



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

***ECHINACEA ANGUSTIFOLIA* HELL. EKSTRAKTININ *SOLANUM*
LYCOPERSICUM L. BİTKİSİNİN TOPLAM PROTEİN MİKTARI VE
PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Ayşe Gizem DİNÇ

Biyoloji Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

***ECHINACEA ANGUSTIFOLIA* HELL. EKSTRAKTININ *SOLANUM*
LYCOPERSICUM L. BİTKİSİNİN TOPLAM PROTEİN MİKTARI VE
PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Ayşe Gizem DİNÇ

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 08/01/2016

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Cüneyt AKI

ÇANAKKALE

Ayşe Gizem DİNÇ tarafından Prof. Dr. Cüneyt AKI yönetiminde hazırlanan ve **08/01/2016** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “*Echinacea angustifolia* Hell. Ekstraktının *Solanum lycopersicum* L. Bitkisinin Toplam Protein Miktarı ve Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkileri” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Cüneyt AKI

.....

Başkan

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ

.....

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Ayşe Gizem DİNÇ

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde yardımcı olan, çalışmam boyunca benden bilgi ve desteğini esirgemeyen, önerileriyle yol gösteren, deneyimlerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam Prof. Dr. Cüneyt AKI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans dönemim boyunca bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, gerek ders ortamında gerek tez çalışması aşamasında yardımlarını esirgemeyen sayın jüri üyelerim Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR'e ve Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ'a teşekkür ederim.

Tez deneylerimin ölçümlerini gerçekleştirmemde bana yardımcı olup, ekipmanlarını kullanmama izin veren Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümüne teşekkür ederim.

Yüksek lisans ve lisansım boyunca benden yardımlarını esirgemeyen, beni her zaman destekleyen ve yanımda her daim olduklarını bildiğim arkadaşlarım Özgün SALI, Gizem AYGÜN ve Büşra HABEK'e teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan, hayatım boyunca bana yol gösteren, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, daima bana inanıp güvenen annem Aysun DİNÇ, babam Tahsin DİNÇ, canım ablam Sinem SİREK ve ailemizin en küçük tatlı ferdi Tuana Bade SİREK'e ömür boyu minnet duyar teşekkür ederim.

Ayşe Gizem DİNÇ
Çanakkale, Ocak 2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

DMSO	Dimetil sülfoksit
mL	Mililitre
Kg	Kilogram
g	Gram
%	Yüzde oranı
rpm	Rotation per minute (Dakika/ devir)
NO	Nitrik asit
mg	Miligram
µg	Mikrogram
cm	Santimetre
dk	Dakika
nm	Nanometre
M	Molarite
NaCl	Sodyum klorür
SNP	Sodyum nitroprussid
MS	Murashige Skoog Besin Ortamı
IBA	İndol-3-butirik asit
IAA	İndol-3-asetik asit
NAA	α-Naftalen asetik asit
P	Fosfor
Mg	Magnezyum
Mn	Mangan
Zn	Çinko
N	Azot
Cl	Klor
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
Na	Sodyum
K	Potasyum
Ca	Kalsiyum
µl	Mikrolitre

ÖZET

***ECHINACEA ANGUSTIFOLIA* HELL. EKSTRAKTININ *SOLANUM LYCOPERSICUM* L. BİTKİSİNİN TOPLAM PROTEİN MİKTARI VE PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Ayşe Gizem DİNÇ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Cüneyt AKI

08/01/2016, 62

Asteraceae familyasından olan *Echinacea angustifolia* Hell. tıbbi ve ekonomik önemi olan önemli endemik bir türdür. Araştırmamızda, ekinezya bitkisinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarından metanol ve etanol ile hazırlanarak evaporatör ile uçurulup toz haline getirilen ekstrakt, bitkilere uygulanmak için DMSO ile 0.01 g/mL ve 0.03 g/mL olacak şekilde çözdürülerek hazırlanmıştır. Bu ekstrakt in vivo olarak yetiştirilen 16 haftalık *Solanum lycopersicum* Mill. türünün yapraklarına püskürtülmüştür. Çözücü olarak kullanılan DMSO uygulamalarda tek başına da uygulanmıştır. Uygulamadan 24 ve 48 saat sonra yaprakların homojenizasyonu gerçekleştirilerek ekstraktın domates bitkisinde toplam protein ve POX [EC 1.11.1.7] aktivitesinde meydana getirdiği değişimler spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

Ekinezya ekstraktlarının toplam protein miktarındaki değişimler üzerine etkilerine bakıldığında, konsantrasyona ve zamana bağlı olarak protein miktarlarında farklı derecelerde azalmalar saptanmıştır. Kontrol grubuna kıyasla en fazla düşüş uygulamadan 48 saat sonra DMSO, metanol ekstraktı ve etanol ekstraktı gruplarının 0.03g/mL'lik konsantrasyonlarında sırası ile %43.16, %29.32 ve %27.26 olarak bulunmuştur.

Ekinezya ekstraktının peroksidaz aktivitesi üzerinde etkilerine bakıldığında, konsantrasyon ve zamana bağlı olarak peroksidaz miktarlarında artışlar saptanmıştır. Kontrol grubuna kıyasla en fazla artış uygulamadan 48 saat sonra DMSO, metanol ekstraktı ve etanol ekstraktı gruplarının 0.03g/mL'lik konsantrasyonlarında sırası ile %62.60, %38.20, %38.95 olarak bulunmuştur.

Elde edilen bu değerler doğrultusunda ekinezya ekstraktının üç farklı etmenle

(özgen, konsantrasyon, zaman) uygulanması ile domates bitkisindeki savunma sistemini uyardığı saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: *Echinacea angustifolia*, Toplam protein, Peroksidaz, *Solanum lycopersicum*

ABSTRACT

EFFECTS OF *ECHINACEA ANGUSTIFOLIA* HELL. EXTRACTS ON TOTAL PROTEIN AMOUNT AND PEROXIDASE ACTIVITY IN *SOLANUM LYCOPERSICUM* L.

Ayşe Gizem DİNÇ

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biological Science

Advisor : Prof. Dr. Cüneyt AKI

08/01/2016, 62

Echinacea angustifolia Hell. is an endemic, medicinal and economically important plant which is belonging to *Asteraceae* family. In this research, the effects of ethanolic and methanolic extracts of *E. angustifolia* which prepared by evaporation system on total protein and peroxidase [EC 1.11.1.7] levels changing in on *Solanum lycopersicum* Mill. were determined. Echinacea powder extract were prepared as a stock solution by DMSO solvent as 0.01 g/mL and 0.03 g/mL.

Obtained extracts were applied to the *S. lycopersicum* Mill. species with leaf spraying. 24 and 48 hours after this applications healthy leaf of 16 weeks old plantlets were harvested for total protein and peroxidase analyses. Changing in total protein amount and peroxidase activity were measured spectrophotometrically. Levels changing were occurred in total protein amount and peroxidase activity levels after echinacea powder applications according to exposure time and concentrations.

Amount of total protein changing after echinacea application in *S. lycopersicum* plantlets when compare with control group and 24 hrs. application, protein levels were decreased 48 hrs. after 0.03g/mL echinacea application in DMSO, methanol extract, ethanol extract groups respectively as %43.16, %29.32 ve %27.26.

Peroxidase activity changing in *S. lycopersicum* plantlets when compare with control group and 24 hrs. application, peroxidase levels were increased 48 hrs. after 0.03g/mL echinacea application in DMSO, methanol extract, ethanol extract groups respectively as %43.16, %62.60, %38.20, %38.95.

As a result of our MSc thesis, echinacea extracts which prepared as three different

factors (solvent, concentration, exposure time) induce the plant defense system as a plant activator as well.

Keywords: *Echinacea angustifolia*, Total protein, Peroxidase analyses, *Solanum lycopersicum*

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEZ SINAV SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. <i>Asteraceae</i> Familyasının Genel Özellikleri	5
2.2. <i>Echinacea</i> sp. Bitkisi.....	5
2.2.1. <i>Echinacea</i> sp. Bitkisinin Sistematikteki Yeri	6
2.2.2. <i>Echinacea angustifolia</i> Bitkisinin Morfolojik Özellikleri.....	7
2.2.3. <i>Echinacea</i> sp. Bitkisinin Kimyasal Bileşenleri	7
2.2.4. <i>Echinacea</i> sp. Bitkisinin Tıbbi Açından Önemi.....	9
2.3. Ekinezya Ekstresi	9
2.4. Ekinezya Türleri İle Yapılan Çalışmalar.....	10
2.5. Domates (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) Bitkisinin Önemi	14
2.5.1. Domates (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) Bitkisinin Sistematikteki Yeri.....	15
2.5.2. Kimyasal Bileşimi	15
2.5.3. Domates Bitkisinin Sağlık Açısından Önemi.....	16
2.5.4. Domates Ekonomisi.....	17
2.5.5. Çanakale İlindeki Domatesin Durumu	18
2.5.6. Domates ile İlgili Yapılan Çalışmalar	19
2.6. Bitki Patojen İlişkileri	21
2.6.1. Bitkilerde Uyarılmış Dayanıklılık Mekanizması.....	22
2.6.2. Peroksidaz (POX).....	23
2.6.3. Bitki Aktivatörleri	23
2.6.4. Bitki Aktivatörleri Konusunda Yapılan Çalışmalar	24
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE METOT	27
3.1. Materyal	27

3.1.1. Kimyasallar.....	27
3.1.2. Sarf Malzemeler	27
3.2. Yöntem.....	27
3.2.1. Domates Bitkisinin Fidelerinin <i>In vivo</i> Yetiştirilmesi.....	27
3.2.2. <i>Echinacea angustifolia</i> Hell. Türünün Ekstrakt Hazırlanışı.....	29
3.2.3. <i>E. angustifolia</i> Hell. Ekstraktlarının DMSO Çözeltisi ile Çözdürülmesi.....	31
3.2.4. <i>Echinacea angustifolia</i> Hell. Ekstraktının <i>Solanum lycopersicum</i> L. Türüne Uygulanması.....	32
3.3.Çalışma İçin Gerekli Olan Çözeltilerin Hazırlanması	33
3.3.1. 0.05M Sodyum Fosfat Tamponunun Hazırlanması.....	33
3.3.2. Protein Boyası Brilliant Blue G-250 Hazırlanması	34
3.3.3. 0.1M Pyrogallolün Hazırlanması.....	34
3.3.4. 90mM H ₂ O ₂ Hazırlanması	34
3.4. <i>S. lycopersicum</i> L. Türünün Yaprak Özütünün Homojenizasyonu.....	34
3.5. Peroksidaz (POX) ve Toplam Protein Analizi	35
3.5.1. Örneklerin Peroksidaz İçeriklerinin Hesaplanması (Kinetik Reaksiyon).....	35
3.6. Toplam Protein Analizi	35
3.6.1. Protein Standartının Hazırlanması.....	35
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	37
4.1. Bitkisel Materyalin Çimlenmesine Ait Bulgular.....	37
4.2. <i>E. angustifolia</i> Hell. Ekstraktının Uygulanmasıyla Domates Fidelerinde Toplam Protein Değişim Bulguları.....	38
4.3. <i>E. angustifolia</i> Hell. Ekstraktının Uygulanmasıyla Domates Fidelerinde Peroksidaz Enzim Aktivitesindeki Değişim	40
4.4. Tartışma.....	43
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. <i>E. angustifolia</i> (http://ecemnaturel.com/catalog/echinacea-angustifolia/).....	7
Şekil 3.1. Bir haftalık <i>S. lycopersicum</i> L. fideleri.....	28
Şekil 3.2. On altı haftalık <i>S. lycopersicum</i> L. fideleri.....	28
Şekil 3.3. Kurutulmuş <i>Echinacea angustifolia</i> Hell. türünün toprak üstü kısmı.....	29
Şekil 3.4. <i>E. angustifolia</i> Hell. porselen havanda dövülüp etanol veya metanol ile karıştırılması.....	29
Şekil 3.5. Çözeltinin erlenlerdeki görüntüsü.....	30
Şekil 3.6. Ekstraksiyon işlemi gerçekleştiren çalkalayıcı.....	30
Şekil 3.7. Çözeltilerdeki metanol ve etanolün evaporatör ile buharlaştırılması.....	31
Şekil 3.8.a. Metanollü çözelti	31
b. Etanollü çözelti.....	31
Şekil 3.9. Etanol, metanol veya DMSO ile hazırlanmış ekstraktlı çözelti.....	33
Şekil 3.10. Ekstraktın <i>S. lycopersicum</i> L. türüne uygulanması.....	33
Şekil 3.11. Santrifüjden çıkan ependorf tüpler içerisindeki yaprak özütü ve supernatant kısmı.....	35
Şekil 3.12. Protein standart grafiği.....	36
Şekil 4.1. Sağlıklı 16 haftalık domates fidesi.....	37
Şekil 4.2. <i>In vivo</i> olarak yetiştirilen 16 haftalık domates fidesi.....	37
Şekil 4.3. <i>E. angustifolia</i> Hell. ekstrakt uygulamasının 24 saat sonrasındaki sonucunda domates fidelerinde oluşan toplam protein değişimleri.....	39
Şekil 4.4. <i>E. angustifolia</i> Hell. ekstrakt uygulamasının 48 saat sonrasındaki sonucunda domates fidelerinde oluşan toplam protein değişimleri.....	40
Şekil 4.5. <i>E. angustifolia</i> Hell. ekstrakt uygulamasından 24 saat sonra peroksidaz aktivitesi değişimleri.....	41
Şekil 4.6. <i>E. angustifolia</i> Hell. ekstrakt uygulamasından 48 saat sonrasındaki POX değişimleri.....	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. <i>Echinacea angustifolia</i> cinsinin sistematik sınıflandırılması.....	6
Çizelge 2.2. Farklı araştırmacıların ekinezya tür ve çeşitlerine göre kromozom sayıları (Kim ve ark., 2004; Mechanda ve ark., 2004).....	7
Çizelge 2.3. <i>E. angustifolia</i> cinsinin toprak üstü ve kök kısımlarında bulunan sekonder metabolitler (Mat, 2002).....	8
Çizelge 2.4. <i>E. purpurea</i> cinsinin toprak üstü ve kök kısımlarında bulunan sekonder metabolitler (Mat, 2002).....	8
Çizelge 2.5. Ortalama büyüklükte (123 g) olgun bir domatesin Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı (USDA, United States Department of Agriculture) Milli Gıda Standart Referans Veritabanı* na göre kimyasal içeriği (Anonim, 2008).....	16
Çizelge 2.6. Dünyada domates ekim alanları ve üretimi (2012) (TÜİK (2014) Dış Ticaret İstatistikleri Veritabanı). (Anonim, 2014d).....	17
Çizelge 2.7. Türkiye’de yıllara göre domates üretimi (Ton) (TÜİK (2014) Bitkisel Üretim İstatistikleri Veritabanı) (Anonim, 2014d).....	17
Çizelge 2.8. Türkiye’de Bölgelere Göre Domates Üretimi (2013) (TEPGE (2013) Domates ve Domates Salçası, Durum ve Tahmin, 2012/2013).....	18
Çizelge 2.9. Bölgelere Göre Salçalık Domates Üretimi (2013) (TEPGE (2013) Domates ve Domates Salçası, Durum ve Tahmin, 2012/2013).....	18
Çizelge 3.1. Uygulama ekinezya ekstraktı uygulama grupları.....	32
Çizelge 3.2. BSA protein standart absorbanları.....	36
Çizelge 4.1. Uygulamadan 24 saat sonra toplam protein değişimleri.....	38
Çizelge 4.2. Uygulamadan 24 saat sonrasında düşüş gösteren verilerin ANOVA analizi sonuçları (* p<0.001).....	39
Çizelge 4.3. Uygulamadan 48 saat sonra toplam protein değişimleri.....	39
Çizelge 4.4. Uygulamadan 48 saat sonrasında düşüş gösteren verilerin ANOVA analizi sonuçları (* p<0.001).....	40
Çizelge 4.5. Uygulamadan 24 saat sonra toplam peroksidaz değişimleri.....	41
Çizelge 4.6. Uygulamadan 24 saat sonrasında artış gösteren verilerin ANOVA analizi sonuçları (* p<0.001).....	41
Çizelge 4.7. Uygulamadan 48 saat sonra toplam peroksidaz değişimleri.....	42

Çizelge 4.8. Uygulamadan 48 saat sonrasında artış gösteren verilerin ANOVA analizi sonuçları (* $p < 0.001$).....	43
--	----

BÖLÜM 1

GİRİŞ

İnsanlığın varoluşundan bu yana bitkilerin ve hayvanların insan yaşamındaki rolü ve yeri çok önemli olmuştur. Bu önem bitki ve hayvanların hem ekonomik hem de sosyal yaşamda insanlar için vazgeçilmez canlılar olmalarından kaynaklanmaktadır. Bitki ve hayvanların olmadığı bir dünyada insan yaşamının olanaksızlığı bilinen bir gerçektir. Özellikle tıbbi ve ekonomik önemi olan bitkiler insanlar tarafından yerleşik hayata geçilmesiyle eş zamanlı gerçekleşen eski bir gelenek olup çok yönlü olarak eczacılıkta, ilaç hammaddesi olarak, kozmetik sanayiinde, tekstilde boya hammaddesi olarak, alternatif tıpta doğrudan kullanılabilir. Tıbbi bitkilerin insan bağışıklık sistemleri üzerinde olan etkileri kapsamında birçok hastalıkları (şeker hastalığı, sarılık, nefes darlığı vb.) önleyici etkileri de bulunmaktadır. Ancak bu tür tıbbi bitkilerin kullanımında özellikle doz ayarlamasının iyi bir şekilde yapılması ve karma tıbbi bitki reçetelerinin kullanımlarında çok dikkatli olunması gerekmektedir. Aksi takdirde sağlık açısından olumsuz etkileri de olabilmektedir. Bu nedenle günümüzde alternatif tıp uygulamalarının o işin uzmanı olan kişilerce yapılmasının gerekliliği ortadadır. Bitkilerin topraktan emdikleri su, mineral ve bazı elementleri özgün bünyelerinde insan vücudunun özümleyeceği biçimlere çevirirler. İnsanlar tarafından sıklıkla kullanılan ve bitkilerin sekonder metabolitleri niteliğinde olan bu tür maddelere örnek vermek gerekirse; alkaloidler, terpenoidler ve fenolik bileşikleridir.

İnsanlar için bitkiler doğanın onlara sunduğu en değerli hazinedir ve bitkilerle insanlar ilişkileri bu hizmette önemli etmendir (Gezgin, 2006). Çok eski zamanlarda elde edilen verilere göre insanlar bu tıbbi açıdan değerli bitkilerden yararlanmışlardır (Koçyiğit ve Özhatay, 2005).

Son zamanlarda doktorlar tarafından verilen ilaçların yüzde yirmi beşi tıbbi bitkilerden ve bunların doğal halleridir (Farnsworth ve ark., 1985). İlk çağlardan beri bitkilerin tıbbi alanında kullanılması mevcut olup Türkiye’nde tıbbi bitki habitatının geniş olduğu ve insanların uzun süredir bu bitkileri kullandığı bilinmektedir (Baytop, 1984).

Geçmişten günümüze kadar insanların tıbbi bitkileri kullanmalarındaki amaç hastalıklarına şifa bulmak, iyileşmek ve yaşamlarını sağlıklı bir şekilde sürdürmek olmuştur. Bu bitkileri çay haline getirerek, yiyecek olarak, bakım amaçlı veya bazı özel amaçlı kullandıkları bilinmektedir (Anonim, 2005).

En eski çağlardan beri tıbbi ve beslenme amaçlı kullanılan bitkilerde zamanla artış

gözlenmiştir. 19. yüzyılda bitkilerin ilaç olarak kullanılan kısımları saptanmış olup kullanılan tıbbi bitkilerdeki artışta WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafınca kayda alınmıştır (Erdemir, 1998).

Bitkiler tarafından üretilen sekonder ve primer metabolitler insanlar için faydalı bileşiklerdir ve bitkiler bu metabolitleri insanların asimile etmeleri için çevirirler. Metabolitler insanların organlarına, vücut savunmasına ve yaraların iyileşmesine fayda sağlar (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

İlk kez 19. yüzyılda belirlenen biyoteknolojinin bir alanını oluşturan bitkilerin ürünleri yararlı maddelerin oluşmasını sağlamıştır. Araştırmacıların ilgi odağı olan ikincil metabolitler alkaloid, terpenoid ve fenoliklerdir (Oskay ve Oskay, 2009).

Bitkinin yaşamsal faaliyetleriyle doğrudan ilgisi olan primer metabolitler bitkinin gelişimi için önem arz eden kimyasal bileşenlerdir. Yeryüzünde miktarları oldukça fazladır ve bitkilerin dokularında fazla miktarda bulunurlar (Cowan, 1999; Theis ve ark., 2003). Primer metabolitlerden sentezlenen sekonder metabolitler ise farklı ve kendilerine özgü sınıflandırmaya sahiptirler (Vanisree ve ark., 2004).

Bitkilerin sekonder metabolit ürünleri olan kimyasalların saf hali birçok uygulama alanında kullanılmaktadır (Anonim, 2009b; Anonim, 2009c). Sanayi alanında kullanılmasına rastlanan bu ürünler tıbbi alanda da kullanılan kimyasalların benzer olduğu gözlenmiştir halindedir (Balandrin ve ark., 1985; Han, 2001).

Sekonder metabolit üretimi *in vitro* koşullarında hücre üretimiyle gerçekleşmektedir. Tohum veya bitkinin katı ortamda geliştirilmesi, sert doku oluşumu, oluşan sert dokunun sulu ortamda gelişimiyle hücre eldesi şeklinde gerçekleşmektedir (Anonim, 2009a; Teli ve Timko, 2004; Lila, 2005; Sato ve ark., 2001). Bu gerçekleşen yöntemle *in vivo* ortamında bitki büyümesinden daha çok yararı mevcuttur (Teli ve Timko, 2004; Lila, 2005; Sato ve ark., 2001).

Chester (1933) tarafından bildirilen doğal savunma mekanizmasında bitkiler kendilerini patojen saldırılarından korunmalarına dayanır. Doğal savunma mekanizmasını (sistemik kazanılmış dayanıklılık SAR) harekete geçiren bu etkiye bitki aktivatörü denilmektedir (Anonim, 2000a).

Bitkilerin kendilerini yabancı maddelere ve onların yarattığı zararlara karşı kendini koruyabilmesi için savunma sistemleri mevcuttur. Bitkilerin savunma sistemlerinden biri kendilerine özgü fiziksel bir yaklaşım şeklinde gerçekleşir. Diğer bir sistem ise zararlının bitki içerisine girmesiyle meydana gelen savunma şeklidir (Creasy, 2000).

Bitkiler patojen ve zararlı organizmalara karşı fitoaleksinin yolu da olmak üzere farklı

savunma sistemi geliştirmişlerdir (Lagrimni ve ark., 1993). Son zamanlardaki yapılan araştırmalar bitki savunma sistemleri olarak SAR mekanizmasının varlığını öne sürmektedir. Bu mekanizma hastalıklarla mücadelede bitki aktivatörleri ile birlikte hareket ederek bitkide hastalıklara ve mikroorganizmalara karşı dayanıklılık ve süreklilik sağlamaktadır (Anonim, 1999).

SAR mekanizması; önce aktifleyici (zarar verici unsur) uygulanması, sonra bu unsurun harekete geçmesi ve en son SAR mekanizmasından sorumlu genlerin aktif hale gelmesiyle oluşan savunma şeklindedir (Anonim, 2000b).

Bitkilerdeki savunma sisteminin harekete geçiren birçok enzim üretimi gerçekleşmekte ve bu enzimler sayesinde ihtiyaç durulduğu zaman bitkinin savunulmasında görev almaktadırlar. Böyle zamanlarda tepki olarak serbest elektron ve serbest radikal düzeylerinde bir artış söz konusudur. Savunma sisteminin ilerleyişinde aktif olan en önemli enzim peroksidazdır. Bu enzim bitkinin kloroplastında sentezlenip patojenlere karşı savunma reaksiyonlarında rol oynamaktadır (Maleopsa ve Urbanek, 1994).

Sebze türü olan domates (*Solanum lycopersicum* L.) *Solanaceae* familyasına ait olup tüm dünyada en fazla yetiştiriciliği yapılan sebzelerden birisidir (Oğuz, 2010). Şimdiki zamanda ham olarak veya çeşitli şekillerde tüketimi gerçekleşen domates çeşidi dünyanın hemen her yerinde yetiştirilmektedir (Anonim, 2014a). 2009 yılında 153 milyon ton yıllık üretim ile domates dünyada ikinci en önemli sebze olmuştur (Krylod, 2012). Dünya genelinde ülkemiz domates üreticiliğinde dördüncü sırada yer aldığı saptanmıştır. Ülke genelinde tespit edilerek toplanmış olan yaklaşık seksen farklı aksesyon Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Gen Bankasında muhafaza edilmektedir (Oğuz, 2010).

Doğal ve sentetik yapıdaki antioksidanlar (Gökalp ve ark, 2002) canlı bünyesine beslenme şekilleriyle alakalı olarak dışarıdan alınan ve biyolojik olaylar sonucunda serbest radikallerin oluşumu önleyip onları yok eden molekül yapıdadırlar (Elliot, 1999; Başer, 2002). Doğal antioksidanlar bitki ve hayvan dokularında bulunurlar. Domates bitkisindeki likopen doğal antioksidanlardandır.

Tıbbi bitki olan ekinezya enfeksiyonlarla savaşarak savunma sistemimizi güçlendirir. Orjini Kuzey Amerika'dır ve oradan tüm dünyaya yayılış göstermiş olup eskiden yerliler tarafından yaraların iyileştirilmesinde, yılan ısırmasında panzehir, ağrı kesici, öksürük ve birçok tedavilerde kullanıldığı bilinmektedir (Muntean ve ark., 1998).

Yüksek lisans tez araştırmamızın amacını, tıbbi ve ekonomik olan *Echinacea angustifolia* Hell. türünün toprak üstü organlarından hazırlanan ekstraktların bitkilerdeki

doğal savunma sistemlerini ne Şekilde uyardığının belirlenmesi oluşturmaktadır. Bu amaç ile ekinezya bitkisinin metanol ve etanol ile hazırlanıp buharlaştırılarak toz haline getirilen ekinezya tozunun dimetil sülfoksit (DMSO) ile hazırlanan stokları, iki farklı konsantrasyonunda (0.01, 0.03g/mL) suyla seyreltilerek *in vivo* olarak yetiştirilen 16 haftalık *Solanum lycopersicum* L. fidelerinin yapraklarına uygulandıktan 24 ve 48 saat sonraki toplam protein ve POX değişimleri belirlenmiştir.

Yüksek lisans tez araştırmamızın temel hedefini farklı çözücüler ile hazırlanan ve farklı sürelerde uygulanmış olan ekinezya ekstraktının hem ekonomik hem de tıbbi olarak kullanılan domates bitkisi üzerinde savunma sistemini uyarıcı etkisini belirlemek oluşturmuştur. Çünkü günümüzde bitki hastalıkları ile mücadelede yoğun miktarlarda bitki aktivatörü ve sentetik elisitör kullanılmaktadır. Tüm bunların ekonomik ve kolay yollarla elde ediliŐi ve bu bitki ekstraktının savunma sistemlerindeki etkisi saptanarak, bitki savunma mekanizmasını geliştirmek adına kullanılması hedeflenmiŐtir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *Asteraceae* Familyasının Genel Özellikleri

Asteraceae üyeleri, yaygın bir alanda dağılım gösterirler. Yirmi üç bin türü olan *Asteraceae* familyası angiospermelerin yüzde onuna denk gelir (Wilson, 1986; Bremer, 1994; Mucciarelli ve ark., 2002).

Asteraceae familya üyelerinin atasının coğrafyadaki yeri çeşitli araştırmacılar tarafından araştırılmaktadır. Bazı araştırmacılar ekinezya atasının coğrafik yerleri olarak Güney Amerika'nın kuzeyi, bazıları da And Dağlarının kuzeyini göstermektedirler (Raven ve Axelrod, 1974; Turner, 1977).

Asteraceae familyasına ait Türkiye florasında toplam 1209 tür kaydedilmiş olup tür sayısı bakımından ilk sırada yer alır. Bu türlerin 447'si endemiktir. Bu familyanın 134 cinsi bulunmaktadır (Davis ve ark., 1988; Özhatay ve Kültür 2006; Doğan 2007).

2.2. *Echinacea* sp. Bitkisi

Asteraceae familyasının en çok tanınan ve tıbbi olarak kullanılan ekinezya bitkileri *E. purpurea*, *E. angustifolia* ve *E. pallida* türleridir. Tıbbi olarak değeri olan ve bilinen ekinezya türleri eski çağlardan beri bağışıklık uyarıcı, virüslere karşı etkili olması, bakterilere karşı savunma oluşturması, parazitlere karşı olması ve iltihabi reaksiyonu önleyen madde içermesi nedeniyle bazı rahatsızlıkların tedavi süresinde uygulanmıştır. Gribal enfeksiyon, astım, kas tutulmaları, kadın hastalıkları, cilt problemlerinde ve daha bir çok alanda kullanıldığı saptanmıştır (Muntean ve ark., 1998; Lee ve ark., 2009).

Ekinezya türlerinin toprak üstü, kök ve gövdelerinde birçok sekonder metabolit birikimi olduğu yapılan araştırmalar sonucunda kaydedilmiştir (Mat, 2002). Sekonder metabolitlerin birikim miktarları ve oranları ekinezya türlerinin gelişimine, onların toplanma koşullarına ve ortamlarına göre değişmektedir. Dünya üzerindeki birçok araştırmacı tarım alanlarında ve laboratuvar ortamlarında çalışma gerçekleştirmektedirler (Letchamo ve ark., 2002).

Ekinezya türleri ile ilgili yapılan çalışmaların ilkinin King ve Lloyd (1887) gerçekleştirmiştir. Onların yapmış oldukları çalışma ile tıbbi açıdan ekinezyanın enfeksiyonlara karşı etkili olduğu ve ilaç firmaları tarafından bir süre ilaç olarak üretime geçmiştir. Bu çalışmalar doğrultusunda *E. angustifolia* köklerinin kullanımı yaygın iken sonraki çalışmalarda *E. pallida* köklerinin de tıbbi açıdan değeri anlaşılmasıyla kullanıma

uygun olduğu kanıtlanmış kullanımına başlanmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda *E. angustifolia* ve *E. pallida* 1916' da National Formulary of ABD' de şifalı ilaç olarak yerini almıştır. Bu 2 tür görsel olarak birbirine benzerdir (Mat, 2002).

1870 yıllarında ekinezya türlerinin kullanımını yerli halktan öğrenen H.C.F. Meyer ekinezya üzerinde çalışma gerçekleştirerek 'blood purifier' adındaki ilacı kullanıma sunmuştur (Mat, 2002). 1915'te ekinezya türlerinin savunma sistemindeki etkisi saptanmıştır. Halkın bu bitkiyi benimsemesi üzerine birçok çalışma gerçekleşmiş ve 1939'da ekinezya türleri yetiştirilmeye başlanmıştır. 1950-1960 yıllarında ise bazı ekinezya türlerin kültürlenmesi gerçekleşmiştir (Çalışkan ve ark., 2011).

2.2.1. *Echinacea* sp. Bitkisinin Sistematikteki Yeri

Ekinezya, diğer adları Purple coneflower, Kansas snakeroot, Black sampson, olan şifalı bitki kuru toprak ve arazide yetişen, ince uzun, kafası topuza benzeyen dikenli bir bitkidir (McGregor, 1968).

Çizelge 2.1. *Echinacea angustifolia* cinsinin sistematik sınıflandırılması

Bölüm	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliophyta
Takım	Asterales
Familya	Asteraceae
Alt familya	Asteroideae
Cins	<i>Echinacea</i>
Tür	<i>Echinacea angustifolia</i>

Orjini Kuzey Amerika olan *Asteraceae* familyasına ait olan ekinezya türlerinin sistematik olarak ilk sınıflandırması 1968 yılında McGregor tarafından oluşturulmuştur. Başlangıçta dokuz tür olarak bulunan ekinezya daha sonra 2002 yılında Binns ve arkadaşları dört tür şeklinde sistematik yerlerini oluşturmuştur (Çizelge 2.2) (Kim ve ark., 2004; Mechanda ve ark., 2004)

Çizelge 2.2. Farklı araştırmacıların ekinezya tür ve çeşitlerine göre kromozom sayıları (Kim ve ark., 2004; Mechanda ve ark., 2004)

McGregor's (1968) (9 tür)	Binns et all. (2002) (4 tür)	Kromozom sayısı (2n)
<i>Echinacea purpurea</i>	<i>Echinacea purpurea</i>	22
<i>Echinacea angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>	<i>Echinacea pallida</i> var. <i>angustifolia</i>	22
<i>Echinacea pallida</i>	<i>Echinacea pallida</i> var. <i>pallida</i>	33, 44
<i>Echinacea sanguinea</i>	<i>Echinacea pallida</i> var. <i>sanguinea</i>	22
<i>Echinacea tenesseensis</i>	<i>Echinacea pallida</i> var. <i>tenesseensis</i>	22
<i>Echinacea atrorubens</i>	<i>Echinacea atrorubens</i> var. <i>atrorubens</i>	22
<i>Echinacea paradoxa</i> var. <i>paradoxa</i>	<i>Echinacea atrorubens</i> var. <i>paradoxa</i>	22
<i>Echinacea paradoxa</i> var. <i>neglecta</i>	<i>Echinacea atrorubens</i> var. <i>neglecta</i>	22
<i>Echinacea simulata</i>	<i>Echinacea pallida</i> var. <i>simulata</i>	22
<i>Echinacea laevigata</i>	<i>Echinacea laevigata</i>	22
<i>Echinacea angustifolia</i> var. <i>strigosa</i>	<i>Echinacea pallida</i> var. <i>angustifolia</i>	22

2.2.2. *Echinacea angustifolia* Bitkisinin Morfolojik Özellikleri

Ekinezya türlerin gövdeleri diri ve çok yıllık bitki özelliğindedir. Yaprakları yuvarlak ok şeklinde veya sivri halde bazıları tüy şeklindedir. Bu türün çiçek kısımları koniye benzer ve çiçekleri farklı renklerde gözlenebilir.

Echinacea angustifolia türünün boyu 8-40 cm civarındadır. Yaprakları yeşil renkte olup farklı şekillerde gözlenebilir. Çiçek boyları 3-5 cm civarındadır.



Şekil 2.1. *E. angustifolia* (<http://ecemnaturel.com/catalog/echinacea-angustifolia/>)

2.2.3. *Echinacea* sp. Bitkisinin Kimyasal Bileşenleri

Ekinezya türlerinin kök, gövde ve çiçek kısımlarında sekonder metabolit birikimi olmakta ve tüm bu kısımlar tıbbi alanlardaki kullanımı ile önemlidir. Ekonomik öneme sahip olan *E.purpurea*, *E.angustifolia* ve *E.pallida* türlerinin toprak üstü ve kök kısımlarındaki metabolitler şunlardır;

Çizelge 2.3. *E. angustifolia* cinsinin toprak üstü ve kök kısımlarında bulunan sekonder metabolitler (Mat, 2002)

Toprak üstü	Kök
Kafeik asit türevleri (siçorik asit, klorogenik asit, isoklorogenik asit, verbaskosit asit, ekinakosit)	Kafeik asit türevleri (ekinakosit, klorogenik asit, isoklorogenik asit, sinarin)
Flavonoitler	Polisakkaritler
Alkilamidler (izobutilamidler)	Glikoproteinler
Polisakkaritler	Alkilamidler (izobutilamidler)
Uçucu yağ	Uçucu yağ

Çizelge 2.4. *E. purpurea* cinsinin toprak üstü ve kök kısımlarında bulunan sekonder metabolitler (Mat, 2002)

Toprak üstü	Kök
Kafeik asit türevleri (Siçorik asit, kaftarik asit, klorogenik asit)	Kafeik asit türevleri (Siçorik asit, kaftarik asit, klorogenik asit)
Alkilamidler (izobutilamidler)	Alkilamidler (izobutilamidler)
Polisakkaritler	Polisakkaritler
Flavonoitler	Glikoproteinler
Uçucu yağ	Uçucu yağ
	Pirolizidin alkaloidleri

Yukarda gruplandırılan bileşenler ekinezya türlerine, iklim ve kültürel işlemlere göre değişik miktar ve oranlarda bulunmaktadır (Davies, 2010; Mat, 2002). Örneğin *E.purpurea*, *E.pallida*, *E.angustifolia* türlerinde, çiçek kömeçlerinden hidrodistilasyon ile izole ettikleri uçucu yağın bileşenlerini analiz eden Mirjalili ve ark. (2006), sırasıyla 36-30-36 adet farklı uçucu yağ bileşeni ve miktarlarının farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak tüm türlerde uçucu yağ ana bileşeni germacrene-D'dir.

2.2.4. *Echinacea* sp. Bitkisinin Tıbbi Açısından Önemi

Orijininin Kuzey Amerika olarak bilinen ve oranın halkı tarafınca bitkinin yaprağı ve kökleri uzun zaman boyunca kullanılmasıyla tıbbi olarak değerlendirildikleri gözlenmiştir. Halk asırlar boyunca ekinezya bitkisinin yaprak kısımlarının kendi yöntemleriyle özünü çıkartmış ve mevcut yaralarının iyileşmesi için o bölgeye uygulamışlardır. Zehirli hayvan sokmaları ve birçok rahatsızlık için bu özütü değerlendirmişlerdir. Bitkinin kök kısımlarını ise bazı ağrılarda kullanmışlardır (Mat, 2002).

Ekinezya bitkisinin araştırmalar doğrultusunda önemli olan diğer etkileri ise gribal enfeksiyonlar, tekrar eden enfeksiyonlar, mantar enfeksiyonları, bağışıklık sistem güçlendirici, kanser vakalarındaki kemoterapide destek ve bunlar gibi birçok rahatsızlıklarda yardımcı unsur olarak görev almaktadır (Uluişik, 2010). Ekinezya türlerinin bünyesindeki uçucu yağların önemli antimikrobiyal etkileri vardır (Cowan, 1999; Hammer ve ark., 1999). Ayrıca ekinezya türlerinde doymuş ve doymamış yağ asitleri mevcuttur (Oomah ve ark., 2006).

2.3. Ekinezya Ekstresi

Günümüz dünyası ekinezya türlerinin tıbbi önemini eski çağlardaki insanlardan öğrenmişlerdir. Habitatlarında bulunan bitkileri ve onların özütlerini her türlü aksilik veya hastalanmalarda kullanmaları tıbbin biraz olsun aydınlanmasında olanak sağlamıştır. Birçok hastalığın tedavisinde ekinezya bitkisini başarıyla kullanmışlardır (Anonim, 2010).

İnsanlar açısından yararlı bileşenleri içeren kimyasalların, *E. purpurea* türünün toprak üstü kısımlarının sıkılarak çıkarılan öz suyunda ve köklerinin alkol ekstralarında olduğu bulunmuştur (Melchart ve ark., 1998).

Ekinezyanın aktivitesi doğrudan spesifik olmayan hücresel bağışıklık sistemine yöneliktir. Ekinezya ekstresi bitkinin yaprak, kök veya çiçeğinden elde edilir (Goel ve ark., 2004).

Ortam koşulları ekinezya bitkisinin köklerinin kültürlenmesi, gelişimi ve kimyasal ürün eldesinin verimli olabilmesi için çok önemlidir. Besin ortamlarının uygun oluşu metabolit miktarındaki artışı ve bitki gelişimini önemli ölçüde etkilemektedir (Baque ve ark., 2010).

Metabolit birikmesinde besin ortamlarının etkileri araştırıldığında;

- Farklı kuvvetlerdeki MS ortamları uygulanan *E. purpurea* türünde kaftarik asit, klorogenik asit, kikorik asit sekonder metabolitleri birikimi gözlemlenmiştir (Wu ve ark., 2007a).

- Giberalik asit uygulanan *E. purpurea* türünde kaftarik, kikorik asit bulunmuştur (Jones ve ark., 2009; Abbasi ve ark., 2012).

- IBA, IAA ve NAA uygulanan *E. angustifolia* türünde fenolikler ve flavonoidler bulunmuştur (Wu ve ark., 2006).

Ortam şartlarında yapılan değişimler incelendiğinde;

- Işık ortamında *E. purpurea* türünde antosiyanin, kafeik asitler (Abbasi ve ark., 2007; Guarnerio ve ark., 2012).

- Sıcaklık + ışık ortamında *E. purpurea* türünde kafeik asitler (Wu ve ark., 2007a).

- pH ortamında *E. angustifolia* türünde fenolik bileşikler (Praveen ve Murthy, 2012).

- Ultrasonik ses dalgaları ortamında *E. purpurea* türünde betalanin kafeik asit türevleri saptanmıştır (Liu ve ark., 2012).

Kök kaynaklı metabolitlerin artırılmasına yönelik *E. purpurea* türüne elisitör olarak NO (SNP) uygulanması sonucu oluşan sekonder metabolit olarak fenolikler, flavonoidler, kafeik asit türevleri görülmüştür (Wu ve ark., 2007b).

2.4. Ekinezya Türleri İle Yapılan Çalışmalar

See ve ark. (1997) kurutulmuş *E. purpurea* ekstraktının sağlıklı olan kobay farenin katil hücre sayısındaki artış ve yorgunluk gözlenen kobayların immün sistemlerinin dayanıklılığında artış gözlenmiştir.

Wagner ve ark. (1988), deney ortamlarında ekinezya bitkisinin kimyasal bileşeni üzerine immün sistemin güçlenmesi adına çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar *E. purpurea* türü kullanarak elde edilen kimyasalın iki farklı konsantrasyonlarda uygulanmasıyla polimorfonükleer nötrofil hücrelerde ve maya parçacıkların fagositozunda yüzde yirmi yedi şekilde geliştirmiş olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar neticesinde yapılan başka bir araştırma ise, *E. angustifolia* türünden elde edilen bu kimyasalın uygulanmasıyla daha yüksek bir oranda gelişme gözlenmiştir (Bauer, 1999).

Kim ve ark. (2002), tarafından yapılan çalışmada *E. purpurea*, *E. angustifolia* ve *Larix occidentalis* türlerinden elde edilen arabinogalaktan ekstresinin sağlıklı kadın gönüllüleri üzerindeki savunma sistemlerini ne şekilde uyardığı araştırılmıştır. Yapılan hematolojik ölçümler sonucunda tedavi gruplarının tümünde TNF- α düzeyinde düşüş gözlenmiştir.

Ekinezya türlerinin iltihabı önleyici etkisinin olması, bünyesinde bulunan bazı sekonder metabolitlerle alakalıdır. Fenolik bileşiklerini bünyesinde daha fazla bulduran bazı ekinezya ekstraktlar *E. purpurea* türüyle kıyaslandığında lipit bileşenlerin üretimini

daha fazla engellediği araştırmalar doğrultusunda bulunmuştur (Rininger ve ark. 2000).

Bir başka çalışmada ise klasik ve ultrason solvent ekstraksiyonu ile elde edilen *E. purpurea* ekstraktının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Bitkinin kuru hali katı sıvı oranının 1:10 (m/v) olduğu ve 25 °C'de %70 etanol ile özü çıkarılmıştır. Klasik solvent ekstraksiyonu ile elde edilen bu ekstrakt %29 fenolik bileşikler ve %20 flavonoid içerdiği gözlenmiştir. 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl radikali (DPPH) %93.6'ya ulaşmıştır. Klasik ve ultrason ekstraksiyon ile elde edilen özler için EC50 değerleri sırasıyla 34.16±0.65 µg.ml⁻¹ ve 65.48±1.12 µg.ml⁻¹ olarak bulunmuştur. Uygulanan ekstraksiyon tekniği bağımsız olup bu ekstrakt *Candida albicans* ve *Saccharomyces cerevisiae* üzerinde belirgin bir büyüme inhibisyon göstermiş, büyüme inhibisyonu bölgeleri göstermemelerine karşın *Aspergillus niger* gözlenmiştir. İnhibisyon bölgesinin çapları tüm mikroorganizmalar için gözlenmiş olup ultrason ekstraksiyonu ve klasik ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlar daha fazla olduğu saptanmıştır (Stanisavljević ve ark., 2009).

Kim ve ark. (2000) yapmış oldukları bir çalışmada, kafeik asit türevleri korumasında optimal kurutma usullerini belirlemek ve Kanada'da yetiştirilen taze *E. purpurea* ieği için farklı kurutma teknikleri uygulanmıştır. Taze *E. purpurea* ieği dondurularak kurutma (FD), vakum mikrodalga kurutma ile tam vakum (VMD), hava-kurutma (AD) teknikleri ile 25, 40 ve 70 °C 'de kurutulmuştur. HPLC kullanılarak ikorik asit ve kaftarik asit düzeyleri kurutulmuş çiçeklerdeki miktarları belirlenmiştir. Çiçeklerin yüksek nemde saklanmasından dolayı ikorik asitin anlamlı kaybı gözlenmiş ve FD iekleri ile VMD ieklerindeki ikorik asit ve kaftarik asit seviyelerindeki eşitlik korunmuştur. AD ile 40°C 'de kurutulmuş çiçeklerde ise nispeten yüksek miktarlarda ikorik asit ve kalfarik asit birikmiştir.

Cazip bir bitkisel ürün olan *E. angustifolia* türünün 10 mg kapsül lipofilik (yağ tipi çözücülerde çözünme özelliği) ekstratı farmakokinetik ve immünolojik bir çalışma gerçekleştirmek için 10 gönüllü insanlara ağızdan verilmiştir. Farmakokinetik çalışmaların sonuçları daha önce yayınlanmış çalışmalarla karşılaştırıldığında tetraenin ağızdan uygulanmasıyla vücut tarafından yaklaşık 3,5 kat daha fazla gelişme gösterdiği kanıtlanmıştır (Dall'Acqua ve ark., 2015).

Bir başka çalışma köpeğin bağışıklık sistemi üzerinde ekinezya hidroetanolik özüütünün oral uygulayarak etkilerini değerlendirmek için tasarlanmıştır. Köpeklerin bağışıklık sistemini olumlu yönde etkilediği, fagositoz ve IgM yüzdelerinde de artış gözlenmiştir (Torkan ve ark., 2015).

Maida ve ark. (2015) yapmış oldukları geleneksel doğal tıbbi bitki olan *E. purpurea* türünün üç ekolojik nişlerinden (rhizospheric toprak, kökler ve kök / yaprak) izole edilebilen bakteriler arasından mevcut antagonistik (bir hormonun, nörotransmitterin ya da ilacın etkisine zıt etki yapan herhangi bir madde) etkileşimleri araştırılmıştır. Kök / yaprak bölümünden elde edilen bakteri verileri *rhizospheric* toprak ve köklerden elde edilen bakterilerden antagonistik aktivitesi çok daha hassas olduğu bulunmuştur. Farklı suşların antagonistik yeteneği/ hassasiyeti hem taksonomik konumunu hem de ekolojik nişini etkileyebilir.

Chen ve ark. (2015) yaptıkları bir araştırmada dondurularak kurutulmuş %50'lik sulu etanol *E. purpurea* çiçeğinin ekstraktının aktif bileşenler ve antioksidan özellikleri ile çoklu adımlar ve çoklu gruplar halindeki ekstraksiyon metodları değerlendirilmiştir. Çoklu gruplama ekstraksiyonunda grup örneklerindeki artış ile kuru ağırlık ekstraktı ve ekstraksiyon verimliliği artmış ve alkamid örneklerin 8/9 içeriği azalmıştır. Toplam fenol, bireysel ve toplam kafeik asit türevleri, farklı örnek grupları arasındaki ekstrakt içeriğinde ve ana fenolik bileşik olan çikoric asit düzeylerinde fark bulunamamıştır. Tüm hazırlanan ekstraktlar güçlü antioksidan özellikleri sergilemiştir.

E. purpurea türünün sitotoksik ve oksitativ potansiyeline sahip olduğunu kanıtlamak için Jukić ve ark. (2015) yapmış olduğu çalışmada *E. purpurea* ekstraktının total fenolik içeriğine sahip olduğu, radikallerinin süpürücü aktivitesi 15,67 µg/ml ekinezya ekstrakt konsantrasyonunda inhibisyon değerinin % 50 gösterdiği saptanmıştır. Ekinezya ekstraktı radikal türleri etkisiz hale getiren antioksidan bileşikler içerdiği gözlenmiştir. *In vitro* deneylerinde ekinezya ekstraktının düşük konsantrasyonda ve kısa inkübasyon döneminde prooksidan etkisi olduğunu göstermiştir. Yüksek konsantrasyon 24 saatlik işlemde sonra beliren toksik daha fazla içermektedir.

E. angustifolia kökünün lipofilik ekstraktının en önemli bileşenlerinden biri alkamidlerdir. Bu bileşenler bitkinin çok yönlü farmakolojik eylemlerinde önemli rol oynamaktadır. Jedlinszki ve ark. (2014) yaptıkları bir araştırmanın amacı beyin ve peri epididim yağ dokularında izomerik dodeka-2E, 4E, 8Z, 10E / Z tetraenoic asit izobütülamidlerin konsantrasyonlarını (DTAI) ve sıçanların kan plazması karşılaştırmak olmuştur. Araştırma sonucunda farmakolojik etkide katkıda bulunan lipitçe zengin dokuların içeriğinde büyük ölçüde alkamidlerin birikmesi bulunmuştur.

Dapas ve ark. (2014) yapmış oldukları bir çalışmada üçlü standart *E. angustifolia* kök ekstraktının (Polinacea®) immünomodülatör etkisi 10 sağlıklı kişide değerlendirilmiştir. Araştırma sonucuna göre sitokin ekspresyonunun kontrolünde standart

E. angustifolia kök ekstraktı için uygun bir rol oynadığını göstermiştir. Sağlıklı bireylerde *E. angustifolia* kökü ekstraktının immunomodülasyon aktivitesinin oluşması gerçekleşerek sağlık takviyesini olarak bu ürünlerin kullanılması desteklenmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada *E. angustifolia* köklerinden ekstrakt elde etmek için karbon dioksit ile süper kritik akışkan ekstraksiyonu uygulanmıştır. Bu ekstrakt *Botrytis cinerea* mantar suşuna karşı olarak *in vitro* olarak yapılan deneyde antifungal amaçlı değerlendirilmiştir. Ekstraktın aktif bileşenleri makropor resini ile ayrılmış ve gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak SC-CO₂ ekstraksiyon tekniği kullanılarak elde edilen *E. angustifolia* ekstraktının minimum inhibe edici konsantrasyonu ve minimum fungusit konsantrasyonunda *B. Cinerea* türüne karşı güçlü bir antifungal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (Dahui ve ark., 2011).

Wu ve ark. (2009) sığır periferik kan tek çekirdekli hücrelerinde (PBMC) *E. angustifolia* ekstraktının (Polinacea™) interferon gamma (IFN- γ) salgılanmasını ve çoğalmasını etkileyip etkilemediğini araştırmışlardır. Artan Polinacea™ konsantrasyonu mitojenik etki yaratmıştır. PBMC kontrolü ile çoğalmanın en yüksek ve en düşük seviyelerinde Polinacea™ gözlenmiştir. Sonuç olarak Polinacea™ koşulların tanımlanmasında *in vivo* testinin doğruluğu ve sığır PBMC çoğalmasını düzenlemesiyle kullanımından yararlanılabilir.

Guarnerio ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada *E. angustifolia* hücre süspansiyon kültürleri karanlıkta muhafaza edilerek yetiştirilmiş sonra tek kültür döngüsü (14 gün) için hücreler ışığa maruz edilmiş ve sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi ile aydınlatılan hücreler karanlıkta yetiştirilenlerle karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak hücre kültürlerinin metabolik profili aydınlatma gibi potansiyel terapötik bileşiklerin seviyelerini modüle edip basit çevresel değişkenleri kontrol etmesiyle manipüle edebilir.

2007-2008 yıllarında yapılan çalışmalarda topraksız kültür içinde yetiştirilen *E. angustifolia* DC. var. *angustifolia* fidelerinde belirlenen kaffeik asit türevlerinin birikimi ve gelişimi tespit edilmiştir. Bu iki yılda da bitkiler kuvvetli bir şekilde büyüme gösterip hasat zamanında gözlem altındaki bitkilerin yarının üç salkımın birinde gelişme gözlenmiştir. Ekinakosid, siyanarin ve klorojenik asit kök dokularında değişik konsantrasyonlarda bulunmuştur. Tüm ekinakosid bitki örnekleri *E. angustifolia* materyalinin marker bileşenleri olup standart ekstrakt üretimi için minimum kalite standardını ulaşamamıştır. Kısa döngü, topraksız yüksek yoğunluklu sera kültürü *E. angustifolia* türünün kök üretimini ve bitki büyümesini teşvik ettiği ama kurutulmuş köklerde CADs (kaftarik asit, klorojenik asit, ekinakosid, kafeik asit, sinarin, p-kumarik

asit, ferulik asit ve çikoric asit) birikimi sağlamak mümkün olmadığı sonuç olarak bulunmuştur (Maggini ve ark., 2012).

Kabgarian ve ark. (2008) yapmış oldukları bir çalışmada *E. angustifolia* kökleri kimyasal seçim ile ilgili kurutma etkisini belirlemek için 23, 30, 40, 50 ve 60° C' de kurutulmuştur. Kurutma boyunca alkamid konsantrasyonları oda sıcaklığındaki kurutulmuş köklerle kurutma sıcaklığı karşılaştırıldığında azalmamıştır. Kökler 30 ve 60° C'de kurutulmuş olmasıyla orijinal ekinakosit içerik hava ile kurutulmuş kontrollerdeki gibi kaybolmuştur.

E. angustifolia türünün atlar üzerindeki uyarıcı bağışıklık sistemindeki etkinliğine ilişkin O'Neill ve ark. (2002) bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. *E. angustifolia* ile tedavide izole edilmiş nötrofillerin fagositik kabiliyetlerinde artış, periferik lenfosit sayımları artırdığını ve dokulara periferik dolaşımdan nötrofil geçişini teşvik ettiğini ortaya koymuştur. *E. angustifolia* periferik kırmızı kan hücrelerinin konsantrasyonunu ve boyutunu, hemoglobin konsantrasyonunu ve paketlenmiş hücre hacmini arttırdığı saptanmıştır. *E. angustifolia* etkin at immunokompetansını uyardığı ve bitki ekstraktı gibi davrandığı ve bir hematik ajan gibi mesela hemoglobin seviyesini artırarak kanın kalitesini ve eritrosit sayısının artırdığı bulunmuştur.

2.5. Domates (*Solanum lycopersicum* L.) Bitkisinin Önemi

Solanaceae familyasına ait bir sebze türü olan domates (*Solanum lycopersicum* L.), dünya üzerinde en çok yetiştiriciliği yapılan sebzelerden birisidir. Türkiye domates çeşitliliği açısından geniş aralığa sahiptir (Oğuz, 2010).

Hem güney hem de kuzey yarı kürede çok geniş ekim alanlarında tarımı yapılmaktadır. Anavatanı Orta ve Güney Amerika veya Peru olarak bilinen domates, önce Avrupa kıtasına getirilmiştir. İlk kez İtalya'ya getirilen domates meyveleri, buradan Kuzey Avrupa'ya ve Kuzey Avrupa'dan da tüm dünyaya yayılmıştır (Kütev'in ve Türkes, 1987; Küçük, 1994).

Domates bitkisi glandular tüylü, tekyıllık, dik gövdeli, dallanmış ve 40-150 cm' dir. Yapraklar imparipinnat, ovat-lanseolat, kaliks 5 (-8) loblu, korolla sarı, 5 (-8) loblu, stamenler 5 (-8) adettir. Meyvelerinin şekli küremsi, basık-küremsi, oval veya armut şeklindedir. Meyve rengi kırmızı, pembe veya sarı ve çapı 10 cm' ye kadar olabilir (Davis, 1978; Seçmen ve ark., 1998). Domatesin bakka tipi meyvelerinin dışında kırmızı-turuncu renkte eksokarp, kalın ve çok sayıda tohum içeren bir mezokarp kısmı bulunur. Başlangıçta sert olan mezokarp, meyve olgunlaşmasına koşut olarak ortama salınan "selülaz" gibi

enzimlerle jelatinsi-yumuşak bir durum alır (Küçükler, 1994).

Eski uygarlık dönemlerinde domatesin adı “xtomatl” veya “tomatl” olarak tanımlanmaktaydı. İspanyollar tarafından Avrupa’ya getirilip ve “tomatl” diye tanıtılmaya başlanmıştır (Küçükler, 1994).

Domates sebzeler arasında dünya üzerinde en fazla tüketimi gerçekleşen, tarım alanında ve ekonomik alanlarda kullanımı yaygındır. Domates ham olarak tüketilmesi haricinde birçok şekilde kullanımı (salça, ketçap vb.) olmasıyla önemini göstermektedir (Uyulaşer, 1996; Keskin ve Gül, 2004).

Domates Türkiye’de tarlada veya serada yetiştirilmesi ülkemizin ikliminin domates yetiştiriciliği için elverişli olmasıyla mümkün olmaktadır. En elverişli iklim batı kıyı bölgelerimizde gözlenmektedir (Arıkbay 1996).

2.5.1. Domates (*Solanum lycopersicum* L.) Bitkisinin Sistematikteki Yeri

Alem: Plantae

Takım: Solanales

Aile: Solanacea

Cins: Solanum

Tür: *S. lycopersicum*

2.5.2. Kimyasal Bileşimi

Domatesin kimyasal içeriğinde kuru madde, protein, karbonhidrat, selüloz, kül olarak belirlenmiştir. Domatesin vitamin içeriği ise provitamin (β - karoten) ve vitamin C, B ve E grubu vitaminleri mevcuttur. Bu içeriklerin haricinde organik asitler, liopen beta caroten, kasantofil, flavon mevcuttur (Anonim 2007).

Çizelge 2.5. Ortalama büyüklükte (123 g) olgun bir domatesin Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı (USDA, United States Department of Agriculture) Milli Gıda Standart Referans Veritabanı'na göre kimyasal içeriği (Anonim, 2008)

Genel Kompozisyonu		Mineral içeriği		Vitamin içeriği		Aminoasit içeriği	
Su	116,23 g	Kalsiyum	12 mg	C vitamini	15,6 mg	Triptofan	0,007 g
Enerji	22 kcal	Demir	0,33 mg	Tiamin	0,046 mg	Treonin	0,033 g
Protein	1,08 g	Magnezyum	14 mg	Riboflavin	0,023 mg	İzolösin	0,022 g
Toplam yağ	0,25 g	Fosfor	30 mg	Niasin	0,731 mg	Lösin	0,031 g
Doymuş	0,034 g	Potasyum	292 mg	Pantotenik asit	0,109 mg	Lizin	0,033 g
Tekli doymamış	0,038 g	Sodyum	6 mg	B-6 vitamini	0,098 mg	Metionin	0,007 g
Çoklu doymamış	0,102 g	Çinko	0,21 mg	Folat	18 µg	Sistin	0,011 g
Fitosterol	9 mg	Bakır	0,073mg	Kolin	8,2 mg	Fenilalanin	0,082 g
Kül	0,61 g	Mangan	0,14 mg	Betain	0,1 mg	Tirozin	0,017 g
Şeker	4,82 g	Flor	2,8 µg	β karoten	552 µg	Valin	0,022 g
Diyet lif	1,5 g			α karoten	124 µg	Arjinin	0,026 g
Glukoz	1,54 g			A vitamini	1025 IU	Histidin	0,017 g
Fruktoz	1,69 g			Likopen	3165 mg	Alanin	0,033 g
				E vitamini	0,66 mg	Aspartikasit	0,166 g
				K vitamini	9,7 µg	Glutamik asit	0,530 g
						Glisin	0,023 g
						Prollin	0,018 g
						Serin	0,032 g

2.5.3. Domates Bitkisinin Sağlık Açısından Önemi

Son zamanlarda yapılmış olan çalışmalar doğrultusunda domates ve ürünlerinin içerdikleri kimyasallar nedeniyle bazı kanser ve kalp rahatsızlıklarında etkileri olduğu saptanmıştır. Kuru haldeki domatesin içeriğindeki antioksidan özellikteki fenolik bileşiklerden dolayı bazı kanserler üzerinde etkili oldukları bilinmektedir. Kanser üzerine etkisinde likopenin büyük ölçüde önemi olduğu bazı araştırmalarca kanıtlanmıştır (Muratore ve ark., 2008).

Karotenoid içeriğinden dolayı domatesin tıbbi açıdan değerli bir bitki olarak rol oynamaktadır (Abushita ve ark., 2000). Domatesin içeriğindeki önemli antioksidanlar sayesinde hastalıklara karşı savunma ve koruma özelliği mevcuttur (Willcox ve ark., 2003).

Yapılmış olan başka araştırmalar ise domates tüketimiyle kronik rahatsızlıkların (Rao ve ark., 1998) ve kansere yakalanma riskinin azalması (Balestrieri ve ark., 2004), alkol tüketimiyle meydana gelen karaciğer rahatsızlıklarını engellediği yönünde gerçekleşmiştir (Tapiero ve ark., 2004). Domatesteki mevcut kimyasalların miktarları o

bitkinin yetiştirildiği ortamla ilgili olduğu bildirilmiştir (Sahlin ve ark., 2004).

2.5.4. Domates Ekonomisi

Domates dünya üzerinde en fazla üretilen sebze olmasıyla hem üretim miktarı hem de ekim alanında düzenli olarak artmaktadır.

Çizelge 2.6. Dünyada domates ekim alanları ve üretimi (2012) (TÜİK (2014) Dış Ticaret İstatistikleri Veritabanı). (Anonim, 2014d)

Ülkeler	Ekim Alanı (hektar)	Üretim (Bin ton)	Payı (%)
Çin	1.000.000	50.000	30,9
Hindistan	870.000	17.500	10,8
ABD	150.140	13.207	8,2
Türkiye	300.000	11.350	7,0
Mısır	216.395	8.625	5,3
İran	160.000	6.000	3,7
İtalya	91.850	5.132	3,2
İspanya	48.800	4.007	2,5
Brezilya	63.859	3.874	2,4
Meksika	96.651	3.434	2,1
TOPLAM		123.120	

Çizelge 2.7. Türkiye’de yıllara göre domates üretimi (Ton) (TÜİK (2014) Bitkisel Üretim İstatistikleri Veritabanı) (Anonim, 2014d)

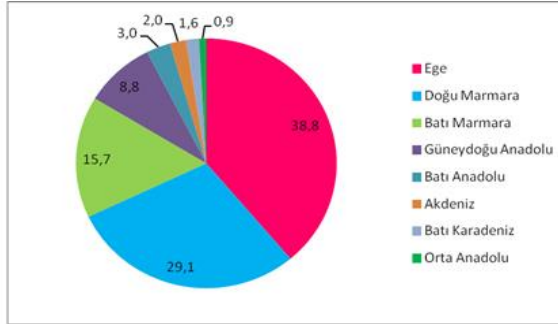
Yıllar	Salçalık	Sofralık	Toplam
2005	7.067.000	2.983.000	10.050.000
2006	6.912.745	2.942.132	9.854.877
2007	6.963.159	2.973.393	9.936.552
2008	7.419.814	3.565.541	10.985.355
2009	7.205.961	3.539.611	10.745.572
2010	7.173.188	2.878.812	10.052.000
2011	7.573.431	3.430.002	11.003.433
2012	7.697.961	3.652.039	11.350.000
2013	7.941.780	3.878.220	11.820.000

Domates üretiminin geçmiş yıllarda Türkiye ortalamasına bakıldığında yüzde yetmiş sekiz oranında üretilmiş olup en fazla üretim Akdeniz Bölgesinde gerçekleşmiştir. 2013 yılından bu yana üretim olarak bölgelerde artış söz konusudur (Anonim, 2015).

Çizelge 2.8. Türkiye’de Bölgelere Göre Domates Üretimi (2013) (TEPGE (2013) Domates ve Domates Salçası, Durum ve Tahmin, 2012/2013)

BÖLGELER	SOFRALIK		SALÇALIK	
	Ton	Payı (%)	Ton	Payı (%)
Akdeniz	3.618.403	45,6	77.048	2,0
Ege	1.278.414	16,1	1.504.983	38,8
Batı Karadeniz	970.796	12,2	63.047	1,6
Doğu Marmara	497.622	6,3	1.126.866	29,1
Batı Marmara	414.328	5,2	610.049	15,7
Güneydoğu Anadolu	348.988	4,4	340.291	8,8
Batı Anadolu	328.305	4,1	116.012	3,0
Orta Anadolu	175.770	2,2	33.712	0,9
Ortadoğu Anadolu	145.861	1,8	5.312	0,1
Kuzeydoğu Anadolu	129.531	1,6	-	-
İstanbul	20.956	0,3	171	0,0
Doğu Karadeniz	12.806	0,2	729	0,0
TOPLAM	7.941.780	100,0	3.877.680	100,0

Çizelge 2.9. Bölgelere Göre Salçalık Domates Üretimi (2013) (TEPGE (2013) Domates ve Domates Salçası, Durum ve Tahmin, 2012/2013)



2.5.5. Çanakkale İlindeki Domatesin Durumu

Çanakkale ülkemiz genelinde ilk on içerisinde girerek domates üretiminde önemli bir yere sahiptir. Çanakkale ilinde domates harici tarımda değeri olan pek çok sebze ve meyve üretimi gerçekleştirilmektedir. Domates ve salça üretiminde alan başına tonlarca üretim elde edilmesiyle ekonomik açıdan da değerli bir il halindedir.

Sofralık domatesin tarım alanı ve ürün miktarlarının elde edilmesi en çok Çanakkale merkezde ve daha sonra bazı ilçelerinde gerçekleştirilmektedir. Salçalık domatesin en çok üretimi gerçekleşen ilçe ise Biga’dır. Çanakkale’nin mevcut konumu ve ikliminin elverişli yapısı sayesinde ürünün kendisine özgü yapı, tadı ve güzelliği içermesiyle büyük pazarlarda Çanakkale domatesi olarak bilinmektedir (Anonim, 2014b).

2.5.6. Domates ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Yapılan bir çalışmada Bella Rosa kùltürü kullanılmıştır. Yetiştirme alanında obligat parazitlerden *Pasteuria penetrans* türünün kök-ur nematodu olan *Meloidogyne arenaria* irkına baskınlığı ortaya çıkartılmıştır. Bu sebzelerden sadece domates bitkisinin köklerinde düşük oranda nematode türü olan *M. incognita* gözlenmiş olup sebzelerdeki *M. arenaria* race 1 'in oluşturduğu yanlıştın indirgenmesi ve bu nematodun baskılanmasında *P. penetrans* türünün gerçek rol oynadığını saptamıştır (Akyazı ve Dickson, 2014).

İki domates kùltür çeşitlerinin soğuk stres yanıtındaki GB (glisin betain)'nin rolü; Gerry (soğuk stres hassasiyeti) ve T47657 (orta dereceli soğuk stres toleransı) ve lipoksigenaz-13 (Tom LOX) ve yağ asidi desaturazının 7 (FAD7) gen ekspresyon profillerinin farklılıkları ve bağıl büyüme oranları, oransal nem içeriğı, ozmotik potansiyeli, fotosentetik verimliliğı, membran sızıntısı, lipit peroksidasyon düzeyleri de dahil olmak üzere fizyolojik parametler karşılaştırılmıştır. Belirtilen bu GB, domates bitkisinin soğuk strese karşı koruma sağlamak için FAD7 ve LOX ifadeleri indükleyen bir role sahip olabileceğı çalışma sonucu olarak bildirilmiştir (Karabudak ve ark., 2014).

Domatesin meyve tadının büyük bileşeni şeker olmasına rağmen, sanayi tarafından domates çeşidinin seçimi ve hasat sonrası uygulanması tatlılığın olmaması, raf ömrünün uzatmak ve bitki kaybını azaltmak için tasarlanmıştır. Bu tat ve lezzet pazarlanabilir domatesin temel bileşenleri olması ve şeker içeriğı gibi geliştirici özelliklerinde eklenmesi gelişimi arttırmaktadır. Bu faktörlerden dolayı hasat zamanının öncesi ve sonrası faktörlerinin piyasada satılan meyvelerdeki şeker içeriğini etkileyip etkilemediğı araştırılmıştır. Araştırma sonucunda hasat sonrası meyve şekeri içeriğini geliştirmek için uzun vadeli mevcut uygulamalar sonucunu arttırıp yol açabileceğı ortaya çıkmıştır (Beckles, 2012)

Yapılan bir diğerk çalışmada domates bitkisinin bağışıklık sisteminde ve sistemik uyarılmış dayanıklılıkta (SAR) önemli rol oynayan, mikroorganizmaların neden olduğı hastalıklar ile çevresel stres koşullarına karşı direnç yanıtları oluşturulmasını sağlayan peroksidaz enzim aktivitesi ve toplam protein miktarları incelenmiştir. Bazı biyolojik preparatların domates bitkisine uygulanması suretiyle uyarılan bitki savunma mekanizması enzimlerinden POX enzim aktivitesi ve toplam protein miktarları belirlenmiştir (Çetin, 2004).

Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) domates güvesinin Akdeniz Bölgesindeki Şimşek domates çeşidinin de aralarında bulunduğı 4 çeşit üzerinde gelişim süresi, ölüm düzeyi ve hayatta kalma çizelgeleri incelenmiştir. Çalışma sonucu olarak,

domates güvesinin Şimşek domates çeşidinde diğer domateslere göre güve miktarı daha az gözlenmiştir (Çekin ve Yaşar, 2014).

Potasyum, salisilik asit ve humik asitin domatesteki fide oluşumu ve *Fusarium* solgunluğuna karşı belirli ortamlarda incelenmesi sonucu fusarium kontrol (F) grubuna göre hastalık şiddetinin az görüldüğü uygulamalar sırasıyla SA ve HA uygulamalarında elde edilmiştir. Çimlenme oranı en fazla HA'da, çimlenme en fazla SA ve potasyum-salisilik asit uygulamalarında bulunmuştur. Sonuç olarak SA ve HA uygulamalarında solgunluk şiddetini düşürdüğü, domateste fidelerin gelişimini olumlu yönde uyardığı bulunmuştur (Gülser ve ark., 2014).

Erdal ve ark. (2014a) yapmış oldukları çalışmada hümik ve fulvik asitli kireçli bir toprakta yetiştirilen domates bitkisinin gelişimi ile bazı besin elementlerinin (leonarditten elde edilmiş fulvik, hümik ve hümik+fulvik asitleri) konsantrasyonları üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak bitki kuru ağırlığı üzerine fulvik asit daha etkili bulunmuş, hümik madde uygulanmasında P, Mg, Mn, Zn içeriklerine hiçbir etki belirlenmemiş, bitkinin N konsantrasyonu üzerinde en etkili kaynak hümik+fulvik asit olmuş, bitkinin Fe konsantrasyonu üzerine tüm dozların etkisi olumsuzken en etkili uygulama hümik asit olarak bulunmuştur.

Bir başka uygulamada perlit ortamında yetiştirilmiş olan domates bitkisine farklı konsantrasyonlarda demir içerikli besin çözültisi uygulanmıştır. İncelemeler sonucunda domates bitkisinin Fe uygulanmasıyla olumsuz etkilenmediği ve bazı parametreler arasındaki farkın önemli ölçülerde olduğu bulunmuştur (Erdal ve ark., 2014b).

Yapılan bir diğer çalışmada fosfor dölleme varlığında ya da yokluğunda, dört konsantrasyonda arsenik (As) kontamineli solusyon ile sulanan kirlenmiş toprakta büyümüş domates bitkilerinin kök, filiz ve meyvelerinde arsenik (As) ve fosfor (P) alımı ve dağılımını araştırmışlardır. Sonuç olarak domates bitkilerinin özellikle domates meyvesinin biyokömürü As konsantrasyonlu sulama suyunun artmasıyla azalmıştır. Elde edilen biyokömür sonucu forforla döllememiş bitkilerde daha yüksek bulunmuştur. P ilave ile oluşan yararlı etki bu besinin domates bitkilerde As toksisitesinin hafifletilmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Fosfor domates meyvelerinde As translokasyonunu azaltmak ve bitkideki P durumunu arttırmak için uygulanmıştır. Bu gözlemler neticesinde As ile kirlenmiş sular dünyadaki tarımsal alanlarda faydalı olabilir (Pigna ve ark., 2012).

2.6. Bitki Patojen İlişkileri

Bitkiler en gelişmiş organizmalar olan insanlara ve hayvanlara göre daha sade bir bağışıklık sistemine sahiptirler. Bitkilere özgü sade bağışıklık sistemi kendisinin önceden ürettiği (preformed) fiziksel (yaprak kıllılığı, sert hücre duvarları) ve kimyasal bariyerler (antimikrobiyal maddeler) içerdiği gibi hayatını tehdit eden patojenlere karşı savunma sistemide içermektedir. Bazı hastalık yapan patojenler başarılı bir şekilde fiziksel ve kimyasal bariyerleri geçebilir ama hastalık yapıcı özellik bitki tarafından algılandığında bitki kendine özgü hücrel savunma mekanizmasını aktif hale getirerek hastalık etmenin konukçu içine girişi engellenir (Numberger ve ark., 2004). Bitkilerin patojenlere karşı oluşturdukları bu savunma mekanizması dayanıklılık genleri (R) aracılığı ile algılanmasıyla oluşabilmektedir ve genellikle patojenin olduğu bölgede meydana gelen programlanmış hızlı ölümü gerçekleştirmektedir (Parker, 2000).

Bitki patojeninin sahip olduğu avirulens genleri elisitör proteinlerini kodlar, bu kodlanan proteinlere karşı bitkinin dayanıklılığı için kodlanan reseptör proteinleri varsa bitki patojenin varlığını algıladığında savunma mekanizmasını aktif hale getirir. Bitkideki bu dayanıklılık geni ve patojen avirulens geni arasındaki ilişkiye gen- için gen teorisi denilmektedir (Floor, 1971). Konukçu bitki hastalık etmenini korumasıyla tekrar hastalık yapabilmek için yeni mekanizmalar geliştirmeye çalışır (Xiao, 2006).

Hastalık etmenlerinin bitkilerde bağışıklık sistemini oluşmasını tetikleyen patojenlerin mevcut yapılarına patojenle bağlantılı denilmektedir. PAMP'lara örnek olarak patojen bakterilerdeki flagellin ve lipopolisakkaritler (LPS) bitkilerin immünsistemlerini aktif hale getirmesi verilebilir. Patojen olmayan bakterilerde ise bitkilerde bağışıklık sistemini aktif hale getiren etmenlere mikropla bağlantılı adı verilmektedir. Bitkilerde bulunan mevcut reseptörler sayesinde patojenle bağlantılı yapıları veya mikropla bağlantılı yapıları tanır ve patojenleri engelleyici savunma sistemlerini harekete geçirir (He ve ark., 2006; Zipfel, 2008).

Bitkilerde oluşan savunma mekanizması bitki hücresinin çeper yapısının sağlamlaştırılması, ROS'larının ve etilenin fazlalaştırılması ve hastalığın oluşumu ile dayanıklılığı sağlayan birçok genini aktif hale getirmesidir. PAMP'ları tanıyarak bitki savunma mekanizmasını harekete geçiren reseptörlere denilmektedir. Bitkilerin PAMP'ları biraz veya hiç algılamaması rahatsızlığın oluşumuna hassasiyet gösterdiği saptanmıştır (Ausubel, 2005).

Bitkilerde patojen saldırılarını algıladıktan sonra oluşan dayanıklılık mekanizmasında patojenin direk veya indirek yollarla tanıyan ürünlerin gelişimi savunma

mekanizmasını devreye sokan dominant dayanıklılık genleri tarafından kontrol edilir (Chisholm ve ark., 2006; Jones ve Dangl, 2006). R-proteinleri tarafından oluşan dayanıklılık ırk-spesifiktir ve yalnız R-proteinleri tarafınca tanınan proteinleri (avr proteinleri) salgılayan patojenlere karşı duyarlıdır. Bu duruma Hipersensitif Reaksiyon (HR) denilmektedir. Yani HR, patojenin saldırdığı alanın çevresindeki hücreleri hızlı bir şekilde öldürmesi olarak tanımlanabilir (Morel ve Dangl, 1997; Parker, 2000; Health, 1987).

Saldırıya uğrayan bitki patojen saldırısının olduğu bölgeden uzak dokularda savunma kapasitesini arttırmak için bazı sistemik tepkiler oluşturmaktadır. Bu tepki bitkiyi patojen istilacılarına karşı bitkiyi bir süre koruma potansiyelindedir. Birkaç uyarılmış sistemik savunma sistemleri ölümcül patojenlerin tetiklediği sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR) (Sticher ve ark., 1997), uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR) rizobakterlerin patojen etkisi olmadan köklerde birikmesiyle aktiftir (Pieterse ve ark., 2002) ve böcekler tarafından istila ile meydana gelen bitkilerin dokularındaki hasarlar yara-uyarımlı koruma mekanizmasını (Kessler ve Baldwin, 2002) aktifleştirir. ISR'lerin uyarılması sonucu oluşan tepkilere verilen işaret yollarıyla cevap oluşur ve oluşan işaret salisilik asit, ET, yasmonik asit bileşikleri içeren hormonlardır (Pieterse ve Van Loon, 1999; Thomma ve ark., 2001; Glazebrook, 2001). Bu hormonlar patojen enfeksiyonu veya herbivorların oluşturduğu yaralanmalarla birikirler ve savunma bağlantılı genleri aktive ederler. Aktif olan genler (PR proteinleri) enfekte olan hücrede ve genellikle enfekte olan hücre etraflarında bulunan hücre gruplarında birikimi gözlenmiştir. PR proteinlerinin kodladığı enzimler arasında peroksidaz, fitoaleksin bulunmaktadır (Somssich ve Hahlbrock, 1998).

Patojenlerin hücrelere istilası sırasında fitoaleksin PR proteinleri gibi antimikrobiyal bileşiklerinde *de novo* sentezi oluşturarak patojenlere karşı direnç oluşturmaktadır. Bu sistemik direnç (SAR) fitoaleksin ve PR proteinlerin üretimini gerçekleştirerek sağlıklı bitki kısımlarında genlerin ifade edilmesini sağlayarak bölgesel yanıtların oluşmasını sağlamaktadır. Fitoaleksin grubu bölgesel yanıtların koruyucu bileşiklerini oluştururken, patojen bağlantılı proteinler bölgesel ve sistemik dayanıklılık boyunca oluşmaktadır (Mansfield, 1999).

2.6.1. Bitkilerde Uyarılmış Dayanıklılık Mekanizması

Bitkilerde hastalık etmenleri ile tanışmadan önce onları uyarmanın en iyi yolu bu tür savunma yollarını önceden aktif hale getirmektir (Ramussen ve ark., 1991).

Bitkilerde patojenlere karşı uyarılmış dayanıklılık üç şekilde etkili olmaktadır

(Schönbeck ve ark., 1993);

1. Biyotik (fungus, bakteri, virüs, yaralanma) ve abiyotik (ultraviyole, çeşitli kimyasal maddeler) uyarıcılar,
2. Uyarıcıların kullanılmasıyla,
3. Patojene bağlı olarak bitkilerde spesifik bir şekilde etkili olabilmektedir.

Bitkilerde savunma mekanizması uyarılan sinyal yollarına ve uyarıcı ajana göre uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR) ve sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR) olarak iki şekilde ortaya çıkmaktadır. ISR kimyasalların ya da yaralanmaların neden olduğu nekrozların çevresinde ortaya çıkar. SAR durumunda ise dayanıklılık tüm bitkiyi kapsamaktadır. Sistemik dayanıklılık uyarılmış bir mekanizmayla başlayabilir (Ward ve ark., 1991). Patojenlerce indüklenen SAR'ın uyarılmasıyla işaret yolu olarak salisilik asiti kullandığı bilinmektedir (Molinari ve Loffredo, 2006). ISR de bitki gelişiminde etkili olan kök bakterilerinde birikim meydana gelir bunun sonucunda yasmonik asit ve etilen kullanılır (Hammerschmidt, 2007).

2.6.2. Peroksidaz (POX)

Bitkilerdeki savunma sisteminde yeri olan bazı enzimlerin sentezlenmesi ve ihtiyaç koşullarında bu enzimlerin bitkinin korunmasını sağlamaktadır. Genellikle kloroplastta sentezlenen peroksidaz bitki savunma mekanizmasında etkili olan öncül enzim ve patojenlere karşı bitkide savunma reaksiyonlarında yer almaktadır (Malolepsa ve Urbanek, 1994). Bitkilerde ayrıca peroksidaz sinnamil grubunun hücre çeperinin ana bileşeni olan lignine polimerizasyonunu katalizlenmesinde görevlidir. Lignin ksilemde bulunmasıyla bitki dokularındaki mekanik destekleyici ve patojenlere karşı bitkiyi korur (Lagrimni ve ark., 1993). Hücre duvarının gaz haline geçmesini ve kimyasal ürün olan fenoliğin birikmesi peroksidaz tarafından gerçekleşmektedir (Sherf ve ark.,1993).

POX'un görevi metabolik olaylardan sonra oluşan hücre hasarı oluşturan H_2O_2 'yi suya ve oksijene ayırmaktır (Çaylak, 2011).

2.6.3. Bitki Aktivatörleri

Bitki aktivatörlerinin bitkilere uygulanmasıyla ürün artışına sebep olur ve bitki kısımlarını hastalıklardan koruyarak bitkilerin hastalıklara karşı daha dirençli hale gelmesini sağlar (Tosun ve ark., 2002). Bitki aktivatörleri ve stimulant yaygın olarak kullanılan kimyasal yöntemlerin oluşturduğu olumsuzlukları azaltarak uygulamaları daha cazip hale getirmektedir (Topal, 2003).

Biyoaktivatörler hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılığı arttırarak biyolojik mücadelede önemli yere sahiptirler (Akbulak ve Tezcan, 2006).

Tahıllardaki küflenme, tütündeki küflenme, pek çok bitkide görülen bazı mikrobiyal hastalıklarda bitkinin savunma mekanizmasının bitki aktivatörlerini uyarmasıyla bitkide sistemik direnç (SAR) oluşturmaktadır (Sekmen ve ark., 2005).

2.6.4. Bitki Aktivatörleri Konusunda Yapılan Çalışmalar

Dereboylu ve Tort'un (2009) yapmış oldukları bir araştırmada *Cucumis sativus* L. türüne Anvil 50SC ve Forum Blu WP 40 fungusitleri ile bitki aktivatörü olarak da Crop-Set uygulamıştır. Crop-Set aktivatörünün istenen boyuttaki meyve sayısında, kontrol grubuna göre toplam çiçek ve meyve sayısında artışa neden olduğu, verimi ve ürün kalitesinin arttığı, fungusit uygulamalarında ise kontrol grubuna göre çiçek ve meyve sayılarında azalma görüldüğü ve aynı zamanda ürün kalitesini ve verimi olumsuz olarak etkilediği gözlenmiştir.

Çelik ve Eraslan'ın (2015) yaptıkları çalışmada tuz stresiyle yetişen mısır bitkisine nitrik oksidin topraktan uygulanmasıyla mısır bitkisindeki gelişimini, mineral beslenmesini ve bazı fizyolojik özellikleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Uygulamalar sonucunda kontrole göre NaCl ve sodyum nitroprussid (SNP)'in artan dozları bitkinin yaş ve kuru ağırlığında artış gözlenmiştir. NaCl ve SNP uygulamalarından membran geçirgenliği, nisbi nem içeriği, yaprak su tutma kapasitesi, toplam antioksidan aktivitesi, prolin içeriği, lipid peroksidasyonu ve stoma direnci istatistik olarak etkilenmemiştir. Bitkinin K ve Ca içerikleri uygulamalardan etkilenmemişken, N, Cl, Na, Mg, Fe, Zn ve Mn içeriklerinde değişimlerin olduğu gözlenmiştir. Bu elde edilen veriler doğrultusunda tuz stresi altında yetiştirilen mısır bitkisinin stresi tolere ettiği ve nitrik oksit (NO) vericisi olan SNP'nin olumlu etkisi olmadığı gözlenmiştir.

Kaya ve Çalı'nın (2015) yaptıkları bir çalışmada Oberon SC 240 insektisiti sera koşullarında yetiştirilen hıyar (*Cucumis sativus* L.) türüne uygulanması ve sonucunda bitkideki morfolojik ve anatomik yapısındaki etkileri saptamak olmuştur. Sonuç olarak insektisit bitkinin morfolojisinde fitotoksik etkilere sebep olduğu gözlenmiş, kontrol gruplarına göre uygulanan gruplardaki yaprak ve gövde kesitinde hücre tabaka kalınlık değerlerinin azaldığı saptanmıştır.

Tort ve Karavaş'ın (2002) yapmış oldukları bir araştırmada *Capsicum annuum* L. biber türünde fungusit olarak Quadris ve biostimulator olarak Crop-Set ve aktivatör olarak ISR-2000 kullanılmıştır. Yaprak kesitlerinde gelişimini tamamlamamış stomalara en çok

Quadris uygulama grubunda rastlenmiştir. Tüm uygulama gruplarında kontrol gruplarına göre sağlıklı meyve sayısı ve ağırlığı az ya da çok artış elde edilmiştir.

Ünlü ve Padem'in (2009) yaptıkları bir çalışmada Joker F₁ bodur domates çeşidi üzerine koncansiyonel yetiştirme sistemi, organik yetiştiricilikte 4 farklı çiftlik gübresi dozu ile bitki aktivatörlerinden iki çeşit ve gübre çeşitlerinden de 2 farklı gübrenin uygulanmasıyla bitkinin verimi, kalitesi ve bitkinin özelliklerine karşı etkileri araştırılmıştır. İnceleme sonucunda domates meyvelerindeki C vitamini miktarı, suda çözünebilir kuru madde yüzdesi, delinme direncinin miktarı ve titre edilebilir asitliğinin yüzdesi tespit edilmiştir.

Bursalıoğlu'nun (2013) yaptıkları bir çalışmada *in vivo* ortamında yetiştirilen *C. annuum* var. *grossum* ve var. *longum*, *L. esculentum* Mill. cv. Riogrande ve cv. H 2274 fideleri üzerine bitki aktivatörünün farklı konsantrasyonlarda uygulanması ve uygulama sonucunda bitkilerdeki toplam protein, peroksidaz [EC 1.11.1.7] ve proteaz [EC 4.3.1.1] düzeyi üzerindeki değişimleri araştırılmıştır. Sonuç olarak kontrol gruplarına göre bitki aktivatörlerin fideler üzerinde protein, peroksidaz ve proteaz düzeylerini zamana bağlı olarak farklı şekillerde etkilediği gözlenmiştir.

Öztürk ve ark. (2006) yaptıkları bir çalışmada domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bitkisinin sera ortamlarında yetiştirilmiştir ve bu türe fungusit olan Megasil fungusiti uygulanıp Megasilin bitkinin anatomik yapısına ne şekilde etkilediği araştırılmıştır. Sonuç olarak fungusit uygulanmasıyla bitkinin gövde yapısında bazı anomaliler saptanmıştır. Bitkinin anatomisinin kesitinde hücre tabaka kalınlığının değerleri kontrole kıyasla azaldığı gözlenmiş ve bitki yaprağının parankiması ile meyvesindeki mezokarp hücrelerinin bozuk olduğu gözlenmiştir. Bu yüzden elde edilen ürün miktarını ve kalitesini olumsuz yönde etkileyebileceği kanısına varılmıştır.

Baysal ve Gürsoy'un (2003) hazırlamış oldukları bir derlemede domates hastalık ve zararlılarıyla mücadelede Acibenzolar-S-methyl bileşiğinin alternatif direnmede domatesin hastalığına ve zararlılarına karşı kullanılabilirliği ve olanakları değerlendirilmiştir.

Çalı'nın (2013) bir çalışmasında sera ortamlarında geliştirilen domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bitkisi üzerine Aliette WG 800 fungusiti (% 80 Fosetyl-Al) uygulanıp, fungusitin domates bitkisinin anatomik yapısındaki değişimler incelenmiştir. Sonuç olarak mikrometrik oküler kullanılarak bitki anatomi yapılarının kesitinin hücre tabakasındaki kalınlığın değeri ölçülerek kontrole kıyaslandığında değerlerde azalma gözlenmiştir. Bu azalma neticesinde bitkinin anatomik yapısını olumsuz yönde etkilemesi bitkinin fotosentez, transpirasyon gibi fizyolojik olaylarını olumsuz yönde etkileyebileceği

kanısına varılmıştır.

Dünder ve Paksoy'un (2011) yapmış oldukları bir çalışmada G.A.B.A ve Messenger bitki aktivatörleri ile pestisit uygulaması yapılan ve yapılmayan sera koşullarındaki aşılı domates bitkisinin gelişimi, verimi ve meyve kalitesine etkilerinin belirlenmesi incelenmiştir. Araştırma sonucunda en yüksek verim oranı pestisit uygulanmış G.A.B.A ve Messenger'da gözlenmiş, en küçük verim oranı ise pestisit uygulanmayan parsellerde G.A.B.A'nın olduğu saptanmıştır. Meyve mineral içeriği incelendiğinde bor, bakır, potastum, magnezyum, mangan, fosfor, kükürt ve çinko içeriklerinin bitki aktivatörlerine göre önemsiz olduğu, kalsiyum içeriğinin ise önemli olduğu gözlenmiştir. Bitki boyu ve gövde çapı sonuçları ise bitki aktivatörleri dozları ile kontrol arasında istatistiksel anlamda önemli oldu elde edilmiştir.

Çakır ve Demirci'nin (2013) yapmış oldukları araştırmada altı değişik bitki aktivatörünün patates siğil hastalığının enfeksiyona karşı etkisi belirlenmiştir. Bu bitki aktivatörlerinden daha etkili olan de altı değişik aktivatör denenip, bunlardan diğerlerine göre daha fazla etki gösteren *Reynoutria sachalinensis*, Actigard ve Cropset kullanılmıştır. Sonuç olarak en yüksek etkiye sahip olan aktivatör Acibenzolar-S-methyl (Actigard) olduğu saptanmıştır fakat bu aktivatörün yumru oluşumunu azalttığı gözlenmiştir.

Çalı'nın (2007) bir başka çalışmasında ise sera koşullarında yetiştirilmiş domates bitkisi üzerine Agri-Fos 400 [Fosforoz asidi (Mono ve di-potasyum phosphanate)] fungusiti uygulanması ve bu fungusitin domates bitkisindeki stomalar üzerindeki etkileri incelemiştir. Sonuç olarak kontrol grubuna göre bitkinin yaprak alt yüzündeki stoma indeksi değeri azalırken, anormal stoma ve kapalı stoma sayılarında artış gözlenmiştir.

Aşçıoğlu ve Tosun'un (2010) yaptıkları bir çalışmada farklı ilaçlama programlarının domateste çürüklük hastalıklarına karşı etkilerini karşılaştırmışlardır. Kontrole göre hastalıklara karşı en iyi etki mikorizal fungus + (Harpin_{Ea} proteini + H₂O₂+Ag⁺⁺) olan 1.ilaçlama programı göstermiş 2.ilaçlama programından da *Trichoderma virens* GL-21 + (Harpin_{Ea} proteini + H₂O₂+Ag⁺⁺) diğer yüksek etkili olduğu saptanmıştır. Bu programların hiçbiri domateste fitotoksiteye neden olmadığı gözlenmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Tezimizde bitkisel materyal olarak *Solanaceae* familyasına ait *Solanum lycopersicum* L. SC-2121 çeşidine ait tohumlar kullanılmıştır. Kullanılan sertifikalı domates tohumları Ceylan Tarım firmasından alınmıştır. *Asteraceae* familyasından *Echinacea angustifolia* Hell. türünün kurutulmuş toprak üstü kısımları İstanbul Baharat firmasından temin edilmiştir.

3.1.1. Kimyasallar

- Saf su
- Brillant blue G-250
- Etanol
- Orto-fosforik asit
- Sodyum fosfat tamponu
- Metanol
- Pyrogallol
- Hidrojen peroksit
- BSA (Bovine Serum Albumin)
- DMSO

3.1.2. Sarf Malzemeler

Porselen havan, eppendorf, 28'li viyol, filtre kağıdı, beher, mikropipet, tülbent bezi, erlen, deney tüpü, plastik ve quartz spektrofotometre küveti, piset, dereceli silindir, folyo, toprak, sulama ibriği, torf, perlit.

3.2. Yöntem

3.2.1. Domates Bitkisinin Fidelerinin *In vivo* Yetiştirilmesi

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Biyoloji bölümüne ait olan bitki yetiştirme odasında uzun gün koşullarında $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, %50 nem ve 28.000 lüks ışık şiddeti ortamında *S. lycopersicum* L. türüne ait olan tohumların çimlenmesi (Şekil 3.1) ve 16 haftalık fide aşamasına erişmesi (Şekil 3.2) sağlanmıştır. 28'lik viyollere 3:1 torf:perlit karışımı aktarılarak *S. lycopersicum* L. tohumlarının ekimi gerçekleştirilmiştir. Denemeler her bir

varyete için seride başına 168 bitki olmak üzere üç tekrarlı olarak kurulmuştur. Bitkiler düzenli olarak iki günde bir saf su ile sulanmıştır.



Şekil 3.1. Bir haftalık *S. lycopersicum* L. fideleri



Şekil 3.2. On altı haftalık *S. lycopersicum* L. fideleri

3.2.2. *Echinacea angustifolia* Hell. Türünün Ekstrakt Hazırlanışı

İstanbul Baharat firmasından temin edilen *E. angustifolia* Hell. türünün kurutulmuş iki paket olan toprak üstü kısımları (100g) (Şekil 3.3) porselen havanda toz halini elde etmek için iyice dövülmüş ve kalın parçalar atılmıştır (Şekil 3.4). Küçük parçalar haline gelen ekinezya bitki parçaları 40'ar gramlık 2 eşit miktarda tartılarak her bir parça 200'er mL etanol ve metanol ile ayrı ayrı ekstraksiyon işlemi için erlenlere aktarılmıştır (Şekil 3.5). Hazırlanmış olan bu çözeltilerin Benchmark marka, Incu-shaker 10LR model çalkalayıcılı inkübatörde 150 rpm'de, 50°C'de 5 saat boyunca ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6). 5 saat sonunda çözeltilerdeki metanol ve etanol heidolph marka evaporatörde 60°C'de yaklaşık olarak 30-40dk'da buharlaştırılmıştır (Şekil 3.7). Başlangıçta 40g olan kütleden buharlaştırma işleminden sonra geriye 8g kalmıştır. Geriye kalan toz halindeki 8g ekinezya buzdolabında +4°C'de saklanmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.3. Kurutulmuş *Echinacea angustifolia* Hell. türünün toprak üstü kısmı



Şekil 3.4. *E. angustifolia* Hell. porselen havanda dövülüp etanol veya metanol ile karıştırılması



Şekil 3.5. Çözeltinin erlenlerdeki görüntüsü



Şekil 3.6. Ekstraksiyon işlemini gerçekleştiren çalkalayıcı



Şekil 3.7. Çözeltilerdeki metanol ve etanolün evaporatör ile buharlaştırılması



Şekil 3.8.a. Metanollü çözelti



b. Etanollü çözelti

3.2.3. *E. angustifolia* Hell. Ekstraktlarının DMSO Çözeltisi ile Çözdürülmesi

İlk kez 1866 yılında Rus bilim adamı Alexander Saytzeff tarafından sentezlenen suda çözünmeyen birçok terapötik ve zehirli maddeler dimetil sülfoksit (DMSO) ((CH₃)₂SO) çözücüsü içerisinde çözülürler. Organokükürt bileşiği, renksiz ve sıvı halde olan önemli bir polar çözücüdür. İkinci Dünya Savaşından sonra kimyagerler DMSO'nun hemen hemen her şeyi çözebileceğini farketmişlerdir. Ayrıca tıbbi tedavilerde alternatif olarak DMSO

dünyada 125'ten fazla ülkede insanlar üzerinde ilaç olarak kullanılması onaylanmıştır (Roy, 2002; Anonim, 2013).

Buzdolabında +4°C'de saklanmış olan metanol ve etanol ile hazırlanıp buharlaştırılarak toz haline getirilen ekinezya alınarak 40mL DMSO ile manyetik karıştırıcıda stok solüsyon hazırlanmıştır. Bu stok saf su ile seyreltilerek 0.01 ve 0.03g/mL uygulama konsantrasyonları hazırlanmıştır

3.2.4. *Echinacea angustifolia* Hell. Ekstraktının *Solanum lycopersicum* L. Türüne Uygulanması

Saf su ile seyreltilerek 0.01g/mL ve 0.03g/mL olarak hazırlanan ekstraktlar (Çizelge 3.1.ve Şekil 3.9) 16 haftalık domates fidelerinin yapraklarına püskürtme yolu ile uygulanmıştır. Uygulamadan 24 ve 48 saat sonra domates bitkisinin sağlıklı olan yapraklarından hasat gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubuna sadece aynı oranlarda saf su ile uygulama yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Uygulama ekinezya ekstraktı uygulama grupları

Uygulama grupları		
Saf su (negatif kontrol)	100mL	
	Ekinezya Ekstraktı (g/mL)	
	0,01	0,03
DMSO	5mL DMSO+ 95mL saf su	15mL DMSO+ 85mL saf su
Metanol Ekstrakt	5mL ekstrakt+ 95mL saf su	15mL ekstrakt+ 85mL saf su
Etanol Ekstrakt	5mL ekstrakt+ 95mL saf su	15mL ekstrakt+ 85mL saf su

Uygulama gruplarının kodlaması aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

K= Kontrol grubu

D1= DMSO 0.01g/mL konsantrasyonu

D2= DMSO 0.03g/mL konsantrasyonu

M1= Metanol ekstrakt 0.01g/mL konsantrasyonu

M2= Metanol ekstraktı 0.03g/mL konsantrasyonu

E1= Etanol ekstraktı 0.01g/mL konsantrasyonu

E2= Etanol ekstraktı 0.03g/mL konsantrasyonu



Şekil 3.9. Etanol, metanol veya DMSO ile hazırlanmış ekstraktlı çözelti



Şekil 3.10. Ekstraktın *S. lycopersicum* L. türüne uygulanması

3.3.Çalışma İçin Gerekli Olan Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. 0.05M Sodyum Fosfat Tamponunun Hazırlanması

- 250mL saf su içerisine 1.774g Na_2HPO_4 eklenir ve manyetik karıştırıcıda çözülmüncye kadar karıştırılır.

- pH 6.2- 6.5 arasına ayarlanır.

- Buzdolabında bir haftayı geçmemek şartı ile muhafaza edilir.

3.3.2. Protein Boyası Brillant Blue G-250 Hazırlanması

- 50mg G-250 tartılır ve üzerine manyetik karıştırıcıda çok yavaş bir şekilde 25mL %95' lik etanol eklenir.
- Daha sonra üzerine 50mL orto-fosforik asit eklenir.
- Şişeyi saf suyla son hacmi olan 500mL'ye tamamlanır.
- En son ışık görmemesi için koyu bir şişe içerisinde buzdolabında muhafaza edilir.

3.3.3. 0.1M Pyrogallolün Hazırlanması

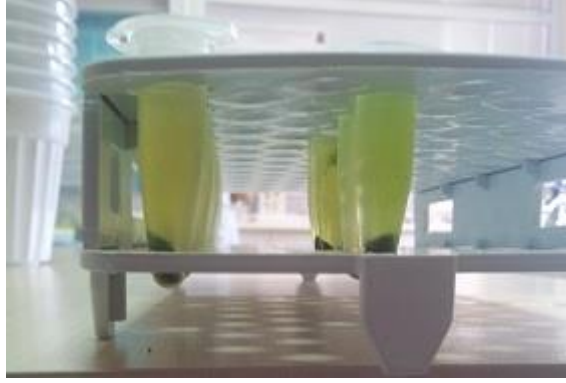
- 1.26g Pyrogallol tartılıp 100mL saf su içerisinde çözündürülür.

3.3.4. 90mM H₂O₂ Hazırlanması

- 9mL H₂O₂ 91mL su içerisinde karıştırılır.

3.4. *S. lycopersicum* L. Türünün Yaprak Özütünün Homojenizasyonu

In vivo ortamında yetiştirilen 16 haftalık *S. lycopersicum* L. türünün fidelerinden 24 saat ve 48 saatlik örneklemeler için belirli bir büyüklüğe erişmiş sağlıklı ve genç yapraklar seçilip 0.5g olacak şekilde hassas terazide tartılmıştır. Tartılan bu 0.5g'lık yapraklar porselen havan içerisinde 5mL soğuk 0.05M (pH 6.5) sodyum asetat tamponu ile birlikte bir dakika boyunca ezilmiştir. Bir dakika sonunda elde edilen homojen özüt kurutma kağıdı yardımıyla büyük parçalardan uzaklaştırılarak buzlu ortamda bulunan behere aktarılmıştır. Beherlerden de mikropipetler ile alınarak önceden örnekler için etiketlenmiş ependroflara eşit miktarlarda bölünmüştür. Ependorf tüpleri +4°C'de 13000 rpm 20 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüplerin üzerindeki süpernatant (üst faz) kısmı analizler için kullanılmıştır (Şekil 3.11). Bu tüpler daha sonraki analizler için -20°C'deki derin dondurucuda saklanmıştır.



Şekil 3.11. Santrifüjden çıkan ependorf tüpler içerisindeki yaprak özütü ve supernatant kısmı

3.5. Peroksidaz (POX) ve Toplam Protein Analizi

3.5.1. Örneklerin Peroksidaz İçeriklerinin Hesaplanması (Kinetik Reaksiyon)

Peroksidaz aktivitesinin spektrofotometrik ölçümlerinde Kanner ve Kinsella (1983)'nin metodundan yararlanılmıştır. Ölçümler quartz küvet kullanılarak 300nm dalga boyunda başlatılıp kinetik reaksiyon takibi 120 saniye boyunca her 10 saniyede bir ölçüm alınarak devam etmiştir. PG instruments T80+ marka spektrofotometrede gerçekleştirilen ölçümlerde iki adet kör kullanılmıştır.

Kinetik reaksiyon için son ölçüm hacmi 1000µl olacak şekilde önce 30µl bitki örneği sonra önceden hazırlanmış olduğumuz sodyum asetat tamponundan 670µl ardından 200µl pyrogallol (bu değer her zaman sabittir) ve en son 100µl H₂O₂ (bu değer her zaman sabittir) ekleyip spektrofotometreye quartz küvetini yerleştirdiğimiz gibi reaksiyon başlatılmıştır.

Reaksiyon sonucunda her 10 saniyede bir absorbans değerleri kaydedilip en büyük farkı gösteren aralık belirlenerek protein düzeyine çevrilmiş mg/mL/dk POX değerleri olarak elde edilmiştir.

3.6. Toplam Protein Analizi

3.6.1. Protein Standartının Hazırlanması

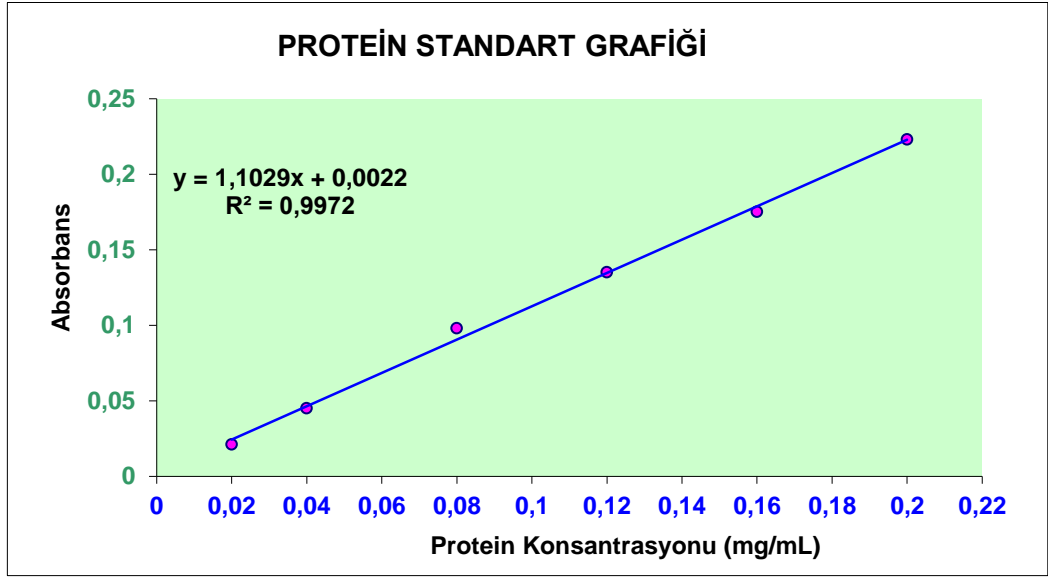
Kullanılan protein standartları Bovine Serum Albumin (BSA) stok solüsyonundan hazırlanmıştır. Bu yüzden 2mg/mL'lik stok ampul BSA'dan 0.02mg/mL; 0,04mg/mL; 0,08mg/mL; 0,12mg/mL; 0,16mg/mL ve 0,20mg/mL konsantrasyonlar alınarak deney tüplerine aktarılıp son hacim 1000µl'ye tamamlanmıştır. Boya olarak Brilliant Blue G-250 kullanılmıştır. Tüm ölçümler spektrofotometre'de 595nm'de gerçekleştirilmiştir (Çizelge

3.2).

Çizelge 3.2. BSA protein standart absorbanları

Protein (mg/mL)	Absorbans (595nm)
0.02	0.021
0.04	0.045
0.08	0.098
0.12	0.135
0.16	0.175
0.20	0.223

Standartların ölçümleri sonucu doğrusal olarak artış gösteren bir protein standart grafiği elde edilmiştir (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Protein standart grafiği

3.6.2. Protein Ölçümü

Ölçüm yapmak için her bir cam deney tüpüne ependorflardaki yaprak özütlerinin üst kısımlarından 100'er µl ve G-250'den 5'er mL aktarılarak karanlık ortamda bekletilmiştir. Spektrofotometrede 595nm dalga boyunda ölçüm gerçekleştirilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri standart grafikte yerlerini almasıyla ekstrakt uygulanan domates fidelerindeki protein miktarı hesaplanmıştır (Bradford, 1976).

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bitkisel Materyalin Çimlenmesine Ait Bulgular

Bitki yetiştirme odasında kontrollü koşullarda ekimi yapılan toplam 168 domates tohumunun 10. gün sonunda 106 tanesinin çimlendiği ve çimlenme yüzdesinin %63,09'nun olduğu belirlenmiştir. Çimlenen tohumlardan elde edilen 16 haftalık sağlıklı bitkilere ait fotoğraflar Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Sağlıklı 16 haftalık domates fidesi



Şekil 4.2. *In vivo* olarak yetiştirilen 16 haftalık domates fidesi

4.2. *E. angustifolia* Hell. Ekstraktının Uygulanmasıyla Domates Fidelerinde Toplam Protein Değişim Bulguları

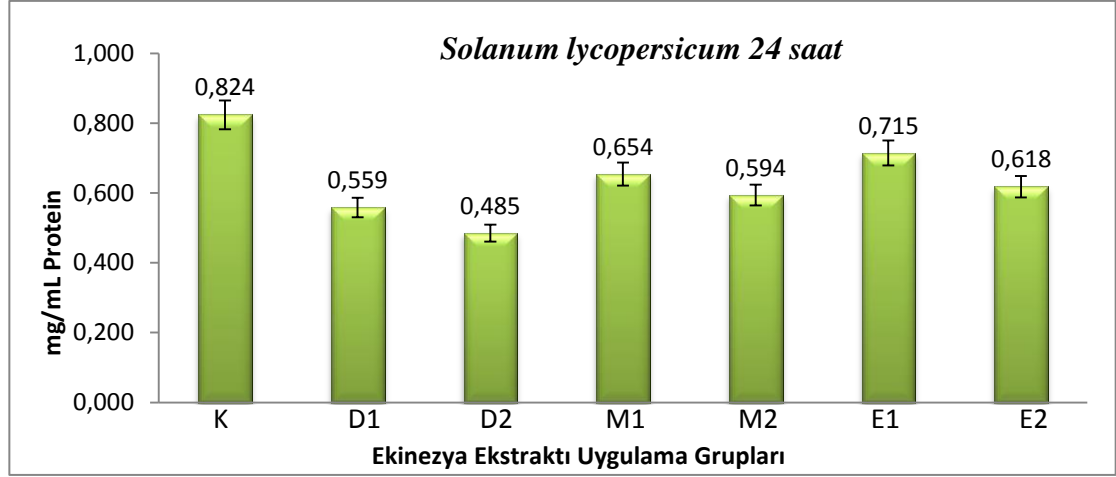
16 haftalık domates fidelerine metanol ve etanol ile hazırlanan ekinezya ekstraktının DMSO'yla seyreltilerek iki farklı konsantrasyonu (0.01g/mL ve 0.03g/mL) el pülverizatörü ile püskürterek uygulandıktan 24 ve 48 saat sonra, yaprak homojenizasyonu gerçekleştirilerek spektrofotometrede toplam protein analizi gerçekleştirilmiştir. İki farklı konsantrasyonda uygulanan ekstraktın domates fidesindeki toplam protein miktarı üzerinde farklı oranlarda etkili olduğu gözlenmiştir.

İki farklı konsantrasyonlardaki ekstrakt uygulamasından 24 saat sonra kontrol grubuna göre toplam protein miktarlarındaki düşüşler çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Uygulamadan 24 saat sonra toplam protein değişimleri

Uygulama Grubu	%'lik düşüş
DMSO 0.01 g/mL	32.17
DMSO 0.03 g/mL	41.15
Metanol 0.01 g/mL	20.64
Metanol 0.03 g/mL	27.92
Etanol 0.01 g/mL	13.23
Etanol 0.03 g/mL	25.00

Protein miktarlarında kontrol grubuna göre uygulamadan 24 saat sonra meydana gelen değişimler Şekil 4.3’de verilmiş olup istatistiki veriler ANOVA (tek yönlü varyans analizi) testi kullanılarak belirlenerek Çizelge 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.3. *E. angustifolia* Hell. ekstrakt uygulamasının 24 saat sonrasındaki sonucunda domates fidelerinde oluşan toplam protein değişimleri

Çizelge 4.2. Uygulamadan 24 saat sonrasında düşüş gösteren verilerin ANOVA analizi sonuçları (* p<0.001)

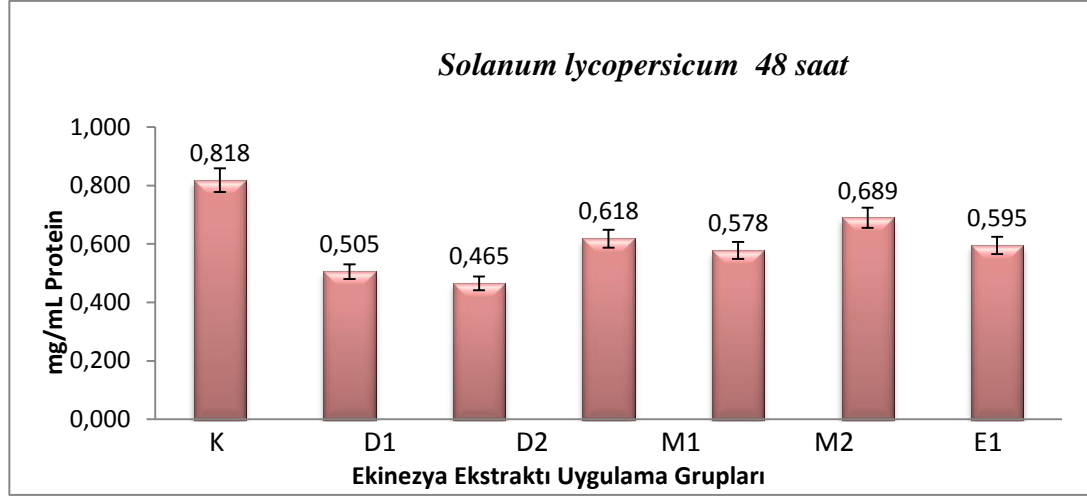
	Ortalama Kareler	F Değeri	Anlamlılık Düzeyi
Gruplar Arası	0.014014	276.60	0.000*

İki farklı konsantrasyondaki ekstrakt uygulamasından 48 saat sonra kontrol grubuna göre toplam protein miktarlarındaki değişimler Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Uygulamadan 48 saat sonra toplam protein değişimleri

Uygulama Grubu	%'lik düşüş
DMSO 0.01 g/mL	38.27
DMSO 0.03 g/mL	43.16
Metanol 0.01 g/mL	24.45
Metanol 0.03 g/mL	29.34
Etanol 0.01 g/mL	15.77
Etanol 0.03 g/mL	27.26

Protein miktarlarında kontrol grubuna göre uygulamadan 48 saat sonra meydana gelen değişimler Şekil 4.4’de verilmiştir ve istatistiki veriler ANOVA (tek yönlü varyans analizi) testi kullanılarak belirlenerek Çizelge 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.4. *E. angustifolia* Hell. ekstrakt uygulamasının 48 saat sonrasındaki sonucunda domates fidelerinde oluşan toplam protein değişimleri

Çizelge 4.4. Uygulamadan 48 saat sonrasında düşüş gösteren verilerin ANOVA analizi sonuçları (* p<0.001)

	Ortalama Kareler	F Değeri	Anlamlılık Düzeyi
Gruplar Arası	0.001939	41.64	0.000*

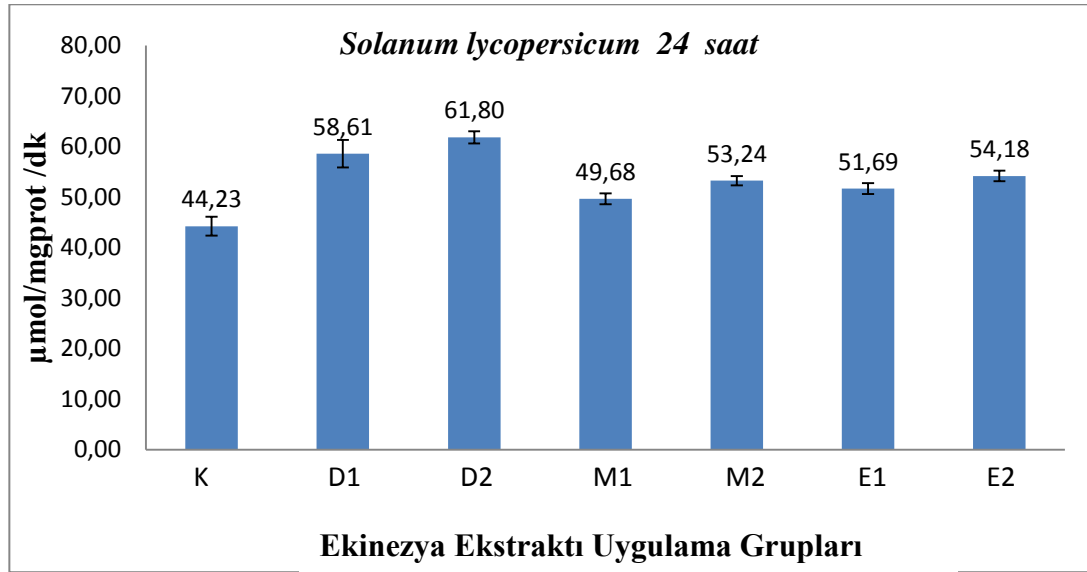
4.3. *E. angustifolia* Hell. Ekstraktının Uygulanmasıyla Domates Fidelerinde Peroksidaz Enzim Aktivitesindeki Değişim

16 haftalık domates fidelerine metanol ve etanol ile toz haline getirilen ekinezya ekstraktın DMSO içerisinde çözdürülmesiyle iki farklı konsantrasyonu (0.01g/mL ve 0.03g/mL) el pülverizatörü ile püskürterek uygulandıktan 24 ve 48 saat sonra yaprak homojenizasyonu gerçekleştirilerek spektrofotometrede peroksidaz enzim aktivitesinin ölçümü gerçekleştirilmiştir. İki farklı konsantrasyonda uygulanan ekstraktın domates fidesindeki peroksidaz aktivitesinin farklı oranlardaki etkileri belirlenmiştir. Ekstrakt uygulandıktan 24 saat sonra kontrol grubuna göre meydana gelen peroksidaz aktivite değişimleri Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Uygulamadan 24 saat sonra toplam peroksidaz değişimleri

Uygulama Grubu	%'lik artış
DMSO 0.01 g/mL	32.51
DMSO 0.03 g/mL	39.72
Metanol 0.01 g/mL	12.32
Metanol 0.03 g/mL	20.37
Etanol 0.01 g/mL	16.86
Etanol 0.03 g/mL	22.49

Peroksidaz enzim değerlerinde kontrol grubuna göre uygulamadan 24 saat sonra meydana gelen değişimler Şekil 4.5'de verilmiş olup istatistiki veriler ANOVA (tek yönlü varyans analizi) testi kullanılarak belirlenerek Çizelge 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.5. *E. angustifolia* Hell. ekstrakt uygulamasından 24 saat sonra peroksidaz aktivitesi değişimleri

Çizelge 4.6. Uygulamadan 24 saat sonrasında artış gösteren verilerin ANOVA analizi sonuçları (* p<0.001)

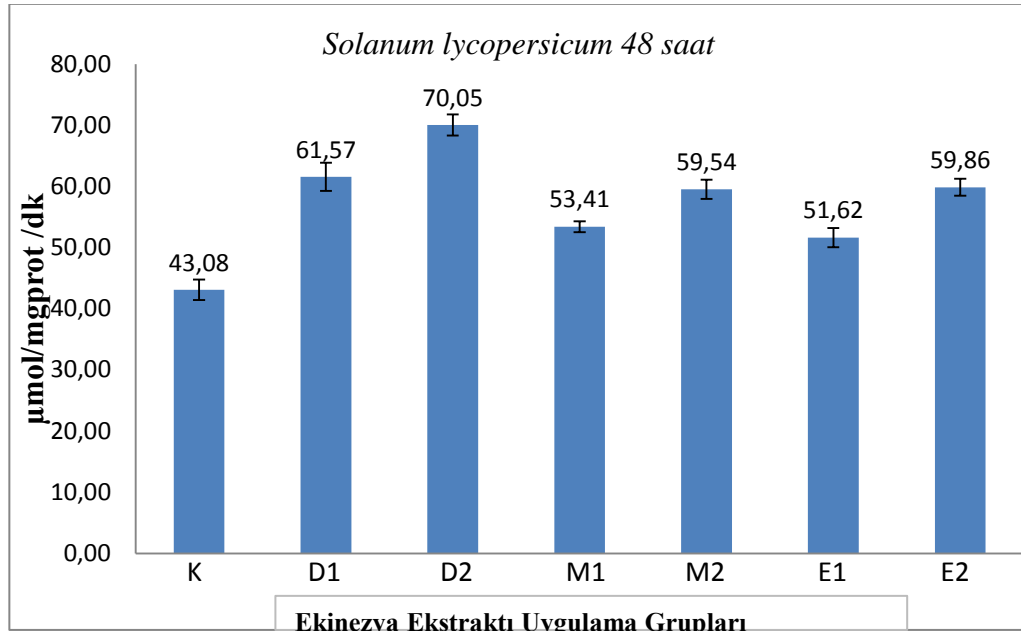
	Ortalama Kareler	F Değeri	Anlamlılık Düzeyi
Gruplar Arası	142.804	60.10	0.000*

Ekstrakt uygulamasından 48 saat sonraki kontrol grubuna göre oluşan POX değişimler Çizelge 4.7 'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Uygulamadan 48 saat sonra toplam peroksidaz değişimleri

Uygulama Grubu	%'lik artış
DMSO 0.01 g/mL	42.92
DMSO 0.03 g/mL	62.60
Metanol 0.01 g/mL	23.98
Metanol 0.03 g/mL	38.20
Etanol 0.01 g/mL	19.82
Etanol 0.03 g/mL	38.95

Peroksidaz aktivitesinde kontrol grubuna göre uygulamadan 48 saat sonra meydana gelen değişimler Şekil 4.6'da verilmiş olup ve istatistiki veriler ANOVA (tek yönlü varyans analizi) testi kullanılarak belirlenerek Çizelge 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.6. *E. angustifolia* Hell. ekstrakt uygulamasından 48 saat sonrasındaki POX değişimleri

Çizelge 4.8. Uygulamadan 48 saat sonrasında artış gösteren verilerin ANOVA analizi sonuçları (* p<0.001)

	Ortalama Kareler	F Değeri	Anlamlılık Düzeyi
Gruplar Arası	220.660	82.86	0.000*

4.4. Tartışma

Ülkemiz genelinde ve dünyada sera ve tarla yetiştiriciliğinde önemli ekonomik değere sahip olan domates bitkisi en çok zarar gören meyve grupları arasındadır. Bitki hastalıkları ile savaşta ürün kalitesini arttırmak, yüksek verim kazancı amacıyla sera ve tarlalara sıklıkla ilaçlama, kimyasal gübre ve hormon aşılması yapılarak bitki ürününü bozulması, ekosistemin düzensizleşmesi ve bu bitkileri tüketen insanlar için sağlık problemi oluşturmaktadır. Ekosistem ve insan sağlığını korumayı amaçlayan bilim adamları son zamanlarda bitki ürünlerinin korunması için güvenilir yeni yöntemler araştırmaya ve bu çalışmalarını geliştirmeye yönelmişlerdir. Bu amaç doğrultusunda bitki ve patojenler arasındaki ilişkinin anlaşılması, bakteri ve fungusitlerden dolayı meydana gelen hastalıkların belirlenmesi, bitkide enfeksiyon oluşmasıyla kendi savunma mekanizması yeteneğinin varlığı, bitkilerin ürünlerinin kaliteli ve verimli olması adına pek çok kayıpların önüne geçilebileceği konusunda çalışmalar gerçekleştirilmektedir.

Tez çalışmamızda *in vivo* olarak yetiştirilen *Solanum lycopersicum* L. fidelerinin yapraklarına *E. angustifolia* Hell. türünden elde edilen ekstrakt farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde püskürtme yolu ile uygulanmış, protein ve peroksidaz enzim değişimleri analiz edilmiştir. Bitki savunma sisteminin uyarılması bitki aktivatörleriyle gerçekleşirken, bu durumun etkisi protein ve enzim düzeylerindeki değişikliklerle gözlenmektedir. Çalışmamızda bitki aktivatörü olarak *E. angustifolia* Hell. ekstraktı kullanılarak bitkinin savunma mekanizması uyarılmıştır ve iki farklı konsantrasyonla uygulanan bu ekstraktla uyarılan domates fide yapraklarının fizyolojik cevapları peroksidaz enzim düzeyinde ve protein düzeyinde saptanmıştır.

Araştırma sonuçlarımıza göre farklı konsantrasyonlarda yapılan ekinezya ekstrakt uygulamasından 24 ve 48 saat sonra domates bitkisinin toplam protein düzeylerinde farklı oranlarda düşüşler meydana getirdiği saptanmıştır.

Pozitif kontrol olarak kullandığımız ekinezya ekstraktı içermeyen DMSO, uygulama zamanı ve konsantrasyon (0.01 g/mL, 0.03 g/mL) arttıkça kontrol grubuna göre daha fazla protein denatürasyonu meydana getirmiştir. En fazla düşüş %43.16 ile 0.03 g/mL ve 48 saat uygulamasında olmuştur. Bu konuda daha önce yapılan araştırmalarda bu maddenin

yaprak mezofilinde hasar oluşturduğu ve kök kültüründe kullanımıyla kültür canlılığı ve ikincil metabolit üretiminde olumsuz etkilerde bulunduğu belirlenmiştir (Shinde ve ark., 2009; Panwar ve Guru, 2013).

Metanol ekstraktı ile yapılan uygulamalarda da uygulama zamanı ve konsantrasyonu (0.01 g/mL, 0.03 g/mL) arttıkça DMSO kadar olmasa da kontrol grubuna göre protein denatürasyonu meydana gelmiştir. En fazla düşüş %29.34 ile 0.03 g/mL ve 48 saat uygulamasında olmuştur.

Etanol ekstraktı ile yapılan uygulamaların uygulama zamanı ve konsantrasyona (0.01 g/mL, 0.03 g/mL) bağlı olarak DMSO ve metanolün meydana getirdiği protein hasarı kontrol grubuna göre en az düzeyde meydana gelmiştir. En fazla düşüş %27.26 ile 0.03 g/mL ve 48 saat uygulamasında olmuştur.

Sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde, metanol ve etanol ekstraktların protein hasarını sadece DMSO uygulamasına göre azalttığı belirlenmiştir.

E.angustifolia ekstraktının farklı konsantrasyonlarının toplam protein miktarı üzerine etkileri ile ilgili olarak yapılan tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre uygulamadan 24 ve 48 saat sonra uygulama grupları arasında protein miktarı açısından * $p < 0.01$ olarak bulunduğu istatistik olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir.

Araştırma sonuçlarımıza göre farklı konsantrasyonlarda yapılan ekinezya ekstrakt uygulamasından 24 ve 48 saat sonra domates bitkisinin peroksidaz ektivite düzeylerinde farklı oranlarda artışlar meydana getirdiği gözlenmiştir.

Pozitif kontrol olarak kullandığımız ekinezya ekstraktı içermeyen DMSO, uygulama zamanı ve konsantrasyon (0.01 g/mL, 0.03 g/mL) arttıkça kontrol grubuna göre POX aktivite artışı gözlenmiştir. Artışlar en fazla %62.60 ile 0.03 g/mL ve 48 saat uygulamasında olmuştur.

Metanol ekstraktı ile yapılan uygulamalarda da uygulama zamanı ve konsantrasyonu (0.01 g/mL, 0.03 g/mL) arttıkça DMSO kadar olmasa da kontrol grubuna göre POX aktivite artışı meydana gelmiştir. En çok artış %38.20 ile 0.03 g/mL ve 48 saat uygulamasında görülmüştür.

Etanol ekstraktı ile yapılan uygulamaların uygulama zamanı ve konsantrasyona (0.01 g/mL, 0.03 g/mL) bağlı olarak DMSO ve metanolün meydana getirdiği POX aktivite artışı kontrol grubuna göre yüksek düzeyde meydana gelmiştir. En fazla artış %38.95 ile 0.03 g/mL ve 48 saat uygulamasında olmuştur.

E.angustifolia ekstraktının farklı konsantrasyonlarının POX aktivitesi üzerine etkileri ile ilgili olarak yapılan tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre uygulamadan 24 ve 48

saat sonra uygulama grupları arasında POX aktivitesi açısından *p<0.01 olarak bulunduğundan istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir.

Hall (2003) ekinezyanın antioksidan aktivitesini yağ sistemlerinde yaptığı bir çalışmayla tespit etmeye çalışmıştır. Ayçiçek yağının oksidatif stabilitesi, *E. purpurea* ve *E. angustifolia* türlerinin ortalama antioksidan aktivitenin ekinezya konsantrasyonunu %0.05'den %1' e arttırmasıyla yükseldiği gözlenmiştir. İkinci bir çalışmada bu türlerin hekzan ve etanol ile ekstraktı elde edilip mısır yağına ekleniş ve oksidasyon peroksit değerleri değerlendirilmiştir. Diğer uygulamalara göre ekinezya köklerinin etanol ekstraktları mısır yağının oksidasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır. Ekstraktların fenolik bileşik içeriği ile antioksidan aktivite arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır.

Singh (2010) iki farklı ekinezya türünün sulu ve etanollü ekstraktların (*E. purpurea* ve *E. angustifolia*) grip enfeksiyonuna karşı etkilerine bakmıştır. Her iki ekinezya türünün sulu ekstraktı etanollü ekstrakttan immün yanıtların üzerinde fazla uyarıcı etki ettiği gösterilmiştir. *E. angustifolia* ekstraktları *E. purpurea* ekstraktlarından daha güçlü aktiviteye sahip olma eğiliminde oldukları belirlenmiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Tamamlanan tezimizde tıbbi ve ekonomik olan *E. angustifolia* Hell. türünün toprak üstü organlarından hazırlanan ekstraktın domates bitkisinde doğal savunma sistemlerini ne şekilde uyardığı belirlenmiştir. Ekinezya ekstraktlarının metanol ve etanol ile toz haline getirilmesi ve DMSO çözücüsü ile stoklanıp iki farklı konsantrasyonda (0.01, 0.03g/mL) seyreltilerek *in vivo* olarak yetiştirilen 16 haftalık *Solanum lycopersicum* L. fidelerinin yapraklarına uygulandıktan 24 ve 48 saat sonraki toplam protein ve POX değişimlerini farklı düzeylerde uyardıkları saptanmıştır.

Bu farklılığın sebepleri açıklanarak uygun konsantrasyonlarda kullanılacak olan ekstraktın bitki savunma sistemleri üzerinde olumlu bir etki yaratabileceği ve bu ekstraktın kullanılmasının ekosistem açısından oldukça yararlı olabileceği ortaya çıkartılmıştır. Çünkü günümüzde bitki hastalıkları ile mücadelede yoğun miktarlarda bitki aktivatörü ve sentetik elisitör kullanılmaktadır. Doğal ekstraktların elde edilmesi basit ve ekonomik olduğundan ötürü bitki savunma sistemlerindeki etkileri saptanarak, bitkilerin sahip olduğu bu mekanizmasını geliştirmek için bu doğal ekstraktların kullanımını son derecede önemli bir gelişme olabilecektir.

Araştırma sonucunda elde edilen bu değerler doğrultusunda ekinezya ekstraktının üç farklı etmenle (çözgen, konsantrasyon, zaman) uygulanması ile domates bitkisindeki antioksidan sistemini uyardığı saptanmıştır.

İleride bitki ekstraktlarının diğer bitkilerin savunma sistemlerini uyarıcı etkilerinin saptanması hususunda yapılacak olan araştırmalar için kaynak oluşturabilecek nitelikte hazırlanan araştırmamızın bu alanda araştırma yapmayı planlayan kişilere yararı olacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

- Abbasi B.H., Tian C.L., Murch S.J., Saxena P.K., Liu C.Z., 2007. Light-enhanced caffeic acid derivatives biosynthesis in hairy root cultures of *Echinacea purpurea*. *Plant Cell Reports*, 26: 1367–1372.
- Abbasi B.H., Stiles A.R., Saxena P.K., Liu C.Z., 2012. Gibberellic acid increases secondary metabolite production in *Echinacea purpurea* hairy roots. *Appl Biochem Biotechnology*, 168: 2057–2066.
- Abushita A.A., Daood H.G., Biacs P.A., 2000. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 2075-2081.
- Akbudak N., Tezcan H., 2006. Bitkisel Üretimde ve Bitki Korumada Yeni Bir Etken Madde: Harpin. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2): 39-43.
- Akyazı F., Dickson D.W., 2014. *Pasteuria penetrans* suppression of root-knot nematode *Meloidogyne arenaria* race 1 in vegetables. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 38(2): 173-180.
- Anonim, 1999. <http://www.ava.gov.sg./aphid/plt.htm>. 06/11/2015.
- Anonim, 2000a. <http://.www.elsevier.com/locate/cropro>. 06/11/2015.
- Anonim, 2000b. <http://www.peaches/hochmuth/vegetarian.htm>. 06/11/2015.
- Anonim, 2005. Medicinal and Aromatic Plants Working Group-ECP/GR.
- Anonim, 2007. T.C Milli Eğitim Bakanlığı, Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi (MEGEP). Gıda teknolojisi, Sebzeleri kurutma, Ankara, 58.
- Anonim, 2008. <http://www.nal.usda.gov>. 24/11/2015.
- Anonim, 2009a. Plant Metabolic Engineering for Pharmaceutical Production. Conference in Plant Metabolic Engineering. <http://www.metabolicengineering.gov/me2005/Roberts.pdf>. 01/11/2015.
- Anonim, 2009b. Plant Secondary Metabolites. <http://www.novafeel.com/nutrition/plant-secondarymetabolites.htm>. 01/11/2015.

- Anonim, 2009c. Plant Secondary Metabolism. <http://dreampharm.com/ginger/psm.asp>. 01/11/2015.
- Anonim, 2010. Ekinezya Echinacea Nedir? Ne İşe Yarar?, <http://www.idealdiyet.com/ekinezya-echinacea-bitkisi-ekinezya-echinacea-nedir-ne-ise-yarar>. 19/11/2015.
- Anonim, 2013. <http://www.beslenmedestegi.com/kanitlanmamis-tedaviler/dmso-tedavisi-nedir>. 23/11/2015.
- Anonim, 2014a. <http://faostat.fao.org>. 02/11/2015.
- Anonim, 2014b. <http://canakkale.tarim.gov.tr/Sayfalar/Detay.aspx?OgeId=3&Liste=Haber>. 27/11/2015
- Anonim, 2014c. Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. 27/11/2015.
- Anonim, 2014d. TÜİK, Dış Ticaret İstatistikleri Veritabanı, <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. 27/11/2015.
- Anonim, 2015. http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=23195&tipi=38&sube. 25/11/2015.
- Arıkbay C., 1996. Türkiye'nin İşlenmiş Domates Dışsatımı: Durum Değerlendirmesi ve Avrupa Topluluğu'na Tam Üyeliğin Olası Etkileri. (Basılmamış Doktora Tezi).
- Aşçıoğlu O., Tosun N., 2010. Örtüaltı Yetiştiriciliğinde Domates Fide Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğü (*Rhizoctonia solani* Kühn, *Fusarium* spp., *Pythium* spp.) Hastalığının Kontrolünde Entegre Hastalık Yönetimine Uygun İlaçlama Programlarının Etkinliklerinin Araştırılması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 47(3): 231-240.
- Ausubel F.M., 2005. Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? *Nature Immunology*. 6: 973-979.
- Balandrin, M.F., Klocke, J.A., Wurtele, E.S., Bollinger, W.H., 1985. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science*, 228: 1154-1160.
- Balestrieri M.L., De Prisco R., Nicolaus B., Pari P., Schiano Moriello V., Strazzullo G.,

- Lorio E.L., Servillo L., Balastrieri C., 2004. Lycopene in association with α -tocopherol or tomato lipophilic extracts enhances acyl-platelet-activating factor biosynthesis in endothelial cells during oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 36: 1058-1067.
- Baque M.A., Hahn E.J., Paek K.Y., 2010. Growth, secondary metabolite production and antioxidant enzyme response of *Morinda citrifolia* adventitious root as affected by auxin and cytokinin. *Plant Biotech Reports*, 4: 109-116.
- Başer C.H., 2002. Fonksiyonel Gıdalar Ve Nutrasötikler. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir, Türkiye.
- Bauer R., 1999. Clinical investigations of *Echinacea* phytopharmaceuticals. In "Immunomodulatory Agents from Plants" (H. Wagner, ed.), pp. 41-88. Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
- Baytop, T., 1984. Türkiye Bitkileri İle Tedavi, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3255 Eczacılık Fakültesi No: 40, Türkiye.
- Baysal Ö., Gürsoy Y. Z., 2003. Dayanıklılık Artırıcı Bitki Aktivatörü Acibenzolar-S-methyl (ASM)' in Domates Hastalık ve Zararlılarıyla Savaşmada Kullanım Olanakları, *Alatırım Dergisi*, 2(2): 27-29.
- Beckles D. M., 2012. Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit, *Postharvest Biology and Technology* 63: 129-140.
- Binns S., Baum B., Arnason J., 2002. A taxonomic revision of *Echinacea* (Asteraceae:Heliantheae). *Systematic Botany Journal*, 27: 610-632.
- Bradford M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Bremer K., 1994. Asteraceae: Cladistics And Classification. Timber Press, Portland, Oregon.
- Bursalıoğlu E. O., Akı C., 2013. Bir Bitki Aktivatörünün *Capsicum annuum* L. Var. Grossum, Var. Longum, *Lycopersicum esculentum* Mill. Cv. Riogrande, Cv. H2274

- Çeşitlerinde Total Protein, Peroksidaz ve Total Proteaz Enzimleri Üzerine Etkileri. (Doktora tezi) Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye.
- Chen Y., Sung J., Lin S., 2015. Effect of Extraction Methods on the Active Compounds and Antioxidant Properties of Ethanolic Extracts of *Echinacea purpurea* Flower. American Journal of Plant Sciences, 6: 201-212.
- Chisholm S.T., Coaker G., Day B., Stawskawicz B.J., 2006. Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. Cell. 124: 803-14.
- Cowan M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents Clinical Microbiology Reviews. 12: 564-582.
- Creasy, G. L., 2000. Natural Defence System for Botrytis in the Vineyard. Gisborne Grape Growers Summer Seminar 24 January.
- Çakır E., Demirci F., 2013. Bazı bitki aktivatörlerinin Patates siğil hastalığı [*Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Per.]'na etkileri. Bitki Koruma Bülteni, 53(4): 239-250.
- Çalı İ.Ö., 2007. Ağı-fos 400 uygulamasının domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bitkisinde stomalar üzerine etkisi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi Cilt: 9, Sayı: 2, 102-110.
- Çalı İ.Ö., 2013. Fosetyl-Al Uygulamasının Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Bitkisinin Anatomik Yapısı Üzerine Etkisi. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Dergisi (CSJ), Vol: 34, No: 3, Science ISSN: 1300-1949. 41p.
- Çalışkan Ö., Odabaşı M.S., 2011. Ekinezya (*Echinacea* sp.) Türleri Genel Özellikleri ve Yetiştiriciliği. Anadolu Tarım Bilimsel Dergisi, 26(3): 265-270.
- Çaylak E., 2011. Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar. Tıp Araştırmaları Dergisi, 9(1): 73-83.
- Çekin D., Yaşar B., 2014. *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae)'nın Farklı Domates Çeşitleri Üzerinde Yaşam Çizelgesi. Tarım Bilimleri Dergisi, 21: 199-206
- Çelik A., Eraslan F., 2015. Nitrik Oksit Uygulamasının Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Mısır Bitkisinin Mineral Beslenmesi ve Bazı Fizyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, Vol. 10 Issue 1, p55-64.

10p.

- Çetin N., Akı C., 2004. Domatesin (*Lycopersicum esculentum* Mill.) Biyolojik Preparatlar İle Uyarılarak Total Protein Ve Peroksidaz Seviyelerinin Değişen Elisitasyon Tepkisinin Saptanması. Yüksek lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye.
- Dahui L., Zaigui W., Yunhua Z., 2011. Antifungal activity of extracts by supercritical carbon dioxide extraction from roots of *Echinacea angustifolia* and analysis of their constituents using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(23): 5605-5610.
- Dall'Acqua S., Perissutti B., Grabnar I., Farra R., Comar M., Agostinis C., Caristi G., Golob S., Voinovich D., 2015. Pharmacokinetics and immunomodulatory effect of lipophilic Echinacea extract formulated in softgel capsules. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 97: 8-14.
- Dapas B., Dall'Acqua S., Bulla R., Agostinis C., Perissutti B., Invernizzi S., Grassi G., Voinovich D., 2014. Immunomodulation mediated by a herbal syrup containing a standardized Echinacea root extract: A pilot study in healthy human subjects on cytokine gene expression, 21(11): 1406-1410.
- Davies J.R., 2010. Echinacea - *Echinacea angustifolia* /purpurea. <http://www.herbs-handshealing.co.uk/singleherbs/echinacea.html#top>.
- Davis P.H., 1978. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol:6 p:444, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Davis P.H., Tan K., Mill R.R. (eds.), 1988. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 10, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Dereboylu A. E., Tort N., 2009. Bazı Aktivatör ve Fungisit Uygulamalarının *Cucumis sativus* L. (Hıyar) Bitkisinde Verim-Kalite Üzerine Etkisi. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 31(1): 30-42
- Doğan B., 2007. Türkiye *Jurinea cass.* (Asteraceae) Cinsinin Revizyonu. (Doktora Tezi), Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.
- Dündar M., Paksoy M., 2011. Sera Koşullarında G.A.B.A ve Messenger Uygulamalarının

- Domateste Bitki Gelişimi, Verim ve Kaliteye Etkileri. Yüksek lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Bahçe bitkileri Anabilim Dalı, Konya, Türkiye.
- Elliot J.G., 1999. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, 53: 46-48.
- Erdal İ., Küçükyumuk Z., Taplamacıoğlu D., Toflar B., 2014a. Kireçli bir toprakta humik ve fulvik asit uygulamalarının domatesin gelişimi ve beslenmesine etkileri. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, 2(2): 70-74.
- Erdal İ., Küçükyumuk Z., Taplamacıoğlu D., Toflar B., 2014b. Farklı Demir İçeriklerine Sahip Besin Çözültüsüyle Beslenen Domates Bitkisinin Gelişimi, Toplam Demir, Aktif Demir, Klorofil ve SPAD Değerleri Arasındaki İlişkiler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarla Bilimi Dergisi*, 24(1): 36-41.
- Erdemir D. A., 1998. At Kestanesi (ve Prepagel) Doğanın Harika İlacı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nobel Kitap Evi İstanbul.
- Farnsworth, N.R., Akerev, O. Bingel, A.S., 1985. *The Bulletin of WHO*, 63: 9865-9871.
- Faydaoğlu, F., Sürücüoğlu, M.S., 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1): 52-67.
- Floor H.H., 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Reviews of Phytopathology*. 9: 275-296.
- Gezgin, D., 2006. Bitki Mitosları. Sel Yayıncılık.
- Glazebrook J., 2001. Genes Controlling Expression of Defense Responses in Arabidopsis-Status, *Current Opinion in Plant Biology* 4: 301-308.
- Goel V., Lovlin R., Barton R., Lyon M.R., Bauer R., Lee T.D., Basu T.K., 2004. Efficacy of a standardized echinacea preparation (Echinilin) for the treatment of the common cold: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 29(1): 75-83.
- Gökalp H., Kaya M., Zorba Ö., 2002. Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 320, s: 137, Erzurum, Türkiye.

- Guarnerio C., Fraccaroli M., Gonzo I., Pressi G., Toso R.D., Guzzo F., Levi M., 2012. Metabolomic analysis reveals that the accumulation of specific secondary metabolites in *Echinacea angustifolia* cells cultured in vitro can be controlled by light. *Plant Cell Reports*, 31: 361-367.
- Gülser E., Tüfenkçi Ş., Demir S., 2014. Domateste Potasyum, Salisilik Asit ve Humik Asit Uygulamalarının Fide Çıkışı ve *Fusarium Solgunluğuna* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) Etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilgileri Dergisi*, 24(1): 16-22.
- Hall C., 2003. *Echinacea* As A Functional Food Ingredient Advances In Food And Nutrition Research. 47: 113-173.
- Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 985-990.
- Hammerschmidt R., 2007. "Introduction: Definitions and Some History, 1-9". *Induced Resistance for Plant Defence: A Sustainable Approach to Crop Protection* (Eds. D. Walters, A. Newton & G. D. Lyon). Blackwell Publishing, UK, 258 pp.
- Han K.H., 2001. Molecular Biology of Secondary Growth. *Journal of Plant Biotechnology*, 3: 45-57.
- He P., Shan L., Lin N.C., Martin G.B., Kemmerling B., Nurnberger T., Sheen J., 2006. Specific bacterial suppressors of MAMP signaling upstream of MAPKKK Arabidopsis innate immunity. *Cell*, 125: 563-575.
- Health M.C., 1987. Evolution of plant resistance and susceptibility to fungal invaders. *Can. Journal of Plant Pathology*, 9: 389-397.
- Jedlinszki N., Rédeia D., Haller J., Freund T. F., Hohmann J., Zupkó I., 2014. Possible Role of Fat Tissue in the Pharmacokinetics of Dodeca-2E,4E,8Z,10E/Z-tetraenoic Acid Isobutylamides after Oral Administration of *Echinacea angustifolia* Extract in Rats. *Natural Product Communications*, 9(6) : 843-5.
- Jones J.D.G., Dangl J.L., 2006. The plant immune system. *Nature*, 444: 323-329.
- Jones A.M.P., Saxena P.K., Murch S.J., 2009. Elicitation of secondary metabolism in *Echinacea purpurea* L. by gibberellic acid and triazoles. *Engineering in Life Sciences*, 9: 205-210.

- Jukić H., Habeš S., Aldžić A., Durgo K., Kosalec I., 2015. Antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds of the extracts of *Echinacea purpurea* (L.). Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina, 2232-7266.
- Kabganian R., Carrier D. J., Sokansanj S., 2008. Drying of *Echinacea angustifolia* Roots. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 10(1): 11-18.
- Kanner J., Kinsella J.E., 1983. Lipid deterioration initiated by phagocytic cells in muscle foods: -carotene destruction by a myeloperoxidase-hydrogen peroxide-halide system. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 31: 370-376.
- Karabudak T., Bor M., Özdemir F., Türkan İ., 2014. Glycine betaine protects tomato (*Solanum lycopersicum*) plants at low temperature by inducing fatty acid desaturase and lipoxygenase gene expression. Molecular Biology Reports, 41: 1401-1410.
- Kaya E., Çalı İ.Ö., 2015. Spiromesifen Etken Maddeli Bir İnsektisit *Cucumis sativus* L. (Hıyar) Bitkisi Üzerine Morfolojik ve Anatomik Etkileri. Cumhuriyet University Faculty of Science Science Journal (CSJ), 36(5): 1300-1949
- Keskin G., Gül U., 2004. Domates. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, T.E.A.E-Bakış, Sayı: 5, Nüsha: 13, Ankara, Türkiye.
- Kessler A., Baldwin I.T., 2002. Plant Response to Insect Herbivory: The Emerging Molecular Analysis. Annual Review of Plant Biology, 53: 299-328.
- Kim H. O., Durance T.D., Scaman C.H., Kitts D.D., 2000. Retention of Caffeic Acid Derivatives in Dried *Echinacea purpurea*, Food, Nutrition and Health. University of British Columbia, 6650 NW Marine Drive, Vancouver, British Columbia, Canada V6T 1Z4, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 4182-4186.
- Kim L.S., Waters R.F., Burkholder P.M., 2002. Immunological activity of larch arabinogalactan and Echinacea: a preliminary, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic, 7: 138-149.
- Kim D.H., Heber D., Stil D.W., 2004. Genetic diversity of Echinacea species based upon amplified fragment length polymorphism markers. Genome, 47: 102-111.
- Koçyiğit M., Özhatay N., 2006. Wild Plants Used as Medicinal Purpose in Yalova

- (Northwest Turkey). İstanbul University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany, Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, 3(2): 91-103.
- Krylod A., 2012. UNCTAD. <http://www.unctad.info/en/Infocomm/AACPproducts/COMMODITY-PROFILE—Tomato/>.
- Küçüker O., 1994. Micromorphological examination of leaf, fruit, tunica and seed surfaces of Anatolian Colchicum species. Botanische Jahrbücher, 116(1): 123-133.
- Kütevin Z., Türkeş T., 1987, Sebzeçilik ve Genel Sebze Tarımı Prensipleri ve Pratik Sebzeçilik Yöntemleri. İnkilap Kitabevi, Ankara cad: 95, İstanbul, Türkiye.
- Lagrimni, L.M., Vaughn J., Erb W.A., Miller S.A., 1993. Peroxidase over production in tomato: wound induced polyphenol deposition and disease resistance. Horticultural Science, 28: 218-221.
- Lee T.T., Li Chen C., Shieh Z.H., Lin J.C., Yu B., 2009. Study on antioxidant activity of *Echinacea purpurea* L. extracts and its impact on cell viability. African Journal of Biotechnology, 8(19): 5097-5105.
- Letchamo W., Polydeonny L.V., Gladisheva N.O., Arnason T.J., Livesey J., Awang D.V.C., 2002. Factors affecting Echinacea quality. p: 514-521.
- Lila, M.A., 2005. Valuable Secondary Products from In Vitro Culture. Chapter 24: Plant Development and Biotechnology. CRC Press, pp: 285-289.
- Liu R., Li W., Sun L.Y., Liu C.Z., 2012. Improving root growth and cichoric acid derivatives production in hairy root culture of *Echinacea purpurea* by ultrasound treatment. The Biochemical Engineering Journal, 60: 62-66.
- Maggini R., Tozzini L., Pacifici S., Raffaelli A., Pardossi A., 2012. Growth and accumulation of caffeic acid derivatives in *Echinacea angustifolia* DC. var. *angustifolia* grown in hydroponic culture. Industrial Crops and Products, 35: 269-273.
- Maida I., Chiellini C., Mengoni A., Bosi E., Firenzuoli F., Fondi M., Fani R., 2015. Antagonistic interactions between endophytic cultivable bacterial communities isolated from the medicinal plant *Echinacea purpurea*. Environmental Microbiology, 10.1111/1462-2920.12911.

- Maleopsa U., Urbanek U., 1994. Changes in peroxidase activity in bean suspension cultures after *Botrytis cinerea* elicitor treatment. *Journal of Phytopathology*, 141: 314-322.
- Mansfield J.W., 1999. Antimicrobial compounds and resistance: the role of phytoalexins and antianticipins. In: *Mechanisms of Resistance to Plant Diseases*. Slusarenko A.J., Fraser R.S.S., VanLoon L.C.(Ed), Kluwer, Amsterdam.
- Mat A., 2002. Echinacea Türleri. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Top. Bildiriler, 29-31, Eskişehir, Türkiye.
- McGregor R.L., 1968. The taxonomy of the genus Echinacea (Compositae). *The University of Kansas Science Bulletin*, 48: 113-142; Ref.: Mazza G., Oomah B. D. (Eds), *Herbs, Botanicals and Teas*, Technomic Publishing Company Inc., Lancaster, Basel, 45-73.
- Mechanda S.M., Baum B.R., Jhonson D.A., Arnason J.T., 2004. Analysis of Diversity of Natural Population and Commercial Lines of Echinacea Using AFLP. *Canadian Journal of Botany*. 82: 461-484.
- Melchart D., Walther E., Linde K., Brandmaier R., Lersch C., 1998. Echinacea roots extracts for the prevention of upper respiratory tract infections: A double-blind, placebo controlled randomized trial. *Archives of Family Medicine*, 7: 541-545.
- Mirjalili M.H, Salehi P., Badi H.N., Sonboli A., 2006. Volatile constituents of the flowerheads of three Echinacea species cultivated in Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2): 355-358.
- Molinari S., Loffredo E., 2006. The role of salicylic acid in defense response of tomato to root-knot nematodes. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 68: 69-78.
- Morel J., Dangl J., 1997. The hypersensitive response and the induction of cell death in plants. *Cell Death Differ*, 4: 671-683.
- Mucciarelli M., Maffei M., Wright C.W., 2002. In Editors. *Introduction To The Genus*. Taylo R & Francis Publishing, Newyork, Pp.1-51.
- Muntean L.S., Varban, D. Muntean S., Tamaş M., Varban R., 1998. Echinacea Species of Medicinal Use. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*.

- Muratore G., Rizzo V., Licciardello F., Maccarone E., 2008. Partial dehydration of cherry tomato at different temperature and nutritional quality of the products. Sezione Tecnologie Agroalimentari, Dipartimento di OrtFloro-Arboricoltura e Tecnologie Agroalimentari (DOFATA), University of Catania, Via Santa Sofia, 98-95123 Catania, Italy. Food Chemistry, 111: 887-891.
- Numberger T., Brunner F., Kemmerling B., Piater L., 2004. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. Immunological Reviews, 198: 249-266.
- Oğuz A., 2010. Bazı Yerel Domates Genotiplerinde Farklı Yöntemler Kullanarak, Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato spotted wilt virüs=TSWV)'ne Dayanıklılığın ve Genetik Varyasyonun Araştırılması. (Doktora Tezi) Fen Bilimleri Enstitüsü, 166 s, Ankara, Türkiye.
- O'Neill W., McKee S., Clarke A. F., 2002. Immunological and haematinic consequences of feeding a standardised Echinacea (*Echinacea angustifolia*) extract to healthy horses. Equine Veterinary Journal, 34(3): 222-227.
- Oomah B.D., Dumon D., Cardador-Martinez A., Godfrey D.V., 2006. Characteristics of Echinacea seed oil. Food Chemistry, 96: 304-312.
- Oskay D. , Oskay M., 2009. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi. Celal Bayar Üniversitesi, 1306-3111.
- Özhatay N., Kültür Ş., 2006. Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey III, Turkish Journal of Botany, 30: 281-316.
- Öztürk İ., Tort N., Tosun N., 2006. Metalaxyl Uygulamasının Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.)'in Anatomik Yapısı Üzerine Etkisi, Tarım Bilimleri Dergisi, 12(1): 14-22, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ankara, Türkiye.
- Panwar S.G., Guru S.K., 2013. Stimulation of reserpine production in the whole plant culture of *Rauwolfia serpentina* L. by elicitors and precursor feeding. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 24(1): 49-55
- Parker J.E., 2000. Signalling in plant disease. Annual Plant Reviews, Molecular Plant Pathology, 4: 143-174.

- Pieterse C.M.J., Van Loon L.C., 1999. Salicylic Acid-Independent Plant Defence Pathways. *Trends Plant Science*, 4: 52-58.
- Pieterse C.M.J., Van Wees S.C.M., Ton J., Van Pelt J.A., Van Loon L.C., 2002. Signalling in Rhizobacteria-Induced Systemic Resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biology*, 4: 535-544.
- Pigna M., Caporale A.G., Cozzolino V., López C.F., Mora M.L., Sommella A., Violante A., 2012. Influence of phosphorus on the arsenic uptake by tomato (*Solanum lycopersicum* L.) irrigated with arsenic solutions at four different concentrations. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(4): 775- 784.
- Praveen N., Murthy H.N., 2012. Synthesis of withanolide A depends on carbon source and medium pH in hairy root cultures of *Withania somnifera*. *Industrial Crops and Products*, 35: 241-243.
- Rao A.V., Waseem Z., Agarwal S., 1998. Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. *Food Research International*, 31: 737-741.
- Ramussen J.B., Hammerschmidt R., Zook M.N., 1991. Systemic Induction of Salicylic Acid Accumulation in Cucumber After Inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiology*, 97: 1342-1347.
- Raven P.H., Axelrod D.I., 1974. Angiosperm Biogeography And Past Continental Movements. *Annals of The Missouri Botanical Garden*, 61: 539-673.
- Rininger J., Kickner S., Chigurupati P., McLean A., Franck Z., 2000. Immunopharmacological activity of Echinacea preparations following simulated digestion of murine macrophages and human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 68: 503-510.
- Roy K.M., 2002. Sulfones and Sulfoxides Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Wiley-VCH, Weinheim.
- Sahlin E., Savage G.P., Lister C.E., 2004. Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17: 635-647.
- Sato F., Hashimoto T., Hachiya A., Tamura K., Choi K.B., Morishige T., Fujimoto H.,

- Yamada Y., 2001. Metabolic engineering of plant alkaloid biosynthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98: 367-372.
- Schönbeck F., Steiner U., Kraska T., 1993. Induzierte Resisten: Kriterien, Mechanizmen, Anwendung und Bewertung. Z. Plankrank. PflSchutz., 100: 541-557.
- Seçmen Ö., Gemicci Y., Görk G., Bekât L., Leblebici E., 1998. Tohumlu Bitkiler Sistematiği. Ege Üniversitesi Basımevi, 5. baskı s: 269, İzmir, Türkiye.
- See D.M., Broumand N., Sahl L., Tilles J.G, 1997. In vitro effects of Echinacea and Ginseng on natural killer and antibody-dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency syndrome patients. Immunopharmacology, 35: 229-235.
- Sekmen, A.H., Demiral T., Tosun N., Türküsay H., Türkan İ., 2005. Tuz stresi uygulanan domates bitkilerinin bazı fizyolojik özellikleri ve toptal protein miktarı üzerine bitki aktivatörünün etkisi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 42: 85-95.
- Sherf B.A., Bajar A.M., Kollattukudy P.E., 1993. Abolition of an inducible highly anionic peroxidase activity in transgenic tomato. Plant Physiology, 101: 201-208.
- Shinde A.N., Malpathak N., Fulzele D.P., 2009. Enhanced production of phytoestrogenic isoflavones from hairy root cultures of *Psoralea corylifolia* L. using elicitation and precursor feeding. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 14: 288-294.
- Singh N., 2010. A comparison of both water and ethanol extracts prepared from *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* on the response to Influenza A/PR/8/34 infection in mice. Iowa State University, Graduate Theses and Dissertations, pp: 11290.
- Somssich I.E., Hahlbrock K., 1998. Pathogen Defense in Plants- A Paradigm of Biological Complexity. Trends in Plant Science, 3: 86-90.
- Stanisavljević I., Stojičević S., Veličković D., Veljković V., Lazić M., 2009. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) Extracts Obtained by Classical and Ultrasound Extraction. Chinese Journal of Chemical Engineering, 17(3): 478-483.
- Sticher L., Mauch-Mani B., Metraux J.P., 1997. Systemic Acquired Resistance. Annual

- Review of Phytopathology, 35: 235-270.
- Tapiero H., Townsend D.M., Tew K.D., 2004. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 58: 100-110.
- Teli N.P., Timko M.P., 2004. Recent developments in the use of transgenic plants for the production of human therapeutics and biopharmaceuticals. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 79: 125-145.
- TEPGE, 2013. Domates ve Domates Salçası, Durum ve Tahmin, 2012/2013.
- Theis N., Lerdau M., 2003. The Evolution of Function in Plant Secondary Metabolites. *International Journal of Plant Sciences*, 164: 93-102.
- Thomma B.P.H.J., Penninckx I.A.M.A., Cammue B.P.A., Broekaert W.F., 2001. The Complexity of Disease Signalling in Arabidopsis. *Current Opinion in Immunology*, 13: 63-68 JW. Mansfield, Slusarenko AJ, Fraser RSS and VanLoon LC (Ed), Kluwer, Amsterdam.
- Topal C., 2003. Biber (*C. annuum* L.) Serasında Bazı Fungisitlerin ve Bitki aktivatörünün Toprağın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- Torkan S., Khamesipour F., Katsande S., 2015. Evaluating the effect of oral administration of Echinacea hydroethanolic extract on the immune system in dog. *Autonomic and Autocoid Pharmacology*, 35: 9-13.
- Tort N., Karavaş B., 2002. Fungisit, bitki aktivatörü ve bitki stimulantının biber bitkisinin (*Capsicum annuum* L.) anatomik ve morfolojik yapısı üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- Tosun N., Ergün A., 2002. Bitkisel Üretimde ve Tarımsal Savaşımında Yeni Bir Yaklaşım Olarak Bitki Aktivatörlerinin Rolü. TAYEK/TYUAP 2002 Yılı Tarla Bitkileri Grubu Bilgi Alışveriş Toplantısı Bildirileri, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 109: 248-263.
- Turner B.L., 1977. Fossil History and geography. In V.H. Heywood, J.B. Harbone, B.L. Turner (Eds.), *The Biology and Chemistry of the Compositae*, Academic Press, 1: 21-39, London.

- Uluşık D., 2010. Ginseng ve Ekinezyanın Ratlarda Bazı Plazma Sitokin Düzeyleri ile Bunlara Ait M RNA Ekspresyonları Üzerine Etkileri. (Doktora Tezi) Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Vet) Anabilim Dalı, Konya, Türkiye.
- Uylaşer V., 1996. Salça Üretim Aşamalarına Göre Bakteri ve Maya Florasındaki Değişim ve Bozulmadaki Etkileri Üzerinde Araştırmalar. (Doktora Tezi) Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye.
- Ünlü H., Padem H., 2009. Organik Domates Yetiştiriciliğinde Çiftlik Gübresi, Mikrobiyal Gübre ve Bitki Aktivatörü Kullanımının Verim ve Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri. *Ekoloji* 19(73): 1-9.
- Vanisree M., Lee C.Y., Lo S.F., Nalawade S.M., Lin C.Y., Tsay H.S., 2004. Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue culture. *Botanical Bulletin Academia Sinica*, 45: 1-22.
- Wagner H., Stuppner H., Schafer W., Zenk M., 1988. Immunologically active polysaccharides of *Echinacea purpurea* cell cultures. *Phytochemistry*, 27: 119-126.
- Ward E.R., Ukness S.J., Williams S.C., Dincher S.S, Wiederho H.D.L., Aexander A., Ah-Goy P., Metraux P., 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell*, 3: 1085-1094.
- Willcox J.K., Catignani G.L., Lazarus S., 2003. Tomatoes and cardiovascular health. *Critical Review Food Science Nutrition*, 43: 1-18.
- Wilson E.O., 1986. Biodiversity. National Academic Press, Washington.
- Wu C.H., Dewir Y.H., Hahn E.J., Paek K.Y., 2006. Optimization of culturing conditions for the production of biomass and phenolics from adventitious roots of *Echinacea angustifolia*. *Journal of Plant Biology*, 49: 193-199.
- Wu C.H., Murthy H.N., Hahn E.J., Paek K.Y., 2007a, Enhanced production of caftaric acid, chlorogenic acid and cichoric acid in suspension cultures of *Echinacea purpurea* by the manipulation of incubation temperature and photoperiod. *Engineering Journal*, 36: 301-303.
- Wu C.H., Tewari R.K., Hahn E.J., Paek K.Y., 2007b. Nitric oxide elicitation induces the

accumulation of secondary metabolites and antioxidant defense in adventitious roots of *Echinacea purpurea*. *Journal of Plant Biology*, 50: 636-643.

Wu H., Nardone A., Lacetera N., 2009. Effects of a standardized purified dry extract from *Echinacea angustifolia* on proliferation and interferon gamma secretion of peripheral blood mononuclear cells in dairy heifers. *Research in Veterinary Science*, 87: 396-398.

Xiao S., 2006. Current perspectives on molecular mechanisms of plant disease resistance. In: Teixeira da Silva JA (ed) *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues*, vol 3. Global Science Books, pp 317–333, London.

Zipfel C., 2008. Pattern-recognition receptors in plant innate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 20: 10-16.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ayşe Gizem DİNÇ

Doğum Yeri : Biga

Doğum Tarihi : 25/07/1990

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi/ Biyoloji

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi/ Biyoloji

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

İLETİŞİM

E-posta Adresi : a.gizemdinc@hotmail.com