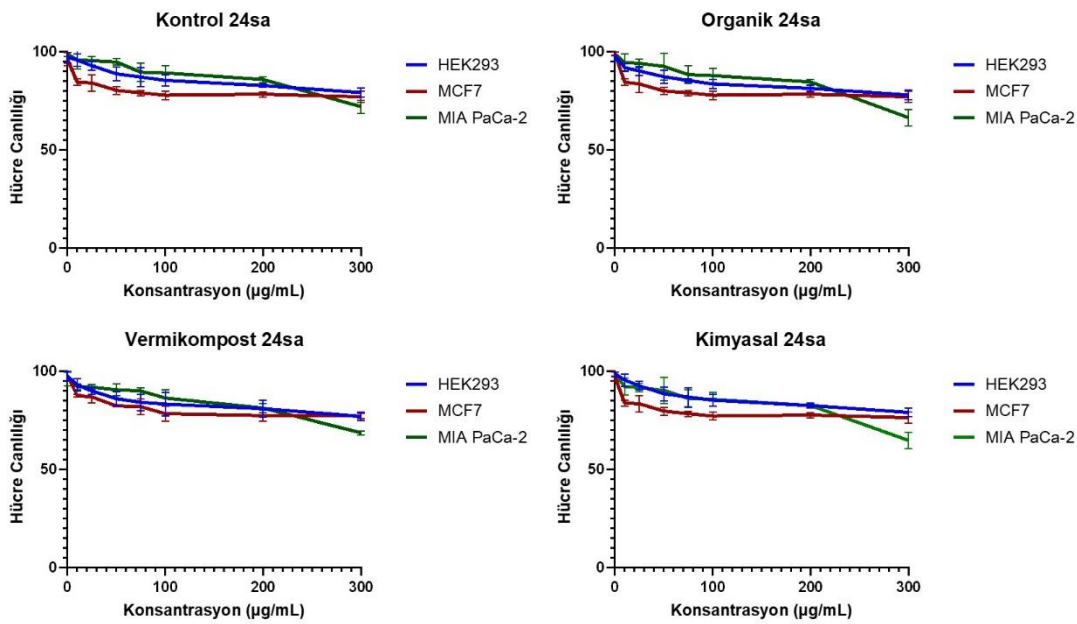
Şekil 4.10: 24 saat n-hekzan ekstresi uygulamasıyla MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarındaki % hücre canlılıkları.



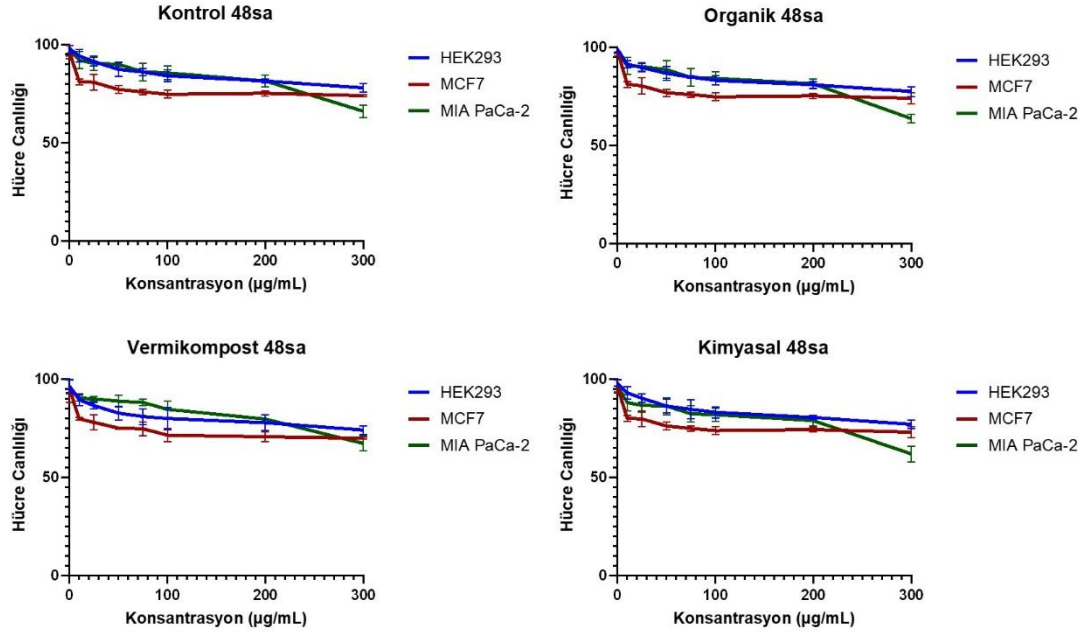
Şekil 4.11: 48 saat n-hekzan ekstresi uygulamasıyla MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarındaki % hücre canlılıkları.

Farklı gübre uygulamaları ile elde edilen tohum ekstraktlarının hücre hatlarına karşı göstermiş olduğu etkiler değerlendirildiğinde hem n-hekzan hem de metanol ekstraktlarında artan konsantrasyona paralel olarak sitotoksitenin de arttığı ve bu etkinin farklı hücre hatlarında değişen oranlarda olduğu gözlemlenmiştir. n-hekzan

ekstresinin 24 saatlik inkübasyonu sonucunda, kanser hücre hatlarından MIA PaCa-2 hücre hattında diğerlerine oranla daha fazla sitotoksik etkiye neden olduğu görülürken, MCF7 hücre hattı üzerinde ancak 48 saatlik inkübasyon sonrasında hücre canlılığında ciddi bir düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Fakat n-hekzan ekstresinin gerek 24 saatlik gerekse 48 saatlik inkübasyonunun HEK 293 hücre hattı canlılığında önemli bir düşüşe neden olmadığı görülmüştür. Böylelikle tohum n-hekzan ekstresinin embriyonik böbrek hücre hattına (HEK 293) kıyasla kanser hücre hatlarına (MCF-7, MIA PaCa-2) karşı daha fazla sitotoksik etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.9 ve 4.10).



Şekil 4.12: 24 saat metanol ekstresi uygulamasıyla MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarındaki % hücre canlılıkları.



Şekil 4.13: 48 saat metanol ekstresi uygulamasıyla MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatlarındaki % hücre canlılıkları.

n-hekzan ekstraktları kendi grupları içerisinde değerlendirildiğinde gübre uygulanmayan (kontrol) grubun MIA PaCa-2, MCF-7, HEK 293 hücre hatlarına en yüksek konsantrasyonda (300 µg/mL) 48 saat sonra sırasıyla %31, %32, %67 oranında canlı hücrenin kaldığı gözlemlenirken, vermikompost grubunun ekstresi aynı hücre hatlarında sırasıyla %32, %33, %66 oranında etki etmiştir. Böylece bu iki uygulama grubunun birbirine yakın değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Tüm uygulama gruplarından 48 saatlik inkübasyon sonrasında organik gübre uygulaması ile yetiştirilen tohumlara ait ekstresinin hücre hatları üzerinde en iyi sitotoksik aktiviteye sahip olduğu, 300 µg/mL konsantrasyonda özellikle MIA PaCa-2 hücrelerinde %22 canlı hücre oranıyla en yüksek toksisite sergilediği, MCF-7 ve HEK 293 hücreleri için ise sırasıyla %32 ve %61 oranında hücre canlılığının olduğu tespit edilmiştir. Kimyasal uygulama grubu açısından ise organik grubunda elde edilen değerlere yakın hücre canlılık değerleriyle sitotoksik aktivite olduğu belirlenmiştir (MIA PaCa-2 - %23, MCF-7 - %33, HEK 293- %62). Ayrıca n-hekzan ekstraktlarının MCF-7 hücrelerine 24 saatlik inkübasyonunun IC₅₀ değerleri bakımından istatistiki olarak ($p < 0.05$) analiz edildiğinde gruplar arasında önemli farklılıkların olduğu, en etkili in vitro sitotoksitenin organik gübre uygulamasında olduğu ve en düşük IC₅₀: 141.05 ± 4.78 µg/mL değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. MIA PaCa-2 hücre hattı için ise en etkili

in vitro sitotoksite gösteren vermikompost uygulaması (IC50:77.65 ± 3.16 µg/mL) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12: n-Hekzan ekstraktlarına ait IC50 değerleri.

n-Hekzan Ekstraktı IC50 Değerleri (µg/mL)(24sa)			
Uygulama Grupları	HEK 293	MCF-7	MIA PACA-2
Kontrol	Belirlenemedi	167.51 ± 17.71b	94.31 ± 1.53b
Kimyasal	Belirlenemedi	158.54 ± 18.31ab	97.54 ± 11.13b
Organik	Belirlenemedi	141.05 ± 4.78a	101.46 ± 9.86b
Vermikompost	Belirlenemedi	226.02 ± 4.81c	77.65 ± 3.16a
n-Hekzan Ekstraktı IC50 Değerleri (µg/mL)(48sa)			
Uygulama Grupları	HEK 293	MCF-7	MIA PACA-2
Kontrol	Belirlenemedi	90.95 ± 2.84a	107.76 ± 11.30c
Kimyasal	Belirlenemedi	93.65 ± 3.19a	78.85 ± 7.05b
Organik	Belirlenemedi	94.65 ± 3.46a	55.16 ± 4.23a
Vermikompost	Belirlenemedi	89.97 ± 13.83a	80.01 ± 2.20b

Metanol ekstresinin ise 3 hücre hattında da n-hekzan ekstraktına kıyasla daha az sitotoksositeye neden olduğu ve gerek sağlıklı gerekse kanser hücre hatlarındaki toksisitenin değişen oranlarda gerçekleştiği görülmüştür (Şekil 4.11 ve 4.12). Metanol ekstresinde n-hekzan ekstresi uygulamalarından elde edilen sonuçlara benzer bir şekilde MIA PaCa-2 hücre hattı üzerine daha etkili olduğu belirlenmiş ve hem 24 saat hemde 48 saat inkübasyon sonunda HEK-293 hücre hattı üzerinde daha az sitotoksositeye neden olduğu görülmüştür. Metanol ekstresi, tüm uygulama gruplarında inkübasyon süresinin artmasıyla, hücre canlılıklarındaki düşüşün artmasına sebep olmuştur. 48 saatlik inkübasyon sonrasında 300 µg/mL konsantrasyonu için en yüksek toksisite MIA PaCa-2 hücrelerinde %39 (hücre ölümü) olarak kimyasal gübre uygulama grubuna ait ekstraktlarda gözlenmiştir. Metanol ekstresinde en yüksek doz (300 µg/mL) 3 hücre hattında da %50 inhibisyon gerçekleştirilemediğinden IC50 değerleri hesaplanamamıştır. Kanser hücre hatlarında metanol ekstresinin en azından %50 inhibisyon gösterebilmesi için daha yüksek konsantrasyonlarda uygulanması gerekmektedir. Ekstraksiyon esnasında kullanılan çözücülerin polarite farklılığına bağlı olarak ekstraktlarda açığa çıkan bileşikler ya da sekonder metabolitlerin farklılığı (fenoller, yağlar, aldehitler, ketonlar, aminler, uçucu yağlar vb.) hücre hatları üzerinde değişen oranlarda sitotoksik aktivitenin ortaya

çıkmasına neden olmaktadır (Roopashree ve Naik, 2019). Bu çalışmada ekstratlarla birlikte açığa çıkarılan apolar bileşikler kullanılan 3 hücre hattı üzerinde polar bileşiklere nazaran daha fazla sitotoksikite göstermiştir.

Yüksek antioksidan aktiviteye sahip birçok bitki özütü ve doğal ürün, farklı hücre dizilerinde sitotoksik etkiler göstermiştir (Yesil-Celiktas ve diğerleri, 2010). Öte yandan, fenolik, flavonoid, uçucu ve sabit yağ gibi sekonder metabolitleri içeren birkaç doğal gıda tüketiminin, özellikle kanser gibi birçok hastalığın riskini azalttığı gösterilmiştir (Ramos ve diğerleri, 2005). *Nigella* cinsine ait in vitro gerçekleştirilen önceki çalışmalarda kullanılan ekstraktlar, dozlar, inkübasyon süreleri ve hücre hatları farklı olsa bile elde edilen verilerin *Nigella* tohum içeriğindeki fitokimyasalların farklı kanser hücre hatlarında (HEp-2, A-549, MCF-7, vb.) değişen oranlarda sitotoksikiteye sahip olduğu gösterilmiştir (Farah ve Begum, 2003; Rooney ve Ryan, 2005; Bourgou ve diğerleri, 2010; Al-Sheddi ve diğerleri, 2014; Ahmad ve diğerleri, 2020). Örneğin, *Nigella* sulu ekstraktlarının in vitro olarak HEp-2 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri bu hücre hatlarına uygulanan ekstraktın en yüksek konsantrasyonunda (1000 µg/mL) 72 saat sonra HEp-2 hücrelerinin sadece %47'sinin canlı olarak kaldığı, daha düşük konsantrasyonlarda (8-250 µg/mL) ise %98 ve %64 oranında canlı hücrelerin bulunduğu tespit edilmiştir (Al-Tayib ve diğerleri, 2017). Yine Ahmad ve diğerleri (2020) 3 farklı coğrafi bölgeden temin edilen (Suudi Arabistan, Pakistan ve Hindistan) *N. sativa* tohumlarından elde edilen n-hekzan ekstresinin %0-40 v/v konsantrasyon aralığında MCF-7 hücre hattı üzerindeki toksisitesini değerlendirmişler, maksimum konsantrasyonda (%40 v/v) %9.4 canlı hücre oranıyla en yüksek toksisiteye Suudi Arabistan tohumlarının sahip olduğunu, bunu sırasıyla Pakistan (%15.6) ve Hindistan (%16.9) tohumlarının takip ettiğini, ayrıca Suudi Arabistan çörek otu numunesinin kül değerinin diğerlerine nazaran, daha kaliteli ve aktif madde miktarı açısından daha iyi olduğunu, tüm numunelerde timokinon'un gözlemlendiğini, ancak faaliyetler açısından yüksek miktarda ve daha fazla etkiyi ortaya koyan Suudi Arabistan örneğinin olduğunu belirtmişlerdir. *N. sativa* tohumlarının ısıtılmasına karşılık gelen yağın aktivitesi ve kimyasal profili üzerindeki etkisi amacıyla MC38 ve L428 hücre hatlarında antikanserojen etkileri değerlendirilerek yağ ekstraksiyonundan önce *N.sativa* tohumlarının ısıtılmasının, kanser hücrelerine karşı daha etkili olan yağ üretimini arttırdığı ve antikanser aktivitesini destekleyen TQ miktarında da değişikliğe neden olduğunu, TQ birikmesine yol açan kimyasal işlemlerin 50 °C ile 150 °C arasındaki sıcaklıklarda gerçekleştiğine, daha yüksek sıcaklıklarda ise TQ miktarında

düşüşün gerçekleştiğine değinilmiştir (Agbaria ve diğerleri, 2015). Yapılan bazı çalışmalar ile bitkisel örneklerin verim ve kalitesi üzerinde pek çok biyotik ve abiyotik faktörlerin etkin bir rol oynadığı, böylece de özellikle tıbbi bitkiler açısından farmakolojik etkilerini azalttığı ya da zenginleştirdiği ifade edilmiştir (Agbaria ve diğerleri, 2015; Yimam ve diğerleri, 2015).

Bu manada hücre hatları üzerinde sitotoksitenin belirlenmesinin önemi, ciddi ve yavaş komplikasyonlarla ilişkili hastalıkların önlenmesine ve korunmasına yardımcı olmak amacıyla bitkiden elde edilen doğal ekstraktların kullanılmasının ve tedaviye yeni yöntemler eklenebilmesinin önünü açmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, temel sağlık sorunlarının yaklaşık %80'i alternatif tıp ajanları kullanılarak başarıyla tedavi edilebilmektedir (WHO, 2003). Bu çerçevede, son zamanlarda literatür verilerinin çoğu, hiperglisemi (diyabetik ajan), kalp hastalığı, enfeksiyöz ve/veya inflamasyon hastalıkları gibi birçok hastalığın tedavisi ve kontrolünde bitki özütlerinin kullanımına odaklanmıştır. Ayrıca bu bitki özütleri farklı kanser hücrelerini de başarıyla tedavi etmiştir (Rabeta ve diğerleri, 2013; Al-Tayib ve diğerleri, 2016). Bununla bağlantılı olarak, bilimsel araştırmacılar, yan etkilerinin ve maliyetin daha az olmasının yanında yaygın tedavi yöntemlerine kıyasla kolayca erişilebilir olması gibi çeşitli avantajlarından ötürü, farklı bitki türlerinden elde edilen doğal ürünlerin doğru bir şekilde kullanımını desteklemektedirler (Listyawati ve diğerleri, 2016). *Nigella damascena* türüne ait yapılan biyolojik uygulamalar oldukça sınırlı olduğundan bu çalışma ile, *N.damascena* n-hekzan ve metanol ekstrelerinin sitotoksik aktivitesi, hücre çoğalmasının doza bağlı inhibisyonu ve kanser hücrelerinde, kanserli olmayan hücreye göre daha aktif olduğunun gösterilmesi bilimsel açıdan son derece önemlidir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Doğanın insanoğluna bahşetmiş olduğu ve yüzyıllar boyunca nesiller tarafından baharat ve şifalı bitki olarak kullanılan *Nigella damascena* (Ranunculaceae) bitkisi, yapısında bulunan değerli sekonder metabolitler sayesinde pek çok hastalık belirtilerini ve semptomlarını hafifletici terapötik bir potansiyele sahip olmasıyla dikkat çekmektedir. *N. damascena* bitkisi sınırlı sayıya sahip önceki çalışmalarda verim - kalite ve farmasötik açıdan değerlendirilmiştir. Fakat bu bitkinin farklı gübre uygulamalarının neticesinde pek çok farklı açıdan etkisinin değerlendirilmesi ilk defa bu tez çalışması ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada gübre uygulamalarının etkisinde bu bitki türünün yetiştirilmesinden hasat dönemine kadar geçen süreçte gerçekleşen vejetatif ve generatif olguların değerlendirilmesinin yanı sıra, sonrasında elde edilen tohumların içeriğindeki birçok sekonder metabolitin (sabit yağ, uçucu yağ, fenolik bileşikler) tanımı ve oranı, ayrıca tohum özütlerinin bazı hücre hatlarındaki biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi söz konusu olmuştur.

Tez çalışmasındaki elde edilen bulgular doğrultusunda uygulanan gübrelerin farklılığına ve dozuna bağlı olarak fenolojik özelliklerin farklı oranlarda etkilendiği belirlenmiştir. Özellikle organik iki katı gübre uygulamasının bitkide daha kısa sürede çimlenmeye ve çiçeklenmeye neden olduğu, organik yarı gübre uygulamasında en kısa vejetasyon süresini sağladığı tespit edilirken, bu dönemlerin kontrol grubunda en uzun sürede gerçekleştiği görülmüştür.

Bitkiler morfolojik açıdan değerlendirildiğinde, kimyasal iki katı hariç tüm gübre uygulamalarının kontrole kıyasla istatistikî açıdan önemli bir şekilde bitki boyu uzunluğunu teşvik ettiği, hatta en uzun bitki boyunun da kimyasal yarı gübre (37.20 ± 1.54 cm) uygulamasına ait olduğu belirlenmiştir. Yine gübre uygulamalarının diğer morfolojik özelliklerin (dal sayısı, kapsül sayısı) gelişimine katkı sağlamış olmasına rağmen, özellikle kimyasal iki katı uygulamasının kontrol grubuna benzer bir etkiye neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca gübre uygulamalarının tümü bitkide kök gelişimini önemli ölçüde desteklemiştir.

Verim ve kalite kriterlerine ait analizlerde, bitki başına tohum ağırlığı, tohum verimi, sabit yağ oranı ve sabit yağ veriminin en yüksek kimyasal öneri grubunda sırasıyla 0.87 ± 0.04 g/bitki, 113.57 ± 5.7 kg/da, %36.48 ± 0.37 ve 41.43 ± 2.7 kg/da olduğu belirlenmiş, ancak hem kimyasal iki katı hem de kontrol grubunda birbirlerine yakın en düşük değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulguların, diğer uygulama

grupları arasında istatistiki açıdan önemli farklılığa sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Fakat bin dane ağırlığı ve kapsül başına tohum ağırlığı kriterlerinde tüm uygulama gruplarında farklı değerler elde edilmesine karşın bu farklılık istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır.

Bitkilerin vejetatif aksamından yapılan element analizi sonucunda, kimyasal iki katı uygulamasının bitkiyi N, Ca, Cu, Mn, organik gübre uygulamasının P ve K, vermikompost iki katı uygulamasının ise Fe ve Zn açısından daha fazla zenginleştirdiği belirlenmiştir. Ayrıca hasat sonucu elde edilen kapsüllerin β t analizinde gübre uygulanan grupların kontrole kıyasla besin element içeriği daha yüksek bulunmuştur. Gerek bitkinin vejetatif aksamında gerekse kapsül kısmında yapılan element analizler doğrultusunda ulaşılan verilerin birbirini destekleyici olması gübre etkinliğinin tesadüfi olmadığını bize göstermektedir. Böylece yapılan gübreleme ile zenginleştirilen topraktan, besin elementlerini bitkiler tarafından alınabilirliğinin artması yönünde fayda sağlayabileceği görülmüştür.

Tohumların fitokimyasal değerlendirmeleri kapsamında, GC-FID yöntemleri ile sabit yağ analizi sonucunda doymamış ve doymuş yağ asitleri bakımından (%80.08 - 82.44 ve %17.55 - 19.93) zengin bir sabit yağ içeriğine sahip olduğu ve gübre uygulamalarının bitkiler üzerinde bu yağ asitlerinin sentezlenmesine katkı sağladığı görülmüştür. Ayrıca daha önceki yapılan çalışmalarda sunulan verilerden daha fazla çeşitte yağ asitlerinin bulunması gübre uygulamasının etkisini desteklemektedir.

Tohumların uçucu yağ içeriğinin GC-MS analizi ile seskiterpenler yönünden zengin ve pek çok farmakolojik etkiye sahip β -elemen'nin (%19.47 – 62.32) ana uçucu yağ bileşiği olduğu belirlenmiştir. Sabit yağ analizine paralel olarak uçucu yağ bileşenlerinden β -elemene en yüksek organik iki katı uygulama grubunda tespit edilmiştir. Buna rağmen özellikle kimyasal gübrenin yüksek dozda uygulanması toplamda üretilen uçucu yağ üretimini olumsuz yönde etkileyerek tüm uygulama grupları içinde en düşük seviyede olmasına sebebiyet vermiştir.

Tohumların toplam fenolik madde miktarı ve toplam flavonoid içerikleri uygulama grupları açısından değişkenlik göstermekle birlikte, diğer bulgulara benzer nitelikte kimyasal gübrenin yüksek dozda uygulanması bu fitokimyasalların üretimine ket vurarak daha düşük miktarlarda sentezlenmelerine neden olmuştur.

Fenolik bileşiklerin HPLC-PDA yöntemi ile yapılan analizi sonucunda, *N. damascena* tohumlarında önemli farmasötik etkilere sahip olan 6 farklı fenolik bileşen (epikateşin, p-kumarik asit, ferulik asit, rutin hidrat, apigenin ve naringenin) tanımlamış olup,

özellikle kontrol grubunda daha az fenol tespit edilmiştir. Bu da uygulanan gübrelerin birçok sekonder metabolit sentezini teşvik ettiğinin bir göstergesi olmuştur.

Nigella damascena tohumlarının n- hekzan ve metanol ekstralarının 0-300 µg/mL doz aralığında 24 ve 48 saatlik inkübasyon ile MCF-7, MIA PaCa-2, HEK 293 hücre hatları üzerinde oluşturduğu sitotoksik aktivite düzeylerinin Alamar mavisi testi ile değerlendirilmesi sonucunda aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

- Gübre uygulamalarına ait tüm n- hekzan ekstralarının hem 24 hem de 48 saatlik inkübasyonda özellikle MIA PaCa-2 hücre hattı üzerinde daha fazla sitotoksik aktiviteye neden olduğu ve doz artışına paralel bir şekilde hücre canlılığının da azaldığı belirlenmiştir.
- n-Hekzan ekstralarının MCF7 hücre hattı üzerinde özellikle inkübasyon süresinin uzaması (48 sa) ile birlikte hücre canlılığında önemli bir düşüşe neden olduğu gözlemlenmiş ve gruplar arasında IC50 değerlerinin istatistiki açıdan farklı olmadığı görülmüştür ($p < 0.05$).
- Metanol ekstresinin 3 hücre hattı arasından en fazla MIA PaCa-2’da toksisiteye neden olduğu belirlenmiş olmasına rağmen bu ekstralar gerek 24 gerekse 48 saatlik inkübasyon açısından 0-300 µg/mL doz aralığında %50 inhibisyon gerçekleştirmemiştir. Metanol ekstresinin daha yüksek konsantrasyonlarda kanser hücre hatlarına in vitro olarak uygulanması hücre canlılığında ki düşüşü arttırarak antikanser aktivite sergilemesine neden olabilir.
- Hem metanol hem de n-hekzan ekstralarının (0-300 µg/mL) 48 saatlik inkübasyon sonrasında bile embriyonik böbrek hücre hattı (HEK 293) üzerinde %50 inhibisyonu gerçekleştirmediği görülmüştür. Bu doğrultuda sonuçların *Nigella damascena* bitki tohum ekstralarının sitotoksik etkiden ziyade antikanser özelliğinin daha güçlü olabileceği konusuna ışık tutmaktadır.
- Uygulanan gübreler sonucunda elde edilen ekstraların, hücre hatları üzerindeki etkinliği ve indirgeme gücü farklılaşmıştır.

n-Hekzan ekstresinde bulunan pek çok doymuş ve doymamış yağ asitleri, metanol ekstresinin içeriğindeki fenolik bileşiklere kıyasla özellikle kanser hücre hatları üzerinde daha fazla sitotoksik etkiye neden olmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda bu yağ asitlerinin kanser hücre hatlarına karşı seçici toksisite göstermesi antikanser bir yaklaşımı akla getirmektedir. Öte yandan, fenolik ve flavonoid gibi önemli fitokimyasalları içeren birçok doğal gıda tüketiminin pek çok hastalık riskini özellikle

de kanser riskini azalttığı bilinen bir gerçektir ki, tedavilerde etki eden maddenin dozu da oldukça önemlidir (Ramos ve diğerleri, 2005).

In vitro bulgular, *N. damascena* ekstrelerinin potansiyel olarak birçok kanser türünün tedavisinde kullanılabilen etkili terapötik ajanların geliştirilmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. *N. damascena*'nın anti-kanser etkilerinin altında yatan hücresel ve moleküler mekanizmalara ışık tutmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca, çeşitli *N. damascena* özütlerinin güçlü anti-kanser etkilerini öne süren klinik öncesi, deneysel kanıtlar olmasına rağmen, *N. damascena* özütlerinin anti-kanser potansiyeline doğrudan işaret eden klinik ve önleyici çalışmalar hala eksiktir. Gelecekteki çalışmalar, *N. damascena* ekstrelerinin bildirilen anti-kanser etkileri ile preklinik ve klinik ortamlarda kanser önleme/tedavisi arasında doğrudan bir bağlantı kurmaya odaklanmalıdır.

Sonuç olarak bu tez çalışması ile bitki yetiştiriciliğinde yapılacak gübrelemenin çeşidi ve uygulanacak dozun son derece önemli olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, tüm gübre muamelelerinin kontrole kıyasla Şam çörek otu bitkilerinin büyüme özelliklerini geliştirdiğini, verim ve kalite bileşenlerini arttırdığını göstermektedir. Ayrıca sekonder metabolit sentez mekanizmasını teşvik edici yönde bir potansiyel etkisinin olduğu görülmüştür. Bu manada içeriğinde değerli sekonder metabolitleri (sabit yağ, uçucu yağ, fenoller) bulunduran kaliteli çörekotu tohumlarının elde edilmesi tarımda doğru miktarda doğru gübre ile sağlanabilir. Günümüzde sürdürülebilir bir tarım için, çevrenin ve doğal tarım kaynaklarının korunması, toprak yapısını iyileştirerek daha yüksek verime sahip bitkisel üretimin gerçekleştirilmesi ve beraberinde gıda güvenliğinin sağlanması oldukça önemlidir. Genel anlamda çevresel tehlikeleri en aza indirmek amacıyla, kimyasal gübre kullanımının azaltılması veya tamamen ortadan kaldırılması, buna alternatif doğa dostu organik gübrelerin kullanımının yaygınlaştırılması ve bu konuyla ilgili daha fazla akademik araştırmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdelmeguid, N. E., Fakhoury, R., Kamal, S. M., & Al Wafai, R.J. (2010). Effects of *Nigella sativa* and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β -cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of diabetes*, 2(4), 256-266.
- Abdolrahimi, B., Mehdikhani, P., Tappe, A. H. G. (2012). The effect of harvest index, yield and yield components of three varieties of black seed (*Nigella sativa*) in different planting densities. *International Journal of Agricultural Sciences*, 2, 93-101.
- Abedi, A. S., Rismanchi, M., Shahdoostkhany, M., Mohammadi, A., & Mortazavian, A. M. (2017). Microwave-assisted extraction of *Nigella sativa* L. essential oil and evaluation of its antioxidant activity. *Journal of food science and technology*, 54(12), 3779-3790.
- Ackland, M. L., Van de Waarsenburg, S. Jones, R. (2005). Synergistic antiproliferative action of the flavonols quercetin and kaempferol in cultured human cancer cell lines. *In vivo*, 19(1), 69-76.
- Agbaria, R., Gabarin, A., Dahan, A., & Ben-Shabat, S. (2015). Anticancer activity of *Nigella sativa* (black seed) and its relationship with the thermal processing and quinone composition of the seed. *Drug design, development and therapy*, 9, 3119.
- Agradi, E., Fico, G., Cillo, F., Francisci, C., & Tomè, F. (2001). Estrogenic activity of phenolic compounds from *Nigella damascena* evaluated using a recombinant yeast screen. *Planta medica*, 67(06), 553-555.
- Agradi, E., Fico, G., Cillo, F., Francisci, C., & Tome, F. (2002). Estrogenic activity of *Nigella damascena* extracts, evaluated using a recombinant yeast screen. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 16(5), 414-416.
- Aharoni A, Jongsma MA, Bouwmeester HJ (2005). Volatile science? Metabolic engineering of terpenoids in plants. *Trends Plant Sci.* 10:594-602.
- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(5), 337-352.
- Ahmad, R., Ahmad, N., Mohd, A., Aljhısi, F., Alamer, M. H., Al-Shaban, H. R., & Aslam, K. (2020). Variation in *Nigella sativa* quality and its standardization via instrumental analysis: A study based on geographical origin. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(3), 1141-1154.
- Ahmed NU, Haque KR (1986) Effect of RowSpacingand Time of Showing on The Yield of Black Cumin (*Nigella sativa*), Bangladesh of Agriculture; 11 (1), p 21-24.
- Ait Mbarek, L., Ait Mouse, H., Elabbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., & Zyad, A. (2007). Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(6), 839-847.
- Akgören, G. (2011). Bazı Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Popölasyonlarının Tarımsal Özellikleri. Basılmamaış Yüksek Lisans Tezi) Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Aksoy, T., (1988). "Tarımda Torfun Önemi ve Türkiye'deki Torf Yatakları". Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi,1(1),1-10.

- Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11), 1720-1731.
- Al Tayib, O., El Badwi, S. (2016). Assessment of ameliorative effects of aqueous extracts of *Moringa oleifera* on acetaminophen induced nephrotoxicity in rats. *IOSR Journal of Humanities and Social Science*, 21(9).
- Alam, M. N., Jahan, M. S., Ali, M. K., Ashraf, M. A., & Islam, M. K. (2007). Effect of vermicompost and chemical fertilizers on growth, yield and yield components of potato in barind soils of Bangladesh. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(12), 1879-1888.
- Alamgir, A. N. M. (2017). Therapeutic use of medicinal plants and their extracts: volume 1. Springer International Publishing AG..
- Al-Bishri, W., & Danial, E. N. (2013). Comparative study on the antioxidant, antimicrobial activities and total phenolic content of selected seeds from Saudi Arabia. *J. Food Agric. Environ*, 11, 202-207.
- Al-Ghamdi, M.S. (2001). The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *Journal of ethnopharmacology*, 76(1), 45-48.
- Ali, B. H., Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research: An international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 17(4), 299-305.
- Ali, E., Hassan, F. (2014). Bio-production of *Nigella sativa* L. seeds and oil in Taif area. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 3(1), 315-328.
- Ali, M.M.K., Hasan, M.A., Islam, M.R. (2015). Influence of fertilizer levels on the growth and yield of black cumin (*Nigella sativa* L.). *The Agriculturists*, 13(2), 97-104.
- Alizadeh, A., Khoshkhui, M., Javidnia, K., Firuzi, O., Tafazoli, E., & Khalighi, A. (2010). Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L.(Lamiaceae) cultivated in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(1), 033-040.
- Aljabre, S. H. M., Randhawa, M. A., Akhtar, N., Alakloby, O. M., Alqurashi, A. M., & Aldossary, A. (2005). Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 116-119.
- Al-Sheddi, E. S., Farshori, N. N., Al-Oqail, M. M., Musarrat, J., Al-Khedhairi, A. A., & Siddiqui, M. A. (2014). Cytotoxicity of *Nigella sativa* seed oil and extract against human lung cancer cell line. *Asian Pac J Cancer Prev*, 15(2), 983-987.
- Alsulami, A. L., & Gull, M. (2018). Screening of Antimicrobial Potential and Bioactive Components of Selected Medicinal Plants Against Infectious Bacterial Isolates From Leukemia Patients. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 6(5), 836-849.
- Al-Tayib, O., ElBadwi, S. M., & Bakhiet, A. O. (2017). Cytotoxicity assay for herbal melanin derived from *Nigella sativa* seeds using in vitro cell lines. *IOSR-JHSS*, 22(10), 43-51.
- Al-Yahya, M. A. (1986). Phytochemical studies of the plants used in traditional medicine of Saudi Arabia. *Fitoterapia*.
- Aminifard, M. H., & Ahmadi, F. (2018). Effects of fulvic acid and cow manure on stigma active components and petal Antiradical Activity of saffron (*Crocus sativus* L.). *Saffron agronomy and technology*, 6(4), 415-428.

- Anulika, N. P., Ignatius, E. O., Raymond, E. S., Osasere, O. I., & Abiola, A. H. (2016). The chemistry of natural product: Plant secondary metabolites. *Int. J. Technol. Enhanc. Emerg. Eng. Res*, 4, 1-8.
- Ara, N., Choudhury, S., & Amin, R. (2005). In vitro antimicrobial activity of the volatile oil of *Nigella Sativa* linn seeds. *TAJ: Journal of Teachers Association*, 18(2), 109-112.
- Arabacı, O., Kılıç, C. (2016). The Effect of Different Sowing Times and Seed Rate on the Yield and Quality of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(2), 49-56.
- Arslan, N. (1993). Ekim Zamanı ve Bitki Sıklığının Çörek Otunun (*Nigella sativa* L.) Verimine Etkisi. *Uluslararası Katılımlı Bitkisel İlaç Hammaddeleri Bildiri Toplantısı*, 73-80.
- Artukoglu, M., Uzmay, A., & Olgun, A. (2002). An evaluation of medicinal and aromatic plant trade in the world, in the EU and in Turkey. *Agro Food Industry Hi Tech*, 13(6), 19-24.
- Awad, E. M., & Binder, B. R. (2005). In vitro induction of endothelial cell fibrinolytic alterations by *Nigella sativa*. *Phytomedicine*, 12(3), 194-202.
- Awadalla, E. A. (2012). Ameliorative effect of the crude oil of the *Nigella sativa* on oxidative stress induced in rat testes by cisplatin treatment. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 2(4), 265-268.
- Ayberk, S. (2002). Toprak Ekosistemlerinde Fiziksel ve Kimyasal Bozulma. *Kocaeli Üniversitesi Basımevi, Kocaeli*.
- Aygün, Y., & Acar, M. (2004). Organik gübreler ve önemi. *Hasat Dergisi*, 228, 68-72.
- Ayhan, B. (2012). *Nigella sativa* L. Bitkisi Üzerine Fitoterapötik Çalışmalar. *Gazi Üniversitesi Sağ. Bil. Enst. Farmakognozi Anabilim Dalı Fitoterapi Programı*, Ankara.
- Aziz, E. E., El-Danasoury, M. M., & Craker, L. E. (2010). Impact of sulfur and ammonium sulfate on dragonhead plants grown in newly reclaimed soil. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 16(2), 126-135.
- Aziz, E. E., & El-Ashry, S. M. (2009). Efficiency of slow release urea fertilizer on yield and essential oil production of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) plant. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 5(2), 141-147.
- Bacca, A., Ceretta, C. A., Kulmann, M. S. D. S., Souza, R. O. S., Ferreira, P. A. A., Rodrigues, L. A. T., ... & Brunetto, G. (2020). Residual and immediate effect after 16 applications of organic sources on yield and nitrogen use efficiency in black oat and corn. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 44.
- Back, S. A., Khan, R., Gan, X., Rosenberg, P. A., & Volpe, J. J. (1999). A new Alamar Blue viability assay to rapidly quantify oligodendrocyte death. *Journal of neuroscience methods*, 91(1-2), 47-54.
- Badary, O. A., & Gamal, A. E. D. (2001). Inhibitory effects of thymoquinone against 20-methylcholanthrene-induced fibrosarcoma tumorigenesis. *Cancer detection and prevention*, 25(4), 362-368.
- Baj, T., Kowalski, R., Swiatek, L., Modzelewska, M., & Wolski, T. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of the essentials oil of hyssop (*Hyssopus officinalis* L. ssp. *officinalis*). *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska*, 23(3), 55-62.
- Balandrin, M. F., & Klocke, J. A. (1988). Medicinal, aromatic, and industrial materials from plants. In *Medicinal and Aromatic Plants I* (pp. 3-36). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
- Balavandi, Z., Neshasteh-Riz, A., Koosha, F., Eynali, S., Hoormand, M., & Shahidi, M. (2020). The use of β -Elemene to enhance radio sensitization of A375 human melanoma cells. *Cell Journal (Yakhteh)*, 21(4), 419.
- Bannayan, M., Nadjafi, F., Azizi, M., Tabrizi, L., & Rastgoo, M. (2008). Yield and seed quality of *Plantago ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Industrial Crops and products*, 27(1), 11-16.
- Baser, K., Demirci, B., Dönmez, A., & Ugurlu, Z. (2010). Composition of the volatiles and fixed oils of the seeds of *Nigella* species. *Planta Medica*, 76(12), P153.
- Başer, K. (1995). Tıbbi Bitkiler. *Bilim ve Teknik*, 331, 76-79.
- Baydar, H. (2009). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi (Geniştirilmiş 3. Baskı). *SDÜ Yayınları*, (51), 194-212.
- Bayrak, O., Bavbek, N., Karatas, O. F., Bayrak, R., Catal, F., Cimentepe, E., ... & Akcay, A. (2008). *Nigella sativa* protects against ischaemia/reperfusion injury in rat kidneys. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 23(7), 2206-2212.
- Baytop, T. (1984). Therapy with Medicinal Plants in Turkey (Past and Present) No: 3255. Publications of Istanbul University, Istanbul, 453.
- Baytöre, F. (2011). Bazı çörekotu (*Nigella sativa* L.) populasyonlarının verim ve verim kriterlerinin belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi).
- Benckiser, G., & Schnell, S. (Eds.). (2006). Biodiversity in agricultural production systems. CRC Press.
- Bender, D., Erdal, İ., Dengiz, O., Gürbüz, M., & Tarakçıoğlu, C. (1998, September). Farklı organik materyallerin killi bir toprağın bazı fiziksel özellikleri üzerine etkileri. In International Symposium On Arid Region Soil. International Agrohydrology Research And Training Center, Menemen, İzmir (pp. 506-510).
- Benhaddou-Andaloussi, A., Martineau, L. C., Vallerand, D., Haddad, Y., Afshar, A., Settaf, A., & Haddad, P. S. (2010). Multiple molecular targets underlie the antidiabetic effect of *Nigella sativa* seed extract in skeletal muscle, adipocyte and liver cells. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 12(2), 148-157.
- Benhaddou-Andaloussi, A., Martineau, L., Vuong, T., Meddah, B., Madiraju, P., Settaf, A., & Haddad, P. S. (2011). The in vivo antidiabetic activity of *Nigella sativa* is mediated through activation of the AMPK pathway and increased muscle Glut4 content. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
- Bennett, R. N., & Wallsgrove, R. M. (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New phytologist*, 127(4), 617-633.
- Bernard, W. (2014). Stewart and Christopher P. Wild.: World cancer report, ISBN 978-92-832-0429-9.
- Berti, A., Morari, F., Dal Ferro, N., Simonetti, G., & Polese, R. (2016). Organic input quality is more important than its quantity: C turnover coefficients in different cropping systems. *European Journal of Agronomy*, 77, 138-145.
- Bohari, S. N., Romeli, C. A. R. C., Ahmad, N., Azmi, A. I., Zaki, N. A. M., & Rasam, A. R. A. (2020). The Impacts of Different Types of Slopes on Soil Fertility Movement of Harumanis Mango. In *Charting the Sustainable Future of ASEAN in Science and Technology* (pp. 23-35). Springer, Singapore.

- Bordoni, L., Fedeli, D., Nasuti, C., Maggi, F., Papa, F., Wabitsch, M., ... & Gabbianelli, R. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Nigella sativa* oil in human pre-adipocytes. *Antioxidants*, 8(2), 51.
- Boskabady, M. H., Mohsenpoor, N., & Takaloo, L. (2010). Antiasthmatic effect of *Nigella sativa* in airways of asthmatic patients. *Phytomedicine*, 17(10), 707-713.
- Bouasla, I., Bouasla, A., Boumendjel, A., Messarah, M., Abdenmour, C., Boulakoud, M. S., & El Feki, A. (2014). *Nigella sativa* oil reduces aluminium chloride-induced oxidative injury in liver and erythrocytes of rats. *Biological trace element research*, 162(1-3), 252-261.
- Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., & Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1), 48-55.
- Bourgou, S., Pichette, A., Marzouk, B., & Legault, J. (2010). Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. *South African Journal of Botany*, 76(2), 210-216.
- Bourgou, S., Pichette, A., Marzouk, B., & Legault, J. (2012). Antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and antibacterial activities of extracts from *Nigella sativa* (black cumin) plant parts. *Journal of Food Biochemistry*, 36(5), 539-546.
- Breitmaier, E. (2006). Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. John Wiley & Sons. bridge University Press: Cambridge, 1964.
- Buchanan, M. A., Russell, G., & Block, S. D. (1988). Chemical characterization and nitrogen mineralization potentials of vermicomposts derived from differing organic wastes. *Earthworms in waste and environmental management*/edited by Clive A. Edwards and Edward F. Neuhauser.
- Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*, 14(5), 323-328.
- Camargo, J. A., & Alonso, A. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, 32, 831-849.
- Camarillo, I. G., Xiao, F., Madhivanan, S., Salameh, T., Nichols, M., Reece, L. M., ... & Sundararajan, R. (2014). Low and high voltage electrochemotherapy for breast cancer: An in vitro model study. *Electroporation-Based Therapies for Cancer*, 55-102.
- Cao, A., He, H., & Zhou, X. (2016). Meta-analysis of Elemene Injection Combined with Radiotherapy in Treating Brain Metastasis of Lung Cancer. *Tradi Chin Drug R & C Pharmacol*, 27(6), 880-886.
- Capasso, F., Gaginella, T. S., Grandolini, G., & Izzo, A. A. (2003). *Phytotherapy: a quick reference to herbal medicine*. Springer Science & Business Media.
- Cartea, M. E., Francisco, M., Soengas, P., & Velasco, P. (2011). Phenolic compounds in *Brassica* vegetables. *Molecules*, 16(1), 251-280.
- Chandini, K. R., Kumar, R., & Prakash, O. (2019). The Impact of chemical fertilizers on our environment and ecosystem. *Research Trends in Environmental Sciences*, 69-86.
- Chatzopoulou, P. S., Koutsos, T. V., & Katsiotis, S. T. (2006). Study of nitrogen fertilization rate on fennel cultivars for essential oil yield and composition. *Journal of vegetable science*, 12(2), 85-93.
- Chehl, N., Chipitsyna, G., Gong, Q., Yeo, C. J., & Arafat, H. A. (2009). Anti-inflammatory effects of the *Nigella sativa* seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells. *Hpb*, 11(5), 373-381.

- Chen, Y., Xu, J., Yu, H., Qing, C., Zhang, Y., Wang, L., & Wang, J. (2008). Cytotoxic phenolics from *Bulbophyllum odoratissimum*. *Food Chemistry*, 107(1), 169-173.
- Chen, W., Lu, Y., Wu, J., Gao, M., Wang, A., & Xu, B. (2011). Beta-elemene inhibits melanoma growth and metastasis via suppressing vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 67(4), 799-808.
- Chew, K. W., Chia, S. R., Yen, H. W., Nomanbhay, S., Ho, Y. C., & Show, P. L. (2019). Transformation of biomass waste into sustainable organic fertilizers. *Sustainability*, 11(8), 2266.
- Chikezie, P. C., Ibegbulem, C. O., & Mbagwu, F. N. (2015). Bioactive principles from medicinal plants. *Research Journal of Phytochemistry*, 9(3), 88-115.
- Comin, J. J., Loss, A., da Veiga, M., Guardini, R., Schmitt, D. E., de Oliveira, P. A. V., ... & Brunetto, G. (2013). Physical properties and organic carbon content of a Typic Hapludult soil fertilised with pig slurry and pig litter in a no-tillage system. *Soil Research*, 51(5), 459-470.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., Lewis, N. G., & Buchanan, B. (2000). Biochemistry and molecular biology of plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, 1250-1318.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2006). Phenols, polyphenols and tannins: an overview. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*, 1.
- Çam, S. A. (2019). Deneysel Alzheimer Hastalık Modeli Oluşturulan Sıçanlarda *Nigella Sativa* L. ve Timokinon'un Etkileri (Doctoral dissertation, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Daneshkhan, M., Kafi, M., & Nikbakht, A. (2007). Effects of different levels of nitrogen and potassium fertilizers on flower yield and essential oil content of *Rosa damascena* Mill. from Barzok of Kashan.
- D'Antuono, L. F., Moretti, A., & Lovato, A. F. (2002). Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. *Industrial crops and products*, 15(1), 59-69.
- David, B., Wolfender, J. L., & Dias, D. A. (2015). The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*, 14(2), 299-315.
- Davis, P. H. (Ed.). (1965). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands: Volume One-[three]*. The University Press.
- Demir, H., Polat, E., & Sönmez, İ. (2010). Ülkemiz için yeni bir organik gübre: solucan gübresi. *Tarım aktüel*, 14, 54-60.
- Dexter, A. R., Richard, G., Arrouays, D., Czyż, E. A., Jolivet, C., & Duval, O. (2008). Complexed organic matter controls soil physical properties. *Geoderma*, 144(3-4), 620-627.
- Diacono, M., & Montemurro, F. (2011). Long-term effects of organic amendments on soil fertility. In *Sustainable agriculture volume 2* (pp. 761-786). Springer, Dordrecht.
- Dictionary, M. W. (2016). Available at: www.merriam-webster.com/dictionary/apology. Accessed May, 24.
- Diez T, Krauss M (1997) Wirkung langjähriger Kompostdüngung auf Pflanzenenertrag und Bodenfruchtbarkeit. *Agribiol Res* 50:78–84.

- Domingo-Olivé, F., Bosch-Serra, À. D., Yagüe, M. R., Poch, R. M., & Boixadera, J. (2016). Long term application of dairy cattle manure and pig slurry to winter cereals improves soil quality. *Nutrient cycling in agroecosystems*, 104(1), 39-51.
- Dorman, H. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
- Duman, İ., & Algan, N. (2012). Organik tarımda ekim nöbeti uygulaması. *Organik Tarım*. (Güncellenmiş 2. Baskı). Ankara.
- Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11(1), 1-42.
- Edmeades, D. C. (2003). The long-term effects of manures and fertilisers on soil productivity and quality: a review. *Nutrient cycling in Agroecosystems*, 66(2), 165-180.
- Edwards, C.A, and Bohlen, P.J. (1996) *Biology and Ecology of Earthworms*. 3rd. Ed. Chapman and Hall, New York. Effect of beta-elemene in glioblastoma cells depends on p38 MAPK
- Efremova, M. P., Ivasheva, A. V., & Korokin, M. V. (2017). Study of pharmacological activity of *Nigella damascena* fixed oil in experiment. *Research Results in Pharmacology*, 3(4).
- El-Aziz, M. A. A., Hassan, H. A., Mohamed, M. H., Meki, A. R. M., Abdel-Ghaffar, S. K., & Hussein, M. R. (2005). The biochemical and morphological alterations following administration of melatonin, retinoic acid and *Nigella sativa* in mammary carcinoma: an animal model. *International journal of experimental pathology*, 86(6), 383-396.
- El-Mahdy, M. A., Zhu, Q., Wang, Q. E., Wani, G., & Wani, A. A. (2005). Thymoquinone induces apoptosis through activation of caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells. *International journal of cancer*, 117(3), 409-417.
- El-Sharkawy, G. A., & Abdel-Razzak, H. S. (2010). Response of cabbage plants (*Brassica oleraceae* var. *capitata* L.) to fertilization with chicken manure, mineral nitrogen fertilizer and humic acid. *Alex. Sci. Exch. J*, 31, 416-432.
- Erkan, N., Ayranci, G., & Ayranci, E. (2008). Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food chemistry*, 110(1), 76-82.
- Erşahin, Y. Ş. (2007). Vermikompost ürünlerinin eldesi ve tarımsal üretimde kullanım alternatifleri. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2007(2), 99-107.
- Ertaş, M. E. (2016). Tokat Kazova Ekolojik Koşullarında Kışlık Ve Yazlık Ekilen Çörek Otu (*Nigella* sp.) Genotiplerinin Agronomik ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri, Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 49s, Tokat.
- Ertuğrul Y (1986) Çörek otunda (*N. damascena* L.) Farklı Ekim Zamanlarının Verim ve Kaliteye Etkisi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana
- Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S., & Casati, P. (2012). Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in plant science*, 3, 222.
- Farag, M. A., Gad, H. A., Heiss, A. G., & Wessjohann, L. A. (2014). Metabolomics driven analysis of six *Nigella* species seeds via UPLC-qTOF-MS and GC-MS coupled to chemometrics. *Food chemistry*, 151, 333-342.

- Farah, I. O., & Begum, R. A. (2003). Effect of *Nigella sativa* (*N. sativa* L.) and oxidative stress on the survival pattern of MCF-7 breast cancer cells. *Biomedical Sciences Instrumentation*, 39, 359-364.
- Faro, A. (2016). Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015.
- Ferreira, D., Adega, F., & Chaves, R. (2013). The importance of cancer cell lines as in vitro models in cancer methylome analysis and anticancer drugs testing. *Oncogenomics and cancer proteomics-novel approaches in biomarkers discovery and therapeutic targets in cancer*, 139-166.
- Fico, G., Braca, A., Tomè, F., & Morelli, I. (2000). Phenolic derivatives from *Nigella damascena* seeds. *Pharmaceutical biology*, 38(5), 371-373.
- Fico, G., Braca, A., Tomè, F., & Morelli, I. (2001). A new phenolic compound from *Nigella damascena* seeds. *Fitoterapia*, 72(4), 462-463.
- Fico, G., Bader, A., Flamini, G., Cioni, P. L., & Morelli, I. (2003). Essential oil of *Nigella damascena* L. (Ranunculaceae) seeds. *Journal of Essential Oil Research*, 15(1), 57-58.
- Fico, G., Panizzi, L., Flamini, G., Braca, A., Morelli, I., Tomè, F., & Cioni, P. L. (2004). Biological screening of *Nigella damascena* for antimicrobial and molluscicidal activities. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 468-470.
- Firn, R. (2010). *Nature's chemicals: the natural products that shaped our world*. Oxford University Press on Demand.
- Forouzandeh, M., Karimian, M. A., & Mohkami, Z. (2014). Effect of water stress and different types of organic fertilizers on essential oil content and yield components of *Cuminum cyminum*. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 4(3), 533-536.
- Gali-Muhtasib, H., Diab-Assaf, M., Boltze, C., Al-Hmaira, J., Hartig, R., Roessner, A., & Schneider-Stock, R. (2004). Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *International journal of oncology*, 25(4), 857-866.
- Gan, R. Y., Chan, C. L., Yang, Q. Q., Li, H. B., Zhang, D., Ge, Y. Y., & Corke, H. (2019). Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains. In *Sprouted Grains* (pp. 191-246). AACC International Press. gastric adenocarcinoma cells. *Int J Mol Sci*. 2013;14:10075-10089
- Georgiev, V., Ananga, A., & Tsoleva, V. (2014). Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients*, 6(1), 391-415.
- Geren, H., Bayram, E., & Ceylan, A. (1997). Çörekotu (*Nigella sativa* L.)'nda farklı ekim zamanları ve fosforlu gübre uygulamasının verim ve kaliteye etkisi. *Türkiye*, 2, 22-25.
- Ghamarnia, H., Khosravy, H., & Sepehri, S. (2010). Yield and water use efficiency of (*Nigella sativa* L.) under different irrigation treatments in a semi arid region in the West of Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(16), 1612-1616.
- Ghannadi, A., Hajhashemi, V., & Jafarabadi, H. (2005). An investigation of the analgesic and anti-inflammatory effects of *Nigella sativa* seed polyphenols. *Journal of medicinal food*, 8(4), 488-493.
- Gharibi, D., Ghorbanpoor, N. M., & Mohabat, A. (2012). Study of antibacterial activity of ethanol extract from *Nigella sativa* against some important veterinary bacterial pathogens.

- Gholamnezhad, Z., Havakhah, S., & Boskabady, M. H. (2016). Preclinical and clinical effects of *Nigella sativa* and its constituent, thymoquinone: A review. *Journal of ethnopharmacology*, 190, 372-386.
- Ghosh, A., & Datta, A. K. (2006). Karyotyping of *Nigella sativa* L.(black cumin) and *Nigella damascena* L. (love-in-a-mist) by image analyzing system. *Cytologia*, 71(1), 1-4.
- Ghosheh, O. A., Houdi, A. A., & Crooks, P. A. (1999). High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 19(5), 757-762.
- Gong, W., Yan, X., Wang, J., Hu, T., & Gong, Y. (2009). Long-term manure and fertilizer effects on soil organic matter fractions and microbes under a wheat–maize cropping system in northern China. *Geoderma*, 149(3-4), 318-324.
- Gradiz, R., Carvalho, L., Silva, H., Nobre, R. J., Botelho, M. F., & Mota-Pinto, A. (2012). MIA PaCa-2 pancreas cancer cell line–Phenotypic and genotypic characterization. *Pancreatology*, 12(6), 547.
- Grimm, E. A., Thoma, J. A., & Bonavida, B. (1979). Mechanism of Cell-Mediated Cytotoxicity at the Single Cell Level: II. Evidence for First-Order Kinetics of T Cell-Mediated Cytolysis and for Heterogeneity of Lytic Rate. *The Journal of Immunology*, 123(6), 2870-2877.
- Guerriero, G., Hausman, J. F., Strauss, J., Ertan, H., & Siddiqui, K. S. (2016). Lignocellulosic biomass: biosynthesis, degradation, and industrial utilization. *Engineering in life sciences*, 16(1), 1-16.
- Güner, A., & Aslan, S. (Eds.). (2012). Türkiye bitkileri listesi:(damarlı bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları.
- Hadjzadeh, M., Khoei, A., Parizadeh, M., & Hajzadeh, Z. (2006). The effects of ethanolic extract of *Nigella Sativa* seeds on ethylene glycol induced kidney stones in rat.
- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., & Jafarabadi, H. (2004). Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(3), 195-199.
- Hanafy, M. S. M., & Hatem, M. E. (1991). Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *Journal of ethnopharmacology*, 34(2-3), 275-278.
- Hanson, J. R. (2003). Natural products: the secondary metabolites (Vol. 17). Royal Society of Chemistry.
- Hao, X., & Chang, C. (2003). Does long-term heavy cattle manure application increase salinity of a clay loam soil in semi-arid southern Alberta? *Agriculture, ecosystems & environment*, 94(1), 89-103.
- Hartl, W., Putz, B., & Erhart, E. (2003). Influence of rates and timing of biowaste compost application on rye yield and soil nitrate levels. *European Journal of Soil Biology*, 39(3), 129-139.
- Hassan, F. A. S., & Ali, E. F. (2013). A Comparative Study between Traditional Mineral Nutrition and Alternative Sources on Anise Plant. *European Journal of Scientific Research*, 106(2), 201-212.
- Hassanpour, S., MaheriSis, N., & Eshratkhah, B. (2011). Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review.

- Havlik, J., Kokoska, L., Vasickova, S., & Valterova, I. (2006). Chemical composition of essential oil from the seeds of *Nigella arvensis* L. and assessment of its antimicrobial activity. *Flavour and fragrance journal*, 21(4), 713-717.
- Hayta, S., Polat, R., & Selvi, S. (2014). Traditional uses of medicinal plants in Elazığ (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 154(3), 613-623.
- Hazra, G., & Das, T. (2014). A review on controlled release advanced glassy fertilizer. *Global J. Sci. Front. Res*, 14, 33-43.
- Heiss, A. G., & Oegg, K. (2005). The oldest evidence of *Nigella damascena* L. (Ranunculaceae) and its possible introduction to central Europe. *Vegetation history and archaeobotany*, 14(4), 562-570.
- Heiss, A. G., Stika, H. P., De Zorzi, N., & Jursa, M. (2013). *Nigella* in the Mirror of Time A Brief Attempt to Draw a Genus' Ethnohistorical Portrait. *Offa*, 69(70), 147-169.
- Hendawy, S. F., & Khalid, K. A. (2011). Effect of chemical and organic fertilizers on yield and essential oil of chamomile flower heads. *Medicinal and aromatic plant science and biotechnology*, 5(1), 43-48.
- Herbert, S. J. (1998). *Deptt. Of Plant and Soil Sci., Univ. Of Massachusetts Amherst Crops, Dairy, Livestock News*.
- Heywood, V. H., Richardson, I. B. K., & Stearn, W. T. (1978). Flowering plants of the world (Vol. 336). D. M. Moore (Ed.). Oxford: Oxford university press.
- Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A., & Seberg, O. (2007). Flowering plant families of the world (Vol. 88). Ontario: Firefly Books.
- Hoffman, F. A. (2006). Botanicals as drugs: a US perspective. *Drugs and The Pharmaceutical Sciences*, 162, 303.
- Hosseini, S. S., Nadjafi, F., Asareh, M. H., & Rezadoost, H. (2018). Morphological and yield related traits, essential oil and oil production of different landraces of black cumin (*Nigella sativa*) in Iran. *Scientia Horticulturae*, 233, 1-8.
- Huang, C., & Yu, Y. (2017). Synergistic cytotoxicity of β -elemene and cisplatin in gingival squamous cell carcinoma by inhibition of STAT3 signaling pathway. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 23, 1507.
- Huat, B. T. K., & Swamy, S. M. K. (2003). Intracellular glutathione depletion and reactive oxygen species generation are important in α -hederin-induced apoptosis of P388 cells. *Molecular and cellular biochemistry*, 245(1-2), 127-139.
- Hugron, S., Bussières, J., Rochefort, L., (2013). Tree plantations within the context of ecological restoration of peatlands: practical guide. Laval, Québec, Canada: Peatland Ecology Research Group (PERG).
- İlisulu, K. (1992). İlaç ve Baharat Bitkileri, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay, (1256), 1-6.
- Iqbal, J., Hu, R., Lin, S., Hatano, R., Feng, M., Lu, L., ... & Du, L. (2009). CO₂ emission in a subtropical red paddy soil (Ultisol) as affected by straw and N-fertilizer applications: A case study in Southern China. *Agriculture, ecosystems & environment*, 131(3-4), 292-302.
- Iqbal, M. S., Qureshi, A. S., & Ghafoor, A. (2010). Evaluation of *Nigella sativa* L. for genetic variation and ex-situ conservation. *Pak. J. Bot*, 42(4), 2489-2495.
- Irwin, R. E., Cook, D., Richardson, L. L., Manson, J. S., & Gardner, D. R. (2014). Secondary compounds in floral rewards of toxic rangeland plants: impacts on pollinators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(30), 7335-7344.
- Islami, F., Goding Sauer, A., Miller, K. D., Siegel, R. L., Fedewa, S. A., Jacobs, E. J., & Flanders, W. D. (2018). Proportion and number of cancer cases and deaths

- attributable to potentially modifiable risk factors in the United States. CA: a cancer journal for clinicians, 68(1), 31-54.
- Izbosarov, M. B., Zairova, K. T., Abduazimov, B. K., & Malikov, V. M. (2000). Aminoderivatives of sesquiterpene lactones from tanachin and tavulin and their biological activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 36(3), 288-291.
- Jabbari, R., Dehaghi, M. A., Sanavi, A. M. M., & Agahi, K. (2011). Nitrogen and iron fertilization methods affecting essential oil and chemical composition of thyme (*Thymus vulgaris* L.) medical plant. *Advances in Environmental Biology*, 433-439.
- Jha, P., Ram, M., Khan, M. A., Kiran, U., & Abdin, M. Z. (2011). Impact of organic manure and chemical fertilizers on artemisinin content and yield in *Artemisia annua* L. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 296-301.
- Jiang, Z., Jacob, J. A., Loganathachetti, D. S., Nainangu, P., & Chen, B. (2017). β -Elemene: Mechanistic studies on cancer cell interaction and its chemosensitization effect. *Frontiers in pharmacology*, 8, 105.
- Jiang, Z., Liu, J., Chen, B., Mani, R., Pugazhendhi, A., Shanmuganathan, R., & Jacob, J. A. (2019). Cytotoxic effects of a sesquiterpene β -elemene on THP-1 leukemia cells is mediated via crosstalk between beclin-1 mediated autophagy and caspase-dependent apoptosis. *Process Biochemistry*, 87, 174-178.
- Joosten, H. ve Clarke, D., (2002). *Wise Use of Mires and Peatlands: Background and Principles including a Framework for Decision-Making* (PDF) (Report). Totnes, Devon. ISBN 951-97744-8-3.
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol*, 2, 377-392.
- Kabir, Y., Shirakawa, H., & Komai, M. (2019). Nutritional composition of the indigenous cultivar of black cumin seeds from Bangladesh. *Progress in Nutrition*, 21(1-S), 428-434.
- Kaçar, B., & Katkat, V. (1999). *Gübreler ve Gübreleme Tekniği*, Uludağ Üniv. Güçlendirme Vakfı Yayınları, Bursa.
- Kalçın, F. T. (2003). İki Çörek Otu Türünde (*Nigella sativa* L., *Nigella damascena* L.) Ekim Sıklıklarının Verim ve Verim Öğelerine Etkisi (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara).
- Kamçı, G. (2019). Çörekotu (*Nigella sativa* L.)'da farklı ekim zamanı ve sulamanın verim ve kalite kriterleri üzerine etkisinin belirlenmesi (Master's thesis, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Kandil, M. A. M., Khatab, M. E., Ahmed, S. S., & Schnug, E. (2009). Herbal and essential oil yield of Genovese basil (*Ocimum basilicum* L.) grown with mineral and organic fertilizer sources in Egypt. *Journal für Kulturpflanzen*, 61(12), 443-449.
- Kanter, M., Meral, I., Yener, Z., Ozbek, H., & Demir, H. (2003). Partial regeneration/proliferation of the β -cells in the Islets of Langerhans by *Nigella sativa* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Tohoku journal of experimental medicine*, 201(4), 213-219.
- Kar, Y., Şen, N., & Tekeli, Y. (2007). Samsun yöresinde ve Mısır ülkesinde yetiştirilen çörekotu (*Nigella sativa* L.) tohumlarının antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. *SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 2(2), 197-203.
- Kara N., Katar, D., & Baydar, H. (2015). Yield and quality of black cumin (*Nigella sativa* L.) Populations: the effect of ecological conditions. *Turkish Journal Of Field Crops*, 20(1), 9-14.

- Kareru, P. G., Keriko, J. M., Gachanja, A. N., & Kenji, G. M. (2008). Direct detection of triterpenoid saponins in medicinal plants. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 5(1), 56-60.
- Khader, M., Bresgen, N., & Eckl, P. M. (2010). Antimutagenic effects of ethanolic extracts from selected Palestinian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 127(2), 319-324.
- Khan, A., Chen, H. C., Tania, M., & Zhang, D. Z. (2011). Anticancer activities of *Nigella sativa* (black cumin). *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(5S).
- Khanam, Z., Wen, C. S., & Bhat, I. U. H. (2015). Phytochemical screening and antimicrobial activity of root and stem extracts of wild *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali). *Journal of King Saud University-Science*, 27(1), 23-30.
- Khanbabaee, K., & Van Ree, T. (2001). Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641-649.
- Knudsen, J. T., & Tollsten, L. (1993). Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth-pollinated taxa. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 113(3), 263-284.
- Koeduka, T., Fridman, E., Gang, D. R., Vassao, D. G., Jackson, B. L., Kish, C. M., & Pichersky, E. (2006). Eugenol and isoeugenol, characteristic aromatic constituents of spices, are biosynthesized via reduction of a coniferyl alcohol ester. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(26), 10128-10133.
- Koleva, I. I., van Beek, T. A., Soffers, A. E., Dusemund, B., & Rietjens, I. M. (2012). Alkaloids in the human food chain—natural occurrence and possible adverse effects. *Molecular nutrition & food research*, 56(1), 30-52.
- Korkmaz, K. (2007). Tarım girdi sisteminde azot ve azot kirliliği.
- Koşar, İ. (2019). Çörek otu (*Nigella sativa* L.) çeşit ve popülasyonlarının karakterizasyonu/Characterization on variety and populations of Black cumin (*Nigella sativa* L.) (Doktora tezi).
- Kökdil, G., & Yılmaz, H. (2005). Analysis of the fixed oils of the genus *Nigella* L. (*Ranunculaceae*) in Turkey. *Biochemical systematics and ecology*, 33(12), 1203-1209.
- Kökdil, G. (2006). Morphology And Stem Anatomy of Some Species of Genus. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 35(1), 19-41.
- Kulan, E. G., Turan, Y. S., Gülmezoğlu, N., Kara, İ., & Aytaç, Z. (2012). Kuru Koşullarda Yetiştirilen Çörek Otunun (*Nigella sativa* L.) Bazı Agronomik ve Kalite Özellikleri. *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu*, 13-15.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 2013.
- Kumar, T. S., Swaminathan, V., & Kumar, S. (2009). Influence of nitrogen, phosphorus and biofertilizers on growth, yield and essential oil constituents in ratoon crop of davana (*Artemisia pallens* Wall.). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 8(2), 86-95.
- Kumpiene, J., Lagerkvist, A., & Maurice, C. (2008). Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments—a review. *Waste management*, 28(1), 215-225.
- Landa, P. L., Marsik, P., Havlik, J., Kloucek, P., Vanek, T., & Kokoska, L. (2009). Evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory activities of seed extracts from six *Nigella* species. *Journal of Medicinal Food*, 12(2), 408-415.
- Las Heras, B., Rodriguez, B., Bosca, L., & Villar, A. M. (2003). Terpenoids: sources, structure elucidation and therapeutic potential in inflammation. *Current topics in medicinal chemistry*, 3(2), 171-185.

- Lattanzio, V. (2013). Phenolic Compounds: Introduction 50. pp.1543–1580
- Lekasi, J. K., Tanner, J. C., Kimani, S. K., & Harris, P. J. C. (2001). Managing manure to sustain smallholder livelihoods in the East African Highlands (pp. 1-32). HDRA Consultants.
- Li, T., Zhang, Y., Bei, S., Li, X., Reinsch, S., Zhang, H., & Zhang, J. (2020). Contrasting impacts of manure and inorganic fertilizer applications for nine years on soil organic carbon and its labile fractions in bulk soil and soil aggregates. *Catena*, 194, 104739.
- Listyawati, S., Sisindari, S., Mubarika, S., Murti, Y. B., & Ikawati, M. (2016). Anti-proliferative activity and apoptosis induction of an ethanolic extract of *boesenbergia pandurata* (Roxb.) schlecht. Against HeLa and vero cell lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(1), 183-187.
- Liu, J. Q., Zhang, M., Zhang, C. F., Qi, H. Y., Bashall, A., Bligh, S. A., & Wang, Z. T. (2008). Cytotoxic sesquiterpenes from *Ligularia platyglossa*. *Phytochemistry*, 69(11), 2231-2236.
- Liu, S., Zhou, L., Zhao, Y., & Yuan, Y. (2015). β -elemene enhances both radiosensitivity and chemosensitivity of glioblastoma cells through the inhibition of the ATM signaling pathway. *Oncology Reports*, 34(2), 943-951.
- Lourenzi, C. R., Scherer, E. E., Ceretta, C. A., Tiecher, T. L., Cancian, A., Ferreira, P. A. A., & Brunetto, G. (2016). Atributos químicos de Latossolo após sucessivas aplicações de composto orgânico de dejetos líquido de suínos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(3), 233-242.
- Lubbe, A., & Verpoorte, R. (2011). Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial crops and products*, 34(1), 785-801.
- Ma, G., Chong, L., Li, Z., Cheung, A. H., & Tattersall, M. H. (2009). Anticancer activities of sesquiterpene lactones from *Cyathocline purpurea* in vitro. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 64(1), 143-152.
- Maathuis, F. J. (2009). Physiological functions of mineral macronutrients. *Current opinion in plant biology*, 12(3), 250-258.
- Mabrouk, G. M., Moselhy, S. S., Zohny, S. F., Ali, E. M., Helal, T. E., Amin, A. A., & Khalifa, A. A. (2002). Inhibition of methylnitrosourea (MNU) induced oxidative stress and carcinogenesis by orally administered bee honey and *Nigella* grains in Sprague Dawley rats. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR*, 21(3), 341-346.
- Mahfouz, S. A., & Sharaf-Eldin, M. A. (2007). Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel [*Foeniculum vulgare* Mill.]. *International Agrophysics*, 21(4), 361-366.
- Maillard, É., Angers, D. A., Chantigny, M., Lafond, J., Pageau, D., Rochette, P., ... & Parent, L. É. (2016). Greater accumulation of soil organic carbon after liquid dairy manure application under cereal-forage rotation than cereal monoculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 233, 171-178.
- Majdalawieh, A. F., Hmaidan, R., & Carr, R. I. (2010). *Nigella sativa* modulates splenocyte proliferation, Th1/Th2 cytokine profile, macrophage function and NK anti-tumor activity. *Journal of ethnopharmacology*, 131(2), 268-275.
- Man, S., Gao, W., Zhang, Y., Huang, L., & Liu, C. (2010). Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia*, 81(7), 703-714.
- Margout D, Kell MT, Meunier, S, Auinger D, Pelissier Y, Larroque M (2013). Morphological, microscopic and chemical comparison between *Nigella sativa* L. cv (black cumin) and *Nigella damascena* L. cv. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.11 (1): 165-171.

- Mathur, M. L., Gaur, J., Sharma, R., & Haldiya, K. R. (2011). Antidiabetic properties of a spice plant *Nigella sativa*. *Journal of Endocrinology and Metabolism*, 1(1), 1-8.
- Matsuura, H. N., & Fett-Neto, A. G. (2015). Plant alkaloids: main features, toxicity, and mechanisms of action. *Plant toxins*, 1-15.
- Matthaus, B., & Özcan, M. M. (2011). Fatty acids, tocopherol, and sterol contents of some *Nigella* species seed oil. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(2), 145-150.
- Mechraoui, O., Ladjel, S., Nedjimi, M. S., Belfar, M. L., & Moussaoui, Y. (2018). Determination Of Polyphenols Content, Antioxidant and Antibacterial Activity Of *Nigella Sativa* L. Seed Phenolic Extracts. *Scientific Study & Research. Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 19(4), 411.
- Meddah, B., Ducroc, R., Faouzi, M. E. A., Eto, B., Mahraoui, L., Benhaddou-Andaloussi, A., ... & Haddad, P. S. (2009). *Nigella sativa* inhibits intestinal glucose absorption and improves glucose tolerance in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 121(3), 419-424.
- Meng, J. C., Hu, Y. F., Chen, J. H., & Tan, R. X. (2001). Antifungal highly oxygenated guaianolides and other constituents from *Ajania fruticulosa*. *Phytochemistry*, 58(7), 1141-1145.
- Meral, I., Donmez, N., Baydas, B., Belge, F., & Kanter, M. E. H. M. E. T. (2004). Effect of *Nigella sativa* L. on heart rate and some haematological values of alloxan-induced diabetic rabbits. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Sciences*, 31(1), 49-53.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.
- Mitchell-Olds, T., Gershenzon, J., Baldwin, I., & Boland, W. (1998). Chemical ecology in the molecular era. *Trends in Plant Science*, 3(9), 362-365.
- Monaco, S., Hatch, D. J., Sacco, D., Bertora, C., & Grignani, C. (2008). Changes in chemical and biochemical soil properties induced by 11-yr repeated additions of different organic materials in maize-based forage systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(3), 608-615.
- Moreno, D. A., Pérez-Balibrea, S., Ferreres, F., Gil-Izquierdo, Á., & García-Viguera, C. (2010). Acylated anthocyanins in broccoli sprouts. *Food Chemistry*, 123(2), 358-363.
- Moretti, A., D'Antuono, L. F., & Elementi, S. (2004). Essential oils of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. seed. *Journal of Essential Oil Research*, 16(3), 182-183.
- Mu, L., Wang, T., Chen, Y., Tang, X., Yuan, Y., & Zhao, Y. (2016). β -Elemene enhances the efficacy of gefitinib on glioblastoma multiforme cells through the inhibition of the EGFR signaling pathway. *International journal of oncology*, 49(4), 1427-1436.
- Mutabagani, A., & El-Mahdy, S. A. (1997). Study of the anti-inflammatory activity of *Nigella sativa* L and thymoquinone in rats, *Saudi Pharm. J*, 5(2-3), 110-113.
- Naeem, A., Abbas, T., Ali, T. M., & Hasnain, A. (2018). Inactivation of food borne pathogens by lipid fractions of culinary condiments and their nutraceutical properties. *Microbiology Research*, 9(1).
- Nagi, M. N., & Almakki, H. A. (2009). Thymoquinone supplementation induces quinone reductase and glutathione transferase in mice liver: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Phytotherapy Research*:

- An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 23(9), 1295-1298.
- Nazrul Islam, S. K., Begum, P., Ahsan, T., Huque, S., & Ahsan, M. (2004). Immunosuppressive and cytotoxic properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(5), 395-398.
- Negi, J. S., Bisht, V. K., Singh, P., Rawat, M. S. M., & Joshi, G. P. (2013). Naturally occurring xanthenes: chemistry and biology. *J Appl Chem*, 2013(1), 1-9.
- Nejdet, Ş. E. N., Tekeli, Y., & Yakup, K. A. R. (2007). Samsun Yöresinde Ve Mısır Ülkesinde Yetiştirilen Çörekotu (*Nigella sativa* L.) Tohumlarının Antioksidan Aktivite Yönünden İncelenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 2(2), 197-203.
- Nemmar, A., Al-Salam, S., Zia, S., Marzouqi, F., Al-Dhaheri, A., Subramaniyan, D., & Kazzam, E. E. (2011). Contrasting actions of diesel exhaust particles on the pulmonary and cardiovascular systems and the effects of thymoquinone. *British journal of pharmacology*, 164(7), 1871-1882.
- Nickavar, B., Mojab, F., Javidnia, K., & Amoli, M. A. R. (2003). Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(9-10), 629-631.
- Nurzyńska-Wierdak, R., & Borowski, B. (2011). Changes in the content and chemical composition of sweet basil essential oil under the influence of fertilization of plants with nitrogen and potassium. *Annales UMCS, Sec. DDD, Pharmacia*, 24(3), 15.
- Nurzyńska-Wierdak, R. (2012). Sweet basil essential oil composition: Relationship between cultivar, foliar feeding with nitrogen and oil content. *Journal of Essential Oil Research*, 24(3), 217-227.
- Nurzyńska-Wierdak, R. (2013). Does mineral fertilization modify essential oil content and chemical composition in medicinal plants. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*, 12(5), 3-16.
- Okuda, T., & Ito, H. (2011). Tannins of constant structure in medicinal and food plants—hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules*, 16(3), 2191-2217.
- Olfati, J. A., Peyvast, G., & Nosrati-Rad, Z. (2008). Organic mulching on carrot yield and quality. *International journal of vegetable science*, 14(4), 362-368.
- Ortega-García, J. G., Montes-Belmont, R., Rodríguez-Monroy, M., Ramírez-Trujillo, J. A., Suárez-Rodríguez, R., & Sepúlveda-Jiménez, G. (2015). Effect of *Trichoderma asperellum* applications and mineral fertilization on growth promotion and the content of phenolic compounds and flavonoids in onions. *Scientia Horticulturae*, 195, 8-16.
- Ozcan, T., Akpınar-Bayazit, A., Yilmaz-Ersan, L., & Delikanli, B. (2014). Phenolics in human health. *International Journal of chemical engineering and applications*, 5(5), 393.
- Özçelik, B., Gürbüz, I., Karaoglu, T., & Yeşilada, E. (2009). Antiviral and antimicrobial activities of three sesquiterpene lactones from *Centaurea solstitialis* L. ssp. *solstitialis*. *Microbiological Research*, 164(5), 545-552.
- Özdemirel, F. (2019). Farklı kökenli çörek otu (*Nigella sativa* L.) genotiplerinin Bursa ekolojik koşullarında verim ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi).

- Özel A, Demirel U, Güler İ, Erden K (2009) Farklı Sıra Aralığı ve Tohumluk Miktarlarının Çörek Otunda (*Nigella sativa* L.) Verim ve Bazı Tarımsal Karakterlere Etkisi. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi; 13(1), 17-25.
- Özel A.ve Demirbilek, T. (2000). Harran Ovası kuru koşullarında bazı tek yıllık baharat bitkilerinin verim ve bazı agronomik özelliklerinin belirlenmesi. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 4(3-4), 21-32.
- Özgüven, M.,& Tansı, S. (1989). Çukurova koşullarında *Nigella* türlerinde optimum ekim zamanının saptanması üzerinde bir araştırma. İstanbul Üniversitesi Yayınları, (3733), 19-21.
- Özyürek, S., Kadir, Ç., Balcı, Ç., Nusret, G., & Türkyılmaz, D. (2020). Fatty acid profile and health lipid indices in the milk of ewes feeding with soybean oil. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 13(2), 948-955.
- Padalia, R. C. (2012). Medicinal and aromatic plants: Chemical goldmines. Medicinal Aromatic Plants, 1, e113.
- Palabıyık, G. A.,& Aytaç, Z. (2018). Chemical Composition of the Fixed and Essential Oils of *Nigella sativa* L. from Turkey. Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants (CUPMAP), 1(1), 19-27.
- Palm, C. A., Myers, R. J., & Nandwa, S. M. (1997). Combined use of organic and inorganic nutrient sources for soil fertility maintenance and replenishment. Replenishing soil fertility in Africa, 51, 193-217.
- Palumbo, M. J., Putz, F. E., & Talcott, S. T. (2007). Nitrogen fertilizer and gender effects on the secondary metabolism of yaupon, a caffeine-containing North American holly. Oecologia, 151(1), 1-9.
- Pejman, L., Omrani, H., Mirzamohammadi, Z., & Keyhanmanesh, R. (2014). Thymoquinone, the main constituent of *Nigella sativa*, affects adenosine receptors in asthmatic guinea pigs. Iranian journal of basic medical sciences, 17(12), 1012.
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., & Andrade, P. B. (2009). Phenolics: From chemistry to biology.
- Peyvast, G. H., Moghaddam, M. S., & Olfati, J. A. (2007). Effect of municipal solid waste compost on weed control, yield and some quality indices of green pepper (*Capsicum annuum* L.). Biosci. Biotechnol. Res. Asia, 4(2), 449-456.
- Peyvast, G., Kharazi, P. R., Tahernia, S., Nosratierad, Z., & Olfati, J. A. (2008). Municipal solid waste compost increased yield and decreased nitrate amount of broccoli. J. Appl. Hort, 10(2), 129-131.
- Pichersky, E.,& Gang, D. R. (2000). Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. Trends in plant science, 5(10), 439-445.
- Prasad, R. (2009). Efficient fertilizer use: The key to food security and better environment. Journal of tropical agriculture, 47(1), 1-17.
- proteins in β -elemene reversing multi-drug resistance of human
- Rabeta, M. S., Chan, S., Neda, G. D., Lam, K. L., & Ong, M. T. (2013). Anticancer effect of underutilized fruits. International Food Research Journal, 20(2).
- Rahnavard, A., Sadeghi, S., & Ashrafi, Z. Y. (2010). Study of sowing date and plant density affect on Black Cumin *Cuminum carvi* yield, in Iran. Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma, 3(1), 23-27.
- Ramadan, M. F., Kroh, L. W., & Mörsel, J. T. (2003). Radical scavenging activity of black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.), and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) crude seed oils and oil fractions. Journal of agricultural and food chemistry, 51(24), 6961-6969.

- Ramos, S., Alía, M., Bravo, L., & Goya, L. (2005). Comparative effects of food-derived polyphenols on the viability and apoptosis of a human hepatoma cell line (HepG2). *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(4), 1271-1280.
- Rana, S., Singh, P. P., Naruka, I. S., & Rathore, S. S. (2012). Effect of nitrogen and phosphorus on growth, yield and quality of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Inter. J. Seed Spices*, 2, 5-8.
- Rao, S. R., & Ravishankar, G. A. (2002). Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology advances*, 20(2), 101-153.
- Ratz-Lyko, A., Herman, A., Arct, J., & Pytkowska, K. (2014). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Oenothera biennis*, *Borago officinalis*, and *Nigella sativa* seedcake extracts. *Food Science and Biotechnology*, 23(4), 1029-1036.
- Ravishankar, G. A., & Ramachandra Rao, S. (2000). Biotechnological Production of Phyto-Pharmaceuticals. *Journal of Biochemistry Molecular Biology and Biophysics*, 4, 73-102.
- Rioba, N. B., Itulya, F. M., Saidi, M., Dudai, N., & Bernstein, N. (2015). Effects of nitrogen, phosphorus and irrigation frequency on essential oil content and composition of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(1), 21-29.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(10), 2866-2887.
- Romanyà, J., Arco, N., Solà-Morales, I., Armengot, L., & Sans, F. X. (2012). Carbon and nitrogen stocks and nitrogen mineralization in organically managed soils amended with composted manures. *Journal of environmental quality*, 41(4), 1337-1347.
- Rooney, S., & Ryan, M. F. (2005). Modes of action of alpha-hederin and thymoquinone, active constituents of *Nigella sativa*, against HEp-2 cancer cells. *Anticancer research*, 25(6B), 4255-4259.
- Roopashree, K. M., & Naik, D. (2019). Advanced method of secondary metabolite extraction and quality analysis. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 1829-1842.
- Roussis, I., Travlos, I., Bilalis, D., & Kakabouki, I. (2017). Influence of seed rate and fertilization on yield and yield components of *Nigella sativa* L. cultivated under Mediterranean semi-arid conditions. *AgroLife Scientific Journal*, 6(1), 218-223.
- Ruan, J., Ma, L., & Shi, Y. (2013). Potassium management in tea plantations: Its uptake by field plants, status in soils, and efficacy on yields and quality of teas in China. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 176(3), 450-459.
- Sadilova, E., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Anthocyanins, colour and antioxidant properties of eggplant (*Solanum melongena* L.) and violet pepper (*Capsicum annuum* L.) peel extracts. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61(7-8), 527-535.
- Safaei, Z., Azizi, M., Maryam, Y., Aroiee, H., & Davarynejad, G. (2014). Effect of different irrigation intervals And anti-transpirants compounds on yield and yield components of Black Cumin (*Nigella sativa*). *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research (IJABBR)*, 2, 326-335.
- Sağlık, A. (2020). Çukurova Koşullarında Çörekotu (*Nigella sativa* L.) 'nda Organik Ve Ticari Gübre Uygulamalarının Verim ve Kalite Üzerine Etkileri, (Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi).

- Sajfirtova, M., Sovova, H., & Karban, J. (2014). Enrichment of *Nigella damascena* extract with volatile compounds using supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 94, 160-164.
- Salem, M. L. (2005). Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International immunopharmacology*, 5(13-14), 1749-1770.
- Salim, E. I., & Fukushima, S. (2003). Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutrition and Cancer*, 45(2), 195-202.
- Saraç, S. (2019). Çörekotu (*Nigella sativa* L.) bitkisinde kışlık ekim zamanında sıra arası mesafe ile ekim normunun verim ve bazı kalite özellikleri üzerine etkisi (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).
- Sarker, S. D., Latif, Z., & Gray, A. (2006). *Methods in Biotechnology: Natural Product Isolation*. D S, editor.
- Savci, S. (2012). An agricultural pollutant: chemical fertilizer. *International Journal of Environmental Science and Development*, 3(1), 73.
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., & Gupta, A. (2013). Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 1(6).
- Seigler, D. S. (1998). *Plant secondary metabolism*. Springer Science & Business Media.
- Selicioğlu, M. (2018). Kırşehir Ekolojik Koşullarında Çörek Otu (*Nigella* Sp.) Populasyonlarının Bazı Tarımsal ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi, (Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi).
- Senchina, D. S., Hallam, J. E., Kohut, M. L., Nguyen, N. A., & Perera, M. A. D. N. (2014). Alkaloids and athlete immune function: caffeine, theophylline, gingerol, ephedrine, and their congeners. *Exercise immunology review*, 20.
- Seyyedi, S. M., Khajeh-Hosseini, M., Moghaddam, P. R., & Shahandeh, H. (2015). Effects of phosphorus and seed priming on seed vigor, fatty acids composition and heterotrophic seedling growth of black seed (*Nigella sativa* L.) grown in a calcareous soil. *Industrial Crops and Products*, 74, 939-949.
- Shaalan, M. N. (2005). Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants.
- Shabani, H., Peyvast, G. A., Olfati, J. A., & Kharrazi, P. R. (2011). Effect of municipal solid waste compost on yield and quality of eggplant. *Comunicata Scientiae*, 2(2), 85-90.
- Shah, S. H. (2008). Effects of Nitrogen Fertilisation on Nitrate Reductase Activity, Protein, and Oil Yields of *Nigella sativa* L. as Affected by Foliar GA₃ Application. *Turkish Journal of Botany*, 32(2), 165-170.
- Shah, S., & Ray, K. S. (2003). Study on antioxidant and antimicrobial properties of black cumin (*Nigella sativa* Linn). *Journal of food science and technology (Mysore)*, 40(1), 70-73.
- Shakya, A. K. (2016). Medicinal plants: future source of new drugs. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(4), 59-64.
- Shanaida, M. I. (2019). Carboxylic acids of *Nigella sativa* and *N. damascena* seeds. *Ukrains' kij biopharmaceutichnij žurnal*, (3 (60)), 71-76.
- Sharafzadeh, S., Esmaeili, M., & Mohammadi, A. H. (2011a). Interaction effects of nitrogen, phosphorus and potassium on growth, essential oil and toplam phenolic content of sweet basil. *Adv. Environ. Biol*, 5(6), 1285-1289.
- Sharafzadeh, S., Khosh-Khui, M., & Javidnia, K. (2011b). Effect of nutrients on essential oil components, pigments and toplam phenolic content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Advances in Environmental Biology*, 639-647.

- Sharieatzadeh, S. M., MalkyRad, A., Hovaida, R., Rahzani, K., AghaJohary, M., & Fazli, D. (2011). The effect of *Nigella sativa* on oxidative stress. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 12(4), 21-26.
- Sheikh, B. Y., & Mohamadin, A. M. (2012). Thymoquinone a potential therapy for cerebral oxidative stress. *Asian J Nat Appl Sci*, 1, 76-92.
- Shipley, P., Messinger, J. J., & Decker, A. M. (1992). Conserving residual corn fertilizer nitrogen with winter cover crops. *Agronomy Journal*, 84(5), 869-876.
- Sieniawska, E., Sawicki, R., Golus, J., Swatko-Ossor, M., Ginalska, G., & Skalicka-Wozniak, K. (2018). *Nigella damascena* L. essential oil—a valuable source of β -elemene for antimicrobial testing. *Molecules*, 23(2), 256.
- Sinkovič, L., Demšar, L., Žnidarčič, D., Vidrih, R., Hribar, J., & Treutter, D. (2015). Phenolic profiles in leaves of chicory cultivars (*Cichorium intybus* L.) as influenced by organic and mineral fertilizers. *Food chemistry*, 166, 507-513.
- Smidt, E., & Tintner, J. (2007). Application of differential scanning calorimetry (DSC) to evaluate the quality of compost organic matter. *Thermochimica acta*, 459(1-2), 87-93.
- Sönmez, İ., Kaplan, M., & Sönmez, S. (2008). Kimyasal gübrelerin çevre kirliliği üzerine etkileri ve çözüm önerileri. *Derim*, 25(2), 24-34.
- Sun, L., Liu, Y. M., Chen, B. Q., & Liu, Q. H. (2015). New phenolic compounds from the seeds of *Nigella glandulifera* and their inhibitory activities against human cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(18), 3864-3866.
- Sun, L., Liu, Y., Wu, L., & Liao, H. (2019). Comprehensive analysis revealed the close relationship between N/P/K status and secondary metabolites in tea leaves. *Acs Omega*, 4(1), 176-184.
- Swanson, B. G. (2003). Tannins and polyphenols. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. DOI: 10.1016/B0-12-227055-X/01178-0
- Şahin, B. (2013). Farklı ekim zamanlarında yetiştirilen bazı tıbbi bitkilerin verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Tabasi, N., Khajavi-Rad, A., Mahmoudi, M., Bahar-Ara, J., Rastin, M., HosainPour-Mashhadi, M., ... & Ahadi, B. (2010). The effects of *Nigella sativa* ethanolic extract on proliferation and apoptosis of renal cell carcinoma ACHN cell line. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 12(3), 7-14.
- Taie, H. A. A., & RADWAN, S. (2010). Potential activity of basil plants as a source of antioxidants and anticancer agents as affected by organic and bio-organic fertilization. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 119-127.
- Tajuddin, S. N., & Yusoff, M. M. (2010). Chemical composition of volatile oils of *Aquilaria malaccensis* (Thymelaeaceae) from Malaysia. *Natural product communications*, 5(12), 1934578X1000501229.
- Taqi, H. (2013). Samsun Koşullarında Bazı Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Populasyonlarında Önemli Tarımsal ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Samsun.
- Tascilar, M., de Jong, F. A., Verweij, J., & Mathijssen, R. H. (2006). Complementary and alternative medicine during cancer treatment: beyond innocence. *The oncologist*, 11(7), 732-741.
- Tektaş, E. (2015). Harran Ovası koşullarında birim alandaki tohum sayısının çörek otu (*Nigella sativa* L.)'nun verim ve bazı bitkisel özelliklerine etkisi/Effect of seed

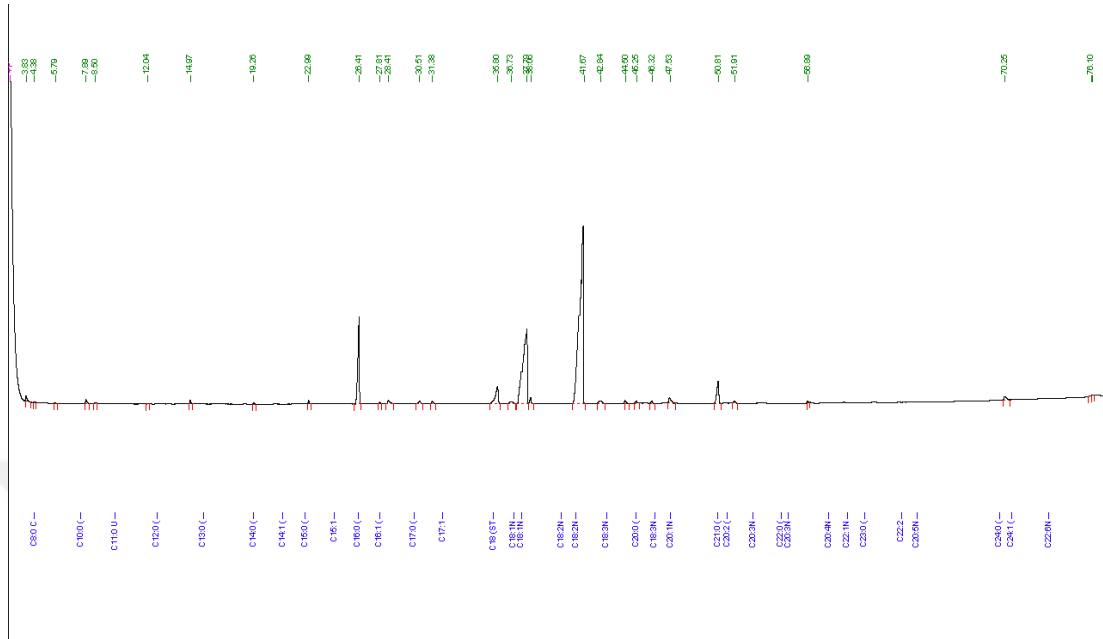
- numbers on yield and some plant characters of black cumin (*Nigella sativa* L.) under the Harran Plain conditions (Doktora tezi).
- Telci, İ. (1995). Tokat şartlarında farklı ekim sıklığının çörekotu (*Nigella sativa* L.)'nda verim, verim unsurları ve bazı bitkisel özelliklerine etkisi (Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Telci, I., Sahin-Yaglioglu, A., Eser, F., Aksit, H., Demirtas, I., & Tekin, S. (2014). Comparison of seed oil composition of *Nigella sativa* L. and *N. damascena* L. during seed maturation stages. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(10), 1723-1729.
- Thabrew, M. I., Mitry, R. R., Morsy, M. A., & Hughes, R. D. (2005). Cytotoxic effects of a decoction of *Nigella sativa*, *Hemidesmus indicus* and *Smilax glabra* on human hepatoma HepG2 cells. *Life sciences*, 77(12), 1319-1330.
- Thippeswamy, N. B., & Naidu, K. A. (2005). Antioxidant potency of cumin varieties cumin, black cumin and bitter cumin on antioxidant systems. *European food research and technology*, 220(5-6), 472-476.
- Tholl, D. (2015). Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. In *Biotechnology of isoprenoids* (pp. 63-106). Springer, Cham.
- Tian, Z., Liu, Y. M., Chen, S. B., Yang, J. S., Xiao, P. G., Wang, L., & Wu, E. (2006). Cytotoxicity of two triterpenoids from *Nigella glandulifera*. *Molecules*, 11(9), 693-699.
- Tillequin, F., Leconte, C., & Paris, M. (1976). Carbures sesquiterpeniques des graines de *Nigella damascena*. *Planta Medica*, 30(05), 59-61.
- Toma, C. C., Olah, N. K., Vlase, L., Mogoşan, C., & Mocan, A. (2015). Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and diuretic effects of *Nigella sativa* L. (black cumin) and *Nigella damascena* L. (lady-in-a-mist) seeds. *Molecules*, 20(6), 9560-9574.
- Toncer, O., & Kizil, S. (2004). Effect of seed rate on agronomic and technologic characters of *Nigella sativa* L. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6(3), 529-532.
- Tuncturk, R., Tuncturk, M., & Ciftci, V. (2012). The effects of varying nitrogen doses on yield and some yield components of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Advances in Environmental Biology*, 6(2), 855-858.
- Turan, Y. S. (2014). Fosfor dozlarının çörek otunun (*Nigella sativa* L.) verim ve kalitesine etkisi (Master's thesis, ESOGÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., & Valentine, D. H. (Eds.). (1964). *Flora Europaea: Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)* (Vol. 4). Cambridge University Press.
- Ulus, Y. (2007). Farklı dozlardaki kadmiyumun maydanoz (*Petroselinum hotense* Hoffm) bitkisinde fotosentetik pigmentler ve oksidatif enzim aktivitesine etkisi (Master's thesis, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Umar, S., Zargan, J., Umar, K., Ahmad, S., Katiyar, C. K., & Khan, H. A. (2012). Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats. *Chemico-biological interactions*, 197(1), 40-46.
- Uzair, B., Hameed, A., Nazir, S., Khan, B. A., Fasim, F., Khan, S., & Menaa, F. (2017). Synergism between *Nigella sativa* seeds extract and synthetic antibiotics against *MecA* gene positive human strains of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Pharmacology*, 13(8), 958-968.
- Ülger, A. C., Anlarsal, A. E., Gök, M., Çakır, B., Yücel, C., Onaç, I., & Atıcı, O. (1999). Değişik azot dozlarında yetiştirilen mısır bitkisinde tane verimi ve bazı

- tarımsal özelliklere bazı yeşil gübre baklagil bitkilerinin etkisi. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 23(supp1), 193-200.
- Valadabadi, S. A., & Farahani, H. A. (2013). Influence of biofertilizer on essential oil, harvest index and productivity effort of black cumin (*Nigella sativa* L.). International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research, 4(2), 24-27.
- Valkovszki, N., & Nemeth-Zambori, E. (2011). Effects of growing conditions on content and composition of the essential oil of annual caraway (*Carum carvi* L. var. *annua*). Acta Alimentaria, 40(2), 235-246.
- Vallejo, F., Tomás-Barberán, F. A., & García-Viguera, C. (2002). Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82(11), 1293-1297.
- Vallejo, F., Tomas-Barberan, F. A., & García-Viguera, C. (2003). Effect of climatic and sulphur fertilisation conditions, on phenolic compounds and vitamin C, in the inflorescences of eight broccoli cultivars. European Food Research and Technology, 216(5), 395-401.
- Van Staveren, W. C. G., Solís, D. W., Hebrant, A., Detours, V., Dumont, J. E., & Maenhaut, C. (2009). Human cancer cell lines: Experimental models for cancer cells in situ? For cancer stem cells?. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1795(2), 92-103.
- Verardo, V., Riciputi, Y., Sorrenti, G., Ornaghi, P., Marangoni, B., & Caboni, M. F. (2013). Effect of nitrogen fertilisation rates on the content of fatty acids, sterols, tocopherols and phenolic compounds, and on the oxidative stability of walnuts. LWT-Food science and technology, 50(2), 732-738.
- Vos, T., Allen, C., Arora, M., Barber, R. M., Bhutta, Z. A., Brown, A., & Boufous, S. (2016). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. The lancet, 388(10053), 1545-1602.
- Wajs, A., Bonikowski, R., & Kalembe, D. (2009). Different isolation methods for determination of composition of volatiles from *Nigella damascena* L. seeds. Natural product communications, 4(11), 1934578X0900401125.
- Williams, C. S., Mann, M., & DuBois, R. N. (1999). The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. Oncogene, 18(55), 7908-7916.
- Woolley, J. G. (2001). Plant alkaloids. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0001914>. e LS.
- World Health Organization (2003). Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. World Health Organization, Geneva,; Technical Report Series, 916.
- World Health Organization. (2011). Nitrate and nitrite in drinking-water. Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality; World Health Organization: Geneva, Switzerland.
- Yacine, B., Noureddine, B I., Mustapha, T., Samira, A., & Bachra, K. (2013). Acute and sub-chronic toxicity study of *Nigella damascena* methanolic seed extract in mice. Int. J. Pharma Bio Sci, 4(2), 413-419.
- Yang, L., & Stöckigt, J. (2010). Trends for diverse production strategies of plant medicinal alkaloids. Natural product reports, 27(10), 1469-1479.
- Yesil-Celiktas, O., Sevimli, C., Bedir, E., & Vardar-Sukan, F. (2010). Inhibitory effects of rosemary extracts, carnosic acid and rosmarinic acid on the growth of various human cancer cell lines. Plant foods for human nutrition, 65(2), 158-163.

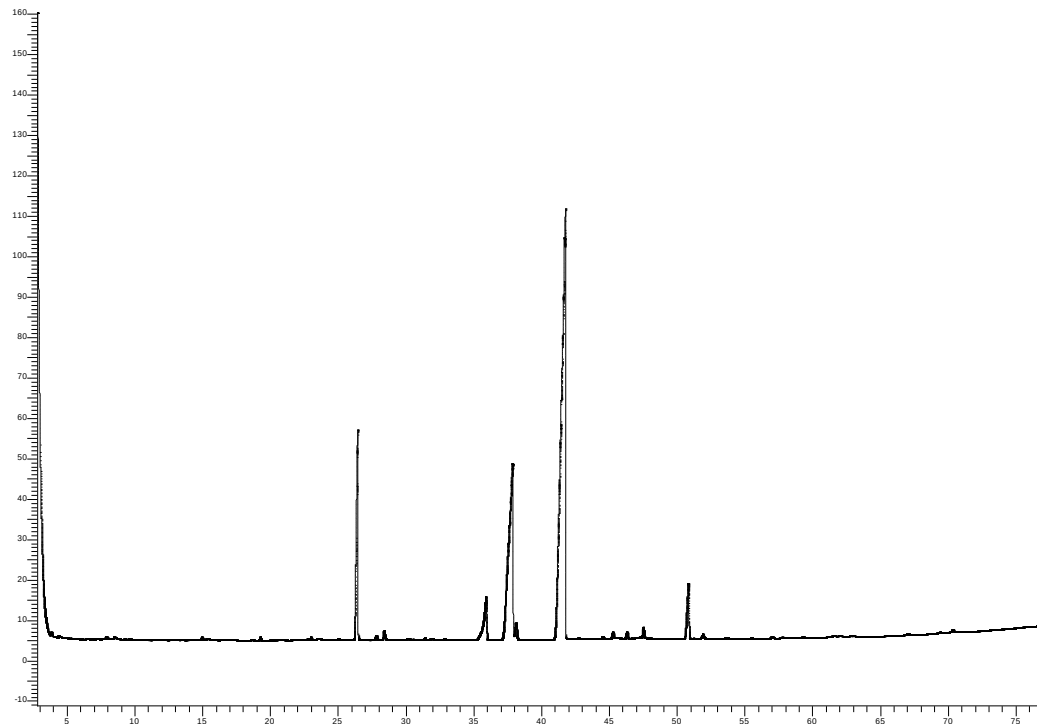
- Yılmaz, M., & Şahin, S. (2014). Yeşil gübrelemede kullanılan bakla (*Vicia faba* L.) bitkisinin brokoli verimi üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 31(1), 85-93.
- Yimam, E., Nebiyu, A., Mohammed, A., & Getachew, M. (2015). Effect of nitrogen and phosphorus fertilizers on growth, yield and yield components of black cumin (*Nigella sativa* L.) at Konta district, south west Ethiopia. *Journal of agronomy*, 14(3), 112.
- Yirrell, D. L., Roome, A. P., Darville, J. M., Ashley, C. R., & Harbour, J. (1983). Comparison of the continuous cell line 293 with human embryo kidney cells and human embryo fibroblast cells for the cultivation of ocular viruses. *Journal of clinical pathology*, 36(9), 996-999.
- Zaitoun, S., Al-Ghzawi, A. A. M., Samarah, N., & Alqudah, A. (2008). Comparative study in seed yield and flowers attractivity to bee visitors between *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. (Ranunculaceae) grown under semiarid conditions. *Italian Journal of agronomy*, 125-130.
- Zakaria, A., Jais, M. R., & Ishak, R. (2018). Analgesic properties of *Nigella sativa* and *Eucheuma Cottonii* extracts. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 9(1), 23.
- Zethner, G., Götz, B., & Amlinger, F. (2000). Qualität von Komposten aus der getrennten Sammlung. *Umweltbundesamt*.
- Zhang, H., Xu, M., & Zhang, F. (2009). Long-term effects of manure application on grain yield under different cropping systems and ecological conditions in China. *The Journal of Agricultural Science*, 147(1), 31.
- Zhang, Y., Mu, X. D., Li, E. Z., Luo, Y., Song, N., Qu, X. J., & Liu, Y. P. (2013). The role of E3 ubiquitin ligase Cbl proteins in β -elemene reversing multi-drug resistance of human gastric adenocarcinoma cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 10075-10089.
- Zhao, B., Maeda, M., Zhang, J., Zhu, A., & Ozaki, Y. (2006). Accumulation and chemical fractionation of heavy metals in andisols after a different, 6-year fertilization management. *Environmental Science and Pollution Research International*, 13(2), 90-97.
- Zheljaskov, V. D., Cantrell, C. L., Astatkie, T., & Ebelhar, M. W. (2010). Peppermint productivity and oil composition as a function of nitrogen, growth stage, and harvest time. *Agronomy Journal*, 102(1), 124-128.
- Zheljaskov, V. D., Cantrell, C. L., Astatkie, T., & Cannon, J. B. (2011). Lemongrass productivity, oil content, and composition as a function of nitrogen, sulfur, and harvest time. *Agronomy Journal*, 103(3), 805-812.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.

EKLER

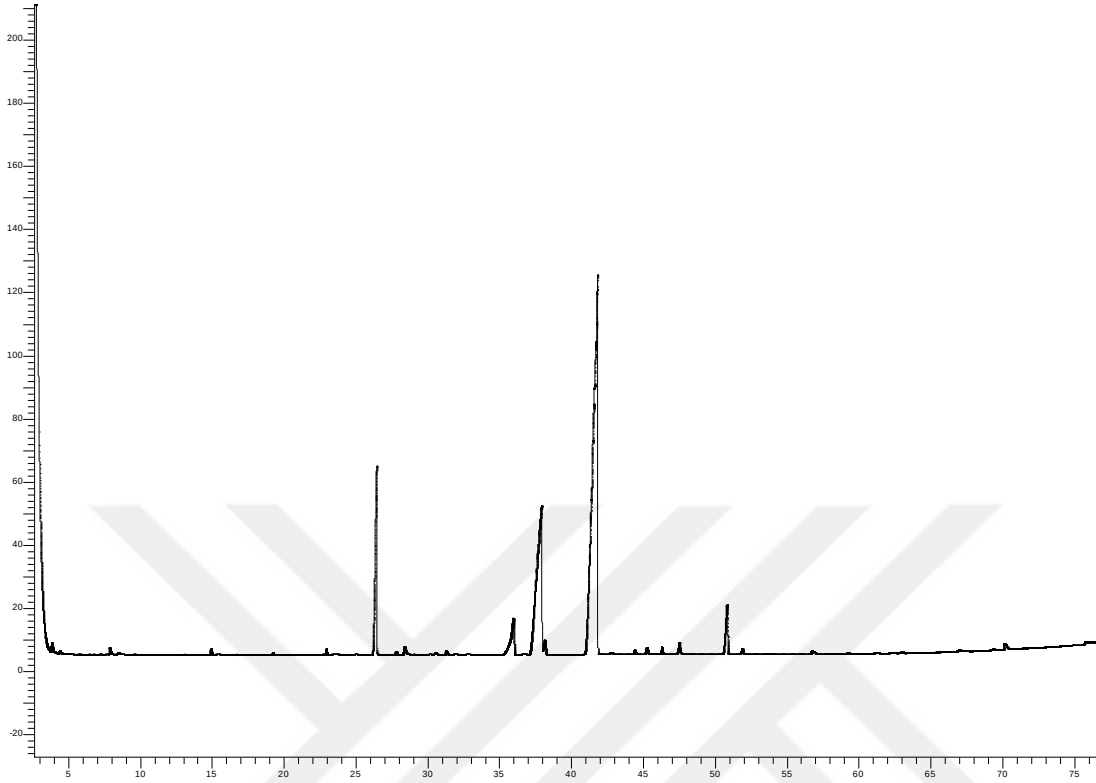
EK A1: Negatif kontrol *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.



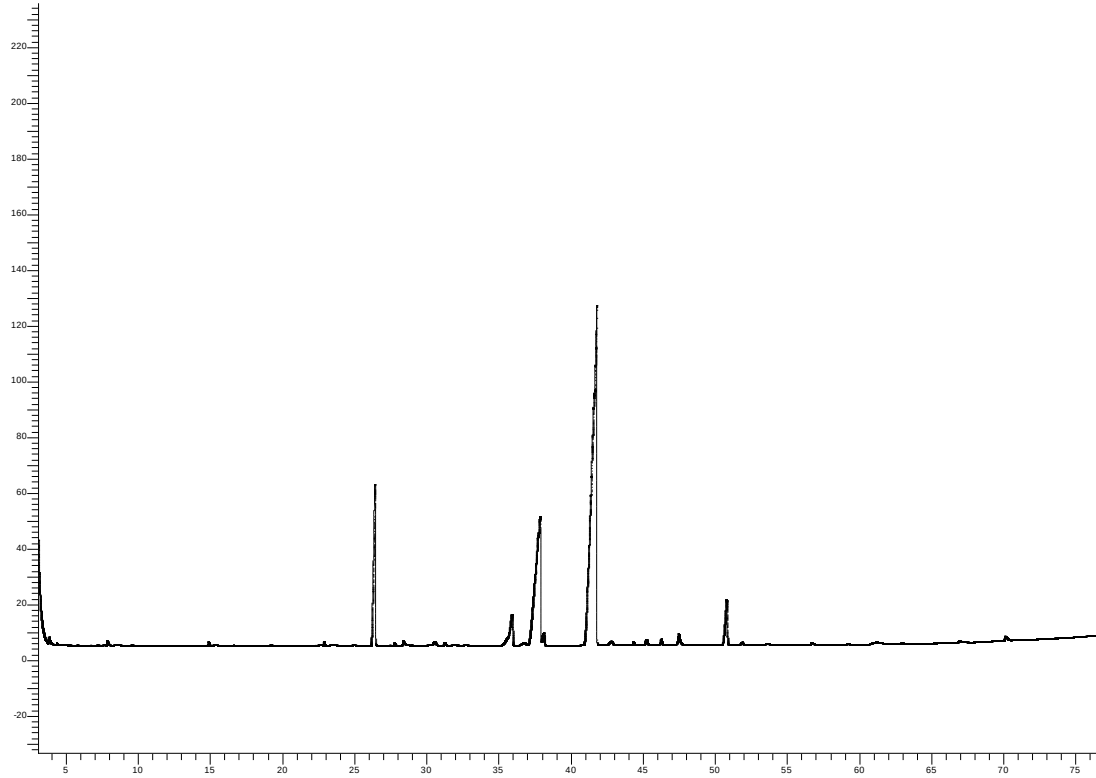
EK A2: Organik yarıısı *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.



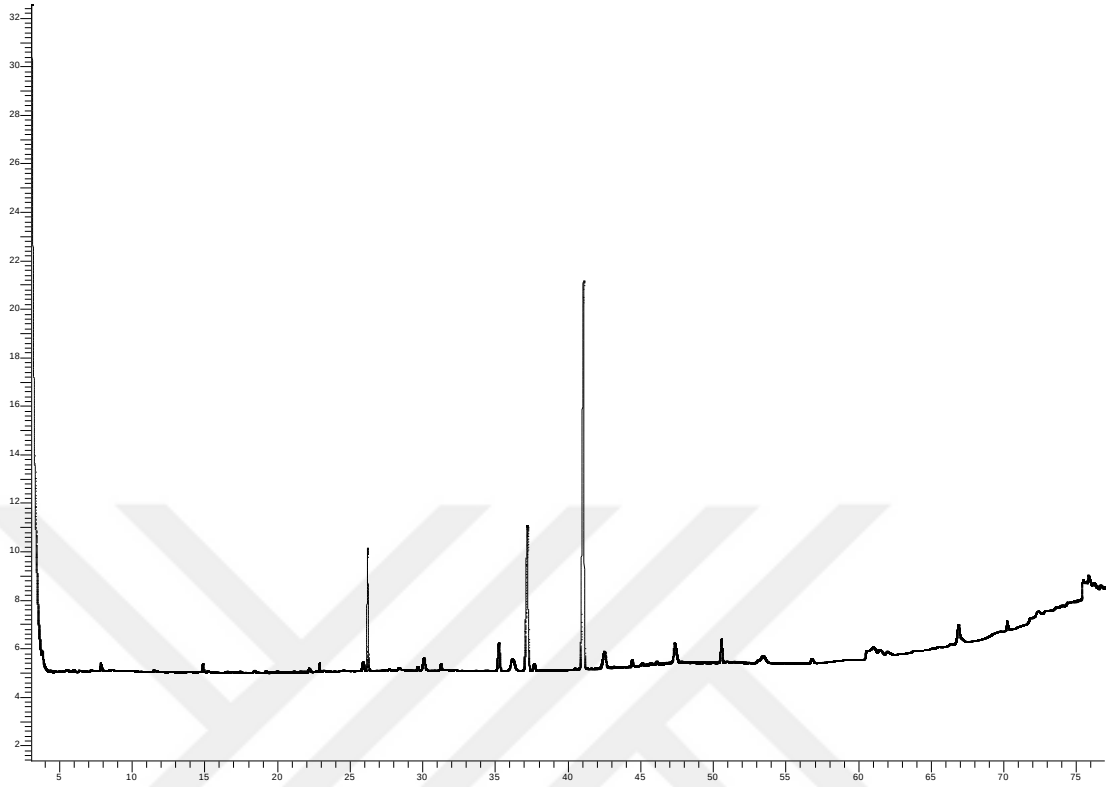
EK A3: Organik öneri *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.



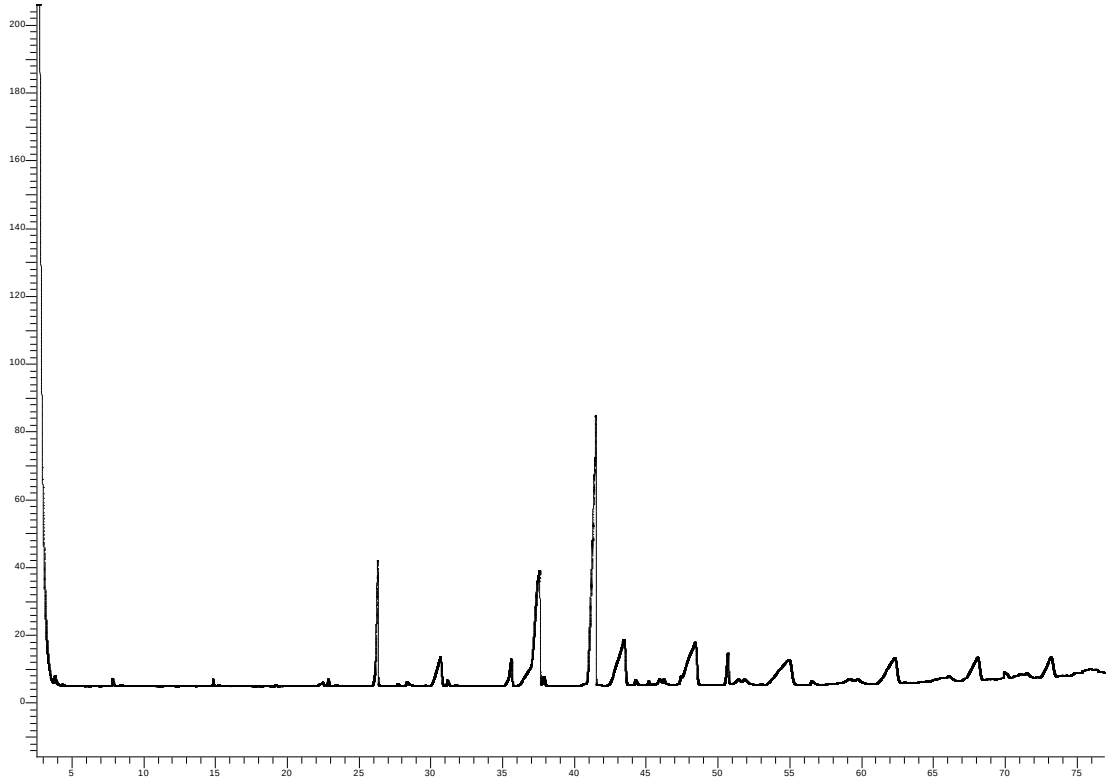
EK A4: Organik iki katı *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.



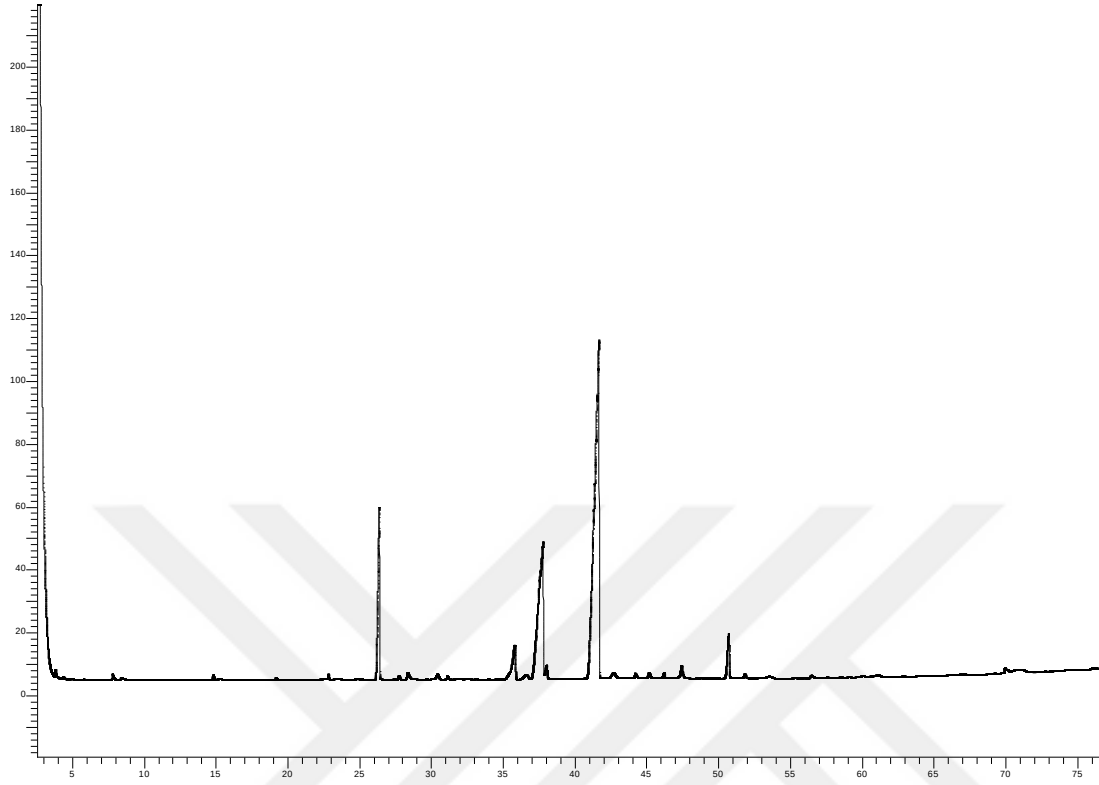
EK A5: Vermikompost yarısı *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.



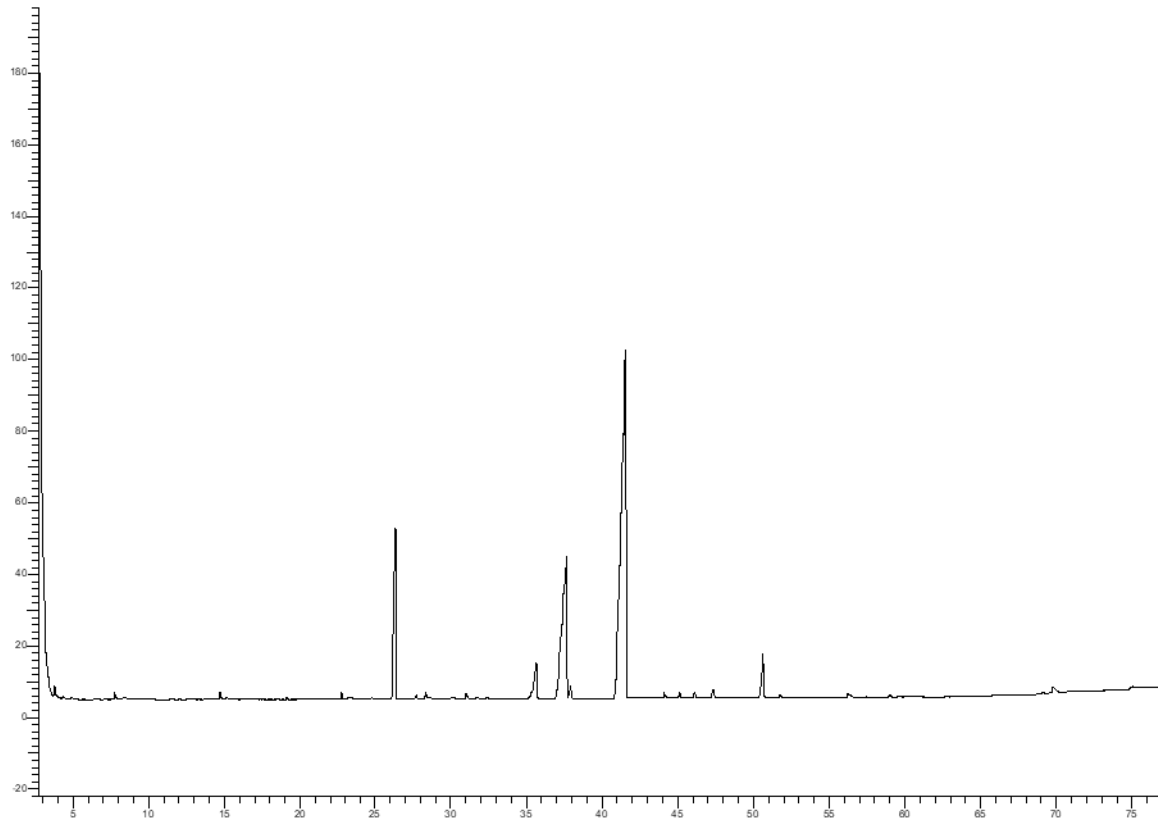
EK A6: Vermikompost öneri *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.



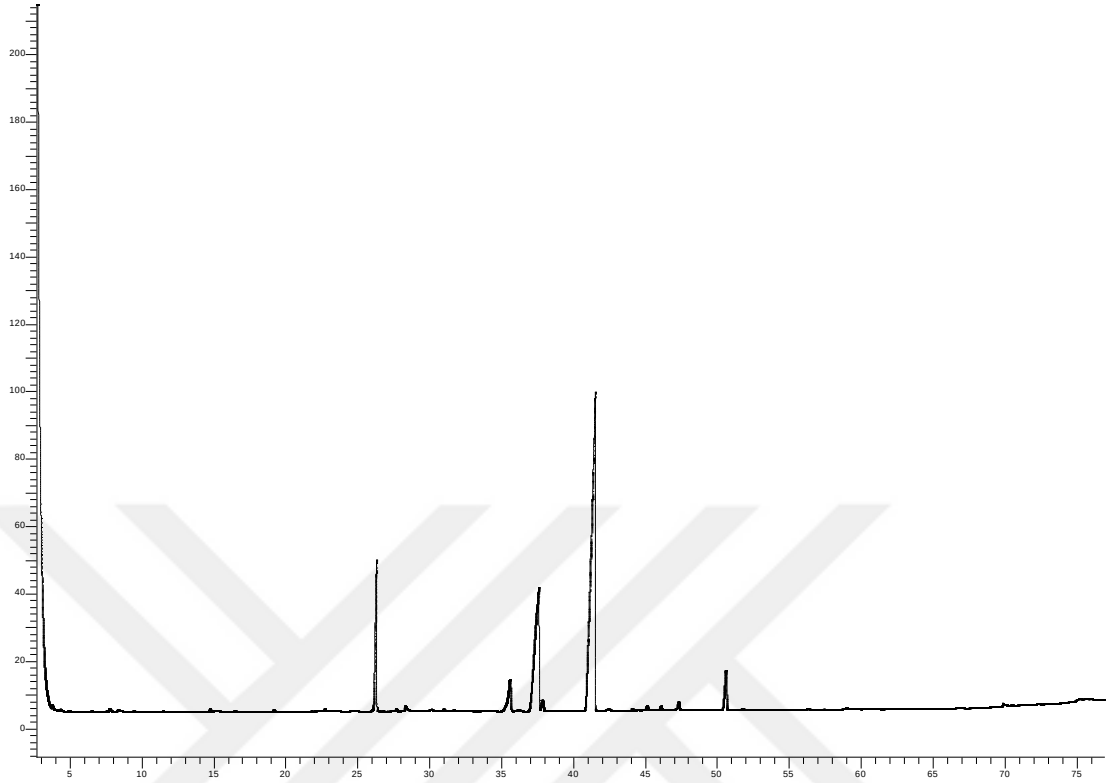
EK A7: Vermikompost iki katı *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.



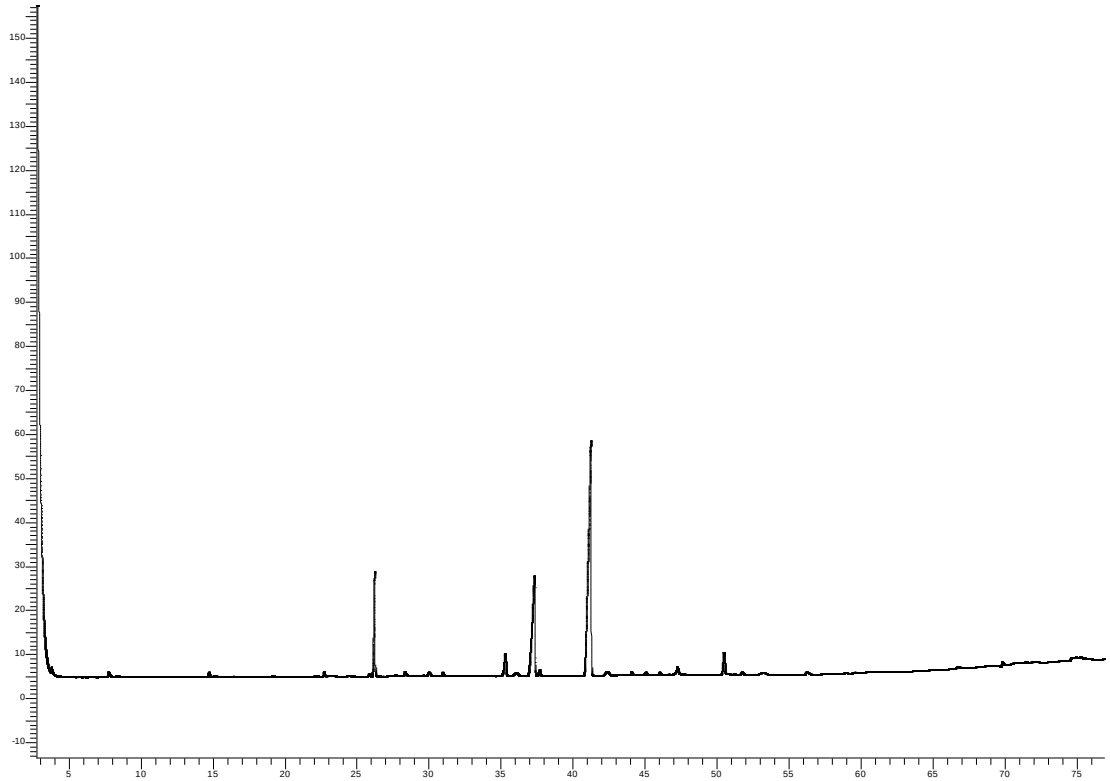
EK A8: Kimyasal yarıısı *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.



EK A9. Kimyasal öneri *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.

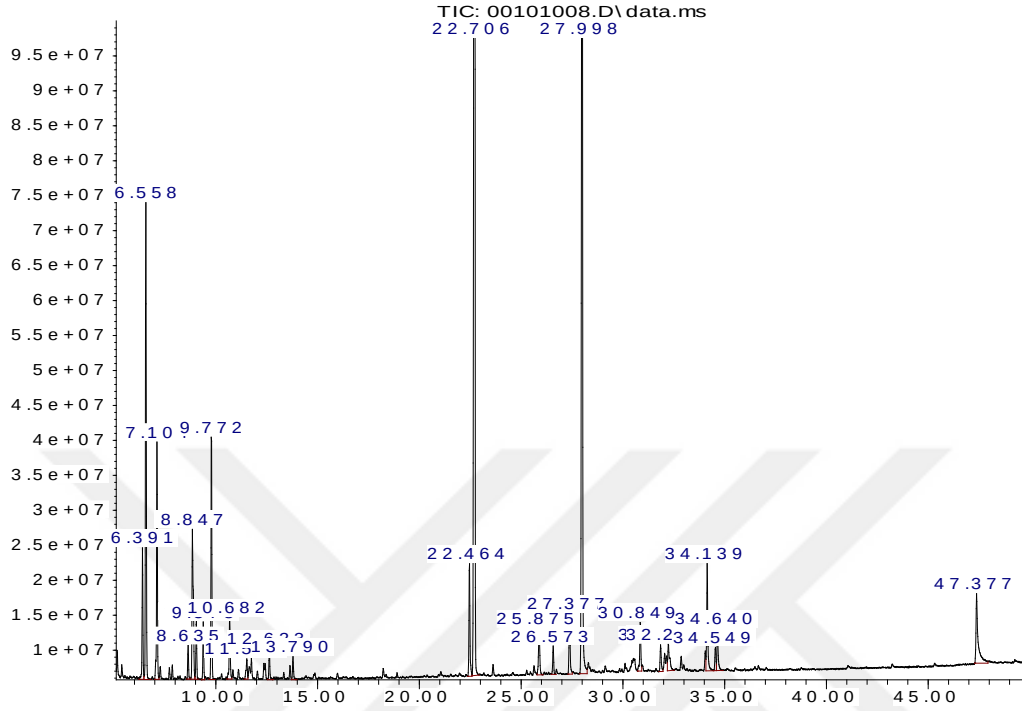


EK A10: Kimyasal iki katı *N. damascena* tohum numunesine ait sabit yağının doymuş ve doymamış yağ asidi bileşimine ait GC-FID kromatogramı.



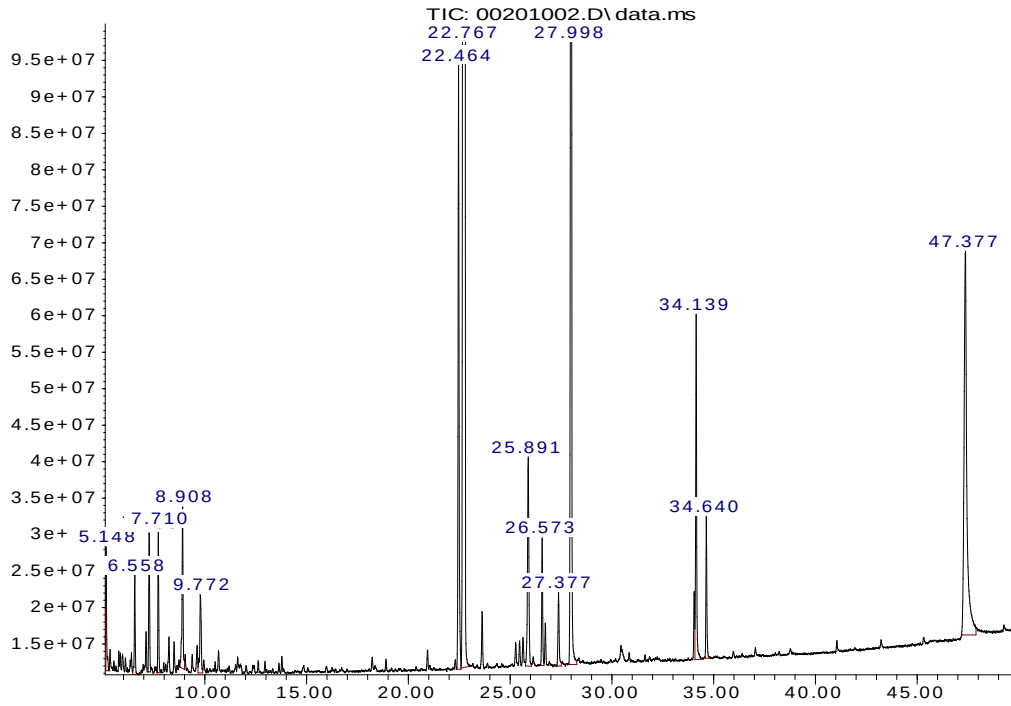
EK B1: Negatif kontrol *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

Abundance



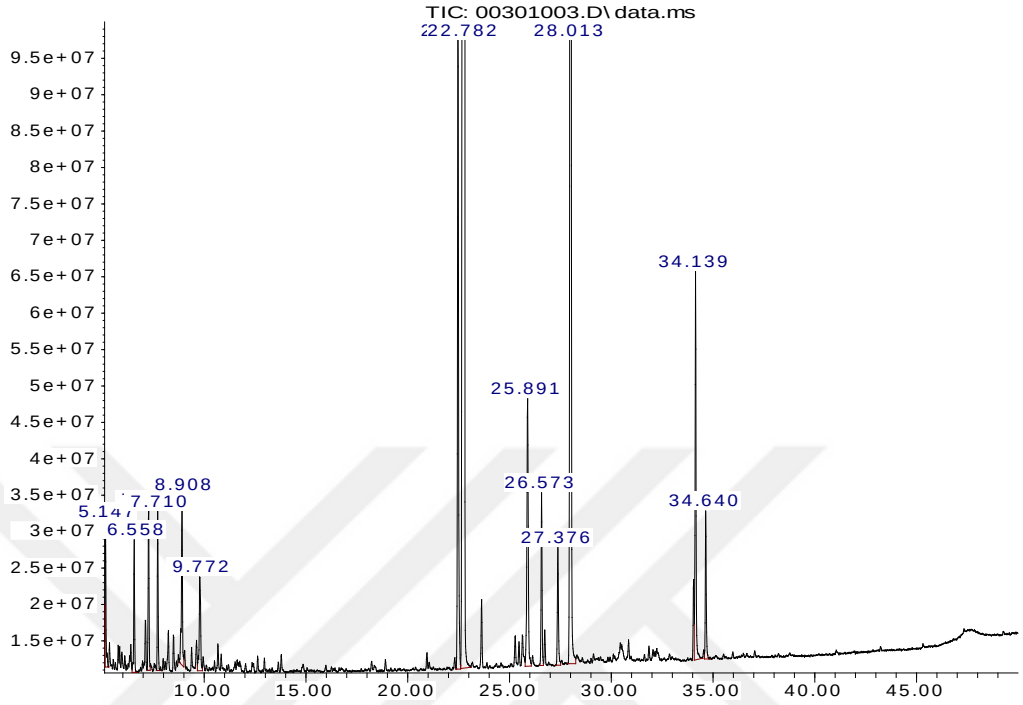
EK B2: Organik yarısı *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

Abundance



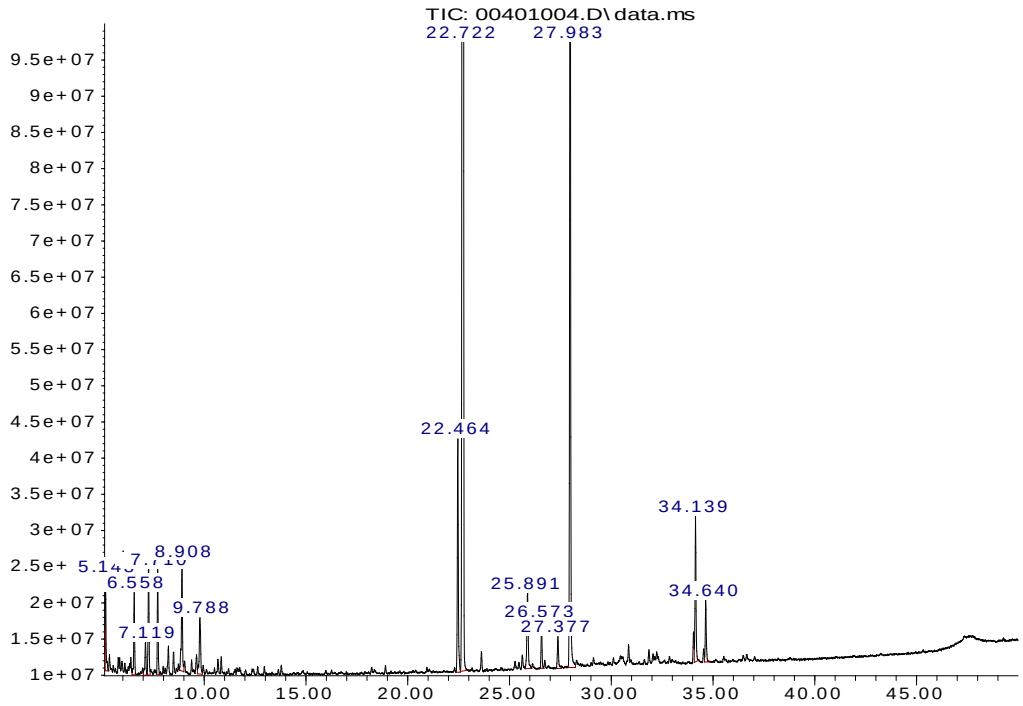
EK B3: Organik öneri *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

Abundance



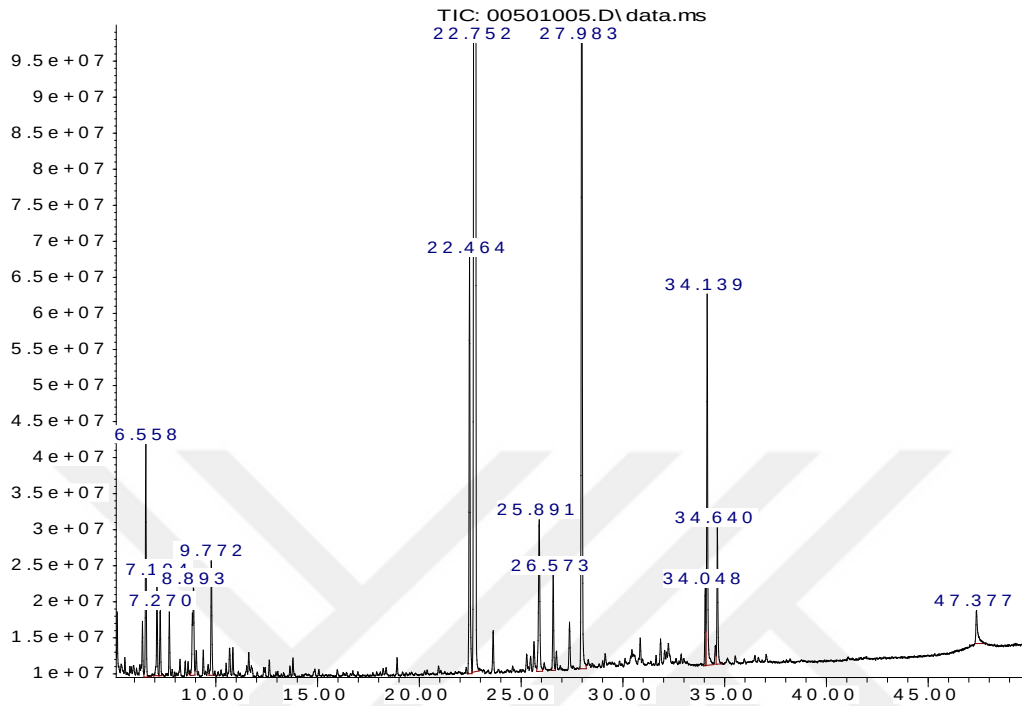
EK B4: Organik iki katı *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

Abundance



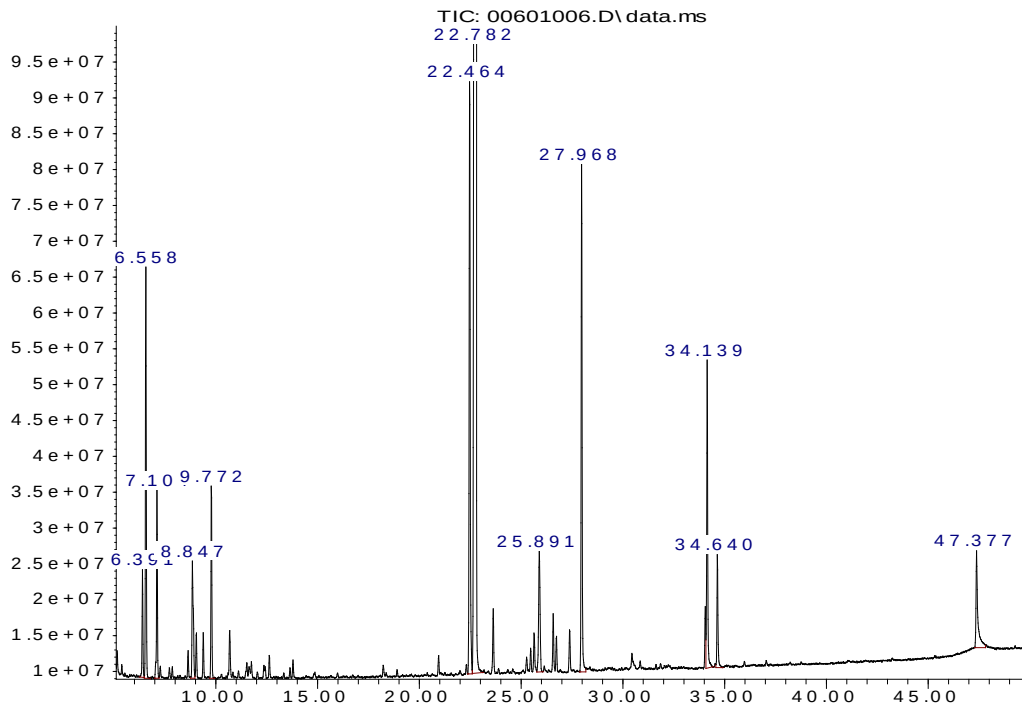
EK B5: Vermikompost yarısı *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

Abundance



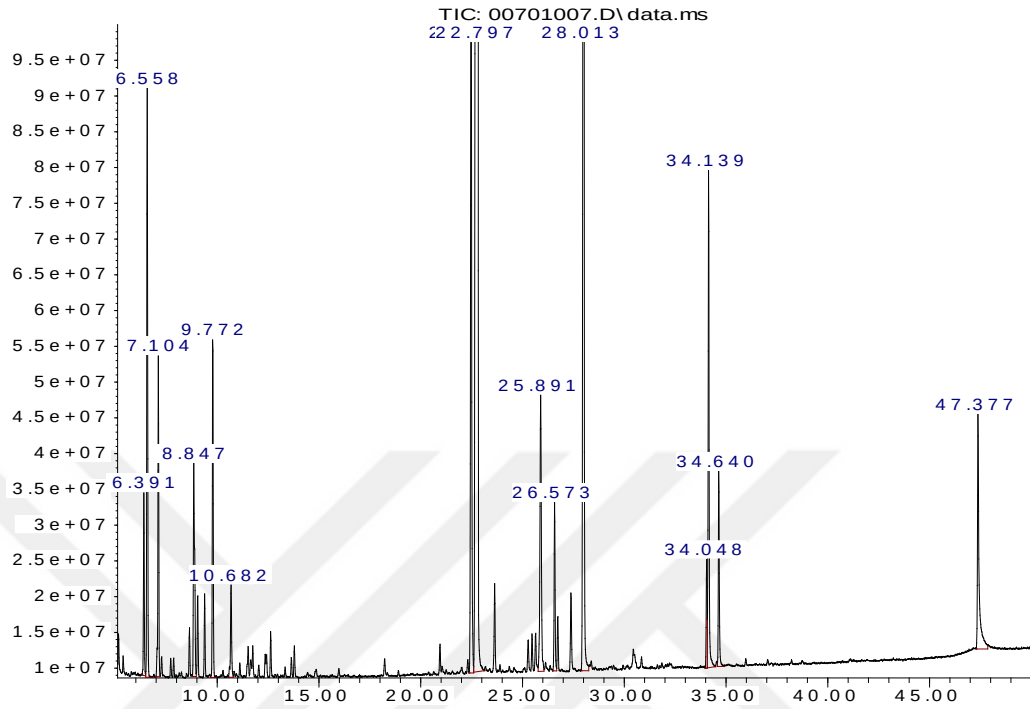
EK B6: Vermikompost öneri *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

Abundance



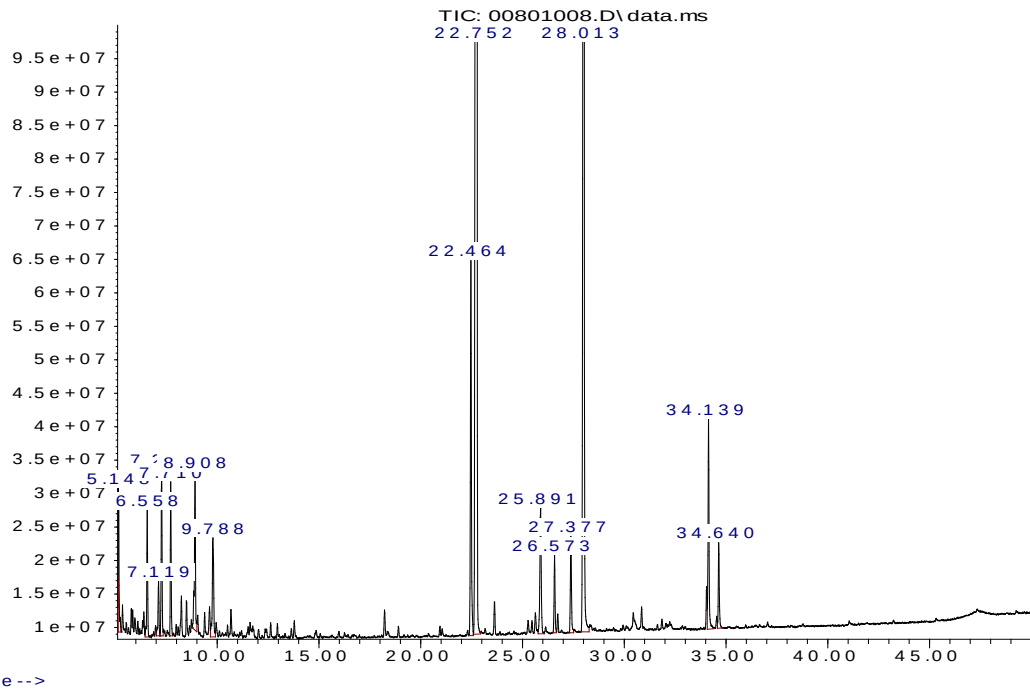
EK B7: Vermikompost iki katı *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

Abundance



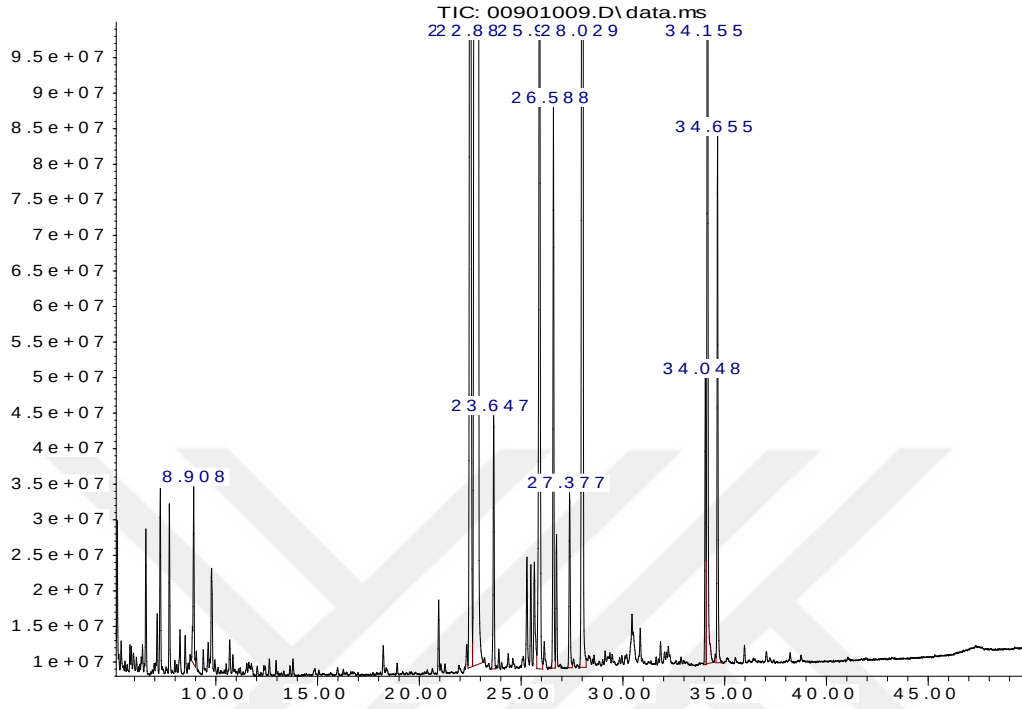
EK B8: Kimyasal yarı *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

Abundance



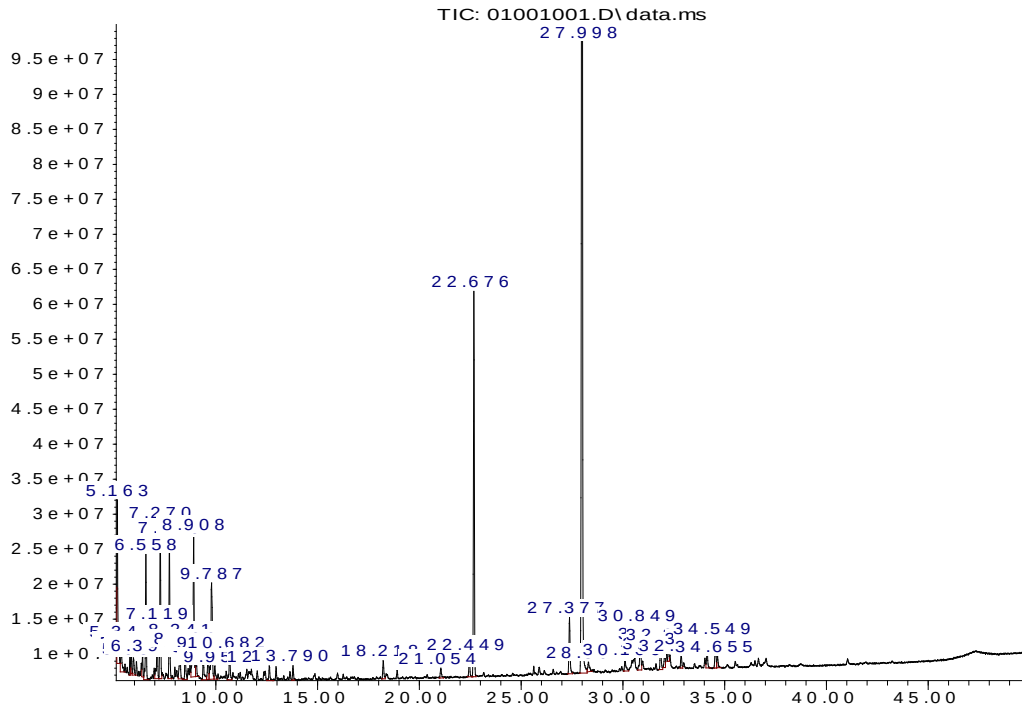
EK B9: Kimyasal öneri *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

Abundance

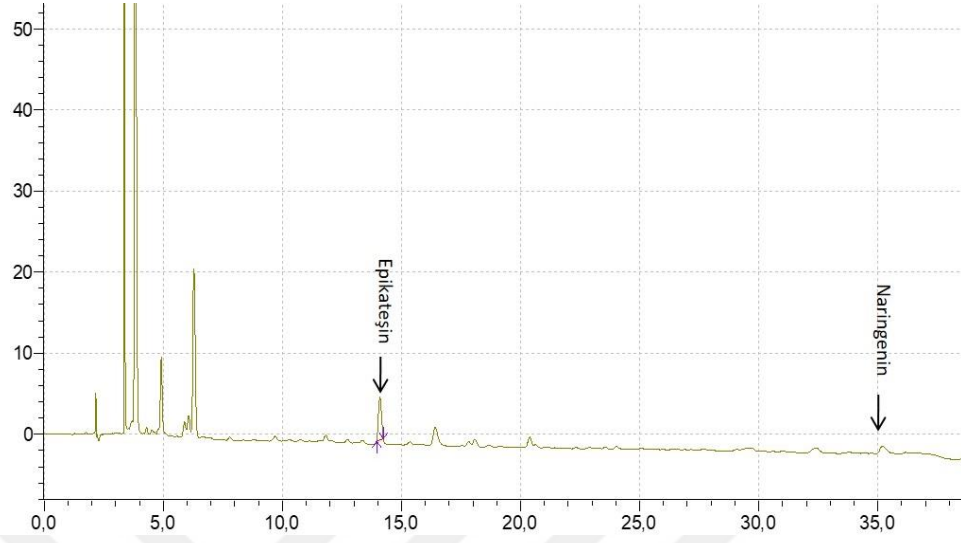


EK B10: Kimyasal iki katı *N. damascena* tohum numunesine ait uçucu yağ kromatogramı (GC-MS).

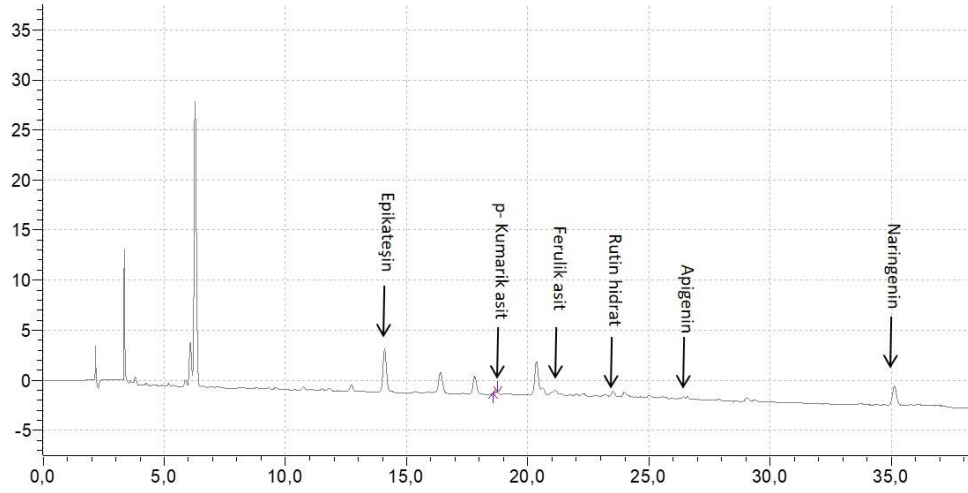
Abundance



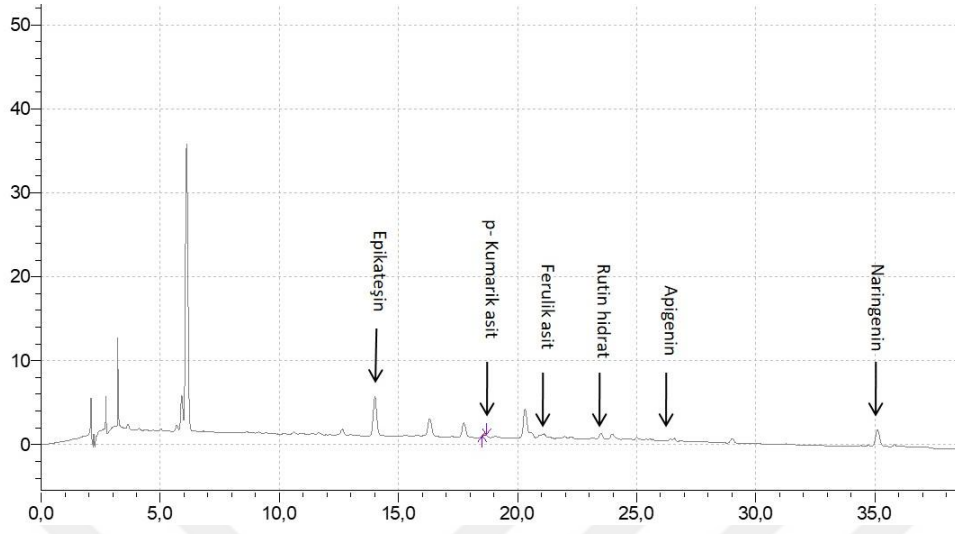
EK C1: Negatif kontrol *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



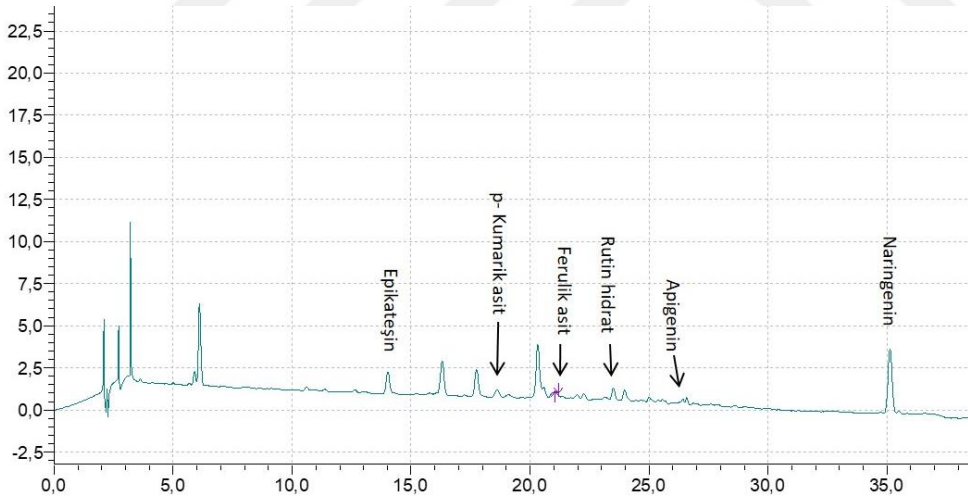
EK C2: Organik yarısı *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



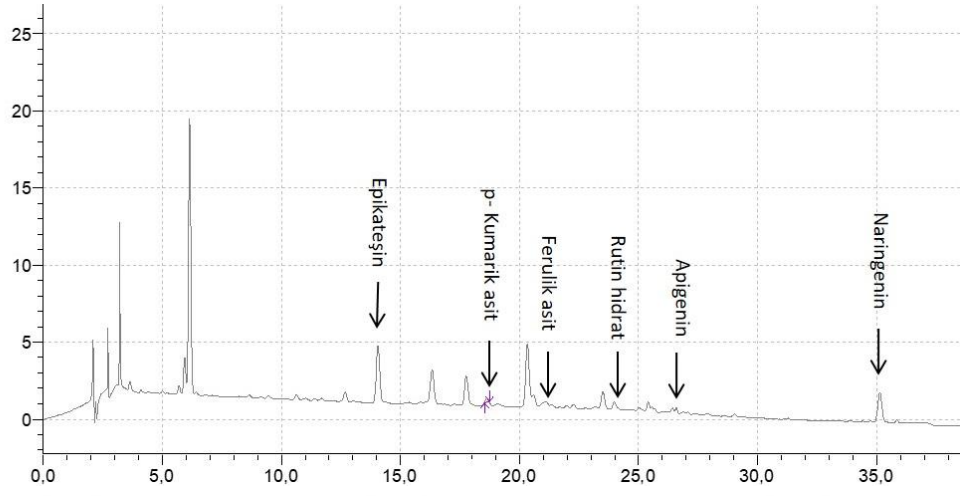
EK C3: Organik öneri *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



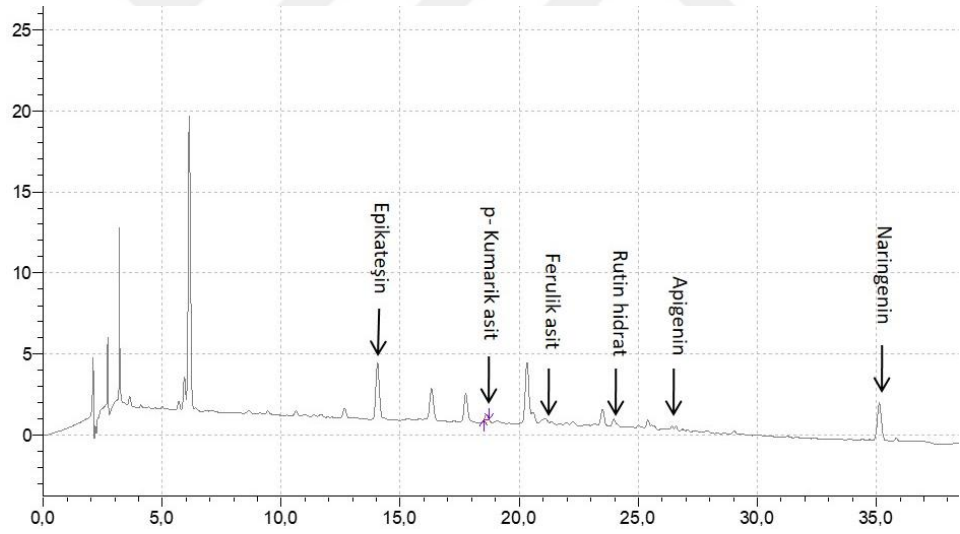
EK C4: Organik iki katı *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



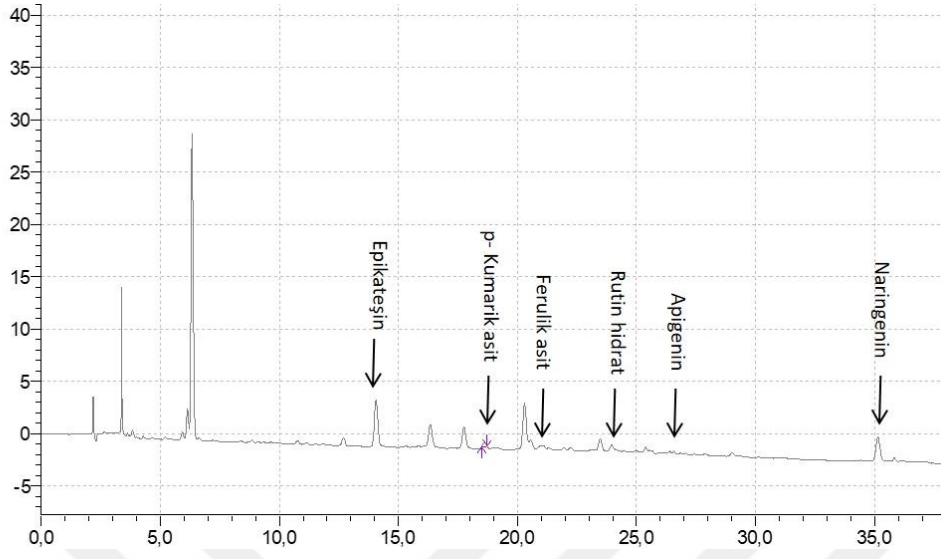
EK C5: Vermikompost yarısı *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



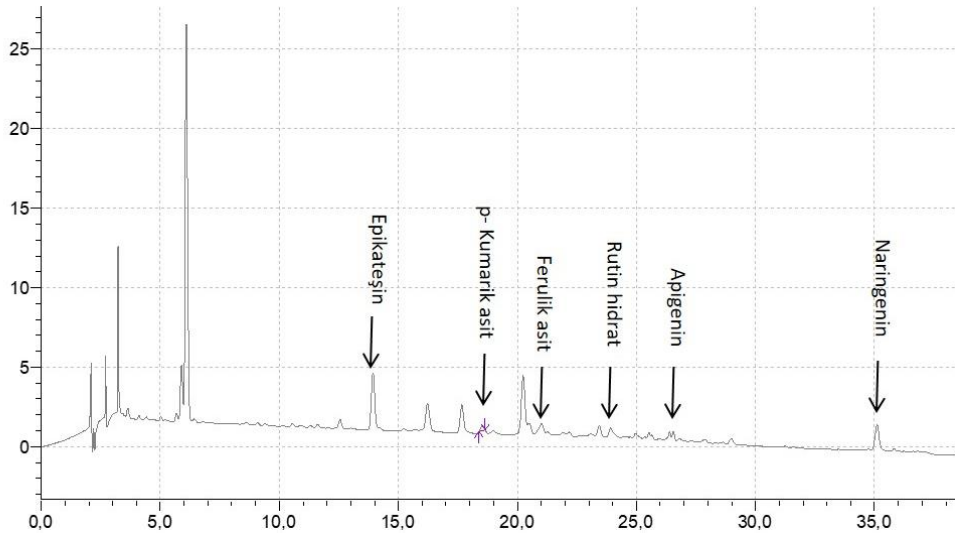
EK C6: Vermikompost öneri *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



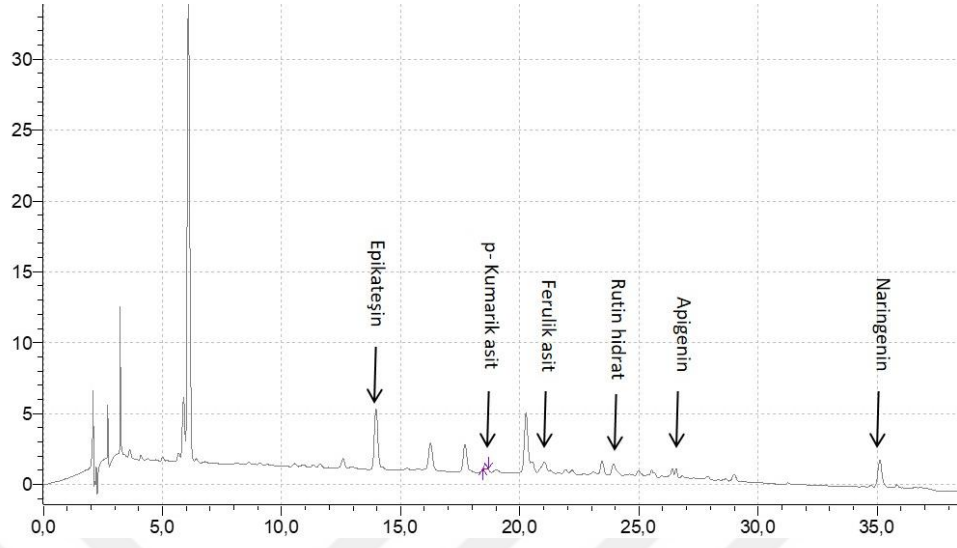
EK C7: Vermikompost iki katı *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



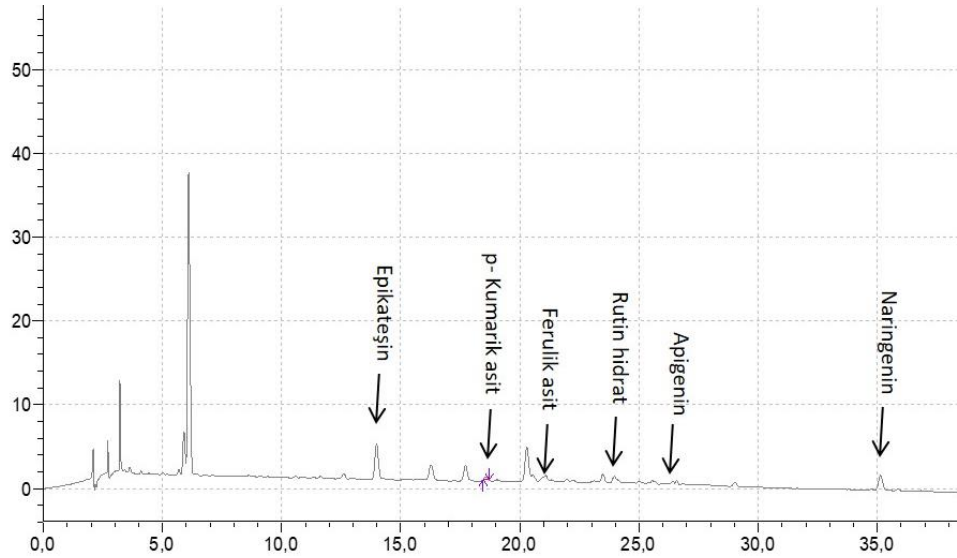
EK C8: Kimyasal yarıısı *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



EK C9: Kimyasal öneri *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



EK C10: Kimyasal iki katı *N. damascena* tohum numunesine ait fenolik bileşik kromatogramı (HPLC).



EK D1: β -elemene kimyasalına ait kalibrasyon eğrisi

