



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**BİTKİ UÇUCU YAĞ VE ÖNEMLİ BİLEŞENLERİNİN
KARPUZ BAKTERİYEL MEYVE LEKESİ HASTALIK ETMENİ
Acidovorax citrulli ÜZERİNE OLAN ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİKLERİNİN
in vitro KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

MERYEM MENGÜLLÜOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY

HAZİRAN-2012

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİTKİ UÇUCU YAĞ VE ÖNEMLİ BİLEŞENLERİNİN
KARPUZ BAKTERİYEL MEYVE LEKESİ HASTALIK ETMENİ
Acidovorax citrulli ÜZERİNE OLAN ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİKLERİNİN *in vitro* KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

MERYEM MENGÜLLÜOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Doç.Dr. Soner SOYLU danışmanlığında hazırlanan bu tez 12/06/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Soner SOYLU
Başkan

Prof.Dr. Yeşim AYSAN
Üye

Yrd.Doç.Dr. İ. Adem BOZKURT
Üye

Bu tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır

Kod No:

Prof.Dr. İlhan ÜREMİŞ
Enstitü Müdür

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca Desteklenmiştir.
Proje No: 1101Y0115

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

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT	II
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
2.1. Bitki Uçucu Yağlarının <i>Acidovorax</i> spp.'ye Karşı Antibakteriyel Etkinlikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar	9
2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Fitopatojen Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antibakteriyel Etkinlikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	10
2.3. <i>Acidovorax citrulli</i> ile Mücadelede Farklı Tohum Uygulamaları Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Bitki Materyali.....	18
3.1.2. Çalışmalarda Kullanılan Besi Yerleri.....	19
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Bakteriyel Etmenlerinin İzolasyonu ve Muhafazası.....	20
3.2.2. Bitki Uçucu Yağların Elde Edilmesi.....	21
3.2.3. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenlerin Belirlenmesi.....	22
3.2.4 Bitki Uçucu Yağ ve Önemli Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	23
3.2.4.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi.....	23
3.2.4.2. Mikro Seyreltme Yöntemi.....	26
3.2.4.2.1. Klasik petride sayma yöntemi.....	27
3.2.4.2.2. Resazurin mikrotitrasyon assay testi (REMA)	28
3.2.5. %50 Etkili Konsantrasyon (EC ₅₀) Değerlerinin Hesaplanması.....	29
3.2.5. Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler.....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	30
4.1. Bitki Uçucu Yağların Genel Özellikleri.....	30

4.2. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenleri.....	31
4.3. Bitki Uçucu Yağ ve Önemli Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinlikleri.....	38
4.3.1. Bitki Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkinlikleri.....	38
4.3.1.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi.....	38
4.3.1.2. Mikro Seyreltme Yöntemi	40
4.3.2. Bitki Uçucu Yağlarının Ana Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinlikleri	45
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	52
TEŞEKKÜR	62
ÖZGEÇMİŞ	63
EKLER.....	64

ÖZET

**BİTKİ UÇUCU YAĞ VE ÖNEMLİ BİLEŞENLERİNİN
KARPUZ BAKTERİYEL MEYVE LEKESİ HASTALIK ETMENİ
Acidovorax citrulli ÜZERİNE OLAN ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİKLERİNİN *in vitro* KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

Bu çalışmada, Lamiaceae familyasına ait karabaş kekik (*Thymbra spicata* L. subsp. *spicata*), kaba kekik (*Thymus serpyllum* L.) mercanköşk (*Origanum majorana* L.), lavanta (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*), oğul otu (*Melissa officinalis* L.), nane (*Mentha spicata* L.), adaçayı (*Salvia officinalis* L.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşenleri gaz kromatografi-kütle spektroskopisi (GC-MS) ile analiz edilmiş, elde edilen uçucu yağlar ve bu yağların önemli bazı ana bileşenlerinin antibakteriyel etkinlikleri tohum kökenli karpuz bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*'ye karşı *in vitro* koşullarında araştırılmıştır.

Uçucu yağların antibakteriyel etkinlikleri agar disk difüzyon ve mikro sulandırma yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. *Thymra spicata* uçucu yağı bakteriyel etmene karşı 20.7 mm çapında engelleme bölgesi oluşturan en etkili yağ olmuştur. Bu yağı sırası ile 13.7, 9.4, 8.3, 8.0, 7.7, 7.4, 7.3 mm çapında engelleme bölgesi oluşturan *Thymus serpyllum*, *Origanum majorana*, *Melissa officinalis*, *Mentha spicata*, *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis* ve *Ocimum basilicum* uçucu yağları takip etmiştir. *Lavandula stoechas* uçucu yağı 6.7 mm çapında engelleme bölgesi oluşturarak en düşük etkinlik gösteren yağ olmuştur. Bakteri çoğalmasını durduran minimum engelleyen dozları (MIC) mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Kullanılan tüm uçucu yağlar test edilen bakteriyel etmene karşı 6 ila 40 mg/ml değişen konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Test edilen uçucu yağlar arasında en düşük EC₅₀ değeri *T. spicata* için 1.98 mg/ml, en yüksek EC₅₀ değeri ise *L. stoechas* için 15.42 mg/ml olarak belirlenmiştir.

T. spicata için carvacrol (%66.86) *T. serpyllum* için thymol (%41.03), *O. majorana* için 4-terpineol (%31.67), *M. spicata* için carvone (%55.58), *M. officinalis* için z-citral (%23.58), *R. officinalis* için 1,8-cineole (%18.47), *O. basilicum* için linalool (%30.23), *S. officinalis* için camphor (%24.59) ve *L. stoechas* için alpha-fenchone (%51.07) bitki uçucu yağlarının ana bileşenleri olarak belirlenmiştir. Bitki uçucu yağların yanı sıra carvacrol, linalool, thymol, camphor, anethole, carvone, menthol, eugenol ve cinnamaldehyde gibi ana bileşenlerinde antibakteriyel etkinlikleri belirlenmiştir. Test edilen bileşenlerden carvacrol, eugenol ve cinnamaldehyde en etkili ana bileşenler olup, kullanılan en düşük konsantrasyonlarda dahi bakteriyel çoğalmasını tamamen engellemişlerdir.

Bitki uçucu yağlar ve ana bileşenlerin göstermiş olduğu güçlü antibakteriyel etkinlikleri, bu bileşenlerin hastalık etmeni *A. citrulli*'ile mücadelede kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bakteriyel etmenin tohum kökenli olması nedeni ile bu tür doğal bileşikler hastalıkla mücadelede tohum uygulaması olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu bakımdan özellikle kekik ve benzeri bitkilerin uçucu yağları ve ana bileşenlerinden carvacrol, eugenol ve cinnamaldehyde'in tohum dezenfeksiyonu uygulamalarında kullanılma potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir.

2012, 64 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Acidovorax citrulli*, antibakteriyel, uçucu yağları, karpuz, bakteriyel meyve leke hastalığı, tıbbi bitkiler

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL EFFICIENCIES OF ESSENTIAL OILS and MAIN CONSTITUENTS AGAINST WATERMELON BACTERIAL FRUIT BLOTCH DISEASE AGENT *Acidovorax citrulli* *in vitro* CONDITIONS

In this study, chemical compositions of essential oils (EOs) derived from several plant species belonging to Lamiaceae family such as thyme (*Thymbra spicata* L. subsp. *spicata* and *Thymus serpyllum* L.), origanum (*Origanum majorana* L.), mint (*Mentha spicata* L.), lavender (*Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas*), Lemon balm (*Melissa officinalis* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), and basil (*Ocimum basilicum* L.) were analyzed by means of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and antibacterial activities of these EOs and some major constituents were investigated against seed-borne plant pathogenic bacterium *Acidovorax citrulli*, causal agent of bacterial fruit blotch of watermelon *in vitro* conditions.

Antibacterial activities of the essential oils were assayed by using agar disk diffusion and micro broth dilution methods. Different degrees of bacterial growth inhibition by the EO were recorded as inhibition zones using the agar disk diffusion method. The EO from *Thymbra spicata* was the most effective against the bacterial agent giving mean inhibition zones of 20.7 mm diameter. This essential oil was followed by *Thymus serpyllum*, *Origanum majorana*, *Melissa officinalis*, *Mentha spicata*, *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis* and *Ocimum basilicum* essential oils with mean inhibition zones of 13.7, 9.4, 8.3, 8.0, 7.7, 7.4, 7.3 mm diameter respectively. The EO from *Lavandula stoechas* was the least inhibitory giving mean inhibition zones of 6.7 mm diameter. By using micro agar broth dilution assay, minimum bactericidal concentrations of the essential oil varied 6 to 40 mg/ml, depending on the plant species. The lowest and highest EC₅₀ values were recorded for thyme (1.98 mg/ml) and lavender (15.42 mg/ml) essential oils respectively.

Carvacrol (66.86%) for *Thymbra spicata*, thymol (41.03%) for *Thymus serpyllum*, 4-terpineol (%31.67) for *Origanum majorana*, carvone (%55.58) for *Mentha spicata*, z-citral (%23.58) for *Melissa officinalis*, 1,8-cineole (%18.47) for *Rosmarinus officinalis*, linalool (%30.23) for *Ocimum basilicum*, camphor (%24.59) for *Salvia officinalis* and alpha-fenchone (%51.07) for *Lavandula stoechas* were found as major compounds. In addition to essential oil, antibacterial effects of major components of oils of different medicinal plants such as carvacrol, linalool, thymol, camphor, anethole, carvone, menthol, eugenol and cinnamaldehyde were also investigated against the bacterial agent. Among the tested compounds, carvacrol, eugenol and cinnamaldehyde were completely inhibited bacterial agent at the lowest concentrations used.

Laboratory screenings of plant essential oils and their major compounds have given encouraging results, indicating their potential use in the management of diseases caused by *Acidovorax citrulli*. As the bacterial agent known to be transmitted through seeds, one of the way of application of the the plant essential oil is as a seed treatment. In this aspect, especially essential oils of thyme-like plants and their major compound carvacrol, eugenol and cinnamaldehyde appear to be promising as an seed disinfectants

2012, 64 pages

Key words: *Acidovorax citrulli*, Antibacterial, essential oils, watermelon bacterial fruit blotch disease, medicinal plants

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DMSO	Dimethyl sulfoxide (çözücü)
EC ₅₀	Bakteri çoğalmasını %50 düzeyde engelleyen etkili konsantrasyon
EO	Uçucu yağ (Essential Oil)
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (Gaz kromatografi ve kütle spektroskopisi)
HR	Hypersensitive reaksiyon (Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu)
KB	King's B Agar
LB	Luria Broth sıvı bakteri besi ortamı
MIC	Minimum engelleyen doz
NA	Nutrient Agar katı besi ortamı
REMA	Resazurin mikrotitrasyon assay testi
RT	Alıkonma zamanı (Retention time)
RI	Alıkonma İndisi (Retention index)

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Çalışmalarda kullanılan uçucu yağlarının elde edildiği bitkilerin bilimsel adı, yöresel adı, toplandığı yer ve toplanma tarihleri.....	18
Çizelge 4.1	Çalışmalarda kullanılan bitkilerden elde edilen uçucu yağlarının verimleri.....	30
Çizelge 4.2	Çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal kompozisyonu	32
Çizelge 4.3	Bitki uçucu yağlarının karpuz bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni <i>A. citrulli</i> 'ye karşı antibakteriyel etkinliği.....	40
Çizelge 4.4	Farklı bitki uçucu yağlar ve konsantrasyonlarının karpuz bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni <i>A. citrulli</i> 'ye karşı antibakteriyel etkinliği.....	42
Çizelge 4.5	Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin <i>A. citrulli</i> 'ye karşı antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesinde kullanılan konsantrasyonlar.....	45
Çizelge 4.6	Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı konsantrasyonlarını <i>A. citrulli</i> 'ye karşı antibakteriyel etkinliği.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Karpuz bitkilerinde sorun olan önemli bakteriyel hastalık etmenlerinden bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni <i>Acidovorax citrulli</i> 'nin kotiledon ve gerçek yapraklarda oluşturduğu hastalık belirtileri.....	5
Şekil 3.1	Çalışmalarda kullanılan uçucu yağlarının elde edildiği bitkilerin bulundukları doğal ortamlar.....	19
Şekil 3.2	Çalışmada kullanılan bakteriyel izolatın MIS ile teşhis sonuçları.....	20
Şekil 3.3	Uçucu yağların çıkartılmasında kullanılan Clevenger tipi yağ çıkartma aleti ve mantolu ısıtıcısının genel görünümü.....	22
Şekil 3.4	Agar disk difüzyon tekniği ile uçucu yağların <i>A.citrulli</i> 'nin gelişimi üzerine antibakteriyel etkinliğinin in vitro koşullarda belirlenmesi...	25
Şekil 3.5	Mikro sulandırma tekniği ile uçucu yağların antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi.....	27
Şekil 3.6	Bitki uçucu yağların ana bileşenlerinden carvacrol, thymol, linalool, carvone, eugenol ve cinnamaldehyde'nin <i>A.citrulli</i> etmenine karşı 3 farklı konsantrasyonda göstermiş olduğu antibakteriyel etkinliğinin Resazurin mikrotitrasyon assay testi (REMA) ile belirlenmesi.....	28

1. GİRİŞ

Türkiyede tarımsal üretim açısından önemli bir paya sahip olan kabakgiller *Plantae* âlemi, *Magnoliophyta* (Kapalı tohumlular) bölümü, *Magnoliopsida* (iki çenekliler) sınıfı, *Cucurbitales* takımı, *Cucurbitaceae* familyasına dahil bitkilerdir. *Cucurbitaceae* familyası içinde 118 cins ve 825 tür bulunduğu bildirilmektedir (Jeffery, 1990). Bitkiler âlemi içinde *Cucurbita* cinsine dahil olan bitkiler, morfolojik olarak en fazla genetik çeşitlilik gösteren cinslerden biridir (Robinson ve Decker-Walters, 1997). Bu cins içinde ekonomik öneme sahip olan ve kültürü yaygın olarak yapılan en önemli türler, *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai (karpuz), *Cucurbita maxima* Duch. (kışlık kestane kabakları), *Cucurbita moschata* (Duch ex.Lam.) (kışlık bal kabakları), *Cucurbita pepo* L. ve *Cucurbita argyrosperma* Hiber. (yazlık kabaklar)'lar olarak bildirilmektedir (İnan, 2008).

Kabakgiller (*Cucurbitaceae*) familyasına dahil tek yıllık bir bitki türü olan karpuz bitkisel protein ve çeşitli vitaminler bakımından oldukça zengin bir bitkisel ürün olup dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde yaz mevsiminde en fazla tüketilen meyveler arasında yer alır. Kalp krizinin yanı sıra bazı kanser türlerine karşı etkili olan karetenoidlerden likopen'ce zengin olan karpuz üretimi son yıllarda hızla artış göstermiş olup karpuz tarımı, dünyada ve Türkiye'de oldukça geniş bir alana yayılmıştır. Dünyada 3.694.595 ha alanda 95.292.051 ton karpuz üretilmektedir. Toplam üretim açısından Türkiye 139.000 ha alanda 4.002.280 ton üretimi ile Çin'den sonra (67.203.275 ton) ikinci sırada yer almaktadır. Türkiye'yi İran (3.400.000 ton), Brezilya (1.950.000 ton) ve A.B.D (1.793.000 ton) izlemektedir (Anonymous, 2008).

Türkiye'nin tarımı yapılan 21.384.000 ha'lık alanının 802.000 ha'lık alanında yaklaşık 10.000.000 ton sebze üretimi yapılmaktadır. Bu üretimin yaklaşık %74.9'ını (7.490.012 ton) kabakgiller (*Cucurbitacea*) familyasına ait sebze türleri (hıyar, kabak, kavun, karpuz) oluşturmaktadır (Anonim, 2010). Karpuz üretimi, Türkiye istatistik Kurumunun 2010 yılında yayınlamış olduğu tarımsal üretim verilerine göre 7.490.012 ton kabakgil üretiminin 3.683.103 tonluk (%49.1) miktarı ile birinci sırada yer almaktadır (Anonim, 2010). Türkiye'de 2010 yılı Tarımsal Üretim İstatistiklerine göre en fazla karpuz 1.467.986 tonluk üretim (yaklaşık ülke üretiminin %40) ile Akdeniz bölgesinde yapılmıştır.

Akdeniz bölgesinde ise en fazla karpuz tarımı 929.731 ton ile Adana ve Mersin ; 118.534 ton ile Osmaniye, Hatay ve Kahramanmaraş illerinde yapılmıştır (Anonim, 2010).

Ülkemiz ekonomisi için önemli bir bitki olan karpuz üretimi bakteriyel, fungal ve viral hastalık etmenleri tarafından olumsuz yönde etkilenmektedir.

Karpuz üretimini ve verimi olumsuz yönde etkileyen ve birçok cinse dahil önemli bakteriyel hastalık etmenleri bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri özellikle meyvelerde ve yapraklarda hastalık belirtilerine neden olan *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Xanthomonas campestris* pv. *cucurbitae*; bakteriyel solgunluğa neden olan *Erwinia tracheiphila*; yumuşak çürüklüğe neden olan *Erwinia* spp. (*Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* ve *Erwinia ananas*), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ve *Pseudomonas viridiflava*'dır (Smith ve ark., 1988; Williams ve Zitter, 1996; Zitter ve ark., 1996; Jones ve ark., 2001; Aysan ve ark., 2003; Mirik ve ark., 2004; Walcott ve ark., 2004; Aysan ve ark., 2005; Aysan ve ark., 2006). Bu hastalık etmenleri özellikle ılıman iklim bölgelerinde ve inokulumun fazla olduğu alçak tünel sera ve açık alan karpuz yetiştiriciliği yapılan alanlarda önemli zararlar meydana getirmektedir.

Söz konusu bakteriyel etmenler arasında yer alan ve tez çalışmalarımıza konu olan karpuz bakteriyel meyve leke hastalığı (watermelon bacterial fruit blotch) etmeni, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad et al.) Willems et al. [= *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* (Willems et al., 1992)] kabakgiller familyasına dahil birçok bitkide önemli ürün kayıplarına sebep olur. Son yıllarda bakteriyel etmen *Acidovorax avenae*'nın farklı türleri üzerinde yapılan en son taksonomik çalışmalar *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*'nin taksonomik adını yeniden düzenleyerek *Acidovorax citrulli* comb. nov. olarak isimlendirilmesini önermiştir (Schaad ve ark., 2008). Hastalık etmeni gram negatif, tek polar kamçıya sahip olup, besi ortamında floresan özellikte olmayan, beyaz konidiler oluşturur. Etmen tipik olarak bütün yapraklarında aşırı duyarlılık tepkisi (Hypersensitive reaksiyon, HR) oluşturur. Tütünde HR oluşturmayan bazı izolatlar, karpuz fidelerinin kotiledon yapraklarında hastalık belirtilerine neden olurken, meyvelerde simptom oluşturmadağı belirtilmiştir (Koiike ve ark., 2007).

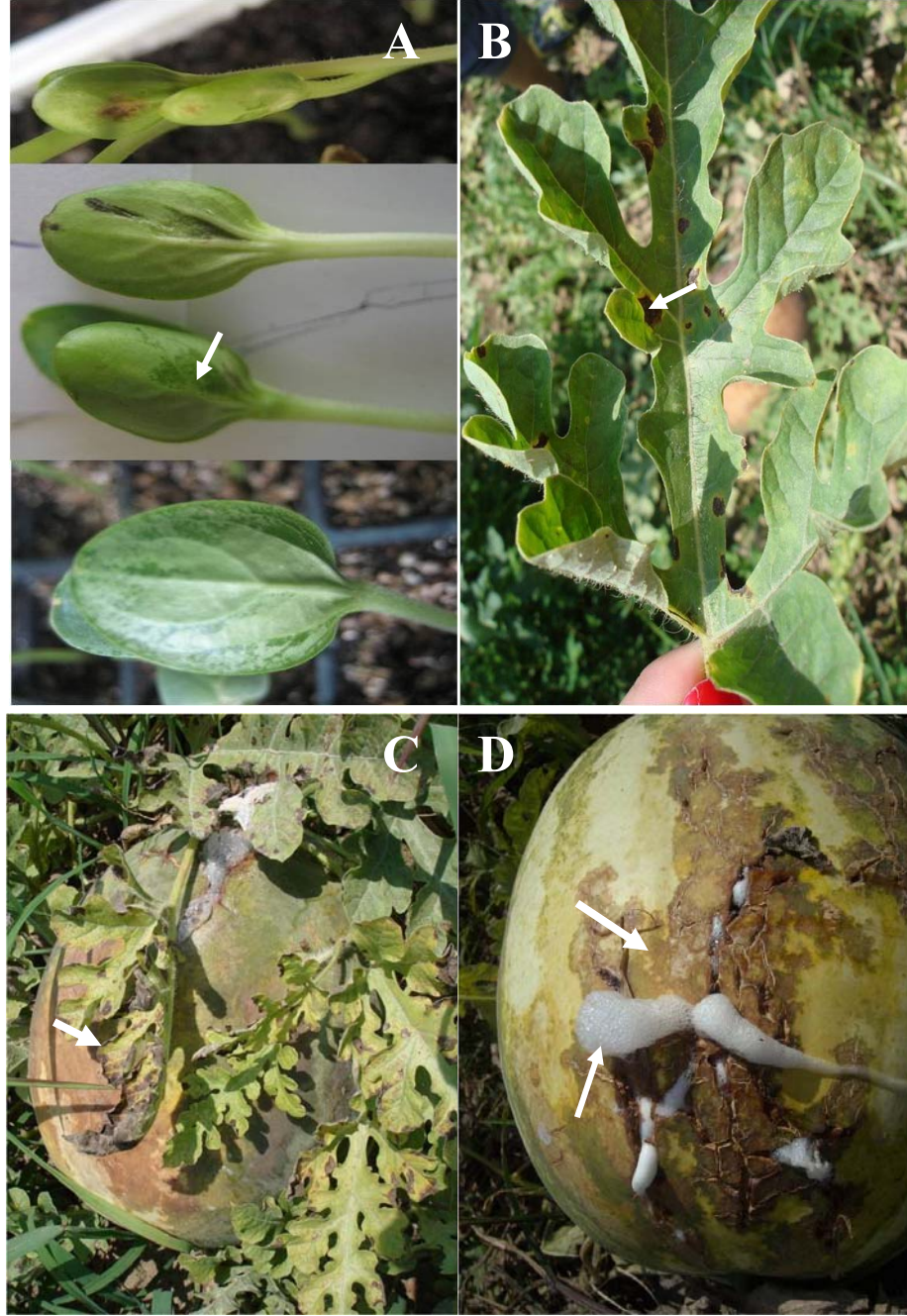
Hastalık etmeninin ilk kez 1989 yılında A.B.D'nin Florida eyaletindeki ticari karpuz üretim alanlarında önemli kayıplara neden olduktan sonra diğer eyaletlerde hızla yayılmıştır (Hopkins, 1989; Latin ve Rane, 1990; Somodi ve ark., 1991; Jacobs ve ark., 1992; Black ve ark., 1994; Hamm ve ark., 1997; Langston ve ark., 1999). Hastalık A.B.D nin yanı sıra kronolojik olarak Mariana Adaları (Wall ve ark., 1990), Japonya (Shirakawa ve ark., 2000), Avustralya (Martin ve Horlock, 2002), Brezilya (Silveira ve ark., 2003), Kanada (Walcott ve ark., 2004), Thailand (Walcott ve ark., 2004), İsrail (Burdman ve ark., 2005), Çin (Ren ve ark., 2006), Macaristan (Palkovics ve ark., 2008) ve Yunanistan (Holeva ve ark., 2010) gibi karpuz yetiştiriciliği yapılan pek çok ülkede ortaya çıktığı ve önemli ürün kayıplara neden olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. A.B.D'de yetiştiriciliği yapılan karpuzlarda enfeksiyon dönemi ve çevre koşullarına bağlı olarak hastalık etmenince sebep olunan yıllık ürün kaybının %5 ila %50 oranlarında değiştiği bildirilmiştir (Latin ve Hopkins, 1995; Lessl ve ark., 2007). Karpuz meyve leke hastalığı etmeni, *A. citrulli* kavun ve karpuzun önemli bir hastalığı olmakla birlikte, diğer konukçuları, *Cucurbita*, *Solanaceaus*, *Gramineous*, *Leguminous* ve *Caricaceous* cinsine ait bitki türlerinde bakteriyel meyve leke hastalığının yanı sıra, yaprak yanıklığı, fide yanıklığı, çiçek çürüklüğü gibi belirtilere de neden olur (Isakeit ve ark., 1997; Langston ve ark., 1999; Martin ve O'Brien, 1999; O'Brien ve Martin, 1999; Martin ve Horlock, 2002).

Hastalık etmeni ülkemizde ilk kez 1996 Edirne ilinin Enez ilçesinde ortaya çıkmış ve üretim alanı yakılarak hastalık etmeninin kontrol altına alındığı bildirilmiştir (Demir, 1996). Hastalık etmeninin Doğu Akdeniz Bölgesinde karpuz üretim alanlarında varlığı 2005 yılında yapılan sürveylerle belirlenmiştir (Mirik ve ark., 2006).

Fidelerde simptom oluşturmada latent halde bulunan etmen, araziye şaşırtıldıktan sonra hastalıklı fide oranına bağlı olarak, yoğunluğu tarladan tarlaya değişiklik gösterir. Uygun iklim koşullarında, birkaç hasta bitkiden tarladaki diğer bitkilerin tümüne hastalık bulaşabilir. Enfeksiyonun erken dönemde gerçekleşmesi durumunda %100'e varan ürün kaybına neden olabilir (Mirik ve Aysan, 2008).

Hastalık etmeni ile bulaşık tohumların çimlenmesi sonucu gelişen fidelerdeki ilk hastalık belirtileri (Şekil 1.1), kotiledon yapraklarının genellikle orta kısmında veya kenarları boyunca görülen su emmiş şeklinde gelişen lekelerdir (Ren ve ark., 2006). Kotiledon yapraklarındaki bu lekeler daha sonra genişleyerek, nekrotikleşir ve damar

boyunca uzar. Gerçek yapraklardaki lekeler küçük, koyu kahverenginde olup etrafı hale ile çevrilidir. Hasta fidelerde çökme veya ölümler genelde görülmemekle birlikte, uygun iklim koşullarında fidelerin yeşil aksamaları kuruyabilir veya enfeksiyondan kısa bir süre sonra ölebilir (Latin, 1996). Yaprak lezyonlarındaki bakteri meyveye geçer. Hastalığın en karakteristik belirtisi meyve yüzeyinde oluşan koyu zeytin yeşili renkteki iri yağ şeklindeki lekelerdir. Bu lekeler ilk önce küçük su emmiş alanlar olarak ortaya çıkar, lekelerin çapı 1cm'den küçük olup, 7-10 gün içinde meyve yüzeyinin tümünü hızla kaplar. İlk enfeksiyonun başladığı yerde lekenin kenar kısmında nekrotik kurumalar gözlenir. Lezyonlar ilerleyip büyüdükçe çatlaklar oluşur ve bu çatlakların bulunduğu dokularda amber sarısı veya kremi beyaz renkte bir bakteriyel akıntı gözlenir (Latin, 1996).



Şekil 1.1. Karpuz bitkilerinde sorun önemli bakteriyel hastalık etmenlerinden bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli* tarafından kotiledon (A) ve gerçek yapraklarda (B) oluşturduğu ıslaklık ve nekrotik lekeler (oklar). (C) ve (D) etmen tarafından meyvede oluşturulan tipik çatlamlar ve köpürme şeklinde hastalık belirtilerini (oklar) göstermektedir. (Resimler Prof.Dr. Yeşim AYSAN tarafından sağlanılmıştır)

Kültür bitkilerinin sağlıklı ve güzel görünüşlerinin korunmasının yanısıra artan dünya nüfusunun ihtiyacını karşılamak ve ürün miktarında artışı sağlamak için öncelikle ürün kayıplarına neden olan hastalık etmenleriyle, zararlılar ve yabancı otlar ile etkin olarak mücadele edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla kültürel, fiziksel, mekanik ve kimyasal mücadele yöntemleri geliştirilmiştir. Hastalık etmenleriyle mücadelede genellikle dayanıklı çeşit ekimi, temiz tohum kullanılması ve kültürel tedbirlerin alınması önerilmekle birlikte, hastalıklara karşı bazı durumlarda etkin beklenen sonuç alınamamaktadır. Çiftçiler tarafından hastalıkla mücadelede çoğunlukla pestisit uygulamasına gidilmekte olup, uygun iklim şartlarında patojen yoğun inokulum kaynağı oluşturup hızlı bir şekilde epidemi yapmaktadır. Bu durumda tüketicinin istemediği, fakat çiftçinin çaresiz kalmasına yol açan yoğun pestisit uygulaması yapılmaktadır.

Yoğun ve bilinçsizce yapılan pestisit uygulamaları kısa vadede çözüm olabilmekle birlikte, uzun vadede pek çok sorunu da beraberinde getirmektedir. Yoğun pestisit uygulaması bir yandan bitki üzerinde kalarak insan sağlığını tehdit etmekte, bir yandan da çevreye ve doğal dengeye etkide bulunarak kirliliğe sebep olmaktadır. Bu duruma ilaveten, sıkça ve yüksek dozlarda kimyasal ilaç uygulamaları sonucu patojenin atılan pestisitlere dayanıklı yeni patojen ırklarının ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Pappas, 1982). Dayanıklı ırkların gözlendiği alanlarda yapılan ilaçlı mücadeleden artık sonuç alınamamaktadır. Son yıllarda tüketicinin bilinçlenmesi ve tarım alanlarında kullanılan yoğun pestisit uygulamalarının çevreyi ve doğal dengeyi tehdit etmesi gelişmiş ülkelerde pestisit uygulamalarına sınır getirilmesine sebep olurken, bu durum hastalıkla mücadelede acil alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur.

Günümüzde kimyasal mücadele dışında hastalıklarla mücadelede kullanılan alternatif yollardan bazıları uzun süreli ürün rotasyonu ve hastalığa dayanıklı çeşitlerin ıslahıdır. Ürün rotasyonu ve toprak sterilizasyonları günümüz şartlarında yeterince ekonomik ve pratik uygulamalar olmaması nedeniyle pek etkili olamazken, hastalığa dayanıklı bitki çeşitlerinin ıslahı genelde uzun yıllar araştırma gerektiren konulardır.

Bitkilerde patojenler ile mücadelede kullanılan pestisit uygulamalarına alternatif yol olarak bitkilerde dayanıklılık mekanizmaları uyarılarak harekete geçirilebilir, antagonist veya bitki büyüme teşvik edici kök fungus veya bakteri türlerinin yer aldığı

biyolojik mücadele ajanları kullanılabilir (Weller, 1988; Kessman ve ark., 1994; Paulitz ve Belanger, 2001).

Kimyasallara alternatif mücadele metotlarından biri olan ve özellikle bitkilerden elde edilen doğal pestisitler günümüzde pek çok araştırmacı gruplarının ilgisini çekmiş olup, hastalığın ortaya çıktığı birçok konukçu-patojen ilişkilerindeki rolleri pek çok yönden araştırılmaya başlanmıştır. Bitkilerden elde edilen bu maddelerin doğal olmaları, kısa zamanda doğada dekompoze olarak çevre kirliliğine neden olmamaları, kalıntı süresinin uzun olmaması gibi olumlu özelliklerinden dolayı sentetik kimyasal maddelere karşı tercih edilmektedir. Bitkilerde sorun olan patojenlerle mücadele çalışmalarında kullanılan doğal kökenli bileşikler genellikle tıbbi bitki veya baharat niteliği taşıyan bitkilerden elde edilir. Bu bitkilerin bazılarının içermiş olduğu maddelerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu yapılan çeşitli tıbbi, gıda ve tarımsal araştırmalarla ortaya konulmuştur (Balandrin, 1985; Vaughn ve Spencer, 1994; Isman, 2000; Burt, 2004; Bakkali ve ark., 2008).

Ülkemizde de tıbbi bitkilerin doğal olarak yetiştiği, bunların değişik amaçlarla insan sağlığında kullanıldığı gibi bitkilerde sorun olan zararlı, hastalık etmenleri ve yabancı otlara karşıda kullanıldığı bildirilmiştir (Akgül ve Kıvanç, 1988; Yeğen ve ark., 1992; Türküsay ve Onoğur, 1998; Basım ve ark., 2000; Soylu ve ark., 2006; Kordalı ve ark., 2008; Soylu ve ark., 2009; Sertkaya ve ark., 2010).

Hatay bölgesinde yapılan sörveylerde bu bitkilerden kekik, mercanköşk, defne, biberiye, lavanta, oğul otu, adaçayı vb. bitkilerin büyük bir kısmının doğal ve yoğun olarak yetişmekte olduğu, yöre halkının bu bitkilerin büyük bir çoğunluğunu bazı hastalıkları tedavide kullandığı belirlenmiştir (Ayanoğlu ve ark., 2000).

Karabaş kekik (*Thymbra spicata* L. subsp. *spicata*), kaba kekik (*Thymus serpyllum*) mercanköşk (*Origanum majorana* L.) *Lamiaceae* familyasının en bilinen üyeleri olup yetiştiği bölge ve varyetesine bağlı olarak kimyasal bileşenlerinin değişiklik gösterdiği, uçucu yağının ana bileşenin carvacrol ve thymol olduğu bildirilmiştir (Kılıç, 2006; Orhan ve ark., 2011)

Lavanta bitkisi (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.) yine *O. majorana* gibi *Lamiaceae* familyasının üyesi olup halk arasında karabaş lavanta, keşiş otu, garyan gibi adlarla bilinir (Ayanoğlu ve ark., 2000). Bu bitkinin uçucu yağındaki önemli bileşikleri

β -pinene, linalool, camphor, α -terpineol, fenchon ve 1,8-cineol'dür (Cavanagh ve Wilkinson, 2002; Kırmızıbekmez ve ark., 2009).

Lamiaceae familyasının diğer üyelerinden oğul otu (*Melissa officinalis* L.), adaçayı (*Salvia officinalis* L.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), nane (*Mentha spicata* L.) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) tıbbi öneme sahip bitkiler olup, bu bitkilerin uçucu yağındaki önemli bileşiklerin citronellal, limonene, carvone, thujone, 1,8-cineole ve linalool olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Duman ve ark., 2010; Hua ve ark., 2011; Hussain ve ark., 2011).

Yapılan bu çalışma ile Hatay ili florasında yetişen Lamiaceae familyasına dahil olan karabaş kekik (*Thymbra spicata* L. subsp. *spicata*), kaba kekik (*Thymus serpyllum*) mercanköşk (*Origanum majorana* L.), lavanta (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*), oğul otu (*Melissa officinalis* L.), nane (*Mentha spicata* L.), adaçayı (*Salvia officinalis* L.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar ve bu yağların önemli ana bileşenlerinin karpuz bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*'e karşı kimyasal mücadeleye alternatif bir yöntem olarak yararlanabilme olanakları *in vitro* koşullarında ilk kez bu çalışma ile araştırılmıştır. Bu kapsamda bitki uçucu yağlarının antibakteriyel etkinliği öncelikle agar disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış elde edilen engelleme oranlarına göre gelişmeyi durduran en küçük konsantrasyon değerleri mikro seyreltme yöntemleri ile belirlenmiştir. Bitki uçucu yağların kimyasal bileşenleri ise gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi (GC/MS) yöntemiyle tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan uçucu yağların yanı sıra, bu yağlar içerisinde en yüksek oranlarda bulunan ana bileşenlerinden carvacrol, thymol, camphor, carvone ve linalool ile birlikte farklı bitki uçucu yağ ana bileşenlerinden olan anethole, menthol, eugenol ve cinnamaldehyde'in test edilen bakteriyel etmene karşı antibakteriyel etkinliği ilk kez bu çalışma ile araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bitki Uçucu Yağlarının *Acidovorax* spp.'ye Karşı Antibakteriyel Etkinlikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

Karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına neden olan *A. citrulli* kabakgillerde son yıllarda önemli epidemilere yol açmaktadır. Söz konusu patojenin ülkelerdeki vaka takdimleri yeni yapılmakta olup, bundan önceki yapılan çalışmalar genelde hastalık etmeninin epidemiyolojileri üzerinedir. Yapılan veri tabanlarındaki literatür taramalarında *A. citrulli*'ye karşı bitki uçucu yağlarının antibakteriyel etkinliği üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır. *Acidovorax* cinsine dahil farklı üç türde yapılan çalışmalarda ise uçucu yağların ve ekstraktlarının antibakteriyel etkinliği çalışılmıştır. Bu çalışmalardan,

Nguefack ve ark. (2005), *Cymbopogon citratus*, *Monodora myristica*, *Ocimum gratissimum*, *Thymus vulgaris* ve *Zingiber officinale* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların antibakteriyel etkinliğini beş önemli ve tohum kökenli bakteriyel fitopatojen (*Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, *Burkholderia glumae*, *Burkholderia plantarii*, *Xanthomonas oryzae* ve *Xanthomonas oryzae* pv. *orizicola*) hastalık etmenlerine karşı antibakteriyel etkinlikleri araştırılmıştır. Bu yağlar içerisinde *O. gratissimum* ve *T. vulgaris* uçucu yağlarının diğerlerine oranla daha etkili oldukları belirlenmiştir. Ayrıca *O. gratissimum* ve *T. vulgaris* antibakteriyel etkinliği *in vitro* koşullarda araştırıldığında da elde edilen sonuçlarda uçucu yağları tohum kökenli hastalık etmenlerinin taşınmasını önemli derecede engellediği görülmüştür.

Öztük ve Ercişli (2007)'nin yapmış olduğu çalışmalarında *Ziziphora clinopodioides* bitkisinin yapraklarından elde ettikleri uçucu yağ ve metanolik ekstraktlarını aralarında toprakta saprofitik olarak yaşayan *Acidovorax facilis*'in yanısıra *Bacillus xexus*, *Bacillus spp*, *Bacillus sphaericus*, *Brevibacillus brevis*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Enterobacter sakazakii*, *Erwinia carotovora carotovora*, *Moraxella catarrhalis* ve *Xanthomonas arboricola* gibi türlerin yer aldığı 52 farklı bakteri türüne karşı test ettikleri çalışmalarında uçucu yağların antibakteriyel etkinliğinin (engelleme zon çapı >22mm) metanolik ekstrakta (>11mm) oranla daha etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Cho ve ark (2007) *Myristica fragrans* bitki ekstraktından elde edilen erythro-austrobailignan-6 (EA6), meso dihydroguaiaretic acid (MDA) ve nectandrin-B (NB) isimli 3 farklı lignan bileşiklerini değişik konukçu bitkilerinde hastalık yapan fungal (*Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Magnaporthe grisea*) ve bakteriyel (*Agrobacterium tumefaciens*, *Acidovorax konjaci*, *Burkholderia glumae*, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Xanthomonas euvesicatoria*) etmenlerine karşı antifungal ve antibakteriyel özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında bu üç bileşiğin *in vitro* etkinliğin değişik oranlarda etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Test edilen bakteri türleri arasından *Acidovorax konjaci* ve *Burkholderia glumae* etmenlerinin gelişimi 3 bileşik tarafından engellenirken, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* gelişimi sadece MDA tarafından engellenmiştir. Test edilen 3 bileşikten hiç birisi *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Xanthomonas euvesicatoria* etmenlerinin çoğalmasını engellemede başarılı olamamıştır

2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Fitopatojen Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antibakteriyel Etkinlikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

Satish ve ark. (1999), 30 farklı bitkiden elde ettikleri sulu bitki ekstraktlarının farklı *Xanthomonas campestris* patovalarına karşı antibakteriyel etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında, 8 bitki ekstraktının önemli düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Özellikle *Prosopis juliflora*, *Oxalis corniculata* ve *Lawsonia inermis* isimli bitkilerden elde edilen ekstraktların yüksek düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirledikleri çalışmalarında patojenlerin farklı patovalarının ekstraktlara farklı düzeylerde duyarlılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Ekstraktlardan bazılarının sentetik antibiyotiklerden, bacterimycin ve streptocycline ile karşılaştırıldığında oldukça iyi bir düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Sonuçta bitki ekstraktlarının *X. campestris* tarafından sebep olunan hastalıkların mücadelesinde potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Basım ve ark. (2000), domates, patates, biber gibi sebzelerle meyve ağaçlarında hastalıklara sebep olan bakteriyel etmenlerden *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas*

syringae pv. *syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı karabaş kekiği (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*) bitkisinden elde ettikleri uçucu yağın antibakteriyel etkinliklerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre uçucu yağın buhar etkisinin değme etkisine oranla daha yüksek düzeyde antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Del Campo ve ark. (2000), gerek gıdalarda bozulmalarından olan (*Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*) gerekse fitopatojen (*Erwinia carotovora*) bakterilere karşı biberiye (*Rosmarinus officinalis*) bitkisinden elde ettikleri bitki ekstraktın antioksidant ve antibakteriyel etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, biberiye uçucu yağın antibakteriyel etkinliğinin Gram- negatif bakterilere oranla Gram-pozitif bakterilerde daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Karamanoli ve ark. (2000), yapmış oldukları çalışmalarında lavanta (*Lavandula angustifolia*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), adaçayı (*Salvia fruticosa*), oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*) bitkilerinden elde ettikleri uçucu yağları *in vitro* koşullarda fitopatojen bakterilere (*Erwinia carotovora*, *E. herbicola*, *Pseudomonas syringae*) karşı antibakteriyel özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında oregano ve adaçayı yapraklarından elde edilen uçucu yağların lavanta ve biberiye uçucu yağına oranla daha fazla antibakteriyel etkinliğe sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Thoppil ve ark. (2000), *Ocimum adscendens* bitki uçucu yağının aralarında fitopatojen hastalık etmeni *Xanthomonas campestris* etmeninde bulunduğu birçok insan (*Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) ve bitki (*Proteus vulgaris*, *Xanthomonas campestris*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae* ve *Colletotrichum musae*) patojeni olan bakteriyel ve fungal etmenlere karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Nagaraj ve ark. (2001), aralarında dut ağaçlarında sorun olan fitopatojen bakteriyel hastalık etmeni *Xanthomonas campestris* pv. *moricola*'nın da bulunduğu bakterilere karşı Hindistan'da yetiştirilen birçok tıbbi bitkiden elde edilen bitki uçucu yağlarını test etmişler, sonuçta uçucu yağlar içerisinde *Ocimum sanctum* bitkisinden elde edilen yağın en yüksek düzeyde antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu ve bu yağı sırasıyla limon yağı ve sarımsak ekstraktının izlediğini belirlemişlerdir.

Minija ve Thoppil (2002), insan patojeni (*Escherichia coli*, *B. megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*) ve bitki patojeni (*Xanthomonas campestris*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Rhizopus oryzae*, *Fusarium solani*, *Nectria haematococca*, *Colletotrichum musae*) bakteriyel ve fungal etmenlere karşı *Apiaceae* familyasına bağlı rezene (*Foeniculum vulgare*) ve maydanozdan (*Petroselinum crispum*) elde edilen bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerini ve antibakteriyel etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında, her iki bitki uçucu yağın test edilen bakteriyel ve fungal etmenlere karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini, rezene uçucu yağının maydanoz uçucu yağına oranla daha yüksek düzeyde antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Daferera ve ark. (2003), Lamiaceae familyasına dahil olan farklı kekik türleri (*Thymus capitatus*, *Origanum vulgare*, *Origanum dictamnus*, *Origanum majorana*), lavanta (*Lavandula angustifolia*), adaçayı (*Salvia fruticosa*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve yarpuz (*Mentha pulegium*) bitkilerinden elde edilen uçucu yağlarının, domateste sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinden *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* var. *coeruleum* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda kekik türlerinin uçucu yağlarının düşük dozlarının *B. cinerea*, *Fusarium* sp. ve *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'in çoğalmasını tamamen engellediğini, lavanta, biberiye, adaçayı ve yarpuz bitkilerinin uçucu yağlarının düşük engelleme aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir.

Laouer ve ark. (2003), *Ammoides pusilla* isimli tıbbi bitkiden elde ettikleri bitki uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonunu ve antimikrobiyal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, uçucu yağın yüksek oranda thymol (%44.5), γ -terpinene (%32.9) ve *p*-cymene (%13.5) içerdiğini, bitki uçucu yağının aralarında bitki patojeni bakteriyel etmenlerden *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ve *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*'unda bulunduğu birçok bakteriyel, fungal ve maya patojenlerine karşı karşı antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Pradhanang ve ark. (2003), farklı konsantrasyonlarda uçucu yağ ana bileşenlerinden olan thymol ve palmarosa'nın yanı sıra lemongrass uçucu yağı fumigant olarak kullandıkları çalışmalarında, uygulanan kimyasalların topraklarda domates solgunluk etmeni *Ralstonia solanacearum* populasyon çoğalmasının kontrol uygulamalarına göre

önemli düzeyde düşürüldüğünü fakat hastalığa neden olan patojenin tamamen durdurulamadığı bildirilmiştir.

Soylu ve ark. (2003), Doğu Akdeniz yöresinde bulunan Hatay ilinde doğal olarak yetişen tıbbi bitkilerden lavanta (*Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), origanum (*Origanum onites* L.), ve kekik (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*) yapraklarından elde edilen uçucu yağların antibakteriyel etkinliğini fasulye hale yanıklığı etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*'ya karşı in vitro koşullarında araştırmışlar, sonuçta kekik uçucu yağının tüm uçucu yağlar arasında bakteriyel etmene karşı en yüksek etkiye sahip uçucu yağ olduğunu, bu yağı sırası ile origanum, lavanta ve biberiye uçucu yağlarının takip ettiğini belirlemiştir.

Thakare ve ark. (2003), *Mentha*, *Ocimum*, *Lemongrass*, *Citronella*, *Turmeric*, *Palmarosa* spp. dahil altı farklı tıbbi bitkiden elde ettikleri uçucu yağlarının antibakteriyel ve antifungal etkinliğini fitopatogen bakteriyel (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*) ve fungal hastalık etmenlerine (*Rhizoctonia bataticola*, *Macrophomina phaseolina*) karşı araştırdıkları çalışmalarında uçucu yağlardan *Mentha* ve *Ocimum* bitki uçucu yağının gerek fungal gerekse bakteriyel hastalık etmenlerine karşı yüksek düzeyde antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Horvath ve ark. (2004), Lamiaceae familyasına dahil dört kekik türüne (*Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L., *Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb., ve *Thymus x citriodorus* "Archer's Gold") ait uçucu yağları, kimyasal bileşenlerini ve antibakteriyel etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında; kekik bitkisinin ana bileşenlerinin türlere bağlı olarak değiştiğini, *Thymus vulgaris* ve *Thymus serpyllum*'un ana bileşenlerinin thymol, *Thymus x citriodorus*'un geraniol, *Thymus x chriodorus*'un ise ana bileşeninin carvacrol olduğunu, tüm kekik türlerine ait uçucu yağların bakteriyel etmenlerden *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ve *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*'ya karşı yüksek düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Iacobellis ve ark. (2005), *Cuminum cyminum* L. ve *Carum carvi* L. bitkilerinin meyvelerinden elde etmiş oldukları bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerini ve bu yağların Gram-pozitif ve Gram-negatif bitki patojeni bakteriyel türlere karşı antibakteriyel etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında uçucu yağlarının ana bileşenlerinin γ -terpinene, β -pinene, carvone, limonene, germacrene-D olduğunu, test edilen uçucu yağların *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Rhodococcus*, *Erwinia*,

Xanthomonas, *Ralstonia*, ve *Agrobacterium* gibi bakteriyel etmenlere karşı antibakteriyel özellik taşıdığını, yağların kullanılan bakteri türler içinde en düşük antibakteriyel etkinliği *Pseudomonas* cinsine dahil bakteri türlerine karşı olduğunu bildirmişlerdir.

Eriş (2006), yürütmüş olduğu yüksek lisans tez çalışmasında, Hatay ili florasında yetişen ve farklı familyalara dahil olan origanum (*O. syriacum* L.var. *bevanni*), lavanta (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*) ve rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşenleri gaz kromatografi-kütle spektroskopisi (GC-MS) ile analiz edilmiş ve gerek yağların gerekse ana bileşenlerinin antibakteriyel etkinlikleri *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora*, *Xanthomonas axonopodis* subsp. *vesicatoria*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* gibi tohum kökenli domates bakteriyel hastalık etmenlerine karşı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre test edilen bakteriyel etmenler içinde uçucu yağlara karşı en duyarlı etmen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, en dayanıklı etmen ise *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olmuştur. Bitki uçucu yağlarının ana bileşenleri olarak belirlenen carvacrol, camphor ve trans-anethole gibi bileşenlerinin minimum engelleyen dozları (MIC) mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Ana bileşenler arasında carvacrol diğer ana bileşenlerden camphor ve trans-anethole'e göre en etkili bileşen olmuştur.

Kızıl ve Uyar (2006), *Thymbra*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymus* ve *Coridathymus* türlerine ait bitkilerden elde ettikleri uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerini ve antimikrobiyal özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında *Thymus*'un ana bileşeninin (%41,6) ile thymol olduğunu, *Origanum onites*'in (%40,7), *Satureja hortensis* (%20,6) ve *T. spicata* (%81) ise ana bileşenlerinin carvacrol olduğunu belirlemişlerdir. Denemelerde kullanılan uçucu yağlar fitopatojen bakteriyel etmenlerden *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı güçlü antibakteriyel etki gösterirken, *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*'a karşı zayıf antibakteriyel etki gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Tan ve ark. (2007), *Russowia sogdiana* (Bunge) B. Fedtsch bitkisinden damıtma yöntemiyle elde edilen uçucu yağın ana bileşenlerinin GC ve GC-MS ile yapılan analiz sonucunda limonene (%15), trans- alpha -bergamotene (%5.6), salvial-4 (14)-en-1-one (%3.8), carvone (%3.6), p-cymene (%3.6), trans-carveol (%3.2) olduğunu

belirlemişlerdir. Antimikrobiyal etkinlik yönünden *Russowia sogdiana* (Bunge) bitkisinden elde edilen uçucu yağ 7 bakteri türüne ve miselyal gelişim yönünden ise 3 fungus türüne uygulanmıştır. Gram-pozitif bakteriler (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) ve gram-negatif bakteriler (*E. coli*, *E. carotovora ssp. carotovora*, *Pseudomonas lachrymans*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Agrobacterium tumefaciens*)'e karşı minimum engelleme dozlarını 0.2-0.8mg/ml olarak belirlemişlerdir. Uçucu yağ, meyve patojenlerinden *Glomerella cingulata*, *Botryodiplodia theobromaea* ve *Venturia pirina*'ya karşı önemli ölçüde antifungal aktivite göstermiştir.

Soylu ve ark. (2009), rezene (*Foeniculum vulgare*) ve yakın akrabası dere otundan (*Anethum graveolens*) elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşenlerini araştırdıkları çalışmalarında aynı zamanda uçucu yağların farklı gıda ve tohum kökenli bitki patojen etmenlerine karşı antibakteriyel etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında uçucu yağların antibakteriyel etkinliklerinin değişen oranlarda olduğunu, bitki patojeni bakterilere karşı olan antibakteriyel etkinin gıda kökenli olanlara nazaran daha düşük düzeyde olduğunu, gram negatif patojenlerin gram pozitif bakterilere göre uçucu yağlardan daha düşük oranda etkilendiğini bildirmişlerdir.

2.3. *Acidovorax citrulli* ile Mücadelede Farklı Tohum Uygulamaları Üzerine Yapılan Çalışmalar

Tohum kökenli olan etmenle mücadelede kullanılan belli başlı mücadele yolları patojenden ari sertifikalı tohumluk ve fide kullanımı, tohum fermentasyonu, biyolojik mücadele ajanlarının kullanılması ve tohumlara yapılan kimyasal uygulamalardır. Bu bağlamda,

Hopkins ve ark. (2003), *A. avenae subsp. citrulli* etmenin tohumla taşınmasının engellenmesi üzerine farklı asit uygulamaların etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, Peroxyacetic asit'in düşük konsantrasyonlarda bile gerek bakteriyel etmen *A. avenae subsp. citrulli*, gerekse fungal etmenler *Fusarium oxysporum* ve *Didymella bryoniae*'nin tohumla taşınmasını etkili bir şekilde engellediklerini belirlemişlerdir. *A. avenae subsp. citrulli*, ve *Didymella bryoniae* ile bulaşık olan tohumlar 1600 µg/ml peroxyacetic asit konsantrasyonunda 30 dak. bekletildiğinde hastalık taşınmasını etkili bir şekilde bastırdığını, diğer asitlerden hydrochloric asit uygulamasının ise (10,000 µg/ml de 30

dak.) hastalık etmenini engellemiş olsa da tohum çimlenmesi ve gelişmesini olumsuz düzeyde etkilemiş olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar hastalık etmeninin eradike edilmesinde etkili olabilecek diğer bir uygulamanın ise bulaşık tohumları düşük nemli ortamda 40 °C ye ayarlanmış etüv veya fırınlarda 48 saat kurutmanın olduğunu önermişlerdir.

Wang ve ark. (2009), epifitik mayaların kavunlarda sorun olan *Acidovorax citrulli*'ye karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılma olanaklarını araştırdıkları çalışmalarında, izole edilen bazı epifitik maya izolatları ile bunlardan elde edilen kültür filtratlarının hastalık çıkışını oldukça etkili bir düzeyde engellediğini (yaklaşık %90 etkinlik), maya izolatlarının yanısıra streptomycin sulfate (%0.1, w/v) ve hydrochloric acid (2%, v/v) uygulamalarının bakteriyel etmeni ile bulaşık tohumlarda hastalık çıkışını etkili bir şekilde bastırdığını (%80-85 etkinlik) bildirmişlerdir.

Feng ve ark. (2009), doğal olarak bulaşık tarlalarda yetişen hastalıklı karpuz ve kavunlardan elde edilen tohumlar üzerindeki hastalık etmeni *A. avenae subsp. citrulli*'yi eradike etmek için yürüttükleri çalışmalarında tohumlara farklı kimyasal yöntemler kullanmışlardır. Kullanılan 8 farklı yöntem içinden sadece asidikleştirilmiş sularda 30 dak bekletilen tohumlarda hastalık etmeni etkin bir şekilde eradike edilirken tohumun çimlenmesi ve gelişmesi üzerinde herhangi bir olumsuz etki gözlenmemiştir. Uygulamalar arasından, Clorox (50°C de 20 dak.), Tsunami 100 (50°C de 30 dak.) ve asidik Bakır asetat (50°C de 20 dak) uygulamaları her ne kadar hastalık etmenini eradike etmiş olsada, tohum çimlenmesi ve çoğalmasını istatistiksel olarak önemli düzeyde engellemiştir. Diğer uygulamalarda ise başarılı sonuçlar alınamamıştır.

Medeiros ve ark (2009) bitki gelişimini teşvik eden yararlı bakteriyel mikroorganizmaları tohuma ve kavun yapraklarına uygulayarak bitkileri *Acidovorax citrulli*'ye karşı koruma potansiyellerini araştırdıkları çalışmalarında, *Bacillus* sp. RAB9 izolatının bulaşık tohuma uygulanmasının hastalık çıkışını %47 oranında azalttığını, yararlı bakteriyel izolatın tohum yüzeyinde epifitik olarak kolonize olurken, kök ve gövde içindede endofitik olarak yayıldığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar *Paenibacillus lentimorbus* MEN2 izolatı bakterinin ise yaprağa önce sprey olarak uygulandıktan sonra patojeni inoküle edilen bitkilerde hastalık indeksinin %81, şiddetinin %88, hastalık çıkışının ise %77 oranında azaltıldığını bildirmişlerdir.

Cabral ve ark. (2010), kavunlarda acibenzolar-S-methyl (ASM), mannano-oligosaccharides (MOS) ve citrus bioflavonoid (BFC) leri gerek *A. avenae* subsp. *citrulli*'ye karşı etkinliğini gerekse bu kimyasalların bitki büyüme ve gelişimi üzerine olan etkinliğini araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre ASM (50 mg a.i./L) ve BFC (3 ml/L) uygulamalarının hastalık çıkışını üzerine %60-%88 oranında engellediği, hastalık şiddetini ise %88-96 düzeyde düşürdüğünü bildirmişlerdir. Bu uygulamaların hastalık çıkışı ve şiddeti üzerine etkili olması yanında, ASM ve BFC bitki boyunda %24 azalmaya neden olurken bitki yaş ağırlığını %41, kuru ağırlığını ise %34 oranlarında azaltmışlardır.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Yapılan bu çalışma ile Hatay ili Merkez, Yayladağı, Samandağ ve Altınözü, ilçelerine bağlı köylerde doğal olarak yetişen ve yöre halkı tarafından bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan Lamiaceae familyasına dahil olan karabaş kekik (*Thymbra spicata* L. subsp. *spicata*), kaba kekik (*Thymus serpyllum*), mercanköşk (*Origanum majorana* L.), lavanta (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*), oğul otu (*Melissa officinalis* L.), nane (*Mentha spicata* L.) adaçayı (*Salvia officinalis* L.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) (Şekil 3.1) bulundukları doğal ortamlardan, yetiştirildikleri alanlardan değişik zamanlarda yapılan çıkışlarda toplanmıştır veya kısmen de olsa satıldıkları aktardan satın alınmıştır (Çizelge 3.1). Toplanan bitkilerden origanum ve lavanta bitkilerinin yaprak ve sürgünlerinden oluşan yeşil aksamaları, rezene bitkisinin ise tohumları toplanarak gölgede hava sirkülasyonunda kurutulmuştur.

Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan uçucu yağlarının elde edildiği bitkilerin bilimsel adı, yöresel adı, toplandığı yer ve toplanma tarihleri

Bilimsel adı	Yöresel adı	Toplandığı yer	Temin edildiği tarih
<i>Thymbra spicata</i> L. subsp. <i>spicata</i>	Karabaş kekik	Altınözü	Haziran-2009
<i>Thymus serpyllum</i> L.	Kaba kekik	Yayladağı	Mayıs-2009
<i>Origanum majorana</i> L.	Mercanköşk	Serinyol	Temmuz-2009
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Biberiye	Erzin	Haziran-2009
<i>Melissa officinalis</i> L.	Oğul otu	Aktar (merkez)	Temmuz-2009
<i>Mentha spicata</i> L.	Nane	Samandağ	Temmuz-2009
<i>Salvia officinalis</i> L.	Adaçayı	Serinyol	Temmuz-2009
<i>Lavandula stoechas</i> L. var. <i>Stoechas</i>	Karabaş lavanta, lavanta	Serinyol	Mayıs-2009
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Fesleğen	Samandağ	Temmuz-2009



Şekil 3.1. Çalışmalarda uçucu yağlarının elde edildiği bitkilerin bulundukları doğal ortamlar. (A), kekik (*T. spicata* subsp. *spicata*); (B), biberiye (*R. officinalis*); (C), lavanta (*L. stoechas* var. *stoechas*); (D), fesleğen (*O. basilicum*) bitkilerinin doğal olarak yetiştiği alanlarındaki görünüşleri.

3.1.2. Çalışmalarda Kullanılan Besi Yerleri ve İçerikleri

Çalışmada kullanılan tüm besiyerleri 121°C’de 15 dak. otoklav edilmiştir. Denemelerde hazır ticari olarak satılan King’s B Agar (KB), Luria Bertani Broth (LB), Nutrient Agar (NA) besiyerleri kullanılmış olup bu besiyerlerinin içerikleri Ek-1’de verilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bakteriye Etmenlerinin İzolasyonu ve Muhafazası

Çalışmalarda kullanılan *A. citrulli* bakteriyel etmenin Taşçı-1 isimli virulent izolatu Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi Prof.Dr. Yeşim AYSAN tarafından bölgede büyük epideminin yaşandığı 2009 yılında yoğun karpuz yetiştiriciliği yapılan Adana ilinin Karataş ilçesinde yetiştirilen ve tipik hastalık belirtisi gösteren karpuz meyvesinden izole edilmiş olup etmenin kesin tür teşhisleri gerek izolatu sağlayan araştırmacı tarafından klasik (biyokimyasal testler ve seçici besi ortamı P-278 üzerinde) ve moleküler yöntemlerle, gerekse Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma bölümünde bulunan Microbial Identification System (MIS) ile teyit edilmiştir (Şekil 3.2). Bakteri izolatlarının yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizleri Sasser (1990)'in belirttiği şekilde yapılmıştır.

Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan bakteriyel izolatu MIS ile teşhis sonuçları

RT	Respon	Ar/H	RF	ECL	Peak Name	Percent	Comment1	Comment2
0.7408	259006	0.005	----	6.633		----	< min rt	
0.7486	1.438E	0.018	----	6.687	SOLVENT PEAK	----	< min rt	
1.1383	1806	0.011	1.1	9.405	8:0 3OH	2.18	ECL deviates -0.006	
1.5089	2573	0.010	1.0	11.45	10:0 3OH	2.77	ECL deviates 0.005	
1.5231	903	0.009	----	11.51		----		
1.6317	2584	0.008	1.0	12.00	12:0	2.72	ECL deviates 0.000	Reference -0.001
2.1784	2047	0.009	0.9	13.99	14:0	2.02	ECL deviates 0.000	Reference -0.002
2.4833	1398	0.009	----	15.00	15:0	----	ECL deviates 0.002	
2.7471	43573	0.009	0.9	15.84	Sum In Feature 3	41.59	ECL deviates 0.000	16:1 w7c/16:1 w6c
2.7975	34256	0.009	0.9	16.00	16:0	32.64	ECL deviates 0.000	Reference -0.003
3.0864	538	0.010	0.9	16.91	17:0 cyclo	0.51	ECL deviates 0.000	
3.3628	1925	0.009	0.9	17.79	18:1 w9c	1.81	ECL deviates -0.001	
3.3787	13680	0.009	0.9	17.84	Sum In Feature 8	12.89	ECL deviates -0.004	18:1 w7c
3.4279	916	0.010	0.9	18.00	18:0	0.86	ECL deviates 0.000	Reference -0.003
3.8576	1440	0.034	----	19.40		----	> max ar/ht	
----	43573	----	----	----	Summed Feature 3	41.59	16:1 w7c/16:1 w6c	16:1 w6c/16:1 w7c
----	13680	----	----	----	Summed Feature 8	12.89	18:1 w7c	18:1 w6c

ECL Deviation: 0.003

Total Response: 106241

Percent Named: 97.79%

Reference ECL Shift: 0.002

Total Named: 103898

Total Amount: 98825

Number Reference Peaks: 4

Matches:

Library	Sim Index	Entry Name
RTSBA6 6.20	0.643	<i>Acidovorax-avenae-avenae</i> (<i>Pseudomonas rubrilineans</i>)
	0.592	<i>Acidovorax-avenae-cattlevae</i> (<i>Pseudomonas cattlevae</i>)
	0.560	<i>Pseudomonas-fluorescens-biotype C1</i>
	0.553	<i>Delftia-acidovorans</i> (<i>Comamonas, Pseudomonas acidovorans</i>)
	0.452	<i>Acidovorax-avenae-citrulli</i> (<i>Ps. pseudoalcaligenes citrulli</i>)
	0.423	<i>Pseudomonas-fluorescens-biotype C/P. mandelii</i>
	0.405	<i>Acidovorax-facilis</i> (48h, <i>Pseudomonas facilis</i>)

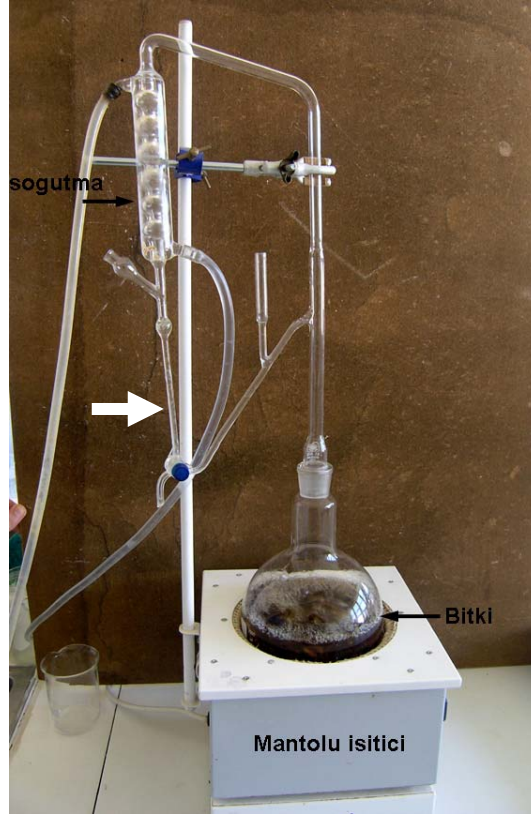
Denemede kullanılan izolat Luria Broth (LB), Nutrient Agar (NA) veya King's B (KB) besi ortamında 25°C'de rutin bir şekilde geliştirilmiştir. Gerek agar disk difüzyon gerekse mikro seyreltme yöntemlerinde kullanılan bakteri kültürleri ise sıvı besi ortamında (LB) orbital çalkalamalı inkübatörlerde 200 rpm'de 24 saat boyunca geliştirilmiştir. Bakteri süspansiyonların konsantrasyonları spektrofotometre yardımıyla (Perkin Emler, Lambda-25, USA) 620 nm dalga boyunda ölçülerek belirlenmiş ve gerekli sulandırmalar yapılarak çalışmalarda kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan bakteri izolatının patojeniteleri sağlıklı 2 aylık karpuz bitkilerinin (Crimson Sweet) üzerinde yapılmıştır. Hastalık etmenleri 1 günlük Luria Broth (LB) (Miller, 1972) sıvı besi ortamında geliştirildikten sonra, spektrofotometre ile konsantrasyonları 10^8 hücre/ml ayarlanmıştır. Bakteri süspansiyonu karpuz fidesinin kotiledon yapraklarının çıktığı noktadan ana gövdeye kürdanla, kotiledon yapraklarına ise şırınga ile inokulasyon şeklinde bulaştırılmıştır.

İnokulasyonlardan sonra tipik hastalık belirtisi gösteren bitkilerden tekrar patojen izolasyonları yapılarak orijinal izolata benzer morfolojik karakterlerde izolat elde edilmişlerdir. Rutin kullanımlar için geliştirilen kültürler 5 °C'de petri kaplarında saklanmıştır. Uzun süreli saklamalar için bakteri kültürü gliserol içerisinde (son konsantrasyonu %20 olacak şekilde) -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Bitki Uçucu Yağların Elde Edilmesi

Çalışmada kullanılan bitkilerin toplanması için Hatay ilinin değişik bölgelerine Nisan-Ağustos 2009 tarihlerinde periyodik olarak çıkışlar yapılmış ve bitkilerinin yeşil aksamaları (yaprakları) toplanmıştır. Toplanan bitkilerin yaprak ve sürgünlerinden oluşan yeşil aksamaları gölgede hava sirkülasyonunda kurutulmuştur. Bitkilerin uçucu yağları Clevenger tipi (İldam, Ankara, Türkiye) yağ çıkartma aletinde (Şekil 3.3) önceden bildirildiği şekilde buhar distilasyonu ile elde edilmiştir. Ekstraksiyon sonucu elde edilen uçucu yağlar denemelerde kullanılıncaya kadar +4 °C'de içerisinde anhydrous sodium sulphate bulunan koyu renkli cam şişelerde korunmuştur.



Şekil 3.3. Uçucu yağların çıkartılmasında kullanılan Clevenger tipi (İldam, Ankara, Türkiye) yağ çıkartma aleti ve mantolu ısıtıcısının genel görünümü. Ok ile gösterilen yer bitki uçucu yağının toplandığı kısımdır. Alttaki musluk açılarak yağlar tüplere alınmıştır

3.2.3 Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenlerin Belirlenmesi

Uçucu yağlarda bulunan bileşikler ve miktarlarının tayini gaz kromatografi (GS) (Thermo Scientific Trace Ultra) cihazı ve bu cihaza entegre olmuş kütle spektroskopi (Thermo Scientific ISQ) ile önceden bildirildiği şekilde yapılmıştır (Daferera ve ark., 2000). GS-MS cihazı üzerinde %5-Phenyl Methyl Siloxane (TR-5 MS) capillary kolon (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m film kalınlığında) bulunmaktadır. Denemelerde 1.0 ml/dak. akış hızına sahip helyum gazı taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 50 °C de 2 dak. tutulduktan sonra 3 °C/dak artışla 210 °C'ye ve en son bu sıcaklıkta 5 dak. bekletilecek şekilde programlanmıştır. İyonizasyon voltajı 70 eV ve iç sıcaklık 250 °C olarak ayarlanmıştır. Yağların bileşiminde bulunan bileşikler % olarak ve kolonda alıkonma zamanları (*Retention time*, RT) MS üzerindeki Wiley 275.L kütüphanesi

yardımıyla belirlenmiştir (McLafferty, 1994; Adams, 1995). Alınkonma indis değerleri (*Retention index*, RI) *n*-alkan serisi (C₈-C₂₀) karışımının aynı sıcaklık programında gösterdiği MS değerleri ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır

3.2.4 Bitki Uçucu Yağ ve Önemli Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi

Uçucu yağlar ve ana bileşenlerinin *in vitro* koşullarda test edilen hastalık etmenleri üzerine olan antibakteriyel potansiyelleri öncelikle agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Agar disk difüzyon yöntemi birden fazla uçucu yağlarla yapılan çalışmalarda gerek hızlı tarama yapılması açısından gerekse müteakibinde yapılacak ve minimum patojenin çoğalmasını sağlayan dozlar hakkında ön bilgi vermesi nedeni ile bu tip araştırmalarda yaygın bir şekilde kullanılan bir yöntemdir. Gerek uçucu yağ, gerekse ana bileşenlerin antibakteriyel etkinliği ve minimum patojen çoğalmasını engelleyen konsantrasyonlarının (**Minimum Inhibition Concentrations, MIC**) belirlenmesinde ise mikro seyreltme yöntemi kullanılmıştır (Janssen ve ark., 1987)

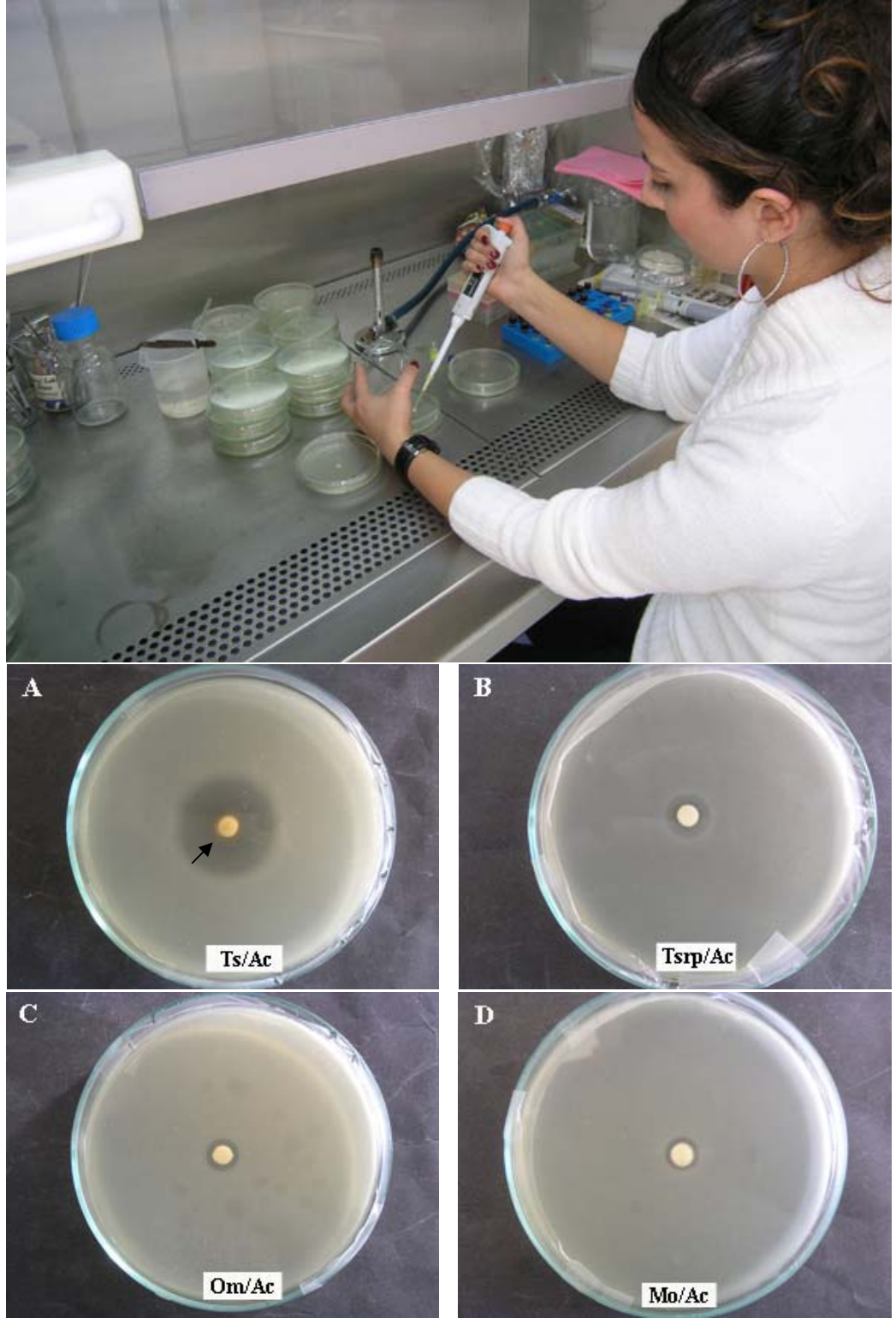
Tüm çalışmalarda orbital inkübatörlü çalkalayıcı üzerinde sıvı LB kültür içerisinde 25 °C de geliştirilen 24 saatlik bakteri kültürleri kullanılmıştır. Sıvı kültürdeki bakteri hücreleri soğutmalı santrifüj ile çöktürülerek pelet haline getirilmiştir. Üst sıvı besi ortamı (supernatant) atıldıktan sonra pelet steril 10 mM MgCl solusyonu ile sulandırılıp, spektrofotometre yardımı ile son konsantrasyonu 10⁸ hücre/ml (agar disk difüzyon çalışmalarında) veya 5x10⁵ hücre/ml (mikro seyreltme yöntemi ile yapılan çalışmalarda) olacak şekilde süspansiyon haline getirilmiştir.

3.2.4.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Agar disk difüzyon yöntemi test edilen uçucu yağın hızlı bir şekilde etkinliğinin belirlendiği bir yöntem olup (Hammer ve ark., 1999), müteakibinde ortaya çıkan engellenme bölgelerin çapına göre yağın etkinliği belirlenmiş, buna bağlı olarak minimum engellemeyi yapacak yağ konsantrasyonları hakkında ön fikir elde edilmiştir. Bu yöntemde, 24 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen bakteri süspansiyonundan 0.1 ml bakteri kültürü alınmış, 9 cm çapında 20 ml King B besi ortamı içeren petri

yüzeylerine yayılarak besi ortamı yüzeyinde kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra bu petrilerin tam ortasına 6 mm çapında steril filtre kağıtları (disk) yerleştirilmiş olup, bu filtre kağıdına 10 µl bitki uçucu yağı otomatik ayarlı pipet yardımıyla damlatılmıştır (Şekil 3.4). Damlatılan yağın etrafa taşmaması için diskler 4 kat halinde kullanılmıştır. Kontrol olarak steril su ve 2 farklı antibiyotik (tetracycline ve rifampicin 100 µg/ml) kullanılmıştır.

Her petriye 1 bitki uçucu yağı konmuş ve uygulama (her patojen ve yağ için) 5 farklı petride tekrar edilmiştir. Petriler daha sonra parafilm ile kaplanarak 26 °C’ de 2 gün inkübasyona bırakılmış, günlük ölçümler alınmıştır. Uçucu yağların etkinliği petrilerde ortaya çıkan inhibisyon (engelleme) bölgelerinin ölçülmesiyle yapılmıştır. Değerlendirmeler engelleme alanının genişliğinin enine ve boyuna ölçülmesiyle yapılmıştır. Deneme farklı zamanlarda kullanılacak materyaller ile yeniden hazırlanmak suretiyle tekrar edilmiştir.



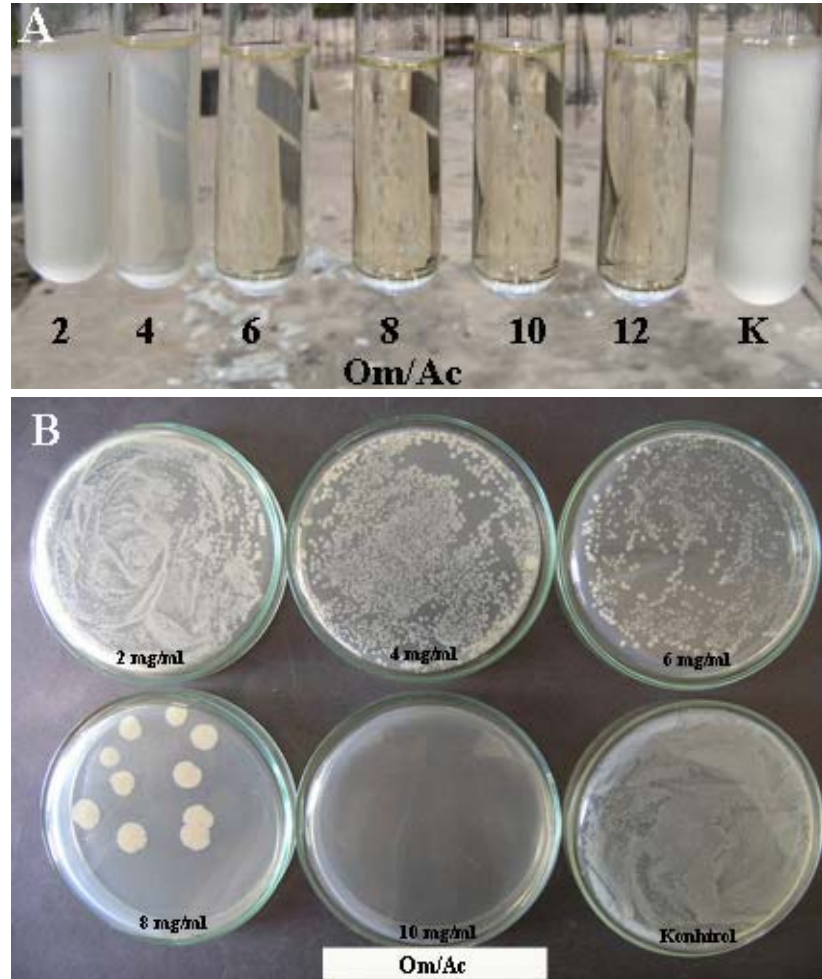
Şekil 3.4. Agar disk difüzyon tekniği ile uçucu yağların *A.citrulli*'nin gelişimi üzerine antibakteriyel etkinliğinin *in vitro* koşullarda belirlenmesi. (A), (B), (C) ve (D) petrilerinde *T. spicata* (Ts/Ac), *T. serpyllum* (Tsrp/Ac), *O. majorana* (Om/Ac) ve *M. officinalis* (Mo/Ac) uçucu yağlarının *A.citrulli*'nin engellediği petrilerde diskin etrafında oluşturduğu engelleme alanlarını (ok) gösterir.

3.2.4.2. Mikro Seyreltme Yöntemi

Test edilen bitki uçucu yağlar ile ana bileşenlerinin minimum engelleme konsantrasyonları mikro seyreltme yöntemi ile 10 ml kapasiteli steril cam tüpler içerisinde belirlenmiştir (Şekil 3.5A). Denemelerde kullanılan farklı uçucu yağ konsantrasyonları, içerisinde 4,5 ml steril LB besi ortamı bulunan cam tüplere konulduktan sonra üzerine 500 µl daha önceden tarif edildiği şekilde hazırlanan (son konsantrasyonu 5×10^5 hücre/ml olacak şekilde) 24 saatlik bakteri süspansiyonu ilave edilmiştir. Sonuçta cam tüplerde *T. spicata*, *T. serpyllum*, *O. majorana*, *M. spicata* ve *M. officinalis* türlerinin uçucu yağların 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 14.0 ve 16.0 mg/ml; *R. officinalis*, *O. basilicum*, *S. officinalis*, ve *L. stoechas* türlerinin uçucu yağların 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 35.0 ve 40.0 mg/ml olacak şekilde konsantrasyonlar elde edilmiştir. Uçucu yağın sıvı besi ortamında homojen bir halde dağılması için LB besi ortamı içine yayıcı-çözücü madde olarak %1 oranında dimethyl sulfoxide (DMSO) ilave edilmiştir. Aynı oranda DMSO kontrol olarak kullanılan ve içerisinde sadece bakteri kültürü bulunan tüplere de ilave edilmiştir. Denemede kullanılan uçucu yağların ana bileşenleri olan thymol (2.5, 5.0, 7.5 mg/ml), carvacrol (2.5, 5.0, 7.5 mg/ml) ve linalool'un (5.0, 10.0, 20.0 mg/ml) yanı sıra farklı tıbbi bitkilerde bildirilen ve ticari olarak elde edilen ana bileşenlerden camphor (7.5, 15.0, 30.0 mg/ml), menthol (5.0, 10.0, 15.0 mg/ml), anethole (15.0, 30.0, 60.0 mg/ml), carvone (5.0, 10.0, 15.0 mg/ml), eugenol (7.5, 15.0, 30.0 mg/ml) ve cinnamaldehyde (5.0, 10.0, 15.0 mg/ml)'in farklı konsantrasyonlarını içeren tüplerde benzer şekilde bakteri süspansiyonu ilave edildikten sonra parafilm ile kaplanıp, inkübatörlü orbital çalkalayıcıda 26 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

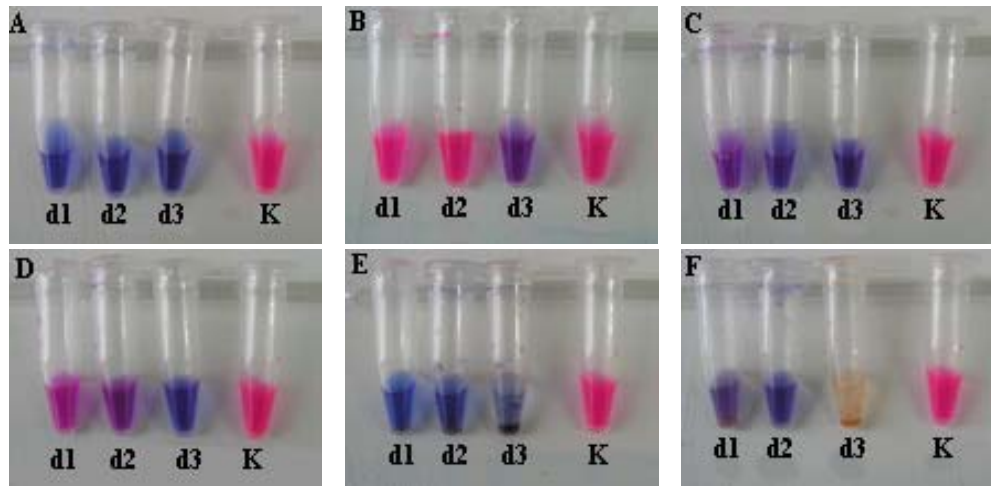
Bakteriyel etmenin çoğalmasını tamamen engelleyen en düşük konsantrasyon değeri (MIC, minimum inhibisyon konsantrasyonu) 2 farklı şekilde ortaya konmuştur;

3.2.4.2.1. Klasik petride sayma yöntemi: Farklı konsantrasyonlarda uçucu yağ ve ana bileşenleri ile muamele edilen bakteri süspansiyonlarının 48 saat inkübasyonundan sonra, her tüpten 0.2 ml örnek alınarak besiyortamı yüzeyine yayılmıştır (Şekil 3.4) Petriler 25 °C’de 48 saat tekrar inkübasyona bırakıldıktan sonra yüzeyde gelişen bakteri kolonileri sayılarak uçucu yağlarının etkinliği ortaya konulmuştur (Şekil 3.5). Herhangi bir bakteri koloni gelişmesinin görülmediği petriler o yağ veya ana bileşen için MIC değeri olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.5. Mikro sulandırma tekniği ile uçucu yağların antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi. (A), Farklı konsantrasyonlarda *Origanum majorana* uçucu yağı içeren besiyerlerinde *Acidovorax citrulli* çoğalmasını engellediği cam tüplerdeki görünümü. (B) Bu tüplerden alınan örneklerden 48 saat sonra gelişen bakteri kolonilerinin petrilerdeki görünümü.

3.2.4.2.2. Resazurin mikrotitrasyon assay testi (REMA): Bu kapsamda resazurin sodyum tuzu (Sigma, R-2127) 0.1 mg/ml (w/v) oranında steril distile su içinde hazırlanmış ve mavi-mor renkli bir stok solusyon elde edilmiştir. Elde edilen solusyon 22 µm por çaplı steril membran filtrelerle filtrasyondan geçirilerek steril cam tüpte +4 °C’de saklanmıştır. Klasik yöntemle belirlemede olduğu gibi farklı konsantrasyonlarda uçucu yağ ve ana bileşenleri ile muamele edilen bakteri süspansiyonları 48 saat inkübe edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarla muamele edilmiş her tüpten 180 µl bakteri süspansiyonu alınarak steril eppendorf tüplerine konulmuş ve bu süspansiyonun üzerine 200 µl resazurin stok solüsyonundan ilave edildikten sonra (bu aşamada ilave edilen tüm tüpler mavi-mor renge dönüşmüştür) 6 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.6). İnkübatörden çıkartılan tüpler içerisinde başlangıçta mavi-mor renk olan süspansiyonun pembe renge dönmesi o tüplerde bakteriyel gelişimin olduğunu, mavi-mor renkte kalan süspansiyon ise herhangi bir bakteriyel gelişimin olmadığını göstermiştir (Palomino ve ark. 2002). Söz konusu uçucu yağın veya ana bileşenin MIC değerinin mavi-mor rengin görüldüğü ilk tüplerdeki konsantrasyonun olduğu kabul edilmiştir. Mavi-mor rengin görüldüğü ilk tüplerden alınan örnekler klasik mikro seyreltme testi ile de canlılığın olup olmadığı açısından desteklenmiştir.



Şekil 3.6. Bitki uçucu yağların ana bileşenlerinden carvacrol (A), thymol (B), linalool (C), carvone (D), eugenol (E) ve cinnamaldehyde (F)’nin *A.citrulli* etmenine karşı 3 farklı konsantrasyonda (d1, d2 ve d3) göstermiş olduğu antibakteriyel etkinliğinin Resazurin mikrotitrasyon assay testi (REMA) ile belirlenmesi. Pembe ve eflatun renkler bakteriyel çoğalmanın (canlı) varlığını gösterirken, mavi-mor renk bakteriyel çoğalmanın olmadığını (ölü) göstermektedir. K, kontrol

3.2.5. %50 Etkili Konsantrasyon (EC₅₀) Değerlerinin Hesaplanması

Uçucu yağların bakteri çoğalmasını %50 düzeyde engelleyen etkili konsantrasyonları (EC₅₀) her bir yağ için farklı dozlarda elde edilen koloni sayılarının logaritmik değerleri kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir.

3.2.6. Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler

Tüm *in vitro* denemelerinde her petri 1 tekerrür ve her doz da 3 tekerrür olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup, deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Elde edilen ölçüm değerleri (agar disk difüzyon testinde elde edilen engelleme bölgeleri [mm] ve mikro sulandırma yönteminde elde edilen bakteri koloni sayılarının logaritmik değerleri) % oranlarına çevrilmeden SPSS istatistik programı (SPSS Inc., versiyon 11.5.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve Tukey Test ($P \leq 0.05$) ile konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bitki Uçucu Yağların Genel Özellikleri

Çalışmalarda elde edilen bitki uçucu yağlar Clevenger tipi alet yardımıyla buhar distilasyon yöntemi ile çıkartılmış (Şekil 3.2) ve denemelerde kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan bitkilerin yağ verimleri Çizelge 4.1 de verilmiştir. Bitkiler içinde en yüksek verim nane (*Mentha spicata*) yapraklarından elde edilmiş olup, bunu lavanta ve mercanköşk bitkileri takip etmiştir. En düşük uçucu yağ verimi %0.6 ile oğul otundan (*Melissa officinalis*) elde edilmiştir

Çizelge 4.1. Çalışmalarda kullanılan bitkilerden elde edilen uçucu yağlarının verimleri

Bitki	Uçucu yağın % verimi ^a
<i>Melissa officinalis</i> L.	0.6a
<i>Rosemarinus officinalis</i> L	0.9a
<i>Thymus serpyllum</i> L.	1.6b
<i>Ocimum basilicum</i> L	1.7b
<i>Thymbra spicata</i> L. subsp. <i>spicata</i>	2.1bc
<i>Origanum majorana</i> L.	2.4cd
<i>Salvia officinalis</i> L.	2.9d
<i>Lavandula stoechas</i> L. var. <i>stoechas</i>	3.7e
<i>Mentha spicata</i> L.	5.5f

^a Kurutulmuş bitki materyalinden elde edilen toplam miktar (w/v). Yağ verimi her birinde 100 gr kuru bitki materyalinin kullanıldığı 3 farklı ekstraksiyon sonucu elde edilen miktarın ortalamasıdır. Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı harfler yağ verimleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey Test, $P \leq 0.05$)

4.2. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenleri

Bitki uçucu yağların içerisinde tespit edilen kimyasal bileşenler ve % miktarları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında bitki uçucu yağlarının türe özel kimyasal bileşenlere değişen oranlarda sahip olduğu görülmektedir. GC-MS analizleri sonucunda *T.spicata* ve *L. stoechas* uçucu yağlarında 25; *S. officinalis* uçucu yağında 32; *M. officinalis* uçucu yağında 33; *O. majorana* ve *O. basilicum* uçucu yağlarında 37 *M. spicata* uçucu yağında ise 39 farklı ana bileşen gaz kromatografi cihazının kütle spektroskopisi kütüphanesindeki bilgilere göre belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Elde edilen sonuçlara göre bitkilerin kimyasal yapısında en fazla bulunan 3 bileşenlere bakıldığında; *T. spicata* uçucu yağının ana bileşeni **carvacrol** (%66.86) olup, bunu izleyen diğer iki en önemli bileşen **cymol** (%12.18) ve **gamma-terpinene** (%10.73) bileşenleridir. Diğer bitkilerden *T. serpyllum* için **thymol** (%41.03), **carvacrol** (%33.59) ve **gamma-terpinene** (%12.08); *O. majorana* için **4-terpineol** (%31.67), **gamma-terpinene** (%14.74) ve **alpha-terpinene** (%9.18); *M. spicata* için **carvone** (%55.58), **limonene** (%10.22) ve **dihydrocarveol** (%6.52); *M. officinalis* için **z-citral** (%23.58), **citronella** (%18.48) ve **caryophyllene oxide** (%7.77); *R. officinalis* için **1,8-cineole** (%18.47), **camphor** (%17.55) ve **alpha-pinene** (%16.38); *O. basilicum* için **linalool** (%30.23), **cinnamic acid methyl ester** (%23.85) ve **1,8-cineole** (%15.21); *S. officinalis* için **camphor** (%24.59), **thujone** (%21.14) ve **1,8-cineole** (%19.38); *L. stoechas* için **alpha-fenchone** (%51.07), **camphor** (%30.24) ve **1,8-cineole** (%9.82) yağ bileşenlerinde yer alan ilk 3 önemli bileşenler olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal kompozisyonu

Bitki Uçucu Yağlarında Bulunan Bileşenler (%)										
RI	Bileşenin İsmi	<i>T.spicata</i>	<i>T.serpyllum</i>	<i>O.majorana</i>	<i>M.spicata</i>	<i>M.officinalis</i>	<i>R.officinalis</i>	<i>O.basilicum</i>	<i>S.officinalis</i>	<i>L.stoechas</i>
947	cis-salvene		0.25						0.23	
961	trans-salvene								0.04	
1013	tricyclene						0.21		0.12	
1029	alpha-pinene	0.56	0.46	0.77	0.97	0.12	16.38		4.15	0.05
1033	alpha-phellandrene	0.64	1.45	1.38	0.07			0.8	0.15	
1073	camphene	0.06		0.03			3.97	0.12	4.63	0.13
1112	beta-pinene	0.1	0.09	0.39	1.05		0.71	1.4	2.08	0.02
1127	sabinene			7.15	0.49			0.63		
1131	thujadien						0.85			
1155	delta-3-carene	0.05					0.82			
1170	beta-myrcene	1.04	1.36	1.74	0.51		1.94	0.71	1.46	
1184	alpha-terpinene	1.48	1.94	9.18	0.37		0.45	0.07	0.29	
1202	dl-limonene	0.17	0.18	1.57	10.22	0.46	3.91	0.5	2.12	0.12
1209	1.8-cineole			0.2	6.0	0.23	18.47	15.21	19.38	9.82
1212	beta-phellandrene	0.12		1.64						
1226	tetradecanol					0.14				
1243	trans-β-Ocimene			0.03	0.22		0.03			
1252	gama-terpinene	10.73	12.08	14.74	0.75		0.6	0.15	0.5	
1259	ocimene			0.05				0.51		
1261	3-octanone						0.25			
1263	octan-3-one									
1276	cymol	12.18	5.25	3.49	0.87	0.25	1.78	0.15	1.17	0.22
1277	o-cymene									
1286	alpha-terpinolene	0.05		2.95	0.19		0.52	0.12	0.17	
1344	methyl heptenone					1.09				
1356	rose oxide					0.26				

Çizelge 4.2. Çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal kompozisyonu (devam)

Bitki Uçucu Yağlarında Bulunan Bileşenler (%)										
RI	Bileşenin İsmi	<i>T.spicata</i>	<i>T.serpyllum</i>	<i>O.majorana</i>	<i>M.spicata</i>	<i>M.officinalis</i>	<i>R.officinalis</i>	<i>O.basilicum</i>	<i>S.officinalis</i>	<i>L.stoechas</i>
1359	melonal					0.12				
1369	trans-rose oxide					0.1				
1395	alpha fenchone				0.74		0.03			51.07
1408	rosefuran									
1421	thujone								21.14	
1441	alpha-thujone						0.47		6.49	
1442	linalool oxide									0.75
1455	octen-3-ol	0.11	0.19			0.65	0.35		0.1	
1465	trans-sabinene hydrate			2.16	0.3			0.07		
1469	fenchyl acetate									0.33
1471	trans-linalool oxide									0.52
1483	citronella					18.48				
1502	chrysanthenone						0.62			
1506	trans-chrysanthemal					0.42				
1509	camphor					0.3	17.55	0.71	24.59	30.24
1512	bourbonene				1.15	0.23				
1514	beta-bourbonene									
1527	cis sabinene hydrate acetate			0.3						
1540	pinocamphone						1.63			
1547	cis-sabinene hydrate	0.03		6.33						
1552	l-linalool	0.03		1.86	0.22	0.58	4.16	30.23	0.21	0.13
1561	4-thujanol			2.6	0.08	0.52				
1563	d-verbenone						0.22			0.1

Çizelge 4.2. Çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal kompozisyonu (devam)

RI	Bileşenin İsmi	Bitki Uçucu Yağlarında Bulunan Bileşenler (%)								
		<i>T.spicata</i>	<i>T.serpyllum</i>	<i>O.majorana</i>	<i>M.spicata</i>	<i>M.officinalis</i>	<i>R.officinalis</i>	<i>O.basilicum</i>	<i>S.officinalis</i>	<i>L.stoechas</i>
1568	isopulegol				0.08	3.03				
1577	bornyl acetate					0.16	1.26	0.51	1.46	1.09
1582	bergamotene							1.13		0.69
1585	alpha-gujene							0.62		
1589	trans-caryophyllene	1.28	1.31	1.03	1.36	6.03	0.49	0.24	1.47	
1599	4-terpineol	0.53	0.23	31.67	2.33		1.07	0.29	0.52	0.34
1603	cis-dihydrocarvone				1.17					
1606	rosefuran epoxide									
1613	4-terpinenyl acetate			0.61						
1622	Myrtenal									0.19
1626	terpenene-1-ol			1.01						
1637	aromadendrene									
1646	benzenemethanol									0.24
1651	trans-pinocarveol			0.05			0.06		0.06	0.25
1661	alpha-caryophyllene			0.04	0.34	0.33	0.13	0.4	1.17	0.13
1664	isolekene				0.17			0.15		
1669	beta-farnesene				0.87					
1670	4-Allyl Anisole						0.19	9.51		0.21
1675	verbenol						0.3			0.44
1676	cis-piperitol			0.36						
1681	Z-citral					23.58				
1684	myrtenyl acetate									1.3
1693	α -Terpinyl acetate									0.2
1694	isoborneol	0.21		4.16	0.7	1.06	16.18	2.12	2.25	1.23
1700	germacrene-D		0.15		0.97	0.16		1.47	0.13	

Çizelge 4.2. Çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal kompozisyonu (devam)

		Bitki Uçucu Yağlarında Bulunan Bileşenler (%)								
RI	Bileşenin İsmi	<i>T.spicata</i>	<i>T.serpyllum</i>	<i>O.majorana</i>	<i>M.spicata</i>	<i>M.officinalis</i>	<i>R.officinalis</i>	<i>O.basilicum</i>	<i>S.officinalis</i>	<i>L.stoechas</i>
1707	alpha gualene							0.56		
1714	myrtanol					0.15				
1719	alpha-muurolene									
1723	Neodihydrocarveol		0.13		0.65					
1725	bicyclogermacrene			0.44			0.1	0.55		
1728	d-carvone	0.02		0.07	55.58		0.21			
1732	geranial					30.4				
1743	piperitol			0.57						
1748	dihydrocarveol				6.52					
1752	delta-cadinene				0.07	0.19	0.11	1.97		
1759	geranyl acetate					0.45				
1767	citronellol				0.14	0.83				
1772	beta-selinene		0.32				0.08			
1787	myrtenol						0.24			
1790	borneol						0.67			
1799	nerol					0.17				
1826	anethole	0.04								
1833	trans-carveol				0.45					
1834	5-caranol						1.54			
1848	trans-geraniol			0.1		0.7	0.12	0.53		
1864	cis-carveol				1.72					
1894	Geranyl isobutyrate									
1910	piperitenone						0.11			
1954	cinnamic acid methyl ester							23.85		

Denemelerde kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal bileşenleri daha önce farklı bölge ve ülkelerde yapılan çalışmalarda da belirlenmiştir (Cavanagh ve Wilkinson, 2002; Khan ve Saeed, 2002; Miniya ve Thoppil, 2002; Bouzouita ve ark., 2005; Soylu ve ark., 2006). Her ne kadar oranları farklı olsa da, gerek çalışmalarımızda gerekse farklı araştırmacıların yapmış olduğu çalışmalarda carvacrol, camphor, 1,8-cineole, thymol, Lamiaceae familyasına dahil bitkilerin uçucu yağlarında yüksek düzeylerde bulunduğu konusunda benzerlik görülmüştür. Ülkemizin farklı bölgelerinde yetişen benzer bitkilerle yapılan çalışmalarda Topal ve ark. (2008) *Melissa officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus serpyllum* ve *Lavandula stoechas* bitki uçucu yağlarının; Tabanca ve ark. (2004) ile Orhan ve ark. (2011) *O. majorana* ve *M. spicata* bitki uçucu yağlarının; Arslan ve Derviş (2010), *T. serpyllum*, *R. officinalis*, *Salvia officinalis* ve *O. majorana* bitki uçucu yağlarının; Duman ve ark. (2010) ise *O. basilicum* bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerinin türlere bağlı olarak farklılık gösterdiğini, her türün içerdiği ana bileşenleri ve oranlarını GC-MS ile belirlemişlerdir.

Çalışmalarımızda kullanılan uçucu yağların kimyasal analizlerinden elde edilen sonuçlara benzer sonuçlar önceden yapılan pek çok çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Yapılan bu çalışmalarda *Thymus serpyllum*'un ana bileşeninin **thymol** olduğu (Arslan ve Derviş, 2010), *Origanum majorana*'nın ana bileşeninin **terpinene-4-ol** olduğu (Tabanca ve ark., 2004; Hussain ve ark., 2011), *Melissa officinalis*'in ana bileşeninin **citral** olduğu (Brant ve ark., 2009; Moradkhani ve ark., 2010), *Mentha spicata*'nın ana bileşeninin **carvone** olduğu (Sarier ve ark., 2011; Govindarajan ve ark., 2012), *Rosmarinus officinalis*'in ana bileşeninin **1,8-cineole** olduğu (Kadri ve ark., 2011; Wang ve ark., 2012), *Ocimum basilicum*'un ana bileşeninin **linalool** olduğu (Hussain ve ark., 2009; Kacar ve ark., 2010; Duman ve ark., 2010), *Salvia officinalis*'in ana bileşeninin **camphor** olduğu (Sokovic ve ark., 2010; Khalil and Li, 2011), *Lavandula stoechas*'ın ana bileşeninin ise **alpha-fenchone** olduğu (Hassiotis ve ark., 2010; Benabdelkader ve ark., 2011) bildirilmiştir.

Söz konusu bu çalışmaların bazılarında benzerliklerin yanı sıra elde edilen sonuçlar arasında bazı farklılıklarda göze çarpmaktadır. Aynı türe ait olmakla birlikte uçucu yağlarda gerek verim gerekse kimyasal kompozisyonlarında farklılığın ortaya çıkabileceği diğer bitkilerle yapılan önceki çalışmalarda da bildirilmiştir. Söz konusu uçucu yağların elde edildiği bitkilerin yetiştiği alanlardaki iklim farklılığı, bölgenin

coğrafi konumu, toprak yapısı, bitkinin yaşı, bitki materyalinin toplandığı dönem ve yağın çıkartılış metodu gibi bir çok faktörün benzer bitki türlerine ait yağların kimyasal kompozisyonlarında farklılığın ortaya çıkmasında rol oynayabileceği bildirilmiştir (Dudai ve ark., 1992; Cimanga ve ark., 2002). Nitekim *Origanum syriacum* bitkisinde çevre koşullarının çiçeklenme, yağ verimi ve kompozisyonu üzerine olan etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, bitkinin çiçeklendiği dönemde, ışık şiddetinin yüksek olduğu veya kısa gün fotoperiyoduna sahip yüksek sıcaklık bölgelerde yetişen bitki yapraklarından elde edilen uçucu yağ veriminin ve yağ içindeki fenol bileşiklerinin oranının önemli düzeyde azaldığı bildirilmiştir (Dudai ve ark., 1992).

4.3. Bitki Uçucu Yağ ve Önemli Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinlikleri

Bitki uçucu yağların test edilen bakteriyel etmeni üzerindeki antibakteriyel etkinliği 2 farklı yöntemle araştırılmıştır. Agar disk difüzyon yöntemi ile uçucu yağların antibakteriyel potansiyele sahip olup olmadığı, bulunması durumunda ise antibakteriyel etkinliklerinin ne derecede bir şiddete sahip olduğunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Mikro sulandırma yöntemi ile bitki uçucu yağların ve ana bileşenlerinin test edildiği bakteriyel etmeni engelleyen en düşük konsantrasyonu (minimum inhibisyon konsantrasyonu) ile bakteri çoğalmasını %50 düzeyde engelleyen etkili konsantrasyonunun (EC_{50}) belirlenmesi hedeflenmiştir.

4.3.1. Bitki Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkinlikleri

4.3.1.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Söz konusu yöntem ile steril filtre kâğıt (6 mm çapında) disklerine 10 µl bitki uçucu yağının emdirildikten sonra, önceden bakteri süspansiyonu ile bulaştırılmış petri kaplarının ortasına yerleştirilip kapağı kapatılmış ve petri kabı parafilm ile izole edilmiştir. Uçucu yağ uygulaması yapılan petri kapları 48 saat inkübatörlerde inkübasyona bırakılmıştır. Filtre kâğıt disklerin etrafında oluşan engelleme bölgelerinin (Şekil 3.3) ölçülmesi ile uçucu yağların antibakteriyel etkinliği belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Kontrol olarak steril su ve 2 farklı antibiyotik (tetracycline ve rifampicin 100

$\mu\text{g/ml}$) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, kullanılan yağlar içinde *T. spicata* (karabaş kekik) uçucu yağı 20.7 mm engelleme bölgesi oluşturarak test edilen tüm yağlar içinde en yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip uçucu yağ olmuştur. Kekik uçucu yağının antibakteriyel etkinliği diğer yağların yanı sıra test edilen tetracycline ve rifampicin antibiyotiklerinden de daha yüksek etkide bulunmuştur. Kekik uçucu yağı tarafından oluşturulan engelleme bölgesini sırası ile *T. serpyllum* (kaba kekik), *O. majorana* (mercan köşk), *M. officinalis* (oğul otu), *M. spicata* (nane), *S. officinalis* (adaçayı), *R. Officinalis* (biberiye) ve *O. basilicum* (fesleğen) uçucu yağları tarafından oluşturulan engelleme bölgeleri takip etmiştir (sırası ile 13.7, 9.4, 8.3, 8.0, 7.7, 7.4, 7.3). Uçucu yağlar içinde en düşük engelleme bölgesini 6.7 mm çapı ile *L. Stoechas* (karabaş lavantası) uçucu yağı oluşturmuştur.

Uçucu yağların antibakteriyel etkinliği 72 ve 96 saat sonraki gözlemlerde de incelenmiş olup, 48 saat sonraki etkinlikten önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür.

Söz konusu engellenme bölgeleri sıvı besi ortamına ilave edilmiş olup, 48 saat sonra sıvı besi yerlerinde herhangi bir bakteriyel çoğalma gözlenmemiştir. Bu durum uçucu yağların antibakteriyel özelliğinin bakteriyostatik (geçici etkinlik) etkinlikten ziyade bakteriyosidal (kalıcı etkinlik) etkinliğinden kaynaklandığını göstermiştir.

Çizelge 4.3. Bitki uçucu yağlarının karpuz bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni *A. citrulli*'ye karşı antibakteriyel etkinliği^a

Uçucu Yağlar	Engelleme bölgesi çapı (mm) ^a
<i>Thymbra spicata</i> L. subsp. <i>spicata</i>	20.7±0.58 ^e
<i>Thymus serpyllum</i> L.	13.7±0.58 ^d
<i>Origanum majorana</i> L.	9.4±1.15 ^c
<i>Melissa officinalis</i> L.	8.3±0.58 ^{bc}
<i>Mentha spicata</i> L.	8.0±0.0 ^{bc}
<i>Salvia officinalis</i> L.	7.7±0.58 ^{bc}
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	7.4±1.15 ^{bc}
<i>Ocimum basilicum</i> L.	7.3±0.58 ^{bc}
<i>Lavandula stoechas</i> L. subsp. <i>stoechas</i>	6.7±0.58 ^b
Tetracycline (100 µg/ml)	19.7±1.15 ^e
Rifampisin (100 µg/ml)	13.3±0.58 ^d
Kontrol (steril besi ortamı)	0.0 ^a

^a Antibakteriyel etkinlik agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. 10 µl uçucu yağ emdirilmiş steril filtre kağıdı (6 mm) önceden bakteri süspansiyonu yayılmış petrilerin ortasına yerleştirilmiş ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Filtre kağıdı etrafında ortaya çıkan engelleme bölgesinin çapı (kağıt disk dahil) ölçülmüştür. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda ölçülen engellenme bölgelerinin çapının (mm) ortalamasıdır. Aynı sütun içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey Test, $P \leq 0.05$).

4.3.1.2. Mikro Seyreltme Yöntemi

Mikro sulandırma yöntemi bitki uçucu yağının test edildiği bakteriyel etmeni engelleyen en düşük konsantrasyonunun (minimum inhibisyon konsantrasyonu) belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Farklı dozlarda uçucu yağ içeren bakteri süspansiyonları inkübatörlü orbital çalkalayıcıda 26 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl bakteri süspansiyonu yayıldıkları petri kabında 26 °C'de 48 saat tekrar inkübasyona bırakılarak yağların bakterilerin popülasyon çoğalması üzerine olan antibakteriyel potansiyelleri belirlenmiştir (Şekil 3.4). Çalışmalarda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'de sunulmuştur.

Mikro sulandırma yönteminden elde edilen sonuçlar (Çizelge 4.4) agar disk difüzyon testinde elde edilen sonuçları (Çizelge 4.3) birçok yağ açısından desteklemiştir. Çizelgede de görülebileceği gibi uçucu yağların konsantrasyonlarının artmasıyla bakterilerin populasyon gelişimleri önemli düzeylerde azalmıştır. Agar disk difüzyon testinde en yüksek derecede engelleme bölgesi oluşturan *Thymra spicata*, *Thymus serpyllum* ve *Origanum majorana* uçucu yağları mikro sulandırma yönteminde engelleme konsantrasyonu en düşük miktarda (sırası ile 6.0, 8.0, ve 10.0 mg/ml) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4). *Mentha spicata*, *Melissa officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum* ve *Salvia officinalis* uçucu yağlarının agar disk difüzyon testindeki sıralaması ile mikro sulandırma yöntemindeki engelleme konsantrasyonları arasında önemsiz düzeyde sıralama değişikliği gözlenmiştir. Agar disk difüzyon testinde en düşük derecede engelleme bölgesi oluşturan *Lavandula stoechas* uçucu yağı mikro sulandırma yönteminde engelleme konsantrasyonu en yüksek uçucu yağ (40 mg/ml) olarak belirlenmiştir. Yağların bakteri populasyon çoğalmasının %50'sini engelleyen etkili konsantrasyonları (EC_{50}) Probit analiz yöntemine göre hesaplanmış olup, elde edilen sonuçlarda en düşük EC_{50} değeri 1.98 mg/ml ile *Thymbra spicata*, en yüksek EC_{50} değeri ise 15.42 mg/ml ile *Lavandula stoechas* olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Farklı bitki uçucu yağlar ve konsantrasyonlarının karpuz bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni *A. citrulli*'ye karşı antibakteriyel etkinliği^a

Uçucu Yağlar	Konsantrasyon (mg/ml)								EC ₅₀ ^b
	2	4	6	8	10	12	14	16	
<i>T. spicata</i>	57.7aD	73.8bD	100.0cE	100.0cD	100.0cC	100.0cB	100.0cB	100.0c	1.98
<i>T. serpyllum</i>	45.9aC	63.6bC	71.7cD	100.0dD	100.0dC	100.0dB	100.0dB	100.0d	2.63
<i>O. majorana</i>	35.7aB	55.6bB	63.8cC	75.0dC	100.0eC	100.0eB	100.0eB	100.0e	3.34
<i>M. spicata</i>	26.1aA	37.5bA	52.9cA	61.1dA	82.4eAB	100.0fB	100.0fB	100.0f	4.52
<i>M. officinalis</i>	30.6aA	40.8bA	57.1cB	65.3dB	78.6eA	87.8fA	98.0gA	100.0h	4.28
	Konsantrasyon (mg/ml)								EC ₅₀
	5	10	15	20	25	30	35	40	
<i>R. officinalis</i>	48.1aD	59.6bC	76.5cD	100.0dD	100.0dD	100.0dC	100.0dB	100.0d	6.46
<i>O. basilicum</i>	43.7aC	60.4bC	69.6cC	77.2dC	89.6eC	100.0fC	100.0fB	100.0f	7.28
<i>S. officinalis</i>	29.6aB	48.0bB	58.2cB	67.9dB	79.1eB	88.8fB	100.0gB	100.0g	10.19
<i>L. stoechas</i>	18.1aA	24.4bA	39.9cA	54.1dA	67.9eA	74.5fA	89.3gA	100.0h	15.42

^a Antibakteriyel etkinlik mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonda uçucu yağ içeren bakteri süspansiyonları 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda gelişen bakteri kolonilerinin logaritmik değerlerinin ortalaması olup, % engelleme= $(K_k - U_k) / K_k \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. K_k =kontrol deki koloni sayısı; U_k =uygulama sonucunda gelişen koloni sayısını ifade eder. Deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Aynı satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler veya sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey Test, $P \leq 0.01$).

^b Uçucu yağların bakteri çoğalmasını %50 düzeyde engelleyen etkili konsantrasyonları (EC₅₀) her bir yağ için farklı dozlarda elde edilen koloni sayılarının logaritmik değerleri kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir

Gerek agar disk difüzyon gerekse mikro sulandırma yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre en etkili bitki uçucu yağlarının, kekik türü bitkilerden (*T. spicata*, *T. serpyllum* ve *O. majorana*) elde edilen yağların olduğu, bunu aynı familyaya giren diğer yağların takip ettiği belirlenmiştir. Benzer şekilde Lamiaceae familyasına dahil olan kekik ve origanum yağlarının diğer yağlara oranla daha yüksek antimikrobiyal (antibakteriyel ve antifungal) etkinliğe sahip olduğu yapılan pek çok çalışmada da bildirilmiştir (Knobloch ve ark., 1989; Karamanoli ve ark., 2000; Ezzat, 2001; Nagaraj ve ark., 2001; Bouzouita ve ark., 2003; Daferera ve ark., 2003; Thakare ve ark., 2003; Baydar ve ark., 2004; Horvath ve ark., 2004; Nguefack ve ark., 2005; Soylu ve ark., 2006).

Ülkemizde farklı bölgelerden toplanan benzer bitkilere ait bitki uçucu yağların kimyasal kompozisyonun yanı sıra, bazı gıdalarda bozulmalara neden olan ve insan patojeni bakteriyel hastalık etmenlerine karşı antimikrobiyal etkinliği birkaç çalışmada çalışılmıştır. Kilic (2006), *T. spicata* uçucu yağının ve ana bileşenlerinden carvacrol ve trans-caryophyllen'i *Escherichia coli*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. faecalis* ve *Candida albicans* isimli insan patojeni bakteriyel ve maya izolatlarına karşı antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Kızıl ve Uyar (2006) *Thymus kotschyanus*, *Satureja hortensis*, *Origanum onites* ve *Thymbra spicata* bitkilerinden elde ettikleri uçucu yağları *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* gibi bitki patojeni bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Baydar ve ark (2004) *Origanum minutiflorum*, *Origanum onites*, *Thymbra spicata* ve *Satureja cuneifolia* uçucu yağların insan ve gıda patojeni *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica* karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Basım ve ark. (2000) *Thymbra spicata* L. var. *spicata* uçucu yağının bitki patojeni bakterilerden *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Ülkemizde farklı araştırmacı grupları tarafından çalışmalarımızda kullanılan *T. serpyllum* (Sagdic, 2003), *O. majorana* (Orhan ve ark., 2011), *M. officinalis* (Keskin ve ark., 2010; Ceyhan ve ark., 2012), *M. spicata* (Orhan ve ark., 2011; Ceyhan ve ark., 2012), *R. officinalis* (Oskay ve Sarı, 2007; Toroğlu, 2011; Ceyhan ve ark., 2012), *O. basilicum* (Kaya ve ark., 2008; Orhan ve ark., 2011), ve *L. stoechas* (Gören ve ark., 2002; Dadalıoğlu ve Evrendilek, 2004; Kırmızıbekmez ve ark., 2009; Saraç ve Uğur, 2009; Ceyhan ve ark., 2012) gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağ, ekstrakt ve hidrosolları (bitkilerin kaynatıldığı su) daha çok gıda-insan patojeni bakterilere karşı test edilmiş ve antibakteriyel etkinliğe sahip oldukları bildirilmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre en düşük antibakteriyel etkinliğe sahip olan *Lavandula stoechas*'ın etkinliği benzer şekilde Soylu ve ark. (2003) tarafındanda bildirilmiştir. Soylu ve ark. (2003), *L. stoechas* var. *stoechas* bitki uçucu yağının fasulye hale yanıklık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*'ya karşı antibakteriyel etkinlikte bulunduğunu fakat etkinliğin Lamiaceae familyasına dahil olan biberiye (*Rosmarinus officinalis*), kekik (*Thymbra spicata*) ve origanum (*Origanum onites*) gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağlarla kıyaslandığında düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında bitki uçucu yağların gerek kimyasal bileşenleri gerekse test edildikleri patojenlere olan antibakteriyel etkinlikleri benzer bitki türleri ile yapılan önceki çalışmalarla elde edilen sonuçlarla kıyaslandığında benzerlik gösterdiği gibi farklılıklarda göstermiştir. Jannsen ve ark. (1987), ile Thomas (1989), aynı bitki türüne ait bitki uçucu yağların kimyasal bileşenlerinin bitkinin yetiştiği coğrafik bölgeye, bitkinin toplandığı döneme, bitkinin uçucu yağının çıkarıldığı durumuna (yaş veya kuru) bağlı olarak farklılık gösterebileceğini, benzer şekilde her ne kadar aynı bitki türüne ait uçucu yağ kullanılsada bu yağların antimikrobiyal etkinliğinde kullanılan test tekniğine, kültür besi ortamının yapısına ve gerek kullanılan patojenin türüne gerekse izolata bağlı olarak büyük oranda farklılık görülebileceği bildirmişlerdir.

4.3.2. Bitki Uçucu Yağlarının Ana Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinlikleri

Çalışmalarda kullanılan ve etkili olan bitki uçucu yağların antibakteriyel etkinliğinin araştırılmasına paralel olarak bu yağların içerisinde yüksek oranda bulunan ve ticari olarak temin edilen kimyasal bileşenlerin antibakteriyel etkinlikleride belirlenmiştir. Çalışmalarda denemede kullanılan uçucu yağların önemli ana bileşenlerinden carvacrol, thymol, linalool'un yanı sıra başka uçucu yağların önemli ana bileşenlerinden camphor, anethole, carvone, menthol, eugenol ve cinnamaldehyde ticari olarak temin edilmiş olup, test edilen patojenlere karşı 3 farklı dozlarda kullanılmıştır (Çizelge 4.5). Dozların belirlenmesinde uçucu yağların minimum engelleyen konsantrasyonlarındaki (MIC) bulunuş oranları baz alınmış, bu oranın yanı sıra bunların katları (2x ve 3x) kullanılmıştır. Farklı dozlarda uçucu yağ bileşenlerini içeren bakteri süspansiyonları 26 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda tüplerden alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat tekrar inkübasyona bırakılarak yağların bakterilerin populasyon gelişimi üzerine olan antibakteriyel potansiyelleri belirlenmiştir (Şekil 3.5). Çalışmalarda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6 da sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin *A. citrulli*'ye karşı antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesinde kullanılan konsantrasyonlar

Ana bileşen	Kullanılan Dozlar (mg/ml)		
	1.Doz	2.Doz	3.Doz
Carvacrol	2.5	5.0	7.5
Thymol	2.5	5.0	7.5
Linalool	5.0	10.0	20.0
Camphor	7.5	15.0	30.0
Anethole	15.0	30.0	60.0
Carvone	5.0	10.0	15.0
Menthol	5.0	10.0	15.0
Eugenol	7.5	15.0	30.0
Cinnamaldehyde	5.0	10.0	15.0

Çizelge 4.6. Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı konsantrasyonlarını *A. citrulli*'ye karşı antibakteriyel etkinliği^a

Ana bileşen	Bakteri çoğalımının engellenmesi (%)		
	1.Doç	2.Doç	3.Doç
*Carvacrol	100.00	100.00	100.00
*Thymol	9.00a	19.67a	54.33b
*Linalool	24.00a	51.00b	73.00c
*Camphor	10.00a	20.00ab	29.00b
*Carvone	21.67a	38.00a	68.33b
Menthol	8.00a	14.67a	37.67b
Anethole	5.00a	8.67a	15.67b
Eugenol	100.00	100.00	100.00
Cinnamaldehyde	100.00	100.00	100.00

* Denemede kullanılan uçucu yağ ana bileşenlerindendir.

^a Antibakteriyel etkinlik mikro seyreltme yöntemi ile belirlenmiştir. Farklı dozlarda uçucu yağ bileşenleri içeren bakteri süspansiyonları 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda gelişen bakteri kolonilerinin logaritmik değerlerinin ortalaması olup, % engelleme= $(K_k - U_k) / K_k \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. K_k =kontroldeki koloni sayısı; U_k =uygulama sonucunda gelişen koloni sayısını ifade eder. Deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Aynı satır içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey Test, $P \leq 0.05$).

Elde edilen sonuçlara göre en etkili uçucu yağ olarak belirlediğimiz kekik (*T. spicata* ve *T. serpyllum*) bitkisinin ana bileşenlerinden olan **carvacrol**'un en etkili ana bileşen olduğu tespit edilmiş olup, bakteri çoğalmasını kullanılan tüm dozlarda engellemiştir. Diğer yandan dozlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olsada, *T. spicata*, *T. serpyllum* ve *O. majorana*'nın kimyasal bileşenlerinden **thymol**, *O. basilicum*'un etkin maddesi **linalool**, *M. spicata*'nın etkin maddesi **carvone** ile *R. officinalis*, *S. officinalis* ve *L. stoechas*'ın ana bileşenlerinden **camphor** test edilen 3 farklı konsantrasyonlarda bakteri çoğalmasını engellemede başarılı olamamıştır. Antibakteriyel özellik gösteren uçucu yağların ana bileşenlerinden biri olan thymol, camphor, carvone ve linalool'un tek başına bakteriyel etmene karşı antibakteriyel etkinlikten sorumlu bileşik olmaması bu bileşenlerin uçucu yağında bulunan diğer bileşenlerle sinerjik etkileşime girerek söz konusu uçucu yağlara antibakteriyel özellik katkısında bulunabileceği düşünülmektedir.

Benzer şekilde antibakteriyel etkinsizlik durumu farklı bitki uçucu yağlarının ana bileşenlerinden olan **anethole** (rezene [*Foeniculum vulgare*] bitkisinin ana bileşeni) ve **menthol** (farklı nane [*Mentha* spp.] ana bileşeni) bileşenleri içinde gözlenmiştir. Bu bileşenler test edilen 3 farklı konsantrasyonda da bakterilerin çoğalmasını engellemede başarılı olamamıştır.

Uçucu yağların içerisinde ana bileşen olarak yer alan (carvacrol, camphor, 1,8-cineole ve *trans*-anethole gibi) kimyasalların bazı patojenlere karşı doğrudan antimikrobiyal etkenlikten sorumlu etken olmadığı, bunların yağ içerisinde daha düşük oranlarda bulunan diğer kimyasal bileşenlerle (γ -terpinene, linalool vb.) sinerjik etkiye girerek test edildikleri mikroorganizmalara karşı etkinlik gösterdikleri yapılan önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Hinou ve ark., 1989; Zakarya ve ark., 1993; Sivropoulou ve ark., 1996; Chalchat ve ark., 1997; Cimanga ve ark., 2002; Grierson ve Afolayan, 2005; Cha ve ark., 2005; Santoyo ve ark., 2005). Nostro ve ark.(2004), *origanum* yağının yanı sıra ana bileşenlerinden carvacrol ve thymol'un antibiyotiğe dayanıklı birçok insan patojeni bakteriyel etmene karşı oldukça yüksek düzeyde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. İki farklı *Eucalyptus* türlerinde ana bileşen olarak yer alan 1,8-cineole ve α -pinene, her iki bitki yağında da aynı oranda bulunmasına rağmen, bu yağların test edildiği aynı bakteri türüne karşı önemli düzeyde farklı antibakteriyel etkinlikte bulundukları bildirilmiştir (Zakarya ve ark., 1993; Cimanga ve ark., 2002). Araştırmacılar antibakteriyel etkinlikte gözlenen bu farklılığın her iki yağın kimyasal bileşenlerinde tespit edilen fakat düşük oranlarda yer alan farklı kimyasal bileşiklerden kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir. Adam ve ark.(1998), *Origanum vulgare* ve *Lavandula angustifolia* bitki uçucu yağlarının ana bileşenleri olan carvacrol, linalool, 1,8-cineol, camphor ve α -terpinene bileşenlerinin antifungal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında carvacrol dışında diğer bileşenlerin tek başlarına kullanıldığında oldukça düşük oranda antifungal özellik gösterdiğini bildirmişlerdir. De Martino ve ark (2009) 5 farklı bitki uçucu yağın ana bileşenlerini ve antimikrobiyal özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, *Carum carvi* L., *Verbena officinalis* L., *Majorana hortensis* L. uçucu yağlarının genellikle oksijen türevli monoterpenleri içerirken *Pimpinella anisum* L., *Foeniculum vulgare* Mill. uçucu yağlarının anethole içerdiğini, *C. carvi*, *V. officinalis* ve *M. hortensis*'nin carvacrol ve estragol içeriğinden dolayı *Bacillus cereus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı kuvvetli antimikrobiyal

etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Miguel ve ark (2010) rezene bitkisinden elde ettikleri uçucu yağları analiz etmişler ve sonuçta bitkilerin toplandığı yere göre ana bileşenlerinin anethole ve methyl chavicol (estragole) olarak değiştiğini, genel olarak yağların antimikrobiyal etkinliğinin oldukça düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Denemelerde kullandığımız diğer bitki uçucu yağ ana bileşenlerinden fenolik kökenli **eugenol** ve **cinnamaldehyde**, carvacrol gibi test edilen 3 konsantrasyonda da bakteriyel çoğalmasını başarılı bir şekilde engellemiştir. **Cinnamaldehyde** ve **eugenol** uzakdoğu ve Asya ülkelerinde yoğun olarak yetişen tarçın (*Cinnamomum iners*) ve karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) bitkilerin ana bileşenleri olup, bir çok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkinliğe sahiptir (Smith-Palmer ve ark., 1998; Dorman ve Deans, 2000; Goni ve ark., 2009; Sanla-Ead ve ark., 2012).).

Çalışmalarımızda kullanılan yağların antibakteriyel özelliklerinin uçucu yağların bakteriyel hücrelerde doğrudan morfolojik bozulmalara neden olmak suretiyle kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim bitki uçucu yağ ve ana bileşenlerinin bakteri hücrelerinin morfolojik yapılarında önemli düzeylerde bozulmalara neden oldukları yapılan elektron mikroskobu çalışmaları ile de teyit edilmiştir (Bennis ve ark., 2003). Uçucu yağların bakteri hücre membranlarının geçirgenliğini değiştirerek hücre içi osmotik dengelerini bozduğu, moleküler ağırlığı düşük olan bazı aktif uçucu yağ bileşenlerinin hücre duvarından difüze olarak bakteriyel hücre membranındaki phospholipid bölgesinde morfolojik değişikliklere neden olduğu önceden yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Cox ve ark., 2000).

Özetle çalışmalarda kullanılan uçucu yağlarda bulunan ana bileşenler içerisinde en yüksek bulunma oranına sahip 3 farklı ana bileşik arasında (**carvacrol**, **thymol** ve **linalool**) en yüksek antibakteriyel etkinliği, kekik türlerinin uçucu yağ ana bileşeni olan **carvacrol** olduğu görülmüştür. Daha önceki çalışmalarda kullanılan ve antibakteriyel potansiyele sahip **thymol**, **linalool**, **camphor** gibi phenoliklerin (Garg ve Siddique, 1992; Khan ve Saeed, 2002; Juteau ve ark., 2002; Rasooli ve ark., 2003; Bouzouta ve ark., 2005) farklı bakteriyel ve fungal hastalık etmenlerine karşı antimikrobiyal etkinlikleri yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu çalışma ile Hatay ili florasında yetişen Lamiaceae familyasına dahil olan karabaş kekik (*Thymbra spicata* subsp. *spicata*), kaba kekik (*Thymus serpyllum*), mercanköşk (*Origanum majorana*), lavanta (*Lavandula stoechas* var. *stoechas*), oğul otu (*Melissa officinalis*), nane (*Mentha spicata*), adaçayı (*Salvia officinalis*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve fesleğen (*Ocimum basilicum*) bitkilerinden elde edilen uçucu yağlarla birlikte, denemelerde kullanılan bitkiler arasında kekik (*Thymbra spicata* ve *Thymus serpyllum*) bitkisinin ana bileşenlerinden olan **carvacrol**, *Thymbra spicata*, *Thymus serpyllum* ve *Origanum majorana*'nın kimyasal bileşenlerinden **thymol**, *Origanum basilicum*'un etkin maddesi **linalool**, *Mentha spicata*'nın ana bileşenlerinden **carvone** ile *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* ve *Lavandula stoechas*'ın ana bileşenlerinden **camphor**'un yanı sıra farklı bitki uçucu yağlarının ana bileşenlerinden olan **anethole** (rezene [*Foeniculum vulgare*] bitkisinin ana bileşeni), **menthol** (farklı nane [*Mentha* spp.] ana bileşeni), **Cinnamaldehyde** (tarçın [*Cinnamomum iners*] bitkisinin ana bileşeni) ve **eugenol** (karanfil [*Syzygium aromaticum* L.] bitkisinin ana bileşeni) gibi ana uçucu yağ bileşenleri *Acidovorax citrulli*'e karşı mücadele olanakları *in vitro* koşullarında araştırılmıştır. Sonuçta bitkilerden elde edilen uçucu yağların ve bu yağlarda en yüksek düzeyde bulunan ana bileşenlerinin test edildikleri bakteriyel etmenin gelişimi üzerine olan antibakteriyel etkinlikleri açıkça ortaya konulmuştur. Gerek agar disk difüzyon testinde gerekse mikro seyreltme yöntemi ile yapılan çalışmalarda uçucu yağlar içinden kekik ve benzeri bitkilerin (*T. spicata* subsp. *spicata*, *T. serpyllum* ve *O. majorana*) uçucu yağları diğer *Lamiaceae* familyasına dahil bitki uçucu yağlarına oranla daha düşük konsantrasyonlarda daha yüksek antibakteriyel etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Bakteriyel etmene karşı en yüksek antibakteriyel etkinlik kekik (*T. spicata* subsp. *spicata*) uçucu yağı tarafından gösterilirken, en düşük antibakteriyel etkinlik lavanta (*L. stoechas*) uçucu yağı tarafından gösterilmiştir (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4).

Uçucu yağlar içerisinde yüksek oranlarda bulunan ana bileşenlerden **carvacrol**, **thymol**, **camphor**, **carvone** ve **linalool** un yanı sıra farklı bitki uçucu yağ ana bileşenlerinden olan **anethole**, **menthol**, **eugenol** ve **cinnamaldehyde**'in test edilen bakteriyel etmene karşı antibakteriyel etkinliği ilk kez bu çalışma ile araştırılmıştır. Ana

bileşenlerden **carvacrol** test edildiği 3 farklı konsantrasyonda da antibakteriyel etkinlik göstermiş, böylelikle söz konusu uçucu yağların bakteriyel etmene karşı antibakteriyel etkinliğinden sorumlu bir bileşen olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.6). Benzer durum diğer bitki uçucu yağ ana bileşenlerinden **eugenol** ve **cinnamaldehyde** içinde gözlenmiştir. Antibakteriyel etkinlik gösteren bitki uçucu yağların ana bileşenlerinden olan **linalool** ve **thymol**'ün yanı sıra diğer bitki uçucu yağ ana bileşenlerinden **camphor**, **anethole**, **carvone** ve **menthol** ise test edildikleri 3 farklı değişen oranlarda antibakteriyel etkinlik gösterecek bakteriyel etmeni tamamen engellemede başarılı olamamıştır. Bu durum bu bileşenlerin antibakteriyel etkinlikten birinci derecede sorumlu bileşen olmadıklarını göstermektedir. Bazı bitki uçucu yağlarının ana bileşenlerinin yağda bulundukları orana göre belirlenen konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinlik göstermemesinin nedeni yağın içerisinde düşük oranda bulunan diğer bileşenlerin eksikliğinden kaynaklanabilir. Benzer şekilde sonuçlar daha önceden farklı bitki uçucu yağları ile yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir.

Özetle, denemelerde kullanmış olan bitkilerin test edilen ve tohum kökenli olan bitki bakteriyel etmen üzerinde etkili olduğu açıkça görülmektedir. Bu bitkilerden özellikle kekik ve benzeri bitkilerin (*Thymbra spicata* subsp. *spicata*, *Thymus serpyllum* ve *Origanum majorana*) uçucu yağlarının ve bu yağın ana bileşeni olan **carvacrol**'ün etmenin gelişimi üzerine etkileri oldukça ümit vericidir. Bunun yanında tarçın ve karanfil bitki uçucu yağlarının ana bileşenlerinden olan **cinnamaldehyde** ve **eugenol**'ün de patojen üzerindeki etkinliği de göz ardı edilmemelidir. Bitki uçucu yağların uygulamaya aktarılması için bazı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu bitkilerden elde edilecek uçucu yağ ve ekstraktların doğal dengeye zarar vermemesi nedeniyle yapılacak preparat çalışmaları sonucunda geliştirilen formülasyonların zirai ilaçların ortamına kullanılabileceği kuvvetli ihtimaldir. Özellikle tohum kökenli bakteriyel hastalık etmenlerine karşı uygulanan sıcak suya daldırma yönteminde sıcak suyun tohumun çimlenme kapasitesi üzerine olan olumsuz etkinliği, suyun sıcaklığını düşürüp içerisine uçucu yağların eklenmesi ile giderilebileceği düşünülmektedir. Diğer uygulama şekli uçucu yağların suda çözünürlüğünü sağlayıp, damla sulama ile bitkilerin köklerine verilmesi ile toprak kökenli fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerine karşı mücadelede kullanılabilir. Benzer şekilde özellikle solarizasyon çalışmalarında toprağa

verilmesi ile gerek fitopatojen bakteriyel fungal etmenlere gerekse nematod ve yabancı ot tohumları üzerine olan etkinliği araştırılabilir.

In vitro etkinliğini araştırdığımız bitki uçucu yağlarının yukarda belirtilen *in vivo* denemeleri yapılarak uçucu yağların tarla ve sera koşullarındaki etkinliklerinin araştırılması bu konuda yapılan çalışmaların geliştirilmesi üzerine ve geliştirilen preparatların hastalıklarla mücadelede kullanılması sonucunda zirai üretime katkıda bulunacağı açıkça görölmektedir. Ülkemizde ve özellikle Hatay ili ve çevresinde bu tür tıbbi bitkilerin doğal olarak yetiştiği dikkate alınacak olursa, çalışmalarımıza benzer konulara yönelik araştırmaların artması muhtemeldir. Artan bilimsel çalışmalara paralel olarak yöre halkı tarafından doğadan bilinçsizce toplanan bu bitkilerin korunmaya alınması göz ardı edilmemesi gereken diğer önemli bir konudur. Bu bağlamda antimikrobiyal etkinliği yüksek olan bu tip bitkilerin doğrudan doğal ortamlarından toplamak ortamına, tarımsal faaliyetlerinin yapılmasına engel yerlerde (özellikle dağlık, kıraç arazilerde) alternatif kültür bitkisi olarak yetiştiriciliğinin teşvik edilmesi, gelecekte bu konu da yapılacak yeni çalışmalara temel teşkil etmesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- Adams, R.P., 1995. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol stream, IL: Allured Publishing.
- Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., and Arsenakis, M. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46 : 1739-1745.
- Akgül, A. and Kıvanç, M., 1988. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some common food-borne fungi. **International Journal of Food Microbiology**, 6: 263-268.
- Anonim, 2010. **TUİK Bitkisel Üretim İstatistikleri**. <http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>
- Anonymous, 2008. FAOSTAT. **Statistic Database**. <http://faostat.fao.org>
- Arslan, M. and Dervis, S., 2010. Antifungal activity of essential oils against three vegetative-compatibility groups of *Verticillium dahliae*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 26: 1813-1821.
- Ayanoğlu, F., Mert, A. ve Kaya, A., 2000. Hatay Florasında Yetişen Karabaş Lavanta (*Lavandula stoechas* supsp *stoechas* L) Çelikle Köklendirilmesi Üzerine Farklı Lokasyonların ve Hormon Dozlarının Etkisi. **Tr. J. of Agriculture and Forestry**, 24: 607-610.
- Aysan, Y., Mirik, M., Ala, A., Şahin, F. and Çınar, Ö., 2003. First report of *Pseudomonas viridiflava* on melon in Turkey. **Plant Pathology**, 52: 800-800.
- Aysan, Y., Abak, K., Mirik, M., Sahin, F. and Çetinkaya-Yıldız, R., 2005. *Pseudomonas viridiflava*: a new bacterial pathogen of melon and watermelon in Turkey. **3rd International Cucurbit Symposium**, 11-17 September 2005, Queensland, Australia.
- Aysan, Y., Çetinkaya-Yıldız, R., Mirik, M., Küsek, M. and Sahin, F., 2006. Bacterial soft rot disease on various hosts in Turkey. **12th Congress of Mediterranean Phytopathological Union**, June 11-15, 2006, Rhodes Island, Greece. 127-129.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Waomar M., 2008. Biological effects of essential oils-A review. **Food Chem. Toxicol.** 46:446-475.
- Balandrin, M., Klocke, J., Wurtele, E.S. and Bollinger, W.H., 1985. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal. **Science**, 228: 1154–1160.
- Basım, H., Yegen, O. and Zeller, W. 2000. Antimicrobial effects of essential oil of *Thymbra spicata* L.var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 279: 279-284.
- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G. and Karadogan, T., 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. **Food Control**, 15: 169-172.
- Benabdelkader, T., Zitouni, A., Guitton, Y., Jullien, F., Maitre, D., Casabianca, H., Legendre, L. and Kameli, A. 2011. Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: Composition, chemical variability, and *in vitro* biological properties. **Chemistry & Biodiversity**, 8: 937-953.
- Bennis, S., Chami, F., Chami, N., Bouchikhi, T. and Remmal, A., 2003. Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. **Letters in Applied Microbiology**, 38: 454-458

- Black, M.C., Isakeit, T., Barnes, L.W., Kucharek, T.A., Hoover, R.J. and Hodge, N.C., 1994. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Texas. **Plant Disease**, 78: 831.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M. and Chaabouni, M.M., 2003. Antimicrobial activity of essential oils from Tunisian aromatic plants. **Flavour and Fragrance Journal**, 18: 380-383.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M.M., Ben Aissa, R., Zgoulli, S., Thonart, R., Carlier, A., Marlier, M. and Lognay, G.C., 2005. Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. **Journal of Essential Oil Research**, 17: 584-586.
- Brant, R.D., Pinto, J.E.B.P., Rosa, L.F., Albuquerque, C.J.B., Ferri, P.H., and Correa, R.M. 2009. Growth, content and composition of lemon balm essential oil cultivated under color shading nets. **Ciencia Rural**, 39: 1401-1407
- Burdman, S., Kopelowitz, J., Kritzman, G. and Kots, N., 2005. Molecular, physiological, and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel. **Plant Disease** 89:1339–1347.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **Int. J. Food Microbiol.** 94: 223– 253.
- Cabral, C.D., da Gama, M.A.S., Alexandre, E.R., Mariano, R.D.R. and da Silveira, EB. 2010. Effect of acibenzolar-S-methyl, mannano-oligosaccharides and citrus bioflavonoids on the control of bacterial fruit blotch and growth of melon plant. **Tropical Plant Pathology**, 35: 119-123
- Cavanagh, H.M.A., and Wilkinson, J.N., 2002. Biological activities of lavender essential oil. **Phytotherapy Research**, 16 : 301-308.
- Ceyhan, N., Keskin, D. and Ugur, A. 2012. Antimicrobial activities of different extracts of eight plant species from four different family against some pathogenic microorganisms. **Journal of Food Agriculture and Environment** 10:193-197.
- Cha, J.D, Jeong, M.R., Jeong, S.I, Moon, Se., Kim, J.Y., Kil, B.S. and Song, Y.H., 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia scoparia* and *A-capillaris*. **Planta Medica**, 71: 186-190.
- Chalcat, J.C., Garry, R.P., Menut, C., Lamaty, G., Malhuret, R. and Chopineau, J., 1997. Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, 9: 67-75.
- Cho, J.Y., Choi, G.J., Son, S.W., Jang, K.S., Lim, H.K., Lee, S.O., Do Sung, N., Cho, K.Y. and Kim, J.C 2007. Isolation and antifungal activity of lignans from *Myristica fragrans* against various plant pathogenic fungi. **Pest Management Science**, 63: 935-940
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totte, J., Pieters, L. and Vlietinck, A.J., 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, 79: 213-220.
- Cox, S.C., Mann, C.M., Markham, J.M., Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmington, J.R. and Wyllie, S.G., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**, 88:170-175.
- Del Campo, J., Amiot, M.J. and Nguyen-The C., 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. **Journal of Food Protection**, 63: 1359-1368.

- Daferera, D.J., Ziagos, B.N. and Polissiou, M.G., 2000. GC-MS analysis of essential oils from Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 48: 2576-2581.
- Daferera, D. J., Ziogas, B. N., and Polissiou, M. G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*. **Crop Protection**, 22:39-44.
- De Martino, L., De Feo, V., Fratianni, F., and Nazzaro, F. 2009. Chemistry, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of volatile oils and their components. **Natural Product Communications**, 4:1741-1750.
- Demir, G., 1996. A new bacterial disease of watermelon in Türkiye; bacterial fruit blotch of watermelon (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad et al.) Willems et al.). **Journal of Turkey Phytopathology**, 28: 43–49.
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, 88: 308–316.
- Dudai, N., Putievsky, E., Ravid, U., Palevitch, D. and Halevy, A.H., 1992. Monoterpene content in *Origanum syriacum* as effected by environmental conditions and flowering. **Physiol Plant**, 84:453–459.
- Duman, A.D., Telci, I., Dayisoğlu, K.S., Digrak, M., Demirtas, I., Alma, M.H., 2010. Evaluation of bioactivity of linalool-rich essential oils from *Ocimum basilicum* and *Coriandrum sativum* varieties. **Natural Product Communications**, 5: 969-974.
- Eriş, M. 2006. **Bitki uçucu yağ ve bileşenlerinin domates bakteriyel hastalık etmenleri üzerine olan antibakteriyel potansiyellerinin in vitro koşullarda araştırılması**. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans Tezi. 58 sayfa
- Ezzat, S.M., 2001. *In vitro* inhibition of *Candida albicans* growth by plant extracts and essential oils. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 17: 757-759.
- Feng, J.J., Li, J.Q., Randhawa, P., Bonde, M. and Schaad, N.W., 2009. Evaluation of seed treatments for the eradication of *Acidovorax avenae* subsp *citrulli* from melon and watermelon seeds. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 31:180-185.
- Feng, J., Li, J., Randhawa, P., Bonde, M., and Schaad N.W. 2010. Evaluation of seed treatments for the eradication of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* from melon and watermelon seeds. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 31:180-185
- Fravel, D.R., 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, 26: 75-91.
- Garg, S. C. and Siddiqui, N.,1992. Antifungal activity of some essential oil isolates. **Pharmazie**, 47:467-468.
- Grierson, D.S. and Afolayan, A.J., 2005. Antibacterial activity of the extracts and the essential oil from the shoots of *Salvia namaensis* Schinz. **South African Journal of Science**, 101: 507-509.
- Goni, P., Lopez, P., Sanchez, C., Gomez-Lus, R., Becerril, R., and Nerin, C., 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. **Food Chemistry**, 116: 982–989.
- Goren, A.C., Topcu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydogmus, Z., and Pezzuto, J.M., 2002. The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp *stoechas*. **Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences**, 57:797-800.

- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswari, M. and Yogalakshmi, K. 2012. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. **Parasitology Research**, 110: 2023-2032.
- Hamm, P.B., Spink, D.S., Clough, G.H., and Mohan, K.S., 1997. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oregon. **Plant Disease**, 81, 113.
- Hammer, K.A., Carson, C.F., and Riley, T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, 86: 985-990.
- Hassiotis, C.N. and Dina, E.I. 2010. The influence of aromatic plants on microbial biomass and respiration in a natural ecosystem. **Israel Journal of Ecology & Evolution**, 56: 181-196.
- Hinou, J.B., Harvala, C.E. and Hinou, E.B., 1989. Antimicrobial activity of 32 common constituents of essential oils. **Pharmazie**, 44: 302-303.
- Holeva, M.C., Karafla, C.D., Glynos, P.E. and Alivizatos, A.S., 2010. *Acidovorax avenae* subsp *citrulli* newly reported to cause bacterial fruit blotch of watermelon in Greece. **Plant Pathology** 59: 797-797
- Hopkins, D.L., 1989. Bacterial fruit blotch of watermelon: a new disease in the eastern USA. **Cucurbitaceae** 89, 74-75.
- Hopkins, D.L., Thompson, C.M., Hilgren, J. and Lovic, B., 2003. Wet seed treatment with peroxyacetic acid for the control of bacterial fruit blotch and other seedborne diseases of watermelon. **Plant Disease**, 87: 1495-1499.
- Horvath, G., Szabo, L.G., Lemberkovics, E., Botz, L. and Kocsis, B., 2004. Characterization and TLC-bioautographic detection of essential oils from some *Thymus* Taxa. Determination of the activity of the oils and their components against plant pathogenic bacteria. **Jpc-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC**, 17 : 300-304.
- Hua, C.X., Wang, G.R. and Lei, Y., 2011. Evaluation of essential oil composition and DNA diversity of mint resources from China. **African Journal of Biotechnology**, 10: 16740-16745.
- Hussain, A.L., Anwar, F., Sherazi, S.T.H. and Przybylski, R. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, 108: 986-995.
- Hussain, A.L., Anwar, F., Rasheed, S., Nigam, P.S., Janneh, O., and Sarker, S.D., 2011. Composition, antioxidant and chemotherapeutic properties of the essential oils from two *Origanum* species growing in Pakistan. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 21:943-952.
- Iacobellis, N.S., Lo Cantore, P., Capasso, F., and Senatore, F., 2005. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 57-61
- İnan, N. 2008. **Çekirdek kabaklarında morfolojik ve moleküler karakterizasyon**. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enst. Biyoteknoloji Anabilimdalı Yüksek Lisans Tezi, Adana. 70 s.
- Isakeit, T., Black, M.C and Barnes, W., 1997. First report on infection of honeydew *Acidovorax avenae* subsp *citrulli*.. **Plant Disease** 81:694
- Isman, B.M. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, 19:603-608.
- Jacobs, J.L., Damicone, J.P. and McCraw, B.D., 1992. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oklahoma. **Plant Disease** 76: 1185.

- Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C. and Svendsen, A., 1987. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. **Planta Med**, 5: 395-397.
- Jeffery, C.1990. **Appendix, An outline classification of the Cucurbitaceae, in Biology and Utilization of the Cucurbitaceae.** Bates, D.M., Robinson, R.W., and Jeffrey, C. (eds). Cornell University, Ithaca, N.Y. pp 449.
- Jones, J.B., Gitaitis, R.D. and Shaad, N.W., 2001. *Acidovorax* and *Xylophilus*. In: **Plant Pathogenic Bacteria** (Edts. Shaad N.W., J.B. Jones and W. Chun). APS Press St. Paul, Minnesota, USA.
- Juteau, F., Masotti, V., Bessiere, J.M., Dherbomez, M. and Viano, J., 2002. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. **Fitoterapia**, 73 : 532-535.
- Kacar, O., Goksu, E. and Azkan, N. 2009. Agronomic properties and essential oil composition of basil varieties of landraces (*Ocimum basilicum* L.) in Turkey. **Asian Journal of Chemistry**, 21: 3151-3160.
- Kadri, A., Zarai, Z., Ben Chobba, I., Bekir, A., Gharsallah, N., Damak, M. and Gdoura, R. 2011. Chemical constituents and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil cultivated from South-Western Tunisia. **Journal of Medicinal Plants Research**, 5: 5999-6004.
- Karamanoli, K., Vokou, D., Menkissoglu, U. and Constantinidou, H.I., 2000. Bacterial colonization of phyllosphere of Mediterranean aromatic plants. **Journal of Chemical Ecology**, 26: 2035-2048.
- Kaya, I., Yigit, N. and Benli, M. 2008. Antimicrobial activity of various extracts of *Ocimum basilicum* L. and observation of the inhibition effect on bacterial cells by use of scanning electron microscopy. **African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines**, 5:363-369.
- Keskin, D., Oskay, D. and Oskay, M. 2010. Antimicrobial activity of selected plant spices marketed in the west Anatolia. **International Journal of Agriculture and Biology**, 12:916-920.
- Kessmann, H., Staub, T., Ligon, J., Oostendorp, M. and Ryals, J., 1994. Activation of systemic acquired disease resistance in plants. **European Journal of Plant Pathology**, 100: 359-369.
- Khalil, R. and Li, Z.G. 2011. Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. **African Journal of Biotechnology**, 10: 8397-8402.
- Khan, Z.U.D, and Saeed, M.A., 2002. Antibacterial potentials of some constituents of *Lavandula stoechas* L. **Pakistan Journal of Botany**, 34: 359-366.
- Kılıc, T. 2006. Analysis of essential oil composition of *Thymbra spicata* var. *spicata*: Antifungal, antibacterial and antimycobacterial activities. **Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences**, 61:324-328.
- Kırmızıbekmez, H., Demirci, B., Yesilada, E., Baser, K.H.C. and Demirci, F., 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. ssp *stoechas* growing wild in Turkey. **Natural Product Communications** 4:1001-1006.
- Kızıl, S., and Uyar, F., 2006. Antimicrobial Activities of Some Thyme (*Thymus*, *Satureja*, *Origanum* and *Thymbra*) Species Against Important Plant Pathogens. **Asian Journal of Chemistry**, 18: 1455-1461.

- Knobloch, K., Pauli, A., Iberi, B., Weigand, H. and Weis, N., 1989. Antibacterial properties of essential oils components. **Journal of Essential Oil Research**, 1:119-128.
- Koike, S.T., Gladders, P., Paulus, A.O. 2007. **Vegetable Diseases. A Color Handbook**. Manson Publishing, London. 437 sayfa,
- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M, and Mete, E. 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. **Bioresource Technology**, 99: 8788–8795.
- Langston Jr, D.B., Walcott, R.R., Gitaitis, R.D. and Sanders, F.H., 1999. First report of a fruit rot of pumpkin caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Georgia. **Plant Disease**, 83, 100.
- Laouer, H., Zerroug, M.M., Sahli, F., Chaker, A.N., Valentini, G., Ferretti, G., Grande, M. and Anaya, J., 2003. Composition and antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, 15 : 135-138.
- Latin, R. and Rane, K., 1990. Bacterial fruit blotch of watermelon in Indiana. **Plant Disease** 74: 331.
- Latin, R., Tikhonova, I. and Rane, K., 1995. Factors affecting the survival and spread of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon transplant production facilities. **Phytopathology** 85:1413-1417.
- Latin, R. and Hopkins, D.L., 1995. Bacterial fruit blotch of watermelon: the hypothetical exam question becomes reality. **Plant Disease**, 79: 761–765.
- Latin, R., 1996. Bacterial fruit blotch. In : **Compendium of Cucurbit Diseases** (Eds. T. A. Zitter, D. L. Hopkins, and C. E. Thomas). APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Lessl, J.T., Fessehaie, A. and Walcott, R.R., 2007. Colonization of female watermelon blossoms by *Acidovorax avenae* ssp. *citrulli* and the relationship between blossom inoculum dosage and seed infestation. **Journal of Phytopathology**, 155:114–121.
- Mackowiak-Sochacka, A. and Pospieszny, H., 2006. Control of phytopathogenic bacteria by chitosan. **Bulletin OILB/SROP** 29:79-84.
- Martin, H. L. and O'Brien, R.G., 1999. First report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as a pathogen of cucumber. **Plant Disease**, 83: 965
- Martin, H.L. and Horlock, C.M., 2002. First report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as a pathogen of gramma in Australia. **Plant Disease**, 86:1406.
- McLafferty F.W. and Staufer D.B. 1989. **The Willey N.B.S. Registry of Mass Spectral Data**. John Wiley and Sons, New York.
- Medeiros, F.H.V., Moraes, I.S.F., da Silva, E.B., Silveira, E.B. and Mariano, R.D.R., 2009. Management of melon bacterial blotch by plant beneficial bacteria. **Phytoparasitica**, 37: 453-460.
- Miguel, MG., Cruz, C., Faleiro, L., Simoes, MTF., Figueiredo, AC., Barroso, JG. and Pedro, LG. 2010. *Foeniculum vulgare* essential oils: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. **Natural Product Communications**, 5: 319-328.
- Miller, J. H. 1972. **Experiments in Molecular Genetics**. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory.

- Minija, J. and Thoppil, J.E., 2002. Studies on essential oil composition and microbicidal activities of two South Indian spices of the Apiaceae. **International Journal of Aromatherapy**, 12: 213-215.
- Mirik, M., Aysan, Y., Çetinkaya-Yıldız, R., Şahin, F. and Saygılı, H., 2004. Watermelon is a new host of *Pseudomonas viridiflava* causal agent of leaf and stem necrosis, discovered in Turkey. **Plant Disease**, 88: 907.
- Mirik, M., Aysan, Y. and Sahin, F., 2006. Occurrence of Bacterial Fruit Blotch of Watermelon Caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. **Plant Disease**, 90: 829.
- Mirik, M. ve Aysan, Y., 2008. Karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Bitki Bakteri Hastalıkları** (Editörler H. Saygılı, F. Şahin ve Y. Aysan). Meta Basım, İzmir.
- Moradkhani, H., Sargsyan, E., Bibak, H., Naseri, B., Sadat-Hosseini, M., Fayazi-Barjin, A. and Meftahizade, H. 2010. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. **Journal of Medicinal Plants Research**, 4: 2753-2759.
- Nagaraj, M.S., Srinivasachary, and Khan, A.N.A., 2001. Studies on the management of *Xanthomonas campestris* pv. *moricola* of mulberry. **Journal of Mycopathological Research**, 39: 87-90.
- Nguefack, J., Somda, I., Mortensen, C.N. and Zollo, P.H.A., 2005. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling seed-borne bacteria of rice (*Oryza sativa* L.) **Seed Science and Technology**, 33: 397-407.
- Nostro, A., Blanco, A.N., Cannatelli, M.A., Enea, V., Flamini, G., Morelli, I., Roccaro, A.S. and Alonzo, V., 2004. Susceptibility of methicillin- resistant *Staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol and thymol. **FEMS Microbiology Letters**, 230:191-195.
- O'Brien, R.G. and Martin, H. L. 1999. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp *citrulli*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, 39:479–485.
- Orhan, I.E., Ozcelik, B., Kan, Y. and Kartal, M., 2011. Inhibitory effects of various essential oils and individual components against extended-spectrum beta-lactamase (esbl) produced by *Klebsiella pneumoniae* and their chemical compositions. **Journal of Food Science**, 76:538-546
- Oskay, M., and Sarı, D., 2007. Antimicrobial screening of some Turkish medicinal plants. **Pharmaceutical Biology**, 45:176-181.
- Ozturk, S., and Ercisli, S., 2007. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. **Food Control**, 18:535-540
- Palomino, J.-C., Martin, A., Camacho, M., Guerra, H., Swings, J. and Portaels, F., 2002. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, 46:2720–2722.
- Palkovics, L., Petroczy, M., Kertesz, B., Nemeth, J., Barsony, C., Mike, Z., and Hevesi, M., 2008. First report of bacterial fruit blotch of watermelon caused by *Acidovorax avenae* subsp *citrulli* in Hungary. **Plant Disease**, 92: 834-835.
- Pappas, A.C. 1982. Metalaxyl resistance and control of cucumber downy mildew with oomycetes-fungicides. **Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki**, 13:194-212.

- Park, Y., Le, Y., Choi, Y., Son, B. and Kang, J., 2008. Evaluations of PCR primers used in the detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* causing bacterial fruit blotch (BFB) in cucurbits. **Hort. Environ. Biotechnol.** 49: 325-331.
- Paulitz, C.P. and Belanger, R.R., 2001. Biological control in greenhouse. **Annual Review of Phytopathology**, 39: 103-133.
- Pradhanang, P.M., Momol, M.T., Olson, S.M. and Jones, J.B., 2003. Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. **Plant Disease**, 87: 423-427.
- Rane, K. and Latin, R.X., 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon. Association of the pathogen with seed. **Plant Disease**, 76:509-512.
- Rasooli, I., Rezaee, M.B., Moosavi, M.L. and Jaimand, K., 2003. Microbial sensitivity to and chemical properties of the essential oil of *Artemisia annua* L. **Journal of Essential Oil Research**, 15: 59-62.
- Ren, Y.Z., Li, H., Li, G.Y., Wang, Q.Y. and Li, J.Q., 2006. First report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* infecting edible seed watermelon (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*) in China. **Plant Disease** 90:1112
- Robinson, R.W. and Decker-Walters, D.S. 1997. **Cucurbits**. CAB International New York, NY, USA.
- Sagdic, O. 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. **Food Science and Technology**, 36:467-473
- Sanla-Ead, N., Jangchud, A., Chonhenchob, V. and Suppakul, P. 2012. Antimicrobial activity of cinnamaldehyde and eugenol and their activity after incorporation into cellulose-based packaging films. **Packaging Technology and Science**, 25, 7–17.
- Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J. and Reglero, G., 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Food Protection**, 68: 790-795.
- Sarac, N., and Ugur, A. 2009. The *in vitro* antimicrobial activities of the essential oils of some Lamiaceae species from Turkey. **Journal of Medicinal Food**, 12:902-907.
- Sarer, E., Toprak, S.Y., Otlu, B. and Durmaz, R. 2011. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Mentha spicata* L. subsp. *spicata*. **Journal Of Essential Oil Research**, 23: 105-108.
- Sasser, M. 1990. Identification of bacteria through fatty acid analyses. (Z. Klement, K. Rudolph, D.C. Sands, Editör). In: **Methods in Phytobacteriology**. Academiai Kiado, Budapest, pp. 199– 204, Hungary.
- Satish, S., Raveesha, K.A. and Janardhana, G.R., 1999. Antibacterial activity of plant extracts on phytopathogenic *Xanthomonas campestris* pathovars. **Letters in Applied Microbiology**, 28: 145-147.
- Schaad, N.W., Postnikova, E., Sechler, A., Claflin, L.E., Vidaver, A.K., Jones, J.B., Agarkova, I., Ignatov, A., Dickstein, E., and Ramundo, B.A., 2008. Reclassification of subspecies of *Acidovorax avenae* as *A. avenae* (Manns 1905) emend., *A. cattleyae* (Pavarino, 1911) comb. nov., *A. citrulli* (Schaad et al., 1978) comb. nov., and proposal of *A. oryzae* sp. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, 31: 434-446.
- Sertkaya, E., Kaya, K. and Soylu, S. 2010. Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae). **Industrial Crops and Products**, 31: 107–112.

- Shirakawa, T., Kikuchi, S., Kato, T., Abiko, K. and Kaiwa, A., 2000. Occurrence of watermelon bacterial fruit blotch in Japan. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, 66:223–231.
- Silveira, E.B., Mariano, R.L.R. and Michereff, S.J., 2003. Variabilidade de isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* provenientes de melão produzido no estado do Rio Grande do Norte. **Summa Phytopathologica** 29:285–261.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T. and Arsenakis, M., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 44 : 1202-1205.
- Smith, I.M., Dunez, J. Lellioth, R.A. Phillips, P.H. and Archer, S.A. (Editör). 1988. **European handbook of plant disease**. Blackwell Scientific Publications, 623 pp, Oxford.
- Smith - Palmer A., Stewart, J. and Fyfe L., 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important foodborne pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, 26: 118–122.
- Sokovic, M., Glamoclija, J., Marin, P.D., Brkic, D. and van Griensven, L.J.L.D. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in vitro* model. **Molecules**, 15: 7532-7546.
- Somodi, G.C., Jones, J.B., Hopkins, D.L., Stall, R.E., Kucharek, T.A., Hodge, N.C. and Watterson, J.C., 1991. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. **Plant Disease** 75, 1053–1056.
- Soylu, S., Soyulu, E.M., Bozkurt, A. and Kaya, A.D., 2003. Antibacterial activities of essential oils from oregano, thyme, rosemary and lavender plants against *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, the causal agent of halo blight of bean. **Ovidius University Annals of Medical Science and Pharmacy**, 1: 40-44.
- Soylu, E.M., Soyulu, S. and Kurt, Ş. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. **Mycopathologia**, 161: 119-128.
- Soylu, S., Evrendilek, G.A, and Soyulu, E.M. 2009. Chemical compositions and antibacterial activities of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*) and dill (*Anethum graveolens* L.) essential oils against the growth of food-borne and seed-borne plant pathogenic bacteria. **Italian Journal of Food Science**, 21:347-355.
- Tabanca, N., Ozek, T., Baser, K.H.C., and Tumen, G., 2004. Comparison of the essential oils of *Origanum majorana* L. and *Origanum x majoricum* Cambess. **Journal of Essential Oil Research**, 16: 248-252
- Tan, M.L., Zhou, L.G., Qin, M., Li, D.A., Jiang, W.B., Wang, Y. and Hao, X.J., 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the flower oil of *Russowia sogdiana* (Bunge) B. Fedtsch (Asteraceae) from China. **Journal of Essential Oil Research**, 19:197-200
- Thakare, A.R., Wankhade, S.G., Somani, R.B., and Raut, B.T., 2003. Growth inhibition in *Rhizoctonia bataticola* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvaceum* by herbal oils. **Journal of Spices and Aromatic Crops**, 12: 83-85.
- Thomas, O.O., 1989. Re-examination of the antimicrobial activities of *Xylopi aethiopica*, *Carica papaya*, *Ocimum gratissimum* and *Jathropa curcas*. **Fitoterapia**, 60:147-155.
- Thoppil, J.E., Minija, J., Tajo, A., and Deena, M.J., 2000. Microbicidal potential of the essential oil of *Ocimum adscendens*. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, 22: 256-257

- Topal, U., Sasaki, M., Goto, M., and Otles, S. 2008. Chemical compositions and antioxidant properties of essential oils from nine species of Turkish plants obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 59: 619-634
- Toroglu, S. 2011. *In-vitro* antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. **Journal of Environmental Biology**, 32:23-29
- Türküsay, H., and Onoğur, E., 1998. Bazı Bitki Ekstraktların in vitro Antifungal Etkileri Üzerine Araştırmalar. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, 22: 267-271.
- Wall, G.C., Santos, V.M., Cruz, F.J., Nelson, D.A. and Cabrea, I., 1990. Outbreak of watermelon fruit blotch in the Mariana Islands. **Plant Disease**, 74: 80.
- Walcott, R.R. and Gitaitis, R.D., 2000. Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon seed using immunomagnetic separation and the polymerase chain reaction. **Plant Disease**, 84:470-474.
- Walcott, R.R., Fessehaie, A. and Castro, A.C., 2004. Differences in pathogenicity between two genetically distinct groups of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on cucurbit hosts. **Journal of Phytopathology**, 152:277-285.
- Walcott, R.R., Castro, A.C., Fessehaie, A. and Ling, K., 2006. Progress towards a commercial PCR-based seed assay for *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Seed Science and Technology**, 34:101-116.
- Wang, X., Li, G., Jiang D. and Huang H.C., 2009. Screening of plant epiphytic yeasts for biocontrol of bacterial fruit blotch (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) of hami melon. **Biological Control**, 50:164-171.
- Wang, W., Li, N., Luo, M., Zu, Y.G. and Efferth, T. 2012. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. **Molecules**, 17: 2704-2713
- Weller, D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, 26: 379-407.
- Williams and Zitter, T.A. 1996. Bacterial leaf spot. In : **Compendium of Cucurbit Diseases** (Editors. T. A. Zitter, D. L. Hopkins, and C. E. Thomas). APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Willems, A., Goar, M., Thielemans, S., Gills, M., Kersters, K., and Deley, J., 1992. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* and *Acidovorax konjaci*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, 42, 107-119.
- Vaughn, S.F., and Spencer, G.F., 1994. Antifungal activity of natural compounds against thiabendazole-resistant *Fusarium sambucinum* strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 42, 200-203.
- Yeğen, O., Berger, B., and Heitefuss, R., 1992. Investigations on the fungitoxicity of extracts of six selected plants from Turkey against phytopathogenic fungi. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, 99:349-359.
- Zakarya, D., Fkih-Tetouani, S. and Hajji, F., 1993. Chemical composition- antimicrobial activity relationship of *Eucalyptus* essential oils. **Plants Medicinales et Phytoterapie**, 26: 331-339.
- Zitter, T.A, Hopkins, D.L and Thomas, C.E., 1996. **Compendium of cucurbit diseases**. (Editors. T. A. Zitter, D. L. Hopkins, and C. E. Thomas). APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada, Hatay ili ve çevresinde doğal olarak yetişen Lamiaceae familyasına bağlı bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşenleri gaz kromatografi-kütle spektroskopisi (GC-MS) ile analiz edilmiş, elde edilen uçucu yağlar ve bu yağların önemli bazı ana bileşenlerinin (carvacrol, linalool, thymol, camphor, anethole, carvone, menthol, eugenol ve cinnamaldehyde) antibakteriyel etkinlikleri tohum kökenli karpuz bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*'ye karşı *in vitro* koşullarında araştırılmıştır. Laboratuvar çalışmaları M.K.Ü Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Tez konumun belirlenmesinde, laboratuvar çalışmaları ve yazım aşamasında değerli fikir ve katkılarıyla çalışmalarımı yönlendiren sayın hocam Doç. Dr. Soner SOYLU'ya sonsuz teşekkürler. Ayrıca uçucu yağların elde edilmesi ve cihazın kullanılmasındaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. E.Mine SOYLU, tıbbi bitkilerin teşhisinde ve yağların temini sırasındaki yardımlarından dolayı Prof.Dr. İlhan ÜREMİŞ ve Prof.Dr. Mehmet ARSLAN'a, çalışmanın ana materyalinden olan bakteriyel izolatın temin edilmesi ve hastalık belirtilerini gösteren resimlerin temininden dolayı Çukurova Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Yeşim AYSAN'a, Uçucu yağların ana bileşenlerinin GC-MS cihazı yardımıyla belirlenmesi çalışmalarındaki yardımından dolayı Tarla Bitkileri Bölüm öğretim üyelerinden Yrd.Doç.Dr. Alparslan D. KAYA'ya teşekkür ederim. Tez çalışmalarına maddi desteğinden dolayı M.K.Ü Araştırma Fonu'na da ayrıca teşekkür ederim.

Tüm öğrenim hayatım boyunca ve özel hayatımda maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürler.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Antakya’da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Antakya’da tamamladıktan sonra Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü’nü kazandım. Bölümden 2009 yılında mezun oldum. Aynı yıl (Eylül-2009) M.K.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım.

EKLER**EK-1****Nutrient (NA) Agar (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:105450)**

Protease pepton	20.0 g/L
Agar	15.0 g/L

King's Medium B (KB) Agar (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110989)

Protease pepton	20.0 g/L
K ₂ HPO ₄ 3H ₂ O	2.5 g/L
MgSO ₄ 7H ₂ O	6.0 g/L
Glyserol	10.0 ml/L
Agar	15.0 g/L

Luria Bertani (LB) Broth (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110285)

Tryptone	10.0 g/L
Yeast Extract	5.0 g/L
NaCl	5.0 g/L
Glucose	1.0 g/L