

T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Birsen ÇAKMAK

BAZI AROMATİK BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN
BİYOHERBİSİT POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MUŞ-2017

T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Birsen ÇAKMAK

BAZI AROMATİK BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN
BİYOHERBİSİT POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Sedat BOZARI

MUŞ-2017

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Muş Alparslan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “Bazı Aromatik Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağların Biyoherbisit Potansiyellerinin Belirlenmesi” adlı tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi taahhüt eder, tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü arşivlerinde aşağıda belirttiğim koşullarda saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim-Öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir.
- Tezim/Raporum sadece Muş Alparslan Üniversitesi yerleşkelerinden erişime açılabilir.
- Tezimin/Raporumun yıl süreyle erişime açılmasını istemiyorum. Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir.

03/08/2017

Birsen ÇAKMAK



TEZ KABUL TUTANAĞI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yrd. Doç. Dr. Sedat BOZARI danışmanlığında Birsen ÇAKMAK tarafından hazırlanan bu çalışma 04/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Derya EFE

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Fuat YETİŞSİN

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Sedat BOZARI

İmza : 

İmza : 

İmza : 

Yukarıdaki imzalar adı geçen öğretim üyelerine aittir.

..... /...../2017

Doç. Dr. Esin KAYA

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarım sırasında hiçbir zaman desteğini, bilgisini, deneyim ve donanımını esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Sedat BOZARI'ya teşekkürü bir borç bilirim. Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ALLAHVERİ'ye ve Muş Alparslan Üniversitesi Laboratuvarları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü Yrd. Doç. Dr. Kenan BULDURUN'a şükranlarımı sunarım. Laboratuvar malzemeleri ve deneyimleri konusunda desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Derya EFE ve Doç. Dr. Özkan AKSAKAL'a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam sırasında manevi desteklerinden dolayı Yasemin BOZARI ve Arş. Gör. Şeyma ÖNLÜ'ye şükranlarımı sunarım. Bitki örneklerinin toplanmasında ve çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Havva KURT, Sıraç TOPDEMİR ve Ayşe İpek ÇİÇEK'e desteklerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan babama ve anneme maddi manevi desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÇİZELGE LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMA ve SİMGELER LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Lamiaceae (Labiata) Familyası	6
1.2. <i>Satureja hortensis</i>	7
1.3 <i>Melissa officinalis</i> L.....	8
1.4. <i>Ocimum basilicum</i> L.....	9
1.5. Esansiyal Yağlar	11
1.5.1 Monoterpenler (C ₁₀)	12
1.5.2 Sesquiterpenler (C ₁₅).....	12
1.5.3 Diterpenler (C ₂₀)	13
1.5.4 Sesterpenler (C ₂₅).....	13
1.5.5 Triterpenoidler (C ₃₀)	13
1.5.6 Karotenoidler (C ₄₀)	13
1.6. Allelopatik Etkileşim	14
2. MATERYAL ve METOT.....	16
2.1. Bitki Örneklerinin Toplanması	16
2.1.1. Kullanılan Cihazlar	16
2.1.2 Kullanılan kimyasallar	17
2.2. Metot	18
2.2.1. Uçucu yağ eldesi	18
2.2.2. GC-MS (Gaz kromatografi- kütle spektrofotometresi) analizi.....	18
2.2.3. Çimlenme deneyi	19
2.2.4. DNA izolasyonu.....	19
2.2.5. DNA İzolasyon Çözeltileri.....	20
2.2.6. RAPD' de (rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA) kullanılan çözeltiler.....	22
2.2.7. RAPD-PCR protokolü	22

2.2.8. Agaroz jel elektroforezi	24
2.2.9. RAPD tekniği ve genomik kararlılığın (GTS) belirlenmesi	24
2.2.10. SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi) tekniğinde kullanılan çözeltiler.....	25
2.3. SDS-PAGE analizi.....	29
2.3.1 Proteinlerin izolasyonu	29
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	31
3.1. Bitkilerden Elde Edilen Esansiyel Yağların İçerikleri	31
3.2. Değerlendirme.....	34
3.3. Uçucu Yağların Çimlenme Oranları Üzerine Etkisi	34
3.4. RAPD Analizleri.....	40
3.4.1. <i>Satureja hortensis</i> uçucu yağlarının uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> L.ve <i>Amaranthus retroflexus</i> örneklerinin RAPD profilleri.....	41
3.4.2. <i>Melissa officinalis</i> uçucu yağlarının uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> L.ve <i>Amaranthus retroflexus</i> örneklerinin RAPD profilleri	45
3.4.3. <i>Ocimum basilicum</i> uçucu yağlarının uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> L.ve <i>Amaranthus retroflexus</i> L. örneklerinin RAPD profilleri.....	49
3.5. Protein Analizi	56
3.5.1. <i>Satureja hortensis</i> uçucu yağlarının uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> L. ve <i>Amaranthus retroflexus</i> L. örneklerinin Protein (SDS-PAGE) profilleri.....	57
3.5.2. <i>Melissa officinalis</i> L. uçucu yağlarının uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> L. ve <i>Amaranthus retroflexus</i> L. örneklerinin Protein (SDS-PAGE) profilleri.....	59
3.5.3 <i>Ocimum basilicum</i> L. uçucu yağlarının uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> L.ve <i>Amaranthus retroflexus</i> L. örneklerinin Protein (SDS-PAGE) profilleri.....	62
4.TARTIŞMA ve SONUÇ	66
5. KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ.....	92

ÖZET

BAZI AROMATİK BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN BİYOHERBİSİT POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

Birsen ÇAKMAK

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Sedat BOZARI

2017, 93 sayfa

Lamiaceae familyasının üyelerinin çoğu endemik olup, tıbbi ve aromatik özelliklere sahip oldukları bilinmektedir. Aromatik özelliklerinden dolayı birçok alanda kullanılan bu familyanın üyelerinin son zamanlarda biyopestisit özellikleri üzerinde durulmaktadır. Bu çalışmada, söz konusu familyaya ait *Satureja hortensis*, *Melissa officinalis* ve *Ocimum basilicum* türlerinden elde edilen uçucu yağların biyopestisit potansiyelleri belirlenmeye çalışıldı. Elde edilen uçucu yağların *Hordeum vulgare* L., *Triticum aestivum* ve *Amaranthus retroflexus* tohumlarının çimlenme oranlarına etkileri, total genom üzerine neden oldukları değişimleri ve protein profillerine etkileri araştırıldı. RAPD-PCR tekniği ile genomik değişiklikler ölçülürken SDS-PAGE yöntemi ile protein profilleri belirlendi.

Satureja hortensis uçucu yağlarının uygulandığı *Hordeum vulgare* tohumlarının 0,132 µl/ml dozunda GTS oranı % 46,16 olarak ölçülürken aynı yağların *Amaranthus retroflexus* tohumlarının protein profilini %75 oranında değiştirdiği gözlemlendi. *Melissa officinalis*'in uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarında ise 0,264 µl/ml dozunda çimlenme oranlarında optimum inhibisyon tesbit edildi. En düşük GTS oranı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarında %14,82 olarak belirlendi. *Ocimum basilicum* esansiyel yağlarının uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarının kontrol örneklerinde bant sayısı 84 olarak belirlenirken bu sayı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarında 42 olarak belirlendi. En düşük GTS oranı ile (%33,34) protein profillerindeki en yüksek polimorfizm oranı (%125) *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının 0,264 µl/ml dozunda gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Biyoherbisit, *Satureja hortensis*, *Melissa officinalis*, *Ocimum basilicum*, RAPD-PCR, GTS, SDS-PAGE.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE BIOHERBICIDE POTENTIAL OF ESSENTIAL OILS OBTAINED FROM SOME AROMATIC PLANTS

Birsen ÇAKMAK

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Sedat BOZARI

2017, Page: 93

It is known that, many species of the Lamiaceae family are endemic and also have medical and aromatic properties. Recently, these aromatic species using in several areas have been researched for their biopesticidal potential. In the present study, biopesticidal potential of the essential oils obtained from *Satureja hortensis*, *Melissa officinalis* and *Ocimum basilicum* were determined. The essential oils were applied to *Hordeum vulgare* L., *Triticum aestivum* and *Amaranthus retroflexus* seedlings and seed germination ratio, alteration of total genomic DNA and total protein changes of them were examined. While genomic alterations were determined with RAPD-PCR, the total protein profiles were revealed with SDS-PAGE technique.

It was observed that, the essential oils of *Satureja hortensis* have change the GTS value of *Hordeum vulgare* as 46,16 % and the protein profile of *Amaranthus retroflexus* as 75% at 0,132 µl/ml dose of oils. The optimum inhibition rate of the seed germination of the *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. and *Amaranthus retroflexus* L. was observed at the 0,264 µl/ml dose of the applied *Melisa offisinalis* oils. The lowest GTS value was found as 14.82% in *Amaranthus retroflexus* L. seedlings. The number of the bands of *Triticum aestivum* was 84 at the control and the *Amaranthus retroflexus* L. were 42 with the applying of the *Ocimum basilicum* oils. The highest rate of polymorphism (125%) in protein profiles and the lowest GTS ratio (33.34%) was observed at 0,264 µL / mL of *Amaranthus retroflexus* L. seeds treated with *Ocimum basilicum* oils.

Keywords: Bioherbicide, *Satureja hortensis*, *Melisa offisinalis*, *Osimum basilicum*, RAPD-PCR, GTS, SDS-PAGE.

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 2.1: Kullanılan cihazlar	16
Çizelge 2.2: Çalışmada kullanılan kimyasallar	17
Çizelge 2.3: RAPD-PCR’da kullanılan primerler ve DNA sekans bilgileri.....	23
Çizelge 3.1: GC-MS yöntemiyle <i>Satureja hortensis</i> bitkisinden elde edilen uçucu yağların içerik analizleri	31
Çizelge 3.2: GC-MS yöntemiyle <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinden elde edilen uçucu yağların içerik analizleri.....	32
Çizelge 3.3: GC-MS yöntemiyle <i>Ocimum basilicum</i> L. bitkisinden elde edilen uçucu yağların içerik analizleri.....	33
Çizelge 3.4: <i>Satureja hortensis</i> bitkisinden elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> L. ve <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarının kök ve gövde uzunlukları	35
Çizelge 3.5: <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinden elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> L. ve <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarının kök ve gövde uzunlukları.....	37
Çizelge 3.6: <i>Ocimum basilicum</i> L. bitkisinden elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> L. ve <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarının kök ve gövde uzunlukları.....	39
Çizelge 3.7: <i>Satureja hortensis</i> ’ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> tohumlarının RAPD profilleri	42
Çizelge 3.8: <i>S. hortensis</i> ’ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Hordeum vulgare</i> L. tohumlarının RAPD profilleri.....	43
Çizelge 3.9: <i>Satureja hortensis</i> ’ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarının RAPD profilleri.....	44
Çizelge 3.10: <i>M. officinalis</i> ’ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> , tohumlarının RAPD profilleri.....	45
Çizelge 3.11: <i>M. officinalis</i> ’ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Hordeum vulgare</i> L. tohumlarının RAPD profilleri	46
Çizelge 3.12: <i>M. officinalis</i> ’ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarının RAPD profilleri.....	48
Çizelge 3.13: <i>Ocimum basilicum</i> L. elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> tohumlarının RAPD profilleri	50
Çizelge 3.14: <i>Ocimum basilicum</i> L. elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Hordeum vulgare</i> L. tohumlarının RAPD profilleri	52
Çizelge 3.15: <i>Ocimum basilicum</i> L. elde edilen uçucu yağların uygulandığı <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarının RAPD profilleri.....	55
Çizelge 3.16: <i>Satureja hortensis</i> uçucu yağlarının <i>Hordeum vulgare</i> L. tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri.....	57
Çizelge 3.17: <i>Satureja hortensis</i> uçucu yağlarının <i>Triticum aestivum</i> tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri.....	58
Çizelge 3.18: <i>Satureja hortensis</i> uçucu yağlarının <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri.....	58
Çizelge 3.19: <i>Melissa officinalis</i> L. uçucu yağlarının <i>Hordeum vulgare</i> L. tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri.....	59
Çizelge 3.20: <i>Melissa officinalis</i> L. uçucu yağlarının <i>Triticum aestivum</i> tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri.....	60

Çizelge 3.21: <i>Melissa officinalis</i> L. uçucu yağlarının <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri	62
Çizelge 3.22: <i>Ocimum basilicum</i> L. uçucu yağlarının <i>Hordeum vulgare</i> L.tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri.....	64
Çizelge 3.23: <i>Ocimum basilicum</i> L. uçucu yağlarının <i>Triticum aestivum</i> tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri.....	64
Çizelge 3.24: <i>Ocimum basilicum</i> L. uçucu yağlarının <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri	65



ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.1:** Kullanılan bitkiler (A: *Ocimum basilicum* L., B: *Satureja hortensis* ve C: *Melissa officinalis* L. wikipedia'dan).....10
- Şekil 1.2:** Esansiyel yağlarda bulunan bazı majör bileşiklerin yapısı (UPL 3; UPL 4, 2017)..... 12
- Şekil 3.1:** *Satureja hortensis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Triticum aestivum* tohumları üzerine etkileri 36
- Şekil 3.2:** *Satureja hortensis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Hordeum vulgare* L.tohumları üzerine etkileri 36
- Şekil 3.3 :** *Satureja hortensis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Amaranthus retroflexus* tohumları üzerine etkileri..... 36
- Şekil 3.4:** *Melissa officinalis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Triticum aestivum* tohumları üzerine etkileri 38
- Şekil 3.5:** *Melissa officinalis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Hordeum vulgare* L.tohumları üzerine etkileri 38
- Şekil 3.6:** *Melissa officinalis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Amaranthus retroflexus* tohumları üzerine etkileri..... 38
- Şekil 3.7:** *Ocimum basilicum* L. elde edilen uçucu yağların çimlenen *Triticum aestivum* tohumları üzerine etkileri 40
- Şekil 3.8:** *Ocimum basilicum* L. elde edilen uçucu yağların çimlenen *Hordeum vulgare* L. tohumları üzerine etkileri 40
- Şekil 3. 9:** *Satureja hortensis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1 primerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç) 42
- Şekil 3.10:** *Satureja hortensis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarından izole edilen DNA Örneklerinin P-1, P-2, P-3, P-4, P-5 ve P-6 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç)..... 43
- Şekil 3.11:** *Satureja hortensis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarından izole edilen dna örneklerinin P-1, P-2 ve P-3 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç)..... 45
- Şekil 3.12:** *Melissa officinalis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç) 46
- Şekil 3.13:** *Melissa officinalis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1, P-2, P-3, P-4, P-5 ve P-6 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç) 47
- Şekil 3.14:** *Melissa officinalis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-7 ve P-8 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç)..... 49

Şekil 3.15: <i>Ocimum basilicum</i> L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P 13, P-12, P-14, P-15, P-16, P-17 primerlere karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer)	51
Şekil 3.16: <i>Ocimum basilicum</i> L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Triticum aestivum</i> tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-18 ve P-19 primerlere karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P= Primer)	51
Şekil 3.17: <i>Ocimum basilicum</i> L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Hordeum vulgare</i> L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1, P-2, P-3, P-9, P10, P-4 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç)	53
Şekil 3.18: <i>Ocimum basilicum</i> L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Hordeum vulgare</i> L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-11, P-8 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç).....	53
Şekil 3.19: <i>Ocimum basilicum</i> L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1, P-2, P-3, P-9, P10, P-4primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç)	56
Şekil 3.20: <i>Ocimum basilicum</i> L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-11 ve P-8 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=Primer, A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç).....	56
Şekil 3.21: <i>Satureja hortensis</i> 'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Hordeum vulgare</i> L. ve <i>Triticum aestivum</i> tohumlarından izole edilen protein örnekleri K1 ile başlayan <i>Hordeum vulgare</i> L. dozları (K1= Kontrol A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç) K2 ile başlayan ise <i>Triticum aestivum</i> ,. dozları (K2= Kontrol A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç).....	58
Şekil 3.22: <i>Satureja hortensis</i> 'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarından izole edilen protein örnekleri K3 ile başlayan <i>Hordeum vulgare</i> L. dozları (K3= Kontrol A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç).....	59
Şekil 3.23: <i>Melissa officinalis</i> 'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı arpa ve buğday tohumlarından elde edilen protein örnekleri K1 ile başlayan arpanın dozları (K1= Kontrol A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç) K2 ile başlayan ise buğdayın dozları (K2= Kontrol A= 1.Doç, B= 2. Doç, C= 3. Doç, D=4. Doç)	60
Şekil 3.24: <i>Melissa officinalis</i> 'den elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Amaranthus retroflexus</i> L . tohumlarından elde edilen protein örnekleri K3 ile başlayan <i>Amaranthus retroflexus</i> L dozları (K3= Kontrol A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç)	62
Şekil 3.25: <i>Ocimum basilicum</i> 'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı arpa ve buğday tohumlarından elde edilen protein örnekleri K1 ile başlayan arpanın dozları (K1= Kontrol A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç) K2 ile başlayan ise buğdayın dozları (K2= Kontrol A= 1.Doç, B= 2. Doç, C= 3. Doç, D=4. Doç)	64
Şekil 3.26: <i>Ocimum basilicum</i> ' dan elde edilen esansiyel yağların uygulandığı <i>Amaranthus retroflexus</i> L. tohumlarından elde edilen protein örnekleri K3 ile başlayan <i>Amaranthus retroflexus</i> L .dozları (K3= Kontrol A= 1.Doç, B=2. Doç, C=3. Doç, D=4. Doç)	65

KISALTMA ve SİMGELER LİSTESİ

GC-MS	: Gaz koromotografisi - Kütle Spektrometresi
ssp	: Subspecies
NaCl	: Sodyum klorür
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
CTAB	: Setil trimetil amonyum bromit
Na₂S₂O₅	: Sodyum metabisülfüt
RAPD	: Rastgele artırılmış polimorfik DNA
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
TBE	: Tris Borik asit EDTA
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
MgCl₂	: Magnezyum klorür
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SDS-PAGE	: Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi
TCA	: Trikloroasetik asit
BME	: Beta merkaptetanol
M	: Molar
V	: Volt
µL	: Mikrolitre
°C	: Santigrat derece
mg	: Miligram
mM	: Milimolar
dk	: Dakika
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
pmol	: Pikomol
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
gr	: Gram
ng	: Nanogram

1. GİRİŞ

Atmosferde canlı ve cansız tüm varlıklar birbirleri ile ilişki içerisinde. Yeryüzünde canlı varlıkların tümü biyosfer tabakasının üzerinde yaşamaktadır. Bu biokütlenin çoğunluğunu üreticiler yani yeşil bitkiler oluşturmaktadır. Bitkiler, farklı amaçlarla kullanılmakta olup çoğunlukla besin kaynağı ya da çeşitli canlılar için barınak olarak kullanılmaktadır (Bozari, 2012). İnsanoğlunun var oluşundan beri kullanılan bitkilerin diğer bir kullanım alanı ise tedavi amaçlı olup bu canlılardan özellikle alternatif tıpta başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Yıldırım, 2014). Taşıdıkları farklı metabolitler ve bu metabolitlerin aktivitelerinden dolayı tıbbi ve aromatik bitkiler binlerce yıldır kullanılmaktadır ve önemleri her geçen gün artmaktadır. Bu metabolitlerin günümüzde tıpta, eczacılıkta, kozmetikte, parfümeride, bitkisel yağ, boya, pestisit ve insektisit elde edilmesi (Oskay, 2009) gibi birçok alanda da kullanıldığı bilinmektedir.

Bitkiler, diğer birçok canlının aksine hareket etme özelliğine sahip değildir. Hareket edemediklerinden dolayı farklı savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Diken, kütikül, yakıcı tüyler ve sekonder metabolitler gibi yapılar, eksternal ajanlara karşı bitkilerin temel savunma elemanlarıdır (Mammadov, 2014). Bunlardan sekonder metabolitler, bitkinin savunmasında önemli rol oynamaktadır. Salgılanan metabolitlerin bir kısmı, özellikle kokularından dolayı çevredeki çeşitli böceklerin ilgisini çekerek tozlaşmayı da kolaylaştırmaktadır.

Sekonder metabolitler, bitkilerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Mikroorganizmalara karşı savunma, kuraklık, tuzluluk ve ultraviyole ışınları gibi çevresel etkilere karşı metabolitler, dirençliliği sağlamaktadır (Mammadova, 2014). Alkaloidler, terpenler ve fenolik bileşikler bu metabolitlerin başlıcalarını oluşturmaktadır. Azot bakımından zengin bu bileşikler bitkide depo edilip gerek bitkinin azot ihtiyacını karşılamakta gerek savunma mekanizmasında kullanılmaktadır (Bozari, 2012). Bu metabolitlerden uçucu yağlar; bitkilerin çiçek, tohum ve yaprak gibi kısımlarında bulunup çeşitli yöntemlerle elde edilmektedir. Elde edilen bu bileşenlerin antibakteriyal (Cerit, 2008) özellikten, antioksidan (Alan, 2016) etkiye, allelopatik etkiden (Karaaltın, 2004; Erbaş, 2011), antiinflamatuar (Özbek, 2007), antitumör (Erdoğan 2014) etkiye kadar birçok organizma üzerine etkilerinin olduğu bilinmektedir (Bakkali vd., 2008).

Besin ihtiyacımızın büyük bir kısmını oluşturan ve tarımda kullanılan kültür bitkilerinden arpa, buğday, çeltik, soya, pamuk vb. bitkileri yabancı otlar, pradetör ve hastalıklar etkilemektedir (Uysal, 2012). Bu durum birim alandan elde edilecek hasat miktarını ve dolayısıyla üreticiyi olumsuz etkilemektedir. Bundan dolayı üreticiler daha fazla verim elde etmek amacıyla pestisitlere yönelmektedir. Kullanmakta olduğumuz bu kimyasallar ağır metal içermektedir. İçerdikleri maddeler doğada, yeraltı sularında, toprakta, havada ve yiyeceklerde birikmektedir. Bu durum doğanın dengesinde aksaklıklara ve hasarlara neden olmaktadır. Örneğin; Girişlioğlu (2010)'nun gebe sıçanlar üzerinde yaptığı araştırmada glifosat herbisitinin etkileri araştırılmış ve bu kimyasalların canlıların karaciğer ve böbreklerinde hasara neden olduğu, dokularda birikimlere ve doza bağlı olarak ölümlere neden olduğu tespit edilmiştir. Bazı pestisitlerin kanserojen olduğu ve sinir sistemi üzerine etkileri fark edildiğinde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından pestisit kullanımı kontrol altına alınmıştır (Altıkat, 2009). Pestisitlerin neden olduğu kalıcı hasarlardan dolayı, doğal bileşenlerin önemi artmıştır. Örneğin gelişmiş ülkelerde organik tarıma rağbet artmıştır. Organik tarımda amaç, insan ve çevre sağlığı üzerine olan zararı en aza indirmek ve insan sağlığına zararlı olan pestisitlerin kullanımını engellemektir.

Bitki sekonder metabolitleri sentetik kimyasallar gibi organizmada birikmez metabolik yollarla kolaylıkla yıkılabilir özelliğe sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı sentetik kimyasallar yerine kullanımları gündemdedir. Bitkilerden elde edilen farklı ekstraktların ve uçucu yağların yüksek biyolojik aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir. Bu bileşenlerin antiviral (Allahverdiyev vd., 2004), insektisidal (Pavela, 2005), larvasidal (Koliopoulos vd., 2010) olduğu ve oksidatif mutajeniteyi engelledikleri (Ramos vd., 2003) tespit edilmiştir. Başta Lamiaceae familyası olmak üzere birçok bitki familyası bu bileşenlere sahiptir.

Lamiaceae familyası Dünya'da yaklaşık 3200 tür ve 200 cins ile yayılış göstermektedir (Bozari, 2017). Türkiye'de 45 cinsi, 574 türe sahip olan 3 büyük ailedendir. Türlerin 256'sı endemiktir (Kahraman, 2010; Büyükkartal, 2011). Familya üyeleri genelde Akdeniz iklimi ve tropik iklimde yayılım gösterirler. Bu familyadaki *Salvia*, *Origanum*, *Ocimum*, *Menta*, *Satureja*, *Nepeta*, *Lavandula*, *Melisa*, *Calamintha*,

Sideritis ve *Ajuga* gibi cinsler biyolojik aktiviteye sahip uçucu yağlar yönünden zengin bitkilerdir. Örneğin; *Origanum* ile yapılan çalışmalarda elde edilen uçucu yağların *in vitro* koşullarda kültür ve yabancı tohumlara uygulandığında biyo-herbisidal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Cünelioğlu, 2016). Bir başka çalışmada *Origanum*'dan elde edilen bitki bileşenlerinin cilt bakım ürünlerinde kullanımıyla anti-inflamatuar ve antikanser aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Han, 2017). Öte yandan Öçalan (2015) yaptığı çalışmada bitki yaprakları verilerek damızlık sülünlerin yumurta verimini ve kalitesini olumlu yönde etkilediğini saptamıştır. Bu familya ile ilgili yapılan çalışmalarda antibakteriyal, antifungal, antioksidan (Erenler, 2017) tohum çimlenmesine, büyüme ve gelişimine allelopatik etkilerinin olduğu belirlemiştir (Cünelioğlu, 2016).

Bayram (2001) farklı lokasyonlardan topladığı *Salvia fruticosa* Mill. ile yaptığı çalışmada uçucu yağ verimini araştırmış ve bu oranların seleksiyona bağlı olarak değiştiğini belirlemiştir. Öte yandan Elçin (2009) *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* cinslerinden elde edilen uçucu yağ ve bitki özütlerinin antioksidan özelliğinin olduğunu gözlemlemiştir. *Salvia cryptantha* ve *Salvia pomifera* ile yapılan çalışmada elde edilen uçucu yağ ve ekstraların antibakteriyal, antifungal ve antitüberküloz aktivite gösterdiği saptanmıştır (Kızılkıçlı, 2007). Kara (2014) *Salvia officinalis* L ve *Rosmarinus officinalis* L. eksterlerini; patates böceği olan *Leptinotarsa decemlineata* Say. mücadelesinde kullanmış patates böceklerinin 4. dönem larvalarında yüksek oranda toksik etki gösterdiğini belirlemiştir.

İnanç (2013) *Ocimum* cinsi ile yaptığı araştırmada fesleğen, lavanta, nane, limon çimeni, sedir ve kafur gibi bir çok bitki ekstralarından faydalanmıştır. Bu ekstraların insekdisal etkisini incelemiş ve ideal dozda insekdisal ajan olduklarını belirlemiştir. Akinmoladun vd., (2007) *Ocimum gratissimum* türünün yapraklarından elde ettikleri ekstranın iyi bir antioksidan olduğunu belirlemişlerdir. Bir başka çalışmada *Ocimum basilicum* türünden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Uygulamalar sonucunda antimikrobiyal, antioksidan aktivitesinin olduğu mevsim değişikliğine bağlı olarak sonuçların değiştiğini saptamışlardır (Hussain vd., 2008).

Brahmi vd., (2016) *Menta* ekstreleri ile yaptıkları çalışmada, insan ve farelerin monosiklik hücreleri üzerinde inceleme yapmışlardır. Apoptoz ve otofaj üzerindeki etkilerinin olumlu olduğunu saptamışlardır. Kumar (2011) *Menta* uçucu yağlarının çeşitli bitki zararlılarını larva döneminde öldürdüğünü, yetişkin dönemlerde ise kovucu etkisi olduğunu belirlemiştir. *Mentha pulegium*'nin antioksidan etkisinin karaciğer hasarında histopatolojik etkileri araştırılmıştır. Antioksidan etkiye sahip olan *Mentha pulegium*'nin doza bağlı olarak hasardan koruyabileceği gözlemlenmiştir (Osman, 2017). Öte yandan Ali (2017) *Mentha spicata*'nın su eksterlerinin yüksek dozlarda albino farelerin karaciğer doku yapısına ve fonksiyonları üzerinde yan etkilerinin olduğunu belirlemiştir.

Çalışkan (2006) *Nepeta cataria* ile *Elaeagnus angustifolia* türlerinden ekstre elde ederek antioksidan özelliklerini karşılaştırmada bulunmuştur. *Nepeta cataria* türünün antioksidan özelliğinin daha yüksek olduğunu saptamıştır. Bir diğer çalışmada ise *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* türünün esansiyel yağı beş farklı bitkiye uygulanmıştır. Bu çalışma sonucunda esansiyel yağın bitkiler üzerinde iyi bir herbisidal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Bozok vd., 2017). Kaewprom (2017) hayvanlarda solunum sendromu ve üreme yetmezliğine karşı *Thymus vulgaris* ile *Nepeta cataria* ekstrelerini uygulamıştır. Ekstrelerin antiviral etkiyi sahip olduğu belirlenmiştir.

Lavandula cinsinin türleri ile yapılan çalışmalarda, Topçu (2008) *Lavandula stoechas* türünün uçucu yağlarını elde etmiş farelere ilaçlarla birlikte vererek etkilerini gözlemlemiştir. Doza bağlı olarak farelerde koma, nöbet geçirme ve ölüm ile sonuçlandığını belirtilmiştir. Benbelaid (2012) *Lavandula multifida* L. türünün uçucu yağını gram pozitif ve gram negatif bakterilere farklı dozlarda uygulamıştır. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* gibi suşlarda etkili olduğunu belirlemiştir. Turgut (2017) *Lavandula angustifolia* türünden elde ettiği ekstrelerin içerik analizini HPLC ve GC-MS ile yapmıştır. Bu türden elde edilen uçucu yağ ise kozmetikte en sık görülen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivitesi olduğunu belirlemiştir. Sonuçta kozmetik ürünlerinde koruyucu madde olarak kullanılabileceğini ileri sürmüştür.

Calamintha cinsi ile yapılan çalışmalarda, *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* (REQ.) P. W. Ball türünün antibakteriyal, antifungal ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda ekstrelerin bütün parametrelerde aktivite gösterdiği en iyi aktivitenin ise antioksidan olduğu belirtilmiştir (Karaarslan, 2010). Dobravalskyte (2012) *Calamintha grandiflora* L.' dan elde ettiği uçucu yağları GC-MS ile analiz etmiştir. Türde, rosmarinic ve salvianolik C asitleri antioksidan etken madde olarak olarak tespit edilmiştir.

Öte yandan Kuria (2001) *Ajuga remota* ve *Caesalpinia volkensii* bitkilerinden elde ettiği ekstrelerin antimalaria etkilerini araştırmıştır. Sıtmaya neden olan sivrisineklerde konsantrasyona bağlı olarak inhibisyona neden olduğunu saptamıştır. Nordos vd., (2017) *Ajuga remota* türünden elde ettiği eksternin parazitlere karşı doza bağlı olarak inhibisyon etkisi gösterdiğini tespit etmiştir. Haşima (2012) *Ajuga vestita* ve *Ajuga xylorrhiza* türlerinden elde ettiği ekstrelerin biyolojik aktivasyonlarını araştırmıştır. Ekstrelerin mutajenik ve antimutajenik etkilerini gözlemiştir. Çalışmada ekstrelerin mutajenik etki göstermediğini bunun aksine mutajenlere karşı antimutajenik etki gösterdiğini saptamıştır.

Sideritis cinsi anti-inflamatuar, antiülseratif, antimikrobiyal ve antioksidan gibi birçok alanda (Burgos, 2011) kullanılmaktadır. Hernandez-Perez (2002) *Sideritis canariensis* var. *pannosa* türünden farklı ekstreler elde etmiştir. Bu ekstrelerin antimikrobiyal, çeşitli hayvanlarda anti-inflamatuar ve analjezik etkilerini araştırmıştır. Araştırmalar sonucunda mevcut bakterilere etki etmediğini fakat iyi bir anti-inflamatuar ve analjezik etki gösterdiğini gözlemiştir. Ayrıca, *Sideritis foetens* türünün özütü iltihaplı sıçanlara belli dozlarda verilmiştir ve sıçanlarda anti-inflamatuar aktivite gösterdiğini gözlemiştir (Navarro, 2001).

Lamiaceae familyasına ait birçok türün yüksek oranda biyolojik aktivite gösterdiği bilinmektedir. Bu tezde de söz konusu familyaya ait *Melissa officinalis* L., *Satureja hortensis* ve *Ocimum basilicum* L.'den elde edilen uçucu yağların biyoherbisit olarak kullanılabilme potansiyelleri araştırılmıştır. Elde edilen uçucu yağların çimlendirilen *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L.ve *Amaranthus retroflexus*

tohumları üzerine muhtemel genotoksik etkileri ile çimlenme oranlarındaki değişimler incelenmiştir. Ayrıca uçucu yağların aynı türlerin fenotiplerine etkilerini belirlemek için uygulama örneklerinin protein profilleri belirlenmiştir. Bu bağlamda çalışmada genomik stabilite RAPD tekniği ile biyokimyasal farklılıklar ise SDS-PAGE analizi yapılarak elde edilmiştir.

1.1. Lamiaceae (Labiata) Familyası

Bu familya ilk kez De Jussieu tarafından 1789 yılında Labiatea olarak isimlendirilmiş olup tek yıllık otsu veya odunsu yapıları vardır. Lamiaceae familyası aynı zamanda ballıbabagiller ve dudaklılar olarak da bilinir. Lamiaceae familyası Türkiye'nin en zengin üç bitki familyasından biridir (Kahraman, 2009; Koyuncu, 2010; Çuhaoğlu, 2011; Bozarı, 2012). Bu familya hemen hemen her iklimde ve yükseltide yetişmektedir. Lamiaceae familyası monoterpen, diterpen ve sesquiterpenler açısından zengin aromatik metabolitler taşıyan bir familyadır (Bozarı vd., 2013). Bitkilerin yapraklarında uçucu yağ salgılayan salgı keseleri vardır. Bundan dolayı çevreye hoş koku yaymakla beraber kendilerini zararlı predadörlere karşıda savunmuş olurlar. Kokularının cezb edici olması nedeniyle bu bitkilerin esansiyel yağları parfüm, sabun ve deterjan sanayisinde kullanılmaktadır. Aynı zamanda alternatif tıpta, eczacılıkta ve tıpta kullanılmaktadır. Lamiaceae familyasındaki bitkilerin bazıları çay, baharat ve sos olarak da tüketilmektedir.

Lamiaceae familyasının sistematığı aşağıdaki gibidir.

Alem :	Plantae
Bölüm :	Magnoliophyta
Sınıf :	Magnoliopsida
Altsınıf :	Asteridae
Takım :	Lamiales
Familya :	Lamiaceae (Labiata)

1.2. *Satureja hortensis*

Lamiaceae familyasının üyesi olan birçok ilimizde bulunan yöresel olarak Sater de denilen *Satureja hortensis* tek yıllık, gelişmiş yan dallara sahip ve 30–35 cm kadar boylanabilen bir bitkidir (Katar vd., 2011). Bodur, çalimsı ve yanlara doğru yayılmış şekildedir. Daha çok taşlık, bozkır ve yamaç yerlerde yetişir. Çiçekleri küçük olup mor, beyaz ve pembe renktedir (Dinç, 2014). Tüylü küçük yapraklı ve hoş kokuludur. Ülkemizde Doğu Akdeniz, Güney Anadolu, Orta Anadolu ve Kuzey Anadolu’da yayılış göstermektedir (Çakmak, 2012). Temmuz sonunda başlayan çiçeklenme eylül sonuna kadar devam etmektedir. Halk arasında ‘kekik’ ‘geyik otu’ ‘zarten’ ‘anık’ olarak da bilinir.

Satureja hortensis bitkisinden elde edilen droglar gaz söktürücü, terletici, iştah açıcı, idrar artırıcı, uyarıcı ve cinsel gücü artırıcı özelliklere sahiptir (Katar vd., 2011). Türün aynı zamanda antimikrobiyal (Güllüce vd., 2003; Şahin vd., 2003), antiinflamatuvar (Hajhashemi vd., 2002) ve antifungal olduğu da bilinmektedir. Literatürde bu bilgileri destekleyen birçok çalışma mevcuttur.

Aslan vd., (2004) çalışmalarında *Tetranych usurticae* Koch ve *Bemisia tabaci* Genn. olarak bilinen böceklere karşı *Satureja hortensis*’den elde edilen uçucu yağların bu böceklere karşı biyoherbisit olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Türden elde edilen uçucu yağların muhtemel insektisidal potansiyelinin *Tribolium castaneum* üzerinde denendiği bir çalışmada ise uçucu yağların artan dozuyla beraber vitalitenin düştüğü tespit edilmiştir (Maede vd., 2013). Türün mısır tohumları üzerine toksik etki gösterdiği, kök ve gövde gelişimini engellediği bilinmektedir (Bozarı 2012).

Alan vd., (2016)’da yaptığı araştırmada *Satureja hortensis*’in uçucu yağı, saf su, metanol, hegzan ve kloroform ekstraktlarının mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri oyuk agar difüzyon metodu ile değerlendirilmiştir. En iyi aktivite uçucu yağda *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923’e karşı belirlenmiştir. Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri ferrik tiyosiyanat yöntemine göre ölçülmüş bu yöntemde referans antioksidan bileşikler olarak bütillenmiş hidroksianisol

(BHA), butilhidroksitoluen (BHT) ve α -tokoferol kullanılmış ve BHA'da en iyi antioksidan özelliğinin olduğu belirlenmiştir.

1.3 *Melissa officinalis* L.

Ülkemizde bol miktarda bulunan oğul otu olarak isimlendirilen *Melissa officinalis* çok senelik otsu bir bitkidir (Sağlam, 2005). Akdeniz ikliminde ve yakın iklimlerde yetişmektedir. Ekonomik öneminden dolayı Almanya, Fransa, İtalya, Bulgaristan, Romanya ve Kuzey Amerika ülkelerinde tarımı yapılmaktadır (Sarı, 2001). Türkiye'de *Melissa* cinsinin üç alttürü (ssp. *officinalis*, ssp. *altissima* ssp. ve *inodora*) vardır ve bunların içinden tıbbi öneme sahip olan *Melissa officinalis*' tir (Yıldırım, 2014; Katar, 2008).

Queiroz vd., (2014)'nin yaptığı çalışmada büyük bir kısmı sitral denilen içerikten oluşan *Melissa officinalis* uçucu yağlarının malignat beyin tümörü olan glioblasto mamultiforme (GBM) üzerine olumlu etki gösterdiği bu hücrelerde apoptozisi düşürdüğü vurgulanmıştır.

Pereira vd., (2014) yapmış olduğu çalışma ile *Melissa officinalis* 'den elde edilen etil asetat fraksiyonlarının Alzheimer hastalığı için çare olabileceği fikrini desteklemiştir. Elde edilen ekstrelerin asetil kolin inhibitörü olabilecekleri tespit edilmiştir.

Bir başka çalışmada da içinde *Melissa officinalis*'in de bulunduğu Lamiaceae familyasına ait bazı türlerin içerdiği fenolik içeriklerin kuvvetli antioksidan oldukları ve aynı zamanda toksik etkiye neden oldukları vurgulanmıştır. Toksik olmalarının nedeni ise içerdikleri uçucu yağ bileşimine bağlanmıştır (Skotti vd., 2014).

Saatchi vd., (2014)'de yaptığı çalışmada *Melissa officinalis* L., *Alhagi maurorum* ve *Trachyspermum copticum* türlerinden elde edilen özütlerle gıdalarda bulunan bazı mantar ve bakterilerin gelişiminin engellendiği ve gıda ürünlerinde raf ömrünü uzatıcı olarak kullanılabilceği vurgulanmıştır. Bir diğer çalışmada ise *Melissa officinalis* 'in su ekstralarının altı farklı (*Amaranthus caudatus* L., *Lepidium sativum* L.,

Digiaria sanguinalis L., *Phleum pratense* L., *Lactuca sativa* L. ve *Lolium multiflorum* Lain.) yabancı ot üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (Kato vd., 2001).

Kamdem vd., (2013) araştırmalarında insan lökosit hücreleri üzerine *Melissa officinalis*'den elde edilen ekstrelerin sitotoksik, genotoksik ve olası antioksidan etkilerini araştırmıştır. Sonuç olarak iyi bir antioksidan olduğu bildirilmiştir. Öte yandan Emamghoreishi ve Talebianpour (2009)'da İran'da yaptıkları çalışmada *Melissa officinalis* türünden elde edilen su ekstreleri ile esansiyel yağların imipramine denilen antidepresan ilaca benzer antidepresif aktivite gösterdiğini tespit etmiştir.

Gitsopoulus vd., (2013) çalışmaslarında *Melissa officinalis* ve *Satureja hortensis* bitkilerinin *Lolium rigidum* L. ve *Phalaris brachystachys* türlerinin kök ve gövde büyümesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Ancak mevcut çalışmada etkinin genotoksik veya biyokimyasal olup olmadığıyla ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

1.4. *Ocimum basilicum* L.

Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) tek yıllık hoş kokulu, kendisine has aroması olan ilaç ve baharat sanayisinde kullanılan bitkilerdendir. İran, Güney Asya ve özellikle Hindistan kökenli olan reyhan bitkisi Akdeniz iklimi ve sıcak iklime sahip yerlerde doğal yetiştiği gibi daha çok Fransa, İtalya ve İspanya'da kültürü yapılmaktadır. Taze reyhan Akdeniz mutfağında salatalarda, sebzelerde, çorbalarda, deniz ürünlerinde ve et yemeklerinde kullanılmaktadır (Özcan vd., 2002; Ekren, 2009).

Ocimum basilicum L. bitkisinden elde edilen uçucu yağ, tıpta mide rahatsızlıklarında yatıştırıcı, idrar söktürücü, gaz söktürücü, idrar yolları antiseptiği, ağrı dindirici, balgam söktürücü, solucan düşürücü, sakinleştirici ve öksürük kesici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ağız ve diş şikâyetlerinde, ishal ve kronik dizanteride, solunumla ilgili rahatsızlıklarda ve mantar hastalıklarında tedavi edici olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (Özbek, 2007). Bu bitkinin burun kanamasını kesici olarak kullanıldığı, kabızlığı önlediği, yorgunluk ve uykusuzluğa iyi geldiği, sürmenajda, sarada, migrende, felçte, aybaşı azlığında, solunum yolları hastalıklarında kullanıldığı belirtilmiştir (Moghaddam, 2010).

Moraes vd., (2002) *Ocimum selloi* fesleğen türünde uçucu yağ oranı ve bileşenlerini araştırmışlardır. Çiçekte uçucu yağ oranını % 0.6, yaprakta iki farklı dönemdeki uçucu yağ oranını % 0.25 (Temmuz 2000) ve % 0.20 (Ocak 2001) olarak bulmuşlardır. Uçucu yağın temel bileşenleri olarak trans-anetol ve metil kavikol kaydedilmiş ve sırasıyla bu bileşenlerin oranları %41.34-58.59 ve %25.15-29.96 arasında değişim gösterdiğini bildirilmiştir.

Turan (2005)'de yaptığı çalışmada *Ocimum basilicum* L.'den elde ettiği ekstreden polifenoloksidazın karakterizasyonu yapmıştır. Ekstrakt amonyum sülfat ile çöktürülmüş, diyaliz ve Sepharose 4B-L-tirozin-p-aminobenzoik asit afinite kolonu ile saflaştırılmıştır. Elde edilen saf enzim SDS-PAGE analizi yapılarak değerlendirilmiştir.

Özkan 2004'de yaptığı çalışmada, farklı reyhan (*Ocimum basilicum* L.) popülasyonlarının veriminin ve uçucu yağ oranlarının belirlenmesini amaçlamıştır. Materyal olarak 3 Fransız 18 tane de Türkiye orijinli toplam 21 farklı reyhan popülasyonu kullanmıştır. Çalışmasında bitki boyu, verimi ve uçucu yağ özelliklerini incelemiş ve reyhan bitkisinin tıbbi bitkiler içerisinde yer alacağını belirtmiştir.

Moghaddam (2010) yaptığı çalışmada *Ocimum basilicum* L.'de bitki sıklığı ve azotun etkisi, verim öğeleri, esansiyel yağ oranı ve bileşenleri üzerine etkilerini belirlemeyi amaçlamıştır. Bitki sıklığı derecesi ve azot dozunun yaprak oranı üzerinde etkilerinin olduğunu belirlemiştir. Yaptığı araştırmada uçucu yağ bileşenleri analiz sonuçlarını 2007-2008 yıllarına göre karşılaştırmıştır. 2007'de ana bileşenler olarak linalol, naftalin, ökaliptol ve gemakren-D iken 2008'de ise linalol, δ -kadinen, ökaliptol, α - bergamoten ve gemakren-D olarak belirlemiştir. Ana bileşenlerde farklılıkların olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 1.1: Kullanılan bitkiler (A: *Ocimum basilicum* L., B: *Satureja hortensis* ve C: *Melissa officinalis* L. wikipedia'dan)

1.5. Esansiyel Yağlar

Esansiyel yağlar, bitkilerin bol miktarda salgı tüylerinde, iç dokulardaki uçucu yağ hücrelerinde ve salgı ceplerinde bulunur (Çeker, 2011). Günümüzde yaklaşık 1500 civarında esansiyel yağ bilinmekte ve bunların da yaklaşık 300 tanesinin farklı endüstriler için ticari önemi olduğu belirtilmektedir (Jayasena, 2013).

Uçucu yağ olarak bildiğimiz esansiyel yağlar bitkinin kök, gövde, yaprak, meyve, çiçek, tohum ve bazen bitkinin tüm organlarında olacağı gibi belirli dokularında (tarçının kabuk ve yaprağında, gülün çiçek kısmında) da bulunabilmektedir (Çelik, 2007; Çeker, 2011). Söz konusu içerikleri elde etmek için ise farklı yöntemler kullanılmaktadır. Hidrodistilasyon, soğukta sıkma, çözücü ekstraksiyonları ve sıvılaştırılmış gazlar ile muamele etmek bu yöntemlerden bazılarıdır. Uçucu yağlar oda

sıcaklığında genellikle sıvı formda olup çoğunlukla renksiz veya açık sarı renklidir (Sevinç, 1995; Uçar, 2015). Bitkisel droglardan elde edilen sıvı ve çabuk kristalleşen kolayca buharlaşabilen, hoş kokulu, aromatik, keskin veya acı lezzetli ekstraktlardır (Çelik, 2007). Bu ikincil metabolitler bitkiler için aynı zamanda dış çevreye karşı direnç sağlamaktadır (Aydın, 2017). Öte yandan uçucu yağlar antifungal, antibakteriyel, antioksidan, antipiretik ve kanser alanında inhibitör olarakta kullanılmaktadır (İşcan, 2015).

Esansiyel yağlar, terpenler veya benzen halkası içeren bileşikler olarak iki ana gruba ayrılırlar. Terpenoidler taşıdıkları beş karbonlu izopren halkasına göre gruplara ayrılırlar. Bunlar sırasıyla, monoterpenler (C₁₀), sesquiterpenler (C₁₅), diterpenler (C₂₀), sesterpenler (C₂₅), triterpenoidler (C₃₀) ve karotenoidler (C₄₀), olarak gruplandırılabilir (Aydın, 2017; Bozari, 2012).

1.5.1 Monoterpenler (C₁₀)

Monoterpenler, iki izopren (2-metil-1,3-butadien) molekülünden oluşur. On karbonlu bir bileşiktir. Bitkilerde uçucu yağ oranı en fazla olan terpendir. Monoterpen üç alt grup altında toplanır (Gültepe 2013)

1. Asiklik monoterpenler grubunun alkol, ester ve aldehit grubu taşıyan oksijenli türevleri vardır ve üç çift bağ içerirler.
2. Monosiklik monoterpenlerin alkol, ester, keton, epoksit ve peroksit grupları vardır. Bu grubunda iki çift bağ mevcut olup oksijenli türevleri vardır.
3. Bisiklik monoterpenler grubunda ise, bir çift bağı vardır. Alkol, ester ve ketonlu türevleri vardır (Gültepe, 2013; Umay, 2007).

1.5.2 Sesquiterpenler (C₁₅)

Sesquiterpenler onbeş karbonlu moleküller olup oksijenli grupları vardır. Terpenlerin en geniş grubunu oluşturmaktadır. Zincirli, tek ve çift halkalı olanlar vardır. Antibakteriyel, antifungal ve insektisidal yönüyle endüstride önemli bir yere sahiptir (Bozari, 2012). Sesquiterpenlerin monosiklik, bisiklik ve trisiklik türevleri vardır (Umay, 2007).

1.5.3 Diterpenler (C₂₀)

Yirmi karbonlu olup dört izopren biriminden oluşur (Gültepe, 2013). C₂₀H₃₂ moleküler formülüne sahiptir. İnsekdisal özelliğinden dolayı otçullarda caydırıcı özelliğe sahiptir. Oksijenli ve oksijensiz türevleri vardır. Taşıdıkları iskelete göre sınıflandırma yapılır (Yılmaz, 2011; UPL 1, 2017)

1.5.4 Sesterpenler (C₂₅)

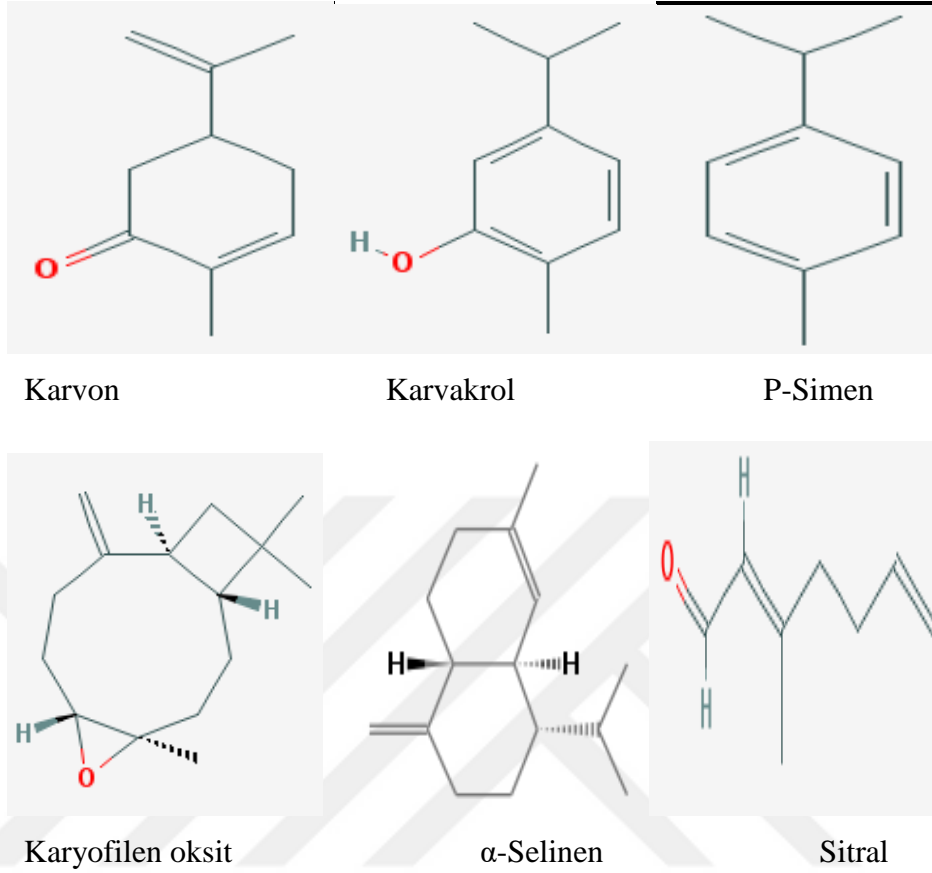
Bu grup yirmi beş karbonludur. Çoğunlukla deniz hayvanları ve mantarlarda mevcuttur (Yılmaz, 2011).

1.5.5 Triterpenoidler (C₃₀)

Altı izoprenden oluşan karbon iskeletine sahip olup otuz karbonludur. Triterpenlerin çoğu alkol, aldehit veya karboksilik asitten oluşan siklik yapılarıdır (Yılmaz, 2011). Bunda da oksijenli ve oksijensiz türevler vardır. Bitkiler hoş koku ve tat verir ve genelde yaprak kısmında ve mumsu tabakada bulunur (Kor, 2016).

1.5.6 Karotenoidler (C₄₀)

Bitki ve bazı mikroorganizmalardaki pigmenttir. Bitkilerde birçok işlevi vardır. C₄₀ çoklu doymamış hidrokarbonların bir sınıfını oluşturur (URL 2, 2017).



Şekil 1.2: Esansiyel yağlarda bulunan bazı majör bileşiklerin yapısı (UPL 3; UPL 4, 2017)

1.6. Allelopatik Etkileşim

Allelopati terimi ilk kez 1937’de Avusturyalı botanikçi Molisch tarafından kullanılmıştır (Bozari 2012; Özkan 2014). Yunanca kökenli ‘Allelo’ ve ‘Pathos’ kelimeler etimolojik olarak ‘karşılıklı acı çekme’ anlamındadır (Ghiyasi, 2016). Allelopati, bitki tarafından oluşan biyokimyasal metabolitlerin başka bir bitkinin gelişme ve yerleşmesi üzerindeki etkisidir (Topal, 1996; Terzi, 2007; Gülsoy, 2008). Bu allelopatik etkiye sahip olan kimyasal madde bitkinin tüm dokularında bulunur ve buna allelokimyasal denir. Allelokimyasal maddeler, bitkiler arasında olumlu veya olumsuz etki göstermektedir. Allelokimyasal etki, tarım alanlarında önemli etkilere sahiptir. Çünkü bitki-bitki arasındaki iletişimde (Bozari, 2012) tohum çimlenmesi, bitkinin kök gelişimini veya bitkinin ortama adapte olmasını etkiler. Özellikle yabancı ot gelişiminde etkili şekilde kullanılmaktadır. Yetiş (2016)’da yaptığı çalışmada yem bitkisi olan Adi

fiğ (*Vicia sativa* L.)'in yabancı ot mücadelesinde kullanıldığını belirtmiştir. Sekiz farklı yabancı ota iki farklı test bitkisine yaprak özsu ve su ekstresi uygulamış ekstrelerin yabancı tohumlar üzerinde önemli ölçüde çimlenmeyi önlediğini, kök gelişimi üzerinde çok etkili olmadığını, fakat tohum çimlenme üzerinde allelopatik etkisinin olduğunu tespit etmiştir. Bir diğer çalışmada zakkum bitkisinin kök, gövde, yaprak ve tomurcuk ekstrelerinin buğday ve fasulye tohumlarının çimlenmesi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Ekstrelerin fasulyede çimlenme ve fide büyümesinde etkili olduğunu en çok etkinin ise zakkumun tomurcuk ekstresinde olduğunu vurgulamıştır. Buğdayda ise kök gelişiminde zakkum ekstrelerinin etkili olduğunu fakat buğdaya oranla fasulyede daha iyi sonuç alındığını belirtmiştir (Karaaltın, 2004).

Erbaş 2011'de yaptığı çalışmada lavanta yağı ve bileşenlerinin yabancı hardal (*Sinapis arvensis* L.) tohum ve fide üzerindeki etkisini araştırmıştır. Lavanta uçucu yağında %43.65'i linalool ve %24.58'i linalil asetat olmak üzere toplam 18 bileşiğin etkilerini gözlemlemiştir. Petri denemelerinde linalil asetat'ın linalool'a göre çimlenme üzerinde iki kat daha fazla etkili olduğunu belirlemişlerdir. Saksı çalışmalarında lavanta yağının kullanılması, doz arttıkça çimlenmenin azaldığını gözlemlemiş 4 dozda ise çimlenmenin olmadığını belirtmiştir.

Allelopatik aktivitenin ölçüldüğü bir çalışmada oğulotu bitkisinin kazayağı bitkisi üzerine etkili oluşu tespit edilmiştir. Bitkinin su ekstresinden elde edilen özütlerin özellikle kök ve gövde gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Shokrani vd., 2013).

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Bitki Örneklerinin Toplanması

Lamiaceae familyasına ait *Melissa officinalis* türü Muş- Kulp yolu çevresinden, *Satureja hortensis* Bingöl ilinden ve *Ocimum basilicum* türü Muş Alparslan Üniversitesi Kampüsü'nden toplanmıştır. Toplanan örnekler gölgede kurutulmuştur. Kurutulan bitkiler blender yardımı ile parçalanarak kullanılmaya hazır hale getirilmiştir. Uygulama için *Triticum aestivum* (Esperia), *Hordeum vulgare* L. (Tarm 92) Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden temin edilmiştir. *Amaranthus retroflexus* yabancı bitki tohumları ise Muş Alparslan Üniversitesi Kampüsü'nden toplanmıştır.

2.1.1. Kullanılan Cihazlar

Çizelge 2.1: Kullanılan cihazlar

No	Cihaz Adı	Marka ve Model
1	Blender	Waring Commercial Blender
2	Buzdolabı	Arçelik Türkiye
3	Clavenger	Boru Cam NS 1221
4	Çalkalayıcı	Orbital Model OS-200
5	Derin dondurucu	Uğur UDF 7SL
6	Elektroforz sistemi	Cleaver MS120410 609
7	Hassas terazi	AND GR-200 Japon
8	İnkübatör	Wise Both Kore
9	Jel görüntüleme sistemi	Cleaver Seri No G11-110113016
10	Kar makinası	Scotsman AF-80
11	Manyatik karıştırıcı	Wisestir MSH 20A
12	Mikrodalga fırın	Arçelik MD564 Türkiye
13	Otamatik pipet	Ecopipette Denmark
14	Otoklav	Nüve OT 40L
15	Mantolu ısıtıcı	Elektro mag MX110 Türkiye
16	pH metre	Hanna HI 8314
17	Saf su cihazı	Liston BO 172-0416
18	Santrifüj	Centrion Seri No 081229
19	Spektrofotometre	UV-1800 Shimadzu

20	Steril kabin	Mikrotest
21	Su banyosu	Wisebath WB22T1SAL Kore

2.1.2 Kullanılan kimyasallar

Çizelge 2.2: Çalışmada kullanılan kimyasallar

No	Kimyasalın Adı	Üretici Firma
1.	β -merkaptöetanol	Sigma
2.	Agaroz	Vivantis
3.	Akrilamid	Sigma
4.	Bisakrilamid	Sigma
5.	Amonyumpersulfat	Merck
6.	Coomassie brillant blue	Merck
7.	Deoksiribonükleozidtrifosfat	Operon Technologies
8.	Etanol	Merck
9.	Glasiyal asetik asit	Merck
10.	Gliserol	Merck
11.	Hidroklorik asit	Merck
12.	Potasyumdihidrojenfosfat	Merck
13.	Metanol	Merck
14.	Sodyum Fosfat dibasic	Emboy
15.	Sodyum Klorür	Merck
16.	PCR Buffer	Operon Technologies
17.	RAPD primerleri	İnfotek
18.	Sodyum dodesil sülfat	Merck
19.	Taq DNA Polymeraz	Vivantis
20.	Tetramethylethylenediamine	Sigma

21	Tris-Base	Vivantis
22	Tween 20	Merck
23	Glisin	Merck
24	2-Propanol	Merck

2.2. Metot

2.2.1. Uçucu yağ eldesi

Melissa officinalis, *Satureja hortensis* ve *Ocimum basilicum* bitkileri gölgede kurutuldu. Gövde ve yapraklar blender ile toz haline getirildi. Clevenger hidrodilasyon yönteminde tüm bitkiler 25-30 gr arasında tartıldı. *Satureja hortensis* ve *Ocimum basilicum* 3 saat kaynatılırken *Melissa officinalis* kaynama noktasını arttırmak için 15-20 gr arasında sodyum klorür ilave edilerek 5 saat kaynatıldı. *Satureja hortensis* ve *Ocimum basilicum* için 0-0,08ml arasında uçucu yağ elde edilirken *Melissa officinalis*'in tek kaynatımı için ise 0-0,01ml uçucu yağ edildi. Elde edilen uçucu yağlar kullanılacağı güne kadar +4°C'de muhafaza edildi.

2.2.2. GC-MS (Gaz kromatografi- kütle spektrofotometresi) analizi

Melisa officinalis L., *Satureja hortensis* ve *Ocimum basilicum* türlerinden elde edilen esansiyel yağların içeriğinin belirlenmesinde SGE-BPX5 MS (30 m X 0,25 mm i.d., 0,25 µm) kapiller kolona sahip ThermofinniganTrace GC/Trace DSQ/A1300, (E.I Quadrupole) cihazı kullanıldı. GC-MS ölçümleri için iyonizasyon enerjisi 70 eV olan elektron iyonizasyon sistemi kullanıldı. Taşıyıcı gaz olarak ise Helyum gazı kullanıldı ve akış oranı 1 mL/dk olarak ayarlandı. Enjektör sıcaklığı 220°C olarak belirlenirken, MS transfer hattı sıcaklığı 290°C olarak ayarlandı. Program 50-150°C sıcaklıklarında 3°C/dk hızla başlatıldı. 1/100 v/v, oranında Asetonitril ile dilüe edilen her bir örnekten 1 µL manuel olarak cihaza ilave edildi ve cihaz ayırma moduna alındı. Bileşenler, tutunma zamanlarının (RT) birbirine yakınlığı ve kütle spektrumları göz önüne alınarak

Wiley 7N Library Data of the GC-MS System ve literatür ile karşılaştırılarak tanımlandı (Bozari vd., 2013).

2.2.3. Çimlenme deneyi

Hordeum vulgare L., *Triticum aestivum* ve *Amaranthus retroflexus* tohumları eşit büyüklükte seçilerek *in vitro* ekim için yüzey sterilizasyonları %5'lik Sodyum hipoklorit (NaOCL)'te 10 dk bekletilip en az 5 kez saf suyla yıkandı. Daha sonra *in vitro* ekim yapıldı. Uçucu yağlar farklı dozlarda (0,033- 0,066- 0,132 ve 0,264µl/ml) Tween 20 içerisinde çözülerek sulama çözeltilerine eklendi. Kontrol için ise Tween 20 ve saf su karışımı uygulandı. Örnekleri 25°C'de etüve gelişmeye bırakıldı. 7 günün sonunda kök, gövde uzunlukları ölçülüp etiketlendi. Örnekler çalışmanın yapılacağı güne kadar -20°C'de bekletildi.

2.2.4. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu Bozari (2012)'nin protokolü esas alınarak modifiye edilmiştir. İzolasyon için şu basamaklar takip edilmiştir.

- ✓ Bitki örnekleri sıvı azotta ezildi. Bu basamaktaki ezme işlemi temiz DNA elde etmek için önemlidir.
- ✓ Ezilen örneklerden 0,1 gr tartıldı. Üzerine 700 µl DNA ekstraksiyon çözeltilisi ilave edilerek iyice karıştırıldı.
- ✓ Örnekler 65°C ye ayarlanmış su banyosuna konularak 4 saat bekletildi. Örnekler 5- 10 dakika aralıklar ile alt üst edilerek iyice karışmaları sağlandı.
- ✓ Su banyosundan çıkarılan örnekler oda sıcaklığında 10 dakika soğumaya bırakıldı. Soğuyan örneklerin üzerine 700 µl kloroform-izoamil alkol eklenip renk beyazımsı olana kadar vortekslendi.
- ✓ 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilen örneklerin üst fazı yeni tüplere alındı. Üst fazın iki katı kadar üzerine soğuk izopropanol eklendi. Örnekler vortekslenmeden iyiyce karıştırıldı.

- ✓ Daha sonra 90 dakika -20°C de bekletilen örnekler 1500 rpm' de 3 dakika santrifüj edildi. Tüplerin dip kısmındaki oluşan DNA peletlerinin dökülmemesine dikkat edilerek izopranoöl döküldü.
- ✓ Örneklere %76 'lık alkol eklenip karıştırıldı. Bu aşamada DNA' nın çözülmesi sağlandı.
- ✓ Çözülen DNA'lar 15000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildikten sonra alkol uzaklaştırıldı. Son alkol kalıntıları tamamen ortadan kaldırmak için DNA peletlerini 37°C 'de 15-30 dk bekletildi.
- ✓ Örnekler 40 μl TE (pH:8.0) çözeltisinde çözülmesi sağlanıp 2 μl RNase eklenerek tekrar 37°C 'de 15 dakika bekletildi.
- ✓ Daha sonra -20°C 'ye alınarak çalışma gününe kadar muhafaza edildi.

DNA örneklerinin saflıklar derecesini belirlemek için 3 μl DNA+747 μl TE tamponuna eklenerek spektrofotometrede 260nm ile 280nm dalga boyları arasında absorbans (A) değerleri okundu. 260/280 değeri 1,1-1,8 arasında olan DNA örnekleri saf DNA olarak belirlendi. 45 (DNA için multifikasyon katsayısı) x 250 (seyreltme katsayısı) x OD_{260} (260nm'de okuma değeri) formülünden faydalanılarak stoktaki DNA miktarı hesaplanarak çalışma konsantrasyonları hazırlandı.

2.2.5. DNA İzolasyon Çözeltileri

Çalışmada kullanılan çözelti hazırlanırken farklı kaynaklardan yararlanıldı (Özden, 2010; Bozari, 2012).

Ekstraksiyon çözeltisi

100 mM TRIS-HCl 1,4 M NaCl

20 mM EDTA

%2 CTAB

% 2 PVP

%0,2 β -merkaptoetanol

%0,1 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ile hazırlandı.

TRIS-HCl, NaCl ve EDTA hesaplamaları yapılarak hepsinin ayrı ayrı 100 ml saf suda çözeltisi hazırlandı. Daha sonra CTAB, PVP, β -merkaptolanol ve $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ tartılarak son hacim 100 ml tamamlandı.

Kloroform: İzoamil alkol

24 ml kloroformadan 1ml izoamil alkol eklenerek hazırlandı.

TE tamponu (pH: 8.0)

10mM Tris-HCl

1mM EDTA

Tris-HCl ve EDTA belli oranlarda alınarak son hacim 100 ml tamamlandı.

2.2.6. RAPD'de (rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA) kullanılan çözeltiler

Agaroz jel (%1,5)

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Agaroz	1,5 gr
Distile su	100 ml

1 gr agaroz tartılır 95ml saf steril su 5ml 10X TBE ilave edildi. Çözelti mikrodalgada 2 -3 dakika ısıtılarak homojen hale getirildi.

10X TBE hazırlama

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Tris	108 gr
Borik asit	55 gr
EDTA	9,3 gr

Öncelikle Tris ve Borik asit 800 ml saf suda çözüldü. Daha sonra EDTA eklendi ve son hacim 1000 ml'ye tamamlandı. 121°C'de 15 dk sterilizasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra oda sıcaklığında muhafaza edildi.

2.2.7. RAPD-PCR protokolü

Melissa officinalis, *Satureja hortensis* ve *Ocimum basilicum* türlerinin esansiyal yağının uygulandığı *Hordeum vulgare* L. (Tarm 92 Arpa), *Triticum aestivum* (Esperia Buğday) ve *Amaranthus retroflexus* (Horozibiği) için RAPD-PCR'da kullanılan primerler Çizelge 2.3' de verilmiştir.

Çizelge 2.3: RAPD-PCR’da kullanılan primerler ile DNA sekans bilgileri

No	Primer	Primer sekansı	Bitki Adı
1	Primer 1	5’→3’ GTTTCGCTCC	<i>M.officinalis L.</i> <i>S. hortensis</i>
2	Primer 2	5’→3’GGACTGGAGT	<i>M.officinalis L.</i> <i>S. hortensis</i>
3	Primer3	5’→3’ TGCGCCCTTC	<i>M.officinalis L.</i> <i>S. hortensis</i>
4	Primer 4	5’→3’ TGCTCTGCCC	<i>M.officinalis L.</i> <i>S. hortensis</i>
5	Primer 5	5’→3’ GGTGACGCAG	<i>M.officinalis L.</i> <i>S. hortensis</i>
6	Primer 6	5’→3’ GTCCACACGG	<i>M.officinalis L.</i> <i>S. hortensis</i>
7	Primer 7	5’→3’ CCTTGACGCA	<i>M.officinalis L.</i> <i>S. hortensis</i>
8	Primer 8	5’→3’ TTCCCCGCT	<i>M.officinalis L.</i> <i>S. hortensis</i>
9	Primer 9	5’→3’ GCACTGACCT	<i>O. basilicum</i>
10	Primer 10	5’→3’ GGGCTCGTGG	<i>O. basilicum</i>
11	Primer 11	5’→3’ GGGGGCTTGG	<i>O. basilicum</i>
12	Primer 12	5’→3’ CACTCTCCTC	<i>O. basilicum</i>
13	Primer 13	5’→3’ GGGCCAATGT	<i>O. basilicum</i>
14	Primer 14	5’→3’ CCAGATGCAC	<i>O. basilicum</i>
15	Primer 15	5’→3’ TGCCGAGCTG	<i>O. basilicum</i>
16	Primer 16	5’→3’AGGGGTCTTG	<i>O. basilicum</i>
17	Primer 17	5’→3’ TCGGCGATAG	<i>O. basilicum</i>
18	Primer 18	5’→3’ ACGGTACCAG	<i>O. basilicum</i>
19	Primer 19	5’→3’ CAGGCCCTTC	<i>O. basilicum</i>

PCR işleminde izlenen yol sırasıyla şöyledir; Önceden steril edilen 0,5 mL’lik PCR tüplerine 3 µL 10x PCR tamponu, (10mg/mL), 1,2 µL dNTP (10mM), 1,2 µL MgCl₂ (25mM), 3µL DNA (100ng/µL), 1,2 µL primer (25 pmol), 0,4 µL 5Unit/µL *Taq* DNA polimeraz konuldu. Daha sonra steril saf su ilave edilerek son hacim 30µL’ye tamamlandı (Agar vd., 2010).

Bu aşamadan sonra örnekleri içeren tüpler PCR için otomatik thermocycle cihazına yerleştirildi. Çimlendirilen *Triticum aestivum* (Esperia-Buğday) tohumları için aşağıdaki döngü uygulandı.

- 1) PCR aleti otomatik olarak 5 dk 94 °C tutuldu,
- 2) 4 döngü olacak şekilde her bir döngü sırasıyla,
1 dk 30 sn 94°C

1 dk 30 sn 37°C

3 dk 72°C basamaklarından oluşturuldu.

3) 41 döngü olacak şekilde her bir döngü sırasıyla,

1 dk 94°C

1 dk 36°C

1 dk 42°C 3 dk 72°C basamaklarından oluşturuldu.

4) Son olarak 7 dk 72°C’de tutarak süreç tamamlandı.

5) PCR aletinden çıkarılan örnekler +4°C’de saklandı.

Çimlendirilen *Hordeum vulgare* L. (Tarm92-Arpa) ve *Amaranthus retroflexus* (Horozibiği) için ise PCR koşulları aşağıdaki gibi düzenlendi.

1) PCR aleti otomatik olarak 4 dk 94 °C’de tutuldu,

2) 40 döngü olacak şekilde her bir döngü sırasıyla,

45 sn 94°C

45 sn 36 °C

1dk 72 °C basamaklarından oluşturuldu.

3) Son olarak 8 dk 72 °C’de tutularak süreç tamamlandı.

4) PCR cihazından çıkarılan örnekler +4 °C’de saklandı.

2.2.8. Agaroz jel elektroforezi

PCR işlemi bittikten sonra örnekler, hazırlanan %1,5’lik agaroz jele yüklendi. Bantların jelde görünürlüğünü sağlamak için hazırlanmış olan jele 3 µL Ethidium bromide eklenerek hafif karıştırıldı. Loader boyayla beraber 5µL PCR ürünü kuyulara yüklendi. Daha sonra 1 X TBE tamponunda yürütüldü. 80 voltta 50 dk yürütülen jeller DNA görüntüleme sisteminde görüntülendi.

2.2.9. RAPD tekniği ve genomik kararlılığın (GTS) belirlenmesi

Her bir primer için tüm örneklerde amplifiye olan DNA bantlarının varlığı ve yokluğu, negatif kontrol RAPD profillerine göre bant yoğunluklarındaki azalma ve

artmalar agaroz jel görüntüleme cihazı ve Total LAB TL 120 (Nonlinear Dynamics) yazılımıyla belirlendi. Genomik kalıp sabitliliği, tüm primer ürünleri için $100 * \left(1 - \frac{a}{n}\right)$ formülünden yararlanılarak hesaplandı. Formüldeki a her bir uygulama örneği için tespit edilen RAPD polimorfik profillerini, n ise ilgili primerle negatif kontrol grubunda elde edilen DNA'daki toplam bant sayısı olarak belirlendi. Uygulama sonrası gruplara ait RAPD profillerinde gözlemlenen polimorfizm oranı kontrol grubunu baz alınarak yeni bir bantın oluşması veya mevcut olan bantın kaybolmasını kapsamaktadır. Farklı parametrenin genomik sabitliğinin (GTS) hassaslığını karşılaştırabilmek için, bu parametrelerdeki değişiklikler kontrollerine (%100'e sabitlenecek) göre yüzde değişim olarak hesaplandı (Cenkci vd., 2009).

2.2.10. SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi) tekniğinde kullanılan çözeltiler

%30'luk akrilamid-bisakrilamid çözeltisi hazırlama

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Akrilamid	29,2 gr
Bis-akrilamid	0,8 gr
Saf su	100 ml

29,2 gr Akrilamid ve 0,8gr Bis-akrilamid tartıldı ve son hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Oluşan homojen karışım, alüminyum folyoyla ışık görmeyecek şekilde sarılarak kullanılacağı güne kadar buzdolabının +4°C'deki bölümünde saklandı.

%10'luk Amonyum per sülfat

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Amonyum per sülfat	10 gr
Saf su	100 ml

Amonyum per sülfat 10 gr tartıldıktan sonra son hacim 100 ml ye tamamlandı. Amonyum per sülfat ya kullanılacağı güne kadar -20 de muhafaza edilmeli ya da her çalışmadan önce taze hazırlanmalıdır.

1,5 M Tris Base (pH:8,8) hazırlanışı

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Tris Base	18,171gr
Saf su	100 mL

18,171 gr Tris Base bir miktarı steril saf suda çözülüp daha sonra pH: 8,8'e ayarlandı ve solüsyonun son hacmi steril saf suyla 100 mL'ye tamamlandı. Daha sonra çözelti 121°C'de 15 dk steril edildikten sonra alüminyum folyoya sarılarak kullanılacağı güne kadar buzdolabının +4°C'deki bölümünde saklandı.

1 M Tris Base (pH:6,8) hazırlanışı

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Tris Base	12,114 gr
Saf su	100 ml

12,114 gr Tris Base bir miktarı steril saf suda çözüldü ve pH:6,8'e ayarlandı ve son hacim 100 ml'ye tamamlandı. Sonra çözelti 121°C'de 15 dk steril hale getirildi. Çözelti alüminyum folyoya sarılarak kullanılacağı güne kadar +4'de muhafaza edildi.

Protein yükleme tamponu

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Tris Base (pH:6,8- 1 M)	150 µL
%10'luk SDS	400 µL
%80'lik Gliserol	250 µL
Bromfenol Blue	150 µL
B-Merkaptoetanol	50 µL

Yukarda belirtilen her bir solüsyondan verilen miktarlarda bir ependorf tüpüne konularak yükleme tampon hazırlandı. Alüminyum folyoya sarılarak +4' de muhafaza edildi. Protein yükleme tamponu çalışma öncesi her zaman önce taze olarak hazırlandı.

Bromfenol blue (Yürütme boyası)

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Tris Base (pH: 6.8)	160 µL
Gliserin	250 µL
Bromfenol blu (%0,1'lik)	250 µL

160 µL Tris Base (pH: 6.8), 250 µL Gliserin, 250 µL Bromfenol blue (%0,1'lik) karıştırılıp, vortekslendi. Daha sonra kullanılacağı güne kadar buzdolabının +4°C'deki bölümünde saklandı.

Yürütme tamponu (500 mL)

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Tris Base	1,5 gr
Glisin	7,2 gr
Saf su	500 mL
SDS % 10 luk	5 mL

1,5 gr Tris, 7,2 gr Glisin tartıldı. Daha sonra SDS % 10'luk 5mL ilave edilerek son hacim 500 mL'ye tamamlandı. Homojen bir karışım elde etmek için manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Hazırlanan solüsyon, kullanılacağı güne kadar buzdolabının +4°C'deki bölümünde saklandı.

Protein jeli boyama çözeltisi (100 mL)

<u>İçerik</u>	<u>Miktar</u>
Coomassie Blu R-250	0,125 gr
Metanol	50 mL

Asetik asit	10 mL
Saf su	40 mL

0,125 gr Coomassie blu R-250 tartıldı. Üzerine sırasıyla 50 mL metanol ve 10 mL asetik asit eklendikten sonra steril saf su ile son hacim 100 mL'ye tamamlandı. Solüsyon, kullanılacağı güne kadar buzdolabının +4°C'deki bölümünde saklandı.

Yıkama çözeltisi

<u>Solüsyon 1</u>	<u>Miktar (100 mL)</u>
Metanol	50 mL
Asetik asit	10 mL
Saf su	40 mL

Metanol, asetik asit ve saf su yukarıdaki belirtilen oranlarda karıştırıldı. Solüsyon 1 her uygulamadan önce taze olarak hazırlanmalıdır.

<u>Solüsyon 2</u>	<u>Miktar (150 mL)</u>
Asetik asit	10,5 mL
Metanol	7,5 mL
Saf su	132 mL

Asetik asit, metanol ve saf su yukarıdaki belirtilen oranlarda karıştırıldı. Solüsyon 2 her uygulamadan önce taze olarak hazırlandı.

<u>Ayırma jeli (%12)</u>	<u>Miktar</u>
<u>Steril saf su</u>	2,4 mL
%30'luk akrilamid	3 mL
1,5 M Tris Base(pH: 8.8)	1,8 mL
%10'luk SDS	75 µL
%10'luk APS	200 µL
TEMED	15 µL

APS ve TEMED hızlı polimerleşmeye neden olduğu için solüsyona son olarak ilave edildi.

2.3. SDS-PAGE analizi

2.3.1 Proteinlerin izolasyonu

Protein izolasyonu Bozari (2012)'ya göre yapıldı.

- ✓ Bitki örnekleri sıvı azotta parçalanarak kullanılacak hale getirildi.
- ✓ 0,1g bitki örneği tartılıp 2 mL 0,2 M Sodyumdihidrojen fosfat buffer (pH: 6.5 1M) içeren tüplere eklendi.
- ✓ Örnekler iyice karıştırıldıktan sonra 12000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
- ✓ Süpernatant kısmı alınarak yeni tüplere aktarıldı.
- ✓ Santrifüj bittikten sonra örnekler 2 mL TCA-Aseton (%90 aseton, %10 TCA, %0,07 BME) eklenip iyice vortekslendi. Karıştırılan örnekler -20°C'de 45 dk bekletildi.
- ✓ Daha sonra 6,000 rpm'de 10 dk santrifüj edilen örneklerin süpernatant kısmı döküldü ve önceden hazırlanmış aseton/BME ile yıkandı.
- ✓ Yıkama işlemi proteinler beyazımsı renk alana kadar tekrarlandı.
- ✓ Yıkama işleminden sonra örnekler etüvde 37°C'de 15 dk kurutulmaya bırakıldı.
- ✓ Örnekler kullanılacağı güne kadar +4'de muhafaza edildi.

İzolasyon işleminin tüm basamaklarında örneklerin altına buz koyularak gerçekleştirildi.

Numunelerin yüklenmesi ve jellerin boyanması

Kurutulan proteinlerin üzerine protein yükleme tamponundan 30µl/ml ilave edildi. Örnekler iyice vortekslenerek çözünmesi sağlandı. Daha sonra protein içeren örnekler su banyosunda 95 °C'de 5 dk inkübe edildi. Su banyosundan çıkarılan örnekler hızlıca önceden hazırlanmış buz içeren kaba alındı. SDS-PAGE jeline yüklendi (Bozari 2012). Ayırma jelinde 160 V'de 100 dk kuyulara yüklenen örnekler yürütüldü. Yürütme işleminden sonra cam bloklardan ayrılan jel Commesin Brillan Blue R-250 çözeltisine bırakılarak 60 dk çalkalanarak bekletildi. Jel boyama çözeltisinden çıkarıldıktan sonra

Solisyon 1 çözeltilisinde 60 dk çalkalandı. Daha sonra Solüsyon 2’de 16-20 saat arasında bekletildi. Bu işlemlerin hepsi karanlık ortamda gerçekleştirilir. İşlemler bittikten sonra jel düz bir zemine alınarak çözünürlük kalitesi yüksek olan makinelerle fotoğrafları çekildi.



3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Bitkilerden Elde Edilen Esansiyel Yağların İçerikleri

Satureja hortensis, *Melissa officinalis* ve *Ocimum basilicum*'dan elde edilen uçucu yağların içerik analizi GC-MS yöntemi ile belirlendi.

GC-MS analizleri sonucunda *Satureja hortensis* türünün uçucu yağı %97,52 oranında analiz edildi (Çizelge 3.1). Toplam 38 içerikten en fazla bulunan maddeler sırasıyla; %15,36 oranıyla Siklohekszen, %14,69 oranıyla Karvakrol, %13,03 oranıyla Simen, % 11,86 oranıyla Fenol ve % 10,61 oranıyla Timol olduğu gözlemlendi. Toplam içeriğin %2,48'ini oluşturan 103 içeriğin ismi ilgili kütüphanede bulunmadığından tespit edilemedi (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1: GC-MS yöntemiyle *Satureja hortensis* bitkisinden elde edilen uçucu yağların içerik analizleri

No	RT	İçeriğin Adı	(%) Oranı
1	2.587	Naftil asetamid	0,22
2	2.855	Borneol L	0,17
3	2.982	Terpineol	0,19
4	3.184	Siklohekszen	0,06
5	4.291	Timol	10,61
6	4.433	Fenol	11,86
7	4.552	Bifenil	0,64
8	4.958	Fenol Asetat	0,5
9	5.130	Kavrakrol Adetat	0,49
10	5.520	Omethoate	0,11
11	5.589	Mcpa	0,11
12	5.853	Karyofilen	0,09
13	6.005	Aromadendren	0,03
14	6.126	Jasmolin II	0,53
15	6.229	Pyretrin I	0,04
16	6.424	Sinerin II	0,62
17	6.544	Pyretrin II	1,19
18	6.653	Kaptafol	0,05
19	7.325	Karyofilen oksit	0,54
20	7.557	Allethrin	0,07
21	9.347	Limonen	3,82
22	9.610	Pinen	2,98
23	9.822	Simen	13,03
24	9.973	Gamma Terpinen	9,19
25	10.118	Izoprokarb	0,32
26	10.197	Trans Sabinene	0,25
27	10.540	Sinmetilin	1,81
28	10.888	Karvakrol	14,69

29	10.941	Sikloheksazonen	15,36
30	11.105	Fenol asetat	1,63
31	11.168	Karvakril Asetat	1,27
32	11.386	Jasmolin I	0,14
33	11.526	Trans Karyofilen	1,63

Çizelge 3.1: GC-MS yöntemiyle *Satureja hortensis* bitkisinden elde edilen uçucu yağların içerik analizleri (devamı)

34	11.666	Beta Bisabolen	0,89
35	11.772	Leden	0,61
36	12.152	Karyofilen oksit	1,65
37	12.768	Prohidrojasmon	0,1
38	13.898	Promekarb	0,03

RT:

Retention time (Tutunma süresi)

Melissa officinalis'in ise toplamda 20 farklı içerikle %51,58'i analiz edildi. *Melissa officinalis* türünün içeriklerinin büyük bir kısmını, E-Citral (%11,26), (-)-Karyofilen oksit (%9,74), Z-Citral (%9,07), Prohidrojasmon-2 (%3,64)'nin oluşturduğu gözlemlendi. Toplam içeriğin %48,42'sini oluşturan 183 içerik ise ismen tanımlanamadı (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2: GC-MS yöntemiyle *Melissa officinalis* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağların içerik analizleri.

No	RT	İçeriğin Adı	(%) Oranı
1	6.008	Kaptan	0,86
2	6.323	Kaptafol	0,31
3	9.548	Metil Hepten	0,52
4	10.107	Linalool L	1,14
5	10.463	Spirodiklofen	0,73
6	10.708	Z-Citral	9,07
7	10.800	E-Citral	11,26
8	10.912	Prohidrojasmon-2	3,65
9	11.129	Nerilasetat	2,02
10	11.293	Oksadiksil	0,96
11	11.323	Bifenil	0,91
12	11.515	Piretrin II	1,94
13	11.627	Alletrin	1,1
14	11.727	Prohidrojasmon-1	0,88
15	12.020	Sinerin II	0,73
16	12.150	Karyofilen oksit	9,74

17	12.247	İzoksantin	1,25
18	12.319	Jasmolin II	3,16
19	12.769	Pentadekanon	1,08
20	13.641	Methopren	0,27

RT: Retention time (Tutunma süresi)

GC-MS sonucunda *Ocimum basilicum*'un ise toplamda 47 farklı içerikle %99,91 analiz edilmiştir. *Ocimum basilicum* türünün içeriklerinin büyük bir kısmını, Feron 20 (%22,71), Eugenol (%12,81), Hekzadekanoik asit (% 5,35) , Oktadekatrienoik asit (%3,799) Oktadekadienoik asit ve Oktadekadienal, (Z) (%3,36)'nin oluşturduğu gözlemlendi. Toplam içeriğin %0,09'sini oluşturan içerikler ise ismen tanımlanamadı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3: GC-MS yöntemiyle *Ocimum basilicum* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağların içerik analizleri.

No	RT	İçeriğin Adı	(%) Oranı
1	5,983	Feron 20	22,71
2	13,586	Ökalyptol	1,19
3	18,430	Dimetilamid	0,37
4	25,131	Linalol	6,36
5	26,926	Longofolen	4,34
6	28,377	Pinene	8,23
8	30,230	1,6 Siklodekadien	3,44
9	31,650	Naftalen	2,95
10	46,445	Karotol	1,60
11	47,184	Sinmaldehit	2,89
12	51,132	Spathulenol	2,56
13	52,668	Eugenol	1,68
14	53,721	α -Selenin	12,81
15	54,990	Karvacrol	0,82
16	55,952	Epiglobulol	2,53
17	71,074	n-Hegzadekanoikasit	5,35
18	76,355	Hekzanoksasiklooktadekan	0,70
19	77,238	Heneikosen	1,83
20	79,003	Oktadekadienal	3,36
21	81,647	Oktadekatrienoik asit	3,79
22	4,966	Dietoksietan	0,08
23	28,844	2,6-Oktadienal	0,28
24	30,229	1,6-Siklodekadien	3,44
25	30,830	Elemen	0,77
26	33,073	Geranilaseton	0,30
27	33,588	Geraniol	0,28
28	38,692	Sinmaldehit	0,51
29	41,421	Karyofilen Epoksit	0,49
30	45,009	Dodekatrien	0,51
31	56,710	Selenin	0,21
32	57,992	Sikloheptadien	0,60

33	58,478	Propanoik asit	0,30
34	59,789	İzopropiliden	0,37
35	60,361	Naftalen metanol	0,50
36	61,745	Naftalen	0,51
37	62,735	Benzofenon	0,19
38	65,024	Glikol	0,25
39	65,762	Oktaetilen glikol	0,18
40	66,060	Fitol	0,47
41	66,855	Furoksan	0,24
42	67,107	Tetradekanoik asit	0,62
43	68,463	Siklopentadekan	0,66
44	68,984	Bütanoat	0,49

Çizelge 3.2: GC-MS yöntemiyle *Melissa officinalis* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağların içerik analizleri (devamı).

45	69,413	Dodesil izobütrat	0,39
46	71,747	Glikol monododesil eter	0,35
47	42,331	Benzene	0,57

RT: Retention time (Tutunma süresi)

3.2. Değerlendirme

Çimlenme oranları SPSS v 22.0 paket programıyla (one way ANOVA) yapıldı. Veri ortalamaları sonucuna göre önemli düzeydeki ($P < 0,05$) değişiklikler ise Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak belirlendi. RAPD analizleri TOTAL LAB TL 120 programıyla analiz edildi.

3.3. Uçucu Yağların Çimlenme Oranları Üzerine Etkisi

Satureja hortensis, *Ocimum basilicum* ve *Melissa officinalis*'ten elde edilen esansiyel yağların tahıl grubu (Arpa, Buğday) ile yabancı bitki tohumu (horozibiği) üzerine etkisini belirlemek için uygulama yapıldı ve elde edilen veriler Çizelge 3.4, 3.5, 3.6'da sunuldu. Uygulanan uçucu yağların üç farklı türde de genel anlamda inhibisyona neden olduğu tespit edildi.

Satureja hortensis uçucu yağlarının dört farklı dozda uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve *Amaranthus retroflexus* tohumlarının çimlenme oranları Çizelge 3.4'de gösterildi. Uçucu yağların, uygulandığı *Triticum aestivum* (Buğday) tohumlarının kök uzunluklarında 0,033, 0,066 ve 0,264 µl/ml dozlarında kontrole göre önemli sayılabilecek inhibisyona neden oldukları gözlemlendi. 0,132µl/ml dozunda ise yine kontrole göre önemli sayılmakla beraber kök gelişimini olumlu yönde

etkilediği gözlemlendi. Gövde uzunluklarını ise genelde doza bağımlı olarak düşürdüğü gözlemlendi (Şekil 3.1).

Aynı türden elde edilen uçucu yağların *Hordeum vulgare* L.(Arpa) tohumlarının kök gelişimini tüm dozlarda olumlu yönde etkilediği 0,264 µl/ml dozunda bu etkinin en yüksek olduğu belirlendi. Gövde uzunluklarının ise buğdayda olduğu gibi kontrolle kıyaslandığında önemli sayılabilecek inhibisyonların olduğu belirlendi (Şekil 3.2).

Diğer yandan *Amaranthus retroflexus* tohumlarına yapılan uygulama sonucunda çimlenen tohumların gövde uzunlukları ölçülebilecek seviyeye ulaşamadı. Bundan dolayı sadece kök uzunlukları dikkate alındı. Kontrole göre önemli sayılabilecek inhibisyonların gözlemlendiği *Amaranthus retroflexus* tohumlarında 0,264 µl/ml dozunda uygulanan uçucu yağların maksimum etki gösterdiği belirlendi (Çizelge 3.4, Şekil 3.3).

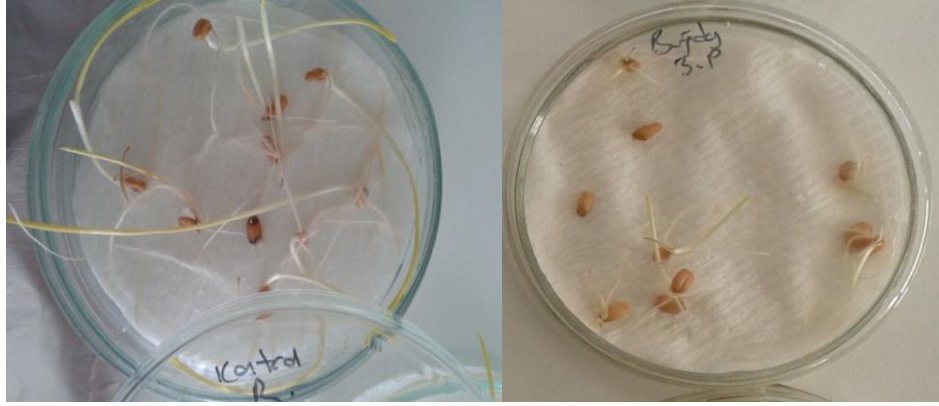
Çizelge 3.4: *Satureja hortensis* bitkisinden elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L.ve *Amaranthus retroflexus* tohumlarının kök ve gövde uzunlukları

Uygulanan Dozlar	<i>Triticum aestivum</i>		<i>Hordeum vulgare</i>		<i>Amaranthus retroflexus</i> **
	Kök (cm)	Gövde(cm)	Kök(cm)	Gövde(cm)	Kök(cm)
0,033µl/ml	2,8±0,515 ^a	6,5±1,670 ^d	10,250±1,03 0 ^c	2,625±1,143 ^a	1,4±0,140 ^b
0,066µl/ml	7,7±1,361 ^c	2,1±1,012 ^c	10,250±1,68 9 ^c	5,250±0,829 ^c	1,5±0,154 ^b
0,132µl/ml	2,3±1,087 ^a	0,3±0,075 ^e	9,750±0,924 ^b	5,000±1,541 ^c	1,5±0,140 ^b
0,264µl/ml	2±0,586 ^a	1,5±0,592 ^a	11,750±1,43 6 ^d	3,750±1,163 ^b	1,1±0,074 ^a
Kontrol	6,2±2,128 ^b	7,3±2,521 ^b	5,6250±2,25 8 ^a	7,250±1,701 ^d	2,7±0,205 ^c

Duncan's multiplerange testine göre P≤0,05 seviyesinde önemli

* Aynı kolondaki aynı harfle ifade edilmiş örnekler arasında önemli fark yoktur (P<0,05)

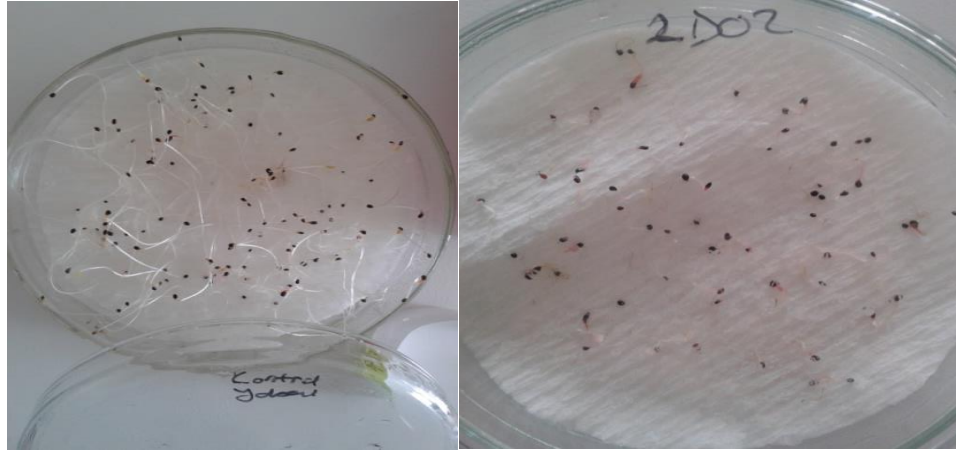
**Gövde gelişimi ölçülemedi



Şekil 3. 1: *Satureja hortensis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Triticum aestivum* tohumları üzerine etkileri



Şekil 3. 2: *Satureja hortensis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Hordeum vulgare* L.tohumları üzerine etkileri



Şekil 3.3 : *Satureja hortensis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Amaranthus retroflexus* tohumları üzerine etkileri

Melissa officinalis türünden elde edilen uçucu yağlarının dört farklı dozda uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve *Amaranthus retroflexus* tohumlarının çimlenme oranları Çizelge 3.6’da sunuldu. Uygulanan uçucu yağların *Triticum aestivum* (Buğday) tohumlarının kök uzunluklarını tüm dozlarda kontrole göre önemli sayılabilecek inhibisyona uğrattığı gözlemlendi. Benzer şekilde gövde uzunluklarının da doza bağımlı olarak düştüğü gözlemlendi (Şekil 3.4).

Aynı türden elde edilen uçucu yağların *Hordeum vulgare* L.(Arpa) tohumlarının kök gelişimini tüm dozlarda düşürdüğü, en yüksek düşüşün ise 0,264 µl/ml dozunda 2,5 cm olduğu belirlendi. Gövde uzunluklarında; 0,066 ile 0,264 µl/ml dozlarında istatistiksel olarak önemsiz, birbirine yakın bir inhibisyon oranı ölçüldü (Şekil 3.5).

Öte yandan *Amaranthus retroflexus* tohumlarına yapılan uygulama sonucunda çimlenen tohumların gövde uzunlukları ölçülebilecek seviyeye ulaşamadı. Bundan dolayı sadece kök uzunlukları dikkate alındı. Kontrole göre önemli sayılabilecek inhibisyonların gözlemlendiği *Amaranthus retroflexus* tohumlarında 0,033 µl/ml dozu dışındaki dozlarda inhibisyon gözlenirken söz konusu dozda kontrole göre kök uzunluklarında artış gözlemlendi (Çizelge 3.5, Şekil 3.6).

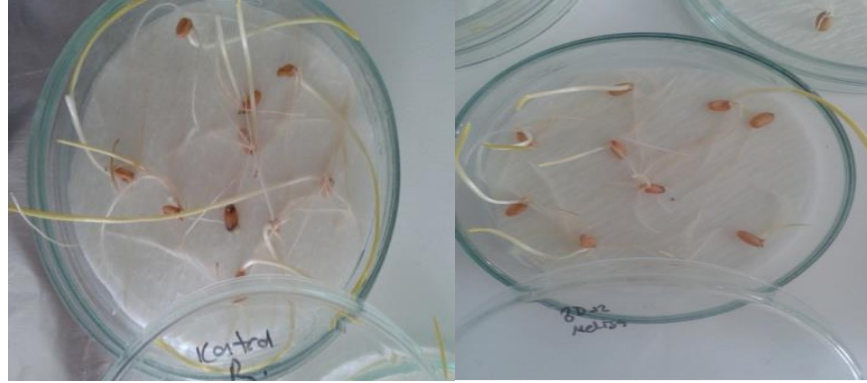
Çizelge 3.5: *Melissa officinalis* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L.ve *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının kök ve gövde uzunlukları

Uygulanan Dozlar	<i>Triticum aestivum</i>		<i>Hordeum vulgare</i>		<i>Amaranthus retroflexus</i> **
	Kök(cm)	Gövde(cm)	Kök(cm)	Gövde(cm)	Kök(cm)
0,033µl/ml	4,07±1,65 ^b	4,47±1,89 ^c	7,75±0,47 ^d	5,07±1,18 ^c	6,95±0,45 ^d
0,066µl/ml	4,87±1,70 ^c	4,00±1,58 ^c	6,75±0,77 ^c	2,12±0,51 ^a	5,80±0,54 ^c
0,132µl/ml	2,97±0,98 ^a	3,22±1,50 ^b	5,12±0,91 ^b	3,30±1,04 ^b	3,53±0,24 ^b
0,264µl/ml	2,92±0,58 ^a	2,17±0,81 ^a	2,50±0,28 ^a	2,62±0,37 ^a	1,95±0,32 ^a
Kontrol	5,25±3,61 ^c	5,42±1,90 ^d	11,45±1,33 ^e	8,00±2,16 ^d	5,65±0,42 ^c

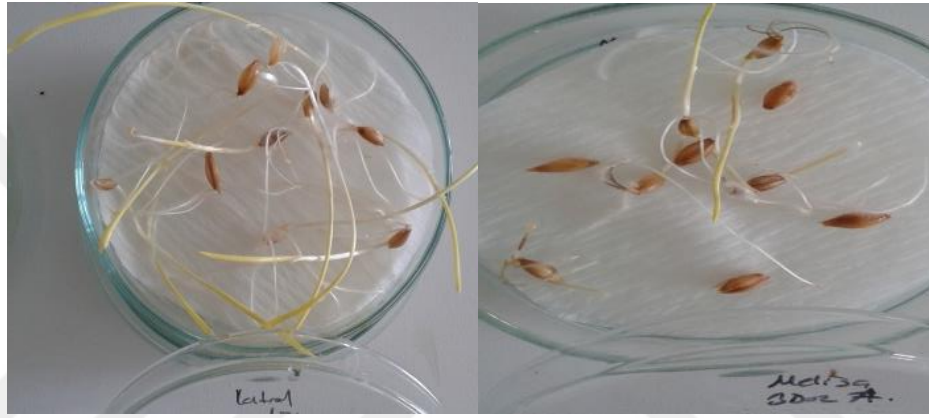
Duncan’smultiplerange testine göre P≤0,05 seviyesinde önemli

* Aynı kolondaki aynı harfle ifade edilmiş örnekler arasında önemli fark yoktur (P<0,05)

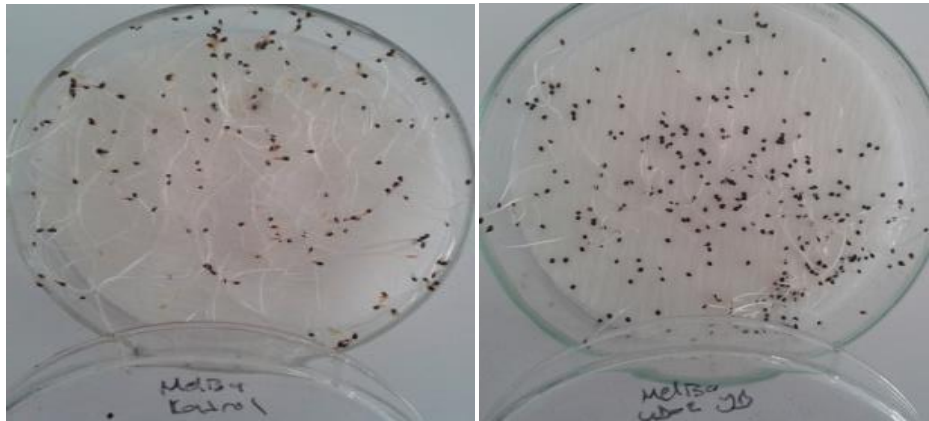
**Gövde gelişimi ölçülemedi



Şekil 3.4: *Melissa officinalis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Triticum aestivum* tohumları üzerine etkileri



Şekil 3.5: *Melissa officinalis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Hordeum vulgare* L.tohumları üzerine etkileri



Şekil 3.6: *Melissa officinalis*'ten elde edilen uçucu yağların çimlenen *Amaranthus retroflexus* tohumları üzerine etkileri

Ocimum basilicum türünden elde edilen uçucu yağlarının dört farklı dozda uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve *Amaranthus retroflexus* tohumlarının çimlenme oranları Çizelge 3.6'da gösterildi. Uygulanan uçucu yağların

Triticum aestivum (Buğday) tohumlarının kök uzunluklarını dozdan bağımsız etkilediği 0,264 µl/ml dozunda istatistiki olarak en yüksek inhibisyona neden olduğu gözlemlendi. Benzer durum gövde örneklerinde de gözlemlendi (Şekil 3.7).

Yine aynı türden elde edilen uçucu yağların *Hordeum vulgare* (Arpa) tohumlarının kök gelişimini 0,066 µl/ml ve 0,264 µl/ml dozlarında kontrole yakın tuttuğu, aralarındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlendi. En yüksek inhibisyona ise 0,132 µl/ml dozunda olduğu belirlendi. Gövde uzunluklarında ise 0,066 µl/ml dozunun tohum çimlenmesini kontrole kıyasla olumlu yönde etkilediği, diğer dozlarda ise inhibisyona uğrattığı ve aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi (Şekil 3.8).

Amaranthus retroflexus tohumlarında ise 0,033 µl/ml dozu ile kontrol arasında istatistiki bir fark görülmezken 0,132 ve 0,264 µl/ml dozlarında da dozdan bağımsız inhibisyon belirlendi. Uygulanan bileşenlerin 0,066 µl/ml dozunda ise *Amaranthus retroflexus* tohumlarının çimlenmesini olumlu yönde etkilediği belirlendi.

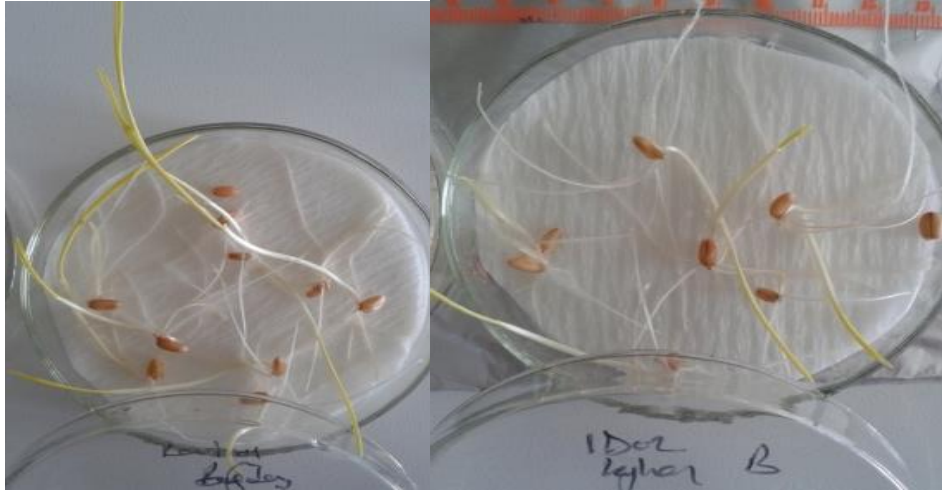
Çizelge 3.6: *Ocimum basilicum* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve *Amaranthus retroflexus* tohumlarının kök ve gövde uzunlukları

Uygulanan Dozlar	<i>Triticum aestivum</i>		<i>Hordeum vulgare</i>		<i>Amaranthus retroflexus</i> **
	Kök (cm)	Gövde(cm)	Kök(cm)	Gövde(cm)	Kök(cm)
0,033µl/ml	5,25±1,01 ^c	3,75±1,47 ^a	6,12±1,12 ^b	3,62±1,14 ^a	4,95±0,46 ^c
0,066µl/ml	4,62±1,51 ^a	4,25±1,88 ^b	7,50±0,93 ^c	5,50±1,62 ^c	5,00±0,33 ^d
0,132µl/ml	4,87±1,23 ^a	4,12±1,80 ^b	5,12±1,14 ^a	3,55±1,27 ^a	4,10±0,30 ^b
0,264µl/ml	3,87±0,65 ^b	3,5±1,17 ^a	7,37±0,51 ^c	3,62±0,96 ^a	3,50±0,37 ^a
Kontrol	5,87±2,25 ^d	6,12±2,25 ^c	7,25±1,18 ^c	4,25±1,31 ^b	4,95±0,31 ^c

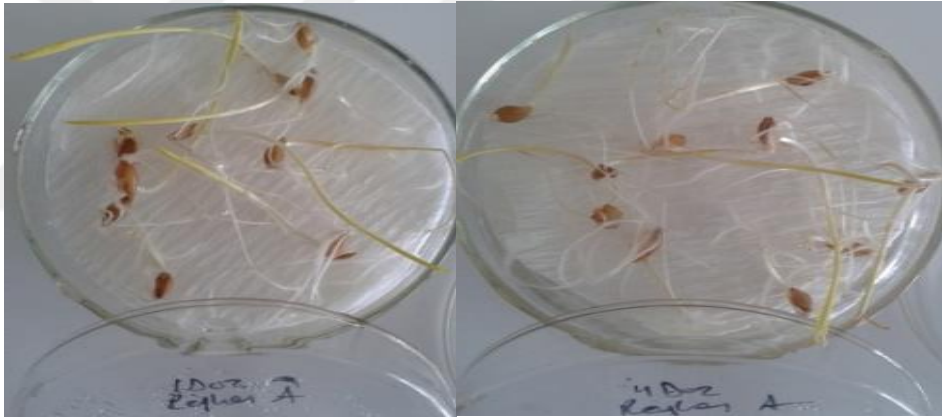
Duncan's multiplerange testine göre P≤0,05 seviyesinde önemli

* Aynı kolondaki aynı harfle ifade edilmiş örnekler arasında önemli fark yoktur (P<0,05)

**Gövde gelişimi ölçülemedi



Şekil 3.7: *Ocimum basilicum* L. elde edilen uçucu yağların çimlenen *Triticum aestivum* tohumları üzerine etkileri



Şekil 3.8: *Ocimum basilicum* L. elde edilen uçucu yağların çimlenen *Hordeum vulgare* L. tohumları üzerine etkileri

3.4. RAPD Analizleri

Satureja hortensis, *Melisa officinalis* ve *Ocimum basilicum* bitkilerinin uçucu yağlarının uygulanıp çimlendirilen *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve *Amaranthus retroflexus* tohumlarının bir haftalık süre sonunda elde edilen kök ve gövde sürgünlerinden genomik DNA izole edilerek 8 farklı oligonükleotid primerlerine (Çizelge 2.3) karşı gösterdikleri polimorfizm oranları hesaplandı. Elde edilen agaroz jel görüntüleri TOTAL LAB TL 120 programı ile değerlendirildi. Yeni oluşan ve kaybolan bantlarla beraber genomik stabilitesi (GTS) ölçüldü.

3.4.1. *Satureja hortensis* uçucu yağlarının uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L.ve *Amaranthus retroflexus* örneklerinin RAPD profilleri

Satureja hortensis'ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarının RAPD profilleri Çizelge 3.7'da sunuldu. Uygulanan primerin buğdayda sınırlı sayıda bant verdiği görüldü. Kontrolde toplam 11 bant elde edildi. Polimorfik bant sayısı artan doza doğru sırasıyla 2, 6, 6 ve 4 olarak ölçüldü. Genomik stabilitenin ilk dozda en yüksek oranda olduğu (%81,82) tespit edildi. Bu uygulamadaki bant sayısının azlığı uygulamanın güvenilirliği açısından bir olumsuz olarak kaydedildi (Çizelge 3.7, Şekil 3.9).

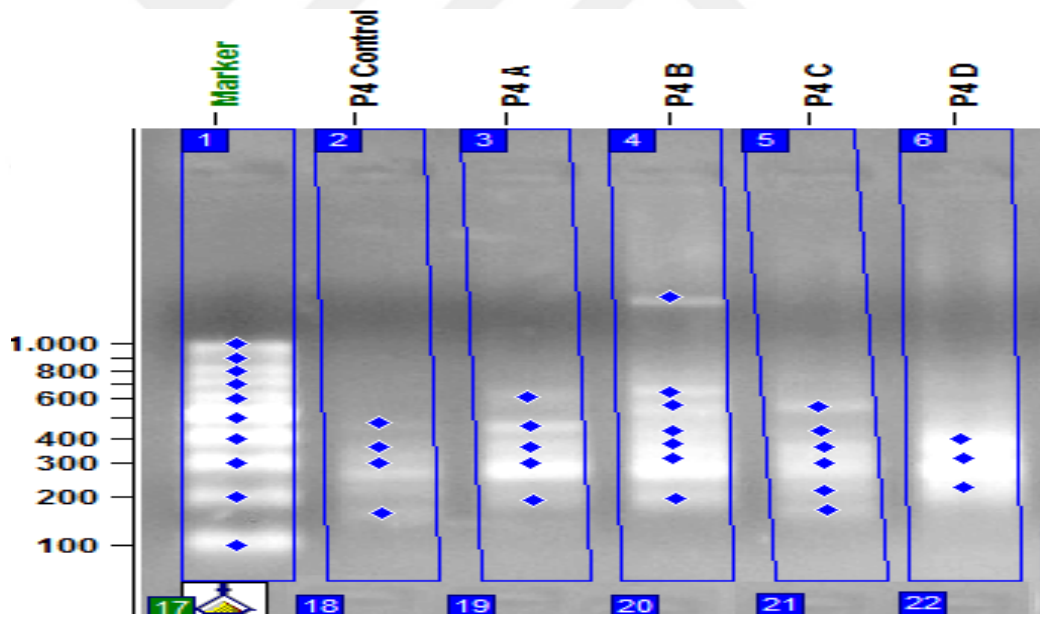


Çizelge 3.7: *Satureja hortensis*'ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarının RAPD profilleri

No	Primer Adı	Kontrol	+	<i>Triticum aestivum</i>			
				0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
1	P-1	4	+	613	1315, 613,568	568,171	ND
			-	164	164	164	477
2	P-2	0	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
3	P-3	0	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
4	P-4	2	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
5	P-5	1	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
6	P-6	3	+	ND	255	682,255,170	255,134
			-	ND	482	ND	482
7	P-7	0	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
8	P-8	1	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
Toplam bant		11		2	6	6	4
Polimorfizm oranı				18,18	54,54	54,54	36,36
GTS oranı				81,82	45,46	45,46	63,64

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

P: Primer



Şekil 3.9: *Satureja hortensis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1 primerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

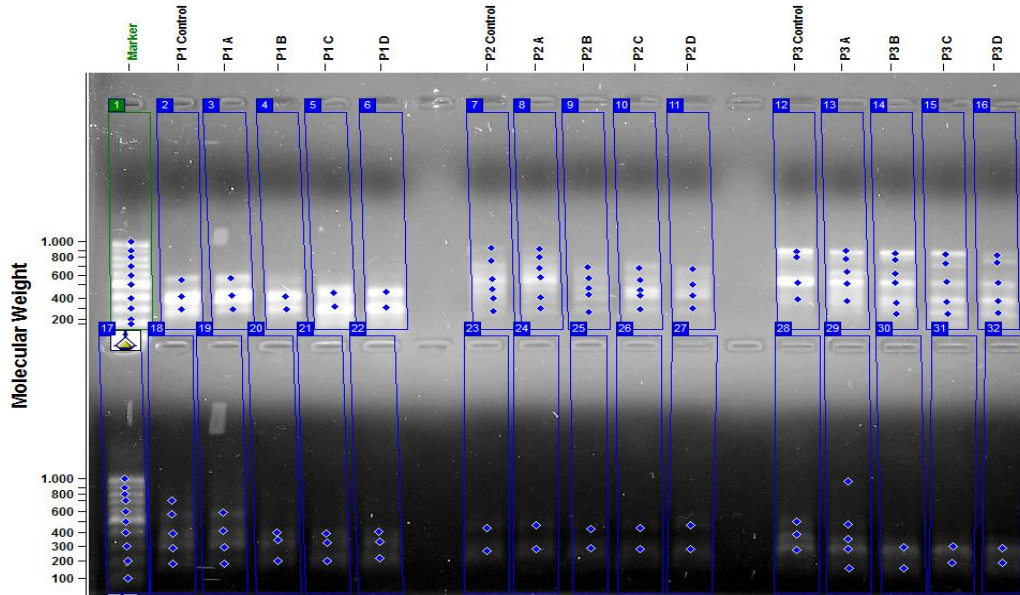
Hordeum vulgare L. tohumlarına yapılan uygulama sonucunda oluşan bantlar Çizelge 3.8'de sunuldu. Genomik stabilitenin ilk dozda en yüksek oranda olduğu (%72,93) tespit edildi. Polimorfizm oranlarının dozdan bağımsız bir şekilde değiştiği

gözlendi. En fazla polimorfik banda 0,132 μ L/mL dozunda rastlanırken en düşük oran 0,04 μ L/mL dozunda ölçüldü. Bant profillerinde ise yoğunluk değişimi gözlendi (Şekil 3.10).

Çizelge 3.8: *S. hortensis*'ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarının RAPD profilleri

No	Primer Adı	<i>Hordeum vulgare</i> L.					
		Kontrol	0,033 μ L/mL	0,066 μ L/mL	0,132 μ L/mL	0,264 μ L/mL	
1	P-1	3	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	549	549	549
2	P-2	6	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	940,759	940,759	940,759,679
3	P-3	4	+	636,270	636,270	725,270	270
			-	ND	ND	800	ND
4	P-4	5	+	ND	ND	ND	ND
			-	700	700,575,	700,575	700,575
5	P-5	2	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
6	P-6	3	+	974,157	ND	ND	ND
			-	ND	500,385	500,385	500,385
7	P-7	2	+	186	244	203	203
			-	ND	ND	391	391,328
8	P-8	1	+	ND	ND	515	515
			-	ND	ND	609	ND
Toplam bant		26		6	10	14	13
Polimorfizm oranı				23,07	38,46	53,84	50
GTS oranı				72,93	61,54	46,16	50

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar
P: Primer



Şekil 3.10: *Satureja hortensis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1, P-2, P-3, P-4, P-5 ve P-6 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

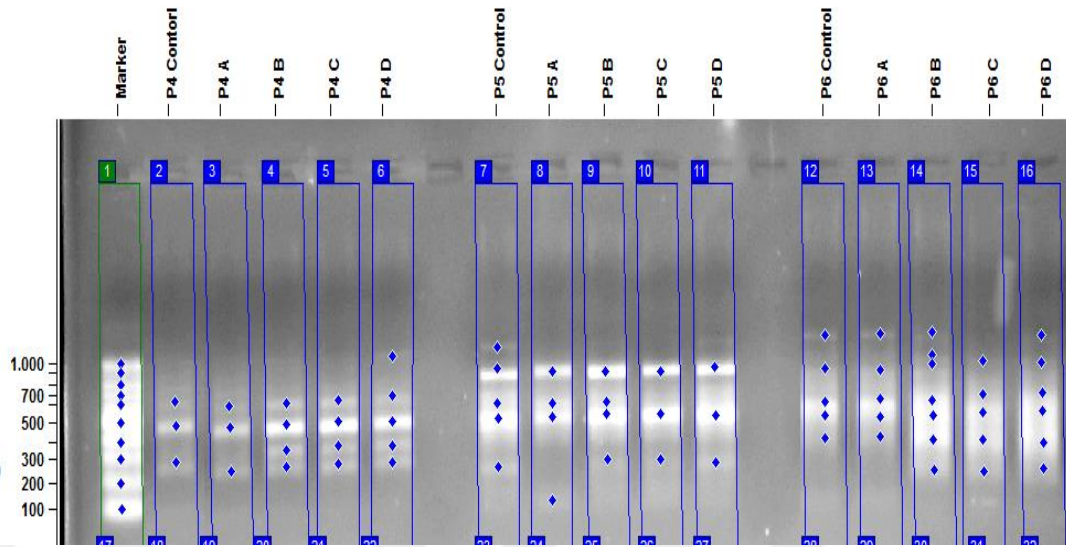
Satureja hortensis uçucu yağlarının genomik açıdan en az etkilediği bitki ise *Amaranthus retroflexus* olduğu gözlemlendi. En yüksek GTS oranının ölçüldüğü doz % 92,86 oranıyla 0,033µL/mL dozu olarak tespit edildi. Bu oran çalışmadaki genomik stabilitenin en yüksek olduğu oran olarak kayda geçti (Çizelge 3.9). 0,132µL/mL ve 0,264 µL/mL dozlarında ise genomik stabilitenin fazla bozulmadığı ve % 67,86 olduğu tespit edildi. Öte yandan uygulanan uçucu yağların, bantların yoğunluğunda önemli değişiklikler meydana getirmediği gözlemlendi (Şekil 3.13).

Çizelge 3.9: *Satureja hortensis*'ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının RAPD profilleri

No	Primer Adı	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.					
		Kontrol		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
1	P-1	3	+	ND	452	452	1035,452
			-	ND	ND	ND	ND
2	P-2	5	+	ND	234	ND	ND
			-	1075,362	1075	1075,719	1075,719
3	P-3	5	+	ND	1040,385	385	385
			-	ND	ND	1135	ND
4	P-4	4	+	ND	ND	629	629
			-	ND	ND	ND	ND
5	P-5	1	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
6	P-6	3	+	ND	421	421	421
			-	ND	ND	ND	ND
7	P-7	3	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
8	P-8	4	+	ND	1270	1270	1270
			-	ND	ND	460	460
Toplam bant		28		2	7	9	9
Polimorfizm oranı				7,14	25	32,14	32,14
GTS oranı				92,86	75	67,86	67,86

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

P: Primer



Şekil 3.11: *Satureja hortensis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1, P-2 ve P-3 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

3.4.2. *Melissa officinalis* uçucu yağlarının uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L.ve *Amaranthus retroflexus* örneklerinin RAPD profilleri

Melissa officinalis'ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Triticum aestivum*, tohumlarının RAPD profilleri Çizelge 3.10'de sunuldu. Uygulanan primerlerin buğday örneklerinde sınırlı miktarda bant ürettiği buna bağlı olarak polimorfik bantların da az olduğu gözlemlendi. En yüksek polimorfizm oranı 0,033 µL/mL dozunda %60 olarak belirlenirken genomik stabilitenin ise ilk doz hariç %50'nin üzerinde olduğu tespit edildi. Elde edilen RAPD görüntüleri Şekil 3.12' de sunuldu.

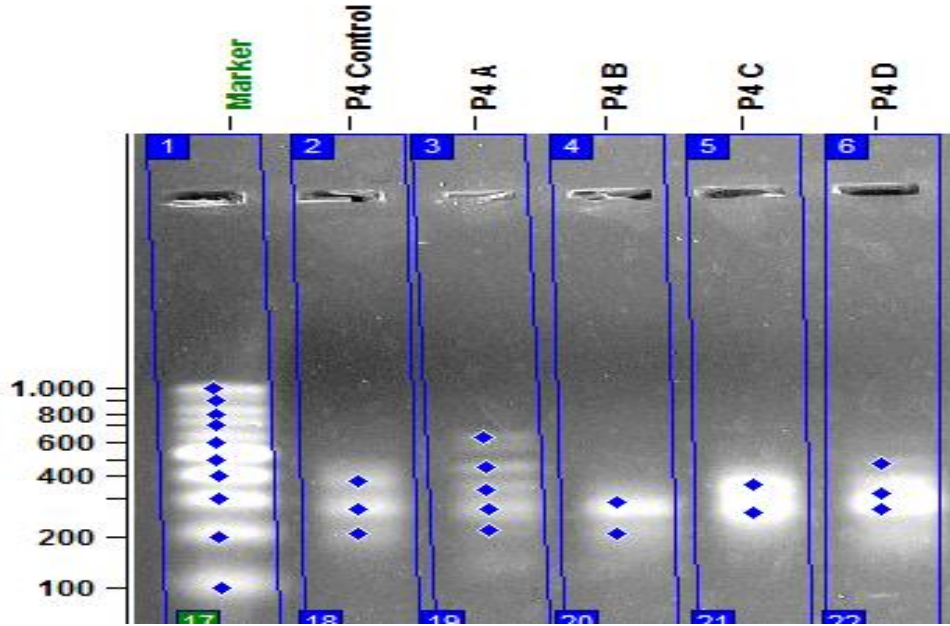
Çizelge 3.10: *M. officinalis*'ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Triticum aestivum*, tohumlarının RAPD profilleri

No	Primer Adı	<i>Triticum aestivum</i>					
		Kontrol		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
1	P-1	3	+	625, 469	ND	ND	483
			-	ND	431	309	ND
2	P-2	0	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
3	P-3	5	+	ND	ND	ND	ND
			-	984, 700, 600	700, 600	ND	ND
4	P-4	0	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
5	P-5	3	+	ND	ND	ND	ND
			-	591, 444	591	591	ND
6	P-6	3	+	ND	ND	ND	485
			-	608, 386	ND	ND	608
7	P-7	4	+	ND	680, 134	680, 134	134

8	P-8	2	-	469, 434	469	ND	ND
			+	ND	ND	733, 517, 408	517, 408
			-	550	550	550	550
Toplam bant		20		12	8	8	7
Polimorfizm oranı				60	40	40	35
GTS oranı				40	60	60	65

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

P: Primer



Şekil 3.12: *Melissa officinalis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

Triticum aestivum'un aksine *Melissa officinalis* uçucu yağlarının *Hordeum vulgare* L. tohumlarını yüksek oranda inhibisyona uğrattığı gözlemlendi. Kontrolde %100 olan genomik stabilitenin artan doza bağlı olarak % 48,3, 43,55, 37,10 ve 29,04 şeklinde düştüğü belirlendi. Polimorfizm oranının yüksek olarak tespit edildiği bu uygulamada en yüksek polimorfik bant sayısı 44 olarak (0,32 µL/mL) ölçüldü (Çizelge 3.11, Şekil 3.13).

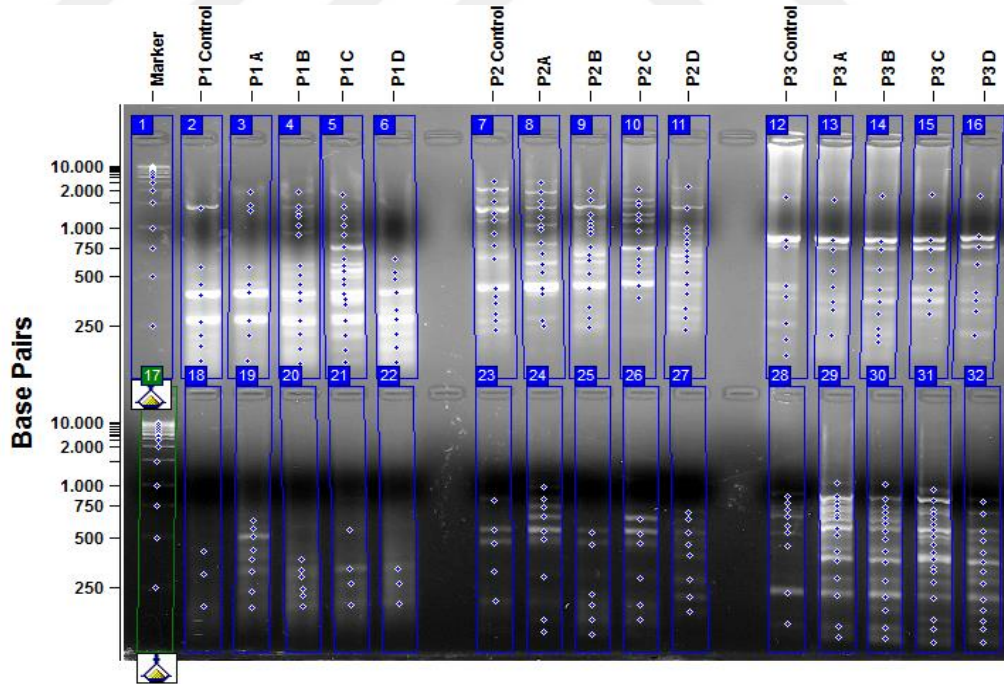
Çizelge 3.11: *M. officinalis*'ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarının RAPD profilleri

No	Primer Adı	<i>Hordeum vulgare</i> L.								
		Kontrol		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL			
1	P-1	8	+	2469, 2028,	2440, 2028,	2359, 2028,	2012,	2000,1976,1729,	1610,	1560, 1146
					2012,	2000,1976,	1560,1230			
					1560, 1230					
2	P-2	14	-	749	ND	ND	ND	ND	ND	ND
			+	1659, 1543	1659, 1543	1659, 1543				2001, 1983,
										1659, 1543

			-	1211, 1109	3114, 1048	1109, 3114, 1109	3114, 2469, 2018, 1109, 1048
3	P-3	8	+	1569	1569	1569, 972, 828	1569
			-	1018, 698	1018, 698	1018, 863, 698	1018, 698
4	P-4	3	+	1112, 1059, 1004, 876, 733	798, 733, 710	1049	733
5	P-5	5	-		921	921	ND
			+	1481, 1243, 1161, 590, 530	590, 530	1243, 1161, 590	1243, 1161, 896
6	P-6	9	-	720	1322, 720	1322, 720	1322, 720, 686
			+	1548, 1161, 1084, 1031, 506	1548, 1161, 1084, 1031, 550, 506	1548, 1161, 1084, 1031, 583, 506	1161, 1084, 1031, 879, 840, 583, 550, 506
7	P-7	5	-	ND	ND	ND	1285, 1161, 1084
			+	327	359	454	359, 208
			-	ND	484	484	484, 241, 75
8	P-8	10	+	658, 573, 484, 390, 208	573, 484, 390, 208	573, 484, 390, 208	573, 484, 390
			-	ND	ND	313	855, 737, 162
Toplam bant		62		32	35	39	44
Polimorfizm oranı				51,7	56,45	62,90	70,96
GTS oranı				48,3	43,55	37,10	29,04

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

P: Primer



Şekil 3.13: *Melissa officinalis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1, P-2, P-3, P-4, P-5 ve P-6 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

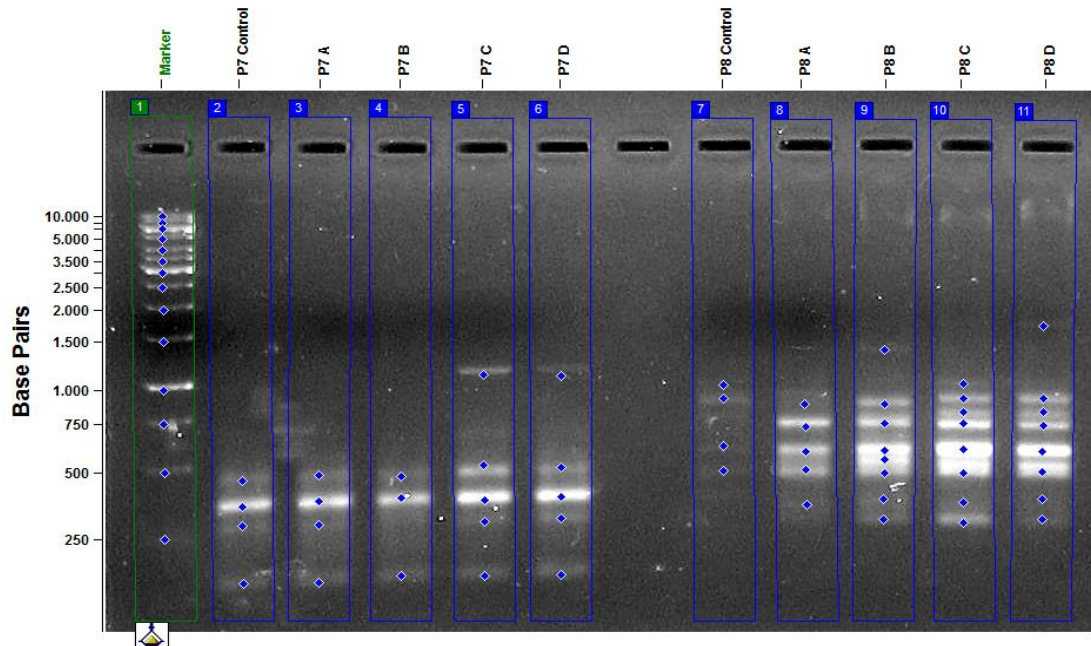
Aynı türün uçucu yağlarının *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarında 0,132 ve 0,264 µL/mL dozlarında yüksek oranda polimorfizme neden olduğu ve oranlarının her iki dozda da %85,18 olduğu belirlendi. Polimorfizm oranının ilk üç dozda artış gösterdiği 4. dozda ise sabitlendiği belirlendi (Çizelge 3.12, Şekil 3.14).

Çizelge 3.12: *M. officinalis*'ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının RAPD profilleri

No	Primer Adı	Kontrol	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.				
			0,033µL/mL	0,066 µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL	
1	P-1	3	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	ND	ND	ND
2	P-2	6	+	542	1017	1017	
			-	804	1183, 804,285	804, 443,285	1468, 804, 443,285
3	P-3	3	+	1468,621,142	819,621,	819,621	819,621
			-	ND	ND	913	913
4	P-4	3	+	ND	ND	ND	ND
			-	ND	490	490	490
5	P-5	2	+	809, 548, 401, 277	809, 548, 401,	809, 548, 401,	809, 548, 401,
			-	464,329	464	464,329	464,329
6	P-6	4	+	ND	ND	464	ND
			-	ND	ND	911,714	911,714
7	P-7	3	+	500	ND	1688, 701	1688, 701
			-	ND	ND	ND	ND
8	P-8	4	+	1013,649	1933,1013,78 6,649,755	1419,1013,649,75 5	2259,1419,1013,649, 755
			-	1583	ND	1583	1583
Toplam bant		27		15	16	23	23
Polimorfizm oranı				55,55	59,25	85,18	85,18
GTS oranı				44,45	40,75	14,82	14,82

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

P: Primer



Şekil 3.14: *Melissa officinalis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-7 ve P-8 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

3.4.3. *Ocimum basilicum* uçucu yağlarının uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L.ve *Amaranthus retroflexus* L. örneklerinin RAPD profilleri

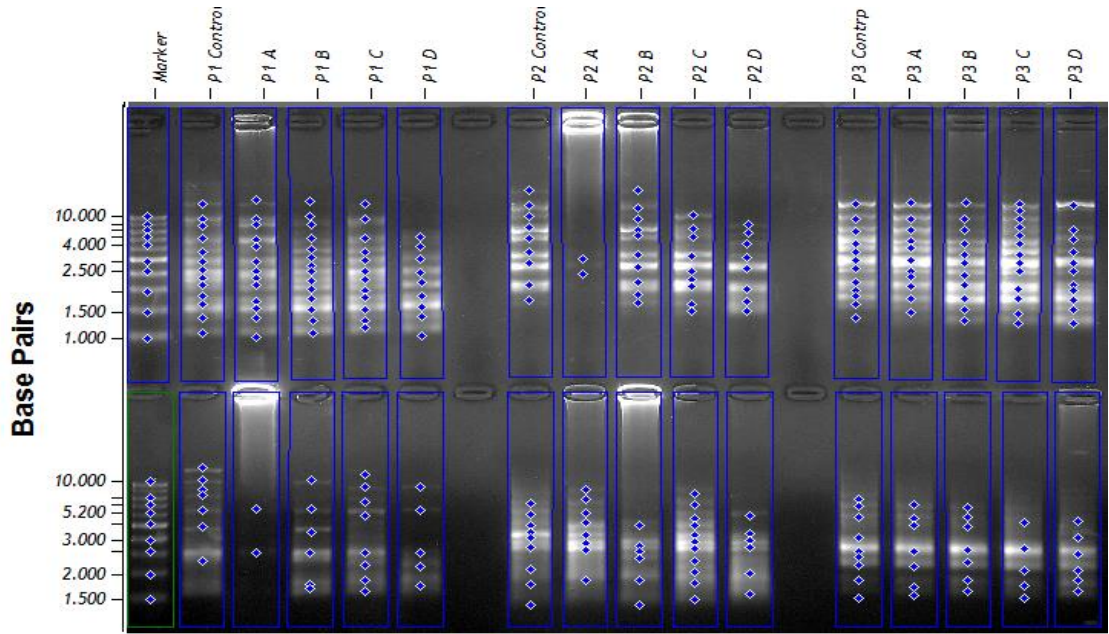
Ocimum basilicum L.'den elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Triticum aestivum*, tohumlarının RAPD profilleri Çizelge 3.13'da sunuldu. Uygulanan primerlerin buğday örneklerinde çok miktarda bant ürettiği gözlemlendi. En yüksek polimorfizm oranı 0,264 µL/mL dozunda %35,71 olarak belirlendi. Genomik satabilitenin ise 0,264 µL/mL doz hariç diğer dozlar %72,62'in üzerinde olduğu tespit edildi. Elde edilen RAPD bantları Şekil 3.15 ve Şekil 3.16' da sunuldu.

Çizelge 3.13: *Ocimum basilicum* L. elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarının RAPD profilleri

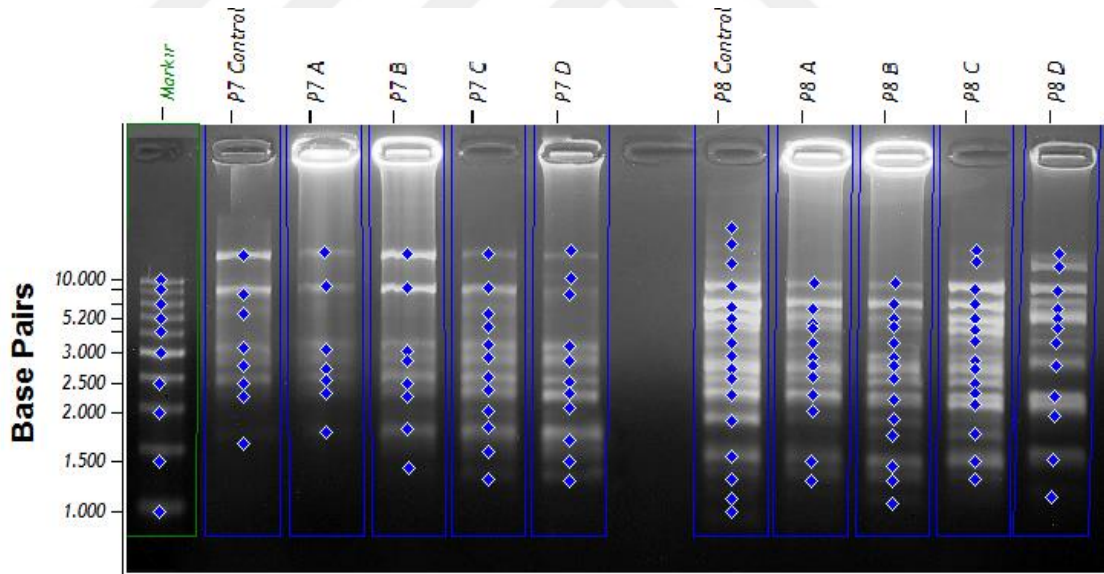
No	Primer Adı	Kontrol		<i>Triticum aestivum</i>			
				0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
1	P-13	13	+	ND	348	ND	483
			-	ND	431	109	1042, 816, 658, 257
2	P-12	9	+	ND	164	ND	394, 143
			-	1860, 1280, 858, 632, 442, 205, 170	ND	1860, 1280,	1860, 1280, 858
3	P-14	12	+	ND	ND	1140	ND
			-	ND	ND	ND	777
4	P-15	7	+	ND	183, 174	245, 183, 174	245
			-	1258, 1020, 841, 733, 381	1258,841, 733	1020,733, 561	1258, 1020,733, 381
5	P-16	9	+	841, 670	ND	841, 670,220	ND
			-	207, 141	632, 507, 207	ND	632,390, 183
6	P-17	9	+	ND	ND	ND	ND
			-	231	231	684, 596	684, 596
7	P-18	8	+	ND	144	433, 202, 181, 132	1075, 181, 132
			-	558	558	ND	558
8	P-19	17	+	ND	172	ND	ND
			-	2625, 2125, 1500, 112, 99	2625, 2125, 1500,	2625, 99	2625, 292, 255, 132, 99
Toplam bant		84		23	18	21	30
Polimorfizm oranı				27,38	21,42	25	35,71
GTS oranı				72,62	78,58	75	64,29

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

P: Primer



Şekil 3.15: *Ocimum basilicum* L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P 13, P-12, P-14, P-15, P-16, P-17 primerlere karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer)



Şekil 3.16: *Ocimum basilicum* L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-18 ve P-19 primerlere karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P= Primer)

Öte yandan *Ocimum basilicum* L. uçucu yağlarının uygulandığı arpa tohumlarının RAPD profilleri Çizelge 3.14'de sunuldu. Uygulamada polimorfik bant sayısı en az 0,033 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dozunda olup oranı %33,33 olarak gözlenirken en yüksek

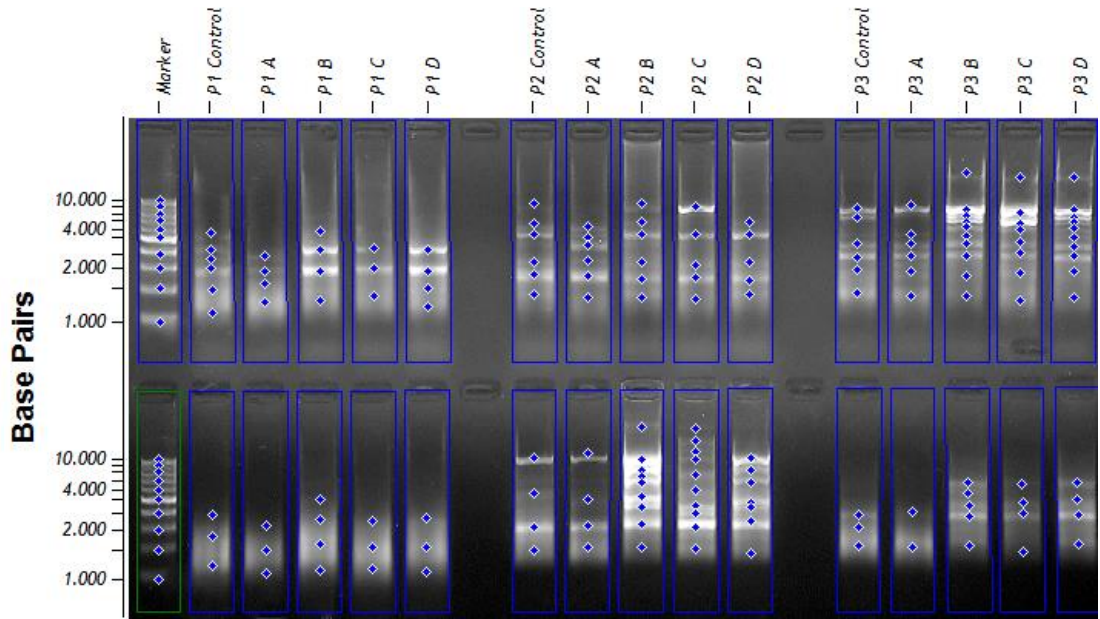
oran ise 0,132 µL/mL dozunda %59,52 olarak ölçüldü. Genomik stabilite ise 0,033 µL/mL’de %66,67 iken diğer dozlarda %50’nin altında olduğu tespit edildi. Elde edilen RAPD bant örnekleri Şekil 3.17 ve 3.18’de sunuldu.

Çizelge 3.14: *Ocimum basilicum* L. elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarının RAPD profilleri

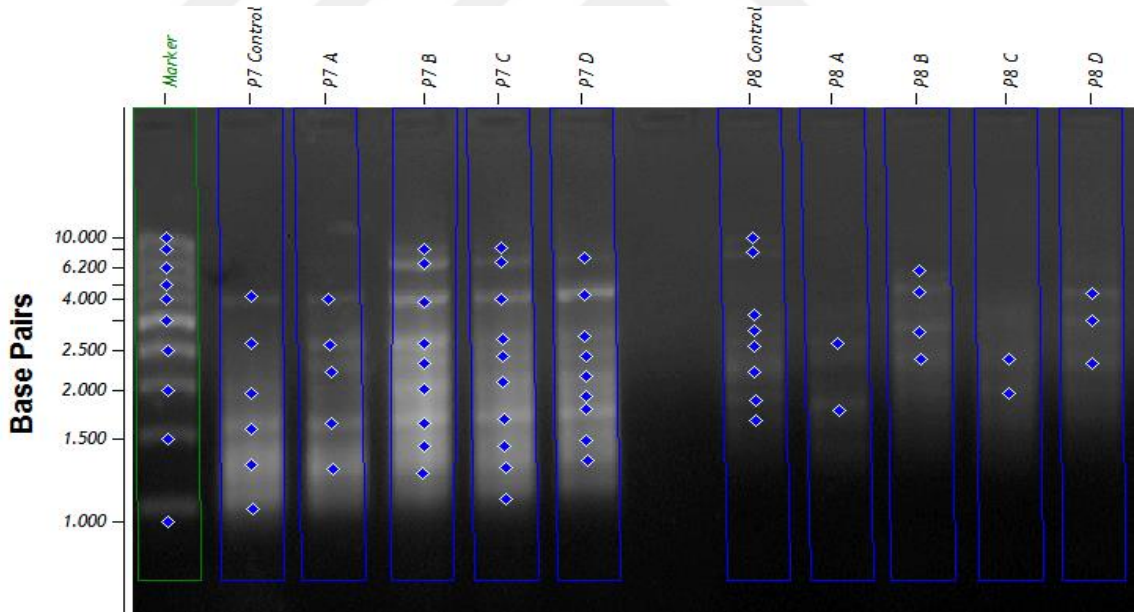
No	Primer Adı	Kontrol		<i>Hordeum vulgare</i> L.			
				0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
1	P-1	6	+	ND	ND	ND	ND
2	P-2	6	-	366, 235	235, 112	366, 235, 112	366, 251, 235
			+	300	ND	ND	ND
3	P-3	6	-	843	ND	466	843
			+	331	2166,484, 434, 309	2166, 484, 434	2166, 484, 434, 309
4	P-9	3	-	581	ND	581	ND
			+	ND	300	ND	ND
5	P-10	4	-	ND	ND	ND	ND
			+	ND	2714, 623, 552, 467,306	2714, 1942, 899, 623, 552, 265	623, 552,
6	P-4	3	-	ND	ND	ND	472
			+	ND	467, 336, 236	467, 236	467, 284
7	P-11	6	-	204	ND	ND	240
			+	ND	685, 614, 233	700, 614, 233, 210	614, 241, 216
8	P-8	8	-	106	106	ND	106
			+	ND	413	ND	413
Toplam bant		42	-	1000, 636, 313, 279, 221, 166	1000, 313, 187, 166	1000, 636, 313, 279, 166	1000, 636, 279, 187, 166
			+	14	24	25	24
Polimorfizm oranı				33,33	57,14	59,52	57,14
GTS oranı				66,67	42,86	40,48	42,86

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

P: Primer



Şekil 3.17: *Ocimum basilicum* L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1, P-2, P-3, P-9, P10, P-4 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)



Şekil 3.18: *Ocimum basilicum* L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-11, P-8 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

Ocimum basilicum L. uçucu yağlarının uygulandığı *Amaranthus retroflexus* tohumlarında en düşük GTS değeri 0,264 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dozunda %64,29 olarak belirlendi. Polimorfik bant sayısı 28 olarak tespit edildi (Çizelge 3.15, Şekil 3.19 ve 3.20).

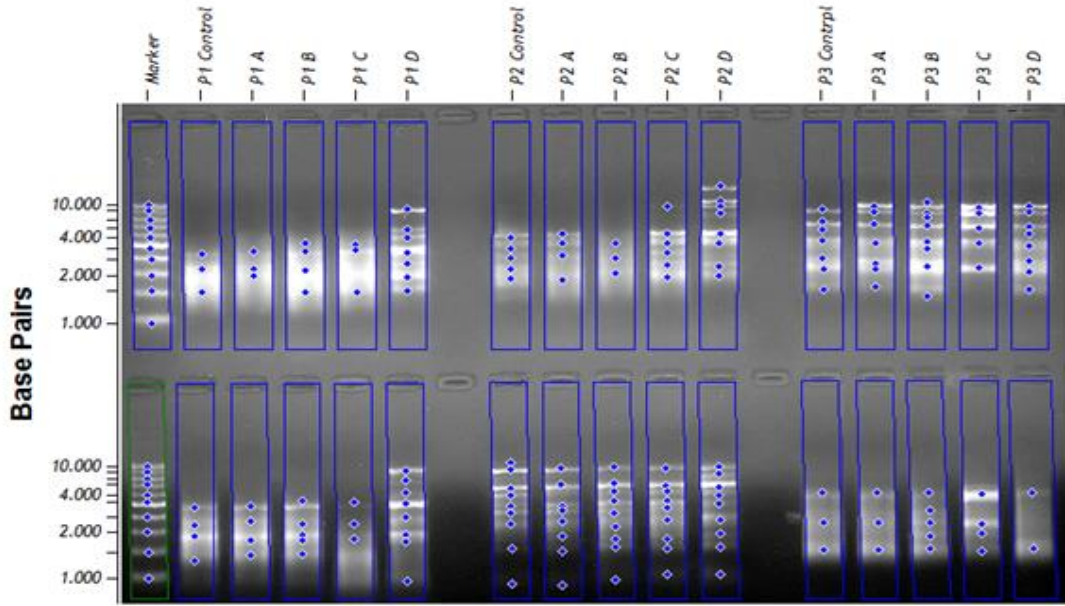


Çizelge 3.15: *Ocimum basilicum* L. elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının RAPD profilleri

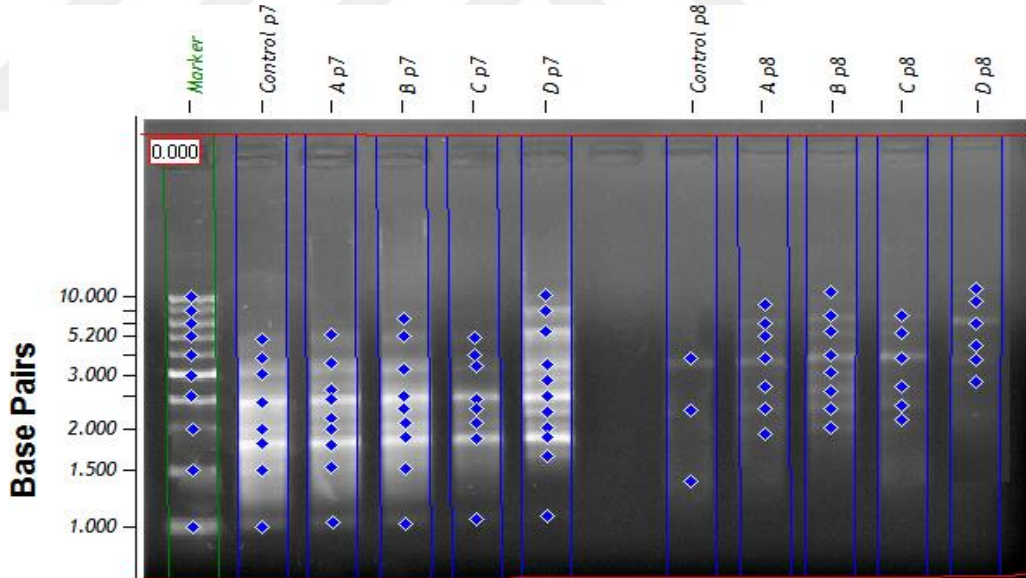
No	Primer Adı	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.					
		Kontrol	0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL	
1	P-1	3	+	200	348	348	726, 490, 400,a 192
			-	144	ND	220	ND
2	P-2	5	+	ND	ND	870	2012, 1225, 870, 637
			-	220	400, 190	ND	254
3	P-3	7	+	870	870, 622, 295	870	870,
			-	490	254	254, 151	ND
4	P-9	4	+	ND	176	ND	700, 575, 427, 93
			-	ND	ND	132	ND
5	P-10	9	+	184	184	184	641, 184
			-	1187, 391	1187	1187	1187
6	P-4	3	+	ND	255,184	184	ND
			-	ND	ND	ND	231
7	P-11	8	+	215	639, 215	215	1042, 700, 281
			-	ND	378	150	378
8	P-8	3	+	827,620, 520, 265, 190	827,620,520, 307,265	620, 520, 265, 212	827, 620, 520, 364
			-	138	138	138	225, 138
Toplam bant		42		15	21	17	28
Polimorfizm oranı				35,71	50	40,47	66,66
GTS oranı				64,29	50	59,53	33,34

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

P: Primer



Şekil 3.19: *Ocimum basilicum* L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-1, P-2, P-3, P-9, P10, P-4 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)



Şekil 3.20: *Ocimum basilicum* L. elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarından izole edilen DNA örneklerinin P-11 ve P-8 primerlerine karşı gösterdiği amplifikasyon ürünleri (P=primer, A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

3.5. Protein Analizi

Saturja officinalis, *Melissa officinalis* L. ve *Ocimum basilicum* L. türlerinin uçucu yağlarının çimlenen *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum* ve *Amaranthus*

retroflexus tohumlarının, protein profillerini belirlemek için numunelerden total proteinler izole edildi. SDS-PAGE yöntemi ile örneklere ait protein profilleri belirlenmeye çalışıldı. Farklı dozlarda uçucu yağlar uygulanarak çimlendirilen tohumların 25 °C etüvde bir haftalık kök ve gövde gelişiminin ardından elde edilen sürgünlerden protein izolasyonu yapıldı. Değerlendirme TOTAL LAB TL 120 yazılım ile yapıldı.

3.5.1. *Satureja hortensis* uçucu yağlarının uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve *Amaranthus retroflexus* L. örneklerinin Protein (SDS-PAGE) profilleri

Satureja hortensis uçucu yağlarının uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarının SDS-PAGE profilleri Çizelge 3.16’de sunuldu. Uygulanan doza bağlı olarak bant sayısına bakıldı. Kontrol ile 0,132 µL/mL de bant sayısı aynı iken 0,033 µL/mL, 0,066 µL/mL ve 0,264 µL/mL de ise bant sayısında azalma görüldü. En fazla polimorfizm oranı 0,033 µL/mL dozunda %37,50 olarak belirlendi (Çizelge 3.16).

Çizelge 3.16: *Satureja hortensis* uçucu yağlarının uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarının SDS-PAGE profilleri

		<i>Hordeum vulgare</i> L.			
Kontrol		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
8	+	ND	ND	ND	ND
	-	962, 675, 453	675	ND	675
Polimorfik bant		3	1	0	1
Polimorfizm oranı		37,50	12,50	0	12,50

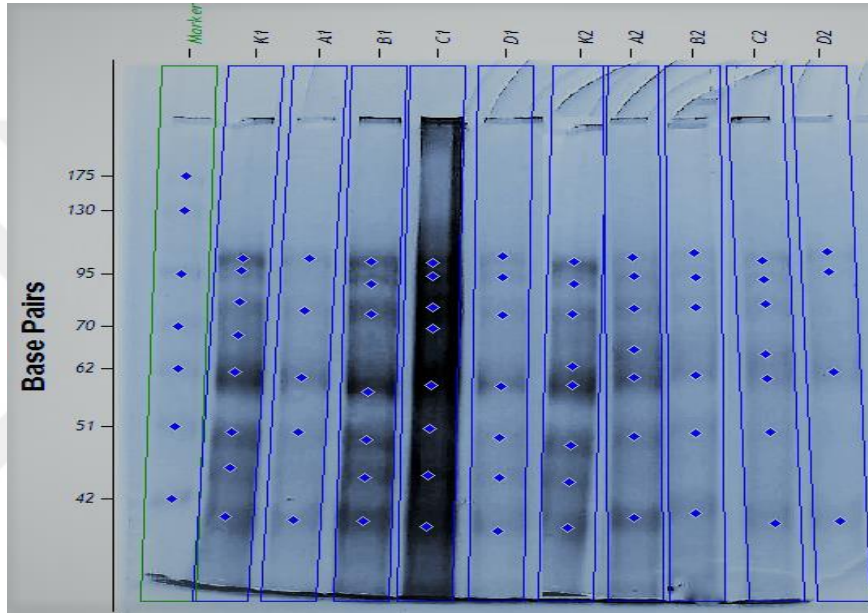
ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

Triticum aestivum protein profilindeki bant sayısının tüm dozlarda farklılık gösterdiği belirlendi (Şekil 3.21, Çizelge 3.17). Polimorfizm oranı en fazla 0,264 µL/mL dozunda %50 olarak gözlendi. 0,033 µL/mL ile 0,132 µL/mL dozlarında ise polimorfizm oranı %12,50 olarak belirlendi.

Çizelge 3.17: *Satureja hortensis* uçucu yağlarının *Triticum aestivum* tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri

		<i>Triticum aestivum</i>			
Kontrol		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
8	+	ND	ND	ND	ND
	-	436	748, 436	436	748, 622, 480, 436
Polimorfik bant		1	2	1	4
Polimorfizm oranı		12,50	25,00	12,50	50,00

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.



Şekil 3.21: *Satureja hortensis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. ve *Triticum aestivum* tohumlarından izole edilen protein örnekleri K1 ile başlayan *Hordeum vulgare* L. dozları (K1= Kontrol A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz) K2 ile başlayan ise *Triticum aestivum* dozları (K2= Kontrol A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

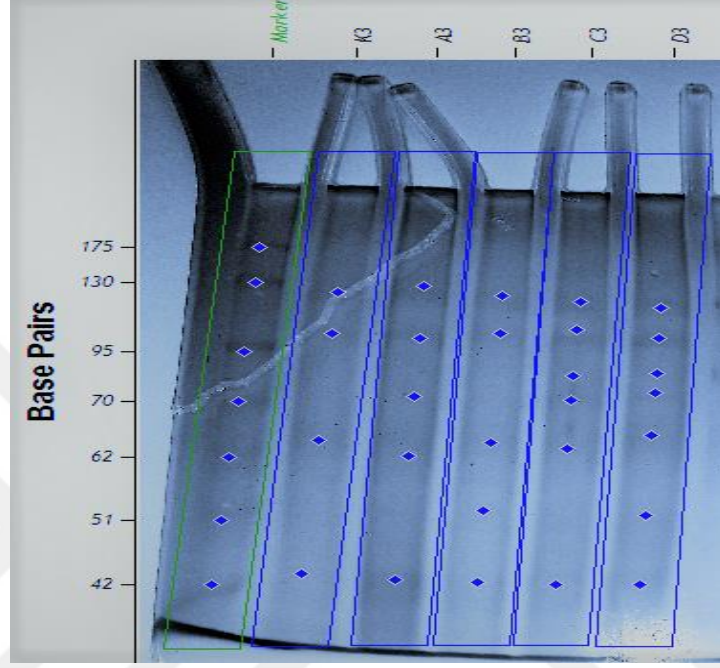
Satureja hortensis uçucu yağlarının uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının protein profilleri Çizelge 3.18'de sunuldu. Polimorfik bant sayısının 0,033 µL/mL ile 0,066 µL/mL dozlarında aynı diğer dozlarda ise artan doza bağlı olarak arttığı belirlendi (Şekil 3.22).

Çizelge 3.18: *Satureja hortensis* uçucu yağlarının uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L tohumlarının SDS-PAGE profilleri

		<i>Amaranthus retroflexus</i> L.			
Kontrol		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
4	+	714	523	821, 714	821, 714, 523
	-	ND	ND	ND	ND

Polimorfik bant	1	1	2	3
Polimorfizm oranı	25,00	25,00	50,00	75,00

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.



Şekil 3.22: *Satureja hortensis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarından izole edilen protein örnekleri K3 ile başlayan *Hordeum vulgare* L. dozları (K3= Kontrol A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

3.5.2. *Melissa officinalis* L. uçucu yağlarının uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve *Amaranthus retroflexus* L. örneklerinin Protein (SDS-PAGE) profilleri

Melissa officinalis'ten elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum* ve *Amaranthus retroflexus* tohumlarının protein profilleri Şekil 3.23 ve 3.24' te sunuldu.

Hordeum vulgare L. tohumlarına uygulanan *Melissa officinalis* uçucu yağı 0,033 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dozunda herhangi bir polimorfik bant üretmezken diğer dozlarda bantların kaybolması kaydıyla polimorfizme neden olduğu belirlendi (Çizelge 3.19).

Çizelge 3.19: *Melissa officinalis* L. uçucu yağlarının uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarının SDS-PAGE profilleri

		<i>Hordeum vulgare</i> L.			
Kontrol		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
5	+	ND	ND	ND	ND
	-	ND	508	784, 508	748, 508
Polimorfik bant		0	1	2	2
Polimorfizm oranı		0	20,00	40,00	40,00

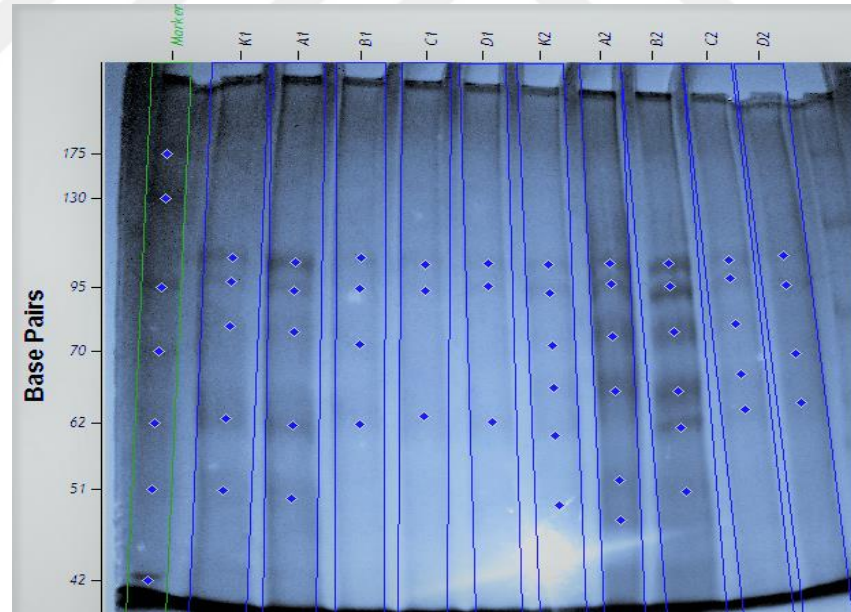
ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

Melissa officinalis L. yağının uygulandığı buğday tohumlarında 0,066 µL/mL dozu haricinde diğer dozlarda polimorfik bantlara rastlandı. Polimorfik bantların genellikle kayıp bant şeklinde ortaya çıktığı belirlendi (Çizelge 3.20).

Çizelge 3.20: *Melissa officinalis* L. uçucu yağlarının uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarının SDS-PAGE profilleri

		<i>Triticum aestivum</i>			
Kontrol		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
6	+	526	ND	526	ND
	-	605	ND	605, 487	718, 605, 487
Polimorfik bant		2	0	3	3
Polimorfizm oranı		33,33	0	50,00	50,00

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.



Şekil 3.23: *Melissa officinalis*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı arpa ve buğday tohumlarından elde edilen protein örnekleri K1 ile başlayan arpanın dozları (K1= Kontrol A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz) K2 ile başlayan ise buğdayın dozları (K2= Kontrol A= 1.doz, B= 2. Doz, C= 3. Doz, D=4. Doz)

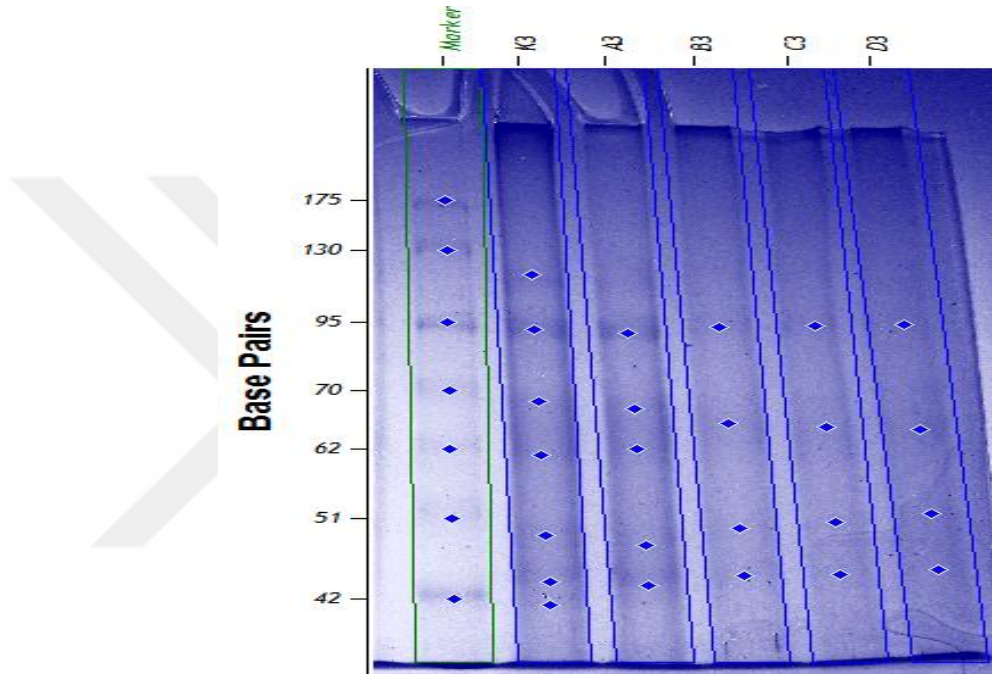
Uygulanan uçucu yağların tüm dozlarda *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarında polimorfik bantlar ürettiği ve oranın genellikle %42,85 olduğu gözlemlendi. Polimorfik bantların genellikle kayıp bant şeklinde ortaya çıktığı belirlendi (Çizelge 3.21, Şekil 3.24).



Çizelge 3.21: *Melissa officinalis* L. uçucu yağlarının uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının SDS-PAGE profilleri

		<i>Amaranthus retroflexus</i> L.			
Kontrol		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
7	+	ND	ND	ND	ND
	-	1151, 413	1151, 677, 413	1151, 677, 413	1151, 677, 413
Polimorfik bant		2	3	3	3
Polimorfizm oranı		28,57	42,85	42,85	42,85

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.



Şekil 3.24: *Melissa officinalis*'den elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarından elde edilen protein örnekleri K3 ile başlayan *Amaranthus retroflexus* L. dozları (K3= Kontrol A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

3.5.3 *Ocimum basilicum* L. uçucu yağlarının uygulandığı *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L.ve *Amaranthus retroflexus* L. örneklerinin Protein (SDS-PAGE) profilleri

Ocimum basilicum L. türünden elde edilen uçucu yağların uygulandığı *Hordeum vulgare* L. tohumlarının protein profillerinde dozdan bağımsız değişimler gözlemlendi. Kontrol grubu ile de 0,066 µL/mL dozları arasında yüksek oranda benzerlik tespit edildi. En yüksek polimorfizm oranı ise 0,132 µL/mL dozunda saptandı (Çizelge 3.22, Şekil 3.25).



Çizelge 3.22: *Ocimum basilicum* L. uçucu yağlarının uygulandığı *Hordeum vulgare* L.tohumlarının SDS-PAGE profilleri

Kontrol		<i>Hordeum vulgare</i>			
		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
5	+	ND	ND	976, 882, 448	976, 448
	-	772, 494	ND	ND	ND
Polimorfik bant		2	0	3	2
	Polimorfizm oranı	40,00	0	60,00	40,00

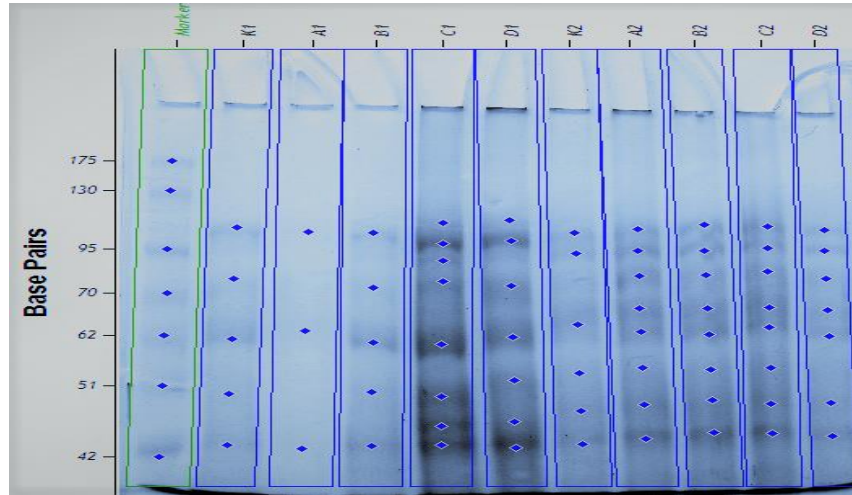
ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.

Ocimum basilicum L. uçucu yağlarının uygulandığı buğday tohumlarının protein profillerinde ise ilk üç dozda bant sayısı aynı ölçülürken dördüncü dozda bant sayısında değişiklik gözlemlendi. Polimorfizm oranı en yüksek 0,264µL/mL dozunda %50 olarak belirlendi (Çizelge 3.23, Şekil 3.25).

Çizelge 3.23: *Ocimum basilicum* L. uçucu yağlarının *Triticum aestivum* tohumlarına uygulandığı SDS-PAGE profilleri

Kontrol		<i>Triticum aestivum</i>			
		0,033µL/mL	0,066µL/mL	0,132µL/mL	0,264µL/mL
6	+	788, 656	788, 656	788, 656	788, 656
	-	ND	ND	ND	538
Polimorfik bant		2	2	2	3
	Polimorfizm oranı	33,33	33,33	33,33	50,00

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.



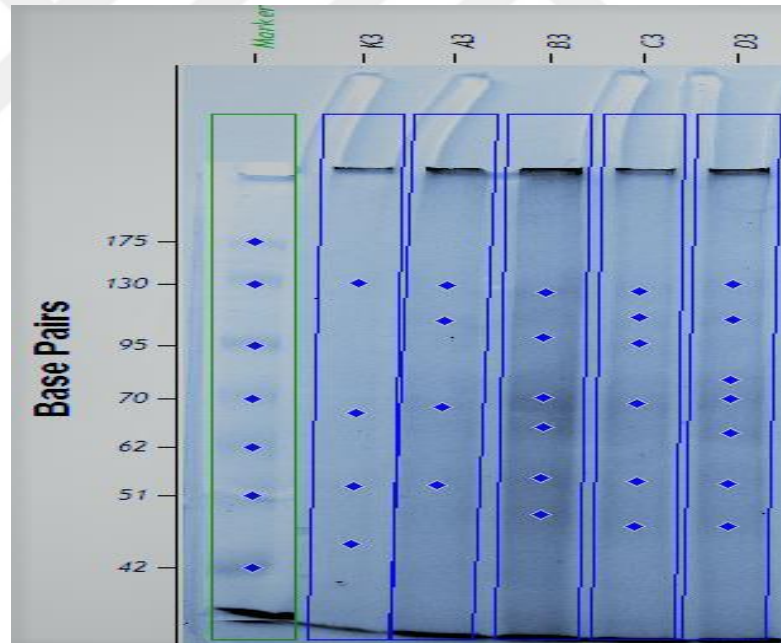
Şekil 3.25: *Ocimum basilicum*'ten elde edilen esansiyel yağların uygulandığı arpa ve buğday tohumlarından elde edilen protein örnekleri K1 ile başlayan arpanın dozları (K1= Kontrol A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz) K2 ile başlayan ise buğdayın dozları (K2= Kontrol A= 1.doz, B= 2. Doz, C= 3. Doz, D=4. Doz)

Ocimum basilicum L. uçucu yağlarının uygulandığı horozibiği tohumlarının protein profillerinin ise maksimum oranda polimorfizm sergilediği tespit edildi. Artan doza bağlı olarak bant sayısında artma olduğu belirlendi. 0,066 $\mu\text{L}/\text{mL}$ ve 0,132 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dozlarında tespit edilen polimorfik bant sayısı kontroldeki bant sayısı ile aynı olup 0,264 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dozunda ise yüksek oranda polimorfizm olduğu belirlendi. (Çizelge 3.24, Şekil 3.26).

Çizelge 3.24: *Ocimum basilicum* L. uçucu yağlarının uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L tohumlarının SDS-PAGE profilleri

		<i>Amaranthus retroflexus</i> L.			
Kontrol		0,033$\mu\text{L}/\text{mL}$	0,066$\mu\text{L}/\text{mL}$	0,132$\mu\text{L}/\text{mL}$	0,264$\mu\text{L}/\text{mL}$
4	+	1068	990, 664, 475	1068, 990, 459	1068, 773, 664, 459
	-	440	440	440	440
Polimorfik bant		2	4	4	5
Polimorfizm oranı		50,00	100,00	100,00	125,00

ND: Belirlenmedi, -:Kaybolan bantlar, +:Oluşan bantlar.



Şekil 3.26: *Ocimum basilicum*' dan elde edilen esansiyel yağların uygulandığı *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarından elde edilen protein örnekleri K3 ile başlayan *Amaranthus retroflexus* L .dozları (K3= Kontrol A= 1.doz, B=2. Doz, C=3. Doz, D=4. Doz)

4.TARTIŞMA ve SONUÇ

Uçucu yağları da içeren sekonder metabolitler biyolojik aktiviteleri olan doğal bileşiklerdir. Sekonder metabolitlerin bitkide; hoş koku salgılanması, savunma mekanizması ve allelopatik etki gibi birçok fonksiyonları bilinmektedir. Sekonder metabolitler üretildikleri bitkilerde doğal savunma elemanı olarak iş görüp bitki-bitki, fungus, bakteri ve böcekler gibi birçok organizmaya karşı bitkiyi savunmaktadırlar. Bitkilerin salgıladığı bu bileşenler günümüzde farklı yöntemlerle bitkilerden izole edilerek tıp, eczacılık, parfümeri, deterjanlar ve tarım gibi alanlarda da kullanılmaktadır. Özellikle aromatik metabolitlerin yüksek oranda aktivite gösterdikleri bilinmektedir. Aromatik içerik bakımından Lamiaceae bitki faniyasının üyeleriyle olan mevcut çalışmada *Satureja hortensis*, *Melisa officinalis* ve *Ocimum basilicum* türlerinden elde edilen esansiyel yağların *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve yabancı ot olarak bilinen *Amarantus retroflexus* L. tohumlarının çimlenme oranına, aynı tohumlardaki genomik kararlılığa ve fenotipik karakterleri üzerine etkileri araştırıldı. Elde edilen uçucu yağların içerikleri GC-MS ile analiz edildi. Major bileşenlerin karvon, α -selinen, karvakrol, sitral ve feron²⁰ gibi bileşenler olduğu tespit edildi. Söz konusu türlerden elde edilen uçucu yağlar *in vitro* koşullarda *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* L. ve *Amarantus retroflexus* L. tohumlarına 0,033- 0,066- 0,132 ve 0,264 μ l/ml dozlarda uygulandı. Çimlendirilen örneklerin kök ve gövde uzunlukları, yedinci günün sonunda ölçülüp istatistiksel olarak değerlendirildi. Genomik kararlılık ölçümü için RAPD tekniği kullanılmış ve 19 farklı oligonükleotid primerine karşı amplifikasyonlar ölçüldü, Sonuçlar Total Lab. TL. 120 paket programı ile değerlendirildi. SDS-PAGE tekniği ile uçucu yağ uygulanan tohum örneklerinin proteinlerindeki fenotipik değişiklikler belirlendi.

Satureja hortensis türüne ait uçucu yağlar %97,52 oranında, toplam 38 içerik olarak tespit edildi (Çizelge 3.1). İçeriğin majör bileşenleri % 15,36 Sikloheksazonen (Karvon), %14,69 Karvakrol, %13,03 Simen, %11,86 Fenol ve %10,61 Timol oluşturmaktadır. Minör bileşenler ise %0,03 Aromadenderene, %0,04 Pyretrin ve %0,05 Kaptofol olarak tespit edildi. Literatürde mevcut çalışmada tespit edilen içeriklere benzer içeriklerin bulunduğu tespit edilmiştir (Mahboubi, 2011; Khajeh, 2011). Aksine

Djenea vd. (2011)'nin yaptığı çalışmada majör bileşenin %94 oranında terpinen olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun bitkinin toplandığı döneme, uçucu yağın elde edildiği bitki kısmına, tekniğe iklimsel farklılıklardan kaynaklandığı söylenebilir.

Satureja hortensis uçucu yağının uygulandığı *Triticum aestivum* (buğday) tohumlarında genel anlamda doza bağımlı olarak çimlenme oranının düştüğü gözlenmiştir. 0,066 µl/ml dozunun ise kök gelişimini teşvik ettiği belirlenmiştir (Çizelge 3.4). Uçucu yağların çimlendirilen *Triticum aestivum* tohumlarının GTS oranında ise dozdan bağımsız değişimlere neden olduğu gözlenmiştir. 0,033 µL/mL dozunda GTS oranı %81,82 olarak ölçülürken, 0,066 µl/ml ve 0,132 µl/ml dozlarında ise en düşük oran (%45,46) tespit edilmiştir. SDS-PAGE'de ise kontrole grubuna göre bant sayısında azalma olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.17). Polimorfizm oranı 0,033 µl/ml ve 0,066 µl/ml dozlarında %12,5 iken en yüksek polimorfizm oranı 0,264 µl/ml dozunda %50 olarak belirlenmiştir. Literatürdeki *Satureja* türüne ait benzer çalışmalarda ise, Yousefzadi (2014) *Satureja khuzistanica* türünün esansiyal yağının antimikrobiyal ve sitotoksik etkilerinin olduğu belirlemiştir. Çeker (2014)'in yaptığı çalışmada *Satureja hortensis*'in güçlü bir antioksidatif ve antijenotoksik etkiye sahip olduğunu belirlemiştir. Bunların aksine Bozari (2016) *S. hortensis*'ten elde ettiği uçucu yağ fasulye tohumlarına uygulamış ve GTS değerinde önemli derecede değişimin olduğunu saptamıştır.

Satureja hortensis türünden elde edilen uçucu yağların, *Hordeum vulgare* L. (arpa) tohumlarında dozdan bağımsız olarak kök gelişimini teşvik ettiği saptanmıştır. Gövde gelişiminde kontrole göre önemli sayılabilecek inhibisyon gözlenirken (Çizelge 3.4) GTS oranının ise 0,132 µl/ml dozunda %46,16'ya düştüğü protein profilindeki polimorfizm oranının 0,033 µl/ml dozunda %37,50 olduğu belirlenmiştir.

Satureja hortensis türünden elde edilen uçucu yağların *Amaranthus retroflexus* L. (horozibiği)'nin tohumlarının çimlenme oranını kontrol grubuna göre artan doza bağlı olarak azalttığı belirlenmiştir. Uçucu yağların uygulandıkları *Hordeum vulgare* L., *Triticum aestivum*, *Amaranthus retroflexus* tohumlarından kök gelişimini en fazla

Amaranthus retroflexus L. tohumlarında inhibisyona uğrattıkları belirlenmiştir (Çizelge 3.4, Şekil 2).

Yağların uygulandığı tohumlarda GTS oranı en fazla *Amaranthus retroflexus* 'da % 92,86 olarak ölçülmüştür. Artan doza bağlı olarak GTS oranında düşme olduğu 0,132 µl/ml ve 0,264 µl/ml'deki dozlarda %67,86'de sabitlendiği belirlenmiştir. Protein profillerinde polimorfizm oranı artan dozla beraber en yüksek 0,264 µl/ml'de %75 olarak tespit edilmiştir.

Bulgulardan elde edilen verilere göre uygulanan bileşenlerin genel anlamda tüm tohumlarının çimlenme oranlarını düşürdüğü bazı dozlarda büyümeyi teşvik ettiği, genom kararlılığını değiştirdiği ve bu değişimin yüksek dozlarda fenotipik olarak protein profillerine yansıdığı belirlenmiştir. Özellikle bitki köklerinden salınan bazı terpenlerin sinyal molekülleri olarak hareket edip bitki gelişimini aktive ettiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Zhi-lin vd., 2007). Buğday tohumlarının 0,132 µl/ml dozunda buna benzer bir aktivite tespit edilmiştir. Öte yandan *Satureja hortensis*'ten elde edilen uçucu yağlar arasında da bulunan jasmonik asit ve türevlerinin bitki büyüme inhibitörü oldukları hatta bu etkinin absisik asitten daha fazla olabileceği vurgulanmıştır (Dathe vd., 1981). Çalışmamızda bazı dozlarda farklı tohumların benzer şekilde uygulanan uçucu yağlardan etkilenmesi içerikte bulunan bazı bileşenlerin inhibe edici özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Uygulanan içeriklerin DNA etkileşimleri ile protein profillerini farklı dozlarda farklı oranlarda etkilemeleri de içeriğin çeşitlilik göstermesinden kaynaklanmıştır. Benzer aktivite Mezzoug vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada da gözlenmiştir. Bu çalışmaya göre majör içeriği karvakrol olan *Origanum compactum* türünden elde edilen uçucu yağlar etilmetilsülfonat mutajenine karşı antigenotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Uçucu yağların genellikle genotoksik olmadığı ancak hücre ve organellerin zarlarını etkilemek koşuluyla sitotoksik olabilecekleri önceki çalışmalarda belirtilmiştir (Bakkali vd., 2008). Ancak bazı uçucu yağ içeriklerinin DNA'ya bağlanma özelliklerinin olduğu yine aynı çalışmada belirtilmiştir. Benzer bileşenlerin reaktif oksijen moleküllerinin üretimini sağlamak koşuluyla söz konusu bitkilerdeki protein profillerini etkileyebilecekleri literatür taramaları ile de desteklenmiştir.

Melisa officinalis türünden elde edilen uçucu yağların içeriği GC-MS analizi sonucu % 51.58'i olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.2). İçeriğin majör bileşenlerinin bir kısmını E-sitral (%11.26), (-)-Karyofilen oksit (%9.74) ve Z-sitral (%9.07) oluştururken, minör bileşenlerin ise Methoprene (%0,27) ve Kaptafol (%0,31) olduğu belirlenmiştir. Literatürdeki çalışmalarda ise benzer içerikler mevcuttur (Saeb vd., 2012 ; Bounihi vd., 2013). Örneğin; Mimica vd., (2004)'nin yaptığı çalışmada neral (Z-sitral) ile gerenial (E-sitral) majör bileşenlerken minör bileşenler mevcut çalışmadan farklılık göstermiştir. Tam aksine Hussain vd., (2011) içeriğin %27,4'ünü 1,8-Sineol, Adinee vd., (2008) ise içeriğin % 28,89'ünü Trans-karveol olarak belirlemiştir. Uçucu yağ içerik değişikliğinin sebepleri; bitkilerin farklı dönemlerde toplanmış olması, iklim farklılıkları, esansiyel yağın bitkiden elde edildiği kısma ve tekniğe bağlı olası değişiklikler göstermesi mümkündür.

Melisa officinalis'den elde edilen uçucu yağlar uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarının gövde gelişimini artan doza bağımlı, kök gelişimini ise dozdan bağımsız olarak düşürdüğü belirlenmiştir. Maksimum inhibisyon 0,264 µl/ml olan dördüncü dozda görülmüştür (Çizelge 3.5). GTS oranının ise artan doza paralel olarak arttığı belirlenmiştir. 0,033 µl/ml dozunda %40 iken 0,264 µl/ml dozunda %65' e yükseldiği gözlemlenmiştir. SDS-PAGE protein profilinde polimorfizm oranı 0,132 µl/ml ve 0,264 µl/ml dozlarda en yüksek %50 olarak belirlenmiştir. (Çizelge 3.20).

Aynı türden ekstre edilen uçucu yağların *H.vulgare* L. tohumlarına uygulanması sonucunda; tohumların kök gelişimini artan doza bağımlı olarak, gövde gelişimini ise dozdan bağımsız olarak ancak istatistiksel olarak önemli sayılabilecek oranda inhibisyona uğrattığı tespit edilmiştir. RAPD profillerinde ise artan doza bağımlı olarak GTS oranında düşüş olduğu görülmüştür. 0,264 µl/ml dozunda en düşük GTS oranı %29,04 olarak ölçülmüştür. SDS-PAGE protein profillerinde ise ilk dozda polimorfizm gözlenmezken 0,132 µl/ml ve 0,264 µl/ml dozlarında en yüksek (%40) polimorfizm oranı tespit edilmiştir. Uygulanan yağların *A. retroflexus* tohumlarının kök gelişimini 0,033 µl/ml dozunda teşvik ettiği saptanmıştır. 0,264 µl/ml'deki en yüksek dozda ise inhibisyon oranı maksimum olarak ölçülmüştür. RAPD profilinde ise GTS oranı 0,132 ve 0,264 µl/ml'deki dozlarında en düşük (%14,82) oranında olduğu belirlemiştir.

Protein profillerinin ise kontrole göre değişmekle beraber son üç dozda %42,85'e sabitlendiği gözlenmiştir.

Elde edilen verilere göre *Melisa officinalis*'den elde edilen uçucu yağlar uygulandığı *Triticum aestivum* tohumlarında genomik kararlılığın artan doza bağlı olarak yükseldiği ancak çimlenme oranlarının inhibisyona protein profillerinin ise değişikliğe uğradığı saptanmıştır. Bu durum, söz konusu tohumların çimlenirken fizyolojik olarak strese girmiş olabileceğini ancak genomik olarak fazla etkilenmediklerini göstermektedir. Aynı durum *H.vulgare* L. tohumlarında kısmen farklılık göstermiştir. Buğday tohumlarının aksine arpa tohumlarında genomik kararlılığın düştüğü tespit edilmiştir. Uçucu yağların horozibiği tohumlarında ise kök gelişimini genel olarak inhibe ettiği, GTS oranını önemli derecede düşürdüğü ve protein profillerinde de değişikliğe neden oldukları belirlenmiştir. Literatürde benzer çalışmalara rastlamak mümkündür. Örneğin; Almeida (2010), içerisinde *M.officinalis*'in de bulunduğu 12 bitkinin uçucu yağlarının, farklı dozlarda turp, marul ve tere tohumlarının çimlenmeleri üzerine etkilerinin olduğunu belirlemiştir. Özellikle sitral türevlerinin çeşitli hücrelerde elektron verici bileşenlerle bir yük transfer kompleksi oluşturarak aktivite gösterdikleri ve bu aktivitenin hücre ölümüne neden olabileceği üzerinde durulmuştur (Chutia vd., 2009). Karyofilen gibi bileşenlerin ise mitokondride ETS zincirini inhibe (Monzote vd., 2009) ederek hücre solunumu ve enerji metabolizmasını bozduğu görülmektedir. Bu bileşenlerin sitotoksik olmalarının yanı sıra bazı çalışmalarda tersi sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin; Kamdem ve ark., (2013) elde ettikleri uçucu yağların insan lökosit hücreleri üzerinde artan doza bağlı olarak gelişimde farklılıklara neden olduklarını, ancak bu bileşenlerin sitotoksik veya genotoksik olmadıklarını, aksine iyi bir antioksidan olduğunu belirtmişlerdir. *M. officinalis*' den elde edilen uçucu yağ içeriğinde bulunan sitral, maddesinin bitki büyümesinde mikrotübülleri bozduğu belirlenmiştir (Chamovitsh vd., 2009). Uçucu yağların farklı tohum türlerinde farklı etkilerde bulunmaları içerikteki bileşenlerin sinerjik veya antagonistik olarak çalışmalarına bağlanabilir. Nitekim literatürde benzer çalışmalar mevcuttur (Chutia vd., 2009; Aksoy, 2014). Uygulanan uçucu yağların DNA

ve protein profilleri üzerindeki etkilerinin farklılık göstermesi içerik çeşitliliği veya farklı bitkilerin farklı şekillerde savunma mekanizmalarını geliştirmesiyle açıklanabilir.

Ocimum basilicum türünden elde edilen uçucu yağların GC-MS analizi sonucu %99,91'i tespit edilmiştir (Çizelge 3.3). İçeriğin majör bileşenleri %22,71 Feron 20, %12, 81 Eugenol, %6,45 Pinen, %6,36 Linalol, %5,35 n-Hekzadekanoik asit, minör bileşenleri ise %0,08 Dietoksieten, %0,18 Oktaetilen glikol ve %0,19 Benzofenon olarak analiz edilmiştir. Literatürdeki birçok çalışmada majör bileşen Linalol (Lee, 2004; Telci, 2006; Kulan, 2013) olarak ölçülürken diğer bileşenlerin çalışmalarda minimum derecede olduğu veya hiç olmadığı tespit edilmiştir. Bu değişikliğin sebepleri ise, bitkinin çiçeklenme dönemine, aldığı güneş ışınlarına, su stersine, genç veya yaşlı bitkiden toplanmış olmasına, yağın elde edilmesinde kullanılan tekniğe göre değişmektedir.

Ocimum basilicum uçucu yağının uygulandığı *T. aestivum* tohumlarının köklerinde doza bağımlı inhibisyon gözlemlenirken gövdede ise bağımsız olarak düşürdüğü belirlenmiştir. RAPD profillerinde GTS oranı en yüksek 0,066 µl/ml dozunda %78,58 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.13). SDS-PAGE protein profilinde polimorfizm oranı en yüksek 0,264 µl/ml dozunda %50 olarak ölçülmüştür. (Çizelge 3.23).

Arpa tohumlarına uygulanan *O. basilicum* uçucu yağlarının 0,066 µl/ml dozunda gövde büyümesini teşvik ettiği gözlenmiştir. Kök örneklerinin 2.ve 4. dozlarda kontrole göre önemsiz değişiklikler gösterdiği, diğer dozlarda ise inhibisyonların meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 3.6). RAPD profilinde artan dozdan bağımsız olarak GTS oranında dalgalanmalar olduğu belirlenmiş, en düşük GTS oranı 0,132 µl/ml dozunda % 40,48 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.14). SDS-PAGE protein profilinde 0,066 dozunda polimorfizm gözlemlenmezken 0,264 µl/ml dozunda bu oran %60 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.22).

Çizelge (3.6)'de gösterildiği gibi *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarına uygulanan *O. basilicum* uçucu yağlarının tohumların çimlenme oranlarını 0,066 µl/ml dozunda olumlu yönde etkilediği gözlenmiştir. 0,132 µl/ml ile 0,264 µl/ml dozlarında

inhibisyonun maksimum olduğu belirlenmiştir. Çizelge 3.15’de olduğu gibi RAPD profilinde GTS oranı 0,264 µl/ml dozunda %33,34 ile en düşük oran olarak ölçülmüştür. Polimorfizm ve GTS oranının 0,066 µl/ml dozunda eşit olduğu saptanmıştır. SDS-PAGE protein profillerinde ise; kontroldeki bant sayısına göre artan doza bağlı olarak bant sayısında artış gözlemlenmiştir. Polimorfizm oranı 0,264 µl/ml dozunda %125 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.24).

Ocimum basilicum L. uçucu yağlarının uygulandığı tohumların çimlenme oranlarında genellikle doza bağımlı inhibisyon gözlenirken, GTS oranlarında dozdan bağımsız değişimler belirlenmiştir. Protein profilinde de benzer değişiklikler tespit edilmiştir. Uygulanan uçucu yağların özellikle ikinci dozda arpa ve horozibiği tohumlarının büyümesini teşvik ettiği tespit edilmiştir. Benzer durum Ogbebor (2005) tarafından yapılan çalışmada da tespit edilmiştir. Konidial çimlenme ve misel oluşumu ile ilgili yapılan çalışmada; 5 farklı bitki arasından çimlenmeye ve misel oluşumuna en iyi olumlu etkiyi *Ocimum basilicum* L. türünün verdiğini belirtilmiştir. Bir başka çalışmada da, *O.basilicum* L.ve *O. gratissimum* L. türlerinin uçucu yağlarının *Callosobruchus maculatus* (tohum böceği) ve yumurtaları üzerine gelişimi araştırılmıştır. Uygulanan uçucu yağların pestisidal etki gösterdiği ve tahıl grubunun çimlenmesi üzerine olumsuz etki yaratmadığı bildirilmiştir (Keita vd., 2001). Mevcut çalışmada uçucu yağların uygulandığı tohumların genomik kararlılıklarını çeşitli dozlarda önemli derecede düşürdüğü gözlenmiştir. Benzer şekilde Aydınlı (2014) *Ocimum basilicum*’un nemotodlar üzerinde toksik etkisinin olduğunu belirlemiştir. Çelebi (2010) ise fesleğenin HPLC yöntemi ile fenolik bileşimini tespit etmiş ve antioksidan aktivitesini belirlemiştir. Sonuç olarak bazı fesleğenlerin fenolik içeriğin fazla olmasıyla antioksidan etkisinin arttığını belirtmiştir. Özbek (2007) sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada *Ocimum basilicum* uçucu yağının farklı dozlarda anti-inflamatuar etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Özellikle linalol maddesinin merkezi sinir sisteminde sakinleştirici özelliğinin olması, oksitleyici kaynaklı genotoksik etkiyi önemli derecede azalttığı belirlenmiştir (Mitić-Ćulafić, 2009). Güz (2017) *Ocimum basilicum* L. türünün insan lökosit hücrelerinde anti-genotoksik ve anti-inflamatuar

etkisini araştırmıştır. Fesleğen ekstraktının iyi bir anti-genotoksik ve anti-inflamatuar etkisi olduğunu belirtmiştir.

Uçucu yağların biyoherbisit potansiyelleriyle ilgili literatürde birçok çalışma mevcuttur. Örneğin *Origanum onites L. ve Rosmarinus officinalis L.* bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar, beş farklı buğday ve iki yabancı tohuma uygulanmıştır. Uçucu yağların, yabancı ot çimlenmesi, fide büyüme ve gelişmesi üzerine allelopatik etki gösterdiğini bildirilmiştir (Atak vd., 2016). Öte yandan Saharkhiz (2016) *Nepeta cataria L.* uçucu yağının tarla bitkileri ve yabancı bitkiler üzerinde biyoherbisit etkisini araştırmıştır. *Nepeta cataria L.* türünün ekstesinin inhibisyon etkisinin olduğunu, yabancı ot ile mücadelede kullanılabileceğini ileri sürmüştür. Yine *Cannabis sativa L.* (kenevir) bitkisinden elde edilen uçucu yağ 5 farklı yabancı bitki çimlenmesi üzerinde denenmiş, tohumları inhibisyona uğrattığı ve allelopatik etkisinin olduğu belirlenmiştir (Agnieszka 2016). Kordali (2016) yaptığı çalışmada *Myrtus communis* bitkisinden elde ettiği uçucu yağın hem antifungal hem de herbisidal etkisini araştırmıştır. Deneme sonuçlarında antifungal etkisinin olduğunu, beş farklı yabancı bitkide ise tohum çimlenmesi ve fide büyümesini inhibe ettiğini belirtmiştir.

Mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlar literatür taramaları ile kıyaslandığında benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür. *Satureja hortensis, Melisa officinalis L. ve Ocimum basilicum L.* türlerinin *Triticum aestivum, Hordeum vulgare L. ve Amaranthus retroflexus L.* tohumları üzerine, artan doza bağlı olarak inhibe edici etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Genel olarak her üç uçucu yağ örneğinin en düşük doz olan 0,033µl/ml'de *Amaranthus retroflexus L.* tohumlarının genelinde biyoherbisit etki gösterdiğini tespit edilmiştir. Aynı dozda uçucu yağların *Triticum aestivum ve Hordeum vulgare L.* tohumlarında *Amaranthus retroflexus L.*'deki kadar etkili olmadığı belirlenmiştir. Böylece söz konusu türlerden elde edilen uçucu yağların tarımda, zirai mücadelede, pestisit sanayisinde ve ekolojik çalışmalarda kontrollü bir şekilde kullanılabileceği öngörülmektedir.



5. KAYNAKLAR

Adinee, J., Piri, K., & Karami, O., 2008. Essential oil component in flower of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 4 (3), 277-278.

Agar, G., Aksakal, O., Bozarı, S., Sunar, S., Erturk, FA., Yildirim, N., Sevsay, S., 2010. Genetic variation within and among three populations of *Vicia canescens* L. (Fabaceae) as revealed by RAPD and FAMES analysis. Romanian Biotechnological Letters, 15 (4), 5384-5391.

Agnieszka, S., Magdalena, R., Jan, B., Katarzyna, W., Malgorzata, B., Krzysztof, H., et al., 2016. Phytotoxic effect of fiber hemp essential oil on germination of some weeds and crops. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 19(2), 262-276.

Akinmoladun, A., Ibukun, E., Afor, E., Obuotor, E., & Farombi, E., 2007. Phytochemical constituent and antioxidant activity of extract from the leaves of *Ocimum gratissimum*. Scientific Research and Essay, 2 (5), 163-166.

Aksoy, B., 2014. *Melissa officinalis* metanol eksterlerinin DNA hasarı üzerine koruyucu ve tamir edici etkisinin araştırılması. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Afyon.

Alan, Y., Savcı, A., Çakmak, B., & Kurt, H., 2016. Determination of the antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja hortensis* ingredients. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 21 (2), 167-177.

Ali, L., 2017. Histological effects of aqueous extract of mentha spicata on liver in albino mice. The Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 86-91.

Allahverdiyev, A., Duran, N., Ozguven, M., & Koltas, S., 200. Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* l. against *Herpes simplex* virus type-2. Elsevier, 11, 657-661.

Almeida, L., Frei, F., Mancini, E., Martino, L., & Feo, V., 2010. Phytotoxic activities of mediterranean essential oils. Molecules, 101, 4309-4323.

Alpsoy, L., 2010. Inhibitory effect of essential oil on aflatoxin activities. *African Journal of Biotechnology*, 9 (17), 2474-2481.

Altıkat, A., Turan, T., & Torun E., F., 2009. Türkiye’de pestisit kullanımını ve çevreye olan etkileri. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 40(2), 87-92.

Arsal Kor, S., 2016. KKTC’de yetişen *Lathyrus ochrus* (L.) DC. Uçucu yağ içeriğinin, uçucu sekonder metabolitlerinin ve bazı aktivite özelliklerinin tayin edilmesi. KKTC Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Programı, Lefkoşa.

Aslan, İ., Özbek, H., Çalmaşur, Ö., & Şahin, F., 2004. Toxicity of Essential oil vapours to two greenhouse pests, tetranychus urticae Koch and Bemisia tabaci gen. Industrial Crops and Products Elsevier, 19, 167-173.

Atak, M., Mavı, K., & Uremiş, İ., 2016. Bio-herbicidal effects of oregano and rosemary essential oils on germination and seedling growth of bread wheat cultivars and weeds. Romanian Biotechnological Letters, 21 No. 1, 11149-11159.

Aydın, Ç., & Mammadov, R., 2017. İnsektisit aktivite gösteren bitkisel sekonder metabolitler ve etki mekanizması. Marmara Pharmaceutical Journal, 21, 30-37.

Aydınlı, G., Mennan, S., 2014. Effect of some plant extracts on Meloidogyne arenaria Neal, 1889 (Tylenchida: Meloidogynidae) and tomato. Türk. entomol. derg., 38 (3), 323-332.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils – a review. *Science Direct*, 46, 446-475.

Barış, Ö., Güllüce, M., Şahin, F., Özer, H., Kılıç, H., Özkan, H., et al., 2006. Biological activities of the essential oil and methanol extract of achillea biebersteinii afan. (Asteraceae). Turk J Biol TUBİTAK, 30, 65-73.

Bayram, E., 2001. Batı anadolu florasında yetişen anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill)’nda uygun tiplerin seleksiyonu üzerinde araştırma. Turk J Agric For, 30, 351-357.

Benbelaid, F., Bendahou, M., Khadir, A., Abdoune, M., Bellahsene, C., Zenati, F., et al., 2012. Antimicrobial activity of essential oil of *Lavandula multifida* L. J. Microbiol. Biotech. Res, 2(2), 244-247.

Benelli, G., Pavela, R., Canale, A., Cianfaglione, K., Ciaschetti, G., Conti, F., et al., 2017. Acute larvicidal toxicity of five essential oils (*Pinus nigra*, *Hyssopus officinalis*, *Satureja montana*, *Aloysia citrodora* and *Pelargonium graveolens*) against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* synergistic and antagonistic effects. Parasitology International, 66, 166-171.

Bounihi, A., Hajjaj, G., Alnamer, R., Cherrah, Y., & Zellou, A., 2013. In vivo potential Anti-Inflammatory activity of *Melissa officinalis* L. essential oil. Advances in Pharmacological Sciences, 2013, 1-7.

Bozarı, S., 2012. Lamiaceae familyasına ait farklı türlerden elde edilen allelopatik potansiyele sahip esansiyel yağların genotoksik etkilerinin belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Doktora Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı. Erzurum.

Bozarı, S., 2016. *Melissa officinalis* L. uçucu yağ kompozisyonunun ve *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının çimlenmeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi. Alatarım, 15 (2), 17-27.

Bozarı, S., 2016. Measuring of the genotoxic and potential antioxidant effects of essential oil obtained from *Satureja hortensis* against to *Phaseolus vulgaris*. Biological and Applied Sciences, 59, 1-9.

Bozarı, S., Agar, G., Aksakal, Ö., Erturk, F., & Yanış , D., 2013. Determination of chemical composition and genotoxic effects of essential oil obtained from *Nepeta nuda* on zea mays seedlings. Toxicology and Industrial Health, 1-10.

Bozarı, S., Çakmak, B., & Kurt, H., 2017. *Satureja hortensis* bitkisinin uçucu yağlarının *Hordeum vulgare* L. tohumları üzerine genotoksik etkileri. KSÜ Doğa Bil. Derg, 20 (3), 185-192.

Bozok, F., Cenet, M., Sezer, G., & Ulukanli, Z., 2017. Essential oil and bioherbicidal potential of the aerial parts of *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* (Lamiaceae). *TEOP*, 22, 148-154.

Brahmi, F., Hadj-Ahmed, S., Zarrouk, A., Bezine, M., Nury, T., Madani, K., et al., 2016. Evidence of biological activity of *Mentha* species extracts on apoptotic and autophagic targets on murine RAW264.7 and human U937 monocytic cells. *Pharmaceutical Biology*, 55 (1), 286-293.

Burgos, E., Carretero, M., & Gómez-Serranillos, M., 2011. *Sideritis spp.* uses, chemical composition and pharmacological activities—a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 135 (2), 209-225.

Büyükkartal, H., Kahraman, A., Çölgeçen, H., Doğan, M., & Karabacak, E., 2011. Mericarp micromorphology and anatomy of *Salvia hedgeana* dönmez, *S. huberi* Hedge and *S. rosifolia* Sm. (Section *Salvia Hedge*, Lamiaceae). *Acta Bot. Croat.*, 70 (1), 65-80.

Cerit, L., 2008. Bazı baharat ve uçucu yağların antimikrobiyal özellikleri. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli.

Cenkci, S., Yildiz, M., Cigerci, IH., Konuk, M., Bozdog, A., 2009. Toxic chemicals-induced genotoxicity detected by random amplified polymorphic DNA (RAPD) in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Chemosphere*, 76 (7), 900-906.

Cesur Turgut, A., Emen, F., Seçilmiş Canbay, H., Demirdöğen, R., Çam, N., Kılıç, D., et al., 2017. Chemical characterization of *lavandula angustifolia* mill. as a Phytocosmetic Species and Investigation of its Antimicrobial Effect in Cosmetic Products. Cesur Turgut et al., *JOTCSA*, 4 (1), 283-298.

Chutia, M., Bhuyan, P., Pathak, M., Sarma, T., & Boruah, P., 2009. Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 777-780.

Cunedioğlu, T., 2016. Sütçüler kekiği (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) uçucu yağlarının bazı kültür bitki ve yabancı ot tohumları üzerine biyo-herbisidal özelliğinin belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Hatay.

Çakmak, A., 2012. *Satureja hortensis* L. özütünün ehrlich asit tümörü oluşturulmuş swiss albino türü farelerde *in vivo* antitümör etkisinin araştırılması. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji bölümü, Gaziantep.

Çalışkan, E., 2006. İğde çiçeği (*Elaeagnus angustifolia*) ve Kedi nanesi (*Nepeta catoria*) bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Tokat.

Çeker, S., 2011. İnsan lenfosit kültürlerinde aflatoksin B1'in neden olduğu genotoksik ve biyokimyasal değişiklikler üzerine lamiaceae familyasına ait bazı bitkilerin esansiyal yağlarının antagonistik etkisinin belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

Çeker, S., Ağar, G., Alpsoy, L., Nardemir, G., & Kızıl, H., 2014. Antagonistic effects of *Satureja hortensis* essential oil against AFB, on human lymphocytes *in vitro*. Cytology and Genetics, 15 (6), 332-332.

Çelebi, Ç., 2010. Fesleğenin (*Ocimum basilicum*) fenolik madde dağılımı ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.

Çelik, E., 2007. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 5 (2), 1-6.

Çulhaoğlu, B., 2011. *Salvia chrysophylla* ve *Salvia trichoclada* itkilerini sekonder metabolitleri izolasyonu, yarı sentetik türevlerinin eldesi, antioksidan ve antikolinesteraz aktivitelerinin incelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.

Moghaddam Daneshian, A. M., 2010. Fesleğen (*Ocimum basilicum L.*)’ de farklı bitki sıklığı ve azot dozlarının verim, verim ögeleri, uçucu yağ oranı ve bileşenleri üzerine etkileri. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Dathe, W., & Rönsch, H., 1981. Endogenous plant hormones of the broad bean, *Vicia faba L.*(-)-jasmonic acid, a plant growth inhibitor in pericarp. *Plant*, 153 (6), 530-535.

Dinç, E., 2014. *Sater (Satureja hortensis L.)* bitkisinde inorganik ve organik gübre uygulamalarının verim ve bazı kalite unsurlarına etkileri. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tekirdağ.

Djenane, D., Yangüela, J., Amrouche, T., Boubrit, S., Boussad, N., & Roncalés, P., 2011. Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *SAGE Journals*, 17 (6), 1-9.

Dobravalskyte, D., Venskutonis, P., & Talou, T., 2012. Antioxidant properties and essential oil composition of *Calamintha grandiflora L.* *Food Chemistry*, 135, 1539-1546.

Doğan, G., Hayta, Ş., Demirpolat, A., & Bağcı, E., 2015. Doğu anadolu’da yetişen bir anason türünün (*Pimpinella tragioides* subsp. *lithophila*) uçucu yağ analizi. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3, 236-240.

Dragoeva, A., Stoyanova, Z., Koleva, V., & Dragolova, D., 2017. Allelopathic activity of *Nepeta nuda L.* subsp. *nuda* water extracts. *Acta Scientifica Naturalis*, 4 (1), 46-51.

Ekren, S., Sönmez, Ç., Sancaktaroğlu, S., & Bayram, E., 2009. Farklı dikim sıklıklarının fesleğen (*Ocimum basilicum L.*) bitkisinin verim ve kalite özellikleri üzerine etkisi. *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 109, 165-173.

Elçin, S., 2009. *Salvia pinnata L.* ve *Salvia bracteata Banks & sol.* bitkilerinin uçucu bileşenleri ve antioksidant aktiviteleri. Muğla Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Muğla.

Emamghoreishi, M., Talebianpour, M., 2008. Antidepressant effect of *Melissa officinalis* in the forced swimming test. *Daru*, 17, 42-47.

Erbaş, S., Özden, F., Baydar, H., 2011. Yabani hardal (*Sinapis arvensis* L.) tohumlarının çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine lavanta yağı ve bileşenlerinin allelopatik etkisi. *International Non-Wood Forest Products Symposium*, 13, 195-200.

Erdoğan, E., 2014. Lamiaceae familyasına ait bazı bitkilerin uçucu yağ içeriklerinin belirlenmesi, antimikrobiyal ve antimutajenik aktivitelerinin belirlenmesi. Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

Erenler, R., Meral, B., Elmastas, M., Aydın, A., Eminağaoğlu, Ö., & Topçu, G., 2017. bioassay-guided isolation, identification of compounds from *origanum rotundifolium* and investigation of their antiproliferative and antioxidant activities. *Pharmaceutical Biology*, 55 No 1, 1646-1653.

Ghiyasi, M., Amirnia, R., Tajbakhsh, M., Rahimi, A., & Özdemir, F. A., 2016. Kolza (*Brassica napus* L.) tohumlarında çimlenme ve anormal çim oranı üzerine, *Chenopodium album* L. 'un allelopatik etkisi. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 5 (2), 225-228.

Girişlioğlu, A., 2010. Glifosat (herbisit)'in sıçanlar üzerindeki toksik ve eratojenik etkilerinin incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Gitsopoulos, T., Chatzopoulou, P., & Georgoulas, I., 2013. Herbicidal effects of *Satureja hortensis* L. and *Melissa officinalis* L. essential oils on germination and root length of *Lolium rigidum* L. and *Phalaris brachystachys* L. grass weeds. *Hellenic Plant Protection Journal*, 6, 49-54.

Güez, C., Souza, R., Fischer, P., Moura Leão, M., Duarte, J., Boligon, A., et al., 2017. Evaluation of basil extract (*Ocimum basilicum* L.) on oxidative, anti-genotoxic and anti-inflammatory effects in human leukocytes cell cultures exposed to challenging agents. *Braz. J. Pharm. Sci*, 53 (1), 1-12.

Güllüce, M., Sökmen, M., Daferera, D., Ağar, G., Özkan, H., Kartal, N., et al., 2003. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (14), 3958-3965.

Gülsoy, S., Özkan, K., Mert, A., Eser, Y., 2008. Chemical compounds of volatile oil obtained from fruit of *Crimean Juniper* (*Juniperus excelsa*) and leaves of turkish plateau oregano (*Origanum minutiflorum*) and allelopathic effects on germination of anatolian black pine (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*). Biological Diversity and Conservation, 1 (2), 105-114.

Gültepe, A., 2013. *Papaver somniferum* L. çiçeklerinin esansiyel yağ içeriği, antimikrobiyal ve antifungal özelliklerinin belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon.

Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Pezeshkian, S. K., 2002. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Satureja hortensis* L. extracts and essential oil. Journal of Ethnopharmacology Elsevier, 82, 83-87.

Han, X., Parker, T., 2017. Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of Oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model. Biochimie Open, 4, 73-77.

Haşima, N., 2012. *Ajuga vestita* ve *Ajuga xylorrhiza* bitkilerinin petrol eteri, aseton ve metanol ekstraktlerinin bazı biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Hernandez-Perez, M., Rabanal, R., 2002. Evaluation of the antiinflammatory and analgesic activity of *sideritis canariensis* var. *pannosa* in mice. Journal of Ethnopharmacology, 81 (1), 43-47.

Hussain, A., Anwar, F., Sherazi, S., Przybylski, R., 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Article in Food Chemistry, 108 (3), 986-996.

Hussain, I., Anwar, F., Nigam, P., Sarker, S., Moore, J., Rao, J., 2011. Antibacterial activity of some Lamiaceae essential oils using resazurin as an indicator of cell growth. *LWT - Food Science and Technology*, 44 (4), 1199-1206.

İnanç B., B., 2013. Bazı bitkisel ekstraktlerin sitotoksiklerinin araştırılması. *Avrasya Aile Hekimliği Dergisi*, 2 (2), 83-88.

İşcan, G., 2015. *Stachys Rupestris* (Lamiaceae)'in uçucu yağ bileşimi ve antimikrobiyal etkileri. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi C-Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 4 (1), 41-47.

Jayasena DD., J., 2013. Potential application of essential oils as natural antioxidants in meat and meat products. a review. *Food Reviews International*, 30, 71-90.

Kaewprom, K., Chen, Y.-H., Lin, C.-F., Chiou, M.-T., & Lin, C.-N., 2017. Antiviral activity of *Thymus vulgaris* and *Nepeta cataria* hydrosols against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Thai J Vet Med*, 47 (1), 25-33.

Kahraman, A., Celep, F., Dogan, M., 2009. Morphology, Anatomy and Palynology of *Salvia indica* L. (Labiatae). *World Applied Sciences Journal*, 6 (2), 289-296.

Kahramanoğlu, İ., Uygur, F., 2010. Trifluralin'in azaltılmış dozlarının kırmızı köklü Tilki kuyruğu [*Amaranthus retroflexus* L. (Amaranthaceae)]'nun gelişimine etkisi. *Bitki Koruma Bülteni*, 50 (4), 213-221.

Kamdem, J., Adeniranb, A., Boligonc, A., Klimaczewska, C., Elekofehintid, O., Hassan, W., 2013. Antioxidant activity, genotoxicity and cytotoxicity evaluation Oflemon balm (*Melissa officinalis* L.) ethanolic extract: its potential role in neuroprotection. *Industrial Crops and Products Elsevier*, 51, 2634.

Kara, N., Baydar, H., Kayaalp, Ö., Boyar, S., Bayhan, A., 2014. Güneşte ve gölgede kurutmanın Çördük otu (*Hyssopus officinalis* L.) uçucu yağ oranı ve kompozisyonuna etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18 (1), 85-90.

Kara, N., Salman Y., S., Baydar, H., 2014. Adaçayı (*Salvia officinalis* L.) ve Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ekstraktlarının patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) ile mücadelede kullanımı. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 1 (2), 248-254.

Karaarslan, D., 2010. *Calamintha nepeta* (L.) savı.subsp. *Glandulosa* (REQ.) P. W. ball türünün petrol eteri, etanol ve metanol eksterlerinin antibakteriyal, antüfunga ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. Balıkesir Üniversitesi ,Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.

Katar, D., Gürbüz, B., 2007. Oğulotu (*Melissa officinalis* L.)’nda farklı bitki sıklığı ve azot dozlarının drog yaprak verimi ve bazı özellikler üzerine etkisi. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi, 8 (2), 78-81.

Katar, D., Arslan, Y., Subaşı, İ., Bülbül, A., 2011. Ankara ekolojik koşullarında Sater (*Satureja hortensis* L) bitkisinde uçucu yağ ve bileşenlerinin ontogenetik varyabilitesinin belirlenmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 14 (1), 29-36.

Katar, D., Gürbüz, B., İpek, A., 2008. Oğulotu (*Melissa officinalis* L.)’nda farklı bitki sıklığı ve azot dozlarının drog verimi ve uçucu yağ oranı üzerine etkileri. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi, 25 (1), 40-47.

Kato, H., 2001. Effects of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract on germination and seedling growth of six plants. Department of Biochemistry and Food Science, Faculty of Agriculture, Kagawa University, 23 (1), 49-53.

Keita, S., Vincent, C., Schmit, J.-P., Arnason, J., Belanger, A., 2001. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Bruchidae]. Journal of Stored Products Research, 37 (4), 339-349.

Khajeh, M., 2011. Optimization of process variables for essential oil components from *Satureja hortensis* by supercritical fluid extraction using Box-Behnken experimental design. The Journal of Supercritical Fluids, 55 (3), 944-948.

Kılıç, Ö., 2015. Essential oil composition of two *Centaurea* L. (Asteraceae) species from Turkey. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1 (2), 28-33.

Kitiş, Y., Kolören, O., Uygur, F., 2016. Adi Fiğın (*Vicia sativa* L.) bazı yabancı otların çimlenmesi ve gelişmesi üzerine allelopatik etkileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25 (1), 100-106.

Kızılkçeçili, Ö., 2007. *Salvia crypthanta* Montbret & Auchr Ex Bentham ve *Salvia pomifera* L. türlerinin metanol, etanol eksterlerinin ve uçucu yağlarının antibakteriyal, antifungal ve antitüberkiloz aktivitelerinin tayini. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.

Kolaç, U. K., 2015. *Salvia officinalis* eksteresinin deneysel inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.

Koliopoulos, G., Pitarokili, D., Kioulos, E., Michaelakis, A., Tzakou, O., 2010. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the west Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitol Research*, 107, 327-335.

Kordali, S., Usanmaz, A., Çakır, A., Komaki, A., Ercisli, S., 2016. Antifungal and herbicidal effects of fruit essential oils of four *Myrtus communis* genotypes. *Chem. Biodiversity*, 13, 77-84.

Koyuncu, O., 2010. Risk categories and ethnobotanical features of the Lamiaceae taxa growing naturally in Osmaneli (Bilecik/Turkey) and environs. *Biological Diversity and Conservation*, 3 (3), 31-45.

Kulan, E. G., 2013. Eskişehir koşullarında yetiştirilen Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) bitkisinin bazı bitkisel özelliklerin ve diurnal varyabilitesinin belirlenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Eskişehir.

Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., Satya, S., 2011. Insecticidal properties of *Mentha* Species: a review. *Industrial Crops and Products*, 34 (1), 802-817.

Kuria, K., Coster, S., Muriuki, G., Masengo, W., Kibwage, I., Hoogmartens, J., 2001. Antimalarial activity of *Ajuga remota Benth* (Labiatae) and *Caesalpinia volkensii harms* (Caesalpiniaceae): *in vitro* confirmation of ethnopharmacological use. *Journal of Ethnopharmacology*, 74 (2), 141-148.

Lee, S.-J., Umamo, K., Shibamoto, T., Lee, K.-G., 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91 (1), 131-137.

Maede, M., Hamzeh, I., Hossein, D., Majid, A., Reza, R. K., 2013. Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Lamiaceae) against three stored-product insect species. *African Journal of Biotechnology*, 10 (34), 6620-6627.

Mahboubi, M., Kazempour, N., 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis* and *Trachyspermum copticum* essential oil. *Iran J Microbiol.*, 3 (4), 194-200.

Mammadov, R., 2014. Tohumlu bitkilerde sekonder metabolitler. Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, Türkiye.

Mezzoug, N., Elhadri, A., 2007. Investigation of the mutagenic and antimutagenic effects of *Origanum compactum* essential oil and some of its constituents. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 629 (2), 100-110.

Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M., Simin, N., 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J. Agric. Food Chem.*, 52 (9), 2485-2489.

Mitić-Ćulafić, D., Zegura, B., Nikolice, B., Vuković-Gačić, B., Knežević-Vukčević, J., Filipič, M., 2009. Protective effect of linalool, myrcene and eucalyptol against *t*-butyl hydroperoxide induced genotoxicity in bacteria and cultured human cells. *Food and Chemical Toxicology.*, 47 (1), 260-266.

Monzote, L., Stamberg, W., Staniek, K., Gille, L., 2009. Toxic effects of carvacrol, caryophyllene oxide, and ascaridole from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* on mitochondria. *Toxicology and applied pharmacology*, 240, 337-347.

Moraes, L. A., Facanali, R., M. Marques, M. O., Ming, L. C., A. Meireles, M. A., 2002. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 74 (1), 183-186.

Navarro, A., De Las Heras, B., Villar, A., 2001. Anti-inflammatory and immunomodulating properties of a sterol fraction from *Sideritis foetens* CLEM. *Biol. Pharm. Bull.*, 24 (5), 470-473.

Nordos, A., Makonnen, E., 2017. In vivo antiplasmodial activity and toxicological assessment of hydroethanolic crude extract of *Ajuga reptans*. *Nardos and Makonnen Malar J*, 7, 16-25.

Ogbebor, N., Adekunle, A., 2005. Inhibition of conidial germination and mycelial growth of *Corynespora cassiicola* (Berk and Curt) of rubber (*Hevea brasiliensis* muell. Arg.) using extracts of some plants. *African Journal of Biotechnology* 4 (9), 996-1000.

Oskay, D., Oskay, M., 2009. Bitki sekonder metabolitlerinin biyoteknolojik önemi. *Ecological Life Sciences*, 4 (2), 31-41.

Osman, I., Tantawy, A., Ibrahim, H., A. Moustafa, A., 2017. Antioxidant properties of *Mentha pulegium* and histopathological evaluation of its ameliorating effect on experimental acute hepatic injury. *Histology, Cytology and Embryology*, 1 (1), 1-5.

Öçalan, O., 2015. Kuru kekik (*Origanum vulgare subsp. Hirtum L.*) ve/veya *Isırgan Otu (Urtica Dioica L.)* yaprakları ilave edilmiş rasyonla beslenen damızlık sülünlerin yumurta verimi ve yumurta kalite özelliği. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zooteknik Anabilim Dalı, Tokat.

Özbek, H., Bahadır, Ö., Kaplanoğlu, V., Öntürk, H., 2007. Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) uçucu yağının antiinflamatuvar aktivitesinin araştırılması. Genel Tıp Dergisi, 17 (4), 201-204.

Özcan, M., Chalchat, J.-C., 2002. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. Czech. J. Food. Sci, 20, 223-228.

Özkan Y., R., 2014. Küçük tohumlu yonca küskütü (*Cuscuta approximata* Bab.)'nün çimlenme fiziolojisi ve çıkış özellikleri ile bazı bitkilerin küçük tohumlu Yonca üskütüne ve Yonca (*Medicago sativa* L.)'ya allelopatik etkilerinin belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı , Van.

Özkan, E., 2014. Samsun-Tekkeköy koşullarında yetiştirilen farklı Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) populasyonlarının verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.

Pavela, R., 2005. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. Elsevier, 76, 691-696.

Pereira, R. P., Boligon, A. A., Appel, A. S., Fachineto, R., Ceron, C. S., Santoso, J. E., 2014. Chemical composition, antioxidant and anticholinesterase activity of *Melissa officinalis*. Industrial Crops and Products Elsevier, 53, 34-45.

Petrakis, E., Kimbaris, A., Perdakis, D., Lykouressis, D., Tarantilis, P., Polissiou, M., 2014. Responses of *Myzus persicae* (Sulzer) to three Lamiaceae essential oils obtained by microwave-assisted and conventional hydrodistillation. Industrial Crops and Products, 62, 272-279.

Queiroz, R., Takiya, C., Guimarães, L., Rocha, G., Alviano, D., Blank, A., 2014. Apoptosis-inducing effects of *Melissa officinalis* L. essential oil in glioblastoma multiforme cells. *Cancer Investigation*, 32, 226-235.

Ramos, A., Visozo, A., Piloto, J., Garcia, A., Rodriguez, C., Rivero, R., 2003. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. Elsevier, 87, 241-246.

Saatchi, A., Kadivar, M., Zad, S., Abaee, M., 2014. Application of some antifungal and antioxidant compounds extracted from some herbs to be used in cakes as biopreservatives. J. Agr. Sci. Tech, 16, 561-568.

Sadraei, H., Ghannadi, A., Malekshahi, K., 2003. Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions. Fitoterapia, 74 (5), 445-452.

Saeb, K., Gholamrezaee, S., 2012. Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis* L. leaves during different stages of plant growth. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2 (2), 547-549.

Sağlam, B., 2005. Organik gübre ile ontogenetik ve diurnal varyabilitenin Labiatae familyasına ait bazı bitkilerde (*Origanum onites* L., *Melissa officinalis* L., *Thymus praecox*) verim ve önemli kalite özellikleri üzerine etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Saharkhiz, M., Zadnour, P., Kakouei, F., 2016. Essential oil analysis and phytotoxic activity of catnip (*Nepeta cataria* L.). American Journal of Essential Oils and Natural Products, 4 (1), 40-45.

Sarı, A., Ceylan, A., 2002. Yield characteristics and essential oil composition of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) grown in the aegean region of Turkey. Turk J Agric For TÜBİTAK, 26, 217-224.

Sarıkaya, S., Önder, H., Harput, Ş., 2010. Türkiye florasında diyabet tedavisinde kullanılan tıbbi bitkiler. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 39 (4), 317-342.

Sevinç, A., 1995. Türkiye’de yetisen uçucu yağ içeren bitkiler ve kullanım alanları. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Shokrani, F., Pirzad, A., Chiyaneh, E., Jamali, M., Donyadost, M., 2013. Allelopathic effects of some medicinal plants on the germination and growth of *Chenopodium album* L. International Journal of Biosciences, 3 (10), 33-39.

Skotti, E., Anastasaki, E., Kanellou, G., Polissiou, M., Tarantilis, P., 2014. Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected greek medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops and Products Elsevier*, 53, 46-54.

Şahin, F., Karaman, İ., Güllüce, M., Öğütçü, H., Şengül, M., Adıgüzel, A., 2003. Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. *Journal of Ethnopharmacology Elsevier*, 87 (1), 61-65.

Telci, I., Bayram, E., Yılmaz, G., Avcı, B., 2006. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34 (6), 489-497.

Terzi, İ., 2007. Ceviz meyve kabuğu özütlerinin kavun tohumlarında çimlenme, fide uzaması ve kuru ağırlık üzerine etkileri. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8 (2), 355-360.

Topal, S., 1996. Bazı turpgil bitki özütleri ile tiyosiyanat iyonlarının tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerine allelopatik etkileri. *Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kütahya*.

Topçu, U., 2008. *Lavandula stoechas* esansiyel yağlarının farelerdeki akut toksik etkilerinin ve epileptik etkinin ntepileptik ilaçlarla etkileşimi. *Düzce Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Düzce*.

Turan, P., 2005. *Ocimum basilicum* L.'den elde edilen polifenol oksidaz enziminin aflaştırılması, inetik ve elektrororetik özelliklerinin incelenmesi. *Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkseir*.

Uçar, E., 2015. Bazı tıbbi ve aromatik itkilerde esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10 (2), 118-124.

Umay, A., 2007. *Lavandula stoechas*, *Melissa officinalis* ve *Tribulus terrestris* bitkilerinin kimyasal içeriklerinin araştırılması. *Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Estitüsü, Adana*.

Uysal, B., 2012. Farklı dozlarda kullanılan bazı herbisitlerin mısırdaki yabancı otlanmaya etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.

Yazlık, A., Üremiş, İ., 2015. Bazı uçucu yağ bileşiklerinin Kanyaş [(*Sorghum halepense* (L.) Pers.) gelişimine etkinliğinin belirlenmesi. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 2 (2), 93-99.

Yıldırım, E., 2014. Melisa, Adaçayı ve Nane yağlarının bilimsel olarak incelenmesi. Piyasa Analizi ve Kalite Tayini. Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Kayseri.

Yılmaz, A., 2011. *Nepeta sorgerae* ve *Nepeta obtusicrena* bitkilerinin antioksidan ve anti-alzheimer bileşenlerinin izolasyonu ve yapılarının belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Yousefzadi, M., Riahi-Madvar, A., Hadian, J., Rezaee, F., Rafiee, R., Biniiaz, M., 2014. Toxicity of essential oil of *Satureja khuzistanica*: In vitro cytotoxicity and antimicrobial activity. Journal of Immunotoxicology, 11 (1), 50-55.

Zhi-lin, Y., Chuan-chao, D., 2007. Regulation and accumulation of secondary metabolites in plant-fungus symbiotic system. *African Journal of Biotechnology*, 6 (11), 1266-1271.

UPL 1: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Karotenoid>. (2017).

UPL 2: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Terpen>. (2017).

UPL3: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C67663&Mask=8>. (14.06.2017)

UPL 4: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound/?term=Selinene>. (14.06.2017)

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında İstanbul’da doğdu. İlköğretimi Yıldız İşçimenler İlköğretim Okulu ve Atatürk İlköğretim Okulu’nda liseyi ise Mehmet Kavala Çok Programlı Lisesinde tamamladı. 2009 yılında kazandığı Muş Alparslan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2013 yılında mezun oldu. Eylül 2014’de Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı. Temmuz 2017’de yüksek lisansını tamamladı.

