

**LABIATAE FAMILİYASINA AİT BAZI ENDEMİK TÜRLERİN
ÖNEMLİ BİTKİ PATOJENİ BAKTERİLER ÜZERİNE
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Şenol ALTUNDAĞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MART 2007
ANKARA**

**LABIATAE FAMILİYASINA AİT BAZI ENDEMİK TÜRLERİN
ÖNEMLİ BİTKİ PATOJENİ BAKTERİLER ÜZERİNE
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Şenol ALTUNDAĞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MART 2007
ANKARA**

Şenol ALTUNDAĞ tarafından hazırlanan LABİATAE FAMILİYASINA AİT BAZI ENDEMİK TÜRLERİN ÖNEMLİ BİTKİ PATOJENİ BAKTERİLER ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Belma ASLIM
Tez Yöneticisi

Bu çalışma jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Mecit VURAL

Üye : Prof.Dr. Belma ASLIM (Danışman)

Üye : Prof.Dr. Yavuz BEYATLI

Üye : Prof.Dr. Hayri DUMAN

Üye : Prof.Dr. Gönül DÖNMEZ

Tarih :02/03/2007

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Şenol ALTUNDAĞ

**LABIATAE FAMILİYASINA AİT BAZI ENDEMİK TÜRLERİN ÖNEMLİ
BİTKİ PATOJENİ BAKTERİLER ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)**

Şenol ALTUNDAĞ

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Mart 2007**

ÖZET

Bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de hastalık ve zararlılardan arı ürün yetiştirmek için çeşitli mücadele yöntemleri denenmektedir. Bu yöntemlerden biri, bitkisel materyaller ve bitkisel ekstraktlar kullanılarak hastalık ve zararlılarla mücadele etmektir. Bu çalışma kapsamında Labiatae familyasına ait endemik türler olan *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P. H . Davis, *Sideritis erytrantha* Boiss.& Heldr. apud Benth. subsp. *erytrantha*, *Salvia tchihatcheffii* (Fisch.& Mey.) Boiss., *Satureja wiedemanniana* (Lalem.) Velen. ve *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *sipyleus* bitkilerinin uçucu yağlarının antimikrobiyal etkisi, bitkilerde hastalık oluşturan yirmi bakteriye karşı denenmiştir. Denemeler invitro koşullarda besi ortamı üzerinde yapılmış ve uçucu yağların oluşturdıkları inhibisyon zon çapları belirlenmiştir. Oluşan inhibisyon zon çapları 0-54 mm arasında değişmiştir. Ayrıca bu uçucu yağların bakterilerin gelişimini engellediği en düşük konsantrasyonlar (MIC) belirlenmiştir. MIC değerleri en düşük 125 µg/ml, en yüksek ise >500µg/ml bulunmuştur.

Kimyasal analizler sonucunda, *Origanum minutiflorum* uçucu yağının ana bileşenini % 73,93 oranla Carvacrol, *Sideritis erytrantha* var. *erytrantha* uçucu

yağının ana bileşenlerini % 17,75 γ -terpinene, % 11,81 β -caryophyllene ve % 9,96 Sabinene maddelerinin oluşturduğu belirlenmiştir. Bunun yanında, *Salvia tchihatcheffii* uçucu yağının ana bileşenleri % 44,45 oranla 1,8-cineole ve % 12,19 Camphor'dur. Ayrıca *Satureja wiedemanniana* uçucu yağının ana bileşenlerini % 11,55 p-cymene, % 9,45 Menthadiene ve %7,22 Spathulenol ve *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* uçucu yağının ana bileşenlerini % 44,98 1,8-cineole ve % 12,19 Camphor'dur.

İnvitro denemeleri sonucu en etkili bulunan *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağının etkisi, *Xanthomonas vesicatoria* bakterisine karşı denenmiştir. Bu deneme sabit koşullardaki iklim odasında yetiştirilen domates bitkileri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Denemelerde beş farklı karakter kullanılmıştır. İlk olarak uçucu yağ domates bitkilerine uygulanmıştır. Kırksekiz saat sonra *Xanthomonas vesicatoria* bakterisi aynı bitkiler üzerine uygulanmıştır. 0-4 skalasına göre yapılan değerlendirme sonucunda, *Xanthomonas vesicatoria* bakterisi tarafından oluşturulan hastalığın % 81,25 oranında engellendiği tespit edilmiştir. Yapılan varyans analizi ile de karakterler arasındaki farkın önemli olduğu ve 3 farklı grup olduğu belirlenmiştir.

Bilim Kodu	: 203. 5. 037
Anahtar Kelimeler	: Labiatae, endemik türler, uçucu yağ, antimikrobiyal etki, bitki patojeni bakteriler
Sayfa Adedi	: 85
Tez Yöneticisi	: Prof. Dr. Belma ASLIM

**INVESTIGATIONS OF ANTIMICROBIAL EFFECTS OF SOME ENDEMIC
SPECIES OF LABIATAE FAMILY ON IMPORTANT PLANT
PATHOGENIC BACTERIA
(M. Sc. Thesis)**

Şenol ALTUNDAĞ

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
March 2007**

ABSTRACT

Various control strategies have been investigated for growing plants which are free of plant diseases and pests in our country as the entire world. One of these strategies is that diseases and pests are controlled by using plant materials and extracts. In this study scope, the anti-microbial effects of essential oils of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P. H . Davis, *Sideritis erytrantha* Boiss.& Heldr. apud Bentham subsp. *erytrantha*, *Salvia tchihatcheffii* (Fisch.& Mey.), *Satureja wiedemanniana* (Lalem.) Velen and *Thymus sipyleus* Boiss subsp. *sipyleus* which are endemic species plants belonging to Labiatae family were tested against the twenty bacteria caused diseases on plants. Under in vitro conditions, trials were done on common medium and inhibition zone diameters formed by essential oils were determined. Inhibition zone diameters ranged from 0 to 54 mm. Additionally the minimum inhibition concentrations (MIC) of these essential oils were determined. It was found that the lowest MIC score was 125 µg/ml and the most MIC score was >500 µg/ml.

In the results of chemical analysis, it was determined that the main ingredient of *O. minutiflorum* essential oil was Carvacrol with the rate of 73,93 % and the main ingredients of *Sideritis erytrantha* subsp. *erytrantha* essential oil were γ-

terpinene, β -caryophyllene and Sabinene with the rate of 17,75 %, 11,81 and 9,96 %, respectively. Additionally, the main ingredients of *Salvia tchihatcheffii* essential oil were 1,8-cineole and Camphor with the rate of 44,45 % and 12,19 % respectively. Also the main ingredients of *Satureja wiedemanniana* essential oil were p-cymene, Menthadiene and Spathulenol with the rate of 11,55 %, 9,45 % and 7,22 respectively and the main ingredients of *Thymus sipyleus* subsp. *Sipyleus* essential oil were 1,8-cineole and Camphor with the rate of 44,98 % and 12,19 %, respectively.

The effect of essential oil of *O. minutiflorum* which was found to be the most effective oil in the result of in vitro trials was tested against the bacterium of *Xanthomonas vesicatoria*. This trial was performed on tomato plants grown in climate room which had constant conditions. Five different characters were used in the trials. Firstly, the essential oil was applied on tomato plants. After 48 hours, the bacterium of *Xanthomonas vesicatoria* was applied on the same plants. In the result of the assessment done according to 0-4 scale, it was found that the disease caused by this bacterium was inhibited with the rate of 81.25 %. The different among the characters was found to be important according to the results of variance analysis and was determined 3 different groups.

Scientific code : 203. 5. 037
 Key words : Labiatae family, endemic species, essential oil, antimicrobial effect, plant pathogenic bacteria.
 Page number : 85
 Supervisor :Prof. Dr. Belma ASLIM

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden danışman hocam Prof. Dr. Belma ASLIM'a teşekkür ederim. Bitkilerin teşhislerini yapan aynı bölümden Prof. Dr. Hayri DUMAN ve Prof. Dr. Mecit VURAL ile Biyoteknoloji laboratuvarı asistanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın her aşamasında beni yalnız bırakmayan laboratuvar arkadaşlarım Dr. Meriç ÖZAKMAN, Dr. Aynur KARAHAN, Laborant Mahmut ÖZTÜRK ve Laborant Ali Osman KILINÇ'a, uçucu yağ analizlerini yapan Dr. Pelin AKSU'ya, istatistik analizlerini yapan müdür yardımcımız Dr. Numan BABAROĞLU'na, çalışmam boyunca her türlü imkanı sağlayan başta Enstitü müdürümüz Dr. Ali TAMER olmak üzere enstitü idaremize şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmam süresince maddi, manevi desteğiyle her zaman yanımda olan eşim Menşure, oğullarım Burak Can ve Yiğit ALTUNDAĞ ile anne ve babama teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	6
2.1. Bitki Bakteri Hastalıkları.....	6
2.2. Uçucu Yağların Elde Edilmesi ve Bileşimleri.....	9
2.3. Antimikrobiyal Etki.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1 Materyal.....	18
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Arazi çalışmaları.....	19
3.2.2. Laboratuvar çalışmaları	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	32
4.1. Arazi Çalışmaları	32
4.2. Laboratuvar Çalışmaları	37
4.2.1. Uçucu yağların elde edilmesi.....	37

4.2.2. Antimikrobiyal etki	38
4.2.3. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC).....	52
4.2.4. Uçucu bileşenlerin GC/MS analizleri.....	55
4.2.5. Uçucu yağın değişik kombinasyonlarının domates bitkilerindeki hastalığa etkisi.....	61
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	84

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bakteri adları, izolat adları, izolat numaraları ve elde edildiği bitki	18
Çizelge 3.2. Uçucu yağ konsantrasyonları ve 1 ml stok için karışım oranları.....	20
Çizelge 3.3. Streptomycin sülfat, bakır sülfat konsantrasyonları ve karışım oranları	21
Çizelge 3.4. Bakteri cinsleri, geliştirildiği sıcaklık, süre ve besi ortamları.....	21
Çizelge 3.5. MIC çalışmalarında kullanılan uçucu yağ konsantrasyonu ve karışım oranları.....	25
Çizelge 4.1. 100 g bitkiden elde edilen uçucu yağ miktarları	38
Çizelge 4.2. <i>Origanum minutiflorum</i> uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları.....	40
Çizelge 4.3. <i>Sideritis erythrantha</i> subsp. <i>erythrantha</i> uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları.....	42
Çizelge 4.4. <i>Satureja wiedemanniana</i> uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları.....	44
Çizelge 4.5. <i>Salvia tchihatcheffii</i> uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları.....	46
Çizelge 4.6. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları	48
Çizelge 4.7. Streptomycin sülfat ve bakır sülfat konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları.....	51
Çizelge 4.8. Çalışmada kullanılan bakteriler, kullanılan uçucu yağlar ve elde edilen MIC değerleri	54
Çizelge 4.9. <i>Origanum minutiflorum</i> 'dan elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları	56

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.10. <i>Sideritis erythrantha</i> subsp. <i>erythrantha</i> 'dan elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları.....	57
Çizelge 4.11. <i>Satureja wiedemanniana</i> 'dan elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları.....	58
Çizelge 4.12. <i>Salvia tchihatcheffii</i> 'den elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları.....	59
Çizelge 4.13. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> 'dan elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları.....	60
Çizelge 4.14. 0-4 skalasına göre değerlendirilen karakterler, aldığı skala değerleri ve bitkilerin dağılımı.....	61
Çizelge 4.15. Değişik uçucu yağ kombinasyonları uygulanan domates bitkilerindeki, hastalık oranı, hastalık şiddeti ve oluşan gruplar.....	65

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Plastik petrillerdeki besi ortamına mantar delici ile kuyucuk açılması.....	23
Resim 3.2. Çalışmada kullanılan 96 kuyulu elisa mikro küvet.....	26
Resim 3.3. Kasalarda yetiştirilen Selin F1 çeşidi domates fideleri.....	28
Resim 3.4. Bitkilere bakteri süspansiyonunun püskürtülmesi.....	29
Resim 3.5. Üzerlerine şeffaf plastik torba geçirilmiş domates bitkileri.....	30
Resim 4.1. <i>Origanum minutiflorum</i> bitkisi.....	32
Resim 4.2. <i>Sideritis erythrantha</i> subsp. <i>erythrantha</i> bitkisi.....	33
Resim 4.3. <i>Satureja wiedemanniana</i> bitkisi.....	34
Resim 4.4. <i>Salvia tchihatcheffii</i> bitkisi.....	35
Resim 4.5. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> bitkisi.....	36
Resim 4.6. <i>Origanum minutiflorum</i> bitkisinden elde edilmiş uçucu yağ.....	37
Resim 4.7. <i>Origanum minutiflorum</i> uçucu yağının <i>Ri</i> (<i>R. iranicus</i>) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları.....	39
Resim 4.8. <i>Sideritis erythrantha</i> subsp. <i>erythrantha</i> uçucu yağının <i>Rt</i> (<i>R. tritici</i>) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları.....	41
Resim 4.9. <i>Satureja wiedemanniana</i> uçucu yağının <i>Xtt</i> (<i>X. translucens</i> pv. <i>translucens</i>) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları.....	43
Resim 4.10. <i>Salvia tchihatcheffii</i> uçucu yağının <i>Ri</i> (<i>R. iranicus</i>) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları.....	45
Resim 4.11. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> uçucu yağının <i>Cmm</i> (<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları.....	47

Resim	Sayfa
Resim 4.12. Streptomycin sülfat'ın <i>Xv</i> (<i>X. vesicatoria</i>) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları.....	49
Resim 4.13. Bakır sülfat'ın <i>Xcc</i> (<i>X. campestris pv.campestris</i>) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları.....	50
Resim 4.14. Sadece bakteri (<i>X.vesicatoria</i>) uygulamasında bitkilerde oluşan hastalık belirtileri.....	63
Resim 4.15. Bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulaması sonrası bitkilerde oluşan hastalık belirtileri.....	63
Resim 4.16. Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulanmış bitkiler....	64
Resim 4.17. Uçucu yağ uygulanmış bitkiler.....	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
cm	Santimetre
⁰ C	Santigrat derece
g	Gram
m	Metre
mg	Miligram
µg	Mikrogram
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
mm	Milimetre
µm	Mikrometre
nm	Nanometre
p	Para
rpm	Revolutions per minute
%	Yüzde
α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
δ	Delta

Kısaltmalar	Açıklama
AMU	Atomic Mass Unit
CPS	Global Positioning System
DMSO	Dimethylsulphoxide
E	East
FDWSRU	Foreign Disease Weed Science Research Unit
GC/MS	Gas Chromatography/Mass Spectrometry
KB	King's B agar
MIC	Minimum Inhibition Concantration
N	North
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broht
NCPPB	National Collection Plant Pathogenic Bacteria
OD	Optical Densty
SDW	Steril Destile Water
YDCA	Yeast Extract Calcium Carbonate Agar
ZMMAE	Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü

1. GİRİŞ

Türkiye değişik iklim ve ortam koşullarına sahip olması nedeniyle bitki türü bakımından oldukça zengin bir ülkedir. 1988 yılında yayınlanan ek cilde göre Türkiye Florası'nda 173 familya, 8 792 tür, 10 482 taxa belirlendiği ve bunlardan 2 651 türün endemik olduğu bildirilmektedir. Bu familyalar içinde Labiatae familyası 45 cins, 730 tür ve içerdiği 240 endemik tür sayısı ile önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde Labiatae familyasından *Thymus* L., *Origanum* L., *Sideritis* L., *Salvia* L., ve *Satureja* L., cinslerine ait 241 türün yetiştiği ve bunlardan 114 türün endemik olduğu bildirilmektedir [1].

2000 yılında yayınlanan ek 11. cilde göre, Türkiye florasında familya sayısının 174 olduğu, tür sayısının yeni ilave edilen türler ile 8 988'e yükseldiği ve endemik tür sayısının da 2 891 olarak belirlendiği bildirilmektedir. Bu familyalar içinde Labiatae familyasına 28 türün daha ilave edildiği ve tür sayısının 758 olduğu belirtilmektedir [2]. Ayrıca, ek 11. cilt yayınlandıktan sonra yaklaşık 250 tür daha Türkiye Florasına eklenmiştir.

Yurdumuzda en çok bilinen ve kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler Labiatae familyasına ait olup, dünyanın pek çok yerinde de bulunmaktadır. Bunların önemlilerinden biri *Thymus* spp. (kekik) dir. Buna ilaveten aynı familyaya ait *Origanum* spp. (Mercanköşk), *Sideritis* spp. (Dağçayı), *Salvia* spp. (Adaçayı) ve *Satureja* spp. (Kayakekiği) de baharat olarak kullanılmaktadır [3].

Tıbbi ve aromatik bitkiler baharat olarak kullanımının yanı sıra tıp, eczacılık, kozmetik ve tarım alanında da geniş kullanım imkanı bulmakta, antik çağlardan beri tıbbi yararları bilinmekte ve gün geçtikçe de yeni faydaları keşfedilmektedir. Bu bitkilerin tıbbi faydalarından bazılarını şöyle sıralamak mümkündür. İştah acı, sindirimi kolaylaştırıcı, idrar söktürücü, kan dolaşımını hızlandırıcı, terletici, hazımsızlığı azaltıcı, kramp çözücü, dezenfekte edici, balgam söktürücü olarak kullanıldığı gibi, soğuk algınlığı, nezle, boğaz ağrıları, boğmaca, bronşit ve astım

tedavisinde, saman nezlesinin iyileştirilmesinde, öksürüğün azaltılmasında, doku ve damar büzücü etkileri nedeniyle çocuklarda yatak ıslatma durumunun iyileştirilmesi gibi bir çok alanda kullanılmaktadır.

Tarım alanında ise, yüzyıllardır insanoğlu tarlada ve hasat sonrası depodaki ürünlerini hastalık ve zararlılardan korumak için değişik yöntemler kullanmıştır. Bu yöntemlerden biri de bitkisel materyaller ve bitki ekstraktları kullanarak hastalık ve zararlılarla mücadele etmektir. Ancak, 1940'lerden sonra sentetik kimyasalların bunların yerini almasıyla gerileme sürecine girmiştir. Son zamanlarda ekolojik dengelerin alt üst olması ve çevre bilincinin artmasıyla, araştırmacıları kimyasallara alternatif olabilecek, insan, hayvan ve çevreye zararsız maddeler ve yöntemler bulmaya zorlamıştır.

Son yıllarda araştırmacılar, ekonomik öneme sahip bitki hastalık ve zararlılarına karşı kullanılacak, insan sağlığına ve çevreye zararsız, toksik olmayan bileşiklerin elde edilmesine yönelik çalışmalara ilgi duymaktadır. Bitkilerden elde edilen maddeler üzerinde durulmasının nedenleri ise; bunların zaten doğada bulunmaları, dolayısıyla doğaya toksik madde yayılmasının söz konusu olmaması, kısa zamanda dekompoze olarak toprak ve su kirliliğine yol açmamaları, ürünler üzerinde insan sağlığını tehdit edecek uzun süreli kalıntılar oluşturmamaları, zaten doğada bulunmaları nedeniyle bir çok hayvan ve diğer canlıların bunlardan kendilerini koruyacak mekanizmalar geliştirmiş olmaları ve spesifik olmalarıdır. Tarım alanında yapılan çalışmalarda ise, hastalıklardan ziyade, daha çok böcekler üzerinde, özellikle de depolanmış ürünlerde zarar yapan türler üzerinde araştırmalar yapılmış ve böcekler karşı toksik, repellent (uzaklaştırıcı), beslenme ve çoğalmayı engelleyici etkileri olduğu belirlenmiştir [4].

Son zamanlarda bitkilerden elde edilen bileşikler üzerinde yapılan çalışmalarda artış gözlenmektedir. Bu bileşikler içinde en çok çalışılmalardan biride uçucu yağlar ve bunların kimyasal bileşimleridir. Uçucu yağlar ile bitki hastalık ve zararlılarına karşı çok sayıda çalışma yürütülmüş ve umut verici sonuçlar alınmıştır. Ancak ülkemizde

ürün kaybı açısından önemli olan bitki bakteri hastalıkları üzerinde yapılmış çalışmaların çok fazla olmadığı dikkati çekmektedir.

Farklı ekolojik bölgelere ve buna bağlı olarak çok zengin bir bitki çeşidine sahip ülkemizde, ekonomik değere sahip 60'ın üzerinde kültür bitkisi yetişmektedir. Bu bitkilerde ekonomik olarak zarar yapan 400'ün üzerinde hastalık, zararlı ve yabancı ot türü bulunmaktadır. Dünyada tarımı yapılan bitkilerde hastalık ve zararlılar nedeniyle meydana gelen ürün kaybının % 35 civarında olduğu ve mücadele yapılmadığında bu oranın iki katına çıktığı bildirilmektedir. İnsanlar ekip diktiklerini değil, hastalık ve zararlılardan arta kalan ürünü hasat edebilmektedirler. Üretim kalitesini ve miktarını artırmak için mutlaka mücadele yapılması gerekmektedir. Ülkemizde hastalık, zararlı ve yabancı otlar ile mücadele etmek için yılda yaklaşık 40-45 bin ton tarım ilacı kullanılmaktadır. Bu miktar gelişmiş ülkelere oranla oldukça düşük olmasına rağmen, bu ilaçların gereğinden fazla ve bilinçsiz kullanılması nedeniyle, insan sağlığı, hayvanlar, çevre ve doğal yaşam üzerinde pek çok olumsuz etkileri bulunmaktadır [5].

Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü verilerine göre, 2005 yılı itibariyle, ülkemizde hastalık ve zararlılarla mücadelede kullanılmak üzere 405 adet aktif madde ruhsatlandırılmıştır. Bu aktif maddelerden üretilen ruhsatlı ilaç sayısı 3343'dür. 2005 yılı verilerine göre, ülkemizde pestisit kullanım miktarı yaklaşık olarak 44 336 ton, bunun maddi değeri de yaklaşık olarak 336 547 000 YTL dir. Kullanılan bu ilaç miktarının yaklaşık 11 556 tonu ithal edilmekte ve bunun karşılığı olarak da 62 779 000 YTL bedel ödenmektedir.

Ülkemizde bu denli ilaç kullanılmasına ve para harcanmasına rağmen, bitki hastalık ve zararlılarıyla özellikle de bitki bakteri hastalıklarıyla mücadele etmekte güçlükler yaşanmaktadır. Bakterilerin bitkilerde hastalıklara neden olduğunun anlaşılması yaklaşık 120 yıl önceye dayanmaktadır. İlk defa, Amerika'da armut ağaçlarında ateş yanıklığına bir bakterinin neden olduğu 1884 yılında T. J .Burrill tarafından tespit edilmiş ve *Erwinia amylovora* olarak isimlendirilmiştir. Bugün 1 500 dolayında olan

bakteriler içerisinde, sayıları 300'ü aşan bitki patojeni bakterilerden bazıları dünyada ve ülkemizde hasat öncesi ve sonrası önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır [6].

Ülkemiz açısından ekonomik kayıplara neden olan bitki bakteri hastalıklarının başında *Agrobacterium vitis* (Bağ Kanseri), *Erwinia amylovora* (Ateş Yanıklığı), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Bakteriyel Kanser ve Solgunluk), *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Siyah Damar Çürüklüğü), *Xanthomonas vesicatoria* (Bakteriyel Leke) ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Bakteriyel Benek) gelmektedir. [7].

Bu bakteriler ile enfekte olmuş bitkileri tedavi edebilmek için antibiyotik içeren ilaçlar kullanılması gerekmektedir. Ancak, ülkemizde tarım alanında antibiyotik içeren bitki koruma ürünlerinin yasak olması nedeniyle, bu tip preparatlara ruhsat verilmemektedir. Bunun nedenleri ise, yoğun antibiyotik kullanımı sonucu dayanıklı bakteri popülasyonlarının ortaya çıkma riski, ürünler üzerindeki kalıntısının insan vücuduna alındığında, insanda hastalık yapan bakterilerde antibiyotiklere karşı bir direnç oluşturma ve uygulamayı yapan kişilere direkt zararlı etkiye bulunma ihtimalidir. Diğer bir riskte, toprağa geçerek toprak mikroflorasını olumsuz yönde etkilemesi, yer altı sularına karışarak bütün canlılar üzerinde olumsuz etkiye bulunma ihtimalidir. Keza ülkemizdeki bilinçsiz ilaçlamalar nedeniyle, önerilen dozun çok yüksek miktarlarının kullanılması, uygun olmayan zamanlarda kullanılması, günlük veya 2-3 günde bir hasat edilen ürünlerde de kullanılma riski ve şu andaki denetim mekanizmalarının istenilen düzeyde bulunmaması gibi nedenlerden dolayı antibiyotiklerin bitki hastalık ve zararlılarına karşı ruhsatlandırılması ve kullanılması uygun görülmemektedir [8].

Günümüzde bakteriyel hastalıklara karşı tarla döneminde kullanılan ruhsatlı hazır bakırlı preparatlar (Bordo bulamacı, Bakır oksit, Bakır oksiklorür, Bakır hidroksit, Bakır oksisülfat gibi) ise hastalığı tedavi etmek amacıyla değil, yalnızca bitkiye hastalığın bulaşmasını önlemek amacıyla koruyucu olarak kullanılmaktadır [9,10].

Gıda olarak kullanılan bitkilerdeki hastalık etmeni bakterilerin mücadelesinde antibiyotiklerin kullanımının uygun olmaması, doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal ajanların önemini artırmaktadır. Ancak, bakterilerin zaman içinde antimikrobiyal ajanlara karşı direnç kazanması bu hastalık etmenleri ile mücadelede ciddi sorun yaratmaktadır. Bu bakımdan da yeni antimikrobiyal etmenlerin bulunmasına yönelik araştırmalar cazip hale gelmektedir. Ayrıca organik tarım yetiştiriciliğinde pestisitlerin kullanımının yasak olması ve şu anda alternatiflerinin bulunmaması bu konuda büyük bir eksiklik olduğunu gündeme getirmektedir. Bu çalışma ile, zengin bitki rezervlerine sahip ülkemizde Labiatae familyasına ait bazı endemik türlerin uçucu yağlarının elde edilerek, ekonomik öneme sahip bitki patojeni bakteriler üzerine antimikrobiyal etkilerinin araştırılması, etkisi olanların etkili olduğu en düşük dozların belirlenmesi ve en etkili olan uçucu yağın saksıda bir hastalığa karşı denemeleri yapılarak hastalık üzerindeki etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışma sonunda elde edilen veriler ışığında, etkili olan uçucu yağın bakteri hastalıklarıyla mücadelede, özellikle de organik tarım yetiştiriciliğinde doğal, çevre dostu, ekonomik ve sağlık açısından herhangi bir risk taşımayan, antimikrobiyal ajan olarak, pestisitlere alternatif olarak kullanılabileceği önerilebilir. Ayrıca, elde edilen bu uçucu yağların farklı biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabileceği düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, endemik bitki türlerinden elde edilen uçucu yağlar uygulamada kullanım imkanı bulursa, tarım ülkesi olan ülkemiz için büyük ekonomik kazanç olacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Bitki Bakteri Hastalıkları

Dünyadaki insan nüfusunun hızla artması, beraberinde beslenme sorununu da ortaya çıkarmıştır. Ülkeler gıda ihtiyaçlarını temin etmek için tarıma dayalı ham maddeleri satın almak zorunda kalmışlardır. Bu da ülke ekonomileri için büyük miktarlarda paraların harcanması anlamına gelmektedir. Bu bakımdan büyük bir potansiyele sahip olan ülkemiz, tarımsal üretimini hızla artırmak ve daha fazla ve kaliteli ürünü dış pazarlara satmak zorunluluğundadır. Ülkemizde yaklaşık 27 milyon hektar alanda tarım yapılmaktadır. Bu miktarın artırılması mümkün olmadığına göre, kaliteli ve fazla miktarda ürün elde etmenin yolu, tarımsal potansiyellerden ve teknolojiden en üst düzeyde yararlanarak, birim alandan en fazla ürün elde etmekten geçmektedir. Üretimin kalite ve miktarının artırılmasında en önemli kriterlerden biride, hastalık ve zararlılar ile mücadele ederek kayıpların en aza indirilmesidir [11].

Ülkemizde bitkilerde ve bitkisel ürünlerde 400'ün üzerinde hastalık, zararlı ve yabancı ot'un kayıplara sebep olduğu bildirilmektedir. Hasat öncesi tarladaki ürün kayıplarının % 35 oranında olduğu, bunun % 14'inin zararlılardan, % 11'inin hastalıklardan, % 10'unun da yabancı otlardan ileri geldiği, hasat sonrası da % 14 oranında ilave kayıplar olduğu bildirilmektedir [12].

Bağ Kanseri Hastalığı etmeni *Agrobacterium vitis*'in, asmaların kök ve kök boğazlarında urlar oluşturarak hastalığa neden olduğu, özellikle genç fidanlarda ve yeni tesis edilen bağlarda ilk yıllarda ölümlere neden olduğu bildirilmektedir [13,14]. İç karantina, dış karantina ve sertifikasyon listemizde yer almakta olan ve toleransı sıfır olan bu etmenin üretim parsellerinde bir bitkide bile görülmesi halinde, parseldeki bütün bitkilerin imha edilmesi gerekmektedir. Ayrıca bu parsellerde 5 yıl süreyle asma üretimine izin verilmemektedir.

Bakteriyel Kanser ve Solgunluk Hastalığı etmeni *Clavibacter michiganensis* pv. *michiganensis*'in domates bitkilerinin çiçeklenme dönemi başlangıcında bitkilerde solgunluğa neden olduğu, ileri devrelerde yara ve çatlakların oluştuğu, etmenin tohuma geçerek tohumların çimlenme gücünü yitirmesine neden olduğu, erken enfeksiyonlarda ürün almanın imkansız olduğu, yapılan araştırmalarda % 80'e varan oranlarda zarara neden olabildiği bildirilmektedir [9].

Fasulyelerde Bakteriyel Solgunluğa neden olan *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*'in özellikle genç bitkilerde erken enfeksiyonlarda bitkilerin tamamen ölümüne neden olduğu, USA'da fasulyelerde en önemli hastalıklardan biri olduğu ve bazı yıllarda ürünün tamamının kaybına neden olduğu rapor edilmektedir [15].

Ülkemizin hemen her bölgesinde görülen ve çok tahripkar olan Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığı etmeni *Erwinia amylovora*'nın, tüm dünyada karantinaya tabi olduğu, ilk belirtilerin çiçeklerde görüldüğü, tüm çiçek demetinin suyla haşlanmış gibi görünüm alıp, meyve oluşumunun tamamen engellendiği, sadece o yılın ürününü etkilemekle kalmayıp, ağaçlarda sürgün, ana dal ve gövdeyi de hastalandırarak gelecek yıllardaki ürünü de etkilediği, hatta, kısa sürede büyük ağaçları bile kurutabildiği bildirilmektedir [10].

Patates Yumuşak Çürüklük Hastalığı etmenleri *Erwinia caratovora* subsp. *atroseptica* ve *E. caratovora* subsp. *caratovora* patates yumrularında çürümeye neden olmasının yanında, hastalıklı bitkilerin ölümü, depoda yeni bulaşmalara ve hızlı bir çürümeye sebep olması nedeniyle önemli ölçüde ürün kaybına neden olduğu belirtilmektedir [9].

Domates Bakteriyel Benek Hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun ise, özellikle ilk çiçeklerde hastalığın görülmesi halinde, meyve tutumunu engellediğinden büyük ürün kaybına neden olduğu, meyvelerde lekelenmelere neden olarak domatesin pazar değerini düşürdüğü, dünyada ve ülkemizde domates yetiştirilen alanlarda, bilhassa örtü altı alanlarında yaygın olduğu bildirilmektedir [9].

Domates Bakteriyel Leke Hastalığı etmeni *Xanthomonas vesicatoria*'nın da domateslerde önemli zararlara neden olduğu, özellikle çiçek dönemindeki enfeksiyonlarda ürün kaybının fazlalaştığı, hastalıklı meyvelerin pazar değerlerinin çok düşmesi nedeniyle de zararın arttığı belirtilmektedir [9].

Fasulye Hale Yanıklığı Hastalığı etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*'nın ilk belirtilerinin genç yapraklarda ortaya çıktığı, kapsülün enfeksiyona uğraması halinde, iletim demetleri yoluyla tohumunda enfekte edildiği, özellikle kuru Fasulye çeşitlerinde önemli zararlara neden olduğu belirtilmektedir [9].

Buğday Kavuz Çürüklüğü Hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*'in ağır enfeksiyonlarında başakların boş kaldığı veya tanelerin buruşuk ve şekilsiz olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, bu etmenin, ürün kayıplarına ve ekmeklik kalitesinin düşmesine neden olduğu, nadir olarak salgın yaptığı ve bu nedenle ekonomik öneminin düşük olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde bu etmenin varlığı bilinmemektedir [16].

Buğdayda, sarı başak çürüklüğü ve başak yanıklığına neden olan *Rathayibacter tritici*'nin *Anguina tritici* isimli nematod ile taşındığı, nematod ile birlikte % 60,8'e varan oranlarda zarara neden olabildiği bildirilmiştir. Yine buğdayda başaklarda bakteriyel zamklanmaya neden olan *Rathayibacter iranicus*'un ise ekonomik öneminin bilinmediği belirtilmektedir [17]. Ülkemizde bu etmenler ile ilgili Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü'nde bir proje yürütülmüş, *R. tritici*, *R. iranicus*'un ülkemizdeki varlığı ilk defa belirlenmiş, ayrıca dünya literatürü için yeni bir alt tür olan *R. iranicus* subsp. *iranicus*'un varlığı tespit edilmiştir [18].

Bakteriyel Çizgi Hastalığı etmeni *Xanthomonas translucens* pv. *translucens*'in ise buğdaylarda % 40'lara varan oranda verim kaybına neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu bakteri Ülkemizde yalnızca Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün deneme parsellerinde tespit edilmiştir [19].

Lahana Siyah Damar Çürüklük Hastalığı etmeni *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in erken dönemde yapraklarda kurumaya neden olduğu, en tipik belirtisinin ise damarların siyahlaşarak çürümesi olduğu, ileri dönemlerde bitkilerin ölebildiği ve % 90'lara varan oranlarda zarara neden olduğu belirtilmektedir [7].

Ülkemizde büyük çoğunluğunun varlığı bilinen bu hastalıkların zaman zaman verim kayıplarına neden olduğu bildirilmektedir. Ancak, bu hastalıklardan dolayı meydana gelen ürün kayıpları ile ilgili detaylı bir çalışma yapılmamıştır. Ateş Yanıklığı etmeni *E. amylovora*'nın 1985 yılında ülkemizde ilk tespiti ile ülkesel bir survey programı başlatılmış ve hastalık tespit edilen bütün ağaçlar kesilerek imha edilmiştir. Bir başka bakteriyel hastalık etmeni olan *A.vitis* (Bağ Kanseri) sebebiyle bir çok Meyvecilik Üretim İstasyonu'nda üretilen asmalar imha edilmiş ve bazıları kapatılmak zorunda kalmıştır.

Koruyucu olarak ilaçlama dışında kimyasal mücadelesi bulunmayan bu etmenler ile savaşmada ancak hazırbakırlı ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar ise, genelde durgun dönemde bitkiler uyanmadan budama işleminden sonra yapılmaktadır. Bakteri hastalıklarıyla mücadelede fazla alternatif olmaması dolayısıyla yeni alternatiflerin bulunması ve uygulamaya verilmesi daha fazla önem kazanmaktadır.

2.2. Uçucu Yağların Elde Edilmesi ve Bileşimleri

Tıbbi ve aromatik bitkilerin etkileri eski çağlardan beri bilinmekte ve bu bitkiler bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bilim ve teknolojiye paralel olarak, bu bitkilerin içerdikleri bileşikler tespit edilmiş, insan , hayvan ve bitkilerde zararlı olan etmenlere karşı etki mekanizmaları belirlenmeye çalışılmıştır. Bunun nedeni ise, pestisitlere alternatif olabilecek daha etkili ve güvenli kullanılabilecek, zararsız bileşiklerin arayışıdır. “Tıbbi ve Aromatik Bitkiler” olarak bilinen bu bitkilerin, yapılan kimyasal ve fiziksel analizleri sonucu bazı özellikleriyle ilgili veriler elde edilmiştir.

Uçucu yağlar (essential oils); bitkilerde oluşan, su buharıyla uçabilen, oda sıcaklığında çoğunlukla sıvı, ekstraksiyon veya su buharı distilasyonu ile elde edilebilen, genellikle renksiz veya açık sarı renkli, bulunduğu bitkiye özgü kuvvetli kokulu ve yakıcı lezzetli, çok sayıda bileşenden oluşmuş doğal ürünlerdir. Bitkinin bütününde (çam), taç yaprakta (gül), ağaç kabuğunda (tarçın), çiçek tomurcuğunda (karanfil), stigmada (safran), meyve kabuğunda (portakal), yaprakta (defne), meyvede (yenibahar), tohumda (hardal), kökte (melekotu), rizomda (zencefil), soğanda (sarımsak) bulunabilmektedir. Bazı bitkilerde ise, birden fazla organ uçucu yağ taşımaktadır (yabankerevizi, rezene, turunç vb.). Bitkilerde uçucu yağın oluştuğu özel salgı cebi, kanalı, hücresi veya tüyü ya da parankima hücreleri bulunmaktadır. Bu da bitkinin familyasına, çeşidine ve organına göre değişmektedir. Bitkisel materyalin özelliğine göre uçucu yağlar değişik yöntemlerle (distilasyon, çözücüyle ekstraksiyon, presyon gibi) elde edilmektedir. Baharatlardan, su, su buharı veya buhar distilasyonu ile elde edilmektedir [20].

Güney Doğu Akdeniz Bölgesinde yapılan bir çalışma ile Lamiaceae familyasının 23 cinsine ait 70 tür farklı lokasyonlardan toplanarak teşhis edilmiş ve bu türlerin % yağ verimleri belirlenmiştir. Buna göre yağ verimi % 2 den büyük ise zengin, % 0,5-2 arasında ise orta zengin, % 0,5 den küçük ise fakir olarak sınıflandırılmıştır. Bu sınıflamaya göre, çalışılan türler arasında, *Thymus* ve *Thymbra* L. cinsleri zengin sınıfına *Origanum*, *Satureja*, *Salvia*, *Mentha* L., *Micromeria* Benth. L. ve *Nepeta* L. cinslerinin orta zengin sınıfına, *Sideritis*, *Melissa* L., *Prunella* L., *Lamium* L., *Wiedemanniana* Fisch & Mey L., *Ajuga* L. gibi cinslerin ise fakir sınıfına girdikleri belirlenmiştir [21].

Origanum minutiflorum isimli bitkinin uçucu yağının ve bileşenlerinin belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada, farklı yüksekliklerden çiçekli dönemde toplanan örneklerinden, Clevenger aparatı kullanılarak uçucu yağları elde edilmiş, yağlar Colon Chromatography (CC) ve Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre örneklerin % 91-93 oranında

carvacrol içerdikleri, daha yüksek rakımdan toplanan örneğin diğerine göre % 2 daha fazla carvacrol içerdiği belirlenmiştir [22].

Yine uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada, *O. minutiflorum* bitkisinden Clevenger aparatı ile elde edilen uçucu yağ, GC ve GC/MS kullanılarak analiz edilmiştir. Bileşimin % 75,40-82,00'ini carvacrol'un, % 3,39-9,38'ini p-cymene'nin, kalan % yi de diğer kimyasal bileşenlerin oluşturdukları ortaya konulmuştur [23].

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada, çiçeklenme safhasında 1 200 m yükseklikten toplanan iki *Origanum* türü 3 saat süreyle Clevenger aparatında hidrodistilasyona tabi tutulmuş ve uçucu yağları elde edilmiştir. GC ve GC/MS kullanılarak yapılan uçucu yağ analizi sonucunda, bileşenlerinin % 98 oranında tanımlandığı ve ana bileşenlerinin carvacrol, terpinen-4-ol, linalool, sabinene, α -terpinen ve γ -terpinen olduğu rapor edilmiştir [24].

İki *Sideritis* türünün uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada ise, aynı tür, farklı yükseklik ve lokasyondan farklı zamanda toplanarak uçucu yağları elde edilmiştir. GC/MS kullanılarak yağ analizleri yapılmış, *S. erythrantha* Boiss.& Heldr. apud Benth var. *erythrantha* türüne ait örneklerden birinde 67, diğerinde 68 bileşen belirlenmiştir. *S. erythrantha* var. *cedretorum* P.H. Davis türüne ait örneklerde ise birinde 60, diğerinde 76 bileşen tespit edilmiştir. *S. erythrantha* var. *erythrantha* türünün uçucu yağının ana bileşenlerinin α -pinene ve sabinene, *S. erythrantha* var. *cedretorum*'un ise myrcene ve α -pinene olduğu bildirilmiştir [25].

Sideritis türleriyle yapılan bir başka çalışmada ise, 150 den fazla türünün bulunduğu ve bunlardan 42'sinin endemik olduğu, "dağçayı, adaçayı" olarak bilindiği, bitkisel çay olarak ve halk sağlığında çeşitli amaçlarla kullanıldığı bildirilmektedir. Bu türlerin uçucu yağ verimlerinin % 0,1-0,85 arasında değiştiği, yapılan kimyasal analizler sonucu uçucu yağlarının ana bileşiklerini türlere göre değişmekle birlikte α -

pinene, β -pinene, β -phellandrene, myrecene, sabinene ve epicubebol maddelerinin oluşturdukları belirlenmiştir [26].

Türkiye'nin 11 değişik bölgesinden toplanan *Satureja wiedemanniana* bitkilerinden hidrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağları elde edilmiş, GC/MS kullanılarak bileşenleri belirlenmiştir. Analiz sonucu carvacrol, thymol, p-cymene ve γ -terpinene'nin ana bileşenler olduğu rapor edilmiştir [27].

Salvia türleriyle ilgili yapılan bir çalışmada da, Türkiye'de 89 türün tespit edildiği bunlardan 45 türün endemik olduğu, yapraklarının halk sağlığında ve sıcak çay olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Türlerin uçucu yağ verimlerinin % 0,1-2,2 arasında değiştiği, GC/MS de yapılan analizler sonucu ana bileşenlerinin α -pinene, β -pinene, camphor, limonene, linalool ve borneol olduğu, ancak bunların oranlarının türlere göre değiştiği ortaya konulmuştur [28].

İran'da yapılan bir başka çalışmada ise, iki *Thymus* türünün yaprakları, mart ve nisan aylarında çiçeklenmeden önce, mayıs ve haziran aylarında da çiçeklenme zamanı toplanmıştır. Yapraklar Clevenger aparatında 1,5 saat süreyle hidrodistilasyona tabi tutularak uçucu yağları elde edilmiştir. Çiçeklenme öncesi toplanan yapraklardan % 0,55 ve % 0,57, çiçeklenme zamanı toplanan yapraklardan ise % 1,65 ve % 0,90 oranında uçucu yağ elde edilmiştir. Yağın kimyasal analizi GC ve GC/MS kullanılarak yapılmış, türlerden birinde 33, diğerinde ise 26 bileşen tanımlanmıştır [29].

Yurdumuzda yapılan bir çalışmada ise, Balıkesir'in değişik bölgelerinden toplanan 4 *Thymus* türünden, Clevenger aparatında 3 saat süreyle hidrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağları elde edilmiştir. Yağ verimlerinin türlere göre farklılık göstermekle birlikte % 0,6-1,9 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu yağların GC ve GC/MS kullanılarak yapılan kimyasal analizlerinde thymol ve carvacrol'un ana bileşenler olduğu rapor edilmiştir [30].

Yine yurdumuzda *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* ve *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* (Barbos) Jalas'ın antioksidatif aktivitesinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada, hidrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağları elde edilmiş ve GC/MS ile bileşenleri belirlenmiştir. *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*'ta ana bileşenlerin borneol, α -muurolol, β -caryophyllene, geranial ve neral olduğu, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*'ta ise, phenolic carvacrol, thymol, p-cymene ve γ -terpinene olduğu rapor edilmiştir [31].

2.3. Antimikrobiyal Etki

Uçucu yağların bileşenlerinin belirlenmesi ile birlikte bunların etmenler üzerine herhangi bir etkilerinin olup olmadığının belirlenmesine yönelik çalışmalarda yapılmıştır. Çalışmalarda genellikle uçucu yağların etkileri denenirken, bazı çalışmalarda bu uçucu yağlardaki ana bileşenlerin etkileri ayrı ayrı denenmiştir. Yapılan çalışmalara bakıldığında klinik alandaki etmenlere karşı yapılan çalışmaların çok fazla sayıda olduğu, diğer alanlarda özellikle de tarım alanında yapılan çalışmaların çok az sayıda olduğu göze çarpmaktadır. Bitki bakteri hastalıklarıyla ilgili yapılan çalışmaların ise yok denecek kadar az sayıda olduğu, klinik alanda yapılan çalışmalar içinde bazı bitki patojenlerinde denendiği görülmektedir.

Labiatae familyasına ait endemik bir tür olan *Thymus spathulifolius* Hausskn. & Valen bitkisiyle yapılan bir çalışmada, uçucu yağı ve metanol ekstraktı çoğunluğu klinik etmenler olan ve aralarında bitki patajeni bakterilerde bulunan 40 etmene karşı denenmiştir. Denemelerde disk diffüzyon metodu kullanılmış, her diske 10 μ l uçucu yağ veya 300 μ g ekstrakt konularak inoküle edilmiş petriler üzerine yerleştirilmiştir. Bakteriler 24, mayalar 48 ve funguslar 72 saat sonra kontrol edilerek inhibisyon zonları mm olarak ölçülmüştür. Deneme sonunda inhibisyon zonlarının 7-32 mm arasında değiştiği, *C. michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato* ve *X. campestris* gibi bitki patojeni bakterilerin 9 ve 11 mm'lik zonlarla en az etkilenenler arasında yer aldığı belirlenmiştir. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (Minimum Inhibition Concentration) (MIC) çalışması 96 kuyulu mikro küvet'lerde yapılmış, uçucu yağ ve

ekstrakt konsantrasyonu 500 µg/ml den başlayarak 7,8 µg/ml arasında yarı katları şeklinde seri halinde hazırlanarak kullanılmıştır. MIC değerleri 7,8 µg/ml ile 500 µg/ml arasında değişirken, bitki patojeni bakterilerin 500 ve 250 µg/ml MIC değerlerinin daha yüksek olması ile en az etkilenenler arasında oldukları belirlenmiştir [32].

Satureja hortensis L. bitkisinin uçucu yağ ve metanol ekstraktı ile yapılan bir çalışmada, MIC değerlerinin hesaplanmasında mikrokuyu dilüsyon metodu kullanılmıştır. Bu metoda göre 96 kuyulu mikro küvet'in her bir kuyusuna 95 µl nutrient broth (NB) ve üzerine 5µl inokulum ilave edilmiştir. *S. hortensis*'in uçucu yağı ve ekstraktı % 10 dimethyl sulfoxide (DMSO) içinde çözülerek, 500 µg/ml konsantrasyondan başlanarak yarı katları halinde 7,8 µg/ml konsantrasyona kadar seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. İlk kuyuya 500 µg/ml konsantrasyondan 100 µl olmak üzere 7,8 µg/ml konsantrasyona kadar seri halinde 100'er µl konulmuştur. Son konsantrasyon her bir kuyuda 200 µl olmuştur. Son kuyuya 195µl NB ve üzerine 5µl inokulum ilave edilmiş, uçucu yağ veya ekstrakt konulmayarak negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Aynı seriler standart ilaç içinde hazırlanmış ve pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Mikro küvet'nin üzeri steril plate örtüsü ile kapatılmış ve 300 rpm de 20 dakika plate çalkalayıcıda çalkalanmıştır. 24 saat İnkubasyondan sonra elisa okuyucuda 600 nm de okutulmuştur. Doğrulama için berrak kuyulardan 5µl alınarak Nutrient Agar (NA) üzerine ekim yapılmıştır. Mikroorganizmanın gelişiminin engellendiği en düşük konsantrasyonun MIC değeri olarak bildirilmiştir [33].

Yurdumuzda yapılan bir çalışmada *Tymbra spicata* L. var. *spicata*'dan elde edilen uçucu yağın etkisi, bitki patojeni bakterilerden *A. tumefaciens*, *E. amylovora*, *E. caratovora* pv. *caratovora*, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *P. syringae* pv. *syringae*'ye karşı denenmiş ve çalışma sonunda uçucu yağın antibakteriyel etkisinin olduğu belirlenmiştir. Çalışmada *E. caratovora* pv. *caratovora* ve *P. syringae* pv. *syringae* bakterilerinin uçucu yağdan daha az etkilendikleri ortaya konulmuştur. Bitki patojeni bakterilerin kontrolü için öncelikle uçucu yağların fitotoksisite ve uygulamaya yönelik çalışmaların yapılması gerektiği,

Agrobacterium ve *Pseudomonas* gibi toprak kökenli bakterilere karşı toprak fumigantı olarak, *Xanthomonas*, *Erwinia* ve *Clavibacter* cinsi bakterilere de sprey olarak uygulama çalışmalarının yapılabileceği bildirilmektedir [34].

O. minutiflorum bitkisinin uçucu yağı ile yapılan bir çalışmada antimikrobiyal etkileri araştırılmış, bu amaçla 4 bakteri 2 fungusa karşı denemeler yapılmıştır. Deneme sonuçlarına göre *O. minutiflorum* uçucu yağının mikroorganizmalar üzerinde standart olarak kullanılan trimetoprim+sülfometakzasol (Baktrim) ve Ketokonazol hazır diskleri ile karşılaştırıldıklarında, hazır disklerle oranla kuvvetli antibakteriyel etki gösterdikleri, yağların antifungal etkilerinin antibakteriyel etkiye oranla daha güçlü olduğu bildirilmiştir [22].

Yunanistan'ın değişik bölgelerinden toplanan *Origanum vulgare* L., *O. dictamnus* L., *O. majorana* L., *Coridothymus* (L.)Reichb.fil. *capitatus*, *Lavandula angustifolia* Miller, *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia fruticosa* Miller, *Mentha pulegium* L. gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağları, bitkilerde patojen *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* bakterisi ve *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* var. *coeruleum* funguslarına karşı denenmiştir. Domateslerde patojen olan *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* bakterisinin uçucu yağların biyolojik aktivitesine çok hassas olduğu belirlenmiştir [35].

Yurdumuzda yapılan diğer bir çalışmada, *Satureja hortensis* bitkisinin ekstraktı, çoğunluğu klinik bakterileri olan ve aralarında bitki patojeni bakterilerinde bulunduğu 55 adet bakteriye karşı disk diffüzyon metodu kullanılarak denenmiş, deneme sonunda bitki ekstraktının klinik bakterilerine karşı etkili olduğu, yeni ilaç yapımında ve tedavide kullanılabileceği belirlenmiştir. Ancak, bitki patojeni bakterilere karşı deneme sonuçlarının *Clavibacter*, *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* cinsine ait bakteriler ile mücadelede ekonomik olmadığı bildirilmiştir [36].

O. vulgare subsp. *vulgare* ile yapılan bir çalışmada ise, Soxhlet aparatında ekstraktı ve Clevenger aparatında uçucu yağı elde edilmiştir. Antimikrobiyal etki denemeleri

disk diffüzyon metoduna göre yapılmış, çalışmada 24 adet bakteri test edilmiştir. Uçucu yağ ile yapılan denemelerde bitki patojeni bakterilerden *P. syringae* pv. *tomato* ve *X. campestris*'te inhibisyon zonu oluşmadığı, *C. michiganensis*'te 33 mm çapında inhibisyon zonu oluştuğu, ayrıca klinik bakterilerin büyük çoğunluğunda da inhibisyon zonu oluştuğu bildirilmiştir. *O. vulgare* subsp. *vulgare* bitkisinin yapılan metanol ekstraktı denemelerinde ise, antimikrobiyal etki görülmediği, MIC çalışmalarında ise *C. michiganensis*'in standart ilaç ile aynı değerde olduğu belirtilmiştir [37].

Micromeria fruticosa (L.) Bruce subsp. *serpyllifolia* (Bieb) P.H. Davis bitkisinin uçucu yağı ve ekstraktı ile yapılan bir çalışmada ise, aralarında bitki patojeni fungus ve bakterilerinde bulunduğu çoğunluğu klinik etmenler olan 24 bakteri, 15 fungus ve 1 maya olmak üzere toplam 40 adet mikroorganizmaya karşı etkileri denenmiştir. Deneme sonucunda bitki patojeni bakterilerden *C. michiganensis* ve *X. campestris*'te hiç inhibisyon zonu oluşmazken, uçucu yağın *P. syringae* pv. *tomato*'yu önemli ölçüde etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca uçucu yağın funguslardan yalnızca *Aspergillus flavus*, *Rhizopus* spp., *Sclerotinia minor* ve maya *Candida albicans*'ı etkilediği, metanolde hazırlanan ekstraktın ise hiç bir etmeni etkilemediği ortaya konulmuştur [38].

İki *Origanum* türünden (*O. scabrum* ve *O. microphyllum*) elde edilen uçucu yağ, Gram(+) bakterilerden *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis*, Gram (-) bakterilerden *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*, Funguslardan *Candida albicans*, *C. tropicalis* ve *Torulopsis glabrata*'ya karşı denenmiştir. Deneme sonucu *O. scabrum* uçucu yağının test edilen mikroorganizmalara, özellikle bakterilere karşı çok yüksek oranda engelleme aktivitesi gösterdiği, *O. microphyllum*'un ise daha zayıf oranda genel bir engelleme gösterdiği, buna karşılık *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*'nin aktivitesinin tamamen engellendiği belirlenmiştir [24].

Hollanda’da yapılan bir çalışmada *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Pimenta racemosa* ve *Eugenia caryophyllata* bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar *E. coli* bakterisine karşı denenmiş, *Origanum* ve *Thymus* türlerinde elde edilen uçucu yağların, diğer iki bitkiden elde edilen yağlara göre, *E. coli* bakterisine karşı daha güçlü antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır [39].

Akdeniz Üniversitesinde yapılan bir doktora çalışmasında, Labiatae familyasına ait bazı bitkilerin de ana bileşenleri olan carvacrol ve thymol’ünde aralarında bulunduğu anethole, γ -terpinene, *p*-cymene, terpinene-4-ol, 1,8 cineole ve menthol olmak üzere 8 adet uçucu yağ bileşeninin etkisi üç ambar zararlısı (*Tribolium confusum*, *Ephestia kuehniella* ve *Sitophilus oryzae*) ile iki sera zararlısının (*Aphis gossypii* ve *Tetranychus cinnabarinus*) tüm dönemlerine karşı denenmiştir. Deneme sonucunda hem ambar hem de sera zararlılarına karşı yapılan fumigant etki testlerinde doz artışıyla birlikte toksisitede önemli derecede artış olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada uçucu yağ bileşenlerinin içinde bulundukları yağlardan daha yüksek oranda biyolojik aktiviteye sahip oldukları da ortaya konulmuştur [4].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmanın ana materyalini Labiatae familyasına ait *Origanum minutiflorum*, *Sideritis erythrantha* subsp. *erythrantha*, *Satureja wiedemanniana*, *Salvia tchihatcheffii*, *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* endemik bitki türleri ve bu bitki materyallerinden elde edilen uçucu yağlar oluşturmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bakteri adları, izolat adları, izolat numaraları ve elde edildiği bitki

Bakteri adı	İzolat adı	İzolat no	Elde edildiği bitki
<i>Agrobacterium vitis</i> Ophel and Kerr	<i>Av 1</i>	CG 49 ¹	Asma
<i>Agrobacterium vitis</i> Ophel and Kerr	<i>Av 2</i>	Tr 2 ²	Asma
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv. <i>michiganensis</i> (Smith) Davis et al.	<i>Cmm</i>	NCPPB 1397 ³	Domates
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Hedges) Collins and Jones	<i>Cff</i>	NCPPB 1446	Fasulye
<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>atroceptica</i> (Van Wall) Dye	<i>Eca</i>	ZMMAE Eca 515 ⁴	Patates
<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> (Jones) Bergey et al.	<i>Ecc</i>	ZMMAE Ecc 305	Patates
<i>Erwinia amylovora</i> (Burrill) Winslow et al.	<i>EAR</i>	ZMMAE EAR 132	Armut
<i>Erwinia amylovora</i> (Burrill) Winslow et al.	<i>EEL</i>	ZMMAE EEL 106	Elma
<i>Erwinia amylovora</i> (Burrill) Winslow et al.	<i>EAY</i>	ZMMAE EAY 109	Ayva
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> (Okabe) Young et al.	<i>Pst</i>	ZMMAE Pst 101	Domates
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Burkholder) Garden et al.	<i>K18</i>	ZMMAE Kütahya 18	Fasulye
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Burkholder) Garden et al.	<i>Psp</i>	NCPPB Psp 52	Fasulye
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> (McCulloch) Young et al.	<i>Psa</i>	FDWSRU FC 446 ⁵	Buğday
<i>Rathayibacter tritici</i> (Hutchinson) Zgurskaya et al.	<i>Rt</i>	FDWSRU FH 97	Buğday
<i>Rathayibacter iranicus</i> (Scharif) Zgurskaya et al.	<i>Ri</i>	FDWSRU FH 98	Buğday
<i>Rathayibacter rathayi</i> (Smith) Zgurskaya et al.	<i>Rr</i>	FDWSRU FH 108	Buğday
<i>Rathayibacter iranicus</i> subsp. <i>iranicus</i>	<i>Rii</i>	ZMMAE 232 T	Buğday
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Pam) Dye	<i>Xcc</i>	NCPPB 529	Lahana
<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>translucens</i> (Jones et al.) Vauterin et al.	<i>Xtt</i>	FDWSRU FB 1107	Arpa
<i>Xanthomonas vesicatoria</i> (Doidge) Vauterin et al.	<i>Xv</i>	NCPPB 422	Domates

¹ : Cornel University, New York State, Agriculture Experiment Station, Genova- U.S.A.

² : Nihal ARGUN, Orman Bakanlığı Araştırma Enstitüsü-ANKARA

³ : (NCPPB) National Collection Plant Pathogenic Bacteria-U.K.

⁴ : (ZMMAE) Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Bakteriyoloji Laboratuvarı-ANKARA

⁵ : (FDWSRU) Foreign Disease Weed Science Research Unit- U.S.A.

Test bakterileri Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Bakteriyoloji Laboratuvarı koleksiyonundan elde edilmiştir.

Ayrıca çalışmada test bakterisi olarak kullanılan ve Çizelge 3.1’de tür adları, izolat adı, izolat no ve elde edildiği bitki verilen bakteriler, gerekli besi ortamları ile laboratuvarında kullanılan çeşitli kimyasal, cam ve plastik malzemeler de materyaller arasında yer almıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Arazi çalışmaları

Arazi çalışmalarına başlamadan kaynak araştırması yapılarak Labiatae familyasına ait endemik türlerin bulunduğu iller tespit edilmiştir [1]. Mayıs ayında Amasya ilinden *Satureja* spp., haziran ayında Çankırı ilinden *Salvia* spp. ve *Thymus* spp., Eylül ayında ise Isparta ilinden *Origanum* spp. ve *Sideritis* spp. toplanmıştır. Bitkilerin toplandığı il, ilçe, köy kaydedilmiş, GPS yardımıyla da yükseklik ve koordinatlar belirlenerek bitkiler etiketlenmiştir. Toplanan bitkiler gölgede kurutulmak üzere tahta masalar üzerine serilmiş, bir kısmı da preste kurutularak herbaryumda kullanılmak üzere saklanmıştır. Toplanan bitkilerin teşhisleri Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Botanik Bölümü’nde yaptırılmış ve endemik olan türler çalışmada kullanılmıştır.

3.2.2. Laboratuvar çalışmaları

Bitkilerden uçucu yağların elde edilmesi

Teşhisleri yapıp gölgede kurutulmuş olan bitkilerin çiçek, yaprak ve sapları küçük parçalar halinde kesilerek hassas terazide 25 g tartılmıştır. Tartılan bitkiler Clevenger aparatının balon kısmına konulmuş ve üzerine 500 ml çeşme suyu ilave edilerek ısıtıcı üzerine yerleştirilmiştir. 3-3,5 saat süreyle bitkiler kaynatılmış ve uçucu yağları elde edilmiştir [22, 23, 29]. Elde edilen uçucu yağlar koyu renkli cam şişelere alınmış, denemelerde ve kimyasal analizlerde kullanılmak üzere +4 °C’de buzdolabında saklanmıştır.

Uçucu yağ , streptomycin sülfat ve bakır sülfat konsantrasyonlarının hazırlanması

Her bir bitkiden elde edilen uçucu yağların ayrı ayrı etil alkol ile 1/5, 1/10, 1/15 ve 1/20'lik konsantrasyonları, 2 ml'lik steril vidalı kapaklı tüplerde en az 1 ml olacak şekilde stok olarak hazırlanmıştır. 1/5 konsantrasyon hazırlamak için 800 µl etil alkol içine 200 µl uçucu yağ konulmuş ve tüp karıştırıcıda karıştırılarak uçucu yağın etil alkolde iyice çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan tüplerin üzerleri etiketlenmiştir. Kontrol konsantrasyonları da aynı şekilde hazırlanmış, uçucu yağ yerine steril destile su (SDW) kullanılmıştır. Hazırlanan konsantrasyonlar +4 °C de buzdolabında saklanmıştır. Uçucu yağın diğer konsantrasyonları ve karışım oranları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Uçucu yağ konsantrasyonları ve 1 ml stok için karışım oranları [40]

Uçucu yağ konsantrasyonları	Uçucu yağ (µl)	Etil alkol (µl)
1/5	200	800
1/10	100	900
1/15	66,6	933,4
1/20	50	950

Uçucu yağların antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırılması amacıyla, streptomycin sülfat (Sigma S 6501) ve bitki patojeni bakteriler ile mücadelede koruyucu olarak kullanılan bakır sülfat (Merck A 824787) kullanılmıştır. Konsantrasyonlar uçucu yağ konsantrasyonları ile aynı oranlarda 1/5, 1/10, 1/15 ve 1/20 olarak SDW içinde hazırlanmıştır. Hassas terazide 1 g streptomycin sülfat ve 1 g bakır sülfat tartılarak üzerine 4'er ml (= 4 g) SDW ilave edilmiş ve 1/5 konsantrasyon hazırlanmıştır. Diğer konsantrasyonlar ve karışım oranları Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Streptomycin sülfat, bakır sülfat konsantrasyonları ve karışım oranları [40]

Streptomycin sülfat ve Bakır sülfat konsantrasyonları	Streptomycin sülfat (g) Bakır sülfat (g)	Steril destile su (ml)
1/5	1	4
1/10	1	9
1/15	1	14
1/20	1	19

Bakteri konsantrasyonlarının hazırlanması

Denemelerde kullanılan bakteriler besi ortamlarına öze ile ekilmiş, bitki bakterilerinin gelişmesi için en uygun sıcaklık olan 28 °C’de inkubasyona bırakılarak bakterilerin gelişmesi sağlanmıştır. *Agrobacterium* (Av 1, Av 2), *Clavibacter* (Cmm), *Curtobacterium* (Cff), *Xanthomonas* (Xv, Xcc, Xtt), *Pseudomonas* (K18, Psp, Pst, Psa) ve *Erwinia* (EAR, EEL, EAY, Eca, Ecc) cinsi bakteriler 2 gün süreyle, *Rathayibacter* (Ri, Rii, Rr, Rt) cinsi bakterilerde 5 gün süreyle geliştirilmişlerdir. Bakteri cinslerinin geliştirildiği sıcaklık, süre ve besi ortamları Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Bakteri cinsleri, geliştirildiği sıcaklık, süre ve besi ortamları [40]

Bakteri cinsi	Geliştirildiği sıcaklık (°C)	Geliştirildiği süre (Gün)	Geliştirildiği besi ortamı
<i>Agrobacterium</i>	28	2	NA
<i>Clavibacter</i>	28	2	YDCA
<i>Curtobacterium</i>	28	2	YDCA
<i>Erwinia</i>	28	2	NA
<i>Pseudomonas</i>	28	2	KB
<i>Rathayibacter</i>	28	5	YDCA
<i>Xanthomonas</i>	28	2	YDCA

KB : King’s B Agar, NA : Nutrient Agar, YDCA :Yeast Extract Calcium Carbonate Agar.

Gelişen bakteriler çalışma boyunca kullanılmak üzere nutrient eğik agarda mineral yağ altında -20 °C’de, bir tekerrürde aynı şekilde +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Bu bakterilerden tüm denemelerde kullanılmak üzere süspansiyonlar

hazırlanmış ve elisa mikro küvet kuyularına konularak elisa okuyucuda 630 nm de okutulmuştur. Süspansiyon yoğunluğu OD_{630} 'da 0,100 yani yaklaşık olarak 10^8 cfu/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Çalışma boyunca bakterilerin geliştirilmesinde kullanılan besi ortamlarının içerikleri aşağıda verilmiştir.

Nutrient Agar (NA) (Difco)

Beef extract	: 3,0 g
Peptone	: 5,0 g
Agar	: 15,0 g
Destile su	: 1 000 ml

Yeast Extract Calcium Carbonate Agar Wilson et al. 1967 (YDCA) [41]

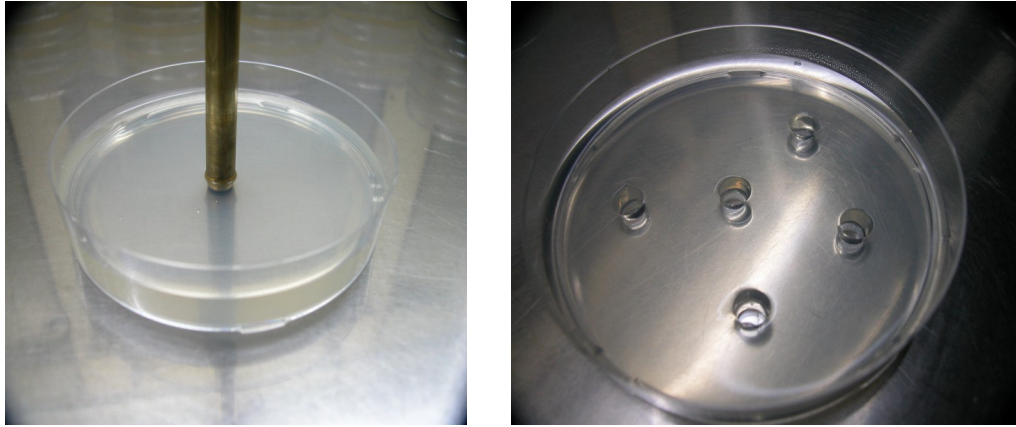
Yeast extract	: 10,0 g
Glikoz	: 20,0 g
CaCO ₃	: 20,0 g
Agar	: 15,0 g
Destile su	: 1 000 ml
pH	: 7,2

King's B Agar King et al., 1954 (KB) [42]

Bacto peptone	: 20,0 g
Glycerol	: 8,0 ml (=10,0 g)
K ₂ HPO ₄	: 1,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	: 1,5 g
Agar	: 18,0 g
Destile su	: 1 000 ml
pH	: 7,2

Antimikrobiyal etki

Antimikrobiyal etki çalışmalarında Agar Kuyu Diffüzyon Metodu kullanılmıştır [33, 40]. Antibakteriyel etki denemeleri için Nutrient Agar (NA) besi ortamı kullanılmıştır. Antimikrobiyal çalışmada kullanılan uçucu yağların agar içinde daha kolay diffüze olabilmesi için agar ortamı % 1,3'lük hazırlanmıştır. Hazırlanan besi ortamı 121 °C'de 15 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir. Su banyosu içinde 45 °C'ye kadar soğutulan besi ortamının içine 10^8 cfu/ml konsantrasyonda hazırlanan bakteri süspansiyonundan % 1 oranında ilave edilmiş ve homojen dağılım sağlanması için iyice karıştırılmıştır. Karıştırma işleminin ardından besi ortamı 90x10 mm ebatlarındaki tek kullanımlık plastik petriler içine yaklaşık 20 ml olacak şekilde dökülmüş ve besi ortamının katılaşması için bir gece bekletilmiştir. Katılaşmış olan besi ortamlarına 7 mm çapındaki mantar delici ile kuyucuklar açılmıştır (Resim 3.1). Açılan kuyucukların dip kısımlarının kapatılması amacıyla her bir kuyucuğa önceden sterilize edilip 45 °C'ye soğutulmuş NA'dan 20-25 µl damlatılarak kuyucukların dip kısımları kaplanmıştır.



Resim 3.1. Plastik petrilerdeki besi ortamına mantar delici ile kuyucuk açılması
a) Mantar delici ile kuyucuk açılması, b) Açılmış kuyucuklar [40]

Hazırlanan besi ortamındaki kuyucuklara 1/5, 1/10, 1/15 ve 1/20'lik uçucu yağ, streptomycin sülfat, bakır sülfat konsantrasyonlarından, ve kontrol olarak hazırlanan

konsantrasyonlardan 20'şer µl damlatılmıştır. Petriler 28 °C'de inkubasyona tabi tutulmuş, bakterilerin gelişme sürelerine göre 2-5 gün sonra kontrol edilerek oluşan zon çapları mm olarak ölçülüp kaydedilmiştir. Çalışmalar 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC)

Minimum inhibisyon konsantrasyonunun belirlenmesinde Mikro Kuyu Dilüsyon Metodu (micro-well dilution method) kullanılmıştır [33, 37, 43]. Çalışmada kullanılan her bir bakterinin SDW içinde süspansiyonu hazırlanmış ve süspansiyon yoğunluğu elisa okuyucuda 10^8 cfu/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Uçucu yağ konsantrasyonlarının hazırlanmasında % 10'luk Dimethylsulfoxide (DMSO) kullanılmıştır. 450 ml SDW üzerine 50 ml DMSO ilave edilerek toplam 500 ml % 10'luk DMSO stok solüsyonu hazırlanmış ve +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Steril vidalı kapaklı cam şişe içine hassas terazide 50 mg uçucu yağ tartılarak konulmuş, üzerine 100 ml %10'luk DMSO ilave edilerek 500 µg/ml konsantrasyonda stok solüsyon hazırlanmıştır Uçucu yağ konsantrasyonları en yüksek 500 µg/ml konsantrasyondan başlayarak, 400 µg/ml, 300 µg/ml, 250 µg/ml, 200 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, 31,25 µg/ml, 15,6 µg/ml ve 7,8 µg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Denemede kullanılan konsantrasyonlar Çizelge 3.5'de belirtildiği şekilde stok solüsyondan seyreltme yoluyla hazırlanmıştır. Streptomycin sülfat ve bakır sülfat konsantrasyonları da aynı şekilde hazırlanmıştır. Denemelerde kullanılan Nutrient Broth (NB) besi ortamı 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiş ve çalışmada kullanılmak üzere +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Çalışmada 96 kuyulu elisa mikro küvet (Linbro)'ler kullanılmıştır (Resim 3.2). Mikro küvet'nin her bir kuyucuğuna mikropipet yardımıyla 95 µl NB konulmuş ve üzerine 5 µl 10^8 cfu/ml konsantrasyonda hazırlanmış olan bakteri süspansiyonundan ilave edilmiştir. İlk kuyucuğa 500 µg/ml uçucu yağ konsantrasyonundan 100 µl, ikinci kuyucuğa 400 µg/ml uçucu yağ konsantrasyonundan 100 µl şeklinde 7,8 µg/ml uçucu yağ konsantrasyonuna kadar sırasıyla 100'er µl konulmuştur. En son

kuyucuğa 195 µl NB, 5 µl de bakteri konsantrasyonundan konularak kontrol olarak kullanılmıştır [32].

Çizelge 3.5. MIC çalışmalarında kullanılan uçucu yağ konsantrasyonu ve karışım oranları [40]

Konsantrasyon (µg/ml)	500 µg/ml'lik stok solusyon (µl)	% 10'luk DMSO miktarı (µl)
500 µg/ml	Stok	-
400 µg/ml	800	200
300 µg/ml	600	400
250 µg/ml	500	500
200 µg/ml	400	600
125 µg/ml	250	750
62,5 µg/ml	125	875
31,25 µg/ml	62,5	937,5
15,6 µg/ml	31,25	968,75
7,8 µg/ml	15,6	984,4

Hazırlanan mikro küvet elisa okuyucuda 630 nm'de okutularak değerler kaydedilmiştir. Mikro küvet kendi plastik torbası içinde çalkalayıcıda 300 rpm de 20 dakika süreyle çalkalamaya tabi tutulmuş, çalkalama işlemi sonrası inkübatörde 28 °C'de 24 saat süreyle inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonrası mikro küvet elisa okuyucuda tekrar okutulmuş ve değerler kaydedilmiştir. Gelişmenin olmadığı konsantrasyon MIC değeri olarak alınmıştır. Çalışmalar üç paralel olarak yürütülmüştür.



Resim 3.2. Çalışmada kullanılan 96 kuyulu elisa mikro küvet [40]

Uçucu bileşenlerin GC/MS ile analizi

Uçucu yağ analizleri Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü'nde GC/MS cihazı kullanılarak yapılmıştır. Analizi yapılacak uçucu yağlara hekzan ilave edilerek 1:100 oranında seyreltilmesi sağlanmış, örnekler bu konsantrasyonda cihaza verilmiştir.

Çalışmada, uçucu bileşenlerin ayrılması, teşhisi ve doğrulanması amacıyla otoörnekleyicili Agilent 6980N GC/5973 MS cihazı kullanılmıştır.

Agilent 6890 N GC/5973 MS cihazının çalışma koşulları aşağıda verilmiştir [32].

Taşıyıcı gaz	: Helyum (% 99,999 saflıkta), akış hızı: 1 ml/dak (sabit akış hızında)
Enjeksiyon bloğu sıcaklığı	: 220 °C
Enjeksiyon miktarı	: 1 µl (splitless-bölünmesiz enjeksiyon modunda)
Kolon	: Kapiler (HP - 5MS, 30 m uzunluk x 0,25 mm iç çaplı x 0,25 µm film kalınlığı, % 5 phenyl methyl poly siloxane)

Fırın sıcaklık programı

	<u>Sıcaklık artışı ($^{\circ}\text{C}/\text{dak}$)</u>	<u>Sıcaklık($^{\circ}\text{C}$)</u>	<u>Bekleme süresi(dak)</u>
Başlangıç		50	3
	3	240	10
Toplam süre	: 76,33 dakika		
Interface sıcaklığı	: 280 $^{\circ}\text{C}$		
MS kaynağı	: 230 $^{\circ}\text{C}$		
EI mod	: 70 eV		
Scan mod	: 45 - 450 amu (Atomic Mass Unit, atomik kütle birimi)		

Kolonda ayrımı sağlanan bileşenlerin, MS dedektöründe 45-450 amu aralığında taranarak spektrumları elde edilmiştir. Her bir bileşen için elde edilen spektrumlar, cihazın programında yüklü bulunan ve uluslararası geçerliliği olan kütüphanelerce karşılaştırılmış ve tanımlanmıştır. Örneklerin bileşenlerinin kütle spektrumları, Nist 2002 (174 948 bileşen spektrumu), Wiley (392 086 bileşen spektrumu) ve Flavor (419 bileşen spektrumu) kütüphaneleri ile karşılaştırılmıştır. Spektrumların karşılaştırılmasında % 80'in üzerinde benzerlik gösteren bileşenlerin tanımlanması yapılmıştır. Diğerleri bilinmeyen (unknown) olarak ifade edilmiştir.

Kalitatif veriler, alıkonma zamanlarının karşılaştırılması ile yapılırken, bileşenlerin dağılımı, % alan değerleri dikkate alınarak elde edilmiştir. Küçük pikler, hesaplamaya katılmamıştır.

Uçucu yağın değişik kombinasyonlarının domates bitkilerindeki hastalığa etkisi

Elde edilen uçucu yağlar içerisinde petri denemeleri sonucu en etkili olan *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağının etkisi, sıcaklık, nem ve ışık kontrollü iklim

odasında, domateslerde hastalık yapan *X. vesicatoria*'ya karşı denenmiştir. Denemelerde Selin F1 domates çeşidi kullanılmıştır. Kasalarda steril kum ile 1/1 oranında karıştırılmış torf kullanılarak domates tohumları ekilmiş ve fideler yetiştirilmiştir (Resim 3.3).



Resim 3.3. Kasalarda yetiştirilen Selin F1 çeşidi domates fideleri [40]

İklim odası 16 saat ışık, 8 saat karanlık periyodu, 25 °C sıcaklık ve % 60–65 neme ayarlanmıştır. Bitkiler gerçek üç yapraklı dönemde geldiğinde, büyük saksılarda 8, küçük saksılarda bir bitki olacak şekilde fideler şaşırtılmıştır. Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre 5 karakter (sadece uçucu yağ uygulaması, uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulaması, bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulaması, sadece bakteri uygulaması ve negatif kontrol (SDW) uygulaması) 4 tekerrür olarak yürütülmüştür. 15-20 cm boya gelmiş olan bitkilere, daha önceden 10^8 cfu/ml konsantrasyonda steril su içinde hazırlanmış olan bakteri süspansiyonu ve *X. vesicatoria*'nın MIC değeri olan 200 µg/ml konsantrasyonda hazırlanmış uçucu yağ süspansiyonu püskürtme yöntemiyle uygulanmıştır. Püskürme işleminde el pompası kullanılmış, bitki yapraklarının alt ve üst yüzeyleri iyice ıslatılmıştır (Resim 3.4).



Resim 3.4. Bitkilere bakteri süspansiyonunun püskürtülmesi [40]

Bakteri uygulamaları sonrası her bir bitkinin üzerine, nem miktarını yüksek tutmak amacıyla nemlendirilmiş şeffaf plastik torba geçirilmiş (Resim 3.5) ve 48 saat bekletildikten sonra çıkarılmıştır [44].



Resim 3.5. Üzerlerine şeffaf plastik torba geçirilmiş domates bitkileri [40]

İki hafta süreyle bitkiler günlük olarak kontrol edilerek hastalık belirtileri gözlenmiştir. Küçük, siyah, etrafı sarı haleli hastalık belirtileri görüldükten sonra her bir bitki tek tek kontrol edilmiş ve aşağıda verilen skala değerlerine göre değerlendirme yapılmıştır [9].

Skala değerleri

- 0 Bitkide hiç belirti yok
- 1 Bitkinin 1/4'ünde belirti var
- 2 Bitkinin 2/4'ünde belirti var
- 3 Bitkinin 3/4'ünde belirti var
- 4 Bitkinin tamamında belirti var

Her bir karakter için hastalık şiddeti Townsend ve Heuberger formülüne göre hesaplanmıştır [45].

$$\text{Hastalık şiddeti} = [\Sigma (n.v) / 4 N] \times 100$$

n : Her skala değerindeki bitki sayısı

v : Skala değeri

N : Sayılan bitkilerin toplamı

4 : En büyük skala değeri

Her karakterdeki hastalık oranı ise,.

Hastalık oranı = (Hastalıklı bitki sayısı / toplam bitki sayısı) x 100 formülüne göre hesaplanmıştır.

Değerlendirme sonucu elde edilen değerlere Varyans analizi-Minitab paket programı ve Çoklu karşılaştırma (Duncan)-MSTAT paket programı uygulanmış, karakterler arasındaki farklılık istatistiksel olarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Arazi Çalışmaları

Arazide yapılan çalışmalar sonucunda, aşağıda parametreleri verilen bitkiler toplanmış, teşhisleri yaptırılmış, tahta bankolar üzerine serilerek gölgede kurutulmuş ve bu çalışmada kullanılmıştır. Bitkilerin bir kısmı da preste kurutularak herbaryumda kullanılmak üzere saklanmıştır.

Bitki adı	: <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz et P. H. Davis (Resim 4.1)
Türkçe adı	: Sütçüler kekiği (Mercanköşk)
Toplandığı yer	: Söğüt Yaylası, Çandır köyü Sütçüler- Isparta
Rakım	: 1 684 m
Koordinatlar	: 37° 21' 14 N ve 030° 58' 38 E
Toplama tarihi	: 25.08.2004



Resim 4.1. *Origanum minutiflorum* bitkisi [40]

Bitki adı : *Sideritis erythrantha* Boiss. & Heldr. apud Benth. subsp. *erythrantha* (Resim 4.2).
Türkçe adı : Dağ çayı
Toplandığı yer : Söğüt Yaylası, Çandır köyü Sütçüler- Isparta
Rakım : 1 684 m
Koordinatlar : 37° 21' 14 N ve 030° 58' 38 E
Toplama tarihi : 25.08.2004



Resim 4.2. *Sideritis erythrantha* subsp. *erythrantha* bitkisi [40]

Bitki adı : *Satureja wiedemanniana* (Lalem.) Velen (Resim 4.3).

Türkçe adı : Kayakekiği

Toplandığı yer : Merkez-Amasya (il çıkışı, kayalıklar)

Rakım : 415 m

Koordinatlar : 40° 38' 02 N ve 035° 48' 88 E

Toplama tarihi : 08.05.2005



Resim 4.3. *Satureja wiedemanniana* bitkisi [40]

Bitki adı : *Salvia tchihatcheffii* (Fisch. & Mey.) Boiss (Resim 4.4).
Türkçe adı : Adaçayı
Toplandığı yer : Merkez- Çankırı (Kastamonu yolu)
Rakım : 735 m
Koordinatlar : 40°39' 80 N ve 033° 35' 70 E
Toplama tarihi : 08.06.2005



Resim 4.4. *Salvia tchihatcheffii* bitkisi [40]

Bitki adı : *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *sipyleus* (Resim 4.5).

Türkçe adı : Kekik

Toplandığı yer : Dede köyü- Çankırı (İskilip yolu)

Rakım : 644 m

Koordinatlar : 40° 26' 58 N ve 033° 53' 84 E

Toplama tarihi : 08.06.2005



Resim 4.5. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* bitkisi [40]

4.2. Laboratuvar Çalışmaları

4.2.1. Uçucu yağların elde edilmesi

Gölgede kurutulmuş olan bitkilerin çiçek, yaprak ve saplarından hidrodistilasyon yoluyla uçucu yağları elde edilmiştir. Resim 4.6'da görüldüğü gibi *O. minutiflorum*'dan elde edilen uçucu yağ, turuncu renklidir ve biriktirme kısmında su tabakasının üst kısmında toplanmıştır.



Resim 4.6. *Origanum minutiflorum* bitkisinden elde edilmiş uçucu yağ [40]

100 g bitkiden elde edilen uçucu yağ miktarları, Çizelge 4.1’de verilmiştir. Elde edilen uçucu yağlar koyu renkli cam şişelere alınmış, üzerleri etiketlenerek kullanılıncaya kadar + 4 °C’de buzdolabında saklanmıştır.

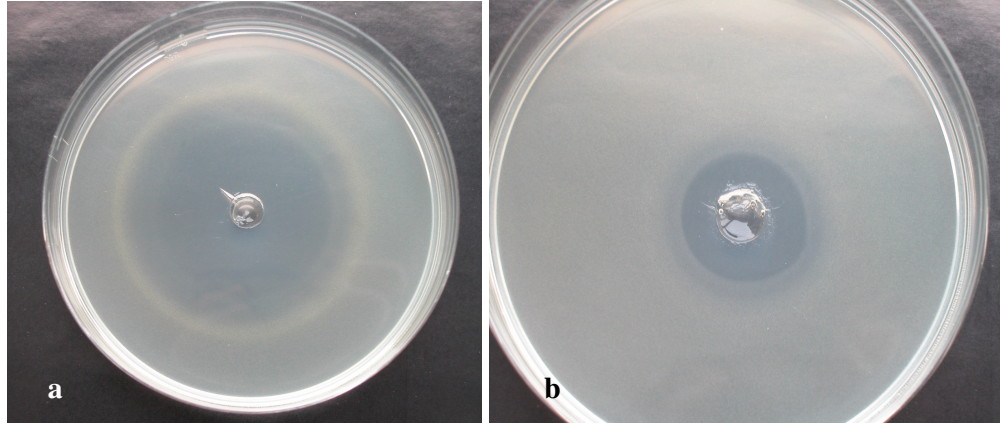
Çizelge 4.1. 100 g bitkiden elde edilen uçucu yağ miktarları [40]

Bitki adı	Bitki miktarı (g)	Uçucu yağ miktarı (ml)
<i>Origanum minutiflorum</i>	100	4,00 - 4,40
<i>Sideritis erythranha</i> subsp. <i>erythrantha</i>	100	0,40 – 0,45
<i>Satureja wiedemanniana</i>	100	0,30 – 0,35
<i>Salvia tchihatcheffii</i>	100	0,60 – 0,70
<i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i>	100	0,50 -0,60

4.2.2. Antimikrobiyal etki

Origanum minutiflorum uçucu yağının antimikrobiyal etkisi

İnkubasyona tabi tutulan bakteriler gelişme sürelerine göre 2-5 gün sonra kontrol edilmiş, oluşan inhibisyon zon çapları mm olarak ölçülüp kaydedilmiştir. Konsantrasyonlar ve oluşan zon çapları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Çizelge 4.2’nin incelenmesinden de anlaşılabileceği gibi oluşan zon çapları 1/5 konsantrasyonda 23-54 mm, 1/10 konsantrasyonda 16-33 mm, 1/15 konsantrasyonda 13-29 mm, 1/20 konsantrasyonda 9-26 mm arasında değişmiştir (Resim 4.7). Artan etil alkol dilüsyon oranlarına göre inhibisyon etkisinde de azalma görülmüştür. *P. syringae* pv. *tomato* ve *P. savastanoi* pv.’larında (K18, Psp) hiç zon oluşmamıştır. Uçucu yağdan en fazla etkilenen bakterilerin *Rathayibacter* spp. (*Rt*, *Ri*, *Rii*, *Rr*) ile *Xanthomonas* spp. (*Xcc*, *Xtt* ve *Xv*) olduğu belirlenmiştir.



Resim 4.7. *Origanum minutiflorum* uçucu yağının *Ri* (*R. iranica*) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları, a) 1/5 etil alkol konsantrasyonunun oluşturduğu zon, b) 1/20 etil alkol konsantrasyonunun oluşturduğu zon [40]

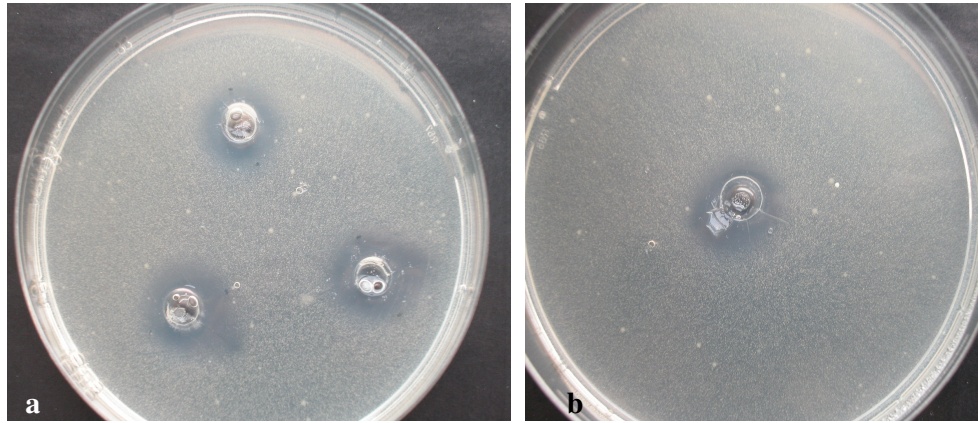
Rathayibacter spp.'de 1/5 konsantrasyonda 44-54 mm arasında zon çapları oluşurken, *Xanthomonas* spp.'de 43-53 mm arasında oluşmuştur. Bu uçucu yağdan *P. syringae* pv. *tomato* ve *P. savastoni* pv.'ları (*K18*, *Psp*) hariç en az etkilenen bakteriler ise, 1/5 konsantrasyonda 23 mm zon çapı ile *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, 24 mm zon çapı ile *E. caratovora* pv. *caratovora* olmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağından buğdayda ve domateste hastalık yapan bakterilerin diğer bakterilere oranla daha fazla etkilendikleri belirlenmiştir. Bu bitkinin uçucu yağının etkisinin, çalışılan diğer bitkilerin uçucu yağlarının etkisinden daha yüksek olduğu istatistiksel olarak da belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. *Origanum minutiflorum* uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları [40]

İzolat Adı	<i>Origanum minutiflorum</i> konsantrasyonları ve oluşan zon çapları(mm)				
	1/5	1/10	1/15	1/20	Kontrol
<i>Agrobacterium vitis</i> (Av 1)	27	21	16	14	0
<i>A.vitis</i> (Av 2)	29	24	19	9	0
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv. <i>michiganensis</i> (Cmm)	33	31	24	11	0
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Cff)	23	19	13	11	0
<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>atroceptica</i> (Eca)	28	21	17	15	0
<i>E. caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> (Ecc).	24	16	14	13	0
<i>Erwinia amylovora</i> (EAR)	32	28	22	19	0
<i>E. amylovora</i> (EEL)	30	27	22	21	0
<i>E.amylovora</i> (EAY)	38	27	23	17	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> (Pst)	0	0	0	0	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Psp)	0	0	0	0	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (K18)	0	0	0	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> (Psa)	33	22	14	11	0
<i>Rathayibacter tritici</i> (Rt)	44	27	13	12	0
<i>R. iranicus</i> (Ri)	48	27	19	14	0
<i>R. rathayi</i> (Rr)	50	33	29	26	0
<i>R. iranicus</i> subsp. <i>iranicus</i> (Rii)	54	33	22	21	0
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Xcc)	53	24	22	14	0
<i>X. translucens</i> pv. <i>translucens</i> (Xtt)	43	28	20	20	0
<i>X. vesicatoria</i> (Xv)	43	24	21	17	0

Sideritis erythrantha subsp. *erythrantha* uçucu yağının antimikrobiyal etkisi

İnkubasyona bırakılan bakteriler 2-5 gün sonunda kontrol edilmiş ve oluşan zon çapları mm olarak ölçülerek kaydedilmiştir. Çizelge 4.3’de konsantrasyonlar ve oluşan zon çapları verilmiştir. Çizelge 4.3’te görüldüğü gibi, *S. erythrantha* subsp. *erythrantha* uçucu yağı *C. michiganensis* pv. *michiganensis* ve buğday ve Graminea’larda patojen olan *Rathayibacter* türlerini (*Rt*, *Ri*, *Rr* ve *Rii*) etkilemiştir. *Rathayibacter* spp’de 1/5 konsantrasyonda sırasıyla 9, 9, 9, 6 mm zon çapları oluşmuştur. *C. michiganensis* pv. *michiganensis*’te 1/5 konsantrasyonda oluşan zon çapı ise 4 mm olarak ölçülmüştür. Test edilen diğer bakterilerin hiçbirinde inhibisyon zonu oluşturmamıştır. Buğday bakterilerinde oluşan zon çapları *C. michiganensis* pv. *michiganensis*’de oluşan zon çaplarının yaklaşık iki katı büyüklüğündedir. Ancak zon çaplarının *O. minutiflorum* ile kıyaslandığında çok küçük olduğu görülmektedir (Resim 4.8).



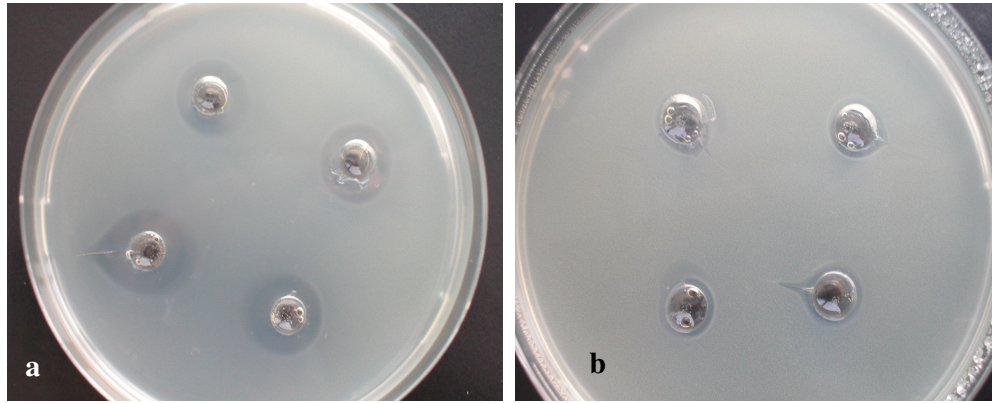
Resim 4.8. *Sideritis erythrantha* subsp. *erythrantha* uçucu yağının *Rt* (*R. tritici*) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları, a) 1/5 etil alkol konsantrasyonun oluşturduğu zon, b) 1/20 etil alkol konsantrasyonun oluşturduğu zon [40]

Çizelge 4.3. *Sideritis erythrantha* subsp. *erythrantha* uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları [40]

İzolat Adı	<i>Sideritis erythrantha</i> subsp. <i>erythrantha</i> konsantrasyonları ve oluşan zon çapları (mm)				
	1/5	1/10	1/15	1/20	Kontrol
<i>Agrobacterium vitis</i> (Av 1)	0	0	0	0	0
<i>A.vitis</i> (Av 2)	0	0	0	0	0
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv. <i>michiganensis</i> (Cmm)	4	4	3	3	0
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Cff)	0	0	0	0	0
<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>atroceptica</i> (Eca)	0	0	0	0	0
<i>E. caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> (Ecc).	0	0	0	0	0
<i>Erwinia amylovora</i> (EAR)	0	0	0	0	0
<i>E. amylovora</i> (EEL)	0	0	0	0	0
<i>E.amylovora</i> (EAY)	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> (Pst)	0	0	0	0	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Psp)	0	0	0	0	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (K18)	0	0	0	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> (Psa)	0	0	0	0	0
<i>Rathayibacter tritici</i> (Rt)	9	8	8	8	0
<i>R. iranicus</i> (Ri)	9	8	8	8	0
<i>R. rathayi</i> (Rr)	9	8	8	7	0
<i>R. iranicus</i> subsp. <i>iranicus</i> (Rii)	6	5	5	4	0
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Xcc)	0	0	0	0	0
<i>X. translucens</i> pv. <i>translucens</i> (Xtt)	0	0	0	0	0
<i>X. vesicatoria</i> (Xv)	0	0	0	0	0

Satureja wiedemanniana uçucu yağının antimikrobiyal etkisi

Bakterilerin gelişme sürelerine göre 2-5 günlük inkubasyondan sonra petrilerde oluşan zon çapları ölçülüp kaydedilmiş ve sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Bu bitkinin uçucu yağının da en fazla buğday ve diğer Graminea'larda patojen olan *Rathayibacter* spp. (*Rt*, *Ri*, *Rr*, ve *Rii*), *C. michiganensis* pv. *michiganensis*'i ve yine buğdayda patojen *X. translucens* pv. *translucens*'i etkilediği belirlenmiştir (Resim 4.9). Bunun yanında *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, *E. amylovora* (*EAR* ve *EEL*), *E. caratovora* pv. *atroceptica*'nın sadece 1/5 konsantrasyonda çok düşük oranda etkilendiği belirlenmiştir. Bu uçucu yağdan da *P. syringae* pv. *tomato* ve *P. savastoni* pv.'ları (*K18*, *Psp*), *E. caratovora* pv. *caratovora* ve *A. vitis* (*Av 1*)'in etkilenmediği görülmüştür. *Satureja wiedemanniana* uçucu yağının *Sideritis erytrantha* subsp. *erytrantha* uçucu yağına göre daha fazla sayıda bitki patojeni bakteriyi etkilediği belirlenmiştir. Ancak, inhibisyon etkisinin *O. minutiflorum* uçucu yağındaki kadar yüksek olmadığı görülmüştür. En yüksek inhibisyon zonu 1/5 konsantrasyonda 2-8 mm arasında değişmiştir.



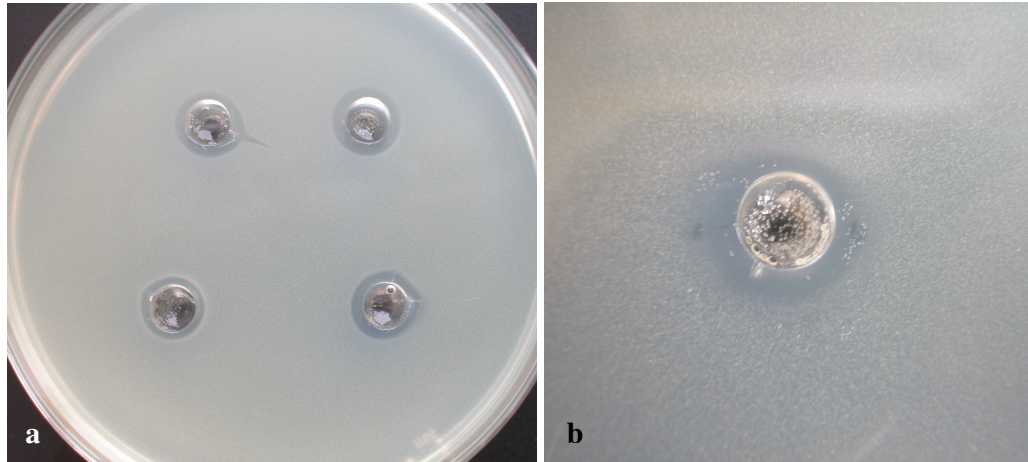
Resim 4.9. *Satureja wiedemanniana* uçucu yağının *Xtt* (*X. translucens* pv. *translucens*) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları, a) 1/5 etil alkol konsantrasyonunun oluşturduğu zon, b) 1/20 etil alkol konsantrasyonunun oluşturduğu zon [40]

Çizelge 4.4. *Satureja wiedemanniana* uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları [40]

İzolat Adı	<i>Satureja wiedemanniana</i> konsantrasyonları ve oluşan zon çapları (mm)				
	1/5	1/10	1/15	1/20	Kontrol
<i>Agrobacterium vitis</i> (Av 1)	0	0	0	0	0
<i>A.vitis</i> (Av 2)	3	2	2	1	0
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv. <i>michiganensis</i> (Cmm)	8	7	6	4	0
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Cff)	2	0	0	0	0
<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>atroceptica</i> (Eca)	7	0	0	0	0
<i>E. caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> (Ecc).	0	0	0	0	0
<i>Erwinia amylovora</i> (EAR)	2	2	1	1	0
<i>E. amylovora</i> (EEL)	2	2	0	0	0
<i>E.amylovora</i> (EAY)	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> (Pst)	0	0	0	0	0
<i>P. savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Psp)	0	0	0	0	0
<i>P. savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> (K18)	0	0	0	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> (Psa)	2	2	1	1	0
<i>Rathayibacter tritici</i> (Rt)	6	5	4	3	0
<i>R. iranicus</i> (Ri)	8	6	5	5	0
<i>R. rathayi</i> (Rr)	7	4	3	0	0
<i>R. iranicus</i> subsp. <i>iranicus</i> (Rii)	8	7	6	6	0
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Xcc)	3	2	1	0	0
<i>X. translucens</i> pv. <i>translucens</i> (Xtt)	8	4	3	2	0
<i>X. vesicatoria</i> (Xv)	5	3	2	1	0

Salvia tchihatcheffii uçucu yağının antimikrobiyal etkisi

S. tchihatcheffii bitkisi ile yapılan çalışmada ise, yine 2-5 günlük inkubasyondan sonra petrilere oluşan zon çapları ölçülüp kaydedilmiştir. Ölçüm sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Çizelge 4.5 incelendiğinde yine buğdayda ve diğer Gramineae'larda patojen *Rathayibacter* spp.'den *R. iranicus* ve *R. iranicus* subsp. *iranicus*'un en çok etkilendiği görülmektedir. Her iki bakteride de 1/5 konsantrasyonda 7 mm zon çapı oluşmuştur. Aynı konsantrasyonda bu bakterilerden sonra en çok etkilenen bakteriler 3 mm zon çapı ile *C. michiganensis* pv. *michiganensis*, 2 mm zon çapı ile *A. vitis* (Av 2) ve *P. syringae* pv. *atrofaciens* olmuştur. Ancak, *A. vitis* (Av 2) ve *P. syringae* pv. *atrofaciens* sadece 1/5 ve 1/10 konsantrasyonlarda etkilenmiş, 1/15 ve 1/20 konsantrasyonlarda etkilenmemiştir. *X. campestris* pv. *campestris*'te ise sadece 1/5 konsantrasyonda çok küçük çapta (1mm) zon oluşmuş, diğer konsantrasyonlarda zon oluşmamıştır (Resim 4.10). Oluşan zon çaplarının *O. minutiflorum* hariç diğer bitki uçucu yağlarında oluşan zonlarla hemen hemen aynı olduğu görülmektedir.



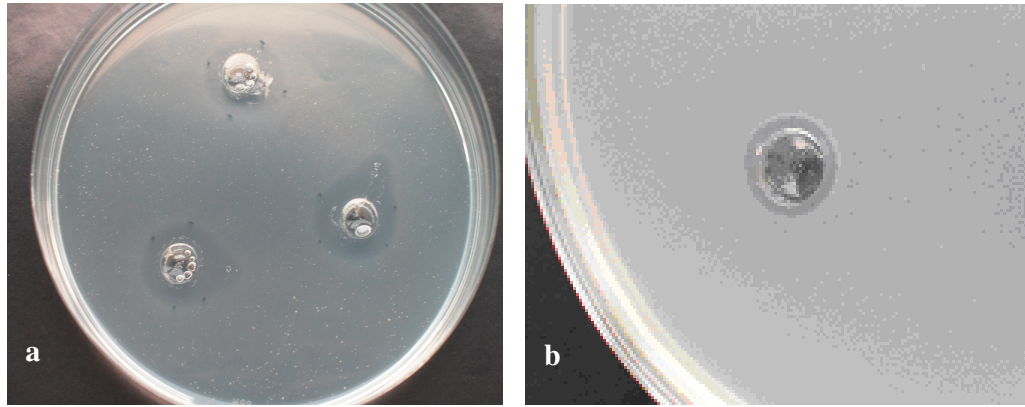
Resim 4.10. *Salvia tchihatcheffii* uçucu yağının *Ri* (*R. iranicus*) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları, a) 1/5 etil alkol konsantrasyonunun oluşturduğu zon, b) 1/20 etil alkol konsantrasyonunun oluşturduğu zon [40]

Çizelge 4.5. *Salvia tchihatcheffii* uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları [40]

İzolat Adı	<i>Salvia tchihatcheffii</i> konsantrasyonları ve oluşan zon çapları(mm)				
	1/5	1/10	1/15	1/20	Kontrol
<i>Agrobacterium vitis</i> (Av 1)	0	0	0	0	0
<i>A.vitis</i> (Av 2)	2	1	0	0	0
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv. <i>michiganensis</i> (Cmm)	3	2	2	2	0
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Cff)	0	0	0	0	0
<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>atroceptica</i> (Eca)	0	0	0	0	0
<i>E. caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> (Ecc).	0	0	0	0	0
<i>Erwinia amylovora</i> (EAR)	0	0	0	0	0
<i>E. amylovora</i> (EEL)	0	0	0	0	0
<i>E.amylovora</i> (EAY)	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> (Pst)	0	0	0	0	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Psp)	0	0	0	0	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (K18)	0	0	0	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> (Psa)	2	1	0	0	0
<i>Rathayibacter tritici</i> (Rt)	0	0	0	0	0
<i>R. iranicus</i> (Ri)	7	6	5	4	0
<i>R. rathayi</i> (Rr)	0	0	0	0	0
<i>R. iranicus</i> subsp. <i>iranicus</i> (Rii)	7	6	5	5	0
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Xcc)	1	0	0	0	0
<i>X. translucens</i> pv. <i>translucens</i> (Xtt)	0	0	0	0	0
<i>X. vesicatoria</i> (Xv)	0	0	0	0	0

Thymus sipyleus subsp. *sipyleus* uçucu yağının antimikrobiyal etkisi

Yine bakterilerin gelişme sürelerine göre 2-5 günlük inkubasyon sonrası oluşan zon çapları ölçülmüş ve sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelge 4.6'da da görüldüğü gibi 1/5 konsantrasyonda en büyük zon çapı 7 mm ile *C. michiganensis* pv. *michiganensis* ve 6 mm ile *A. vitis* (Av 2) de olmuştur (Resim 4.11). Bunların dışında *Rathayibacter* spp. ve *Xanthomonas* spp.'ninde 2-4 mm arasında değişen zon çapları ile düşük oranda etkilendikleri görülmektedir. Ancak, *Rathayibacter* türleri içinde *R. rathayi*'nin etkilenmediği görülmüştür. Test edilen diğer türlerde ise hiç zon oluşmamıştır.



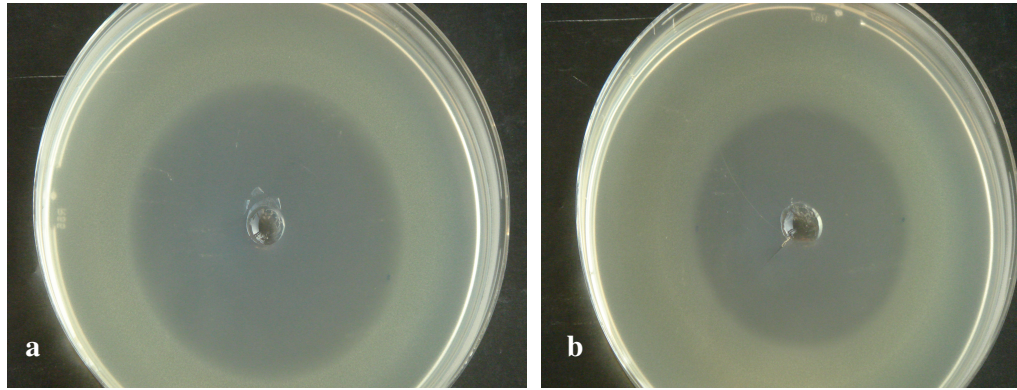
Resim 4.11. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* uçucu yağının *Cmm* (*C. michiganensis* subsp. *michiganensis*) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları, a) 1/5 etil alkol konsantrasyonunun oluşturduğu zon, b) 1/20 etil alkol konsantrasyonunun oluşturduğu zon [40]

Çizelge 4.6. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* uçucu yağının konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları [40]

İzolat Adı	<i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> konsantrasyonları ve oluşan zon çapları(mm)				
	1/5	1/10	1/15	1/20	Kontrol
<i>Agrobacterium vitis</i> (Av 1)	0	0	0	0	0
<i>A.vitis</i> (Av 2)	6	3	2	1	0
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv. <i>michiganensis</i> (Cmm)	7	3	2	1	0
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Cff)	0	0	0	0	0
<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>atroceptica</i> (Eca)	0	0	0	0	0
<i>E. caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> (Ecc).	0	0	0	0	0
<i>Erwinia amylovora</i> (EAR)	0	0	0	0	0
<i>E. amylovora</i> (EEL)	0	0	0	0	0
<i>E.amylovora</i> (EAY)	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> (Pst)	0	0	0	0	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Psp)	0	0	0	0	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (K18)	0	0	0	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> (Psa)	2	0	0	0	0
<i>Rathayibacter tritici</i> (Rt)	4	3	1	0	0
<i>R. iranicus</i> (Ri)	4	4	4	4	0
<i>R. rathayi</i> (Rr)	0	0	0	0	0
<i>R. iranicus</i> subsp. <i>iranicus</i> (Rii)	4	4	4	3	0
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Xcc)	2	1	0	0	0
<i>X. translucens</i> pv. <i>translucens</i> (Xtt)	4	2	0	0	0
<i>X. vesicatoria</i> (Xv)	4	3	1	0	0

Streptomycin sülfat ve bakır sülfat'ın antimikrobiyal etkisi

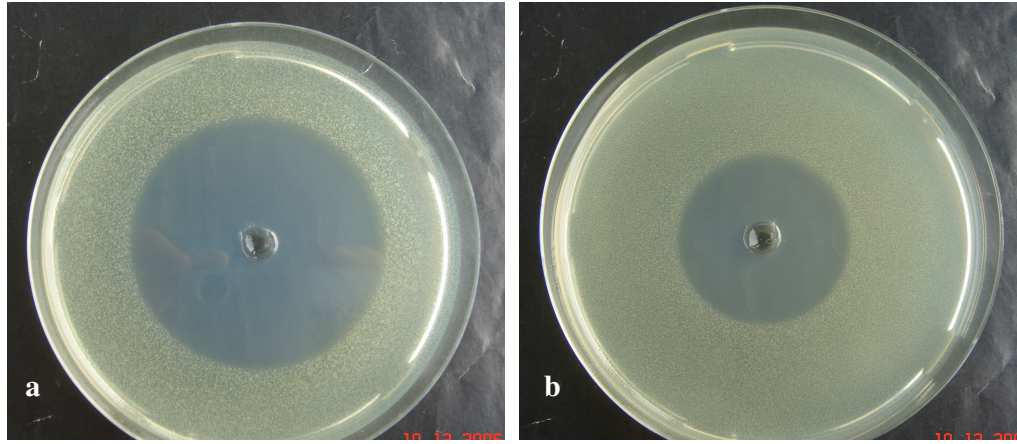
Denemelerde uçucu yağlar ile aynı konsantrasyonlar kullanılmış, elde edilen inhibisyon zon çapları mm olarak ölçülmüş ve Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi test edilen bütün bakteriler streptomycin sülfat'tan etkilenmiştir. En fazla etkilenen bakteri 1/5 konsantrasyonda 59 mm zon çapı ile *X. vesicatoria* olurken (Resim 4.12), bunu 43 mm zon çapı ile *R. tritici*, 40 mm ile *R. iranicus* subsp. *iranicus*, 39 mm ile *X. campestris* pv. *campestris* ve 39 mm ile *R. rathayi* izlemiştir. Aynı konsantrasyonda en az etkilenenler bakteriler ise, 23 mm zon çapı ile *A. vitis* (Av 2), *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* ve 22 mm zon çapı ile *P. syringae* pv. *atrofaciens* olmuştur. Diğer bakteriler içerisinde buğday bakterileri olan *Rathayibacter* türlerinin streptomycin sülfat'a karşı duyarlılıklarının biraz daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Resim 4.12. Streptomycin sülfat'ın *Xv* (*X. vesicatoria*) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları, a) 1/5 konsantrasyonun oluşturduğu zon, b) 1/20 konsantrasyonun oluşturduğu zon [40]

Hali hazırda bitki patojeni bakteriler ile mücadelede koruyucu olarak kullanılan bakırlı preparatlardan biri olan bakır sülfat ile yapılan denemelerde ise, test edilen bakterilerin tümünün etkilendiği görülmüştür. Deneme sonucu elde edilen değerler Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelge 4.7'de de görüldüğü gibi 1/5 konsantrasyonda bakır sülfat'tan en fazla etkilenen bakteri 50 mm zon çapı ile *X. campestris* pv. *campestris* olmuştur (Resim 4.13). Bunu sırasıyla, 47 mm zon çapı ile *X. translucens*

pv. *translucens*, 46 mm zon çapı ile *R. iranicus*, 38 mm zon çapı ile *E. amylovora* (EAY), 37 mm ile *R. tritici*, ve 36 mm zon çapı ile *R. iranicus* subsp. *iranicus* izlemiştir. En az etkilenen bakteriler ise, 18 mm zon çapı *A. vitis* (Av 2), *X. vesicatoria*, *P. syringae* pv. *atrofaciens* ve 17 mm ile *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* olmuştur. Streptomycin sülfat ile bakır sülfat deneme sonuçları karşılaştırıldığında, streptomycin sülfat'ın bakır sülfat'a oranla test edilen bakterileri biraz daha fazla etkilediği görülmüştür.



Resim 4.13. Bakır sülfat'ın *Xcc* (*X. campestris* pv. *campestris*) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları, a) 1/5 konsantrasyonun oluşturduğu zon, b) 1/20 konsantrasyonun oluşturduğu zon [40]

Genel olarak bakıldığında streptomycin sülfata yüksek oranda duyarlılık gösteren *X. vesicatoria*, *X. campestris* pv. *campestris* ve *Rathayibacter* spp.'nin (*Rt*, *Rii*, *Rr*), bakır sülfata da duyarlılık gösterdiği dikkati çekmekle birlikte, *X. vesicatoria*'da bu durumun daha farklı olduğu belirlenmiştir. Streptomycin sülfata karşı diğer türlere oranla çok yüksek duyarlılık gösterirken, bakır sülfata karşı diğer türlere oranla çok düşük oranda duyarlılık göstermiştir.

Çizelge 4.7. Streptomycin sülfat ve bakır sülfat konsantrasyonları ve oluşan inhibisyon zon çapları [40]

İzolat Adı	Streptomycin sülfat konsantrasyonları ve oluşan zon çapları (mm)					Bakır sülfat konsantrasyonları ve oluşan zon çapları (mm)				
	1/5	1/10	1/15	1/20	Kont .	1/5	1/10	1/15	1/20	Kont .
<i>Agrobacterium vitis</i> (Av 1)	39	36	34	26	0	23	21	21	19	0
<i>A.vitis</i> (Av 2)	18	18	18	18	0	18	13	7	7	0
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv. <i>michiganensis</i> (Cmm)	32	29	28	26	0	31	12	11	9	0
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Cff)	21	19	16	15	0	17	13	11	10	0
<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>atroceptica</i> (Eca)	25	25	22	20	0	33	30	27	23	0
<i>E. caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> (Ecc).	28	27	25	25	0	26	17	15	13	0
<i>Erwinia amylovora</i> (EAR)	35	35	34	32	0	31	30	27	25	0
<i>E. amylovora</i> (EEL)	34	28	25	25	0	25	20	18	18	0
<i>E.amylovora</i> (EAY)	27	26	23	22	0	38	29	24	22	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> (Pst)	25	25	22	20	0	23	20	16	15	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Psp)	23	21	16	15	0	35	32	24	20	0
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (K18)	27	22	20	18	0	28	21	20	18	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> (Psa)	22	22	21	21	0	18	14	10	9	0
<i>Rathayibacter tritici</i> (Rt)	43	41	39	38	0	37	28	23	22	0
<i>R. iranicus</i> (Ri)	31	30	28	27	0	46	36	31	29	0
<i>R. rathayi</i> (Rr)	39	34	31	30	0	34	29	26	22	0
<i>R. iranicus</i> subsp. <i>iranicus</i> (Rii)	40	36	34	32	0	36	28	25	21	0
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Xcc)	39	38	37	35	0	50	37	35	29	0
<i>X. translucens</i> pv. <i>translucens</i> (Xtt)	31	27	26	25	0	47	41	38	35	0
<i>X. vesicatoria</i> (Xv)	59	55	54	50	0	18	11	9	7	0

4.2.3. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC)

Materyal ve metotda belirtildiği şekilde hazırlanan elisa mikrolate'ler bitki patojeni bakterilerin en iyi geliştiği sıcaklık olan 28 °C'de inkubasyona tabi tutulmuş, 24 saatlik inkubasyon sonrası mikro küvetler elisa okuyucuda tekrar okutulmuştur. Gelişmenin olmadığı konsantrasyon, yani değerlerin çok düşük olduğu konsantrasyon MIC değeri olarak alınmıştır. Gözle yapılan kontrollerde de MIC değeri olarak alınan konsantrasyonlarda hiçbir bulanıklılık olmadığı, diğer kuyulardaki konsantrasyonlarda bulanıklık olduğu gözlenmiştir. Doğrulama amacıyla MIC değeri olarak alınmış kuyulardan 5 µl alınarak NA üzerine ekilmiştir. İnkubasyondan sonra NA'lar kontrol edilmiş ve gelişme olmadığı görülmüştür. MIC değeri çalışmaları üç paralel olarak yürütülmüştür. Çalışma sonunda elde edilen MIC değerleri Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8 incelendiğinde, *Origanum minutiflorum*'dan elde edilen uçucu yağın diğer türlerden elde edilen uçucu yağlara oranla test edilen bakterileri daha fazla etkilediği ve MIC değerlerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Bu uçucu yağın MIC değerleri 125-400 µg/ml arasında değişirken, *P. syringae* pv. *tomato* ve *P. savastanoi* pv.'larında (*K18*, *Psp*) 500 µg/ml'den yüksek olduğu görülmektedir. Test edilen bakteriler içinde en düşük MIC değerinin 125 µg/ml ile buğday bakterileri olan *Rathayibacter* spp.'de (*Rr* ve *Rii*) olduğu görülmektedir. Çizelge 4.2'de de görüldüğü gibi, bu uçucu yağın yüksek inhibisyon etkisi de bu bakteriler üzerinde belirlenmiştir. Bunu 200 µg/ml ile *Erwinia* spp. (*EAR*, *EEL*, *EAY*)ve *X. vesicatoria* izlemiştir. *P. syringae* pv.'larından sonra en yüksek MIC değerini 400 µg/ml ile *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* ve *E. caratovora* pv. *caratovora*'nın aldığı görülmüştür. Diğer MIC değerleri ise 250-300 µg/ml arasında değişmiştir. *O. minutiflorum*'un MIC değerleri oluşan zonlarla karşılaştırıldığında, zon çapları büyük olan *Rathayibacter* spp.'de MIC değerlerinin düşük olduğu görülmüştür. MIC değerleri 500 µg/ml'den yüksek olan *P. syringae* pv. *tomato* ve *P. savastanoi* pv.'larında (*K18*, *Psp*) ise denemelerde hiç zon oluşturmadığı görülmektedir.

Sideritis erythrantha subsp. *erythrantha*'dan elde edilen uçucu yağ ile yapılan denemelerde ise, sadece *Rathayibacter* spp'de (*Ri*, *Rii*, *Rr*, *Rt*) MIC değerlerinin 300-500 µg/ml arasında değiştiği, test edilen diğer bakterilerde MIC değerlerinin 500µg/ml'den yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 4.8).

Satureja wiedemanniana'da yine *Rathayibacter* spp'de (*Ri*, *Rii*, *Rr*, *Rt*) MIC değerleri 300 -500 µg/ml arasında değişirken, *C. michiganensis* pv. *michiganensis* ve *X. translucens* pv *translucens*'te 500 µg/ml olmuştur. Diğer bakterilerde ise MIC değerleri 500 µg/ml'den yüksek bulunmuştur.

Salvia tchihatcheffi'de ise, sadece *Rathayibacter* spp'de (*Ri* ve *Rii*) MIC değerleri sırasıyla 500 ve 400 µg/ml olurken diğer bakterilerin tümünde 500 µg/ml'den yüksek olduğu görülmüştür.

Thymus sipyleus subsp. *sipyleus* ile yapılan denemelerde ise test edilen bakterilerin tümünün MIC değeri 500 µg/ml'den yüksek bulunmuştur. MIC değerlerinin bu kadar yüksek olması bu bitkinin uçucu yağının denemede kullanılan bakteriler üzerinde etkisini olmadığını göstermektedir.

Bakır sülfat ile yapılan MIC değerlerinin belirlenmesi denemelerinde, test edilen bakteriler içinde en düşük MIC değerini *Agrobacterium* spp.(*Av 1*, *Av 2*), *P. savastoni* pv. *phaseolicola* (*K18*), *R. iranicus* ve *X. campestris* pv *campestris*'in aldığı görülmüştür. Bu bakterilerde MIC değeri 7,8 µg/ml'den küçük bulunmuştur. En yüksek MIC değerini ise *X. campestris* pv *campestris*, *P. syringae* pv. *atrofaciens*, *P. savastoni* pv *phaseolicola* ve *X. translucens* pv. *translucens*'in aldığı görülmüştür. Bu bakterilerde MIC değeri 125 µg/ml olarak bulunmuştur. Diğer bakterilerde ise MIC değerleri 15,6 µg/ml ile 62,5 µg/ml arasında değişmiştir. Streptomycin sülfat ile yapılan denemelerde, test edilen bakterilerden *P. syringae* pv. *atrofaciens* hariç diğer tümünün MIC değerleri 7,8 µg/ml'den küçük bulunmuştur. *P. syringae* pv. *atrofaciens*'te ise MIC değeri 125 µg/ml olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Çalışmada kullanılan bakteriler, kullanılan uçucu yağlar ve elde edilen MIC değerleri [40]

İzolat adı	<i>O. min</i>	<i>Sid. eryt.</i>	<i>Sat. wied.</i>	<i>Sal.tch</i>	<i>T. sipy.</i>	B. sülfat	Str. sülfat
<i>Agrobacterium vitis</i> (Av 1)	300	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC < 7,8	MIC < 7,8
<i>A.vitis</i> (Av 2)	250	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC < 7,8	MIC < 7,8
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv. <i>michiganensis</i> (Cmm)	300	MIC > 500	500	MIC > 500	MIC > 500	125	MIC < 7,8
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Cff)	400	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	15,6	MIC < 7,8
<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>atroceptica</i> (Eca)	250	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	31,2	MIC < 7,8
<i>E. caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> (Ecc).	400	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	31,2	MIC < 7,8
<i>Erwinia amylovora</i> (EAR)	200	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	31,2	MIC < 7,8
<i>E. amylovora</i> (EEL)	200	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	62,5	MIC < 7,8
<i>E.amylovora</i> (EAY)	200	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	31,2	MIC < 7,8
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> (Pst)	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	15,6	MIC < 7,8
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Psp)	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	125	MIC < 7,8
<i>P. savastoni</i> pv. <i>phaseolicola</i> (K18)	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC < 7,8	MIC < 7,8
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> (Psa)	300	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	125	125
<i>Rathayibacter tritici</i> (Rt)	250	500	500	MIC > 500	MIC > 500	15,6	MIC < 7,8
<i>R. iranicus</i> (Ri)	250	500	500	500	MIC > 500	MIC < 7,8	MIC < 7,8
<i>R. rathayi</i> (Rr)	125	300	400	MIC > 500	MIC > 500	15,6	MIC < 7,8
<i>R. iranicus</i> subsp. <i>iranicus</i> (Rii)	125	400	300	400	MIC > 500	15,6	MIC < 7,8
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Xcc)	250	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC < 7,8	MIC < 7,8
<i>X. translucens</i> pv. <i>translucens</i> (Xtt)	300	MIC > 500	500	MIC > 500	MIC > 500	125	MIC < 7,8
<i>X. vesicatoria</i> (Xv)	200	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	MIC > 500	15,6	MIC < 7,8

O. min. : *Origanum minutiflorum*,. *Sid. eryt.* : *Sideritis erythrantha* subsp. *erythrantha*, *Sat. wied.* : *Satureja wiedemanniana*, *Sal. tch.* : *Salvia tchihatcheffii*, *T. sipy.* : *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus*, B. sülfat : Bakır sülfat, Str. sülfat : Streptomycin sülfat.

4.2.4. Uçucu bileşenlerin GC/MS analizleri

Uçucu yağ analizleri GC/MS cihazı kullanılarak yapılmıştır. Analizi yapılacak uçucu yağlar 1:100 oranında hekzan ile seyreltilmiş ve cihaza verilmiştir. Uçucu bileşenlerin ayrılması, teşhisi ve doğrulanması amacıyla otoörnekleyicili Agilent 6980N GC/5973 MS cihazı kullanılmıştır. Küçük pikler hesaplama katılmamıştır. Kütüphane karşılaştırmaları sonucu % 80'in üzerinde benzerlik gösteren bileşenlerin tanımlanması yapılmış, benzerlik oranı % 80'den az olan bileşenler dikkate alınmamıştır.

Yukarıda belirtilen kıstaslar doğrultusunda yapılan kimyasal analizler sonucu, *O. minutiflorum* uçucu yağının bileşiminin % 98,72'si belirlenmiş olup, 29 bileşen tespit edilmiştir. Bileşiminin ana maddesini % 73,93 oranla carvacrol maddesinin oluşturduğu, bunu % 7,20 oranla p-cymene, % 3,99 oranla γ -terpinene ve % 2,41 oranla borneol maddelerinin izlediği belirlenmiştir . Diğer bileşenlerin oranları ise, 0,05 ile 2,41 arasında değişmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. *Origanum minutiflorum*'dan elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları [40]

Sıra No	Bileşen Adı	% Alan
1	α -thujene	0,90
2	α -pinene	0,77
3	Camphene	0,65
4	β -pinene	0,18
5	1-octen-3-ol	0,12
6	Myrcene	0,97
7	α -phellandrene	0,17
8	δ -3-carene	1,05
9	α -terpinene	0,83
10	p-cymene	7,20
11	β - phellandrene	0,49
12	1,8 cineole	0,37
13	β -ocimene	0,11
14	γ -terpinene	3,99
15	α -terpinolene	0,13
16	Borneol	2,41
17	Terpineol	0,63
18	Carvacrol methyl ether	0,05
19	Carvone	0,13
20	Thymol	0,28
21	Carvacrol	73,93
22	Carvacryl acetate	0,06
23	β -Caryophyllene	1,93
24	Aromadendrene	0,24
25	α -humulene	0,10
26	Ledene	0,18
27	Spathulenol	0,28
28	Caryophyllene-oxide	0,51
29	Heptadecanol	0,06
	Toplam	98,72
	Diğer	1,28

S. erythrantha subsp. *erythrantha* uçucu yağının kimyasal bileşiminin de % 79,64'ü belirlenmiş olup, 26 madde tespit edilmiştir. Belirlenen bileşenler içinde % 17,75 oranla ilk sırada γ -terpinene, ikinci sırada % 11,81 oranla β -caryophyllene yer almıştır. Bunu sırasıyla % 9,96 oranla sabinene, % 8,40 oranla caryophyllene, % 8,34 oranla α -bisabolol ve % 4,32 oranla 1,6-cyclodecadiene izlemiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. *Sideritis erythrantha* subsp. *erythrantha*'dan elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları [40]

Sıra No	Bileşen adı	% Alan
1	α -phellandrene	0,72
2	γ -terpinene	17,75
3	Sabinene	9,96
4	β -pinene	1,82
5	Myrcene	2,34
6	α -terpinene	0,40
7	p-cymene	0,44
8	Eucalyptol	0,71
9	Linalol	1,26
10	4-carvomenthenol	1,00
11	α -terpineol	0,61
12	Carvacrol	1,78
13	Cyclohexane	0,25
14	Bicyclo(7.2.0)undec-4-ene	0,51
15	β -caryophyllene	11,81
16	1,6,10-dodecatriene	0,27
17	Caryophyllene	8,40
18	1,6-cyclodecadiene	4,32
19	Bicyclogermacrene	0,78
20	Cyclohexene	0,59
21	Naphthalene	0,85
22	1H-cycloprop(e)azulen-7-ol	0,94
23	Caryophyllene oxide	1,85
24	α -bisabolol	8,34
25	1,3,6,10-dodecatetraene	1,58
26	Thujopsene	0,36
	Toplam	79,64
	Diğer	20,36

Çizelge 4.11. *Satureja wiedemanniana*'dan elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları [40]

Sıra No	Bileşen adı	% Alan
1	α -pinene	3,07
2	Camphene	1,69
3	Sabinene	0,67
4	β -Mrycene	1,28
5	α -Phellandrene	0,46
6	α -Terpinene	1,30
7	p-cymene	11,55
8	Menthadiene	9,45
9	1,8-cineole	1,53
10	β -ocimene	6,64
11	Cyclohexadiene	5,31
12	α -terpinolene	0,54
13	Linalool	0,93
14	Neo-allo-ocimene	0,55
15	Borneol	6,73
16	Terpineol	5,61
17	Dihydrocarvone	1,02
18	Carvacrol methyl ether	2,13
19	Thymol	3,59
20	Carvacrol	5,20
21	α -copaene	0,41
22	β -bourbonene	0,89
23	β -elemene	0,43
24	Germacrene-D	4,59
25	β -cubenene	0,30
26	Aromadendrene	0,46
27	Napthelene	2,08
28	Bicyclogermacrene	4,66
29	β -bisabole	5,72
30	γ -Cadinene	1,45
31	Spathulenol	7,22
32	Murolol	0,64
	Toplam	98,10
	Diğer	1,90

Çizelge 4.11'de görüldüğü gibi *S. wiedemanniana* bitkisinin uçucu yağının % 98,10'u tespit edilmiş ve 32 bileşen belirlenmiştir. Bu bitkinin uçucu yağında çok yüksek oranlara sahip bileşenler bulunmamaktadır. En yüksek oranın % 11,55 ile p-cymene olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla % 9,45 ile menthadiene, % 7,22 ile spathulenol, % 6,73 ile borneol, % 6,64 ile β -ocimene, % 5,72 ile β -bisabole, % 5,61 ile terpineol, % 5,31 ile cyclohexadiene ve % 5,20 ile carvacrol'ün izlediği görülmektedir.

S. tchihatcheffii'den elde edilen uçucu yağının da %97,32'i belirlenmiş ve 22 bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenler içinde 1,8-cineole maddesinin % 44,45'lik oranla ana bileşen olduğu görülmektedir. Bu maddeden sonra en yüksek orana sahip madde % 12,19 ile camphor olurken, bunu % 8,84 oranla α -thujene ve % 5,11 oranla 2-isopropylidene maddesinin izlediği görülmektedir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. *Salvia tchihatcheffii*'den elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları [40]

Sıra No	Bileşen adı	% Alan
1	α -pinene	2,94
2	Camphene	3,90
3	Thujene	8,84
4	β -myrcene	0,80
5	α -terpinene	0,32
6	O-cymene	2,52
7	1,8-cineole	44,45
8	γ -terpinene	1,28
9	α -terpinolene	0,31
10	Camphor	12,19
11	Borneol	2,53
12	Terpineol	1,71
13	Thymol	0,33
14	β -bourbonene	1,03
15	Caryophyllene	1,01
16	3,7-guadiadiene	0,70
17	Germacrene-D	0,60
18	Napthelene	2,53
19	δ -Cadinene	3,04
20	2-isopropylidene	5,11
21	β -eudesmol	0,94
22	Murolol	0,30
	Toplam	97,38
	Diğer	2,62

T. sipyleus subsp. *sipyleus* bitkisinin % 94,65'i belirlenmiş ve 23 bilen tespit edilmiştir. Ana bileşenin % 44,95 oranla 1,8 cineole maddesinin olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla % 18,69 oranla camphor, % 8,51 oranla camphene, %5,25 oranla borneol maddelerinin izlediği görülmektedir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* 'dan elde edilen uçucu yağın bileşenleri ve yüzde oranları [40]

Sıra No	Bileşen adı	% Alan
1	β -pinene	2,95
2	α -pinene	2,06
3	Camphene	8,51
4	β -myrcene	1,53
5	1,8-cineole	44,98
6	β -ocimene	0,90
7	γ -terpinene	0,85
8	α -terpinolene	0,88
9	α -campholene aldehyde	0,26
10	Pinocarveol	0,37
11	Camphor	18,69
12	Borneol	5,25
13	Terpineol	1,25
14	α -terpineol	1,59
15	α -thujenal	0,13
16	Endobornyl acetate	0,48
17	β -bourbonene	0,15
18	Caryophyllene	0,56
19	Bicyclogermacrene	0,34
20	Elemol	0,34
21	Nerolidol B	0,45
22	Spathulenol	0,87
23	Caryophyllene oxide	1,26
	Toplam	94,65
	Diğer	5,35

4.2.5. Uçucu yağın değişik kombinasyonlarının domates bitkilerindeki hastalığa etkisi

Origanum minutiflorum bitkisinin uçucu yağının *Xanthomonas vesicatoria*'da MIC değeri olan 200 µg/ml'lik konsantrasyonu ve *X. vesicatoria* izolatının 10⁸ cfu/ml'lik süspansiyonunun değişik kombinasyonları sabit koşullarda yetiştirilen domates bitkilerine uygulanmıştır. İnokulasyon sonrası iklim odasında iki hafta süreyle bitkiler takip edilmiştir. Hastalık belirtilerinin iyice görülmesiyle birlikte, materyal metotta belirtilen 0-4 skalasına göre değerlendirme yapılmış ve skala değerleri belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. 0-4 skalasına göre değerlendirilen karakterler, aldığı skala değerleri ve bitkilerin dağılımı [40]

Karakter	Aldıkları skala değerlerine göre bitkilerin dağılımı (adet)				
	0	1	2	3	4
Sadece bakteri uygulaması	-	1	5	10	-
Bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulaması	-	1	5	10	-
Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulaması	13	3	-	-	-
Sadece uçucu yağ uygulaması	16	-	-	-	-
Negatif kontrol	16	-	-	-	-

Çizelge 4.14'de görüldüğü gibi pozitif kontrolde hastalık belirtisi bütün bitkilerde görülmüştür. Uygulama yapılan 16 bitkinin 10 tanesi 3 skala değerini almış, yani bitkinin 3/4'ünde hastalık belirtileri görülmüştür. Bitkide oluşan hastalık belirtileri Resim 4.14'de görülmektedir.

Değerlendirme sonucu sadece bakteri uygulamasında,

Hastalık şiddeti = $[(0 \times 0) + (1 \times 1) + (2 \times 5) + (3 \times 10) + (4 \times 0)] / 4 \times 16 \times 100 = \% 64,06$ olurken,

Hastalık oranı = $(16 / 16) \times 100 = \% 100$ olmuştur.



Resim 4.14. Sadece bakteri (*X.vesicatoria*) uygulamasında bitkilerde oluşan hastalık belirtileri [40]

Bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulamasında da, 2 hafta süreyle belirtiler gözlenmiştir. Değerlendirme 0-4 skalasına göre yapılmış, skala değerlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.14). Bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulaması sonrası bütün bitkilerde hastalık belirtisi olduğu gözlenmiştir (Resim 4.14).

Bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulamasında,

$$\text{Hastalık şiddeti} = [(0 \times 0) + (1 \times 1) + (2 \times 5) + (3 \times 10) + (4 \times 0) / 4 \times 16] \times 100 = \% 64,06$$

$$\text{Hastalık oranı} = (16 / 16) \times 100 = \% 100 \text{ olmuştur.}$$

Bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulamasında hastalık şiddeti ve hastalık oranı sadece bakteri uygulamasıyla aynı oranlarda olmuştur.



Resim 4.15. Bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulaması sonrası bitkilerde oluşan hastalık belirtileri [40]

Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulamasında ise, yine iki hafta sonra değerlendirme 0-4 skalasına göre yapılmış, skala değerlerinin sadece bakteri uygulaması ve bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulamasına göre çok düşük olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulamasına ait skala değerleri Çizelge 4.14’de verilmiştir. Çizelge 4.14’de de belirtildiği gibi 13 bitkide hiç hastalık belirtisi görülmemiş, 3 bitkide ise çok düşük oranda hastalık belirtisi görülmüştür.

Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulamasında,

$$\text{Hastalık şiddeti} = [(0 \times 13) + (1 \times 3) + (2 \times 0) + (3 \times 0) + (4 \times 0) / 4 \times 16] \times 100 = \% 4,69$$

$$\text{Hastalık oranı} = (3 / 16) \times 100 = \% 18,75 \text{ olmuştur.}$$

Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulanan bitkiler Resim 4.16’da görülmektedir.



Resim 4.16. Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulanmış bitkiler [40]

Sadece uçucu yağ uygulaması yapılmış bitkiler ile, negatif kontrol olarak kullanılmış bitkilerde yapılan değerlendirme sonucu hiçbir hastalık belirtisine rastlanmamıştır. Ayrıca sadece uçucu yağ uygulamasının bitki gelişimine herhangi bir olumsuz etkisi gözlenmemiştir (Resim 4.17).



Resim 4.17. Uçucu yağ uygulanmış bitkiler [40]

Yapılan varyans analizi sonucunda, sadece bakteri uygulaması ve bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulamasında hastalık oranı %100, sadece uçucu yağ ve negatif kontrolde % 0, Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulamasında % 18,75 bulunmuştur (F =. 189,000, p = 0,000).

Hastalık şiddeti ise, sadece bakteri uygulaması % 64,06, bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulamasında % 64,06, uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulamasında % 4,69, sadece uçucu yağ uygulaması ve negatif kontrolde % 0 bulunmuştur (F=156,024, p = 0,000).

Çoklu karşılaştırma (Duncan testi) sonucunda 3 farklı grup oluşmuştur. Sadece bakteri uygulaması ve bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulaması birinci grubu (a), uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulaması ikinci grubu (b), sadece uçucu yağ uygulaması ile negatif kontrol de üçüncü grubu (c) oluşturmuştur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Değişik uçucu yağ kombinasyonları uygulanan domates bitkilerindeki, hastalık oranı, hastalık şiddeti ve oluşan gruplar [40]

Karakter	Tekerrür sayısı	Hastalık oranı (%)	Grup	Hastalık şiddeti (%)	Grup
Sadece bakteri uygulaması	4	100,00±0,00 (100,00-100,00)	a*	64,06±2.99 (56,25–68,75)	a
Bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulaması	4	100,00±0,00 (100,00-100,00)	a	64,06±4.69 (56,25–75,00)	a
Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulaması	4	18,75±6,25 (0,00-25,00)	b	4,69±1,56 (0,00-6,25)	b
Sadece uçucu yağ uygulaması	4	0,00±0,00 (0,00-0,00)	c	0,00±0,00 (0,00-0,00)	c
Negatif kontrol	4	0,00±0,00 (0,00-0,00)	c	0,00±0,00 (0,00-0,00)	c

* : Aynı sütundaki farklı küçük harf taşıyan değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemiz aynı anda dört mevsimin yaşanabildiği, değişik ekolojik bölgelere sahip, çok çeşitli ürünlerin yetiştirilebildiği, dolayısıyla bitki çeşitliliği bakımından dünyanın ender ülkelerinden biridir. Bu çeşitlilik içinde, sadece ülkemizde yetişebilen bitkilerin fazla olmasında bir avantaj olarak karşımıza çıkmaktadır. 2000 yılında yayınlanan ek 11. ciltde Türkiye Florası'nda 2 891 türün endemik olduğu bildirilmektedir [2]. Dünyada yaklaşık 20.000 bitki türü tıbbi amaçlar için kullanılırken, 8 988 bitki türü bulunan ve bunlardan 2 891 türü endemik olan ülkemizde bu amaç için kullanılan bitki türünün yaklaşık 500 civarında olması doğal zenginliklerimizi yeterli ve etkili bir biçimde kullanamadığımızı göstermektedir.

Bu kadar çok bitki çeşitliliğine ve değişik iklim koşullarına sahip ülkemizde hemen hemen her türlü kültür bitkisi yetiştirilebilmektedir. Dolayısıyla da bu bitkilerde zarar yapan organizmaların sayısı oldukça fazladır. Türkiye Bitki Koruma Raporunda, yurdumuzda 400'ün üzerinde zararlı organizmanın, tarla dönemi ve hasat sonrasında % 49 oranında kayıplara neden olduğu bildirilmektedir [12]. Bu oran mücadele yapılmadığında daha yüksek rakamlara ulaşabilmektedir. Yurdumuzda bu zararlılar ile mücadele etmek amacıyla yaklaşık olarak 40-45 bin ton tarım ilacı kullanılmakta, bu da insan, hayvan, çevre ve toprak faunası açısından çok büyük riskler oluşturmaktadır. Son yıllarda pestisitlerin zararlarının anlaşılmasından sonra, araştırmacılar pestisitlere alternatif arayışına yönelmişler, bitkiler ve bitkilerden elde edilen bileşikler üzerindeki çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır.

Bu çalışmada, ülkemizde endemik olarak yetişen *Origanum minutiflorum*, *Sideritis erythrantha* subsp. *erythrantha*, *Satureja wiedemanniana*, *Salvia tchihatcheffii* ve *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların etkisi, kültür bitkilerinde önemli kayıplara neden olabilen ve halihazırda tedavi edici ruhsatlı bir kimyasal ilacı bulunmayan bakteriyel hastalık etmenlerine karşı denenmiştir. Petri denemeleri sonucu en etkili bulunan *O. minutiflorum* bitkisinin

uçucu yağının etkisi, domateslerde hastalığa neden olan *X. vesicatoria*'ya karşı saksılarda yetiştirilen bitkiler üzerinde denenmiştir.

Çalışma sonuçları uçucu yağ verileri yönüyle incelendiğinde; Amasya, Çankırı ve Isparta illerinin değişik bölge ve yüksekliklerinden toplanan beş endemik bitkiden, Clevenger aparatında hidrodistilasyon yoluyla uçucu yağları elde edilmiş ve yağ verimleri belirlenmiştir. Bu bitkilerden biri olan *O. minutiflorum* ile yapılan bir çalışmada, uçucu yağ veriminin % 4,3-5,3 arasında değişebildiği, uçucu yağ bakımından zengin bir bitki olması nedeniyle carvacrol yönünden iyi bir kaynak teşkil ettiği bildirilmektedir [28]. Yapmış olduğumuz bu çalışmada 1 684 m yükseklikten toplanan *O. minutiflorum*'dan elde edilen uçucu yağ verimi % 4,0-4,4 arasında değişmiştir. Elde edilen bu sonuç *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağ bakımından zengin bir bitki olduğunu, biyoteknolojik çalışmalar ve pestisitlere alternatif olma yönünden iyi bir kaynak olabileceğini göstermiştir.

S. erythrantha var. *erythrantha* bitkisi ile Eskişehir'de yapılan bir çalışma sonucunda, bizimde topladığımız bölge olan Isparta-Sütçüler-Çandır-Söğüt yaylasından toplanan bitkilerin uçucu yağ verimi % 0,39, aynı bölgenin Akçal yaylasından toplanan bitkilerin ise uçucu yağ verimi % 0,49 olarak bulunmuştur [25]. Yaptığımız çalışmada, *S. erythrantha* subsp. *erythrantha* bitkisinin uçucu yağ verimi % 0,40-0,45 arasında değişmiştir. Bildirilen bu sonuçlarla bizim elde ettiğimiz sonuçlar birbirleriyle paralellik göstermektedir. Ancak, bu bitkinin uçucu yağ verimi *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağ verimine oranla çok düşük olduğu görülmektedir.

Bazı *Salvia* türlerinin uçucu yağları ile ilgili yapılan bir çalışmada uçucu yağ verimlerinin % 0,1-2,2 arasında değiştiği, Aynı çalışmada *S. tchihatcheffii*'den elde edilen uçucu yağ veriminin ise % 0,6 oranında olduğu bildirilmektedir [28]. Bizim yaptığımız çalışmada ise *S. tchihatcheffii* bitkisinden elde edilen uçucu yağ verimi % 0,60-0,70 oranlarında olmuştur. Bu sonuç yapılan çalışmada bildirilen sonuç ile

paralellik göstermiş olmasına rağmen, *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağ verimine oranla çok düşüktür.

Antimikrobiyal etki yönüyle, çalışma sonunda elde edilen değerlere göre 1/5, 1/10, 1/15 ve 1/20 etil alkol dilisyonlarında en yüksek oranda inhibisyon zonunu *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağı oluşturmuştur. Bu bitkinin uçucu yağı test edilen 20 adet bitki patojeni bakteriden 17'sinde 20-54 mm çapında zon oluştururken, bunu sırasıyla, 15 adet bakteride 2-8 mm arasında zon çapı ile *S. wiedemenniana* uçucu yağı, 9 adet bakteride 2-7 mm zon çapı ile *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* uçucu yağı, 6 adet bakteride 1-7 mm zon çapı ile *S. tchihatcheffii* uçucu yağı ve 5 adet bakteride 4-9 mm zon çapı ile *S. erythrantha* subsp. *erythrantha* uçucu yağı izlemiştir.

O. minutiflorum uçucu yağında inhibisyon zonu en yüksek 1/5 konsantrasyonda 54 mm çapla *R. iranicus* subsp. *iranicus*'da oluşurken, bunu sırasıyla 53 mm zon çapı ile *X. campestris* pv. *campestris*, 50 mm zon çapı ile *R. rathayi*, 48 mm zon çapı ile *R. iranicus*, 44 mm zon çapı ile *R. tritici*, 43 mm zon çapı ile *X. translucens* pv. *translucens* ve *X. vesicatoria* izlemiştir. 1/5 konsantrasyonda en düşük inhibisyon zonu 23 mm ile *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*'te oluşmuştur. Diğer bakterilerde zon çapları 24-38 mm arasında değişmiş, *P. syringae* pv. *tomato* ve *P. savastoni* pv.'ları (*K18*, *Psp*)de inhibisyon zonu oluşmamıştır (Çizelge 4.2). *O. minutiflorum* ile yapılan bir çalışmada, 4 bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli*) ve 2 fungusa (*Candida albicans* ve *C. tropicalis*) karşı yapılan denemelerde 1/5 konsantrasyonda zon çaplarının bakterilerde 19,5-26,5 mm, funguslarda ise 32,5-40 mm arasında değiştiği bildirilmektedir [22]. Her ne kadar kullanılan test bakterileri farklı olsa dahi, çalışmamızda da olduğu gibi uçucu yağın yüksek inhibisyon etkisi göstermesi bakımından çalışmamızla paralellik göstermiştir.

Bakteriler cinslerine göre sınıflandırıldığında ise, *Rathayibacter* türleri en fazla etkilenen türler olurken, bunu sırasıyla *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Clavibacter*, *Agrobacterium* ve *Curtobacterium* türleri izlemiştir. *P. syringae* pv. *tomato* ve *P.*

savastoni pv.'lerinin (*K18*, *Psp*) ise uçucu yağdan hiç etkilenmedikleri görülmüştür. Oluşan zon çapları streptomycin sülfat ve bakır sülfat ile karşılaştırıldığında, zon çaplarının birbirine çok yakın olduğu, uçucu yağın bakır sülfat'tan biraz daha büyük zonlar oluşturduğu görülmektedir. Ancak, çalışmamızda kullanılan bitkiler ile bitki patojeni bakterilere karşı yapılmış çalışmaların son derece kısıtlı olması nedeniyle elde edilen sonuçların bire bir karşılaştırılarak tartışılması mümkün olamamıştır.

S. erythrantha subsp. *erythrantha* bitkisinden elde edilen uçucu yağ ise 1/5 konsantrasyonda 4-9 mm arasında zon çapı oluşturmuştur. Bu bitkinin uçucu yağı yalnızca *Rathayibacter* spp'de ve *C. michiganensis* pv. *michiganensis*'de etkili olmuştur. *C. michiganensis* pv. *michiganensis*'de 4 mm zon çapı oluştururken *R. iranicus* subsp. *iranicus*'da 6 mm, *R. tritici*, *R. iranicus* ve *R. rathayi*'de 9 mm çapında zonlar oluşturmuştur. Test edilen diğer bakterilerde zon oluşturmamıştır (Çizelge 4.3). *S. erythrantha* subsp. *erythrantha* uçucu yağı sadece 5 bakteride zon oluşturmıştır. Bu bakterilerde oluşturduğu zon çapları *O. minutiflorum* hariç diğer bitkilerden elde edilen uçucu yağlardan biraz daha yüksek olmuştur. Ancak zon çapları streptomycin sülfat ve bakır sülfat'ta oluşan zonlara kıyasla çok küçük oranlarda olmuştur.

S. wiedemanniana bitkisinin uçucu yağı ise 15 adet bakteride 1/5 konsantrasyonda 2-8 mm arasında zonlar oluşturmuştur. En yüksek zon 8 mm ile *R. iranicus*, *R. iranicus* subsp. *iranicus*, *X. translucens* pv. *translucens* ve *C. michiganensis* pv. *michiganensis*'de oluşurken, bunu sırasıyla 7 mm ile *R. rathayi* ve *E. caratovora* pv. *atroceptica*, 6 mm ile *R. tritici*, 5 mm ile *X. vesicatoria*, 3 mm ile *X. campestris* pv. *campestris*, *P. savastoni* pv. *phaseolicola* (*K18*) ve *A. vitis* (*Av 2*), 2 mm ile de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, *E. amylovora* (*EAR*, *EEL*) ve *P. syringae* pv. *atrofaciens* izlemiştir. Diğer bakterilerde ise zon oluşmamıştır (Çizelge 4.4). Streptomycin sülfat ve bakır sülfat ile yapılan denemelerde oluşan zon çaplarının bu uçucu yağın oluşturduğu zon çaplarına oranla çok yüksek olduğu görülmektedir. Yurdumuzun değişik bölgelerinden toplanan aynı familyaya ait değişik *Satureja* spp. (*Satureja boissieri*, *S. coerulea*, *S. icarica*, ve *S. pilosa*) ile yapılan bir çalışmada,

uçucu yağların antimikrobiyal etkileri 11 mikroorganizmaya karşı denenmiştir. Çalışma sonunda MIC değerlerinin 31, 25-125 µg/ml arasında değiştiği, *Aspergillus niger*, *Penicillium sublateriticum* ve *P. steckii*'nin uçucu yağlardan etkilenmediği belirlenmiştir [46]. Her ne kadar çalıştığımız türden farklı olsa da, aynı cinse ait değişik türlerin uçucu yağlarının, farklı bakteri ve fungus türlerine etkilerinin farklı olduğu görülmektedir. Çalışmamızda *S. wiedemanniana* uçucu yağının test edilen bakterilere etkisinin düşük olması, etkinin türlere ve organizmalara göre değişebileceği yönüyle paralellik göstermektedir.

S. tchihatcheffii bitkisinin uçucu yağı ile yapılan çalışmada ise, test edilen bakterilerden yalnızca 6 tanesinde zon oluştuğu görülmüştür. 1/5 konsantrasyonda en yüksek zon çapı 7 mm ile *R. iranicus* ve *R. iranicus* subsp. *iranicus*'ta görülmüştür. *X. campestris* pv. *campestris*'in 1/5, *P. syringae* pv. *atrofaciens*'in 1/5 ve 1/10, *A. vitis*'in (Av 2) 1/5 ve 1/10 konsantrasyonu dışında, test edilen diğer bakterilerde zon oluşmadığı göze çarpmaktadır (Çizelge 4.5). Oluşan zon çapları streptomycin sülfat ve bakır sülfatda oluşan zon çapları ile karşılaştırıldığında, *S. tchihatcheffii* uçucu yağının test edilen bakteriler üzerindeki inhibisyon etkisinin düşük olduğu söylenebilir.

T. sipyleus subsp. *sipyleus*'ta ise 1/5 konsantrasyonda zon çapları 2-7 mm arasında değişmiştir. En yüksek zon 7 mm ile *C. michiganensis* pv. *michiganensis*'de oluşurken, bunu sırasıyla 6 mm ile *A. vitis* (Av 2), 4 mm ile *R. tritici*, *R. iranicus*, *R. iranicus* subsp. *iranicus*, *X. translucens* pv. *translucens*, *X. vesicatoria* ve 2 mm ile *X. campestris* pv. *campestris* ve *P. syringae* pv. *atrofaciens* izlemiştir (Çizelge 4.6). Bu bitkinin uçucu yağından *X. campestris* pv. *campestris* ve *A. vitis*'in (Av 2) *Rathayibacter* spp'den daha fazla etkilendikleri dikkati çekmiştir. Ancak, bu etkinin streptomycin sülfat ve bakır sülfat ile kıyaslandığında çok düşük seviyede olduğu dikkati çekmektedir. Her ne kadar çalıştığımız tür ile farklı bir tür olsada, aynı familya ve aynı cinse ait endemik bir tür olan *T. spathulifolius* bitkisiyle yapılan bir çalışmada, uçucu yağ ve metanol ile ekstraktı hazırlanmış ve çoğunluğu klinik etmenler olan 25 bakteri ve 15 fungus ve maya'ya karşı denenmiştir. Denemelerde

inhibisyon zon çaplarının 7-32 mm arasında değiştiği, *C. michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato* ve *X. campestris* gibi bitki patojeni bakterilerin 9-11 mm’lik zonlarla en az etkilenenler arasında yer aldığı belirlenmiştir. [32]. Bu sonuç, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* bitkisinin uçucu yağının, klinik bakterilerinde daha etkili olduğunu, bitki patojeni bakterilerde etkisinin daha dşşk olduğunu göstermektedir. Yaptığımız çalışmada da bu uçucu yağın etkisinin bitki patojeni bakterilere karşı dşşk çıkması, iki çalışma arasında bir paralellik olduğu sonucunu doğurmaktadır.

Yapılan MIC değeri çalışmalarında ise, 5 bitki uçucu yağı ile yapılan denemelerde *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağının MIC değerlerinin, diğer bitkilerin uçucu yağlarına göre daha dşşk olduğu belirlenmiştir. *O. minutiflorum*’da MIC değerleri 125-400 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişirken, *P. syringae* pv. *tomato* ve *P. savastanoi* pv.’larında (*K18*, *Psp*) 500 $\mu\text{g/ml}$ den yüksek olduğu belirlenmiştir. En dşşk MIC değeri 125 $\mu\text{g/ml}$ ile *R. rathayi* ve *R. iranicus* subsp. *iranicus*’da olurken, en yüksek 400 $\mu\text{g/ml}$ ile *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumcaciens* ve *E. caratovora* pv. *caratovora*’da olmuştur. Diğer bakterilerde ise 200-400 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişmiştir. Oluşan zon çapları ile, bulunan MIC değerleri arasında bir ilişki kurulduğunda, petri denemelerinde 54-50 mm ile en büyük zon çaplarına sahip türlerde MIC değerlerinin en dşşk olduğu, zon çaplarının dşşk olduğu veya hiç zon çapı oluşmayan türlerde ise MIC değerlerinin yüksek olduğu grlmektetir. Bu bakımdan da sonuçlar birbirleriyle paralellik göstermektedir. Ancak, bitki patojeni bakterilere karşı bu bitki uçucu yağları ile yapılmış çalışmaların son derece kısıtlı olması nedeniyle, çalışmada elde ettiğimiz MIC değerlerinin tam anlamıyla karşılaştırılması mümkün olmamıştır.

S. erythrantha subsp. *erythrantha* uçucu yağında yalnızca *Rathayibacter* spp’de MIC değerleri 300-500 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur. Bu türlerden *R. rathayi*’de MIC değeri 300 $\mu\text{g/ml}$ bulunurken, *R. iranicus* subsp. *iranicus*’da 400 $\mu\text{g/ml}$, *R. tritici* ve *R. iranicus*’da 500 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur. Test edilen diğer bakterilerin tümünde MIC değerleri 500 $\mu\text{g/ml}$ den yüksek olarak bulunmuştur. Petride oluşan zonlar ile MIC değerleri karşılaştırıldığında, en büyük zonların 1/5 konsantrasyonda 7-9 mm zon çapı ile *Rathayibacter* spp’de olduğu, MIC değerlerinin de yalnızca bu türlerde 500

$\mu\text{g/ml}$ altında olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında *C. michiganensis* pv. *michiganensis*'de de küçük çaplı zonlar oluşturduğu (3-4 mm) ancak, MIC değerinin 500 $\mu\text{g/ml}$ 'den yüksek olduğu görülmektedir.

S. wiedemanniana uçucu yağında ise yine *Rathayibacter* spp ve bunlara ilave olarak *C. michiganensis* pv. *michiganensis* ve *X. translucens* pv. *translucens*'de MIC değerleri 500 $\mu\text{g/ml}$ ve altında bulunmuştur. Bu bitki uçucu yağı *O. minutiflorum* hariç diğer bitki uçucu yağlarına oranla petrilere daha fazla sayıda bakteride zon oluşturmuştur. Ancak, zon çaplarının küçük olması nedeniyle (1-8 mm) MIC değerleri 500 $\mu\text{g/ml}$ büyük olmuştur. Bu bitkide en küçük MIC değeri 300 $\mu\text{g/ml}$ ile *R. iranicus* subsp. *iranicus*'da bulunurken, *R. rathayi*'de 400 $\mu\text{g/ml}$, *X. translucens* pv. *translucens*, *R. tritici*, *R. iranicus* ve *C. michiganensis* pv. *michiganensis*'de 500 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur. Zon çapları ve MIC değerleri *S. erythrantha* subsp. *erythrantha* uçucu yağı ile karşılaştırıldığında, zon çaplarının ve oluşan MIC değerlerinin birbirine yakın oldukları ve bu bakımdan da paralellik gösterdikleri görülmektedir.

S. tchihatcheffii bitkisinde ise MIC değeri yalnızca *R. iranicus* subsp. *iranicus*'da 400 $\mu\text{g/ml}$, *R. iranicus*'da 500 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. Diğer bakterilerin MIC değerlerinin 500 $\mu\text{g/ml}$ den yüksek olduğu tespit edilmiştir. Petrilere ölçülen zonlarda da bu iki bakterinin zon çaplarının diğerlerine göre yüksek olduğu (7 mm) belirlenmiştir. Petri denemelerinde oluşan zon çapları ile MIC değerleri arasında bir ilişki kurulduğunda, zon çapları küçük olan bakterilerde MIC değerlerinin büyük olduğu görülmektedir. Bu bitkinin, *S. erythrantha* subsp. *erythrantha*, ve *S. wiedemanniana* uçucu yağlarının zon çapları ve MIC değerleri ile hemen hemen aynı oldukları belirlenmiştir. Bu bakımdan da elde edilen değerlerin birbirlerini doğrular yönde olduğu söylenebilir.

T. sipyleus subsp. *sipyleus*'ta ise test edilen bütün bakterilerin MIC değerleri 500 $\mu\text{g/ml}$ den yüksek olarak bulunmuştur. Petrilere oluşturduğu zon çaplarına bakıldığında bu bitkinin uçucu yağının oluşturduğu zon çaplarının diğerlerine göre

daha küçük olduğu görülmektedir. Bu bakımdan da MIC değerlerinin 500 µg/ml üzerinde bulunmasının elde edilen sonuçların birbiriyle örtüştüğünü göstermektedir. Streptomycin sülfat ve bakır sülfat ile yapılan denemelerde MIC değerleri uçucu yağların MIC değerlerine göre düşük miktarda bulunmuştur. Çalışılan beş adet bitkinin uçucu yağlarında en düşük MIC değeri 125 µg/ml bulunurken, streptomycin sülfat ve bakır sülfat'ta en düşük MIC değeri 7,8 µg/ml'den düşük bulunmuştur. Streptomycin sülfat ve bakır sülfat'ta en yüksek MIC değeri 125 µg/ml olurken, uçucu yağlarda bu değer 500µg/ml'den yüksek olmuştur. Bu sonuçlara göre, petrillerdeki zon çapları her ne kadar birbirine yakın da olsa, MIC bakımından streptomycin sülfat ve bakır sülfatın, çalışmada denenen bütün uçucu yağlardan çok daha etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, petrillerde oluşan zon çapları bakımından uçucu yağ ve kullanılan standartlar arasında çok büyük farklılıklar olmamasına rağmen, MIC değerleri arasında farklılıklar olduğu ve kullanılan standartların MIC değerlerinin daha düşük olduğu görülmektedir [32]. *Satureja hortensis* bitkisi ile yapılan bir çalışmada da 23 bakteri ve 15 adet fungusu karşı yapılan antimikrobiyal etki çalışmasında, petrideki inhibisyon zonları arasında çok büyük farklılık olmamasına rağmen, MIC değerleri bakımından standart olarak kullanılan antibiyotiklerin MIC değerlerinin düşük olduğu belirtilmektedir [33]. Yaptığımız çalışmada, streptomycin sülfat ve bakır sülfatta oluşan zon çaplarının *O. minutiflorum*'da oluşan zon çapları arasında çok büyük farklılıklar olmamasına rağmen, MIC değerleri bakımından streptomycin sülfat ve bakır sülfat MIC değerlerinin çok düşük olması yapılan çalışma sonuçlarını destekler vaziyette olmuştur.

Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar bileşenleri yönünden incelendiğinde, *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağının yapılan analizinde 29 bileşen tesbit edilmiştir. Tesbit edilen bu 29 bileşen içinde carvacrol % 73,93 oranla ilk sırada yer alırken, bunu % 7,20 oranla p-cymene, % 3,99 oranla γ-terpinene ve % 2,41 oranla borneol maddelerinin izlediği görülmektedir. Uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesine yönelik *O. minutiflorum* isimli bitki ile yapılan çalışmada, uçucu yağın % 75,40-82,00'ini carvacrol'un, % 3,39-9,38'ini p-cymenenin, diğer kimyasal bileşenlerin de

kalan % yi oluşturdıkları ortaya konulmuştur [23]. Aynı bitki ile yapılan bir başka çalışmada ise, farklı yüksekliklerden çiçekli dönemde toplanan *O. minutiflorum* örneklerinden elde edilen uçucu yağlar kolon kromatografisi (CC) ve GC kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre örneklerin % 91-93 oranında carvacrol içerdikleri, daha yüksek rakımdan toplanan örneğin diğerine göre % 2 daha fazla carvacrol içerdiği belirlenmiştir [22]. Yaptığımız çalışmada *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağının ana maddesinin carvacrol olarak belirlenmesi ve miktarının diğer bileşenlere göre oldukça yüksek bulunması yapılan çalışmalar ile paralellik sağlamıştır. Bu bitkinin uçucu yağında bir bileşenin (carvacrol) çok yüksek oranlarda bulunması ve uçucu yağ veriminin yüksek olması biyoteknolojik açıdan iyi bir kaynak olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, uçucu yağda bir bileşenin çok yüksek oranlarda olması, antimikrobiyal etki yönünden de önem arzedebilir. Zira, yapmış olduğumuz çalışmada, yalnızca *O. minutiflorum* uçucu yağında % 70 üzerinde bir bileşen (carvacrol) tespit edilmiş ve bu uçucu yağın etkisi diğer bitkilerin uçucu yağların etkilerine göre daha fazla bulunmuştur.

S. erythrantha subsp. *erythrantha* türünün uçucu yağının 26 bileşen tesbit edilmiş olup, % 17,75 oranla ilk sırada γ -terpinene, ikinci sırada % 11,81 oranla β -caryophyllene yer almıştır. Bunu sırasıyla % 9,96 oranla sabinene, % 8,40 oranla caryophyllene, % 8,34 oranla α -bisabolol ve % 4,32 oranla 1,6-cyclodecadiene'nin izlediği görülmektedir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada *S. erythrantha* var. *erythrantha* türünün uçucu yağının ana bileşenlerinin α -pinene (% 16,3-19,5) ve sabinene (% 6,1-10,4), *S. erythrantha* var. *cedretorum*'un ise myrcene (%24,3-21,9) ve α -pinene (% 16,3-19,5) olduğu bildirilmektedir [25]. *Sideritis* türleriyle yapılan bir başka çalışmada ise, 150 den fazla türünün bulunduğu ve bunlardan 42'sinin endemik olduğu, bu türlerin uçucu yağ verimlerinin % 0,1-0,85 arasında değiştiği, yapılan kimyasal analizler sonucu uçucu yağlarının ana bileşiklerini türlere göre değiştiği belirlenmiştir [26]. Yaptığımız çalışmada da uçucu yağ verimi 0,40-0,45 arasında değişmiştir. Ayrıca bu bitki uçucu yağında yüksek oranlara sahip bileşenlerin olmadığı görülmektedir. Uçucu yağ bileşenlerinin miktar ve oranlarının değişiklik göstermesinin nedeninin bitkiyi toplama zamanı, toplandığı yükseklik ve

lokasyondan kaynaklanabileceği izlenimini vermektedir. Zira iki *Sideritis* türünün uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada aynı tür, farklı yükseklik, farklı lokasyon ve farklı zamanda toplanarak uçucu yağları elde edilmiştir. GC/MS cihazı kullanılarak yağ analizleri yapılmış, *S. erythrantha* var. *erythrantha* türüne ait örneklerden birinde 67, diğerinde 68 bileşen belirlenmiştir. *S. erythrantha* var. *cedretorum* türüne ait örneklerde ise birinde 60, diğerinde 76 bileşen tespit edilmiştir [25]. Buda göstermektedir ki aynı bitki farklı zamanlarda farklı yer ve yükseklikten toplandığında bileşen sayısında büyük farklılıklar olabilmektedir.

S. wiedemanniana bitkisinin uçucu yağında çok yüksek oranlara sahip bileşenler olmamakla birlikte 32 adet bileşen tespit edilmiştir. En yüksek oranın % 11,55 ile p-cymene olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla % 9,45 ile menthadiene, % 7,22 ile spathulenol, % 6,73 ile borneol, % 6,64 ile β -ocimene, % 5,72 ile β -bisabole, % 5,61 ile terpineol, % 5,31 ile cyclohexadiene ve % 5,20 ile carvacrol'un izlediği görülmektedir. Değişik *Satureja* türleri ile yapılan bir çalışmada, elde edilen uçucu yağlar GC/MS kullanılarak analiz edilmiş ve bileşenleri belirlenmiştir. *S. boissieri* % 44,8 carvacrol, % 35,5 p-cymene içerirken, *S. coerulea* % 10,6 β -caryophyllene ve % 8,0 caryophyllene oxide, *S. icarica* % 59,2 carvacrol ve % 15,7 p-cymene, *S. pilosa* ise % 42,1 carvacrol ve % 8,1 oranında p-cymene içerdikleri ortaya konulmuştur. Aynı çalışmada *S. hortensis*'in kültüre alınmış formlarında ana bileşiğin carvacrol, doğal formlarında ise timol olduğu, Türkiye'nin doğusunda yetişen bitki örneklerinde timol ana bileşik olarak öne çıkarken, batısında yetişen bitkilerde carvacrol'un ana bileşik olarak görüldüğü rapor edilmektedir [46]. Yapılan çalışmalardan da anlaşılacağı gibi, uçucu yağların bileşenleri ve miktarları çok çeşitli etkenlere göre değişebilmektedir. Yaptığımız çalışmada her ne kadar tür farklı olsada, en yüksek orana sahip p-cymene'nin bir çok türde yüksek oranda olduğu görülmektedir.

S. tchihatcheffii'den elde edilen uçucu yağın yağın bileşiminde bileşen tesbit edilmiş, bileşenleri içinde 1,8-cineole maddesinin % 44,45'lik oranla ana bileşen olduğu görülmüştür. Bu maddeden sonra en yüksek orana sahip madde % 12,19 ile camphor

olurken, bunu % 8,84 oranla α -thujene ve % 5,11 oranla 2-isopropylidene maddesi izlemiştir. *Salvia* türleriyle ilgili yapılan bir çalışmada da, Türkiye’de 89 türün tespit edildiği bunlardan 45 türün endemik olduğu bildirilmiştir. Türlerin uçucu yağ verimlerinin % 0,1-2,2 arasında değiştiği, GC-MS de yapılan analizler sonucu ana bileşenlerinin α -pinene, β -pinene, camphor, limonene, linalool ve borneol olduğu, ancak bunların oranlarının türlere göre değiştiği ortaya konulmuştur [28].

T. sipyleus subsp. *sipyleus* türünün uçucu yağının bileşiminde 23 bileşen tesbit edilmiş, ana bileşenin % 44,95 oranla 1,8 cineole maddesinin olduğu belirlenmiştir. Bunu sırasıyla % 18,69 oranla camphor, % 8,51 oranla camphene, % 5,25 oranla borneol maddelerinin izlediği görülmektedir. Yurdumuzda *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* ve *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*’ın antioksidatif aktivitesinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*’ta ana bileşenlerin borneol, α -muurolol, β -caryophyllene, geranial ve neral olduğu, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*’ta ise, phenolic carvacrol, thymol, p-cymene ve γ -terpinene olduğu rapor edilmiştir [31]. Aynı cinse ait endemik bir tür olan *Thymus spathulifolius* bitkisiyle yapılan bir çalışmada, Sivas-Yağbasan’dan 1 350 m yükseklikten çiçeklenme zamanı toplanan bitkilerden % 3,74 oranında uçucu yağı elde edilmiştir. Uçucu yağın GC/MS de yapılan analizinde % 36,5 thymol, % 29,8 carvacrol, % 10,0 p-cymene, % 6,3 oranında γ -terpinene içerdiği ortaya konmuştur. Bu sonuçlarda göstermektedir ki aynı cinse ait türler, hatta varyeteler de ana bileşenleri ve oranları değişebilmektedir.

Domates bitkilerinde *X. vesicatoria*’ya karşı yapılan etki denemelerinde ise, petri denemeleri sonucu en etkili bulunan *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağının etkisi, saksılarda yetiştirilmiş olan bitkilerde denenmiştir. Deneme iklim odasında 5 karakter (sadece bakteri, bakteri uygulamasından 48 saat sonra uçucu yağ uygulaması, uçucu yağ uygulamasından 48 saat sonra bakteri uygulaması, sadece uçucu yağ uygulaması ve negatif kontrol) 4 paralel (1 paralelde 4 bitki) olarak kurulmuş, domateslerde hastalık yapan *X. vesicatoria* ve *O. minutiflorum* uçucu yağının bu bakteride MIC değeri olan 200 μ g/ml’lik konsantrasyonu kullanılmıştır.

0-4 skalasına göre yapılan değerlendirme sonucunda sadece bakteri uygulamasında skala değerlerinin yüksek olduğu görülmüştür. Bu uygulamada hastalık şiddeti % 64,06 olurken , hastalık oranı % 100 olmuştur. Bakteri uygulamasından 48 saat sonra uçucu yağ uygulamasında da hastalık oranı % 100 , hastalık şiddeti % 64,06 olmuştur. Yapılan varyans analizi sonucunda, sadece bakteri uygulaması ve bakteri uygulandıktan 48 saat sonra uçucu yağ uygulamasında hastalık oranları %100, hastalık şiddetleri ise, % 64,06 olmuştur ($F=189,000$, $p=0,000$). Çoklu karşılaştırma (Duncan testi) sonucunda da bu iki uygulama farklı bir grupta (a) yer almıştır. Bu sonuç hastalık etmeninin virülensinin yüksek olduğunu ve bütün bitkiler hastalandırıldığını, bakteri uygulandıktan 48 sonra uygulanan uçucu yağın etkisinin olmadığını, yani, bakteri bitki bünyesine girdikten sonra uçucu yağın hastalığı tedavi etmeye yönelik hiçbir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulamasında ise, yapılan değerlendirme sonucu skala değerlerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamada hastalık oranı % 18,75, hastalık şiddeti de % 4,69 olarak bulunmuştur. Yapılan varyans analizi sonucunda, uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulamasında hastalık oranı % 18,75, hastalık şiddeti % 4,69 bulunmuştur ($F=189,000$, $p=0,000$). Çoklu karşılaştırma (Duncan testi) sonucunda ise, bu uygulama da farklı bir grupta (b) yer almıştır. Bu uygulamada, uçucu yağın bitkinin yaprak yüzeylerini kaplayarak hastalık etmeninin bitkiye girişini büyük oranda etkilediği belirlenmiştir. Sonuç sadece bakteri uygulaması ve bakteri uygulamasından 48 saat sonra uçucu yağ uygulaması ile karşılaştırıldığında, uçucu yağ uygulandıktan 48 saat sonra bakteri uygulamasının hastalığı % 81,25 oranında engellediği görülmektedir.

Sadece uçucu yağ uygulaması ile negatif kontrolde hiçbir hastalık belirtisine rastlanmamıştır. Çoklu karşılaştırma (Duncan testi) sonucunda da bu uygulamalarda hastalık şiddeti ve hastalık oranı % 0 bulunmuş ($F=156,024$, $p = 0,000$) ve farklı bir grubu (c) oluşturmuştur. Ayrıca sadece uçucu yağ uygulamasının bitki gelişimine herhangi bir olumsuz etkisi gözlenmemiştir. Bu veriler doğrultusunda *O.*

minutiflorum uçucu yağının *X. vesicatoria*'ya karşı koruyucu olarak kullanılabileceği önerilebilir. Bu uçucu yağın, yağ verimi yüksek olan endemik bir bitkiden elde edilmesi, kalıcılık yönüyle bir risk teşkil etmemesi ve bitki gelişimine herhangi bir olumsuz etkisinin gözlenmemesi nedeniyle biyoteknolojik açıdan önemli bir kaynak teşkil etmektedir. Özellikle tüm kimyasalların kullanımının yasak olduğu organik tarım yetiştiriciliğinde, halihazırda fazla alternatifi bulunmayan pestisitlere alternatif olma yönüyle iyi bir sonuç olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak yapılan çalışmalar göstermektedir ki bitkilerin uçucu yağ verimleri ve bu yağların bileşenleri, bitkinin yetiştiği bölgeye, yüksekliğe, toplama zamanına bağlı olarak büyük oranda değişiklikler gösterebilmektedir. Sayılan bu etkenlere bağlı olarak uçucu yağın ana bileşeni olan maddenin miktarı düşerken diğer bir maddenin miktarı artıp ana bileşen olarak görülebilmektedir. Bu durum da doğal olarak bitkinin antimikrobiyal etkisini tamamen değiştirebilmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada aynı familyaya ait beş adet bitkinin uçucu yağ verimleri, yağların bileşenleri ve bu bileşenlerin miktarları tamamen birbirinden farklı olarak bulunmuştur. Bunun sonucu olarakta antimikrobiyal etkileri birbirlerinden farklı olmuştur. En yüksek antibakteriyel etki *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağında görülürken en düşük antibakteriyel etki *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* bitkisinden elde edilen uçucu yağda görülmüştür. Bu bitkiler ile bitki patojeni bakterilere karşı yapılan çalışmaların son derece yetersiz olması nedeniyle bazı konuların açıklanması da güçleşmektedir. Bu konuların başında da uçucu yağların kimyasal bileşimlerinde tespit edilen maddelerin birbirlerini nasıl ve ne derecede etkiledikleri, bu etkilerinin antimikrobiyal etkilerine bir tesiri olup olmadığının bilinmemesidir. Ayrıca bu bitkilerdeki bileşenlerin doğada bitki bünyesinde nasıl bir yapıda olduğu ve uçucu yağ eldesi sırasında herhangi bir değişikliğe uğrayıp uğramadığının ve bu durumun bileşenlerin miktarlarına ve antimikrobiyal etkilerine bir tesiri olup olmadığının tam aydınlığa kavuşturulamamış olmasıdır.

Çalışmamız sonucunda elde edilen verilere bakıldığında *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağının bitki patojeni bakterilere karşı iyi bir antibakteriyel etkiye sahip

olduğu ve hastalık etmeni bitki bünyesine girmeden önce, yani koruyucu olarak kullanıldığında pestisitlere iyi bir alternatif olacağı görölmektedir. Ancak, tarım alanında özellikle geniş ve açık alanlarda uçucu yağların kullanımının çok zor olduğuda aşıkardır. Ülkemizde bitki patojeni bakterilere karşı ruhsatlı tedavi edici bir pestisit bulunmaması, kullanılan hazır bakırlı preparatların yalnızca koruyucu olarak kullanılması nedeniyle bu bitkinin uçucu yağının kapalı alanlarda, örtü altı yetiştiriciliğinde, seralarda, özellikle de bütün kimyasal maddelerin kullanımının yasak olduğu organik tarım yetiştiriciliğinde iyi bir alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır.

Ancak, bu uçucu yağın bir preparat haline getirilmeden önce mutlaka açık alan denemelerinin yapılp, yağın açık alanda herhangi bir değışiklik veya deformasyona uyrayıp uğramadığının, etkide bir değışiklik olup olmadığının belirlenmesi gerekmektedir. Ayrıca bu uçucu yağın tohumu uygulandığında tohumun çimlenme yüzdesine etkisinin, açık alanda bitkiye uygulandıktan sonra bitkide herhangi bir fitotoksiteye sebep olup olmadığının, bitki gelişimine, döllemeyi sağlayan böceklerle, meyve oluşumuna, meyvenin kalite, kantite ve aromasına herhangi bir etkisinin olup olmadığının belirlenmesi için çalışmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Davis P. H., R. R. Mill, Kit Tan, "Flora of Turkey and the Aegean Island", *Edinburgh University*, 10 : 549-551 (1988).
2. Güner A., N. Özhatay, T. Ekim and K. H. C. Başer "Flora of Turkey and the Aegean Island", *Edinburgh University*, 11 : 197-210 (2000).
3. Baytop T., "Türkçe Bitki Adları Sözlüğü", *Türk Dil Kurumu Yayınları*, Ankara, 578 : 20, 80, 168, 206 (1997).
4. Erler F., "Bitki Kökenli Bileşiklerin Böcek ve Akarlarla Mücadelede Kullanılma Potansiyeli Üzerinde Araştırmalar", Doktora Tezi. *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Antalya, 1-4 (2000).
5. Anonymus, "Zirai Mücadelenin Tanıtımı ve Mücadele Yöntemleri" Zirai Mücadele, Ed., Uzm H. Er, Dr.C. Zeki, *T.K.B. Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü Yaygın Çiftçi Eğitim ve Yayın Serisi* (Yayçep), Ankara, 1-2 (2005).
6. Saygılı H., "Fitobakteriyoloji", E. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bornova-İzmir, 1-8 (1995).
7. 1995/3 "İç Karantinaya Tabi Bitki Hastalık ve Zararlıları Hakkında Tebliğ", *T.K.B. Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü*, Ankara, 1-6 (1995).
8. Altundağ Ş., B. Aslım, "Kekiğin Bazı Bitki Patojeni Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Etkisi", *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3 (7):12-14 (2005).
9. Anonymus, "Zirai Mücadele Teknik Talimatları", *T.K.B. Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü*, Ankara, 2: 19-38 (1995).
10. Anonymus, "Zirai Mücadele Teknik Talimatları", *T.K.B. Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü*, Ankara, 3: 9-53 (1995).
11. Anonymus, "Türkiye'de Zirai Mücadelenin Dünü Bugünü ve Geleceği", *T.K.B. Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü*, Ankara, 1-2 (1995).
12. Bulut H., A. Tamer, O. Özmen, "Türkiye Plant Protection Report" *Republic of Türkiye Ministry of Agriculture and Rural Affairs*, Ankara, 22 (1996).
13. Benlioğlu K., M. Özakman, "Bağ Üretim Materyalinde Kök Uru *Agrobacterium tumefaciens*'in Saptanması", *Tr. J. Agric. Forestry*, Tübitak-Ankara, 22 (2): 167-174 (1998).

14. Öktem Y. E., “Kök Uru Etmeni (*Agrobacterium tumefaciens*’in (Smith and Townsend) Conn.) Topraktan İzolasyonu ve İndikatör Bitkiler Yardımıyla Teşhisi Üzerinde Çalışmalar” **Bitki Koruma Bülteni**, Ankara, 12 (3) : 185-196 (1972).
15. Smith I. M., D. G. McNamara, P. R. Scott, M. Holderness “Quarentine Pests for Europe”, **England**, 991-994 (1997).
16. Toben H, A. Mavridis and K. W. E. Rudolph, “ Basal glume rot (*P .syringae* pv. *atrofaciens*) on wheat and barley in FRG and resistance screening of wheat” **EPPO Bulletin**, 19 (1) : 119-125 (1989).
17. Fucikovsky L., E. Duveiller, “The Bacterial Diseases of Wheat” **Cimmy**, Mexico, Chapter 4: 59-64 (1997).
18. Altundağ Ş., M. Özakman, A. Karahan, “ Orta Anadolu Bölgesinde Buğday Bakteriyel Hastalıklarının Tespiti” **Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü**, Sonuç Raporu (**Proje No: BS-01/01-05-146**) (2004).
19. Demir G., N. Üstün, “Studies on Bacterial Streak Disease (*Xanthomonas campestris* pv. *translucens* (Jones et al) Dye) of wheat and other graminea”, **J. Turk Phytopath.**, 21 (1) : 33-40 (1992).
20. Akgül A., “Baharat Bilimi ve Teknolojisi”, **Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları**, Ankara, 41-47 (1993).
21. Kocabas Z. Y. and S. Karaman “Essential Oils of Lamiaceae Family from South East Mediterranean Region (Turkey)”, **Pakistan J. Bio. Sci.**, 4 (10) : 1221-1223 (2001).
22. Şarer E., S. Pançalı, S. Yıldız “*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et P.H. Davis Uçucu Yağının Bileşimi ve Antimikrobiyal Aktivitesi”, **Ankara Eczacılık Fak. Dergisi** 25 (1) : 30-38. (1996).
23. Baser K.H.C., G. Tümen, E. Sezik “The Essential Oil of *Origanum minutiflorum* O.Schwarz and P.H.Davis”. **J. Essent. oil Res.**, 3 (6) : 445-446 (1991).
24. Aligiannis N., E. Kalpoutzakis, S.Mitaku and I. B. Chinou, “Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Species”, **J. Agric. Food Chem.**, 49 (9) : 4168-4170 (2001).
25. Tabanca N., N. Kırimer, K. H. C. Baser, “The Composition of Essential Oils From Two Varieties of *Sideritis erythrantha* var. *erythrantha* and var. *cedretorum*”, **Turk. J. Chem.**, Tubitak 25 (2) : 201-208 (2001).

26. Krimer N., K.H.C. Baser, B. Demirci and H. Duman “Essential oils of *Sideritis* species of Turkey belonging to the section Empodoclia”, **Chem. Nat. Comp.** 40 (1) : 19-24 (2004).
27. Baser K. H. C., G. Tümen, N. Tabanca and F. Demirci, “Composition and Antibacterial Activity of The Essential Oils From *Satureja wiedemanniana* (Lalem.) Velen”, (Abstract), **Z. Naturforsch.**, 56 c : 731-738 (2001).
28. Demirci B., N. Tabanca, K. H. C. Başer, “Enantiomeric distribution of some monoterpenes in the essential oils of some *Salvia* species”, **Flavour Fragr. J.**, 17 (1) : 54-58 (2002).
29. Rasooli I. and S. A. Mirmostafa, “Bacterial Susceptibility to and Chemical Composition of Essential Oils from *Tymus kotschyanus* and *Tymus persicus*” **J. Agric. Food Chem.**, 51 (8) : 2200-2205 (2003).
30. Azaz A. D., H. A. Irtem., M. Kurkcuoğlu and K. H. Can Baser, “Composition and the in vitro Antimicrobial Activities of the Essential oils of some Thymus Species” **Z. Naturforsch.**, 59c : 75-80 (2004).
31. Tepe B., M. Sökmen, H. Askin Akbulat, D. Daferera, M. Polissiou and A. Sökmen, “Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*”, **J. Food Eng.**, 66 (4) : 447-454 (2005).
32. Sökmen A., M. Güllüce, H. A. Akpulat, D. Deferera, B. Tepe, M. Polissiou, M. Sökmen, F. Şahin, “The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*”, **Food Control**, 15 (8) : 627-634 (2004).
33. Güllüce M., M.Sökmen D. Daferera, G. Agar, H. Özkan, N. Kartal, M. Polissiou, A. Sökmen and F. Şahin, “In vitro Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Activities of the Essential oil and Methanol Extract of Herbal Parts and Callus Cultures of *Satureja hortensis* L”, **J. Agric. Food Chem.**, 51 (14) : 3958-3965 (2003).
34. Basim H., O. Yegen., W. Zeller, “Antibacterial Effect of Essential Oil of *Tymbra spicata* L. var. *spicata* on Some Plant Pathogenic Bacteria”, **J. Plant Dis. Protect.**, 279 (3) : 279-284 (2000).
35. Dimitra J. D., B. N. Ziogas, M. G. Polissiou, “The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*”, **Crop Protect.**, 22 (1) : 39-44 (2003).

36. Şahin F., İ. Karaman, M. Güllüce, H. Ögütçü, M. Şengül, A. Adıgüzel, S. Öztürk, R. Kotan, "Evaluation of Antimicrobial Activities of *Satureja hortensis* L." **J. Ethnopharmacol.**, 87 (1) : 61-65 (2003).
37. Şahin F., M. Güllüce, D. Daferera, A. Sökmen, M. Sökmen, M. Polissiou, G. Agar, H. Özer. "Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* spp. *vulgare* in the Eastern Anatolia Region of Turkey", **Food Control**, 15 (7) : 549-557 (2004).
38. Güllüce M., M. Sökmen, F. Şahin, A. Sökmen, A. Adıgüzel and H. Özer, "Biological activities of the essential oils and methanolic extract of *Micromeria fruticosa* (L) Druce spp. *serpyllifolia* (Bieb) PH Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey", **J. Sci. Food Agric.**, 84 (7) : 735-741 (2003).
39. Burt S. A and R. D. Reinders, "Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O 157 : H 7", **Lett. Appl. Microbiol.** 36 (3) : 162-167 (2003).
40. Altundağ Ş. arşivinden (2005-2006).
41. Gören A.C., G.Topçu, G.Bilsel, M.Bilsel, J.M.Wilkinson and H.M.A.Cavanagh "Analysis of Essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation, thermal desorber and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity", **Natural Product Research**, 18 (2) : 189-195 (2004).
42. Wilson, E. E., F. M. Zeitoun and D. L. Fredrickson, "Bacterial phloem canker, a new disease of Persian walnut trees", **Phytopathology** 57: 618-621 (1967).
43. King, E. O., M. K. Ward and D. E. Raney, "Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein", **J. Lab. Clin. Med.**, 44 : 301-307 (1954).
44. N. W. Schaad, J. B. Jones and G. H. Lacy, "Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, II Gram Negatif Bacteria, G. *Xanthomonas*", Third Edition, **The American Phytopathological Society**, St. Paul, Minnesota, 175-200 (2001).
45. Karman, M., "Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler, Denemelerin kuruluşu ve değerlendirme esasları", **T.B. Zir. Müc. Zir. Karantina Gn. Md. Yayınları**, İzmir, 116-120 (1971).
46. Azaz D., F. Demirci, F. Satıl, M. Kürküoğlu and K. H. C. Başer, "Antimicrobial Activity of Some *Satureja* Essential Oils", **Z. Naturforsch.**, 57 c : 817-821 (2002).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ALTUNDAĞ, Şenol
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 10.01.1968 Çandır
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (312) 344 59 94
 Fax : 0 (312) 315 15 31
 e-mail : senol_altundag@zmmae.gov.tr

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Ankara Üniversitesi/Bitki Koruma Bölümü	1990
Lise	Gaziçiftliği Lisesi	1985

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
1993-1995	Ankara Emniyet Müdürlüğü	G.H.İ.
1995-1996	Koruma ve Kontrol Gnl.Md.	Mühendis
1996-	Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü	Mühendis

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

- Özakman, M., A.Karahan, Ş. Altundağ “Patateslerde bakteriyel kahverengi çürüklük (*Ralstonia solanacearum*) hastalığının yaygınlığı üzerinde çalışmalar”, **VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri**, Ankara, 380-383 (1998).

2. **Altundağ Ş.**, B. Aslım “Kekiğin bazı bitki patojeni bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisi”, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3 (7), 12-14 (2005).
3. **Altundağ Ş.**, A. Karahan, M. Özakman “Avrupa Birliği adaylık sürecinde uyumlaştırılan patates kontrol direktiflerinin getirdiği yenilikler” *IV. Ulusal Patates Kongresi Bildirileri*, Niğde, 238-241 (2006).
4. Özakman, M., A. Karahan, **Ş. Altundağ** “*Ralstonia solanacearum*’un patates yumrularından tespitinde yeni bir yöntem; Real-time PCR”, *IV. Ulusal Patates Kongresi Bildirileri*, Niğde, 265-270 (2006).