



**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TURUNÇGİL EKŞİ ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ
Geotrichum citri-aurantii'YE KARŞI BİTKİ UÇUCU YAĞ VE
ANA BİLEŞENLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Elif SÜRMELİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
EKİM-2014**



T.C.

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TURUNÇGİL EKŞİ ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ
***Geotrichum citri-aurantii*'YE KARŞI BİTKİ UÇUCU YAĞ VE**
ANA BİLEŞENLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Elif SÜRMELİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY

EKİM-2014

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TURUNÇGİL EKŞİ ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ
Geotrichum citri-aurantii'YE KARŞI BİTKİ UÇUCU YAĞ VE
ANA BİLEŞENLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

ELİF SÜRMELİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Soner SOYLU danışmanlığında hazırlanan bu tez **27/10/2014** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Soner SOYLU
Başkan

Prof. Dr. Şener KURT
Üye

Doç. Dr. Mustafa MİRİK
Üye

Kod No: 766

Prof. Dr. İsmail Hakkı KARAHAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiştir.

Proje No: MKÜ BAP-9320

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.

27.10.2014

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Elif SÜRMELİ

ÖZET

TURUNÇGİL EKŞİ ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ *Geotrichum citri-aurantii*'YE KARŞI BİTKİ UÇUCU YAĞ VE ANA BİLEŞENLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada, Doğu Akdeniz Bölgesinde yetişen Suriye kekiği (*Origanum syriacum* var. *bevanii* Holmes), kaba kekik (*Thymus serpyllum* L.), karabaş kekiği (*Thymbra spicata* subsp. *spicata* L.), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.), karabaş lavanta (*Lavandula stoechas* var. *stoechas*) ve okaliptus (*Eucalyptus camandulensis* L.) bitki türlerinden elde edilen uçucu yağlar ile aldehit (*trans*-cinnamaldehyde), fenol (carvacrol, *trans*-anethole ve eugenol), keton (carvone) ve alkol (linalool) yapılarıdaki farklı bitkisel kökenli uçucu yağ ana bileşenlerinin *in vitro* antifungal etkinliği turunçgil meyvelerinde sorun olan fungal turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'nin misel, spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerine değme ve buhar etkinlikleri farklı konsantrasyonlar kullanılarak araştırılmıştır.

Uçucu yağlar ve ana bileşenlerin değme ve buhar etkinliklerine bakıldığında en güçlü fungisidal etki kekik türleri (*O. syriacum* ve *T. spicata* ve *T. serpyllum*) ile aldehit ve fenoller (*trans*-cinnamaldehyde, carvacrol, ve eugenol) tarafından gösterilmiştir. En etkili uçucu yağ olan *O. syriacum* buhar fazında fungusun misel gelişimini, spor çimlenmesini ve çimlenme borucuğunun engellenmesi, 5.0 µl/petri konsantrasyonunda tespit edilmiştir. En etkili uçucu yağ ana bileşeni olan carvacrol ve *trans*-cinnamaldehyde değme fazında fungusun misel gelişimini, spor çimlenmesini ve çimlenme borucuğunun engellenmesi, 20.0 µl/ml konsantrasyonunda tespit edilmiştir.

Yapılan mikroskopik incelemelerde uçucu yağlar ve ana bileşenlerin fungusların hiflerinde ve sporlarında sitoplazmik pıhtılaşma, vakuolleşme, erime ve sitoplazmik boşalma şeklinde gözlenen önemli yapısal deformasyonlara neden olduğu gözlenmiştir.

2014, 62 sayfa

Anahtar Kelimeler: Antifungal etkinlik, Bitkisel uçucu yağ ve bileşikler, *Geotrichum citri-aurantii*, hasat sonu hastalıklar, Turunçgiller

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIFUNGAL EFFECTS OF PLANT ESSENTIAL OILS and MAJOR COMPOUNDS AGAINST CITRUS SOUR ROT DISEASE AGENT *Geotrichum citri-aurantii*

In this study, *in vitro* antifungal effects of the essential oils obtained from different plant species such as Syrian oregano (*Origanum syriacum* var. *bevanii* Holmes), thymus (*Thymus serpyllum* L.), tyme (*Thymbra spicata* subsp. *spicata* L.), fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.), lavender (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.) and eucalyptus (*Eucalyptus camandulensis* L.) growing in the Eastern Mediterranean Region of Turkey and pure volatile plant essential oil major compounds, such as aldehyde (*trans*-cinnamaldehyde), phenols (carvacrol, *trans*-anethole and eugenol), ketone (carvone) and alcohol (linalool), were investigated against mycelial growth, conidial germination and germ tube elongation of *Geotrichum citri aurantii* major post-harvest fungal pathogen of citrus fruits, by using different doses.

Among the plant essential oils and major compounds used, in the study, the strongest volatile and contact fungicidal activities were obtained from thymes species (*O. syriacum* ve *T. spicata* ve *T. serpyllum*), aldehyde and phenols ((*trans*-cinnamaldehyde, carvacrol and eugenol). *O. syriacum*, as the most efficient essential oil, completely inhibited mycelial growth, germination of spores and germ tube elongation at 5.0 µl/plate concentration (volatile phase). Carvacrol and *trans*-cinnamaldehyde, as the most efficient essential oil major compound, completely inhibited mycelial growth, germination of spores and germ tube elongation at 20.0 µl/ml concentration at (contact phase).

Considerable structural deformations such as cytoplasmic coagulation, vacuolations, hyphal lysis and protoplast leakage were observed on fungal hyphae and spores exposed to essential oils and major compounds under light microscope.

2014, 62 pages

Key words: Antifungal efficacies, Plant volatile essential oils and compounds, *Geotrichum citri-aurantii*, post-harvest disease, Citrus

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde, araştırmalarım ve tezimin yazımı süresince yol gösteren ve desteğini esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Soner SOYLU' ya, Laboratuvar çalışmalarına yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Şener KURT, Sayın Prof. Dr. E. Mine SOYLU ve Zir. Müh. Aysun UYSAL'a, maddi destek veren MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna (Proje No: MKÜ BAP-9320) ve isimlerini burada zikredemediğim ama yardımlarını esirgememiş herkese içten teşekkürlerimi sunarım

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, hayatımın her aşamasında yanımda olan değerli aileme ve özellikle tüm eğitim hayatım boyunca fikirlerime saygı duyan, beni sonuna kadar destekleyen sevgili babam Abdurrahman CİHANGİR'e teşekkür ederim.

Onu tanıdığım andan itibaren manevi güç kaynağım olan, sabırla beni yönlendiren sevgili eşim Ahmet SÜRMELİ 'ye sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1. Materyal.....	15
3.1.1. Fungus Materyali.....	15
3.1.2. Bitki Materyali.....	15
3.1.3. Bitki Uçucu Yağlarının Ana Bileşenleri.....	18
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Hastalık Etmeni Fungus'un İzolasyonu ve Muhafazası.....	19
3.2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Elde Edilmesi.....	19
3.2.3. Bitki Uçucu Yağlar ve Ana bileşenlerinin <i>in vitro</i> 'da Antifungal Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	19
3.2.3.1. Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimi Üzerine Buhar Etkisinin Belirlenmesi.....	19
3.2.3.2. Bitki Uçucu Yağ ve Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Misel Gelişimi Üzerine Değme Etkilerinin Belirlenmesi.....	20
3.2.3.3. Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimini Engelleyen Konsantrasyonlarının Fungusidal ve Fungostatik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	21
3.2.3.4. Bitki Uçucu Yağlarının Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Buhar Etkilerinin Belirlenmesi.....	21
3.2.3.5. Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Değme Etkilerinin Belirlenmesi.....	22

3.2.4 Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Fazında Fungus Hif ve Sporlarının Yapılarında Sebep Olduğu Morfolojik Değişikliklerin Belirlenmesi....	22
3.2.5. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	24
4.1. Bitki Uçucu Yağlar ve Ana bileşenlerinin <i>in vitro</i> Antifungal Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	24
4.1.1. Bitki Uçucu Yağların Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Etkinlikleri.....	24
4.1.1.1. Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimi Üzerine Buhar Etkisi.....	24
4.1.1.2 Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimi Üzerine Değme Etkisi.....	28
4.1.2. Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimini Engelleyen Konsantrasyonlarının Fungusidal ve Fungostatik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	33
4.1.3. Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Misel Gelişimi Üzerinde Değme Etkilerinin Belirlenmesi.....	34
4.2. Bitki Uçucu Yağlarının Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Buhar Etkilerinin Belirlenmesi.....	38
4.2.1. Bitki Uçucu Yağlarının Spor Çimlenmesi Üzerine Buhar Etkileri.....	38
4.2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Çim Borusu Gelişimi Üzerine Buhar Etkileri..	40
4.3. Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerin Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Değme Etkilerinin Belirlenmesi.....	42
4.3.1. Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Spor Çimlenmesi Üzerine DeğmeEtkileri.....	42
4.3.2 Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Çim Borusu Gelişimi Üzerine Değme Etkileri.....	46
4.4. Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Fazında Fungus Hif ve Sporlarının Yapılarında Sebep Olduğu Morfolojik Değişikliklerin Belirlenmesi.....	49
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Ekşi çürüklük hastalık etmeni <i>G. citri-aurantii</i> tarafından limon (A) ve mandarin (B) meyveleri üzerinde oluşturulan yumuşama (*) ve sporulasyon (ok) şeklinde görülen tipik hastalık belirtileri.....	3
Şekil 3.1	Çalışmalarda uçucu yağları kullanılan bitkilerden karabaş kekik (A), Suriye kekiği (B), kaba kekik (C), rezene tohumları (D), karabaş lavanta (E) ve okaliptus (F)'in farklı vejetasyon dönemi görüntüleri.	17
Şekil 4.1	Uçucu yağların <i>G. citri-aurantii</i> 'nin misel gelişiminin engellenmesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki buhar etkileri.....	27
Şekil 4.2	Uçucu yağların <i>G. citri-aurantii</i> 'nin misel gelişimi üzerine değme etkileri.....	30
Şekil 4.3	<i>G. citri-aurantii</i> 'nin misel gelişimi üzerine uçucu yağların tamamen engelleyen konsantrasyonlarda fungusidal/fungistatik etkinliğinin belirlenmesi.....	34
Şekil 4.4	Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin <i>G. citri-aurantii</i> 'nin misel gelişiminin engellenmesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki değme etkileri.....	37
Şekil 4.5	Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin <i>G. citri-aurantii</i> 'nin spor çimlenmesi engellenmesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki değme etkileri.....	44
Şekil 4.6	Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin <i>G. citri-aurantii</i> 'nin spor çimlenmesi engellenmesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki değme etkilerinin petri üzerindeki görünüşleri.....	45
Şekil 4.7	Karabaş kekik uçucu yağının tamamen engelleyen buhar konsantrasyonuna (7.5 µl/petri) maruz bırakılmış fungus misellerinin petrideki görünümü.....	50
Şekil 4.8	Karabaş kekik uçucu yağının tamamen engelleyen buhar konsantrasyonunun (7.5 µl/petri) fungus hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların ışık mikroskobu altındaki görüntüleri.....	51
Şekil 4.9	Karabaş kekik uçucu yağının tamamen engelleyen buhar konsantrasyonuna (7.5µl/petri) maruz bırakılmış fungus konidilerinin petrideki görünümü.....	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Çalışmalarda uçucu yağları kullanılan bitkilerin bilimsel adı, yöresel adı, toplandığı yer ve toplanma tarihleri.....	16
Çizelge 3.2	Denemede kullanılan bitkisel kökenli uçucu yağ ana bileşenlerin karakteristik özellikleri ve bulunduğu bitkilerdeki işlevi.....	18
Çizelge 4.1	Bitki uçucu yağların farklı buhar konsantrasyonlarının turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni <i>G. citri-aurantii</i> 'nin misel gelişimleri (mm) üzerine antifungal etkinliği.....	26
Çizelge 4.2	Bitki uçucu yağların farklı değme konsantrasyonlarının <i>G. citri-aurantii</i> 'nin misel gelişimleri (mm) üzerine antifungal etkinliği.....	29
Çizelge 4.3	Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin değme fazlarının <i>G. citri-aurantii</i> ' misel gelişimleri (mm) üzerine antifungal etkinliği.....	36
Çizelge 4.4	Bitki uçucu yağlarının buhar fazında <i>G. citri-aurantii</i> ' konidiyal çimlenmeleri üzerine antifungal etkinliği (%)......	39
Çizelge 4.5	Bitki uçucu yağlarının buhar fazında <i>G. citri-aurantii</i> sporlarının çimlenme borusunun gelişimi (μ m) üzerine antifungal etkinliği.....	41
Çizelge 4.6	Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı değme konsantrasyonlarının turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni <i>Geotrichum citri-aurantii</i> sporlarının çimlenmeleri (%) üzerine antifungal etkinliği.....	43
Çizelge 4.7	Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı değme konsantrasyonlarının turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni <i>Geotrichum citri-aurantii</i> sporlarının çimlenme borusu gelişimi (μ m) üzerine antifungal etkinliği.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

l	: Litre
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
h	: Saat

KISALTMALAR

DMSO	: Dimethyl sulfoxide (çözücü)
EC ₅₀	: Fungus gelişimini %50 düzeyde engelleyen etkili konsantrasyon
GC-MS	: Gas Cromotography-Mass Spectroscopy (Gaz kromatografi ve kütle spektroskopisi)
PDA	: Patates Dekstroz Agar ortamı

1. GİRİŞ

Turunçgiller başta C vitamini olmak üzere zengin vitamin ve mineral içeriğine sahip olan insan sağlığı için son derece önemli meyvelerdir. Turunçgiller, taze olarak tüketilmelerinin yanında, meyve suyu, konserve ve reçel-marmelat olarakta tüketilir. Ayrıca kabuğu, yaprağı ve çiçeğinden elde edilen aromatik yağlar eczacılık ve parfüm sanayinde de kullanılmaktadır. Son yıllarda gelişmiş ülkelerde işlenmiş turunçgil ürünlerinin tüketimi taze tüketimden daha büyük bir artış göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde modern işleme tesislerinin bulunması ve işlenmiş ürünlerin nakliye ve depolama koşullarına uygunluğu bu ürünlerin tüketimini artırmaktadır. Turunçgil meyvelerinin olgunlaşmasının uzun bir döneme yayılması ve olgunlaşan meyvelerin ağaç üzerinde bekletilebilmesi pazarlamada oldukça kolaylık sağlayabilmektedir. Son üç yılda Türkiye'nin yaş meyve ve sebze ihracatının yarısının turunçgillerden karşılanıyor olması turunçgil üretiminin Türkiye açısından önemini de ortaya koymaktadır. Ülkemizde Akdeniz, Ege ve Doğu Karadeniz bölgelerinde turunçgil yetiştiriciliği ve ihracatı günden güne artmakta dolayısıyla ülke ekonomisine önemli katkılarda bulunmaktadır. Dünya 2012 yılı turunçgil üretimi 131.283.333 ton olarak kaydedilmiştir. (Anonymous, 2012). Dünya turunçgil üretiminde ülkemiz, 3.556.000 ton üretimiyle Çin, Brezilya, Amerika Birleşik Devletleri, Hindistan, Meksika, İspanya, İtalyaMısır'dan sonra 9. sırada gelmektedir. Bu üretimin %48'i portakal, %24'ü mandarin, %22'si limon ve %6'sı altıntoptur. Ulusal Turunçgil Konseyi'nin 2013 yılı verilerine göre Türkiye'nin toplam turunçgil ihracatı 1.361.133 ton satıştan elde edilen 932.890.000 dolarlık bir gelir ile toplam yaş meyve ve sebzeler içerisinde yaklaşık %41 oranı ile birinci sırada yer almaktadır. Turunçgil ihracatında mandarin ilk sırada gelmekte olup bu meyveyi, limon, portakal ve altıntop izlemektedir (Anonim, 2014).

Turunçgiller ülkemizde en fazla Akdeniz, Ege ve kısmen de Doğu Karadeniz bölgelerinde yetiştirilmektedir. Adana, Mersin ve Hatay illerinin yer aldığı Akdeniz bölgesi Türkiye'deki toplam turunçgil üretiminin %72'ini karşılamaktadır. Altıntop ve limonun % 90'ı, portakal ve mandarinin % 69'ı bu bölgeden elde edilmektedir. Mersin, limon üretiminde ilk sırada iken, Adana ve Hatay'da portakal en fazla üretilen ürün olmaktadır. Adana, greyfurt (altıntop) ve mandarin üretiminde ülkemizde birinci sırada yer almaktadır (Anonim, 2013b).

Ülke ekonomisi ve yöre çiftçisi açısından oldukça önemli olan turunçgil meyvelerinde hasat ve hasat sonrası dönemlerinde fungal hastalık etmenlerinin neden olduğu oldukça ciddi ürün kayıpları ortaya çıkmaktadır. Hasat sonrası hastalıklar nedeniyle turunçgillerde bahçe, hasat, taşıma ve depolama döneminde ortalama % 10-30 ürün kayıpları oluşurken, bu rakam yoğun inokulum kaynaklarının bulunduğu durumlarda %50' yi bile aşabilmektedir (Kaplan ve Dave, 1979; Salunkhe ve Desai, 1984; Wilson ve Pusey, 1985; Ağar, 1987; Cohen, 1989; Wilson ve Ark., 1994).

Turunçgil meyveleri bahçeden soframıza gelinceye kadar farklı aşamalarda birçok fungal hastalık etmeninin saldırısına maruz kalmaktadır. Fungal hastalıklar meyve ve sebzelerde olduğu gibi, turunçgillerin hasadı, depolanması, paketlenmesi ve taşınmaları sırasında en fazla ürün kaybına neden olan biyotik faktörlerin başında gelir (Eckert ve Eaks, 1989). Fungal etmenlerden başında yeşil küf ve maviküf çürüklüğü etmenleri *Penicillium digitatum*, *P. italicum*, Meyve içi siyah çürüklük etmeni *Alternaria alternata*, kurşuni küf etmeni *Botrytis cinerea* ve siyah çürüklük hastalığı etmeni *Aspergillus niger* ve ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii* (Ferr.) Butler (syn. *Geotrichum candidum* Link ex Pers.)'turunçgillerde depolama sırasında önemli kayıplara neden olmaktadır. (Eckert, 1978; Whiteside ve ark., 1988).

Turunçgillerde maya-benzeri fungal hastalık etmeni *G. citri-aurantii* tarafından neden olunan ekşi çürüklük hastalığından kaynaklanan hasat sonu ürün kayıpları özellikle son yıllarda hızla artmış, birçok ülkede paketlenme evlerinde ciddi epidemiler sonucunda ürün kaybına neden olarak ülkelerin turunçgil ihracatlarını olumsuz yönde etkilemeye başlamıştır (Eckert 1978; Rippon ve Morris 1981; Brown 1988; Eckert ve Brown, 1988; Cohen ve ark., 1991).

Ekşi çürüklük, turunçgillerde yeşil ve mavi küf hastalığından sonra en önemli 2. hasat sonu hastalığıdır. Hastalık özellikle zayıf düşmüş, yaralı, ezilmiş meyvelerde sıkça görülür. Tüm turunçgil çeşitlerinde görülürken, özellikle uzun muhafaza koşullarında bekletilen limon ve greyfurt meyvelerinde daha yaygın görülür. Don ve üşüme zararı gören meyvelerde hastalık özellikle teşvik edilir. Hastalık etmeni meyvelere çeşitli nedenlerle açılmış olan yaralardan giriş yaptıktan sonra, özellikle olgunlaşan meyvelerde hızla enfeksiyona neden olur. Fungal etmen uygun çevre koşullarında (25-30 °C çevre sıcaklığında) enfekte ettiği meyveyi önce yumuşatır, sonra yumuşayan yüzeyde beyaz misel gelişimi görülür ve enfekteli meyvede fermente kokusu yayılır.

Enfeksiyondan 4-5 gün gibi çok kısa bir süre içinde hastalıklı meyve tamamen yumuşayarak çürütür (Şekil 1.1). Çürümüş meyveler üzerinde daha sonra *P. digitatum*, *P. italicum*, *A. niger*, *A. alternata*, *B. cinerea* gibi diğer saprofit karakterlerdeki fungal hastalık etmenlerinin gelişiminde sıkça görülebilir. Hastalık etmeni çürümüş meyvelerin temas ettiği sağlıklı meyvelere yaralardan kolayca bulaşarak depodaki tüm üründe büyük kayıplara neden olur. Hastalık etmeninin domates, hıyar, havuç ve sert çekirdekli meyveler başta olmak üzere oldukça geniş bir konukçu dizisine sahip olduğu bildirilmiştir (Suprapta ve ark., 1995; Palou ve ark., 2009). *Geotrichum candidum*'un bazı ırkları gıda sektöründe özellikle peynirlerde mayalanmayı başlatan ve olgunlaştırıcı hızlandırıcı olarakta kullanılmaktadır (Eliskases-Lechner ve ark., 2011). Turunçgillerde hastalık oluşturan *Geotrichum citri-aurantii*, turunçgil ırkı olarak tanımlanmış olup hastalık etmeni ayrıca *Galactomyces citri-aurantii* (Ferr.) Butler olarakta bilinir (Butler ve ark., 1988).



Şekil 1.1. Ekşi çürüklük hastalık etmeni *G. citri-aurantii* tarafından limon (A) ve mandarin (B) meyveleri üzerinde oluşturulan yumuşama (*) ve sporulasyon (ok) şeklinde görülen tipik hastalık belirtileri.

Turunçgillerde hasat sonu hastalıklarla mücadelede kullanılan kimyasal uygulamalar hastalık etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'ye karşı yeterince etkili değildir. Nitekim pek çok hasat sonu hastalık etmenine karşı öncelikle kullanılan Imazalil ve Thiabendazole etken maddeleri içeren fungusitler daha sonraki yıllarda *Geotrichum citri-aurantii*'ye karşı yeterince etkinlik gösterememiştir (Brown ve Miller 1999; Liu ve ark., 2009). Hastalık etmenine karşı fungusitlerden sodium o-phenylphenate kısmen etkinlik göstermektedir (Rippon ve Morris 1981; Feng ve ark., 2011). Etkili bir kimyasal mücadelesi olmayan bu etmene karşı hasat ve taşıma esnasında meyvelerin yaralanmamasına özen gösterme, hasatın yağmurlu ve nemli zamanlarda yapılmasından kaçınma, düşük sıcaklıkta depolama gibi kültürel önlemlerle hastalıkla mücadele yapılmaya çalışılmaktadır (Eckert ve Brown 1988). Hao ve ark. (2010)'a göre bazı ülkelerde kullanılan ve hastalığa karşı etkili olduğu bildirilen Guazatine terkipli fungusitlerin diğer ülkelerde ruhsatlı olmaması, kullanılan fungusitlere karşı patojenin dayanıklı yeni ırklarının gelişmesi, kültürel önlemlerin hastalığın ortaya çıkışında ve epidemiy yapmasında etkili olamaması gibi durumlar, üreticiler ile ve bilim insanlarını hastalık etmeniyle mücadelede yeni alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine yöneltmiştir (Bus ve ark., 1991). Son yıllarda hastalık etmenleri ile biyolojik mücadele, dayanıklılığın teşvik edilmesi, doğal bitkisel preparatların kullanılması gibi çalışmalara hız verilmiş ve olumlu sonuçlar alınmaya başlanmıştır. Gerek ülkemizde gerekse diğer ülkelerde, çevreye ve insan sağlığına zarar vermeyen, kalıntı süresi uzun olmayan, tıbbi ve baharat niteliği taşıyan bitkilerdeki antimikrobiyal, insektisidal ve herbisidal aktiviteye sahip bitkisel kökenli uçucu yağ ve bitki ekstraktlarının kullanımına dair çalışmalara ağırlık verilmiştir (Benjilali ve ark., 1984; Balandrin, 1985; Locke ve ark., 1993; Dixit ve ark., 1995; Suprapta ve ark., 1997; Isman, 2000; Burt, 2004; Shahi ve ark., 2003; Köse, 2007; Bakkali ve ark., 2008; Kordali ve ark., 2008; Viuda-Martos ve ark., 2008; Soylu ve ark., 2010; Feng ve ark., 2011).

Özellikle bitkisel kökenli ekstrakt ve uçucu yağların turunçgillerde hasat sonu hastalık etmenleri ile mücadelede kullanılması çalışmalarında artış kaydedilmekle birlikte (Caccioni ve ark., 1998; Aras ve Usai, 2001; Soylu ve ark., 2005; Amaziene ve ark., 2007; Shikanga ve ark., 2009; du Plooy ve ark., 2009; Liu ve ark., 2009; Camele ve ark., 2010; Combrinck ve ark., 2011) çalışmamıza konu olan ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii* ile ilgili oldukça kısıtlı sayıda çalışmaya rastlanılmıştır.

Hatay ilinde içinde yer aldığı Doğu Akdeniz Bölgesinde yapılan sörveylerde kekik, mercanköşk, defne, biberiye, lavanta, oğul otu, adaçayı vb. tıbbi ve aromatik yapılı bitkilerin doğal ve yoğun bir şekilde yetişmekte olduğu, yöre halkının bu bitkilerin büyük bir çoğunluğunu insanlarda karşılaşılan hastalıkları tedavide kullandığı belirlenmiştir (Ayanoglu ve ark., 2000).

Yapılan bu çalışmada, farklı bitki türlerine ait uçucu yağlar ile bu yağların ana bileşenlerinin turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'ye karşı mücadelede alternatif bir yöntem olarak yararlanabilme olanakları araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda Hatay ilinde içinde yer aldığı Doğu Akdeniz Bölge florasında yetişen tıbbi ve aromatik özellikteki Suriye kekiği (*Origanum syriacum* var. *bevanii* Holmes), kaba kekik (*Thymus serpyllum* L.), karabaş kekiği (*Thymbra spicata* subsp. *spicata* L.), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.), karabaş lavanta (*Lavandula stoechas* var. *stoechas* L.) ve okaliptus (*Eucalyptus camandulensis* L.) bitki türlerinden elde edilen uçucu yağlar ile aldehit (*trans*-cinnamaldehyde), fenol (carvacrol, *trans*-anethole ve eugenol), keton (carvone) ve alkol (linalool) yapılarındaki farklı bitkisel kökenli uçucu yağ ana bileşenlerin *in vitro* koşullarda antifungal etkinliği *Geotrichum citri-aurantii*'nin misel, spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerine değme ve buhar etkinlikleri farklı konsantrasyonlar kullanılarak araştırılmıştır. Işık mikroskobu altında yapılan mikroskobik gözlemler ile etkili bulunan uçucu yağ ve ana bileşenlerin fungus hifleri ve sporlarının morfolojik yapılarında sebep olduğu değişikliklerde belirlenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Caccioni ve ark. (1998), hidrodistilasyon yöntemi ile farklı narenciye meyvelerinden elde ettikleri uçucu yağları, mavi ve yeşil küf hastalık etmenlerinden *Penicillium digitatum* ve *Penicillium italicum* gelişimi üzerine olan antifungal etkilerini araştırmışlardır. Portakal (*Citrus sinensis* cv. Washington navel, Sanguinella, Tarocco, Moro, Valenciate ve Ovale); turunç (*Citrus aurantium*); mandarin (*Citrus deliciosa* cv. Avana); altıntop (*Citrus paradisi* cv. Marsh seedless ve RedBlush); limon (*Citrus limon* cv. Femminello) türlerinden hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların içerikleri GC ve GC-MS analizleri ile ortaya konulmuştur. Uçucu yağların, antifungal etkinlik oranını devamlı olarak azalttığı sonucuna varılmıştır. Monoterpen içeren uçucu yağlarının limone ve sesquiterpen içerenlere kıyasla *Penicillium digitatum*'a karşı daha geniş antifungal aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Vargas ve ark. (1999), portakal uçucu yağından izole edilen flavones, dehydroabietic acid ve linoleil mono glyceride bileşenlerinin antifungal etkinliklerini *Geotrichum candidum*'a karşı araştırmışlardır. Bu bileşenler test edilen fungusa karşı değişen oranlarda antifungal etki göstermiştir. Ticari fungusit, Benomyl (methyl-1-[butylcarbamoyl]-2-benzimidazole carbamate) test edilen fungal etmene karşı herhangi bir engelleme göstermezken, portakaldan izole edilen hexa ve hepta methoxy flavonlar *Geotrichum candidum*'a karşı yüksek düzeylerde fungusidal etki göstermişlerdir.

Yiğit ve ark.(2000), *in vitro* koşullarda farklı bitkilere ait uçucu yağlar ile yapmış oldukları çalışmada, kimyon uçucu yağın 0.04 ml konsantrasyonunda maviküf etmeni *Penicillium digitatum*'un spor çimlenmesi ve misel gelişimini tamamıyla engellediğini belirlemişlerdir. Kekik (*Thymus vulgaris*), dereotu (*Anethum graveolens*), kişniş (*Coriandrum sativum*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis*) uçucu yağlarının PDA ortamında değme etkilerine baktıklarında, bu yağların fungusun misel gelişimine etki etmediğini belirlemişlerdir. Söz konusu bu bitkilerin buhar (uçucu) etkileri fungusun misel gelişimini sırası ile (%85.8), (%82.8), (%80) ve (%71.4) oranlarında engellemiştir. Dereotu (*Anethum graveolens*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis*) yağları aynı zamanda fungusun miselleri üzerinde renk değişimlerine de neden olmuştur.

Elgayyar ve ark. (2001), bitki uçucu yağlarının mikroorganizmalara karşı sahip oldukları antimikrobiyal etkinliğini Agar Difüzyon metodu ile araştırmışlardır. Çalışmalarında anason, melekotu, fesleğen, havuç, kereviz, kişniş, dereotu, rezene, maydanoz ve biberiye uçucu yağlarını *Listeria monocygenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactobacillus plantarum*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum* ve *Rhodotorula* gibi bakteriyel ve fungal patojenlere karşı testlemişlerdir. Çalışma sonucunda kekik uçucu yağının patojenlerin gelişimlerini tamamıyla engellediği, havuç uçucu yağının ise herhangi bir engelleme göstermediğini belirlemişlerdir. Kişniş ve fesleğen uçucu yağının ise 25-50 ppm konsantrasyonlarında bakteri ve fungusların gelişimlerini yüksek düzeylerde engellediklerini bildirmişlerdir.

Bouzouita ve ark. (2003), kekik (*Thymus capitatus*), fesleğen (*Ocimum basilicum*), mersin (*Mrytus communis*), defne (*Laurus nobilis*) gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkilerini *Geotrichum candidum*, *Lactobacillus plantarum* ve *Escherichia coli*'ye karşı araştırmışlardır. Sonuç olarak kekik (*T. capitatus*) ve fesleğen (*Ocimum basilicum*) uçucu yağlarının yüksek derecede antimikrobiyal oldukları görülmüştür. Ayrıca, kullanılan uçucu yağların *Lactobacillus plantarum*'a olan etkilerinin *Escherichia coli* bakterisine olan etkilerinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Portillo-Ruiz ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada Meksika kekiği olarak bilinen *Lippia berlandieri* uçucu yağının antifungal etkinliğini araştırmışlardır. *Lippia berlandieri*'in % 0.25-4.0 konsantrasyonlarında antifungal etkisi PDA ortamında değerlendirilmiştir. *Lippia berlandieri* antifungal etkinliği *Penicillium*, *Geotrichum*, *Aspergillus* ve *Bipolaris* gibi patojenler üzerinde disk difüzyon testi ile belirlemişlerdir.. *Lippia* uçucu yağı denemelerde kullanılan tüm funguslara karşı değişen konsantrasyonlarda değişen oranlarda antimikrobiyal etkinlik saptamışlardır.

de Albuquerque ve ark. (2006), *Lippia gracilis* uçucu yağının antimikrobiyal etkilerini farklı fungus ve endofitik *Heliconia* bakterilerine karşı araştırmışlardır. Söz konusu uçucu yağın *Geotrichum candidum*, *Trichoderma viride*, *Torula herbarum*, *Paecilomyces* sp., *Fusicoccum* sp., *Paecilomyces aeruginens*, *Curvularia lunata*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus. niger* gibi fungal patojenlerin misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliği 0, 420, 440; 460; 480; 500 µl/l

konsantrasyonlarında araştırılmıştır. Uçucu yağın 420 µl/l konsantrasyonunda *C. lunata* ve *A. niger* dışındaki fungus ve bakterilere karşı %100 engelleme gösterdiği belirlenmiştir. *Salmomella choleraeuis*, *Entobacterasburiae*, *Bacillus thuringiensis*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *E. hormaechei* ile yapılan çalışmada ise test edilen uçucu yağa karşı *E. hormaechei*’nin en duyarlı, *Klebsiella pneumoniae* ise en dayanıklı bakteri türleri olduğu sonucuna varılmıştır.

Szczerbanik ve ark. (2007), *in vitro* ortamında yaptıkları çalışmada nane, çay, çam, tarçın gibi bitki uçucu yağlarının buhar fazlarını, hasat sonunda ortaya çıkan fungal etmenlerin gelişimini engellediklerini bildirmişlerdir. Nane ve çay uçucu yağlarının *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum* sp., *Geotrichum candidum*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus niger* ve *Cladosporium cladosporioides*’e karşı çam ve tarçın uçucu yağlarında daha etkili olduklarını belirlerken, *Penicillium digitatum*’a karşı bu etkinin daha düşük düzeylerde olduğunu bildirmişlerdir. Nane ve çay yağlarının *Penicillium digitatum*, *Aspergillus niger* ve *Rhizopus. oryzae*’de sporulasyonu azalttıkları bunun yanı sıra *A. niger*’de spor çimlenmesini engelledikleri görülmüştür. Elde ettikleri sonuçlar nane ve çay uçucu yağlarının buhar fazlarının, hasat sonu patojenlerine karşı etkili olduklarını göstermiştir.

Ameziane ve ark. (2007), narenciye meyvelerinde meydana gelen hastalıkların mücadelesinde, kimyasal kullanımına yeni alternatifler sağlamak adına araştırma yapmışlardır. Bu anlamda Fas bölgesinde bulunan 21 adet tıbbi ve aromatik bitki türünün *Geotrichum candidum*, *Penicillium italicum* ve *Penicillium digitatum*’a karşı antifungal aktivitelerini incelemişlerdir. Bitki özütleri, uçucu yağlar ve çözücü ekstratlarının antifungal etkinlikleri *in vitro* ortamda test edilmiştir. Bunlardan kekik (*Thymus leptobotrys*), ladin (*Cistus villosus*) ve üzerlik otu (*Peganum harmala*) özütlerinin patojen gelişimini tamamen engelledikleri bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra ökaliptus (*Eucalyptus globulus*) bitki özütünün *Geotrichum candidum* ve *Penicillium digitatum*’ un misel gelişimini tamamen engellediğini saptamışlardır.

Dulger ve ark. (2008a), yaptıkları çalışmada, Türkiye’de yaygın olarak bulunan *Salvia tigrina* bitkisinin; yaprak, anaç ve bunların kombine olmuş formülasyonlarından elde edilen etanol ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. *Alternaria alternara*, *Fusarium oxysporum*, *Geotrichum candidum*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium frequentans*, *Aspergillus flavus*, *Cryptococcus* türleri (*C. neoformans* ve *C. Laurentii*),

Candida türleri üzerinde (*C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. guilliermondii*) antimikrobiyal etkilerini makro seyreltme yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar bileşenin en düşük engelleyen konsantrasyonlarının (MIC) 3.12-25 mg/ml konsantrasyonları arasında olduğu sonucuna varmışlardır. Sonuç olarak tüm ekstratlar, fungal kültüre karşı güçlü etkiler göstermişlerdir. Ayrıca *Candida albicans*, *Candida neoformans* ve *Botrytis cinerea*’ya karşı antifungal etkilerinin diğer patojenlere karşı daha etkili olduğu sonucu çıkmıştır.

Dulger ve ark. (2008b), *Satureja caribaea* bitkisinden elde ettikleri metanol ekstraktlarının antifungal etkinliğini *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Cryptococcus neoformans*, *laurentii*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium frequentans*, *P. canescens* ve *Botrytis cinerea* gibi fungal hastalık etmenlerine karşı agar difüzyon ve makro seyreltme metotlarını kullanarak incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre bitki ekstraktının MIC konsantrasyonları 6.25-25 µg/ml arasında değişmiş olup, bu konsantrasyonlarda test edilen fungal etmenlere karşı çapları 11.6-18.8 mm değişen engelleme zonları oluşturmuştur. Sonuç olarak bu ana bileşenin funguslara karşı güçlü etki gösterdiği ayrıca *Candida albicans*’ın bu ekstrakta daha duyarlı olduğu gözlemlenmiştir.

Liu ve ark. (2009), *Geotrichum citri-aurantii*’ye karşı, kekik (*Thymus vulgaris*) uçucu yağının antifungal etkilerini *in vitro* ve *in vivo* ortamda araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre PDA (Patates Dekstroz Agar) ortamında, spor çimlenmesi ve spor çimlenme borusu gelişiminin uçucu yağ tarafından 600 µl/l konsantrasyonunda %94 oranında engellendiği, *in vivo* koşullarda yapılan denemelerde çürüme oranının kontrol uygulamalarında %78.1 iken uçucu yağ uygulaması görmüş meyvelerde %14.1 oranına gerilediğini tespit etmişlerdir. Elektron mikroskobu ve taramalı ışık mikroskobu ile bakıldığında uçucu yağ uygulamalarına maruz bırakılmış hif ve sporlarda belirgin şekilde kırışmalar, plazma zarının bozulması, mitokondriyal düzensizlikler gibi morfolojik değişiklikler olduğunu belirlemişlerdir.

Linde ve ark. (2010), Güney afrikada yetişen *Lippia rehmannii* (Verenaceae) isimli aromatik bitkinin uçucu yağının ana bileşenlerini citral, borneol, camphor, methylcetate, isocaryophyllene, p-cymene, β-caryophyllene ve β-caryophylleneoxide olarak belirlemişlerdir. *Lippia rehmannii* uçucu yağının *in vitro* koşullarda etkinliği

limon otu (*Cymbopogon citratus*) ve saf citral bileşeni ile karşılaştırıldığında, hastalık yapan patojenlere karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu sonucu çıkmıştır. *Lippia rehmannii* uçucu yağı *Lasiodiplodia theobromae* ve *Botrytis cinerea* patojelerinin gelişimini kısmen engellemiştir. *In vitro* da yapılan çalışmalarda ise bu uçucu yağın *Fusarium oxysporum* ve *Rhizoctonia solani*' ye karşı önemli bir etkiye sahip olduğu fakat etkinliğin tarla koşullarında da araştırılması gerektiği sonucu ortaya çıkmıştır.

Camele ve ark. (2010), Akdeniz Bölgesi'nde bulunan 12 aromatik bitkiden elde edilen uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının antifungal etkinliğini turunçgillerde önemli hasat sonu fungal patojenlerden, *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum*, *Phytophthora citrophthora* ve *Rhizopus stolonifer* karşı araştırmışlardır. Bu uçucu yağlardan, kekik türleri (*Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*), rezene (*Foeniculum vulgare*), zufa otu (*Hyssopus officinalis*), mercan köşk (*Majorana hotensis*), oğul otu (*Melissa officinalis*), fesleğen (*Ocimum basilicum*), *Verbena officinalis*, anason (*Pimpinella anisum*) ve Frenk kimyonu (*Carum carvi*) gibi bitkilerden elde edilmiştir. *In vitro* da yapılan çalışmalarda yalnızca *Verbena officinalis*, *T. vulgaris* ve *O. vulgare* uçucu yağlarının kuvvetli düzeyde antimikrobiyal etkiye sahip olduklarını belirlemişlerdir. Kekik (*T. vulgaris*) yağının 2000 ppm konsantrasyonunda fungal etmenlerden *Botrytis cinerea*, *P. citrophthora* ve *R. stolonifer*'in gelişiminde etkili olduğu, fakat mavi küf hastalığı etmeni *P. italicum*'a karşı etki göstermediği saptamışlardır. Buna ek olarak *V. officinalis* ve *Origanum vulgare* uçucu yağlarında *Phytophthora citrophthora*, *Botrytis cinerea* ve *Penicillium italicum*' un oluşturduğu enfeksiyonları engellendiğini belirlemişlerdir.

Tserennadmid ve ark. (2011), süt ve meyve suları gibi gıda maddelerinde bozulmalara neden olan *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichiaa nomala* ve *Geotrichum candidum* 'a karşı adaçayı, ardıç, mercan köşk ve limon gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Uçucu yağlara en duyarlı patojenin *S. pombe* olduğu ve test edilen en düşük engelleme konsantrasyon (MIC) değerinin 0.0625-0.125 µl/ml olduğu sonucu çıkmıştır. Bunun yanı sıra en dayanıklı patojenin ise *Geotrichum candidum* olduğu, en düşük engelleme konsantrasyon (MIC) değerinin ise 0.5-2 µl/ml aralığında olduğunu belirlemişlerdir. *Geotrichum candidum* gelişiminin yüksek uçucu yağ konsantrasyonlarda önemli derecede azaldığı, düşük konsantrasyonlarda ise arttırdığını gözlemlemişlerdir. Uçucu

yağlar özellikle asidik pH ortamında daha etkili olduğunu saptamışlardır. Ardiç ve adaçayı uçucu yağ karışımlarının *Geotrichum candidum* ve *S. cerevisiae* patojen gelişimlerine karşı etkili olduğu, fakat diğer bitki uçucu yağ karışımlarının etkileşim göstermediğini saptamışlardır.

Günümüzde doğal ürünler oluşturmak için çeşitli sentetik fungusitler kullanılmaktadır. *In vitro* ve *in vivo* koşullarda deneyler yapılmış ve *in vitro* ortamda yapılan deneyler *in vivo* ortama göre daha etkili sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Uçucu yağların patojenlere karşı çeşitli konsantrasyonlarda etkili olduğu kanısına varılmıştır.

Bu anlamda Combrinck ve ark. (2011), *in vitro* ortamda yapmış oldukları çalışmada, avakado, armut, üzüm ve narenciyelerden elde edilen uçucu yağların *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria citrii*, *Botrytis cinerea* ve *Penicillium digitatum* gibi patojenlerin fungal gelişimlerine karşı antifungal etkilerini araştırmışlardır. Bazı uçucu yağ bileşenlerinin etkileri farklı spektroskopi yöntemleri kullanılarak sayısal verileriyle tespit etmişlerdir. Test edilen uçucu yağlar arasında kekik uçucu yağları funguslara karşı en etkili uçucu yağlar olarak belirlemişlerdir. Eugenol içeren tarçın yağı her nekadar iyi bir engelleme etkinliği gösterebilir, carvone'ca zengin uçucu yağlar antifungal etkinlik yönünden oldukça tatminkar sonuçlar verdiğini saptamışlardır.

Fatemi ve ark. (2011), hasat sonunda meyve kalitesini korumanın yanı sıra, yeşil küf hastalık çıkışını engellemek için doğal bileşiklerin etkilerini araştırmışlardır. Nane ve kekik bitkilerinden elde edilen uçucu yağları sırasıyla, 0, 100, 300, 500 ve 1000 ppm konsantrasyonlarda uygulamışlardır. Sonuçta nane ve kekik uçucu yağlarının 1000 ppm'lik konsantrasyonlarda çürümeyi (%27) oranında azalttığı gözlemlenmiştir. Toplam Asit içeriğine bakıldığında, inokule edilmiş veya edilmemiş meyvelerde uçucu yağ etkilerinin önemli derecede farklılıklar gösterdiği sonucu çıkmıştır. 100 ppm de 1.49 mg kekik uçucu yağı ile inokule edilmiş meyvelerde toplam asit değerinin yüksek olduğunu saptamışlardır. Ayrıca inoküle edilmemiş meyvelerde 11.75 Brix oranlı katı çözünür içeriği yüksek çıkmıştır. Kekik uçucu yağının narenciye meyvelerindeki fungus hastalıklarıyla mücadelede önemli bir etkiye sahip olduğu fakat daha uygun formülasyonlara ulaşmak için daha yapılması gereken çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Talibi ve ark. (2012a), *in vitro* ve *in vivo* koşullarda yapmış oldukları çalışmada, Fas'ın güneyinde bulunan 43 bitki türünden elde ettikleri toz ve sulu ekstratların, ekşi  r kl k etmeni olan *Geotrichum candidum*'a karşı antifungal etkilerini araştırmışlardır. Farklı 43 bitki arasında yapılan testler sonucunda, harnup (*Ceratonia siliqua*), laden (*Cistus monspeliensis*) ve böğürtlen (*Rubus ulmifolius*) bitkilerinin *Geotrichum candidum* misel gelişimini tamamıyla engellediği ortaya çıkmıştır. Ayrıca ladin g l  (*Cistus villosus*), itlenbik (*Pistacia atlantica*), (*Halimium antiatlanticum*), andız (*Inula viscosa*), (*Ighermia pinifolia*) ve (*Hammada scoparia*) bitki tozlarının da *Geotrichum candidum* misel gelişimini %80 oranından daha fazla düzeyde engellediği gözlemlemişlerdir.

Chafer ve ark. (2012), portakal meyvesi üzerinde hasat sonu patojenlerin meydana getirdikleri hastalıklara karşı bergamot, kekik ve çay uçucu yağlarının antifungal etkilerini araştırmışlardır. Portakal meyvelerine yapay olarak *Penicillium italicum* (10⁵ spor/ml) inokulasyonu yapılmış, hastalığın önlenmesi ve iyileştirilmesi adına denemede kullanılan uçucu yağların antifungal etkileri değerlendirilmiştir. Soğuk depolarda yapılan çalışmada, farklı uçucu yağ uygulamalarının portakal üzerinde; asit, pH, katı çözünürlük, meyve suyu yüzdesi, ağırlık kaybı, sertlik, renk parametreleri, solunum oranları gibi parametreler kullanmışlardır. Kontrol uygulamaları ile karşılaştırıldığında; çay bitkisi uçucu yağının mikrobiyal gelişmeyi büyük ölçüde azalttığını belirlemişlerdir. Bergamot yağı içeren meyvelerde ise ağırlık ve sertlikte meydana gelen hafif azalmanın dışında diğer kalite parametrelerinde herhangi bir değeriklik ortaya çıktığını gözlemlemişlerdir.

Perez-Alfonso ve ark. (2012), *in vivo* ve *in vitro* ortamda yaptıkları çalışmada, thymol, carvacrol ve her iki bileşen karışımının *Penicillium digitatum* ve *Penicillium italicum*' a karşı antifungal etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak her iki bileşenin de *in vitro* ortamda fungal gelişimi engellediği fakat thymol' n carvacrol'e oranla daha yüksek antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir.

Talibi ve ark.(2012a), yaptıkları çalışmalarında, ekşi  r kl k etmeni olan *Geotrichum candidum* mücadelesinde kullanılan kimyasal fungusit kullanımını azaltmayı amaçlamışlardır. Bazı bitkilerden elde edilen ekstratların kullanıldığı çalışmalarında bitkilerden elde edilen ekstrakt ve ana bileşenlerin fungusa karşı göstermiş olduğu en düşük engelleme konsantrasyonları (MIC) ile en düşük fungusidal

konsantrasyonlarını belirlemişlerdir. Laden (*Cistus villosus*), keçiboynuzu (*Ceratonía siliqua*) ve (*Halimium umbellatum*) bitkilerinden elde edilen metanol ana bileşenlerinin en düşük engelleme konsantrasyon (MIC) değerleri 0.156 ve 1.25 mg/ml arasında değişen, yüksek antifungal etki göstermişlerdir. Düşük fungusidal konsantrasyonlarda (MFC) ise fungus gelişimini engelleme değerleri 2.5 ve 5 mg/ml arasında değişmektedir. *Cistus villosus*, *Ceratonía siliqua* ve *Halimium umbellatum*'un ana bileşenleri, mandalina meyvesindeki ekşi çürüklük oranını %11.66 dan %0.00 – 3.33 oranlarına düşürmüştür. Çalışmanın geneline baktığımızda *C. villosus*, *C. siliqua* ve *H. umbellatum* bitkilerinin hastalık etmeni ile mücadelede kullanılabilecek alternatif kimyasallar olduğu sonucuna varılmıştır.

Talibi ve ark.(2012b), Fas bölgesinde yetişen 50 bitki türünden elde edilen ekstraktların, antifungal etkilerini narenciye meyvelerinde maviküf oluşumuna neden olan *Penicillium italicum*' a karşı araştırmışlardır. *In vitro* da yapılan çalışmada *Anvillea radiata* ve *Thymus leptobotrys* bitki ekstraktlarının %10 konsantrasyonlarda *P. italicum*' un misel gelişimini büyük ölçüde engellediklerini saptamışlardır. Ayrıca *Asteriscus graveolens*, *Bubonium odorum*, *Ighermia pinifolia*, *Inula viscosa*, *Halimiumum bellatum* *Hammada scoparia*, *Rubus ulmifolius*, *Sanguisor baminor* ve *Ceratonía siliqua* bitki ekstraktlarının *Penicillium italicum* misel gelişimini %75'den daha fazla engellediğini belirlemişlerdir. Test edilen bitkilerin sulu ekstratları spor çimlenmesini önemli ölçüde ($P<0.05$) engellediğini gözlemlemişlerdir. *A. graveolens*, *B. odorum* ve *H. umbellatum* sulu ekstratları 10 mg/ml konsantrasyonlarda *P. italicum* spor gelişimini bütünüyle engellemiştir. *Halimium umbellatum* ve *I. viscosa* bitkilerinin sulu ekstratları, *in vitro* ve *in vivo* da narenciye meyveleri üzerindeki maviküfe hastalık çıkışına karşı en etkili bitkiler olduğunu belirlemişlerdir. Uygulamaların maviküf hastalık çıkışının %25 ten %5' e düşürmüşlerdir.

Askarne ve ark. (2013), narenciyelerde mavi küf oluşumuna neden olan *Penicillium italicum*'a karşı, 8 adet tıbbi ve aromatik bitki ekstratları ile chloroform, ethylacetate ve metanol bileşenlerinin antifungal etkilerini araştırmışlardır. Anduz otu (*Inula viscosa*), (*Asteriscus graveolens*), (*Bubonium odorum*) ve (*Thymus leptobotrys*) bitkilerindeki Petroleum ether ve (*Anvillea radiata*) bitkisinde bulunan chloroformic, bazı bölgelerde 25.83–28.33 mm çaplarında değişen yüksek antifungal etki göstermişlerdir. En düşük engelleme konsantrasyonlarında (MIC), *Inula viscosa* bitkisi

Petroleum ether' in 27.50 mm çapından geniş haleler oluşturmasıyla en etkili ekstrakt olmuş ve MIC değerinin 1 mg ml⁻¹ olduğunu saptamışlardır. *In vitro* ve *in vivo* da yapılan çalışmada, en aktif bitki ekstratları ve bitkilerden seçilen çözücü ekstratların, maviküfün oran ve şiddetini 20 °C deki depolarda 7-10 gün içinde azalttığını gözlemlemişlerdir. Bunlara ek olarak *Halimiumum bellatum* bileşeni methanol ve *T. uleptobotrys* bileşeni petroleum ether aynı depolama koşullarında *Penicillium italicum* gelişimini tamamen engellediğini saptamışlardır.

Zhou ve ark. (2014), turunçgil meyvelerinde bulunan citral, octanal, ve terpineol adlı 3 farklı uçucu bileşenin antifungal etkinliği ve etki mekanizmalarını turunçgil ekşi ürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii* ye karşi araştırmış oldukları çalışmalarında, bileşenlerin değişen konsantrasyonlarda fungal etmene karşi antifungal etkinlik gösterdiklerini belirlemişlerdir. Bileşenler içinde etkinlik sıralaması citral, octanal, terpineol şeklinde oluşmuştur. Bileşenler ayrıca fungus hiflerinde sitoplazmik bozulmalara ve boşalmalara neden olmuştur. Bileşenler fungusun hücre mebranında yıkıcı bir etkide bulunarak, hücre içeriğinin hücre dışına akmasına neden olduğunu yapmış oldukları biyokimyasal çalışmalar sonucunda belirlemişlerdir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Fungus Materyali

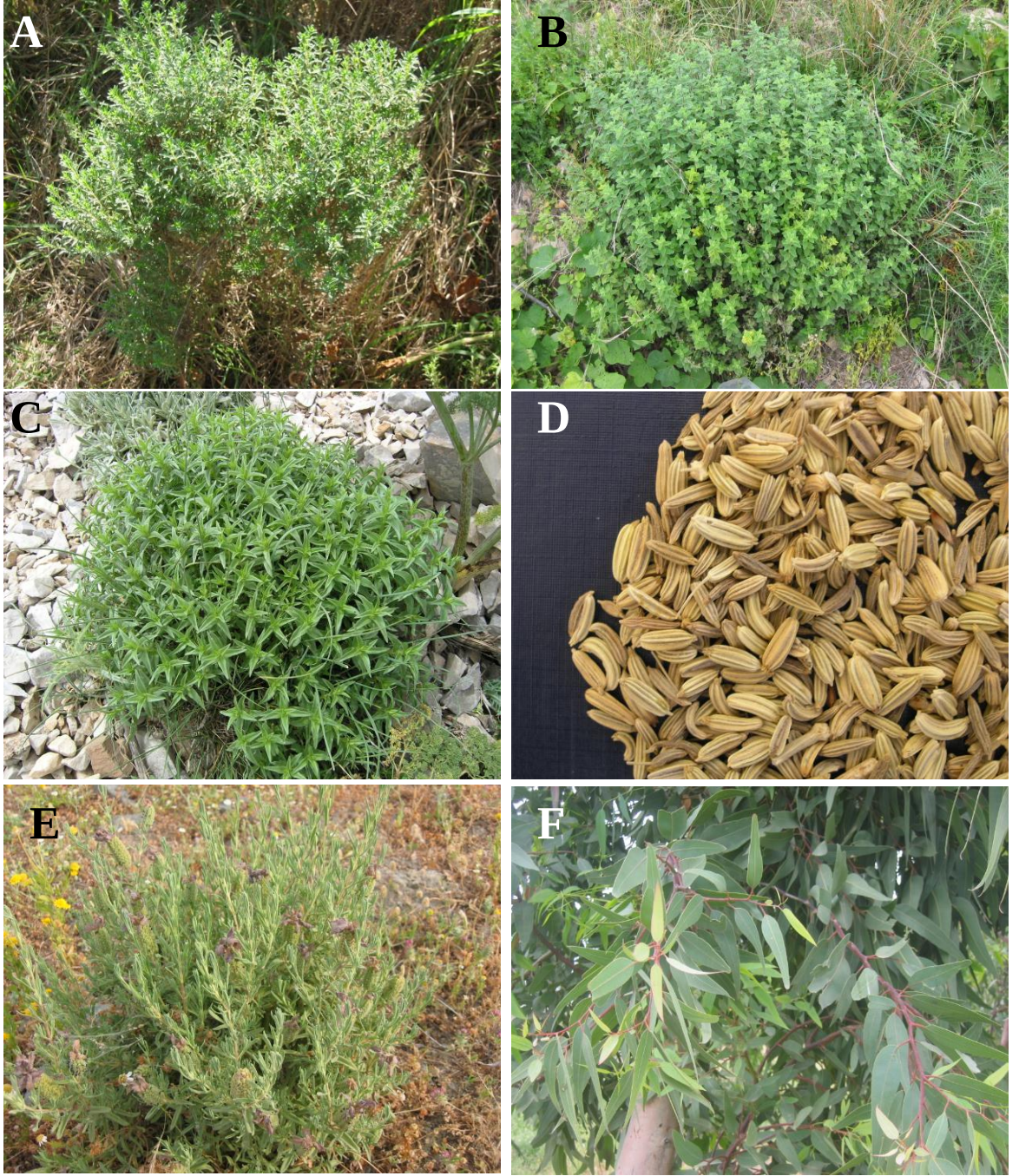
Bu çalışmada kullanılan *G. citri-aurantii* Hatay ili Erzin İlçesi mandarin (cv. satsuma) bahçesindeki doğal olarak enfekteli meyveden izole edilmiştir.

3.1.2. Bitki Materyali

Hatay ili çevresinde doğal olarak yetişen ve çalışmada kullanılan (Şekil3.1) bitkilerin yöresel ve bilimsel isimleri, toplandıkları yer ve tarihleri Çizelge 3.1’de verilmiştir. Dereotu (*Anethum graveolens*), rezene (*Foeniculum vulgare*), Suriye kekiği (*Origanium syriacum*), kaba kekik (*Thymus serpyllum*), karabaş kekiği (*Thymbra spicata* subsp. *spicata*), karabaş lavanta (*Lavandula stoechas* var. *stoechas*) ve okaliptus (*Eucalyptus camandulensis*) bitkileri farklı vejetasyon dönemlerinde (yaprak, çiçek ve tohum dönemlerinde) toplanarak çalışmalarda kullanılmıştır.

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

Bilimsel adı	Yöresel adı	Toplandığı yer	Temin edildiği tarih
<i>Anethum graveolens</i> L.	Dereotu	Samandağ	Haziran-2012
<i>Eucalyptus camandulensis</i> L.	Ökalyptus	Tarsus	Ekim-2012
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Rezene, Şumbra	Aktar	Mayıs-2012
<i>Lavandula stoechas</i> L. var. <i>stoechas</i>	Karabaş lavanta, Lavanta	Serinyol	Mayıs-2012
<i>Origanum syriacum</i> L.	Halil İbrahim Zahteri, Suriye Kekiği	Samandağ	Temmuz-2012
<i>Thymus serpyllum</i> L.	Kaba kekik	Yayladağı	Mayıs-2012
<i>Thymbra spicata</i> L. subsp. <i>spicata</i>	Karabaş kekik	Altınözü	Haziran-2012



Şekil 3.1. Çalışmalarda uçucu yağları kullanılan bitkilerden karabaş kekik (A), Suriye kekiği (B), kaba kekik (C), rezene tohumları (D), karabaş lavanta (E) ve okaliptus (F)'in farklı vejetasyon dönemi görüntüleri

3.1.3. Bitki Uçucu Yağlarının Ana Bileşenleri

Çalışmalarda kullanılan benzer bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenleri farklı yüksek lisans ve araştırma projeleri kapsamında yürütülmüş olan çalışmalarda GC-MS ile belirlenmiş (Soylu ve ark., 2006; Mengüllüoğlu, 2012), elde edilen sonuçlara göre seçilen ana bileşenler firmalardan ticari olarak saf halde temin edilmiş (Çizelge 3.2) ve fungal etmene karşı antifungal etkinliklerinin belirlendiği çalışmalarda kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan bitkisel kökenli uçucu yağ ana bileşenlerin karakteristik özellikleri ve bulunduğu bitkilerdeki işlevi

Bitkisel kökenli uçucu bileşikler (Katalog Numarası, Firma)	Bileşik grubu	Moleküler ağırlığı	Bulunduğu bitkilerdeki işlevi
trans-Cinnamaldehyde (802505, Merck)	Aldehit	132.16	Tarçın uçucu yağının ana bileşeni
Carvacrol (282197, Aldrich)	Fenol	150.22	Kekik yağının ana bileşeni
Eugenol (818455, Merck)	Fenol	164.21	Karanfil yağının ana bileşeni
trans-Anethole (800429, Merck)	Fenol	148.21	Anason ve rezene yağlarının ana bileşeni
Linalool (L2602, Aldrich)	Alken	154.25	Birçok bitki uçucu yağlarının ana bileşeni
(R)-Carvone (818409, Merck)	Keton	150.22	Birçok bitki uçucu yağlarının ana bileşeni

3.2. Yöntem

3.2.1. Hastalık Etmeni Fungus'un İzolasyonu ve Muhafazası

G. citri-aurantii izolatu Hatay ili Erzin İlçesi mandarin (cv. satsuma) bahçesindeki doğal yolla enfekte olmuş hastalıklı meyve örneklerinden (Şekil 1.1) izole edilmiştir. Hastalıklı meyve kabuğunun üst kısmı steril büstrü ile kesilerek dokunun hemen altındaki enfekteli bölge streptomisin sülfat (100 mg/L) içeren PDA besi ortamına ekilmiştir. Bu petriler daha sonra 23 ± 2 °C sıcaklıkta tutulan inkübatörler içerisinde 4-8 gün bırakılmış ve gelişen çeşitli fungus kolonileri teşhis edildikten sonra saflaştırılmıştır. İzolasyon sonucu elde edilen *Geotrichum citri-aurantii*'un saf kültürleri eğik agar ortamında + 4 °C de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Elde Edilmesi

Hava sirkülasyonunda kurutulan bitkilerin uçucu yağları Clevenger tipi uçucu yağ çıkartma aletinin yardımı ile 3 saatlik buhar distilasyonu ile elde edilmiş olup, daha sonra çalışmalarda kullanılmadan önce 0.25 µm gözenekli membran filtreler ile steril edilmiştir. Ekstraksiyon sonucu elde edilen uçucu yağlar içerisinde anhidroz sodyum sülfat bulunan koyu renkli cam şişelerde 20 °C de korunmuştur.

3.2.3. Bitki Uçucu Yağlar ve Ana bileşenlerinin *in vitro* Antifungal Etkinliklerinin Belirlenmesi

3.2.3.1. Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimi Üzerine Buhar Etkisinin Belirlenmesi

Uçucu yağların misel gelişimine antifungal etkinliğinin buhar etkisi, 9 cm çapındaki steril petri kaplarında genel fungus ortamı olan PDA ortamı üzerinde araştırılmıştır. PDA içeren (20 ml/petri) Petri kabının merkezine mantar delici ile alınan 8 günlük *G. citri-aurantii* kültürlerinin 1 cm çapındaki diskleri misel gelişimi görülen yüzeyi PDA ile temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Uçucu yağların farklı konsantrasyonları (0.0-175.0 µl/ml petri), petri kabının kapağının merkezine

yapıştırılmış steril filtre kağıdına emdirilmiş, daha sonra petri kabının boşlukları parafilm ile kapatılıp, ters çevrilerek (kapak altta kalacak şekilde) 25 °C’ de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak kabul edilen aynı şekilde inoküle edilmiş petri kapaklarına uçucu yağ yerine saf su damlatılarak aynı işlemler uygulanmıştır. Değerlendirmeler kontrol olarak kabul edilen petrilerinde fungus gelişimi petriyi tamamen kapladığı zaman, uygulama yapılmış tüm petrilerdeki fungal koloni çaplarının ölçülmesiyle yapılmıştır. Her bir uçucu yağın farklı konsantrasyonlarında engelleme oranı, (%) Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

$$\text{Engelleme (\%)} = [(KFG-UFG)/KFG] \times 100$$

KFG = Kontrol petrilerdeki fungal gelişim (mm)

UFG = Uygulama yapılmış petrilerdeki fungal gelişim (mm)

Denemelerde her petri 1 tekerrür ve her konsantrasyon 5 tekerrür olacak şekilde Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre kurulmuştur. Her deneme en az 2 kez tekrar edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine ($P \leq 0.05$) göre değerlendirilmiştir.

3.2.3.2. Bitki Uçucu Yağ ve Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Misel Gelişimi Üzerine Değme Etkilerinin Belirlenmesi

Uçucu yağlar ve uçucu yağ ana bileşenlerin misel gelişiminde değme etkisini araştırmak için, agar seyreltme yöntemi uygulanmıştır (Soylu ve ark., 2010). Bu çalışma kapsamında tüm yağlar arasından buhar etkinliğinin belirlendiği çalışmalarda yüksek düzeyde antifungal etkinlik göstermiş olan 4 farklı bitki (*O. syriacum*, *T. spicata*, *T. serpyllum* ve *F. vulgare*) uçucu yağların yanısıra, uçucu yağ ana bileşenleri olarak carvacrol, eugenol, cinnamaldehyde, anethole, carvone ve linalool kullanılmıştır. Uçucu yağların farklı konsantrasyonları (0.0-45.0 µl/ml) ile ana bileşenlerin farklı konsantrasyonları (0.0-400 µl/ml), steril kabin içerisinde PDA besiyeri katılaşmadan önce (45 °C) karıştırılarak 9 cm çapındaki steril petri kaplarına 5’er tekerrür olacak şekilde dökülmüştür. Katılaştıran besiyeri üzerine fungus kültürlerinden 1 cm çapındaki mantar delici ile alınan diskler petri kabının merkezine gelecek şekilde yerleştirilmiştir.

Petri kabının kapakları parafilm ile kapatılarak 25°C’ de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak kabul edilen petrilerdeki besi yerine yağ eklemesi yapılmamıştır. Kontrol petrilerinde fungus gelişimi tamamlanmasıyla farklı uygulama görmüş petrilerdeki besi yerleri yüzeyindeki fungus kolonilerinin çapları ölçülmüş ve ortalamaları alınarak uçucu yağların ve ana bileşenlerin antifungal etkinliği (%) Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

3.2.3.3. Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimini Engelleyen Konsantrasyonlarının Fungisidal ve Fungistatik Özelliklerinin Belirlenmesi

Uçucu yağların misel gelişiminde buhar ve değme etkilerinin belirlendiği çalışmalarda, uçucu yağın fungusa karşı fungisidal veya fungistatik etkisinin belirlenmesi amacı ile, fungus inokulasyonundan 5 gün sonra fungus gelişiminin gözlenmediği (fungal gelişimin tamamen engellendiği) petri kaplarının kapakları, steril temiz petri kapakları ile değiştirilerek 25°C’ de tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Misel gelişiminin hala görülmediği konsantrasyonlarda uçucu yağ etkisinin fungisidal (tamamen engelleyen, öldürücü), misel gelişiminin tekrar başladığı konsantrasyonlarda ise uçucu yağın etkisinin fungistatik (geçici) olarak kayıt edilmiştir.

3.2.3.4. Bitki Uçucu Yağlarının Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Buhar Etkilerinin Belirlenmesi

Uçucu yağların *G. citri-aurantii*’ nin spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimleri üzerine buhar etkilerinin 9 cm çapındaki steril petri kaplarına ince olmak şartıyla PDA besi ortamları üzerinde araştırılmıştır. Besi yerleri dökülerek, 1 cm çapındaki mantar delici ile alınan 8 günlük kültürlerinin diskleri, diskin misel gelişimi görülen yüzeyi PDA ile temas edecek şekilde değdirilmiş böylece taze sporların besi ortamına aktarılması sağlanmıştır. Uçucu yağların farklı konsantrasyonları petri kabının kapağının merkezine damlatıldıktan sonra, petri kapları parafilm ile kapatılıp ters çevrilerek (kapak altta kalacak şekilde) 25°C’ de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol petri kapaklarına saf su damlatılarak aynı işlemlere tabi tutulmuştur. Değerlendirmeler *G. citri-aurantii* içinde uçucu yağ uygulandıktan sonra 12- 18 saat arasında kontrol

petrilerindeki sporların çimlenme durumlarına göre yapılmıştır. Uçucu yağ uygulaması yapılmış petrilerdeki sporların çimlenme oranları 300 spor sayımı üzerinden yapılmış olup, çim borucuğu uzunluğunun spor çapının boyunu aşmış olan sporlar çimlenmiş olarak kabul edilmiştir.

3.2.3.5. Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Değme Etkilerinin Belirlenmesi

Uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı konsantrasyonları besi ortamına ilave edildikten sonra ve besi ortamı üzerine 200 µl taze spor süspansiyonları yayılmıştır. Uygulama görmüş petriler ve kontrol petrileri 16 saat 25°C’ de inkübasyona bırakılmıştır. Değerlendirmeler *Geotrichum citri-aurantii* içinde uçucu yağ ana bileşenleri uygulandıktan sonra 12- 18 saat arasında kontrol petrilerindeki sporların çimlenme durumlarına göre yapılmıştır. Uygulama yapılmış petrilerdeki sporların çimlenme oranları her konsantrasyon için 300 spor sayımı üzerinden yapılmış olup, çim borucuğu uzunluğunun spor çapının boyunu aşmış olan sporlar çimlenmiş olarak kabul edilmiştir.

3.2.4 Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Fazında Fungus Hif ve Sporlarının Yapılarında Sebep Olduğu Morfolojik Değişikliklerin Belirlenmesi

Farklı konsantrasyonların kullanıldığı uçucu yağların bulunduğu petrilerde geliştirilen fungusların hifleri üzerinde meydana gelen morfolojik değişiklikler, faz kontrastlı ışık mikroskobu (OLYMPUS BX – 51) altında önceden bildirildiği şekilde belirlenmiştir (Soylu ve ark., 2010).

Uçucu yağlar ile yapılan çalışmalarda, sağlıklı fungus kültürlerinden alınan diskler, öncelikle uçucu yağlar olmaksızın petrilere aktarıldıktan sonra 2 gün ön gelişmeye bırakılmıştır. Fungus miselleri diskten yaklaşık 2 cm geliştiğinde, çalışmalarda kullanılan yağların %100 engellemeye neden olduğu konsantrasyonları, önceden belirtildiği şekilde kapaklara eklenmiş, parafilmelenmiş ve tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Uçucu yağların etkinliği, petrilere eklenmesinden 1, 2, 4 ve 7 gün sonra doğrudan besi ortamı üzerinde gelişen miseller üzerinde yapılmıştır. Muamele görmüş

fungall yapıları, ışık mikroskobunda incelemek için (%50) glycerol içinde preparatlar hazırlanmış ve yapısal değışiklikleri faz kontrastlı ışık mikroskobu altında belirlenmiştir.

3.2.5. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Tüm *in vitro* denemeleri, her petri 1 tekerrür ve her konsantrasyon da 3 tekerrür olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Elde edilen ölçüm değeri (%) oranlarına çevrilmeden SPSS istatistik programı (SPSS Inc. Versiyon 11.5.0) kullanılarak, tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve Duncan Çoklu Karşılaştırma (Duncan's Multiple Range Test) testi ($p < 0.05$) ile konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir. Deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Uçucu yağ ve ana bileşenlerinin misel gelişimini, spor çimlenmesini ve çim borucuğu uzunluğunun gelişimini (%50) düzeyde engelleyen etki konsantrasyonları (**EC₅₀**) her bir yağ ve ana bileşenler için farklı konsantrasyonlarda elde edilen değeri kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago , IL , USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bitki Uçucu Yağlar ve Ana bileşenlerinin *in vitro* Antifungal Etkinliklerinin Belirlenmesi

4.1.1. Bitki Uçucu Yağların Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Etkinlikleri

Bitki uçucu yağlarının misel gelişimi üzerine antifungal etkinliği buhar ve değme fazları olmak üzere 2 farklı şekilde araştırılmıştır. Uçucu yağların değme etkinliği çalışmalarında kullanılması düşünülen uçucu yağlar ve muhtemel konsantrasyonları belirlenmesi amacı ile öncelikle uçucu yağların buhar etkinliği çalışılmıştır.

4.1.1.1. Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimi Üzerine Buhar Etkisi

Uçucu yağların *G. citri-aurantii*' nin misel gelişimi üzerine buhar etkisinin araştırıldığı çalışmalarda daha önce farklı fungal ve bakteriyel etmenlere karşı antimikrobiyal etkinliği araştırılmış olan Suriye kekiği, kaba kekik, karabaş kekiği, rezene, karabaş lavanta, okaliptus ve dereotu bitkilerinden elde edilen uçucu yağlarının farklı konsantrasyonları kullanılmış olup çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

Çizelgede de görüleceği gibi karabaş kekiği, kaba kekik, Suriye kekiği ve rezene 0.0-15.0 µl/petri konsantrasyon aralıklarında fungus gelişimini etkili bir şekilde baskılamakta, okaliptus, lavanta ve dereotu 0.0-175.0 µl/petri konsantrasyon aralığında değişen oranlarda antifungal etkinlik göstermiştir. En güçlü antifungal etkinlik kaba kekik ve Suriye kekiği tarafından gösterilmiş olup, bu bitkileri sırası ile karabaş kekiği ve rezene uçucu yağları izlemiştir. Fungusun miselyal gelişimini tamamen durduran konsantrasyonlara bakıldığında, kaba kekik ve Suriye kekiği uçucu yağları *G. citri-aurantii* patojenini 5.0 µl /petri konsantrasyonunda, karabaş kekik uçucu yağı 7.5 µl /petri, rezene uçucu yağı ise 15.0 µl/ petri konsantrasyonlarında tamamen engellemiştir (Çizelge 4.1). Çalışmalarda kullanılan diğer bitki uçucu yağlardan dere otu, karabaş lavanta ve okaliptus uçucu yağları, kekik ve rezene uçucu yağlarına kıyasla fungus

miselyal gelişimini 125.0-175.0 µl/petri gibi daha yüksek konsantrasyonlarda engelleyebilmiştir. Fungus gelişimini dereotu bitkisi uçucu 125.0 µl/petri, lavanta uçucu yağı 150.0 µl/petri, okaliptus uçucu yağı ise 175.0 µl/petri konsantrasyonlarında tamamen engellemiştir.

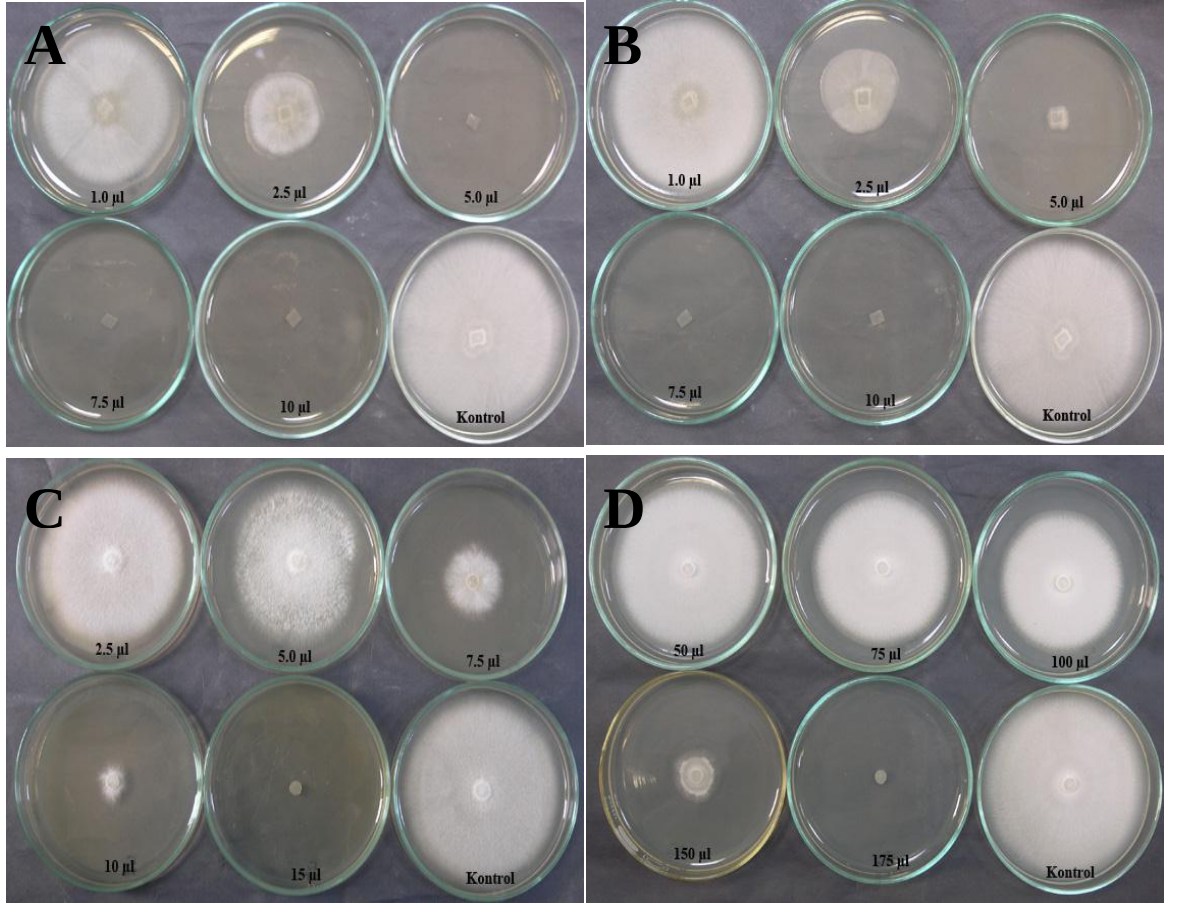
Uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının fungal miselyal gelişimi engelleme oranlarına dayanılarak yapılan Probit analiz sonucunda her bir uçucu yağın miselyal gelişimi %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyonları (EC_{50}) belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Elde edilen sonuçlara göre en güçlü antifungal etkinlik gösteren kaba kekiği, Suriye kekiği, karabaş kekiği ve rezene uçucu yağların EC_{50} değerleri sırası ile 1.612, 1.678, 1.825 ve 4.169 µl/petri olarak belirlenmiştir. Çalışmalarda kullanılan diğer bitki uçucu yağlardan dereotu, karabaş lavanta ve okaliptüs uçucu yağlarının EC_{50} değerleri sırası ile 48.882, 55.689 ve 104.665 µl/petri olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Bitki uçucu yağların farklı buhar konsantrasyonlarının turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni *G. citri-aurantii*'nin misel gelişimleri (mm) üzerine antifungal etkinliği^a

Uçucu Yağlar	Konsantrasyonlar (µl/petri)								EC ₅₀ ^b
	0.0	0.5	1.0	2.5	5.0	7.5	10.0	15.0	
<i>Karabaş kekik</i>	87,67g	84,67gB	73,33fA	25,67eA	8,67dB	0,00cA	0,00bA	0,00a	1,825
<i>Kaba kekik</i>	87,67e	80,67dB	75,33cA	24,00bA	0,00aA	0,00aA	0,00aA	0,00a	1,612
<i>Suriye kekiği</i>	87,67e	74,33dA	70,67cA	39,67bB	0,00aA	0,00aA	0,00aA	0,00a	1,678
<i>Rezene</i>	87,67h	83,33gB	74,33fA	61,67eC	47,67dC	36,67cB	17,67bB	0,00a	4,169
	Konsantrasyonlar (µl/petri)								EC ₅₀
	0.0	25.0	50.0	75.0	100.0	125.0	150.0	175.0	
<i>Okaliptus</i>	87,67g	89,67gC	76,00fB	70,33eC	57,67dB	34,67cC	23,67b	0,00a	104,665
<i>Lavanta</i>	87,67f	76,33eB	62,00dA	23,67cB	11,67bA	8,67bB	0,00a	0,00a	55,689
<i>Dereotu</i>	87,67f	70,33eA	58,00dA	18,00cA	9,33bA	0,00aA	0,00a	0,00a	48,882

^a Elde edilen değerler 5 farklı petride gelişen fungus koloni çap (mm) değerlerinin ortalamasıdır. 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 (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.05$).

^b Uçucu yağların misel gelişimini %50 düzeyde engelleyen etkili dozları (EC₅₀) her bir yağ için farklı dozlarda elde edilen misel çaplarının değerleri kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir



Şekil 4.1. Uçucu yağların *G. citri-aurantii*'nin misel gelişiminin engellenmesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki buhar etkileri. **(A)** Kaba kekik uçucu yağı **(B)** Karabaş kekik uçucu yağı **(C)** Rezene uçucu yağı **(D)** Okaliptus uçucu yağı

4.1.1.2 Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimi Üzerine Değme Etkisi

Bitki uçucu yağların miselyal gelişim üzeren olan değme etkinliği, buhar etkinliği çalışma sonuçlarına istinaden dereotu, karabaş lavanta ve okaliptüs uçucu yağları daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılmasına rağmen düşük düzeyde antifungal etkinlik göstermesi nedeniyle değme etkinliğinin belirlendiği denemelerde tercih edilmemiştir. Değme etkinliğinin belirlendiği çalışmalarda düşük konsantrasyonlarda daha yüksek antifungal etkinlik gösteren karabaş kekik, Suriye kekiği, kaba kekik ve rezene uçucu yağlarının buhar etkinliğinde kullanılan konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonları kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2 de verilmiştir.

Çizelge 4.2’de görüleceği gibi misel gelişimi üzerine en güçlü antifungal etkinlik buhar etkinliği çalışmalarında olduğu gibi 30.0 µl/ml konsantrasyonu ile Suriye kekiği tarafından gösterilmiş olup, bu bitkiyi buhar etkinliği çalışmalarındakinden farklı olarak aynı konsantrasyonda (30.0 µl/ml) karabaş kekiği izlemiştir. Suriye kekiği ve karabaş kekik uçucu yağlarını sırasıyla 40.0 µl/ml konsantrasyonu ile kaba kekik ve 45.0 µl/ml konsantrasyonu ile rezene takip etmiştir. Yapılan istatistik analizlere göre uçucu yağların antifungal etkinlikleri konsantrasyonlara bağlı olarak önemli düzeyde artmış olup, konsantrasyonlar arasındaki fark $P \leq 0.05$ önem seviyesinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

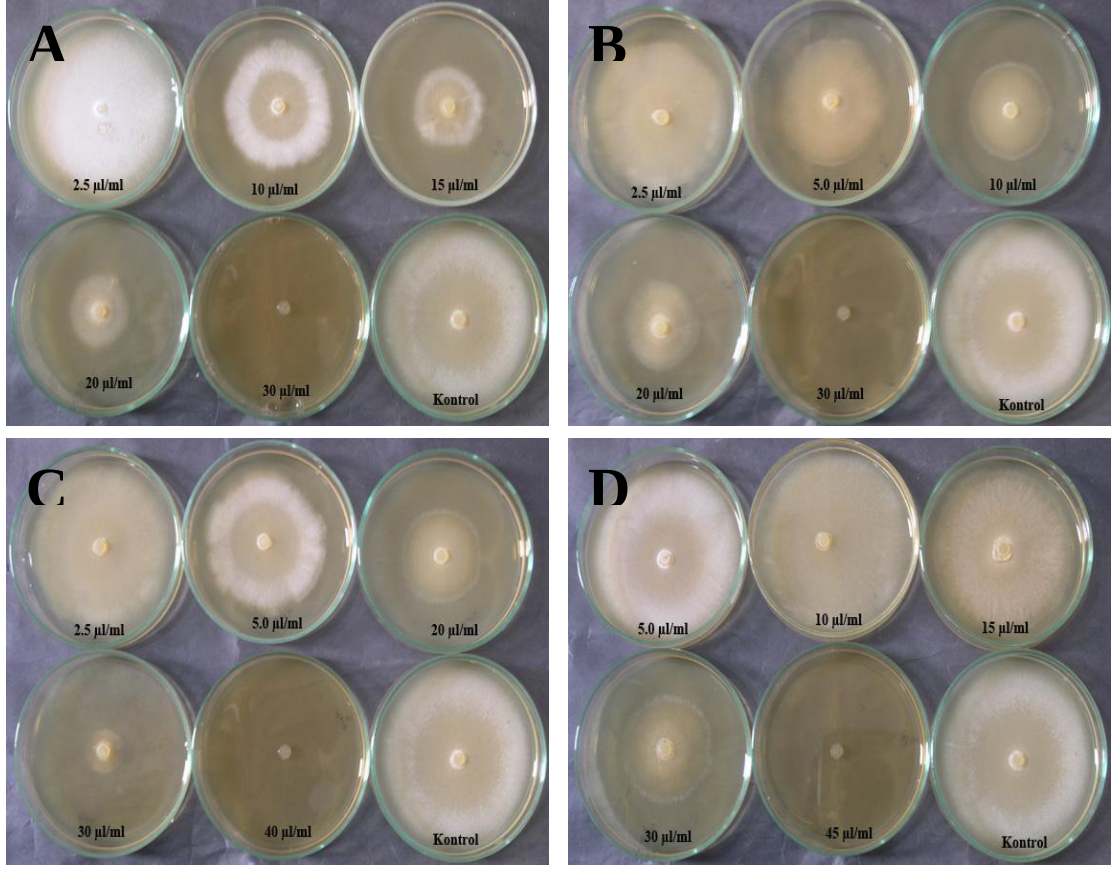
Uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının fungal miselyal gelişimi engelleme oranlarına dayanılarak yapılan Probit analiz sonucunda her bir uçucu yağın miselyal gelişimi %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyonları (EC_{50}) belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Elde edilen sonuçlara göre en güçlü antifungal etkinlik gösteren Kaba kekik, Suriye kekiği, karabaş kekiği ve rezene uçucu yağların ortalama EC_{50} değerleri sırası ile 10.31, 10.39, 10.57 ve 23.91 µl/ml olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Bitki uçucu yağların farklı değme konsantrasyonlarının *G. citri-aurantii*'nin misel gelişimleri (mm) üzerine antifungal etkinliği^a

Konsantrasyonlar (µl/ml)	Uçucu Yağlar			
	<i>Suriye kekiği</i>	<i>Karabaş kekik</i>	<i>Kaba kekik</i>	<i>Rezene</i>
0.0	81,00i	81,00i	81,00j	81,00i
2.5	70,33hA	73,67hA	74,33iA	80,33iB
5.0	60,67gA	61,67gA	61,00hA	80,00iB
7.5	52,33fA	54,33fA	51,67gA	80,00iB
10.0	47,33eB	45,67eA	44,67fA	73,67hC
15.0	37,67dB	37,00dB	33,33eA	64,33gC
20.0	31,00cB	31,33cB	19,67dA	52,33fC
25.0	9,67bB	6,67bA	15,33cC	42,33eD
30.0	0,00aA	0,00aA	10,33bB	34,67dC
35.0	0,00aA	0,00aA	7,67bB	28,00cC
40.0	0,00aA	0,00aA	0,00aA	11,67bB
45.0	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a
EC₅₀^b	10,39	10,57	10,31	23,91

^a Elde edilen değerler 5 farklı petride gelişen fungus koloni çap (mm) değerlerinin ortalamasıdır. Aynı sütun içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler veya satır içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.05$).

^b Uçucu yağların misel gelişimini %50 düzeyde engelleyen etkili dozları (EC₅₀) her bir yağ için farklı dozlarda elde edilen misel çaplarının değerleri kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir



Şekil 4.2. Uçucu yağların *G. citri-aurantii*'nin misel gelişimi üzerine değme etkileri. (A) Suriye kekik uçucu yağı (B) Karabaş kekik uçucu yağı (C) Kaba kekik uçucu yağı (D) Rezene uçucu yağı. Her resimdeki petriler kullanılan uçucu yağların konsantrasyonlarına göre küçükten büyüğe (soldan sağa doğru) sıralanmıştır.

Turunçgil meyvelerinde önemli hasat sonu hastalıklarından biri olan ekşi çürüklük hastalığı etmeni *G. citri-aurantii* depolanan ürünlerde önemli kayıplara neden olan fungal hastalık etmenidir (Eckert ve Eaks, 1989). Hastalıkla mücadelede kimyasal pestisitlere alternatif yöntemler üzerine yapılan çalışmalardan biri de, bitki uçucu yağların kullanıldığını çalışmalardır. Çalışmada kullanılan uçucu yağların turunçgil ekşi çürüklük hastalık etmeni olan *G. citri-aurantii*'ye karşı antifungal etkinliği konusunda daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmalarda kullanılan söz konusu uçucu yağların hastalık etmenine karşı antifungal etkinliği ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Yapılan literatür araştırmasında bitki uçucu yağ veya ekstraktların hastalık etmeni üzerine olan antifungal etkinliği konusunda sınırlı sayıda çalışmanın bulunduğu görülmüştür. Xu ve ark. (2012) *Cassia* bitki yağının mikroemülsiyon formunun *in vitro* ve *in vivo* koşullarda meyvelerde hastalık etmenine karşı oldukça etkili bir koruma sağladığını bildirmiştir. Fas'da yapılan bir diğer çalışmada da bölgede yetişen ve aralarında *Cistus villosus*, *Pistacia atlantica*, *Halimium antiatlanticum*, *Inula viscosa*, *Ighermia pinifolia* ve *Hammada scoparia* gibi türlerin yer aldığı pek çok bitkilerinden elde edilen metanol ve toz ekstraktların hastalık etmenine karşı değişen oranlarda antifungal etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir (Talibi ve ark. 2012a; Talibi ve ark. 2012b). Tserennadmid ve ark. (2011) adaçayı, çam, limon ve origanum bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal etkinliğini bazı maya ve *Geotrichum citri-aurantii*'ye karşı araştırmış oldukları çalışmalarında besi yeri, meyve suyu ve süt içine yapay olarak bulaştırılmış *Geotrichum candidum*, *Pichia anomala*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Schizosaccharomyces pombe* gibi mayalara karşı antifungal etkinlik gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Dulger ve Hacıoğlu (2008a) kekik'in bir başka türü olan *Satureja icarica*'nın metanol ekstraktını *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus laurentii*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternate*, *Geotrichum candidum*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium frequentans*, *Penicillium canescens* and *Botrytis cinerea* gibi hasat sonu fungal hastalık etmenleri ve mayalara karşı antifungal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında ekstraktın funguslara karşı 11.6-18.8 mm çapında engelleme zonlarını oluşturduğu, en düşük engelleme konsantrasyonunun (MIC) ise türlere göre değişen 6.25-25 µg/ml

konsantrasyonlarda gözleendiğini belirlemişlerdir. Dulger ve Hacıoğlu (2008a) bir başka çalışmasında aynı fungal etmenlere karşı bu kez endemik adaçayı bitki türü olan *Salvia tigrina*'nın ethanol ekstraktını denedikleri çalışmalarında bitki ekstraktının en düşük engelleme konsantrasyonunun (MIC) türlere göre değiştiğini en düşük 3.12 µg/ml en yüksek ise 25 µg/ml konsantrasyonlarında gözleendiğini, en duyarlı fungal ve maya türünün *C. albicans*, *C. neoformans* ve *B. cinerea* oldukları belirlemişlerdir.

Ameziane ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmalarında Fas'ta yetişen 21 farklı bitki uçucu yağı, ekstrak ve toz karışımlarının antifungal etkinliğini turunçgil meyvelerinde hasat sonu hastalıklara neden olan *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* ve *Geotrichum candidum* gibi fungal etmenlere karşı araştırmışlardır. Bu bitkiler içinde *Thymus leptobotrys*, *Cistus villosus* ve *Peganum harmala*'ya ait tozların 3 fungus türünü de engellediği, *Eucalyptus globulus* bitki tozu *G. candidum* ve *P. digitatum* etmenlerine karşı %100 engelleme gösterdiğini, *Juglans regia* ve *Myrtus communis*'a ait bitki tozları ise %100 etkili olurken *G. candidum*'a karşı gösterirken, *Arenaria rubra*'nın *P. digitatum*'u %100 engellediğini bildirmişlerdir.

Szczerbanik ve ark (2007) yapmış oldukları çalışmada nane ve çay bitki uçucu yağının buhar fazının *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum sp.*, *Geotrichum candidum*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus niger* ve *Cladosporium cladosporioides* gibi hasat sonu bitki fungal patojenlerine karşı çam ve tarçın yağlarına oranla daha yüksek düzeyde antifungal etkinlik gösterdiklerini, bu yüzden nane ve çay bitki uçucu yağlarının buhar fazlarının söz konusu depo hastalık etmenlerine karşı alternatif mücadelede kullanılabileceğini önermişlerdir.

de Albuquerque ve ark. (2006) *Lippia gracilis* bitki uçucu yağının antifungal etkinliğini *Geotrichum candidum*, *Trichoderma viride*, *Torula herbarum*, *Paecilomyces sp.*, *Fusicoccum sp.*, *P. aeruginens*, *Curvularia lunata*, *Aspergillus nidulans*, *A. flavus*, ve *A. niger* gibi hasat sonu hastalık etmenlerine karşı araştırmışlar ve uçucu yağın denemede kullanılan türlere karşı farklı oranlarda antifungal etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Benzer şekilde Portillo-Ruiz ve ark. (2005) yapmış oldukları bir diğer çalışmada Meksika origanum'u (*Lippia berlandier*) olarak bilinen bitkinin uçucu yağınının değme fazında antifungal etkinliğini besinlerde bozulmalara neden olan *Penicillium*, *Geotrichum*, *Aspergillus* ve *Bipolaris* cinslerine dahil 21 farklı fungal etmene karşı

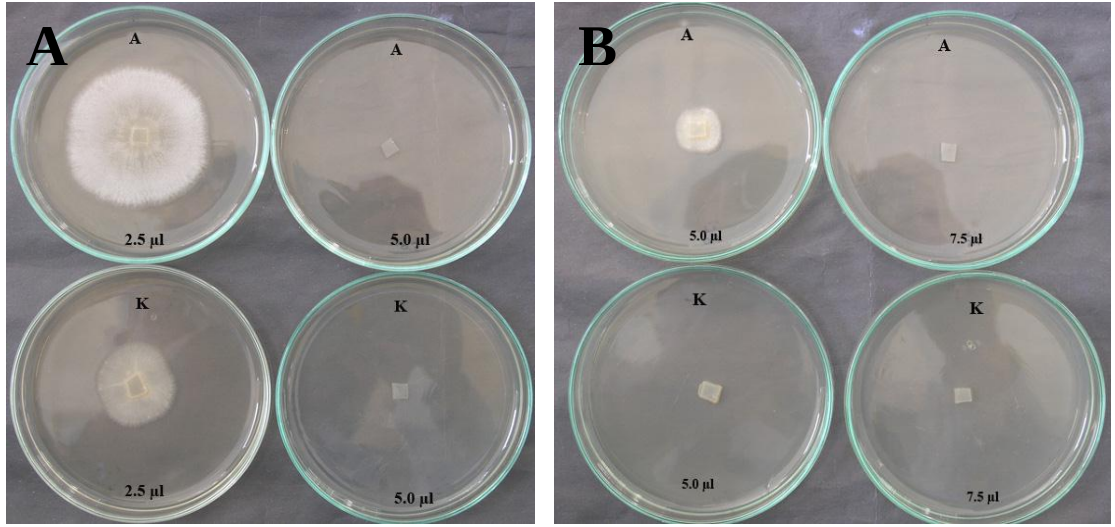
araştırmışlardır. Çalışma sonuçları origanum yağının antifungal etkinliğinin yüksek düzeylerde olduğunu, besi maddelerine bu bitki uçucu yağının eklenmesi ile patojenler tarafından neden olan bozulmaların etkili bir şekilde engellenebileceğini bildirmişlerdir.

Bouzouita ve ark. (2003) *Thymus capitatus*, *Ocimum basilicum*, *Myrtusxde communis* ve *Laurus nobilis* bitki uçucu yağlarının 2 farklı bakteri (*Lactobacillus plantarum* ve *Escherichia coli*) ve *Geotrichum candidum* a karşı antimikrobiyal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında *T. capitatus* ve *O. Basilicum* uçucu yağlarının mikroorganizmalara karşı yüksek düzeyde antimikrobiyal etkinlik gösterdiği, *Escherichia coli*'nin *Lactobacillus plantarum*'a kıyasla daha fazla duyarlı olduğu belirlemişlerdir.

Ejechi ve ark. (1999) biber meyvesi (*Denetia tripetala*)'den elde edilen uçucu yağ ve fenolllerin *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces sp.*, *Candida tropicalis*, *Candida sp.*, *Cryptococcus sp.*, *Geotrichum sp.*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger* ve *Fusarium sp.* karşı antifungal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında bileşenlerin 2.5-6.5 ila 1.5-3.0 mg/ml konsantrasyonlarında etkinlik gösterdiği, bileşenlerin karışım şeklinde uygulandıkları zaman etkinliğin daha yüksek düzeyde gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

4.1.2. Bitki Uçucu Yağlarının Misel Gelişimini Engelleyen Konsantrasyonlarının Fungisidal ve Fungistatik Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan uçucu yağların misel gelişiminde buhar etkilerinin belirlendiği çalışmalarda, uçucu yağın fungusa karşı fungisidal/fungistatik etkisinin belirlenmesi amacı ile fungus inokulasyonundan 5 gün sonra fungus gelişiminin gözlenmediği (%100 engellemelerin olduğu) petri kaplarının kapakları, steril temiz petri kapakları ile değiştirilerek 25 °C' de tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Yapılan gözlemler sonucunda denemede kullanılan tüm uçucu yağların %100 engelleme gözlenen konsantrasyonlardaki petrilerde kapakların değişmesine rağmen herhangi bir miselyal gelişimin olmadığı, bu yüzden uçucu yağların fungusa karşı söz konusu konsantrasyonlardaki etkilerinin fungisidal (tamamen engeleyen, öldürücü) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *G. citri-aurantii*'nin misel gelişimi üzerine uçucu yağların tamamen engelleyen konsantrasyonlarda fungusidal/fungistatik etkinliğinin belirlenmesi. **(A)** Kaba kekik uçucu yağı. Uçucu yağ 5.0 µl/petri konsantrasyonunda kapak açıldıktan (A) sonra bile gelişme görülmemiştir. **(B)** Karabaş kekik uçucu yağı. Uçucu yağ 7.5 µl/petri konsantrasyonunda kapak açıldıktan (A) sonra bile gelişme görülmemiştir. Her iki yağın bu konsantrasyonlardaki etkinliği fungusidal olarak belirlenmiştir. Yağların düşük konsantrasyonlarda (2.5 ve 5.0 µl/petri) kapak açıldıktan (A) sonra fungus hifindeki gelişme kapak kapalı (K) olan petrilere oranla daha fazla gelişme göstermesi yağın bu konsantrasyonlardaki etkinliğinin fungistatik olduğunu gösterir.

Fungusidal etkinliğinin belirlenmesi konusunda yapılan bir araştırmada *Thymus* ve *Origanum* yağlarının ana bileşeni olan carvacrol'un belirgin bir fungusidal etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Mari ve Guizzardi, 1998).

4.1.3. Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Misel Gelişimi Üzerinde Değme Etkilerinin Belirlenmesi

Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin (Çizelge 3.2) miselyal gelişim üzerine olan değme etkinliği gerek çalışmalarda gerekse çalışmada olmayan fakat antimikrobiyal etkinliği olan diğer bitki uçucu yağların ana bileşenlerinden, aldehide yapıdaki **trans-cinnamaldehyde**, fenol yapıdaki **carvacrol**, **eugenol** ve **trans-anethole**, alkol yapıdaki **linalool** ve keton yapıdaki **R-carvone** kullanılmış olup, bu bileşenlerin miselyal gelişim üzerine olan antifungal etkinliği yapılan ön çalışmalar sonucu belirlenen 0.0-400 µl/ml

konsantrasyon aralığı kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4 de verilmiştir.

Çizelge 4.3 'de görüleceği gibi misel gelişimi üzerine en güçlü antifungal etkinlik 20.0 µl/ml konsantrasyonu ile kekik bitki uçucu yağı ana bileşeni **carvacrol** ile tarçın bitki uçucu yağı ana bileşeni **trans-cinnamaldehyde** tarafından gösterilmiş olup, bu ana bileşenlerini **eugenol** (60.0 µl/ml) ve **trans-anethole** (80.0 µl/ml) izlemiştir. **Carvone** ve **linalool** ana bileşenlerinin antifungal etkinliği daha düşük düzeyde olması nedeni ile daha yüksek konsantrasyonlar kullanılmış, fungal miselyal gelişimi tamamen durduran konsantrasyon **carvone** için 160.0 µl/ml olarak belirlenirken, **linalool** 400 µl/ml gibi oldukça yüksek bir konsantrasyonda fungusun miselyal gelişimi durdurabilmiştir (Çizelge 4.3). Yapılan istatistik analizlere göre uçucu yağ ana bileşenlerin antifungal etkinlikleri konsantrasyonlara bağlı olarak önemli düzeyde artmış olup, konsantrasyonlar arasındaki fark $P \leq 0.05$ önem seviyesinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Çalışmalarda kullanılan benzer konsantrasyonlarda uçucu yağ ana bileşenleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuş olup, **carvacrol** ve **trans-cinnamaldehyde** arasındaki önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

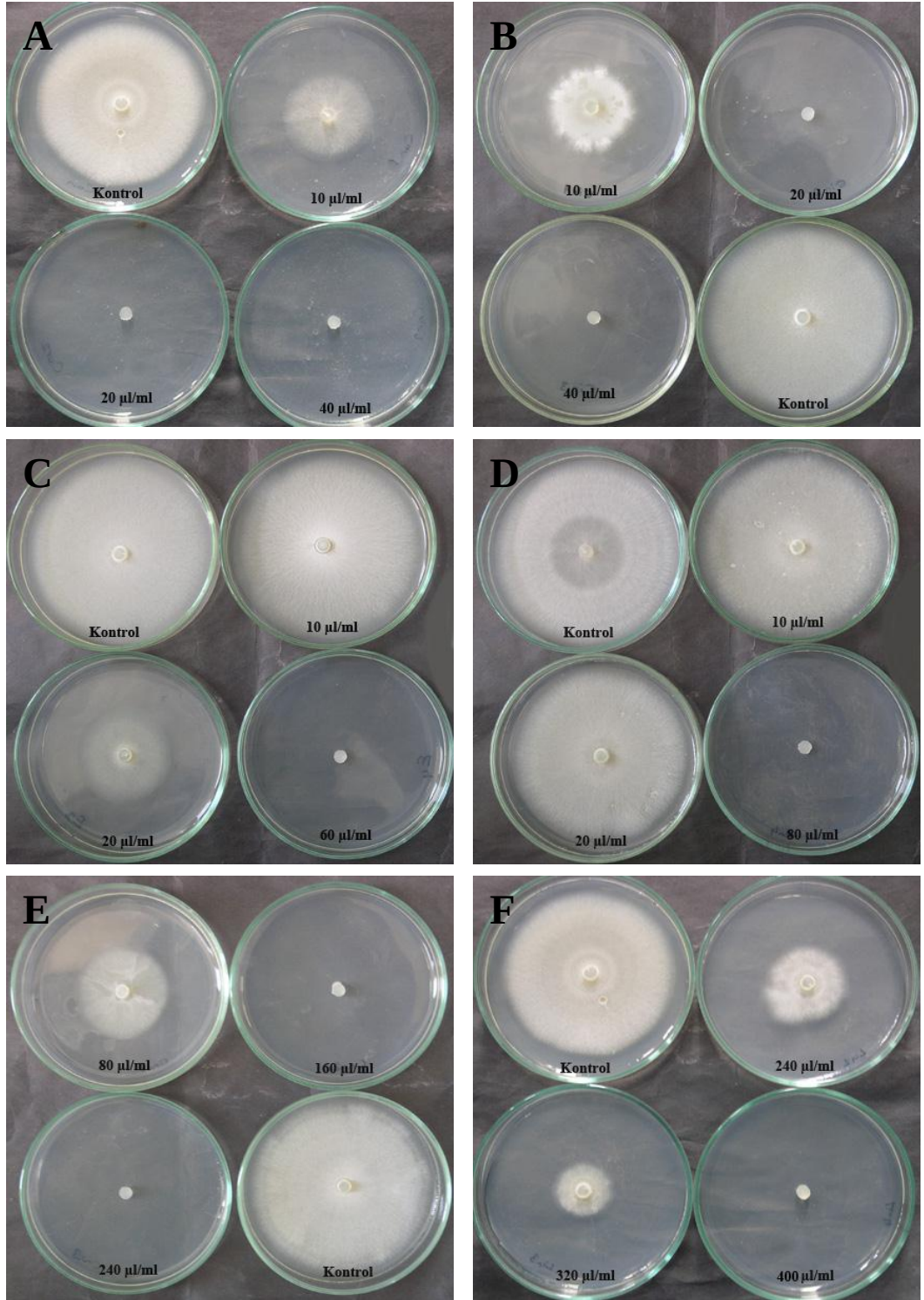
Uçucu yağ ana bileşenlerin farklı konsantrasyonlarının miselyal gelişimi engelleme oranlarına dayanılarak yapılan Probit analiz sonucunda her bir uçucu yağ ana bileşenlerinin miselyal gelişimi %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyonları (EC_{50}) belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Elde edilen sonuçlara göre ana bileşenlerin antifungal etkinliği en yüksekten en düşük orana göre sıralandığında, **trans-cinnamaldehyde**, **carvacrol**, **eugenol**, **trans-anethole**, **R-carvone** ve **linalool** uçucu yağ ana bileşenlerin EC_{50} değerleri sırası ile 9.87, 9.94, 28.7, 36.05, 78.74 ve 207.95 µl/ml olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin değme fazlarının *G. citri-aurantii*' misel gelişimleri (mm) üzerine antifungal etkinliği^a

Ana bileşenler	Konsantrasyonlar (µl/ml)						EC ₅₀ ^b
	0.0	10.0	20.0	40.0	60.0	80.0	
<i>carcavrol</i>	82,67c	40,67bA	0,00aA	0,00aA	0,00aA	0,00a	9,94
<i>eugenol</i>	82,67d	79,33dB	65,33cB	28,67bB	0,00aA	0,00a	28,7
<i>trans-cinnamaldehyde</i>	82,67c	39,67bA	0,00aA	0,00aA	0,00aA	0,00a	9,87
<i>trans-anethole</i>	82,67e	82,00eB	71,67dC	39,33cC	12,67bB	0,00a	36,05
	Konsantrasyonlar (µl/ml)						EC ₅₀ ^b
	0.0	80.0	160.0	240.0	320.0	400.0	
<i>carvone</i>	82,67c	38,67b	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	78,74
<i>linalool</i>	82,67f	71,67e	60,67d	42,67c	26,67b	0,00a	207,95

^a Uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı konsantrasyonları besi ortamlarına ilave edilmiş ve besi ortamı üzerine fungusun misel diskleri yerleştirildikten sonra kontrol petrilerindeki fungal gelişim, petri yüzeyini tamamen kapatıncaya kadar (5-7 gün) inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petride gelişen fungus koloni çap (mm) değerlerinin ortalamasıdır. 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 (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.05$).

^b Uçucu yağ ana bileşenlerinin misel gelişimini %50 düzeyde engelleyen etkili konsantrasyonları (EC₅₀) her bir yağ için farklı konsantrasyonlarda elde edilen misel çaplarının değerleri kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir



Şekil 4.4. Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin *G. citri-aurantii*'nin misel gelişiminin engellenmesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki değme etkileri. (A) Carvacrol, (B) trans-cinnamaldehyde, (C) Eugenol, (D) trans-anethole, (E) Carvone, (F) Linalool.

4.2. Bitki Uçucu Yağlarının Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Buhar Etkilerinin Belirlenmesi

4.2.1. Bitki Uçucu Yağlarının Spor Çimlenmesi Üzerine Buhar Etkileri

G.citri-aurantii'nin arthrospor olarak bilinen aseksüel sporlarının (konidi) çimlenmesi üzerine bitki uçucu yağlarının buhar etkilerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4 incelendiğinde uçucu yağlarının miseliyal gelişimi engelleyen konsantrasyonların (Çizelge 4.1) daha altında bir konsantrasyonda fungus sporlarının çimlenmesinin engellendiği görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre konsantrasyonların artmasıyla fungusların spor çimlenme oranları azalmıştır. Fungus spor çimlenmesinin engellenmesinde en yüksek etkinliği miseliyal etkinlikte olduğu gibi sırasıyla, Suriye kekiği, karabaş kekik, kaba kekik, rezene, lavanta, okaliptus bitkilerinden elde edilen uçucu yağların gösterdiği belirlenmiştir. Uçucu yağlar tarafından spor çimlenmesinin tamamen engellenmesi, Suriye kekiği, karabaş kekik ve kaba kekik uçucu yağlarında 5.0 µl/petri konsantrasyonunda, rezene uçucu yağında 10.0 µl/petri konsantrasyonunda, lavanta uçucu yağında 125 µl/petri konsantrasyonunda ve okaliptus uçucu yağında ise 150.0 µl/petri konsantrasyonunda gerçekleşmiştir. Yapılan istatistik analizlere göre uçucu yağların spor çimlenmesi üzerine antifungal etkinlikleri konsantrasyonlara bağlı olarak önemli düzeyde artmış olup, konsantrasyonlar arasındaki fark $P \leq 0.05$ önem seviyesinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının spor çimlenmesini engelleme oranlarına dayanılarak yapılan Probit analiz sonucunda her bir uçucu yağın spor çimlenmesini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyonları (EC_{50}) belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Elde edilen sonuçlara göre en güçlü antifungal etkinlik gösteren Suriye kekiği, karabaş kekiği, kaba kekik ve rezene uçucu yağların EC_{50} değerleri sırası ile 1.71, 1.80, 2.27 ve 4.57 µl/petri olarak belirlenmiştir. Çalışmalarda kullanılan diğer bitki uçucu yağlardan karabaş lavanta ve okaliptus uçucu yağlarının EC_{50} değerleri sırası ile 67.30 ve 96.81 µl/petri olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4)

Çizelge 4.4. Bitki uçucu yağlarının buhar fazında *G. citri-aurantii*' konidial çimlenmeleri üzerine antifungal etkinliği (%)^a

Uçucu Yağlar	Konsantrasyonlar (µl/petri)						EC ₅₀ ^b
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0	15.0	
<i>Suriye kekiği</i>	96,33c	9,00bA	0,00aA	0,00aA	0,00a	0,00a	1,71
<i>Karabaş kekiği</i>	96,33c	13,67bB	0,00aA	0,00aA	0,00a	0,00a	1,80
<i>Kaba kekik</i>	96,33c	38,33bC	0,00aA	0,00aA	0,00a	0,00a	2,27
<i>Rezene</i>	96,33e	79,00dD	56,00cB	16,00bB	0,00a	0,00a	4,57
	Konsantrasyonlar (µl/petri)						EC ₅₀ ^b
	0.0	75.0	100.0	125.0	150.0	175.0	
<i>Okaliptus</i>	96,33e	75,00d	52,00c	19,33b	0,00a	0,00a	96,81
<i>Lavanta</i>	96,33d	29,67c	4,33b	0,00a	0,00a	0,00a	67,30

^a Elde edilen değerler 5 farklı petride çimlenen fungus spor sayılarının ortalamasıdır. 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 (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.05$).

^b Uçucu yağların spor çimlenmesini %50 düzeyde engelleyen etkili dozları (EC₅₀) her bir yağ için farklı dozlarda gözlenen çimlenen spor sayıları kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir

Liu ve ark., (2009), ticari temin edilen kekik türü uçucu yağları ile yapmış oldukları benzer bir çalışmada *G.citri-aurantii*'nin spor çimlenmesini 600 µl/l konsantrasyonunda %94 oranında engellediğini tespit etmişlerdir. Söz konusu araştırmanın sonuçlarına göre kekik türlerine ait uçucu yağlarının buhar etkilerinin turunçgilde hasat sonu kayıplara neden olan fungal hastalık etmenleri ile mücadelede kimyasal mücadeleye alternatif olarak uygulanabileceğini göstermiştir.

4.2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Çim Borusu Gelişimi Üzerine Buhar Etkileri

G.citri-aurantii'nin spor çimlenmesinin yanı sıra çimlenen sporlardaki çim borucuğu gelişimi üzerine bitki uçucu yağlarının buhar etkilerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5' te verilmiştir.

Çizelgeden de görüleceği gibi uçucu yağlarının spor çimlenmesini engelleyen konsantrasyonların (Çizelge 4.4) fungus sporlarının çim borusu gelişiminin engellendiği görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre konsantrasyonların artmasıyla fungusların çim borucuğu oranları azalmıştır. Fungus spor çim borusunun engellenmesinde en yüksek etkinliği spor çimlenmesinin engellenmesi etkinliğinde olduğu gibi sırasıyla, Suriye kekiği, kaba kekik, karabaş kekik, rezene, lavanta, okaliptus bitkilerinden elde edilen uçucu yağların gösterdiği belirlenmiştir. Uçucu yağlar tarafından spor çim borusunun tamamen engellenmesi, Suriye kekiği, kaba kekik ve karabaş kekik uçucu yağlarında 5.0 µl/petri, rezene uçucu yağında 10.0 µl/petri, lavanta uçucu yağında 125 µl/petri ve okaliptus uçucu yağında ise 150.0 µl/petri konsantrasyonlarında gerçekleşmiştir. Yapılan istatistik analizlere göre uçucu yağların spor çimlenmesi üzerine antifungal etkinlikleri konsantrasyonlara bağlı olarak önemli düzeyde artmış olup, konsantrasyonlar arasındaki fark $P \leq 0.05$ önem seviyesinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Bitki uçucu yağlarının buhar fazında *G. citri-aurantii* sporlarının çimlenme borusunun gelişimi (µm) üzerine antifungal etkinliği^a

Uçucu Yağlar	Konsantrasyonlar (µl/petri)						EC ₅₀ ^b
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0	15.0	
<i>Suriye kekiği</i>	115,00c	11,65bA	0,00aA	0,00aA	0,00a	0,00a	1,33
<i>Karabaş kekik</i>	115,00c	33,00bB	0,00aA	0,00aA	0,00a	0,00a	1,82
<i>Kaba kekik</i>	115,00c	16,50bA	0,00aA	0,00aA	0,00a	0,00a	1,57
<i>Rezene</i>	115,00d	39,50cB	19,80bB	11,25bB	0,00a	0,00a	1,92
	Konsantrasyonlar (µl/petri)						EC ₅₀ ^b
	0.0	75.0	100.0	125.0	150.0	175.0	
<i>Okaliptus</i>	115,00d	62,50c	17,00b	5,50a	0,00a	0,00a	77,11
<i>Lavanta</i>	115,00d	69,00c	11,50b	0,00a	0,00a	0,00a	78,68

^a Elde edilen değerler 5 farklı petride gelişen fungus sporlarının çimlenme borusunun uzunluğu (µm) ortalamasıdır. 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 (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.05$).

^b Uçucu yağların çimlenme borusunun gelişimini %50 düzeyde engelleyen etkili dozları (EC₅₀) her bir yağ için farklı dozlarda elde edilen misel çapları (mm) kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir

Uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının spor çimlenmesini engelleme oranlarına dayanılarak yapılan Probit analiz sonucunda her bir uçucu yağın fungusun spor çimlenmesini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyonları (EC₅₀) belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Elde edilen sonuçlara göre en güçlü antifungal etkinlik gösteren Suriye kekiği, kaba kekik, karabaş kekiği ve rezene uçucu yağların EC₅₀ değerleri sırası ile 1.33, 1.57, 1.82, 1.92 µl/petri olarak belirlenmiştir. Çalışmalarda kullanılan diğer bitki uçucu yağlardan karabaş lavanta ve okaliptus uçucu yağlarının EC₅₀ değerleri sırası ile 77.11 ve 78.68 µl/petri olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

4.3. Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerin Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Değme Etkilerinin Belirlenmesi

4.3.1. Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Spor Çimlenmesi Üzerine Değme Etkileri

G.citri-aurantii sporlarının çimlenmesi üzerine bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin değme etkilerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6 ile Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Söz konusu ana bileşenlerin konsantrasyonları, uçucu yağların buhar etkinliği denemelerinde kullanılan konsantrasyonlarla (0.0-175.0 µl/petri) yapılmış ön çalışmada yeterli düzeyde olmaması nedeni ile bu konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda (0.0-400.0 µl/ml) etkinlik çalışmaları yürütülmüştür.

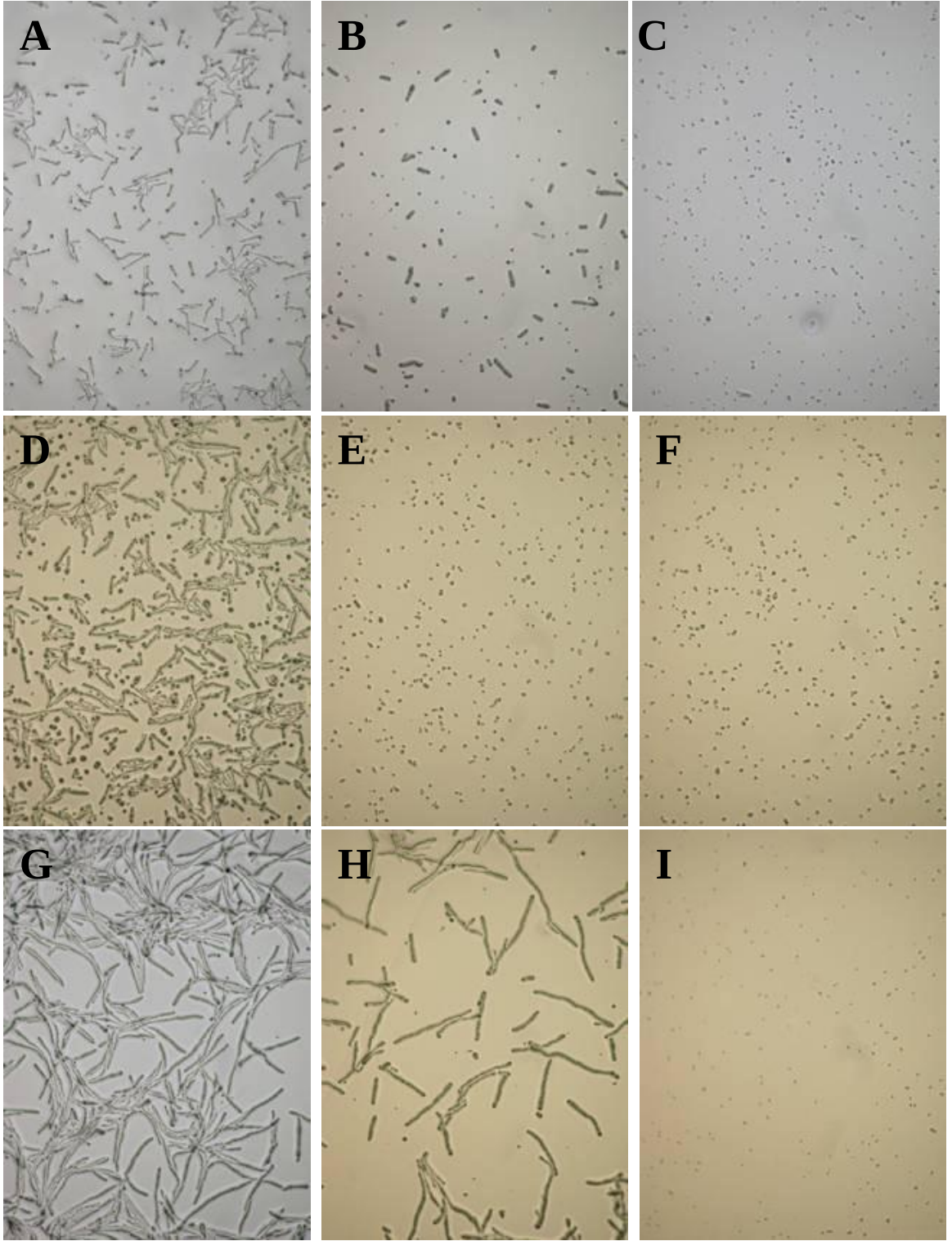
Çizelgeye bakıldığında uçucu yağ ana bileşenlerin konsantrasyonların artmasıyla fungusların spor çimlenme oranları azalmıştır. Fungus spor çimlenmesinin engellenmesinde en yüksek etkinliği miselyal etkinlikte olduğu gibi sırasıyla, carvacrol, *trans*-cinnamaldehyde, eugenol, *trans*-anethole, carvone, linalool uçucu yağ ana bileşenlerinin gösterdiği belirlenmiştir. Uçucu yağ ana bileşenleri tarafından spor çimlenmesinin tamamen engellenmesi, carvacrol ve *trans*-cinnamaldehyde ana bileşenlerinde 20.0 µl/ml konsantrasyonunda, eugenol ve *trans*-anethole ana bileşenlerinde 80.0 µl/ml, carvone ana bileşeninde 160 µl/ml ve linalool ana bileşeninde 400.0 µl/ml konsantrasyonlarında gerçekleşmiştir. (Çizelge 4.6, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).

Çizelge 4.6. Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı değme konsantrasyonlarının turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii* sporlarının çimlenmeleri (%) üzerine antifungal etkinliği^a

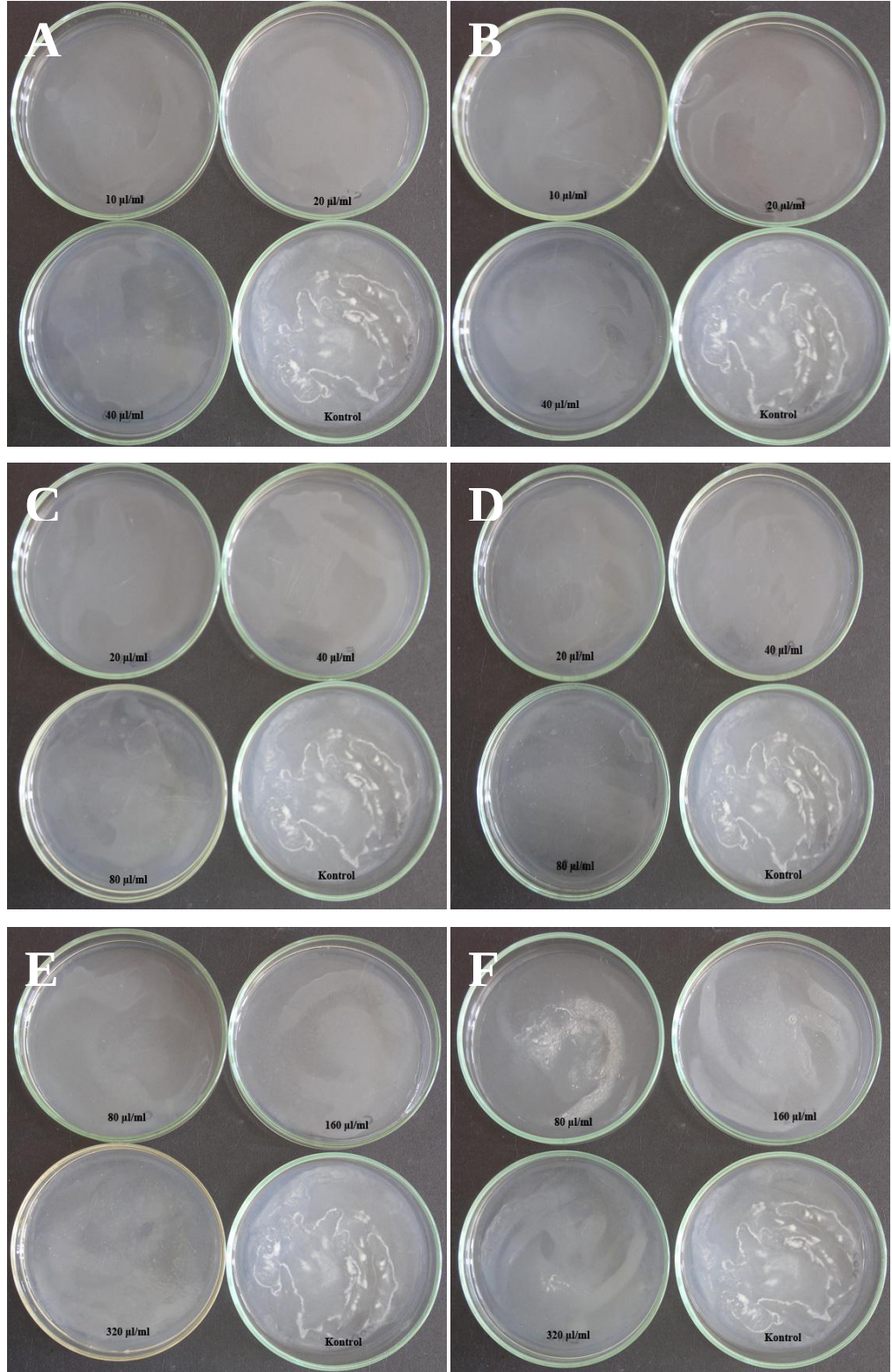
Uçucu Yağlar	Konsantrasyonlar (µl/ml)					EC ₅₀ ^b
	0.0	10.0	20.0	40.0	80.0	
<i>carcavrol</i>	97,67c	53,33bA	0,00aA	0,00aA	0,00a	10,17
<i>eugenol</i>	97,67e	87,33dB	41,33cB	9,33bB	0,00a	18,80
<i>trans-cinnamaldehyde</i>	97,67c	91,00bB	0,00aA	0,00aA	0,00a	13,22
<i>trans-anethole</i>	97,67d	97,00dC	75,00cC	25,33bC	0,00a	28,59
	Konsantrasyonlar (µl/ml)					EC ₅₀ ^b
	0.0	80.0	160.0	320.0	400.0	
<i>carvone</i>	97,67c	22,67b	0,00a	0,00a	0,00a	60,61
<i>linalool</i>	97,67d	94,33d	85,00c	60,67b	0,00a	278,58

^a Uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı dozları besi ortamlarına ilave edildikten sonra ve besi ortamı üzerine fungusun 200 µl taze spor süspansiyonları (10⁴ spor/ml) yayılmıştır. Uygulama görmüş ve kontrol petriler 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petride çimlenen fungus spor sayı ortalamasıdır. 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 (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.05$).

^b Uçucu yağ ana bileşenlerinin spor çimlenmelerini %50 düzeyde engelleyen etkili konsantrasyonları (EC₅₀) her bir ana bileşen için farklı dozlarda elde edilen çimlenen spor sayıları kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir



Şekil 4.5. Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin *G. citri-aurantii*'nin spor çimlenmesi engellenmesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki değme etkileri. (A-C) Carvacrol (D-F) *trans*-cinnamaldehyde (G-I) Linalool.



Şekil 4.6. Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin *G. citri-aurantii*'nin spor çimlenmesi engellenmesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki değme etkilerinin petri üzerindeki görünümleri. (A) Carvacrol, (B) *trans*-cinnamaldehyde, (C) Eugenol, (D) *trans*-anethole, (E) Carvone, (F) Linalool.

Yapılan istatistik analizlere göre uçucu yağ ana bileşenlerinin *G.citri aurantii*' nin spor çimlenmesi üzerine antifungal etkinlikleri konsantrasyon miktarına bağlı olarak önemli düzeyde artmış olup, konsantrasyonlar arasındaki fark $P \leq 0.05$ önem seviyesinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Benzer konsantrasyonda uçucu yağ ana bileşenleri arasındaki fark ise bir çok durumda istatistiksel olarak farklı olurken, 10 µl/ml konsantrasyonunda eugenol, *trans*-cinnamaldehyde ve *trans*-anethole arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.6)

Uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı konsantrasyonlarının spor çimlenmesini engelleme oranlarına dayanılarak yapılan Probit analiz sonucunda her bir uçucu yağın spor çimlenmesini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyonları (EC_{50}) belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Elde edilen sonuçlara göre en güçlü antifungal etkinlik gösteren carvacrol'un EC_{50} değeri 10.17 µl/ml olurken, bu bileşeni sırası ile *trans*-cinnamaldehyde, eugenol, *trans*-anethole, carvone ve linalool ana bileşenlerinin EC_{50} değerleri takip etmiştir. Bu bileşenlerin hesaplanan EC_{50} değerleri sırası ile 13.22, 18.80, 28.59, 60.61 ve 278.58 µl/ml olarak belirlenmiştir.

4.3.2. Bitki Uçucu Yağ Ana bileşenlerinin Çim Borusu Gelişimi Üzerine Değme Etkileri

G.citri-aurantii'nin spor çimlenmesinin yanı sıra çimlenen sporlardaki çim borucuğu gelişimi üzerine bitki uçucu yağ ana bileşenlerin değme etkilerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre konsantrasyonların artmasıyla fungusların çim borucuğu oranları azalmıştır. Fungus spor çim borusunun engellenmesinde en yüksek etkinliği gösteren ana bileşenler sırasıyla; *trans*-cinnamaldehyde, carvacrol, eugenol, *trans*-anethole, carvone, linalool uçucu yağ ana bileşenlerinin gösterdiği belirlenmiştir. Uçucu yağ ana bileşenleri tarafından çimlenme borusunun tamamen engellenmesi, carvacrol ve *trans*-cinnamaldehyde ana bileşenlerinde 20.0 µl/ml konsantrasyonunda, eugenol ve *trans*-anethole ana bileşenlerinde 80.0 µl/ml konsantrasyonunda, carvone ana bileşeninde 160 µl/ml konsantrasyonunda ve linalool ana bileşeninde 400.0 µl/ml konsantrasyonunda gerçekleşmiştir. Yapılan istatistik analizlere göre uçucu yağ ana bileşenlerinin çimlenme borusu üzerine antifungal etkinlikleri konsantrasyon miktarına

bağlı olarak önemli düzeyde artmış olup, konsantrasyonlar arasındaki fark $P \leq 0.05$ önem seviyesinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Benzer konsantrasyonda uçucu yağ ana bileşenler arasındaki fark ise bir çok durumda istatistiksel olarak farklı olurken, birçok konsantrasyonda eugenol, *trans*-cinnamaldehyde ve carvacrol arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.7)

Uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı konsantrasyonlarının çimlenme borucuğunu engelleme oranlarına dayanılarak yapılan Probit analiz sonucunda her bir uçucu yağ ana bileşeninin çim borusu gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyonları (EC_{50}) belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Elde edilen sonuçlara göre en güçlü antifungal etkinlik gösteren *trans*-cinnamaldehyde'in EC_{50} değeri 4.60 µl/ml olurken, bu bileşeni sırası ile eugenol, *trans*-anethole, carvacrol, carvone ve linalool ana bileşenlerinin EC_{50} değerleri takip etmiştir. Bu bileşenlerin hesaplanan EC_{50} değerleri sırası ile 4.84, 6.18, 8.27, 55.01 ve 216.17 µl/ml olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı değme konsantrasyonlarının turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii*' sporlarının çimlenme borusu gelişimi (μm) üzerine antifungal etkinliği^a

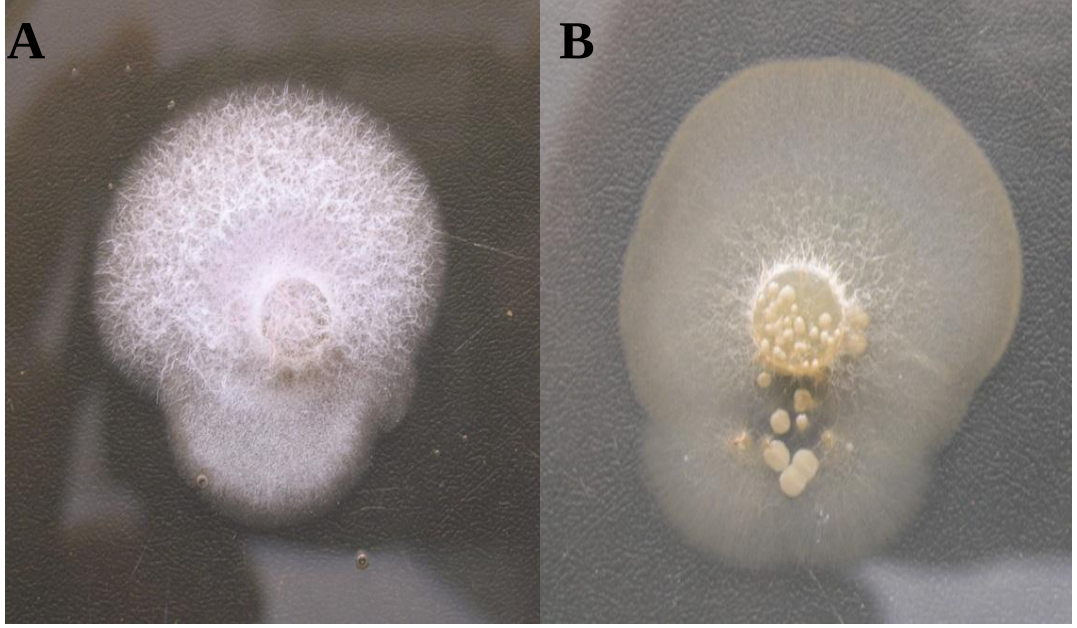
Uçucu Yağlar	Konsantrasyonlar ($\mu\text{l/ml}$)					EC ₅₀ ^b
	0.0	10.0	20.0	40.0	80.0	
<i>carcavrol</i>	468,00c	160,00bA	0,00aA	0,00aA	0,00a	8,27
<i>eugenol</i>	468,00c	95,00bB	23,00aB	4,50aA	0,00a	4,84
<i>trans-cinnamaldehyde</i>	468,00c	72,00bB	0,00aA	0,00aA	0,00a	4,60
<i>trans-anethole</i>	468,00d	63,00cB	57,00bcC	27,00abB	0,00a	6,18
	Konsantrasyonlar ($\mu\text{l/ml}$)					EC ₅₀ ^b
	0.0	80.0	160.0	320.0	400.0	
<i>carvone</i>	468,00c	107,00b	0,00a	0,00a	0,00a	55,01
<i>linalool</i>	468,00d	368,00c	343,00c	135,00b	0,00a	216,17

^a Uçucu yağ ana bileşenlerinin farklı dozları besi ortamlarına ilave edildikten sonra ve besi ortamı üzerine fungusun 200 μl taze spor süspansiyonları (10^4 spor/ml) yayılmıştır. Uygulama görmüş ve kontrol petriker 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petride gelişen fungus sporlarının çimlenme borusu uzunluklarının (μm) ortalamasıdır. 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 (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.05$).

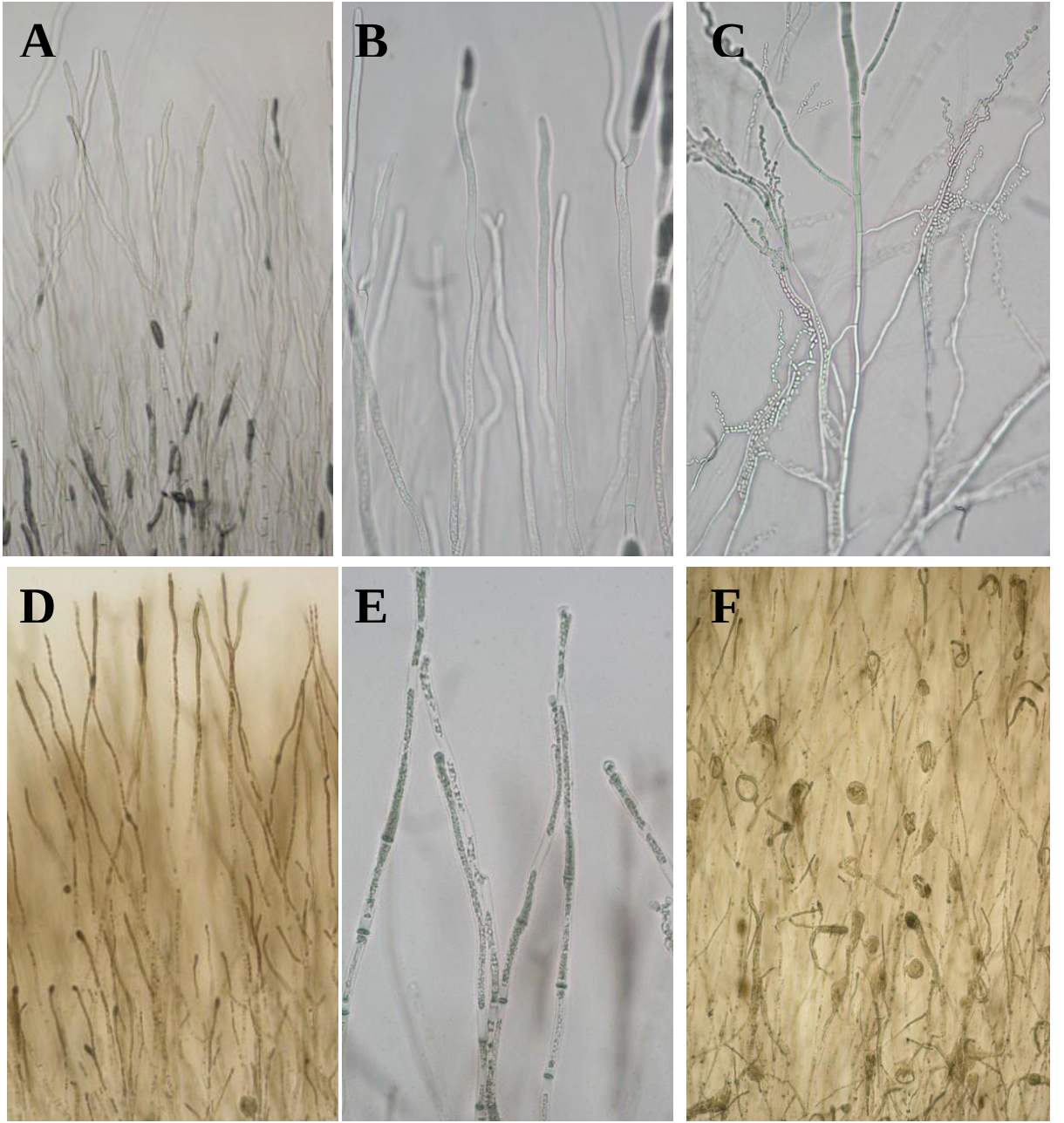
^b Uçucu yağ ana bileşenlerinin çimlenme borusunu %50 düzeyde engelleyen etkili konsantrasyonları (EC₅₀) her bir ana bileşen için farklı dozlarda elde edilen çimlenme borusunun uzunluk (μm) değerleri kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir.

4.4. Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Fazında Fungus Hif ve Sporlarının Yapılarında Sebep Olduğu Morfolojik Değişikliklerin Belirlenmesi

Bitki uçucu yağlarının fungusun hiflerinin morfolojik yapıları üzerinde sebep olduğu morfolojik değişiklikler faz kontrastlı ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Yapılan gözlemlerde uçucu yağların tamamen engellemeyi sağlayan konsantrasyonlarında fungal miselleri üzerinde oldukça şiddetli morfolojik bozulmalara neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7. ve Şekil 4.8). Yapılan gözlemler sonucunda buhar fazları en etkili olan Suriye kekiği ve Karabaş kekiği uçucu yağlarının 5.0 ve 7.5 µl/petri konsantrasyonlarında *G.citri-aurantii*'nin miselleri üzerinde zamana bağlı olarak önemli morfolojik değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. Zamana bağlı yapılan gözlemlerde uçucu yağ petriye eklendikten 1 gün sonrasında itibaren öncelikle renk değişikliği neden olmuş, daha sonra zamana bağlı sitoplazmik pıhtılaşmaya, hif yapısında artan şiddetlerde sitoplazmik içeriğin karararak hifin dışına boşalmasına neden olmuş, ilerleyen zamanlarda (yağ eklendikten 4 gün sonra) sitoplazması boşalmış misellerin tamamen koyulaşıp, deforme olarak nekrotik bir misel haline dönüşmüştür (Şekil 4.8). Sağlıklı hif kalınlığı yaklaşık 7.5-10 µm çapında iken, uçucu yağ uygulamasına maruz kalmış hiflerde hif kalınlığı yaklaşık %20-33 oranında daha incelerek 5-7 µm çapında olduğu belirlenmiştir.

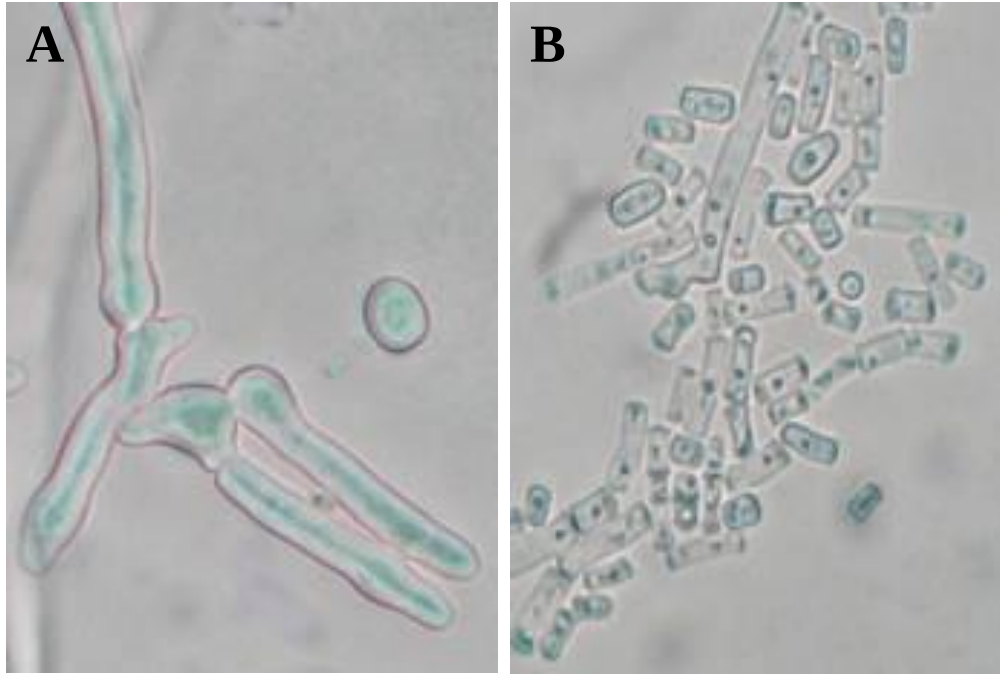


Şekil 4.7. Karabaş kekik uçucu yağının tamamen engelleyen buhar konsantrasyonuna (7.5 µl/petri) maruz bırakılmış fungus misellerinin petrideki görünümü. (A), Kontrol petrilerindeki sağlıklı *G.citri-aurantii* miselyal gelişimi, (B) Uçucu yağ eklendikten 2 gün sonra, *G.citri-aurantii* miselyal gelişiminde gözlenen morfolojik değişiklik.



Şekil 4.8. Karabaş kekik uçucu yağının tamamen engelleyen buhar konsantrasyonunun (7.5 µl/petri) fungus hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların ışık mikroskobu altındaki görüntüleri. (A-C), Işık mikroskobunda kontrol petrilerindeki sağlıklı *G. citri-aurantii* hif gelişimi ve sporulasyon oluşumu (ok). (D-F), uçucu yağ eklendikten 2, 3 ve 4 gün sonra, *G. citri-aurantii* hiflerinin sitoplazmalarında gözlenen renk değişimleri (D), koagülasyonlar (E), hiflerde erime ve sitoplazmik içeriğin dışarıya boşalması (F) (ok).

Benzer durum uçucu yağların buhar fazının spor çimlenmesi üzerine olan etkinliğinin belirlendiği çalışmalarda da gözlenmiştir. Özellikle Suriye kekiği ve Karabaş kekik uçucu yağlarının spor çimlenmesini tamamen engelleyen 5.0 ve 7.5 μl /petri konsantrasyonlarında fungus sporlarında vakuolleşmeye neden olduğu, sporların etrafında hava kabarcıkların görüldüğü, bazı sporların uç noktalarında şişmeler şeklinde şekil bozukluklarının oluştuğu belirlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Karabaş kekik uçucu yağının tamamen engelleyen buhar konsantrasyonuna (7.5 μl /petri) maruz bırakılmış fungus konidilerinin petrideki görünümü. (A), Kontrol petrilerindeki sağlıklı *G.citri-aurantii* spor çimlenmesi ve çimlenme borucuğunun (ok) gelişimi, (B) Uçucu yağ eklendikten 2 gün sonra, çimlenemeyen *G.citri-aurantii* sporlarının sitoplazmasındaki koagülasyonlar ve şişme şeklinde gözlenen morfolojik değişiklikler (ok).

Fungus hifleri üzerinde gözlenen kırışık büzüşmeler, hiflerde kararmalar şeklindeki nekrotikleşmeler, sitoplazmanın koagülasyonu (pıhtılaşması) ve sitoplazmik içeriğin dışarıya boşalması gibi morfolojik değişiklikler uçucu yağların hücre duvarında yapmış olduğu sahip olduğu enzimatik yıkımlardan dolayı olduğu düşünülmektedir (Rasooli ve ark., 2006). Uçucu yağların sahip olduğu lipofilik özelliklerinden dolayı

uçucu yağlar kolaylıkla hücre membranını delerek hücre içine ulaşmasına olanak sağladığı Knobloch ve ark. (1989) tarafından bildirilmiştir. Liu ve ark (2009) kekik uçucu yağını *G. citri-aurantii*'ye karşı gerek *in vitro* gerekse *in vivo* antifungal etkinliğini araştırdığı çalışmalarında uçucu yağın gerek konidi (artrospor) çimlenmesi gerekse çim borucuğu üzerine antifungal etkide bulunduğu, elektron ve ışık mikroskobu ile yapmış oldukları morfolojik gözlemlerde uçucu yağın fungus hifi ve artrospor (konidi) üzerinde önemli düzeyde morfolojik bozulmalara, plasma membranında yıkımlara, mitokondrilerinde ise yapısal bozulmalara neden olduğunu belirlemişlerdir. Kekik uçucu yağını satsuma mandarin meyvelerine uyguladıklarında ise hastalık oluşumunu %76'dan %35 oranına düşürdüğünü bildirmişlerdir. Soylu ve ark. (2005) yapmış oldukları bir diğer çalışmada, Suriye kekiği uçucu yağının turunçgil meyvelerinin önemli hasat sonu hastalık etmeni *P. digitatum* hifleri üzerinde oldukça belirgin yapısal bozulmalara neden olduğunu yapmış oldukları ışık mikroskobu gözlemleri ile ortaya koymuşlardır.

Işık mikroskobu ile yapılan gözlem sonuçlarına benzer sonuçlar farklı bitki uçucu yağı/ekstraktlarla farklı fungal etmenlerle ilişkilerinin incelendiği çalışmalarda da bildirilmiştir. Zambonelli ve ark. (1996) *Colletotrichum lindemuthianum* ve *Pythium ultimum* hifleri üzerinde *Thymus vulgaris*, *Lavandula* ve *Mentha piperita* bitkilerinden elde edilen uçucu yağlarının oldukça göze çarpan morfolojik değişikliklerin yanı sıra hiflerden dışarıya sitoplazmik boşalmalara neden olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde, ışık ve elektron mikroskobu kullanılarak yapılan çalışmalarda *Achillea millefolium*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus citriodora*, *Ageratum conyzoides* ve *Allium sativum* bitkilerinden elde edilen uçucu yağ ve ekstraktların fungal hastalık etmenleri *Didymella bryoniae*, *R.solani*, *C. Lindemuthianum* hiflerinde yapısal bozulmalara neden olduğu, *F.oxysporum* hiflerinde ise hif çaplarında incelmelere sebep olduğu bildirilmiştir (Bianchi ve ark., 1997, Fiori ve ark., 2000). Ülkemizde ise bitki uçucu yağlarının domates bitkilerinde önemli yaprak kökenli fungal hastalık etmenlerinden *Phytophthora infestans* ve *Botrytis cinerea* ile toprak kökenli *Sclerotinia sclerotiorum* hifleri üzerinde oldukça yıkıcı, çalışmalarımızda gözlenen yapısal bozulmalara benzer değişikliklere sebep olduğunu ışık ve elektron mikroskobu altında yapmış oldukları gözlemlerle belirlemişlerdir (Soylu et al., 2006; Soylu ve ark, 2007; Soylu et al., 2010).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Hatay ili ve çevresinde doğal olarak yetişen dereotu, rezene, Suriye kekiği, kaba kekik, karabaş kekiği, karabaş lavanta ve okaliptus bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar ile gerek bu yağların gerekse antifungal etkinliği önceden yapılan çalışmalar ile ortaya konmuş diğer bitki uçucu yağların ana bileşenlerinden carvacrol, *trans*-cinnamaldehyde, eugenol, *trans*-anethole, carvone ve linalool gibi kimyasal bileşenlerin değme ve buhar fazlarında sahip oldukları antifungal etkinlikleri *G.citri-aurantii* etmenine karşı *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Gerek uçucu yağlar, gerekse ana bileşenlerin fungusun misel gelişimi, sporlar çimlenmesi ile çimlenme borusu gelişimi üzerindeki etkinliği buhar ve değme fazlarında araştırılmıştır. Çalışmalarda ayrıca uçucu yağ ve ana bileşenlerin fungus hifleri ve sporları üzerinde sebep olduğu yapısal değişiklikler ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Bitki uçucu yağların misel gelişimi, spor canlılığı ve çim borusu gelişimi üzerinde buhar etkilerinin değme etkinliğine kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre gerek buhar gerekse değme fazlarında, kekik cinslerine (*Origanum*, *Thymus* ve *Thymbra*) dahil bitki uçucu yağlarının diğer bitki uçucu yağlarına oranla daha yüksek antifungal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağların misel gelişimi üzerine buhar etkilerine bakıldığında en yüksek etkinlik Suriye kekiği (*O. syriacum*) ve kaba kekik (*T. serpyllum*) 5.0µl/petri konsantrasyonunda elde edilmiştir. En düşük etkinlik ise 175.0 µl/petri konsantrasyonu ile okaliptus (*E. camandulensis*) uçucu yağı tarafından gösterilmiştir. Uçucu yağların misel gelişimi üzerine değme etkinliği *O. syriacum*, *T. serpyllum*, *T. spicata* ve *F. vulgare* olmak üzere 4 farklı bitki ile yürütülmüştür. Bu uçucu yağlar arasında en yüksek etkinliği 30.0µl/ml konsantrasyonunda Suriye kekiği (*O. syriacum*) ve karabaş kekik (*T. spicata*) gösterirken, en düşük etkinlik 30.0µl/ml konsantrasyonunda rezene (*F. vulgare*) tarafından gösterilmiştir. Uçucu yağlar önceki çalışmalarda olduğu gibi buhar fazları değme fazlarına göre daha düşük konsantrasyonlarda etkinlik göstermiştir.

Uçucu yağ ana bileşenlerinin fungus misel gelişimi üzerine olan değme etkinliği carvacrol, eugenol, *trans*-cinnamaldehyde, *trans*-anethole, carvone ve linalool olmak

üzere 6 farklı bileşenle araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek etkinlik 20 µl/ml konsantrasyonu ile kekik uçucu yağ ana bileşeni carvacrol ile tarçın bitki uçucu yağ ana bileşeni olan *trans*-cinnamaldehyde’de saptanmıştır. Kullanılan bileşenler içinde en düşük etkinlik ise 400 µl/ml konsantrasyonu ile linalool tarafından gösterilmiştir.

Uçucu yağların spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerine buhar etkilerine bakıldığında, her iki durumda da en yüksek etkiyi 5.0 µl/petri konsantrasyonu ile Suriye kekiği, kaba kekik ve karabaş kekik türleri göstermiştir. Gerek spor çimlenmesi gerekse çimlenme borucuğunun gelişimi Suriye kekiği, kaba kekik ve karabaş kekik uçucu yağları 5.0 µl/petri konsantrasyonda tamamen engellenmiştir.

Uçucu yağ ana bileşenler içinde kekik türlerinin ana bileşeni olan carvacrol ve tarçın bitkisinin ana bileşeni olan *trans*-cinnamaldehyde’in tıpkı misel gelişiminin engellenmesi üzerine etkinliğinde olduğu gibi, spor çimlenmesi ve çimlenme borusunun gelişimini engellemede diğer bileşenlerden daha yüksek etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağ ana bileşenlerinden, carvacrol ve *trans*-cinnamaldehyde ana bileşenleri 20.0 µl/ml konsantrasyonunda *G. citri-aurantii* spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimini tamamen engellemiştir. Kullanılan bileşenler içinde en düşük antifungal etkinlik, misel gelişiminde gözleendiği gibi 400 µl/ml konsantrasyonu ile linalool tarafından gösterilmiştir.

Bitki uçucu yağ ve ana bileşenleri ile muamele edilmiş fungus miselleri ile sporları ışık mikroskobu altında incelenerek, misel gelişiminin durdurulduğu ve spor çimlenmelerinin engellendiği konsantrasyonlardaki yapısal değişiklikler gözlenmiştir. Uçucu yağın gerek buhar gerekse değme etkinliğinde fungus gelişimini tamamen durduran konsantrasyonlarda *G. citri-aurantii*’nin misel ve sporlarında hücresel deformasyonlara neden olduğu gözlenmiştir. Uçucu yağlar ve ana bileşenlerin fungus gelişimini tamamen engelleyen konsantrasyonlarda *G. citri-aurantii* üzerinde daha çok hücre membranı ve sitoplazmik içerik düzeyinde geri dönüşümsüz etkileşimde bulunduğu, bununda muhtemelen yağ ve ana bileşenlerinin fungus membranını yıkarak sitotoksik etkiye neden olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, denemede kullanılan bitki uçucu yağlar ile bu yağların ana bileşenlerinin buhar fazında turuncgilde hasat sonu ekşi çürüklük hastalığına neden olan fungal etmen *G. citri-aurantii*’ye karşı yüksek düzeyde antifungal etkinliğe sahip

olduğu açıkça görülmektedir. Bu bitkiler arasında özellikle kekik türleri *O. syriacum*, *T. serpyllum* ve *T. spicata* ile ana bileşenlerden carvacrol ve *trans*-cinnamaldehyde ana bileşenlerinin etkileri oldukça ümit vericidir.

Hasat sonunda meydana gelen bu patojenlere karşı birçok fungusit kullanılmakla birlikte, uzun ve sık aralıklarla fungusit kullanımı hem çevreye zarar vermekte hemde fungusun bu fungusitlere karşı dirençli yeni ırklarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bitki uçucu yağlar ile ana bileşenlerinin patojene karşı doğrudan toksik etkide bulunması, söz konusu bu tip doğal bileşenlere karşı direnç geliştirmesinin önüne geçilebileceği ortadadır. Her ne kadar doğal olarak yetişen bu tip bitkiler ile yapılan biyoetkinlik çalışmaların artması sevindirici olsada, bu bitkilerin bilinçsizce toplanılmasının engellenmeside gerekmektedir. Bu tür bileşenlerin özellikle kapalı alanlarda (sera veya soğuk hava depoları, kontrollü ortamlar vb) hastalıklarla mücadelede başarı şansı oldukça ümitvar gözükmetedir. *In vitro* etkinliğini araştırdığımız bitki uçucu yağlar ile ana bileşenlerin *in vivo* denemeleri yapılarak bu bileşenlerin kontrollü koşullardaki etkinliklerinin araştırılması bu tür çalışmaların bir sonraki adımı olmalıdır. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal içeriklerinin belirlenmesi ve patojenlerin gelişimi etkileyen bileşenlerinin sentetik yollarla üretilerek diğer patojenler üzerine etkinliklerinin araştırılması antimikrobiyal etkinliği olan uçucu yağlar üzerine yapılan çalışmaların gelişmesine katkıda bulunacağı kesindir.

KAYNAKLAR

- Agar, İ.T. 1987. Satsuma, klemantin ve fremont mandarinleri ile mineolatangelo'nun kontrollü atmosferde muhafaza olanakları üzerinde araştırmalar. **Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 160 sayfa.**
- Ameziane, N., Boubaker, H. Boudyach, H., Msanda, F., Jilal, A. and Benaoumar, AA. 2007. Antifungal activity of Moroccan plants against citrus fruit pathogens. **Agronomy for Sustainable Development**, 27: 273-277
- Anonim, 2013. **TUİK Bitkisel Üretim İstatistikleri.** <http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>
- Anonim, 2014. Ulusal Turunçgil Konseyi 2014 Dönemi Olağan Genel Kurul Toplantısı, Yönetim Kurulu Faaliyet Raporu. 38 sayfa.
- Anonymous, 2012. FAOSTAT. **Statistic Database.** <http://faostat.fao.org>
- Arras, G., Usai, M., 2001. Fungitoxic activity of 12 essential oils against four post harvest citrus pathogens: Chemical Analysis of *Thymus capitatus* oil and its Effect in subatmospheric pressureconditions. **J. Food Prot.** 64, 1025-1029.
- Askarne, L. Talibi, İ., Boubaker, H., Boudyach, E.H., Msanda, F., Saadi, B. and Ben Aoumar, A.A. 2013. Use of Moroccan medicinal plant extracts as botanical fungicide against citrus blue mould. **Letters in Applied Microbiology**, 56, 37-43
- Ayanoğlu, F., Mert, A. ve Kaya, A., 2000. Hatay Florasında Yetişen Karabaş Lavanta (*Lavandulastoechassupspstoechas* L) Çelikle Köklendirilmesi Üzerine Farklı Lokasyonların ve Hormon Dozlarının Etkisi. **Tr. J. of AgricultureandForestry**, 24: 607-610.
- Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D. and Waoumar 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
- Benjlali, B.,Tantaoui-Eleraki, A., Ayadi, A., and Ihlal, M. 1984. Method to study antimicrobial effects of essential oil: application to the antifungal activity of six Moroccan essences. **Journal of FoodProtection**, 47, 748-752
- Bianchi, A., Zambonelli, A., D'Aulerio, A.Z., Bellesia, F., 1997. Ultrastructural studies of the effects of *Allium sativum* on phytopathogenic fungi *in vitro*. **Plant Diseases** 81, 1241-1246.
- 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
- Brown, G.E., 1988. Efficacy of guazatine and iminoctadine for control of postharvest decays of oranges. **PlantDis.** 72, 906-908.
- Brown, G., and Miller, W. 1999. Maintaining fruit health after harvest. In: Citrus Health Management ed. Timmer, L.W. and Duncan, L.W. pp. 175–188. St Paul, MN: The American Phytopathological Society Press.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **Int. J. Food Microbiol.** 94, 223– 253.
- Bus, V.G., Bongers, A.J., Risse, L.A., 1991. Occurrence of *Penicilliumdigitatum* and *P. italicum* resistant to benomyl, thiabendazole, and imazalil on citrus fruit from different geographic origins. **Plant Dis.** 75, 1098-1100

- Butler, E.E., Fogle, D., Miranda, M., 1988. *Galactomyces citri-aurantii*, a newly found teleomorph of *Geotrichum citri-aurantii* the cause of sour rot of citrus fruit. **Mycotaxon** 33, 197-212.
- Caccioni, D.R.L., Guizzardi, M., Biondi, D.M., Renda, A. and Ruberto, F. 1998. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. **International Journal of Food Microbiology**, 43: 73-79
- Camele, I., De Feo, V., Altieri, L., Mancini, E., De Martino, L., Rana, G.L., 2010. An attempt of postharvest orange fruit rot control using essential oils from Mediterranean plants. **J. Med. Food**, 13, 1515-1523
- Chafer, M., Sanchez-Gonzalez, L., Gonzalez-Martinez, C. and Chiralt, A. 2012. Fungal decay and shelf life of oranges coated with chitosan and bergamot, thyme and tea tree essential oils. **Journal of Food Science**, 77: 182-187
- Cohen, E. 1989. Evaluation of fenpropimorph and flutriafol for control of sour rot, blue mold and green mold in lemon fruit. **Plant Disease**, 73: 807-809
- Cohen, E., Coggins, C.W., Eckert, J.W., 1991. Predisposition of citrus fruits to sour rot when submerged in water. **Plant Dis.** 75, 166-168.
- Combrinck, S., Regnier, T. and Kamatou, G.P.P. 2011. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, 33: 344-349
- de Albuquerque, C.C., Camara, T.R., Marian, R.D.R., Willadino, L., Marcelino, J.R. and Ulisses, C. 2006. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schuer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 49: 527-535
- Dixit, S.N., Chandra, H., Tiwari, R., Dixit, V., 1995. Development of a botanical fungicide against blue mould of Mandarins. **J. Stored Prod. Res.** 31, 165-172.
- Dulger, B. And Hacıoğlu, N. 2008a. Antifungal activity of endemic *Salvia* in Turkey. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 7: 1051-1054
- Dulger, B. And Hacıoğlu, N. 2008b. Antifungal activity of endemic *Satureja jaicarica*. **Asian Journal of chemistry**, 20: 6505-6508
- duPlooy, W., Regnier, T., Combrinck, S., 2009. Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. **Postharvest Biol. Technol.** 53, 117-122.
- Eckert, J.W. 1978. Pathological diseases of fresh fruits and vegetables. **J. Food Biochem.** 2, 243-250.
- Eckert, J.W., Brown, G.E., 1988. Sour rot. In: Whiteside, J.O., Garnsey, S.M., Timmer, L.W. (Eds.), **Compendium of Citrus Diseases**. APS Press, St Paul MN, pp. 37-38.
- Eckert, J.W. and Eaks, I.L. (1989) Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. In: Reuther, W., Calavan, W.C. and Carman, G.E. (eds.), **The Citrus Industry** Vol. 5, Oakland, CA: Division of Agricultural Science, University of California, pp. 179-260.
- Ejechi, BO., Nwafor, OE., Okoko, FJ. 1999. Growth inhibition of tomato-rot fungi by phenolic acids and essential oil extracts of pepperfruit (*Dennetia tripetala*). **Food Research International** 32, 395-399
- Elgayyar, M., Draughon, F.A., Golden, D.A. and Mount J.R. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. **Journal of Food Protection**, 64: 1019-1024

- Eliskases-Lechner, F., Guéguen, M., Panoff, J.M., 2011. Yeasts and Molds-*Geotrichum candidum*. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds.), **Encyclopedia of Dairy Sciences**. Academic Press, pp. 765-771.
- Fatemi, S., Jafarpour, M., Eghbalsaied, S., Rezapour, A. and Borji, H. 2011. Effect of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Mentha piperita* on the control of green mould and postharvest quality of *Citrus sinensis* cv. Valencia. **African Journal of Biotechnology**, 10: 14932-14936
- Feng, W., Chen, J., Zheng, X., Liu, Q., 2011. Thyme oil to control *Alternaria alternata* *in vitro* and *in vivo* as fumigant and contact treatments. **Food Control**, 22, 78–81.
- Fiori, A.C.G., Schwan-Estrada, K.R.F., Stangarlin, J.R., Vida, J.B., Scapim, C.A., Cruz, M.E.S., Pascholati, S.F., 2000. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. *Journal of Phytopathology* 148, 483-487.
- Hao, W., Zhong, G., Hu, M., Luo, J., Weng, Q., Rizwan-ul-Haq, M., 2010. Control of citrus green and blue mold and sour rot by tea saponin combined with imazalil and prochloraz. **Postharvest Biol. Technol.** 56, 39-43.
- Isman, B.M. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, 19:603–608.
- Kaplan, H.J., Dave, B.A. 1979. The current status of imazalil: a post harvest fungicide for Citrus. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, 92:37-43.
- Knobloch, K., Pauli, P., Iberl, B., Weigand, H., Weiss, N., 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research* 1, 119–128.
- 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.
- Köse, 2007. Turunçgillerde Hasat Sonrası Patojenlere Karşı Bazı Bitki Uçucu Yağlarının Antifungal Etkinliği. **Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi**, 45 sayfa
- Linde, J.H., Combrinck, S., Regnier, T.J.C., and Virijeveć, S. 2010. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lippia rehmannii* from South Africa. **South African Journal of Botany**, 76: 37-42
- Liu, X., Wang, L.P., Li, Y.C., Li, H.Y., Yu, T. and Zheng, X.D. 2009. Antifungal activity of thyme oil against *Geotrichum citri-aurantii* *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Applied Microbiology**, 107: 1450-1456
- Locke, J.C., Larew, H.G., and Walter, J.F. 1993. Efficacy of clarified neem seed oil against foliar fungal pathogen and green house white flies. **American Chemical Society**, 21: 287-298.
- Mari, M., and Guizzardi, M. 1998. The postharvest phase: Emerging technologies for the control of fungal diseases. **Phytoparasitica** 26, 59-66.
- Mengüllüoğlu, M. 2012. Bitki Uçucu Yağ Ve Önemli Bileşenlerinin Karpuz Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalık Etmeni *Acidovorax citrulli* Üzerine Olan Antibakteriyel Etkinliklerinin *in vitro* Koşullarda Araştırılması. **Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi**, 64 sayfa.

- Palou, L., Smilanick, J.L., Crisosto, C.H., 2009. Evaluation of food additives as alternative or complementary chemical to conventional fungicides for the control of major postharvest diseases of Stone fruit. **J. Food Prot.** 72, 1037-1046.
- Perez-Alfonso, C.O., Martinez-Romero, D., Zapata, P.J., Serrano, M., Valero, D., and Castillo, S. 2012. The effects of essential oils carvacrol and thymol on growth of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* involved in lemon decay. **International Journal of Food Microbiology**, 158: 101-106.
- Portillo-Ruiz, MC., Viramontes-Ramos, S., Munoz-Castellanos, L.N., Gastelum-Fanco, M.G. and Nevarez-Moorillon, GV. 2005. Antifungal activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Shauer) **Journal of Food Protection**, 68: 2713-2717.
- Rasooli, I., Rezaei, M.B., and Allameh, A., 2006. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control**, 17: 359-364.
- Rippon, L.E. and Morris, S.C. 1981. Guazatine control of sour rot in lemons, orange and tangerines under various storage conditions. **SciHortic.** 14, 245–251.
- Salunkhe, D.K., and Desai, B.B. 1984. **Postharvest Biotechnology of Fruits**. Mahatma Phule Agricultural University, India, CRS Pres, Vol1:59-75
- Shahi, S.K., Patra, M., Shukla, A.C., and Dikshit, A. 2003. Use of essential oil as botanical-pesticide against postharvest spoilage in *Malus pumilo* fruits. **Biocontrol**, 48: 223-232.
- Shahi, S.K., Patra, M., Shukla, A.C., and Dikshit, A. 2003. Use of essential oil as botanical-pesticide against postharvest spoilage in *Malus pumilo* fruits. **Biocontrol**, 48: 223-232.
- Shikanga, E., Regnier, T., Combrinck, S., Botha, B., 2009. Polar Lippia extracts as alternatives for the postharvest control of Guazatine (R)-resistant strains of *Penicillium digitatum* in citrus. **Fruits**, 64, 75-82.
- Soylu, E.M., Tok, F.M., Soylu, S., Kaya, A.D. and Evrendilek, G.A., 2005. Antifungal activities of the essential oils on post-harvest disease agent *Penicillium digitatum*. **Pak. J. Biol. Sci.** 8, 25-29.
- Soylu, E.M., Soylu, 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., Yigitbas, H., Soylu, E.M. and Kurt, Ş. 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Applied Microbiology** 103:1021-1030.
- Soylu, E.M., Kurt, S., Soylu, S., 2010. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **Int. J. Food Microbiol.** 143, 183-189.
- Supratta, D.N., Arai, K., Iwai, H., 1995. Distribution of *Geotrichum candidum* citrus race in citrus groves and non-citrus fields in Japan. **Mycoscience** 36, 277-282.
- Supratta, D.N., Arai, K., Iwai, H., 1997. Effects of volatile compounds on arthrospore germination and mycelial growth of *Geotrichum candidum* citrus race. **Mycoscience** 38, 31-35.
- Szczerbanik, M., Jobling, J., Morris, S., Holford, P. 2007. Essential oil vapours control some common postharvest fungal pathogens. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 47: 103-109.

- Talibi, İ., Askame, L., Boubaker, H., Boudyach, E.H., Msanda, F., Saadi, B. And Ben Aoumar, AA. 2012a. Antifungal activity of Moroccan medicinal plants against citrus sour rot agent *Geotrichum candidum*. **Letters in Applied Microbiology**, 55: 155-161
- Talibi, İ., Askame L., Boubaker, H., Budyach, E.H., Msanda, F., Saadi, B. and Ben Aoumar, A.A. 2012b. Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum* the causal agent o postharvest citrus sour rot. **Crop Protection**, 35: 41-46
- Tserennadmid, R., Tako, M., Galgoczy, L., Pap, T., Pesti, M., Vagvolgyi, C., Almassy, K. and Krisch, J. 2011. Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. **International Journal of Food Microbiology**, 144: 480-486
- Xu, S.X., Li, Y.C., Liu, X., Mao, L.J., Zhang, H. and Zheng, XD. 2012. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of a water-dilutable cassia oil micro emulsion against *Geotrichum citri-aurantii*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 92: 2668-2671
- Whiteside, J.O.,Garnsey, S.M., Timmer, L.W. (Eds.), **Compendium of Citrus Diseases**. APS Press, St Paul MN
- Wilson, C.L.,andPusey, P.L. 1985. Potantial for biological control of postharvest plant diseases. **Plant Disease**, 69: 375-378.
- Wilson, C.L.,Ghaouth, A.E, Chalutz, E., Drony, S., Stevens, C., Lu, J.Y., Khan, V., andArul, J. 1994. Potantial of induce dresistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant Disease**, 78: 837-844
- Vargas, I., Sanz, I., Moya, P. and Prima-Yufera 1999. Antimicrobial and antioxidant compounds in volatile fraction of expressed orange essential oil. **Journalof Food Protection**, 62: 929-932
- Viuda-Martos, M.,Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., and Perez-Alvarez, J,A. 2007. Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils. **Journal of Food Safety**, 27: 91-101.
- Yiğit, F., Özcan M., and Akgül 2000. İnhibitory effect of some spice essential oils *Penicillium digitatum* causing postharvest rot in citrus. **Grasas Y Aceites**, 51: 237-240
- Zambonelli, A., Zechini D'aulerio, A., Bianchi, A., and Albasin, A. 1996. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi *in vitro*. **Journal of Phytopathology**, 144: 380-383.
- Zhou, H., Tao, N., and Jia, L., 2014. Antifungal activity of citral, octanal and a-terpineol against *Geotrichum citri-aurantii*. **Food Control**, 37:277-283.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Hatay’da doğdu. İlk, Orta ve Lise öğrenimini Hatay’da tamamladı. 2007 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği’ni kazandı. 2011 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünden mezun oldu. Aynı yıl içerisinde Mustafa Kemal Üniversitesi (MKÜ) Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı.