



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI BÖLGELERDEN ELDE EDİLEN PROPOLİS
EKSTRAKTLARININ KİMYASAL BİLEŞENLERİNİN VE DOMATES
BİTKİSİNDE SORUN OLAN TOPRAK KÖKENLİ BAZI FUNGAL
HASTALIK ETMENLERİ ÜZERİNE ANTİFUNGAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

YASEMİN GÜL

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
HAZİRAN-2019**



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI BÖLGELERDEN ELDE EDİLEN PROPOLİS
EKSTRAKTLARININ KİMYASAL BİLEŞENLERİNİN VE DOMATES
BİTKİSİNDE SORUN OLAN TOPRAK KÖKENLİ BAZI FUNGAL
HASTALIK ETMENLERİ ÜZERİNE ANTİFUNGAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

YASEMİN GÜL

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANSTEZİ

**HATAY
HAZİRAN-2019**

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI BÖLGELERDEN ELDE EDİLEN PROPOLİS
EKSTRAKTLARININ KİMYASAL BİLEŞENLERİNİN VE DOMATES
BİTKİSİNDE SORUN OLAN TOPRAK KÖKENLİ BAZI FUNGAL
HASTALIK ETMENLERİ ÜZERİNE ANTİFUNGAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

YASEMİN GÜL

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Soner SOYLU danışmanlığında hazırlanan bu tez **17/06/2019** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Soner SOYLU
Başkan

Prof. Dr. Nihat TURSUN
Üye

Dr. Öğr. Üyesi M. Fatih TOK
Üye

Kod No: 1124

Prof. Dr. Erdal SERTKAYA
Enstitü Müdürü

Proje No:

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

17.06.2019

TEZ BİLDİRİMİ

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

YASEMİN GÜL

ÖZET

FARKLI BÖLGELERDEN ELDE EDİLEN PROPOLİS EKSTRAKTLARININ KİMYASAL BİLEŞENLERİNİN VE DOMATES BİTKİSİNDE SORUN OLAN TOPRAK KÖKENLİ BAZI FUNGAL HASTALIK ETMENLERİ ÜZERİNE ANTİFUNGAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Domates ülkemizin en önemli sebzelerinden biridir. Domateslerde solgunluk, kök ve kökboğazı çürüklüğü hastalıklarına neden olan *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* ve *Macrophomina phaseolina* domateslerde düşük verime neden olan önemli biyotik faktörler arasında yer alırlar. Toprak kökenli hastalıklarla kimyasal mücadelenin yanısıra pek çok alternatif mücadele yöntemi bulunmaktadır. Bu çalışma ülkemizin farklı bölgelerindeki illerden (Ordu, Edirne, Muğla, Ardahan ve Hatay) temin edilen propolis'in etanol ekstraktı (EEP)'nin kimyasal bileşenleri GC-MS ile belirlenmesinin yanısıra, EEP'nin farklı konsantrasyonlarının *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* ve *Macrophomina phaseolina*'nin misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliklerini belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. GC-MS sonuçlarına göre EEP'nin ana bileşenleri temin edildikleri bölgelere bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Denemede kullanılan EEP içeriklerinde yüksek oranda cinnamic acid türevleri (%11.3-88.3), aldehide (%0.27-8.31), alkol (%0.5-5.56), uçucu yağlar (%0.1-4.66), terpenoitler (%0.6-4.64), ester (%0.47-2.44), ketone (%0.12-7.8), phenol (%0.73) ve yağ asitleri (%1.58-6.58) ana bileşenler olarak belirlenmiştir. *In vitro* koşullarda agar seyreltme yöntemi ile EEP'lerin farklı konsantrasyonları (1000-14000 ppm) antifungal etkinlik göstermiş olup, hastalık etmenlerinin misel gelişimini kontrol petrilere kıyasla önemli düzeyde engellemişlerdir. Kullanılan EEP'lerin konsantrasyonları, EEP'lerin temin edildikleri bölgeler ve test edildikleri fungal türler arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir. Sonuçlar antifungal etkinliğinin kullanılan konsantrasyonlara bağlı olduğunu göstermiştir. Ordu, Edirne, Muğla, Ardahan ve Hatay illerinden temin edilen EEP'lerin minimum engelleme konsantrasyonlarının (MIC) *S. sclerotiorum* için 6000, 6000, 6000, 10000 ve 10000 ppm; *S. rolfsii* için 6000, 6000, 6000, 8000 ve 10000 ppm; *R. solani* için 8000, 8000, 8000, 10000 ve 12000 ppm; *M. phaseolina* için 12000, 10000, 12000, 12000 ve 14000 ppm olduğu belirlenmiştir. EEP'ler için belirlenen MIC değerlerinin *S. sclerotiorum*, *R. solani* ve *M. phaseolina*'nin misel gelişimini engellemede gösterdiği antifungal etkisinin fungistatik, *S. rolfsii*'nin misel gelişimini engellemede gösterdiği antifungal etkisinin ise fungisidal olduğu belirlenmiştir. Tahmin edilen etkili konsantrasyon (EC₅₀) değerlerine göre en fazla antifungal etkinliğe sahip EEP'nin Ordu, en düşük antifungal etkinliğe sahip EEP'nin ise Hatay ilinden temin edilen propolis örnekleri olduğu belirlenmiştir. Test edilen hastalık etmeni fungal etmenler arasında en duyarlı tür *S. rolfsii*, en dayanıklı tür ise *M. phaseolina* olduğu gözlenmiştir. EEP'lerin tespit edilen MIC değerleri, test edilen hastalık etmeni fungal etmenler arasında sadece *S. rolfsii*'nin misellerinde vakuolleşme şeklinde görülen morfolojik bozulmalara neden olmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre, EEP'lerin farklı konsantrasyonları denemede kullanılan fungal etmenlerin misel gelişimini engelleyici etkide bulunmuştur. EEP'nin antifungal aktivitelerinden kimyasal bileşenlerinde önemli miktarda belirlenen cinnamic acid türevleri, terpenoitler, uçucu yağlar, aldehitler ve fenollerin varlığı sorumlu olabilir. Bu bağlamda meyve ve sebzelerin tarla koşullarında toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı korunmasında, EEP'ler teksel veya diğer çevre dostu uygulamalarla birlikte kombine olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılabilir.

2019, 49 sayfa

Anahtar Kelimeler: Domates, propolis, antifungal etkinlik, toprak kökenli fungal hastalık etmenleri

ABSTRACT

DETERMINATION OF CHEMICAL COMPOSITION OF PROPOLIS EXTRACTS OBTAINED FROM DIFFERENT REGIONS AND ANTIFUNGAL EFFICIENCIES AGAINST SOILBORNE DISEASE AGENTS OF TOMATO

Tomato is the one of the most important vegetables of Turkey. Wilt and/or crown, root rot diseases caused by soilborne fungal disease agents *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* are among the major biotic factors contributing to low yields of tomato production. Apart from chemical pesticides there are several alternative methods that can be used to protect crops from soil-borne pathogens. This study was conducted to determine chemical compositions of ethanolic extracts of propolis (EEP) obtained from different regions of Turkey (Ordu, Edirne, Muğla, Ardahan and Hatay provinces) by using GC-MS and their *in vitro* antifungal activities on mycelial growth of *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina*. Major chemical compositions of EEP showed variation according the regions obtained. The presence of significant amount of cinnamic acid derivates (11.3-88.3%), aldehydes (0.27-8.31%), alcohol (0.5-5.56%), essential oils (0.1-4.66%), terpenoids (0.6-4.64%), ester (0.47-2.44%), ketones (0.12-7.8%), phenols (0.73%) and fatty acids (1.58-6.58%) were determined as major compounds in each EEP used in studies. Using Agar dilution methods, different concentrations of EEPs [from 1000 ppm to 14000 ppp) showed antifungal activities *in vitro* conditions by inhibiting significantly the mycelial growth of disease agents compared to control treatment. Significant differences occurred between fungal species, origin of EEP and their used concentrations. The results showed that the antifungal activity were concentration dependent. Minimum inhibition concentrations (MIC) of EEP obtained from, Ordu, Edirne, Muğla, Ardahan and Hatay provinces for *S. sclerotiorum* were 6000, 6000, 6000, 10000 and 10000 ppm; for *S. rolfsii* were 6000, 6000, 6000, 8000 and 10000 ppm; for *R. solani* were 8000, 8000, 8000, 10000 and 12000 ppm and for *M. phaseolina* were 12000, 10000, 12000, 12000 and 14000 ppm, respectively. Antifungal activities of MIC of EEP for mycelial inhibition of *S. sclerotiorum*, *R. solani* and *M. phaseolina* were fungistatics, but the fungicidal for mycelial inhibition of *S. rolfsii*. According to estimated effective concentration (EC_{50}) values obtained, the most efficient EEP prepared from Ordu province and the least effective EEP prepared from Hatay province samples. Among the fungal species, fungal disease agents *S. rolfsii* and *M. phaseolina* were observed as the most sensitive and resistant fungal disease agents, respectively. Among the fungal species tested, MIC of EEP used caused morphological changes such as vacuolation in the fungal hyphae of *S. rolfsii* only.

According the results obtained, EEP had a suppressing effect on mycelial growth of fungal disease agents of the above-mentioned fungi. The presence of significant amount of cinnamic acid derivates, terpenoids, essential oils, aldehydes and phenols might be responsible for antifungal activities of EEP. Consequently, it may be concluded that EEP may have the potential to be used alone or in combination with others environmentally friendly disease control strategies as an alternative source of antifungal agent for the protection of plants and highly perishable fruits and vegetables during the field production against soil borne fungal disease agents.

2019, 49 pages

Keywords: Tomato, propolis, antifungal activity, soil-borne fungal disease agents

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, planlanması, yürütülmesi, laboratuvar çalışmaları ve yazım aőamasında değerli bilgilerini ve tecrübelerini esirgemeyen; eğitim sürecimde her türlü desteği sağlayan, etik davranma ve düzenli çalıőmayı felsefe edinmeme vesile olan, kendisiyle çalıőmaktan çok mutlu olduğum kıymetli danıőman hocam Prof. Dr. Soner SOYLU'ya, bölüm öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Fatih Mehmet TOK'a, tez çalıőmalarım sırasında tüm bölüm imkânlarından yararlanmamı sağlayan MKÜ Ziraat Fakóltesi Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı'na teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan arkadaşlarım Ar.Gör. Merve KARA, Maddi ve manevi desteklerinden güç aldığım, her zaman yanımda olup beni her konuda destekleyen eőim Aziz GÜL'e, Beni her zaman en iyisini yapabileceğime inandıran ve bu günlere gelmemi sağlayan annem, babam ve kardeőlerime, ocuklarım Zeynep Zümra ve Yiğit Erdem'e, en içten teőekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
2.1. Propolis Ekstraktlarının Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antimikrobiyal Etkinlikleri.....	7
2.2. Propolis Ekstraktlarının Kimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar.....	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Propolislerin Farklı Bölgelerden Temin edilmesi.....	14
3.2.2. Farklı Bölgelerden Temin Edilen Propolislerin Etanol Ekstraksiyonlarının (EEP) Hazırlanması.....	14
3.2.3. Farklı Bölgelerden Temin Edilen EEP Ekstraktlarının Kimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi.....	16
3.2.4. Farklı EEP Ekstraktlarının Fungal Hastalık Etmenleri Üzerine Antifungal Etkinliğinin <i>in vitro</i> Koşullarda Belirlenmesi.....	16
3.2.5. EEP'nin Farklı Konsantrasyonlarının Misel Gelişimi Üzerine Fungisidal ve Fungistatik Etkilerinin Belirlenmesi.....	17
3.2.6. EEP'nin Minimum Engelleme Konsantrasyonlarının Fungusların Misel Yapılarında Meydana Getirdiği Morfolojik Değişikliklerin Belirlenmesi.....	17
3.2.7. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler.....	18
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	20
4.1. Farklı Bölgelerden Temin Edilen Propolislerin Ekstraksiyonu ve Kimyasal Bileşenlerin Belirlenmesi.....	20
4.2. Farklı EEP Ekstraktlarının Fungal Etmenlerin Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine <i>in vitro</i> Antifungal Etkileri.....	23
4.2.1. Farklı EEP Ekstraktlarının <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'un Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine <i>in vitro</i> Antifungal Etkinliğinin Belirlenmesi.....	23
4.2.2. Farklı EEP Ekstraktlarının <i>Sclerotium rolfsii</i> 'nin Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine <i>in vitro</i> Antifungal Etkinliğinin Belirlenmesi.....	26

4.2.3. Farklı EEP Ekstraktlarının <i>Rhizoctonia solani</i> 'nin Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine <i>in vitro</i> Antifungal Etkinliğinin Belirlenmesi....	29
4.2.4. Farklı EEP Ekstraktlarının <i>Macrophomina phaseolina</i> 'nın Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine <i>in vitro</i> Antifungal Etkinliğinin Belirlenmesi.....	32
4.3. Farklı Propolis Ekstraktlarının Fungus Hifleri Üzerinde Sebep Olduğu Morfolojik Değişikliklerin Işık Mikroskobu Altında Belirlenmesi.....	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	50



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Denemelerde kullanılan etanolde ekstrakte edilmiş propolis solüsyonlarının (EEP) hazırlanması. (A) -20 °C de dondurulmuş, parçalara ayrılmış propolisler. (B) Orbital çalkalayıcıda 2 gün bekletilmiş EEP solüsyonları. (C ve D) Solüsyonların filtre kağıtlarda süzülen EEP ekstraktların reçine-mumsu maddelerden ayrıştırılması	15
Şekil 3.2. Farklı EEP konsantrasyonlarının misel yapıları üzerine olan etkinliğinin belirlenmesi. (A) Fungal kültür 2 gün ön gelişmeye bırakıldıktan sonra, (B) uygulama yapılan alan (daire içine alınarak) 3 gün daha inkübasyona bırakılmış ve daha sonra mikroskop gözlemleri için hazırlanmıştır	18
Şekil 4.1. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen <i>S. sclerotiorum</i> 'un misel gelişimini engelleme potansiyelleri. (A) Ardahan EEP, (B) Ordu EEP örnekleridir	25
Şekil 4.2. Fungal etmen <i>S. sclerotiorum</i> 'a karşı minimum engellemenin görüldüğü EEP konsantrasyonunun (Edirne EPP 6000 ppm) fungistatik etkinliği. Engellemelerin görüldüğü petrilere (ok) alınan fungal misel diskleri (*) yeni kondukları petrilere yeniden gelişme göstermiştir	26
Şekil 4.3. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen <i>S. rolfisii</i> 'nin misel gelişimini engelleme potansiyelleri. (A) Ardahan EEP, (B) Edirne EEP örneğini gösterir.....	28
Şekil 4.4. Fungal etmen <i>S. rolfisii</i> 'ye karşı minimum engellemenin görüldüğü EEP konsantrasyonunun (Ordu EPP 6000 ppm) fungusidal etkinliği. Engellemelerin görüldüğü petrilere (ok) alınan fungal misel diskleri (*) yeni kondukları petrilere yeniden gelişme göstermemiştir	29
Şekil 4.5. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen <i>R. solani</i> 'nin misel gelişimini engelleme potansiyelleri. (A) Ardahan EEP, (B) Ordu EEP örneklerini gösterir.....	31
Şekil 4.6. Fungal etmen <i>R. solani</i> 'ye karşı minimum engellemenin görüldüğü EEP konsantrasyonunun (Hatay ve Ordu EPP 8000 ve 12000 ppm) fungistatik etkinliği. Engellemelerin görüldüğü petrilere (ok) alınan fungal misel diskleri(*)yeni kondukları petrilere yeniden gelişme göstermiştir.....	32
Şekil 4.7. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen <i>M. phaseolina</i> 'nın misel gelişimini engelleme potansiyelleri. (A) Ardahan EEP, (B) Hatay EEP örneklerini gösterir.....	34
Şekil 4.8. Fungal etmen <i>M. phaseolina</i> 'ya karşı minimum engellemenin görüldüğü EEP konsantrasyonunun (Muğla EPP 12000 ppm) fungistatik etkinliği. Engellemelerin görüldüğü petrilere (ok) alınan fungal misel diskleri (*) yeni kondukları petrilere yeniden gelişme göstermiştir	35
Şekil 4.9. <i>In vitro</i> testlerinde farklı EEP uygulaması yapılmış yerlerdeki fungal hastalık etmen, <i>M. phaseolina</i> (A), <i>R. solani</i> (B), <i>S. sclerotiorum</i> (C) ve <i>S. rolfisii</i> (D ve E) miselleri üzerinde neden olduğu morfolojik değişiklikler. EEP uygulaması fungal etmenler arasında sadece <i>S. rolfisii</i> hiflerinde vakolleşmeler şeklinde oluşan morfolojik bozulmalara (ok) neden olmuştur	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1	Propolis'in Bileşimi ve Bilinen Farmakolojik özellikleri.....	6
Çizelge 4.1	Farklı illerden temin edilen propolis ekstraktlarının kimyasal içerikleri (%)......	21
Çizelge 4.2	Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni <i>S. sclerotiorum</i> misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliği.....	24
Çizelge 4.3	Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni <i>S. sclerotiorum</i> misel gelişiminin % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği.....	24
Çizelge 4.4	Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni <i>S. rolfsii</i> misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliği.....	27
Çizelge 4.5	Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni <i>S. rolfsii</i> misel gelişiminin % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği.....	27
Çizelge 4.6	Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni <i>R. solani</i> misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliği.....	30
Çizelge 4.7	Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni <i>R. solani</i> misel gelişiminin % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği.....	30
Çizelge 4.8.	Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni <i>M. phaseolina</i> misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliği.....	33
Çizelge 4.9.	Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni <i>M. phaseolina</i> misel gelişiminin % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği.....	33
Çizelge 4.10	Çalışmalarda kullanılan EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini engelleyen minimum engelleme konsantrasyonları (MIC).....	36
Çizelge 4.11	Çalışmalarda kullanılan EEP konsantrasyonlarının Probit analizi sonucu belirlenen fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini %50 engelleyen etkili konsantrasyon değerleri (EC ₅₀)......	36

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Celsius (derece)
Da	: Dekar
Ha	: Hektar
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
µl	: Microlitre
ml	: Mililitre
L	: Litre
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
dak	: Dakika
rpm	: rotation per minute (dakikada dönme sayısı)
ppm	: milyon birimde bir birim çözünen miktar (mg/L veya µg/ml)

KISALTMALAR

TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organisation of The United Nations)
EEP	: Ethanol içinde Ekstrakte edilmiş Propolis ekstraktı
EAEP	: Etil Asetat içinde Ekstrakte edilmiş Propolis ekstraktı
MEP	: Methanol içinde Ekstrakte edilmiş Propolis ekstraktı
PDA	: Patates Dekstroz Agar Besi Ortamı
EC ₅₀	: Fungus misel gelişimini %50 düzeyinde engelleyen Etkili Konsantrasyon (Efficient Concentration)
MIC	Fungal etmenin misel gelişimini engelleyen Minimum Engelleme Konsantrasyonlarının (Minimum Inhibition Concentration, MIC)

1. GİRİŞ

Sebzeler arasında besleyici değeri yüksek türlerinden biri olan domates (*Solanum lycopersicum* L.) (=syn. *Lycopersicon esculentum* Mill.), insan beslenmesinde oldukça büyük bir öneme sahiptir. Farklı kültürlere sahip olsada, dünya mutfaklarının vazgeçilmez ürünlerinden biri olan domates meyvesi çoğunlukla taze tüketilmelerinin yanısıra, konserve, salça ve kurutulmuş olarakda pazarda değerlendirilmektedir.

Dünya Tarım teşkilatı FAO verilerine göre 2016 yılında en fazla domates tarımının yapıldığı ülkeler sırasıyla Çin, Hindistan, Amerika Birleşik Devletleri, Türkiye, Mısır, İtalya, İran, İspanya, Brezilya ve Meksika'dır (Anonymous, 2016). Ülkemiz dünyada en fazla domates ekim alanı ve üretimi yapan ülkeler içerisinde 188.270 ha alanda 12.750.000 ton üretim ile 4. sırada yer almaktadır. Ülkemizde yetiştirilen toplam 22.534.030 ton sebzenin 12.750.000 tonunu domates oluşturur (Anonim, 2017). Ülkemizin hemen hemen tüm bölgelerinde yetiştirilen domatesin bölgelere göre dağılımına bakıldığında, 2016 TUİK verilerine göre en fazla ekim alanı 401.186 da alan ve 3.889.014 ton üretim miktarı ile Akdeniz bölgesi ilk sırada yer almaktadır. Bu bölgeyi 205.909 da alan ve 1.391.835 Ton üretim ile Ege Bölgesi, 132.399 da alan ve 845.078 ton üretim ile Batı Karadeniz bölgeleri izlemiştir. Akdeniz bölgesinde en fazla domates yetiştiriciliği 227.354 da alan ve 2.602.857 ton üretim ile Antalya, Isparta ve Burdur illerinde yapılırken, Hatay ilinde toplam 26.117 da alanda 105.908 ton domates yetiştiriciliği yapılmıştır (Anonim, 2017). İlimizde üretilen 846.340 ton sebzenin 273.150 tonunu domates üretimi oluşturmaktadır (Anonim, 2017). Bölgemizde domates yetiştiriciliği daha çok taze tüketime yönelik olarak gerek örtüaltı seralarda gerekse açık alanlarda yapılmaktadır.

Ülkemizin iç ve dış ticaretinde önemli yere sahip sebzelerden biri olan domatesin verim ve kalitesi sıcaklık, yağış, toprak yapısı gibi abiyotik etkenlerin yanı sıra, birçok fungal, bakteriyel ve viral kökenli biyotik etmenler tarafından olumsuz yönde etkilenmektedir. Gerek ülkemiz gerekse dünya genelinde yetiştiriciliği yapılan domates bitkilerinde Tomato Yellow Leaf Curl, Tomato Etch, Tomato Yellow Top, Stolbur, Patates Y Virus (PVY) ve Tobacco Mosaic Virus (TMV) gibi viral hastalık etmenlerin yanısıra, domates bakteriyel benek hastalığı etmeni (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*), bakteriyel leke etmeni (*Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria*), bakteriyel gövde

nekrozu ve öz çürüklüğü etmenleri (*Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas corrugata*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*), bakteriyel kanser ve solgunluk etmenleri (*Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) önemli verim ve kalite kayıplarına neden olurlar (Smith ve ark., 1988; Jones ve ark., 1991; Koike ve ark., 2007).

Domates bitkisinin ekimini ve verimin sınırlayan en önemli biyotik faktörlerden bir diğeri ise yaprak ve toprak kökenli fungal hastalıklardır. Yaprak ve meyvelerde enfeksiyonlara sebep olan fungal hastalık etmenlerinden *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* ve *Leveillula taurica* domateste erken yanıklık, gri küf, mildiyö ve külleme hastalıklarına sebep olan, fide döneminde olduğu kadar bitkinin ileri vejetasyon döneminde de ortaya çıkarak gerek yaprak gerekse meyve dökümlerine ve çürümelerine neden olurlar (Smith ve ark., 1988; Jones ve ark., 1991; Koike ve ark., 2007).

Yaprak kökenli hastalık etmenlerinin yanı sıra toprak kökenli birçok hastalık etmenleri domates ürünün verimi ve kalitesi üzerine önemli etkide bulunur (Bruehl, 1987). Toprak kökenli hastalık etmenlerinden *Rhizoctonia solani* Kühn. [Rhizoctonia Kök Çürüklüğü], *Fusarium oxysporum* Schlechtend. [Fusarium Solgunluğu (sarılığı)], *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich [Kömür Çürüklüğü], *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary [Beyaz Çürüklük] ve *Sclerotinia rolfsii* [Güney yanıklık] gibi hastalık etmenleri domates solgunluk, kök ve kök boğazı çürüklüğü gibi hastalıklara sebep olan, bitkinin fide döneminde olduğu kadar ileri dönemlerinde de ortaya çıkan ve erken enfeksiyonlarda bitki ölümlerine neden olan önemli fungal hastalık etmenleridir (Willettts ve Wong, 1980; Sippell ve Hall, 1982; Dixon, 1984; Jones ve ark., 1991; Weller ve ark., 2002; Koike ve ark., 2007; Sultana ve ark., 2011; Baysal-Gürel ve ark., 2012).

Domates bitkilerinde önemli verim kayıplarına neden olan fungal hastalık etmenleri dünyada olduğu gibi ülkemizin çeşitli bölgelerinde de sorun olduğu yapılan birçok sörvey çalışmaları ile ortaya konulmuştur (Tuncer ve Erdiller, 1990; Eroğlu ve Soran, 1992; Yücel, 1994; Kıran ve Ertunç, 1998; Kordalı ve Demirci, 1998; Soylu ve Kurt, 2001; Yıldız ve Döken, 2002; Can ark., 2004).

Domates üretim alanlarında verimi ve kaliteyi etkileyen faktörler arasında ekonomik olarak ciddi kayıplara neden olan hava kökenli fungal hastalıkların mücadelesinde genelde fungusitler yaygın olarak kullanılmaktadır. Toprak kökenli fungal

patojenler ise tarım ekosistemlerinin üretkenliğini sınırlayan, dayanıklı bitki çeşitleri ve sentetik fungusitlerin kullanımı gibi geleneksel yöntemlerle kontrolü zor olan önemli biyotik faktörlerdir (Figueiredo ve ark., 2009; Dalal ve Kulkarni, 2013). Bu tip hastalıklara karşı kimyasal mücadelenin eksikliği, bazı patojenlerde yoğun ve yüksek dozlarda kullanılan fungusitlere karşı patojenlerde dayanıklılığının ortaya çıkışı ve hastalık etmenlerinin konukçu dayanıklılığını kırması gibi sebepler, toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı kimyasallara alternatif yeni hastalık mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi çabalarının artmasına neden olmuştur (Mc Donald ve Linde, 2002; Guo ve ark., 2011). Dünyada toprak dezenfeksiyonunda en etkili fümigant olarak kullanılan metil bromidin doğaya verdiği ağır hasardan dolayı tüm dünyada yasaklanması da toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı kimyasallara alternatif çevre dostu mücadele yollarının araştırılma ihtiyacını daha da arttırmıştır (Martin, 2003).

Son yıllarda tüketicinin sentetik kimyasal kullanımının insan sağlığına ve çevreye verdiği zarar hususunda bilinçlenmesi, gelişmiş ülkelerde pestisit uygulamalarına çeşitli yaptırım ve sınırlamalar getirilmesine sebep olurken, özellikle toprak kökenli hastalıklara karşı fungusitlerin etkisinin az/hiç bulunmaması, toprakta uzun süre kalmalarına neden olan dayanıklı dinlenme yapıları oluşturmaları nedeni ile bilim insanlarını bu tür hastalıklarla mücadelede doğal, çevre dostu, yenilenebilir yeni mücadele yolları ve stratejilerinin araştırılma gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Ülkemizde ve dünyada bitkilerde sorun olan fungal ve bakteriyel hastalıklarla kimyasal pestisitlere alternatif mücadele yolları arasında, (i) antagonist ve bitki gelişimini teşvik eden bakteriyel ve fungal biyokontrol ajanların kullanıldığı biyolojik mücadele, (ii) biyotik ve abiyotik uyarıcıların kullanıldığı teşvik edilmiş dayanıklılık ve (iii) bitkisel (bitki ekstrakt ve uçucu yağlar) ve hayvansal kökenli antimikrobiyal bileşenler en fazla etkinlikleri araştırılmış olan alternatif mücadele yöntemleri bulunmaktadır.

Hastalıklarla alternatif mücadele yollarından biri olan antimikrobiyal etkiye sahip bileşenlerden biridide “propolis” olarak bilinen arı ürününün kullanılmasıdır. Propolis Latince'den türetilmiş bir kelime olup, “şehrin savunulması” anlamına gelen **pro**=savunma ve **polis**=şehir ön eklerinden oluşur (Burdock, 1998). Propolis, işçi bal arılarının bitkilerin filiz, çiçek ve tomurcuk gibi farklı kısımlarından topladığı, reçinemsiz maddeler ve bitki salgılarının arıların baş kısmında bulunan gaddeler tarafından salgılanan enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratarak oluşturdukları kirli sarıdan,

koyu kahverengine kadar değişen renkte ve oda sıcaklığında yarı katı halde olan, antibakteriyel, antiviral, antifungal gibi biyoetkinliğe sahip reçinemsı maddedir (Şahinler, 1999; Kumova ve ark., 2002; Doğan ve Hayoğlu, 2012). Arılar topladıkları propolis'leri kovanlarında bulunan çatlaklardan kovan içerisine rüzgar, yağmur veya farklı böcek ve mikroorganizmaların girişini engellemek, onarmak veya kapamak için kullanır (Matsushige ve ark., 1997; Pieta ve ark., 2002; Gómez-Caravaca ve ark., 2006; Quiroga ve ark., 2006). Halk arasında propolis "eęin mumu" veya "arı pisliği" olarak da bilinir. Propolis üretimi ticari olarak oldukça zor ve zaman alıcı olup, üretimi için en uygun arı genotiplerinin "Kafkas" ve "Anadolu" ırkları olduğu bilinmektedir.

Ormanlık alanlar, vejeteasyon ve bitki çeşitliliğinin en fazla yer olması nedeniyle propolislerin üretimi için en uygun bölgeleri olarak kabul edilir. Yabancı madde içeriğinin az olması nedeniyle kovan girişinde oluşturulan propolislerin kalitesinin düşük olduğu kabul edilir (Genç ve Dodoloğlu, 2011). Propolis üretimi yapan işletmelerde kovan iç çevresine özel ızgara şeklindeki plastik ekipmanlar yerleştirilerek arıların bu ekipmanlardaki aralıkları propolis ile doldurması sağlanır. Propolis toplamaya çıkan arı önce mandibulalarını kullanarak ön bacaklarının da yardımıyla propolisi bitkilerden çekip koparır, ön ve orta bacakları ile arka bacaklarına ve nihayet polen sepetçiğine aktarır (Genç ve Dodoloğlu, 2011).

Propolis'in tıbbi alanda kullanımı çok eski çağlara uzanır. Propolis, Mısır' da mumyalama amacıyla kullanılmıştır. Propolis antik çağdan beri halk hekimleri tarafından boğaz, üriner enfeksiyonlar, egzama, ülser, kötü nefes gibi rahatsızlıkları giderebilmek için kullanılmıştır (Santos ve ark., 2002). Anadolu'da ise geleneksel olarak insanlarda ve çiftlik hayvanlarında ayak ve deri problemlerinde, yaraların iyileştirilmesinde ve çıbanlarda kullanılmıştır (Burdock, 1998).

Avrupa, Amerika, Asya ve Afrika'daki bal arıları kovanlarından toplanan propolislerin kimyasal içerikler bakımından farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir (Greenaway ve ark., 1990; Campos, 1997; Banskota ve ark., 2000). Bal arıları için çam (*Pinus* spp.) reçineleri, köknar (*Abies* spp.), huş ağacı (*Betula* spp.), kavak türleri (*Populus* spp.), at keşanesi (*Aesculus hippocastanum*), söğüt (*Salix* spp.) kızıl ağaç (*Alnus* spp.), erik (*Prunus* spp.), karaağaç (*Ulmus* spp.), meşe (*Quercus* spp.) ve dişbudak (*Fraxinus excelsior*) önemli propolis kaynağı olan bitki türleridir (Kumova ve ark., 2002). Propolislerin farklı bölgelerden toplanmasına ve farklı kimyasal içeriklere sahip olmasına

rağmen, genelde antimikrobiyal etkinlik açısından aktif oldukları ve benzer biyolojik özellikler gösterdikleri bildirilmiştir (Banskota ve ark., 2002).

Propolisin standardize edilmesi toplandığı coğrafik bölge ve iklime bağlı olarak içeriği değiştiği için pek mümkün değildir (Banskota ve ark., 2000). Greenaway ve ark., (1990) propolisin kimyasal bileşiminde, reçine, mumlu bitkiler, esansiyel yağlar, polen, organik ve mineral maddeler bulunduğunu bildirmiştir. Yapılan pekçok çalışmada propolis içeriğinin yaklaşık %50'nin reçine, %30'nun mumsu madde, %10'nun uçucu yağ bileşeni ve %5'nin polen, %5'nin ise diğer organik bileşenlerden oluştuğu bildirilmiştir (Brown, 1989; Russo ve ark., 2004; Gómez-Caravaca ve ark., 2006; Falcão ve ark., 2010). Propolis'in ana bileşeni olan reçine ve mumsu maddenin flavin, vanilin, chrysin ve caffeic acid ve ferulik asit gibi doymamış aromatik bileşeklerden oluşur. Schmit, (1997) propolisin kimyasal bileşenlerinin ve bunların biyolojik aktiviteleri ile ilgili literatür derlemesi yapmış olup, farklı araştırma gruplarınca yapılan çalışmalar sonucunda belirlenen ana bileşenler ve bu bileşenlerin antimikrobiyal etkinliklerini ortaya koymuştur (Çizelge 1).

Fenolik bileşikler propolislerin temel bileşenlerinden biri olup, yapılan kimyasal analiz çalışmalarında fenolik bileşikler arasında en fazla tespit edilen bileşik flavanoidlerdir (Greenaway ve ark., 1990). Şahinler ve Kaftanoğlu (2005) yaptıkları çalışmada; Propolis etanol ekstraktında yüksek konsantrasyonlarda aromatik asitler, esterler ve diğer türevleri gibi propolisin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antienflamatuar ve antikanser özelliğinden sorumlu en yaygın bileşiklerin benzyl cinnamate, methyl cinnamate, caffeic acid, cinnamyl cinnamate ve cinnamyl glycyne olduğunu, bu bileşiklerin yanısıra propolis içeriğinde yağ asidi, terpenoidler, esterler, alkoller, hidrokarbonlar ve aromatik asitler de yer aldığı belirlenmiştir (Farooqui, 2012; Mārghitas ve ark., 2013). Walker ve Crane (1987) bugüne kadar Gaz Kromatografi (GC-MS), HPLC, LC-MS cihazlarının kullanıldığı çalışmalarda propolislerin içeriğinde yaklaşık 150'ye yakın bileşenin belirlendiğini, bunlardan 38 tanesi flavanoid, 14'ü cinnamic asit, 12 tanesi benzoik asit olduğunu, geri kalan 11 bileşenin terpen, sesquiterpen, alkol ve hidrokarbonlardan oluştuğunu bildirmiştir. Propolis içeriğinin arıların çalıştığı alanda yer alan bitkilerin çeşitliliğine bağlı olarak kimyasal içeriklerinde önemli düzeyde farklılıklar görüldüğü, aynı bitki türünün farklı coğrafyalarda bulunmasının bile propolis içeriğinde farklılıklara neden olduğu bildirilmiştir. Farklı

propolis içeriğinin mikroorganizmalara karşı göstereilen antimikrobiyal etkinliği üzerinede önemli düzeyde etki ettiği yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir.

Çizelge 1. Propolis'in Bileşimi ve Bilinen Farmakolojik özellikleri

Kimyasal Bileşik	Etkinlik Şekli
Quercetin	Antiviral, Antihistaminik, Antiülser, Kılcal damar güçlendirici
Pinocembrin	Antibakteriyel, Antifungal, Lokal anestezik
Caffeic acid	Antibakteriyel, Antifungal, Antiviral, Antienflamatuar
caffeic acid ve phenyl ester	Tümör sitotoksitesi

Kaynak: Schmit (1997)'den derlenmiştir

Daha çok insan ve hayvanlarda hastalıklara neden olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenleri üzerine antimikrobiyal etkinliği araştırılan propolis ekstraktlarının, bitki patojeni fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerine karşı olan antimikrobiyal etkinlikleri üzerine yapılmış çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Yapılan literatür araştırmalarında propolis ekstraktlarının genelde *Aspergillus niger*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus oryzae* ve *Botrytis cinerea* gibi hasat sonu bitki hastalık etmenlerine karşı antimikrobiyal etkinliklerinin araştırıldığı (La Torre ve ark., 1990; Erkmen ve Özcan, 2008; Soylu ve ark., 2008; Çandır ve ark., 2009; Quintero-Ceron ve ark., 2014), toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı antimikrobiyal etkinliği üzerine yapılmış çalışma (Kurt ve Şahinler, 2003; Yanar ve ark., 2016) sayısının ise oldukça kısıtlı sayıda olduğu görülmüştür.

Yapılan bu çalışma ile ülkemizin farklı bölgelerinden elde edilen ve %70'lik etil alkol (ethanol) içerisinde ekstrakte edilmiş propolis'lerin (EEP) kimyasal içeriklerinin belirlenmesinin yanısıra, farklı dozlarının domateste sorun olan bazı önemli toprak kökenli fungal hasatlık etmenlerinden *S. sclerotiorum*, *R. solani*, *M. phaseolina* ve *S. rolfsii*'nin misel gelişiminin engellenmesi üzerine olan antifungal etkinlikleri *in vitro* koşullarda belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Propolis Ekstraktlarının Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antimikrobiyal Etkinlikleri

Propolis'in antik eski çağlardan beri insanlar tarafından pekçok hastalıklara karşı doğal ilaç olarak kullanılmakta olduğu bildirilmektedir. Yapılan literür araştırmalarında propolis'in su veya ethanol ekstraktlarının daha çok insan ve hayvanlarda hastalık yapan bakteriyel ve fungal (maya) etmenlere karşı antibakteriyel ve antifungal etkinlikleri bildirilmiş olup, bitki hastalık etmenlerine karşı yapılan çalışmalar son yıllarda artış göstermeye başlamıştır. Bugüne kadar yapılan antimikrobiyal etkinliklerinin araştırıldığı çalışmalarda propolis'in daha çok % 70'lik ethanol içinde ekstrakte edilmiş ekstraktının (EEP) kullanıldığı bilinmektedir. Dichloromethane ve su gibi solvent ve sıvılar ise propolislerin ekstraksiyonunda nadiren kullanılan diğer çözümlerdir.

Özcan (1999), su içinde ekstrakte edilen propolis ekstraktlarının 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 ve %4.0'lük konsantrasyonlardaki antifungal etkinliklerini bitki fungal hastalık etmenlerinden *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* ve *Penicillium digitatum*'a karşı araştırdıkları çalışmada, propolis'in %4 konsantrasyonunun test edilen 5 farklı konsantrasyon arasında %50 ve üzeri engelleme yapan en etkili konsantrasyon olduğu, test edilen fungal türler arasında en duyarlı türlerin *Alternaria alternata* ve *Penicillium digitatum* olduğunu bildirmiştir.

Tripathi ve Dubey (2004), sebzelerde hasatsonu görülen hastalıklarla mücadelede doğal bileşiklerin kullanılma olanaklarını araştırdıkları çalışmaların derlendiği çalışmada, hasatsonu hastalıklara karşı kullanılan kimyasal pestisitlerin doğaya, insana ve çevreye olan olumsuzlukların yanısıra patojenler üzerindeki olumsuzları belirtmişlerdir.

Vallabh ve Straker (2005), farklı EEP konsantrasyonlarının avakodo patojeni *C. gloeosporioides* ve *P. guepinii* hastalık etmenlerine karşı antifungal etkinliklerini in vitro ve in vivo koşullarda araştırdıkları çalışmalarında, kullanılan EEP örneklerinin MIC değerinin *C. gloeosporioides* ve *P. guepinii* hastalık etmenleri için 10 ve 7 mg/ml olarak belirlemişlerdir. Yapılan in vivo çalışmalarında yaprağa uygulanan EEP uygulamalarının

kontrolde %18.3 hastalık şiddeti görülürken, uygulama yapılmış yapraklarda herhangi bir hastalık belirtisinin görülmediğini bildirmişlerdir.

Uzel ve ark. (2005), ethanol içinde hazırlanmış 4 farklı Anadolu propolis ekstraktının (EEP) kimyasal bileşenlerini GC-MS ile belirlemişler, antifungal ve antibakteriyel etkinliklerini ise insan ve gıda patojenlerine karşı araştırmışlardır. Agar seyreltme yöntemi ile EEP'lerin minimum engelleme konsantrasyonlarının (MIC) *Streptococcus sobrinus* ve *Enterococcus faecalis* için 2 µg/ml; *Micrococcus luteus*, *Candida albicans* ve *C. krusei* için 4 µg/ml; *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterobacter aerogenes* için 8 µg/ml; *Escherichia coli* and *C. tropicalis* için 16 µg/ml; *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa* için 32 mg/ml olarak belirlemişlerdir. Propolis ekstraktlarının ana bileşenlerin ise pinocembrin, pinostropin, isalpinin, pinobanksin, quercetin, naringenin, galangine ve chrysin gibi flavonoidlerden oluştuğunu bildirmişlerdir.

Basım ve ark. (2006), ethanol içinde hazırlanmış polen ekstraktının farklı konsantrasyonlarının 13 farklı önemli bitki patojeni bakteriyel hastalık etmenine (*Agrobacterium tumefaciens*, *A. vitis*, *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*, *Erwinia amylovora*, *E. carotovora subsp. carotovora*, *Pseudomonas corrugata*, *P. savastanoi pv. savastanoi*, *P. syringae pv. phaseolicola*, *P. syringae pv. syringae*, *P. syringae pv. tomato*, *Ralstonia solanacearum*, *X. anthomonas campestris pv. campestris* ve *X. axonopodis pv. vesicatoria*) karşı antibakteriyel etkinliklerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, polen ekstraktına karşı en duyarlı türün *Agrobacterium tumefaciens* olduğu, bu türü sırasıyla *P. syringae pv. tomato*, *X axonopodis pv. vesicatoria*, *E. amylovora*, *P. corrugata*, *R. solanacearum*, *X campestris pv. campestris*, *A. vitis*, *C michiganensis subsp. michiganensis*, *E carotovora subsp. carotovora*, *P. savastanoi pv. savastanoi*, *P. syringae pv. phaseolicola* ve *P. syringae pv. syringae* türlerinin izlediğini belirlemişlerdir. EEP'in en etkili olduğu bakteriyel türün *P. syringae pv. phaseolicola* olduğu, bu türü sırasıyla *P. savastanoi pv. savastanoi*, *P. corrugata*, *R. solanacearum*, *E. carotovora pv. carotovora*, *P. syringae pv. syringae*, *E amylovora*, *A. tumefaciens*, *A. vitis*, *C michiganensis subsp. michiganensis*, *P. syringae pv. tomato*, *X campestris pv. campestris* ve *X. axonopodis pv. vesicatoria* türü bakteriyel hastalık etmenleri tarafından izlendiğini bildirmişlerdir.

Erkmen ve Özcan (2008), ethanol içinde hazırlanmış propolis ekstraktının (EEP) yanısıra polen ekstraktı ve defne uçucu yağlarının farklı konsantrasyonlarının (0.02-2.5% (vol/vol) antimikrobiyal etkinliklerini bakteri (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterococcus faecalis* ve *Listeria monocytogenes*) maya (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida rugosa*) ve fungal hastalık etmenlerine (*Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*) karşı araştırmışlardır. Elde edilen antimikrobiyal test sonuçlarına göre polen ekstraktının antifungal ve antibakteriyel etkinliğinin bulunmadığını, propolis'in 0.02% konsantrasyonda bakteriyel etmenlerden *B. cereus* ve *B. subtilis*'e, 1.0% konsantrasyonda *S. aureus* ve *E. faecalis*, 0.2% konsantrasyonda *L. monocytogenes*'e karşı antibakteriyel etkinlik gösterdiğini, propolis'in funguslara karşı minimum engelleme konsantrasyonunun 2.5% olduğunu, gerek propolis'in gerekse defne uçucu yağının *E. coli* ve *S. typhimurium* etmenlerine karşı antibakteriyel etkinliklerinin bulunmadığını belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, gerek EEP gerekse defne uçucu yağının gıdalarda gıda kökenli patojenlere karşı koruyucu bileşikler olarak kullanılabileceğini önermiştir.

Soylu ve ark. (2008), ethanol propolis ekstraktının (EEP) farklı konsantrasyonlarının antifungal etkinliğini turunçgillerde depo hastalık etmeni *Penicillium digitatum*'a karşı araştırdıkları çalışmalarında, EEP'in %70 lik ethanol içinde hazırlanmış EEP'in 10, 50 ve 100 mg/ml konsantrasyonlarda fungus sporlarının çimlenmesini tamamen engellediğini, EEP'in %35 lik ethanol içinde hazırlanmış EEP'in aynı konsantrasyonlarda 31, 68 and 93 % oranında engellediğini belirlemiştir. Yapılan in vivo çalışmalarda %70'lik ethanol içinde hazırlanan EEP'in kullanılan tüm dozları yapay olarak hastalık bulaştırılmış meyvelerde hastalık çıkışını engellemezken, EEP'in 100 mg/ml konsantrasyonda doğal hastalık çıkışını %100 oranında engellediğini belirlemişlerdir.

Curifuta ve ark. (2012), Şili propolis'ini ethanol içinde ekstrakte edilmiş (EEP) ticari preparatının kimyasal bileşenlerinin yanısıra aralarında *Alternaria alternata*, *Fusarium sp.*, *Ulocladium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* ve *Trichoderma reesei*'nin bulunduğu tarımsal öneme sahip 6 farklı fungusa karşı in vitro antifungal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, toplam polyphenol miktarının 7.8 and 42.3 mg mL aralığında olduğunu, HPLC analiz sonucunda propolis ana bileşenlerinin caffeic acid, myricetin, quercetin, kaempferol, apigenin, pinocembrin, galangin, caffeic acid phenethyl

ester (CAPE) ve rutin olduğunu belirlemişlerdir. EEP'in 4 farklı dozunun (0.5, 1.0, 2.5 and 5.0 %) antifungal etkinliğine bakıldığında aralarında istatistiksel olarak farklılık görülmesine rağmen kullanılan dozların tamamının test edilen funguslara karşı antifungal etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Gallez ve ark. (2014), ethanol içinde ekstrakte edilmiş propolis (EEP) ekstraktının antifungal etkinliğini iki farklı bitki fungal hastalık etmeni *Didymella bryoniae* ve *Rhizoctonia solani* 'ye karşı araştırdıkları çalışmalarında propolis uygulamasının alkol ve kontrol petrilere kıyasla fungusların *in vitro* koşullarda misel gelişimini %70-78 oranında engellediğini, bu etkinliğin fungistatik yapıda olduğunu gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar propolis'in hastalıklara karşı kullanılmaları için *in vivo* ve tarla denemelerinin yapılmasının da gerektiğini tavsiye etmişlerdir.

Quintero-Ceron ve ark. (2014), Kolombiya propolis'ini ethanol içinde ekstrakte etmişler (EEP) ve EEP'in depolanmış ürünlerde hastalık yapan fungal hastalık etmenlerinden *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Rhizopus oryzae* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı fungistatik etkinliğini *in vitro* koşullarda araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlarına göre fungal etmenlerden en duyarlı türün *Aspergillus niger* olduğu (%0.09 w/v konsantrasyonda), bu türü sırasıyla *Penicillium* sp. (0.42% w/v), *R. oryzae* (0.53% w/v) ve *B. cinerea* (1.09% w/v) türlerinin izlediğini bildirmişlerdir. Sonuçlar EEP solüsyonun tekli veya diğer antifungal maddeler ile kombinasyon halinde fungusitlere alternatif olarak depo patojenlerine karşı kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Yanar ve ark. (2016), Türkiye'nin 3 farklı bölgesinden (Tokat, Sivas ve Çorum) elde edilmiş propolis'in ethanol ekstraktının (EEP) %0.5, %1 ve %3'lük konsantrasyonlarını toprak kökenli hastalık etmenlerinden *Macrophomina phaseolina*, *Cylindrocarpon destructans*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium oxysporum*'a karşı antifungal etkinliğini araştırmışlardır. EEP'in antifungal etkinliklerinin artan dozlarda test edilen fungal etmenlere karşı arttığını, %3 lük konsantrasyonda tüm EEP'lerin test edilen fungal etmenlere karşı %100 engelleme gösterdiğini, %1'lik konsantrasyonda tüm EEP'lerin test edilen fungal etmenlere karşı %58 ila %100 oranlarında engelleme gösterdiğini belirlemiştir. EEP'ler arasında Tokat ve Çorum örneklerinin Sivas örneğine kıyasla daha yüksek etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Abo-Elyousr ve ark. (2017), Mısır'ın farklı bölgesinden elde ettikleri propolisi su içinde ekstrakte ettikten sonra domates bakteriyel solgun etmeni *Ralstonia*

solanacearum'a karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda antibakteriyel etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında, sulu ekstraktın 1, 10 ve 100 mg/mL konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinlik gösterdiğini, 100 mg/mL konsantrasyonda sulu ekstraktın *in vivo* etkinliğinin diğer 2 konsantrasyona göre daha yüksek etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Georgieva ve ark. (2018), Dichloromethane propolis ekstraktı ve bu ekstraktan izole edilen 4 cycloartane triterpenes molekülün antibakteriyel ve antifungal etkinliğini insan patojeni *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* üzerinde araştırmışlar, sonuçta 4 molekülden 3 tanesinin test edilen mikroorganizmalardan *Escherichia coli*'ye karşı yüksek antibakteriyel, tamamının ise değişen konsantrasyonlarda *Candida albicans* ve *Staphylococcus aureus* karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Silva-Castro ve ark. (2018), chitosan oligomers (COs), propolis (Ps) ve gümüş nanopartikül (AgNPs) bileşiklerinin potansiyel antimikrobiyal etkinliklerini orman ağaçlarında sorun olan fungal ve oomycetes hastalık etmenlerinden *Fusarium circinatum*, *Diplodia pinea*, *Gremmeniella abietina*, *Cryphonectria parasitica*, *Heterobasidion annosum*, *Phytophthora cambivora*, *Phytophthora xalni* ve *Phytophthora plurivora* karşı araştırmışlardır. Çalışma sonucunda COs-Ps ve COs-AgNPs karışımlarının *Fusarium circinatum* ve *Diplodia pinea*'nın misel gelişimini %80 oranında engellediğini, COS bileşiğinin tek başına *Gremmeniella abietina*, *Cryphonectria parasitica*, *Heterobasidion annosum*, *Phytophthora cambivora*'un misel gelişimini 78%, 86%, 93% ve 100% oranlarında engellediğini, propolis (Ps)'in ise tek başına *Phytophthora xalni* ve *Phytophthora plurivora* %100 oranında engellediğini bildirmişlerdir.

2.2. Propolis Ekstraktlarının Kimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar

Velikova ve ark. (2000), Türkiye, Bulgaristan, Yunanistan ve Cezayir gibi Akdeniz ülkelerinden elde edilen farklı propolis örneklerinin ana bileşenlerini GC-MS yöntemi ile belirledikleri çalışmalarında, tüm örneklerde çoğunlukla flavonoidler, caffeic ve ferulic asid esterlerinin ana bileşenler olarak ortak olduğunu, Türk propolis örneklerinde düşük

oranda diterpenic asitler bulunurken, Cezayir propolis örneklerinde önemli düzeyde hydroxyditerpenic'lerin bulunduğunu belirlemişlerdir.

Sorkun ve ark. (2001), Türkiye'nin farklı illerinden (Bursa, Erzurum, Gümüşhane ve Trabzon) elde ettikleri propolis ekstraktlarının kimyasal bileşenlerini araştırdıkları çalışmalarında, Erzurum ilinden elde edilen propolis içeriğinin yüksek düzeyde aromatik asit, ester ve alkol içermek suretiyle diğer illerinkinden farklı yapıda olduğunu, Bursa ilinden toplanan propolis örneklerinin ise yüksek düzeylerde flavavones, aromatik acids esters, terpenoids, flavones ve keton içerdiğini bildirmişlerdir.

Mercan ve ark. (2006), Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan propolis ekstraktlarının kimyasal bileşenlerinin farklılıklar gösterdiğini, propolis ana bileşenlerin Chrysin, apigenin, flavonoids, flavanones, naringenin, ethyl oleate, 3-4-dimethoxy-cinnamic acid ve 9-octadecenoic acid'den oluştuğunu, farklı kimyasal yapıya sahip propolislerin antimikrobiyal ve antioksidant etkinliklerinin farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bankova (2005a,b), Propolis'in içerdiği pekçok kimyasal madde karışımından dolayı mikroorganizmalara karşı etkin kullanılabilecek bir silah olduğunu, içeriğinde 300'den fazla bileşenin bulunduğunu, bunun %50'nin (yaklaşık 160 tanes) tanımlanabildiğini bildirmiştir. Tanımlaması yapılan bileşenlerin ise yarısından çoğunun phenolic bileşikler olan, flavonoidler (flavones, isoflavones ve flavones), aromatik asit ve esterler (caffeic acid, cinnamic ve diğerleri), aromatik aldehydler (vanillin ve isovanillin), coumarins ve phenolic triglyceride'ler olduğunu, diğer önemli bileşenlerin ise provitamin A, B vitamini, lactones, polysaccharides ve amino asitlerden oluştuğunu bildirmişlerdir

Şahinler ve Kaftanoğlu (2006), Doğu Akdeniz bölgesinden Hatay, Adana ve Mersin illerinden toplanan propolis örneklerinin kimyasal içeriğini GC-MS ile analiz etmişler, sonuçta ethanolde ekstrakte edilmiş propolis (EEP) örneklerinin ana bileşenlerinin benzyl cinnamate, methyl cinnamate, caffeic acid, cinnamyl cinnamate ve cinnamoylglicine bileşiklerinin yanısıra yağ asitleri, terpenoids, esters, alcohols hydrocarbons ve aromatik asitlerden oluştuğunu belirlemişlerdir.

Çelemlı ve ark (2013), Yunanistan ve Türkiye'den temin edilen propolis örneklerinin kimyasal bileşenleri açısından karşılaştıkları çalışmalarında iki ülke propolis içeriğinin farklılıklar göstermekle birlikte özellikle Ege bölgesi Türk örneklerin Yunan propolis örnekleri ile yüksek düzeyde flavanoid içeriği açısından benzerlik gösterdiğini,

Yunan propolis örneklerinde ayrıca β -elemene ve totarol bileşenlerin yüksek düzeyde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Aliyazıcıoğlu ve ark. (2013), 10 farklı Türk propolis örneklerinin GC-MS ile kimyasal bileşenlerini araştırdıkları çalışmalarında tüm örneklerin yüksek düzeyde antioksidant etkinliğe sahip olduğu, bu etkinliğin yüksek düzeyde antioksidan bileşikler olan Quercetin, benzoic acid, caffeic acid, ferulic acid ve coumaric acidlerden kaynaklandığını, bununla birlikte vanillic acid, chlorogenic acid, epicatechin, rutin, syringic acid ve o-coumaric acid çok az düzeyde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Al-Ghamdi ve ark. (2017), Yemen'in 4 farklı bölgesinden toplanan dichloromethan ve methanol içinde ekstrakte edilmiş propolis örneklerini GC-MS analizleri sonucunda ana bileşenlerin triterpenoids (254 ± 188 mg/g), n-alkene (145 ± 89 mg/g), nalkane (65 ± 29 mg/g), n-alkanoic acid (40 ± 26 mg/g), uzun zincirli mum ester (38 ± 25 mg g1), n-alkanol (8 ± 3 mg/g) ve methyl n-alkanoates (6 ± 4 mg/g) olduğu, propolis sktrakt içeriklerinin bölgeye ve bölgedeki bitki baskınlığına bağlı olarak önemli farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bayram ve Gerçek (2017), Hakkâri ilinden toplanan ethanol propolis ekstrakt (EEP) örneklerinin kimyasal bileşenlerini GC-MS ile belirledikleri çalışmalarında, hydrocarbon, aliphatic asit ve esterleri, carboxylic asit ve esteleris, cinnamic acids ve esterleri, flavonoid, alkol ve terpen bileşenlerinin propolis örneklerinin ana bileşenler olduklarını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın ana materyalini oluşturan *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani* ve *Sclerotium rolfsii* Hatay ilinin domates yetiştiriciliği yapılan tarla ve seralarındaki hastalıklı bitki örneklerinden Patates Dekstroz Agar (PDA, Merck, Darmstad, Germany) üzerinde izole edilmiş olup, tür teşhisleri gerek morfolojik gerekse moleküler yöntemlerle yapılmıştır. Fungal etmenlerin patojenite testi sağlıklı domates bitkilerinin kök bölgelerine inokule edilmek suretiyle yapılmış ve benzer belirtiler elde edilmek suretiyle teyit edilmiştir. Fungal izolatlar PDA besi yerinde, 4°C de muhafaza edilerek denemelerde kullanılmıştır.

Çalışmanın bir diğer önemli ana materyali olan propolis örnekleri ülkemizin farklı bölgelerini temsil edecek şekilde Karadeniz Bölgesinden Ordu; Doğu Anadolu Bölgesinden Ardahan; Ege bölgesinden Muğla; Akdeniz Bölgesinden Hatay; Trakya-Marmara bölgesinden Edirne illerinde aktif arıcılık yapan üreticilerden temin edilmiştir.

Çalışmanın diğer materyallerini mikoloji laboratuvarı alet-ekipmanları, çeşitli cam ve plastik laboratuvar malzemeleri, besi ortamları, kimyasal maddeler den oluşturmuştur.

3.2. Yöntem

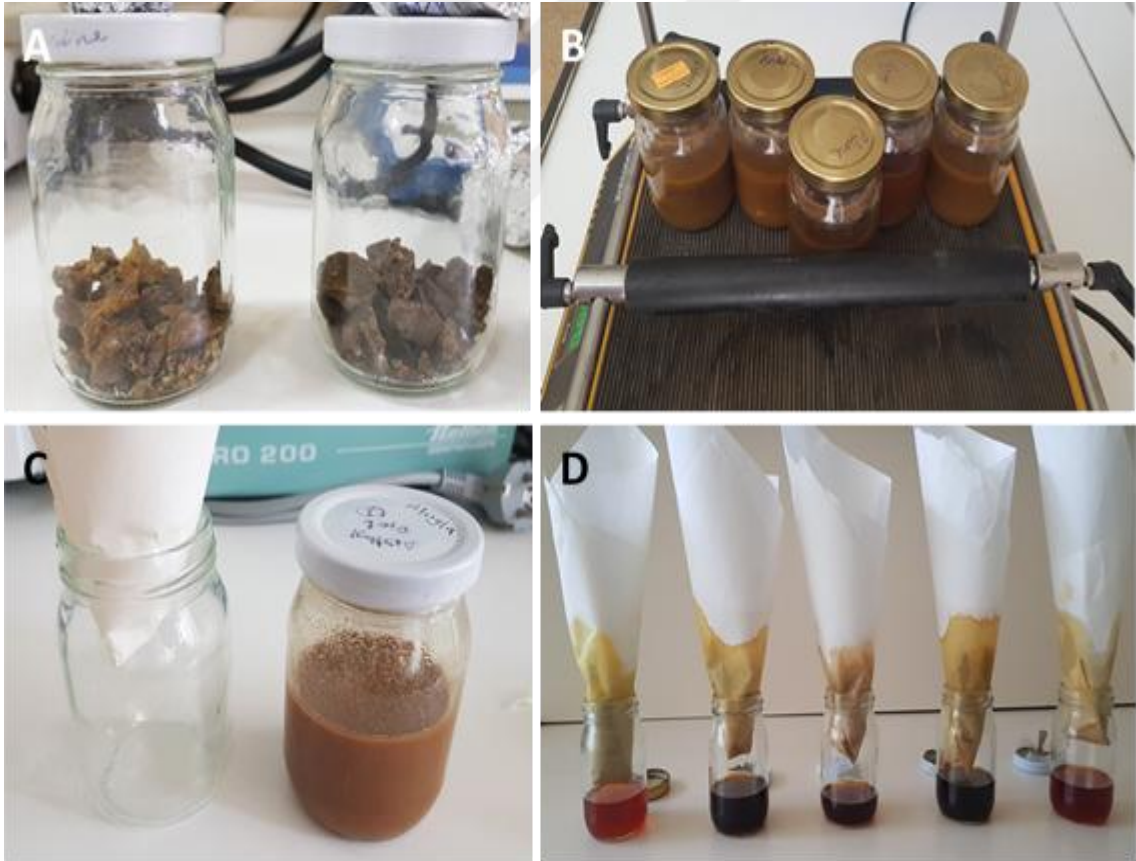
3.2.1. Propolislerin Farklı Bölgelerden Temin edilmesi

Çalışmalarda kullanılan propolis Karadeniz Bölgesinden Ordu; Doğu Anadolu Bölgesinden Ardahan; Ege bölgesinden Muğla; Akdeniz Bölgesinden Hatay; Trakya-Marmara bölgesinden Edirne illerindeki arı yetiştiricilerinden temin edilmiştir.

3.2.2. Farklı Bölgelerden Temin Edilen Propolislerin Etanol Ekstraksiyonlarının (EEP) Hazırlanması

Etanol propolislerin antimikrobiyal etkinliklerinin araştırıldığı çalışmaların çoğunda solvent olarak kullanılan bir çözücüdür (Gómez-Caravac ve ark., 2006).

Propolisin ana bileşenini oluşturan mumsu maddeler etanol içinde erimedikleri için propolis ekstraktları içeriğinin yüksek saflıkta hazırlanmasına neden olur. Propolisin ekstraksiyonu için propolis örnekleri öncelikle dondurucuda bekletilmiş (Şekil 3.1A), donan propolisler bir değirmen vasıtası ile küçük parçacıklar haline getirilmiş. Öğütülmüş propolislerden 20 gr. tartılarak içerisinde 80 ml % 70'lik etil alkol (ethanol) bulunan kapaklı cam şişelere konulmuş ve 200 rpm/dak. hızında orbital çalkalayıcıda oda sıcaklığında (22-25 °C) 3 gün ekstraksiyona bırakılmıştır (Şekil 3.1B). Elde edilen ekstrakt daha sonra 2 kat Watman Filtre kâğıdından geçirilmek suretiyle süzülerek propolis bileşenlerini balmumundan ayırmak suretiyle, propolis'in ethanol ekstraktı (EEP) elde edilmiştir (Şekil 3.1C-D). Elde edilen EEP 10000 rpm'de 20 dak. santrifüj edildikten sonra kullanılmaya kadar buzdolabında +4 °C'de ağzı sıkı bir şekilde kapatılmak suretiyle (Şekil 31C) muhafaza edilmiştir (Wilson ve ark., 2015).



Şekil 3.1. Denemelerde kullanılan etanolde ekstrakte edilmiş propolis solüsyonlarının (EEP) hazırlanması. (A) -20 °C de dondurulmuş, parçalara ayrılmış propolisler. (B) Orbital çalkalayıcıda 2 gün bekletilmiş EEP solüsyonları. (C ve D) Solüsyonların filtre kağıtlarda süzülen EEP ekstraktların reçine-mumsu maddelerden ayrıştırılması

3.2.3. Farklı Bölgelerden Temin Edilen EEP Ekstraktlarının Kimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi

Farklı illerden elde edilen EEP ekstraktlarının kimyasal bileşenleri Gaz Kromatografi (GC) (Hewlett-Packard 6890) cihazı ve bu cihaza entegre olmuş kütle spektroskopisi (MS) (Hewlett-Packard 5973) ile önceden bildirildiği şekilde yapılmıştır (Omar ve ark., 2017). Her ile ait 2 mg EEP ekstraktı 1 ml ethyl acetate içinde hazırlandıktan sonra 1 µl GC-MS cihazı içine enjekte edilmiştir. GC-MS cihazı üzerinde (%88 Cyanopropyl)aryl-polysiloxane (HP-88) capillary kolon (100 m x 0.25 mm x 0.25 µm film kalınlığında) bulunmaktadır. Denemelerde 1.0 ml/dak. akış hızına sahip helyum gazı taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 45 °C de 5 dak. tutulduktan sonra, 2 °C/dak. artışla 130 °C'ye yükseltilmiş, bu sıcaklıkta 5 dak. bekletildikten sonra ve 3 °C/dak. artışla 170 °C'ye daha sonra 9 °C/dak. artışla 220 °C'ye ve en son bu sıcaklıkta 29 dak. bekletilecek şekilde programlanmıştır. İyonizasyon voltajı 70 eV ve iç sıcaklık 250 °C olarak ayarlanmıştır.

Yağların bileşiminde bulunan bileşikler % olarak ve kolonda alıkonma zamanları (Retention time, RT) MS üzerindeki Wiley 275.L kütüphanesi yardımıyla belirlenmiştir (McLafferty, 1994; Adams, 1995). Alıkonma indeks değerleri (Retention index, RI) n-alkan serisi (C₈-C₂₀) karışımının aynı sıcaklık programında gösterdiği MS değerleri ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır

3.2.4. Farklı EEP Ekstraktlarının Fungal Hastalık Etmenleri Üzerine Antifungal Etkinliğinin *in vitro* Koşullarda Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan tüm besi ortamları kullanılmadan önce 121 °C'de 15 dak. otoklav edilmiştir. Denemelerde Patates Dekstroz Agar (**PDA**) hazır ticari olarak (Merck, Darmstad, Germany) satın alınmak suretiyle kullanılmıştır.

EEP'in fungal gelişim üzerine antifungal değme etkinliğini belirlemek için %20 lik stok solüsyondan hazırlanan farklı konsantrasyonları (0, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 11000, 12000, 13000 ve 14000 ppm) kullanılmıştır. Hazırlanan konsantrasyonlar PDA ortamına (45 °C) katılmadan önce karıştırılmış ve 9 cm çapındaki petri kaplarına dökülmüştür. Farklı konsantrasyonda EEP eklenmiş ve

katılmış PDA üzerine fungal etmenlerin aktif olarak gelişmiş olan 5-7 günlük kolonilerinden 5 mm çapında miselyal diskler, mantar delici yardımı ile alınmış ve yaklaşık 20 ml farklı konsantrasyonda EEP eklenmiş PDA içeren petri kaplarının (17×90 mm) orta kısmına miselyal kısım alta gelecek şekilde aktarılmıştır.

Kapaklar hızlı bir şekilde kapatıldıktan sonra iki kat parafilm ile sarılmış ve ters çevrilmiş halde 24-25°C'de 5-7 gün süre ile inkübe edilmiştir. Kontrol petrilerinde ortama propolis içermeyen aynı miktarda %70 etil alkol eklenmiştir. Bu süre boyunca günlük ortalama koloni çapları ölçülmüş ve radyal koloni gelişimi hesaplanmıştır. Her bir EEP'nin farklı konsantrasyonlarında engelleme oranı, % Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

$$\text{Engelleme (\%)} = [(FG_K - FG_U) / FG_K] \times 100 \quad (3.1)$$

FG_K = Kontrol petrilerdeki fungal gelişim çapı (mm)

FG_U = Uygulama yapılmış petrilerdeki fungal gelişim çapı (mm)

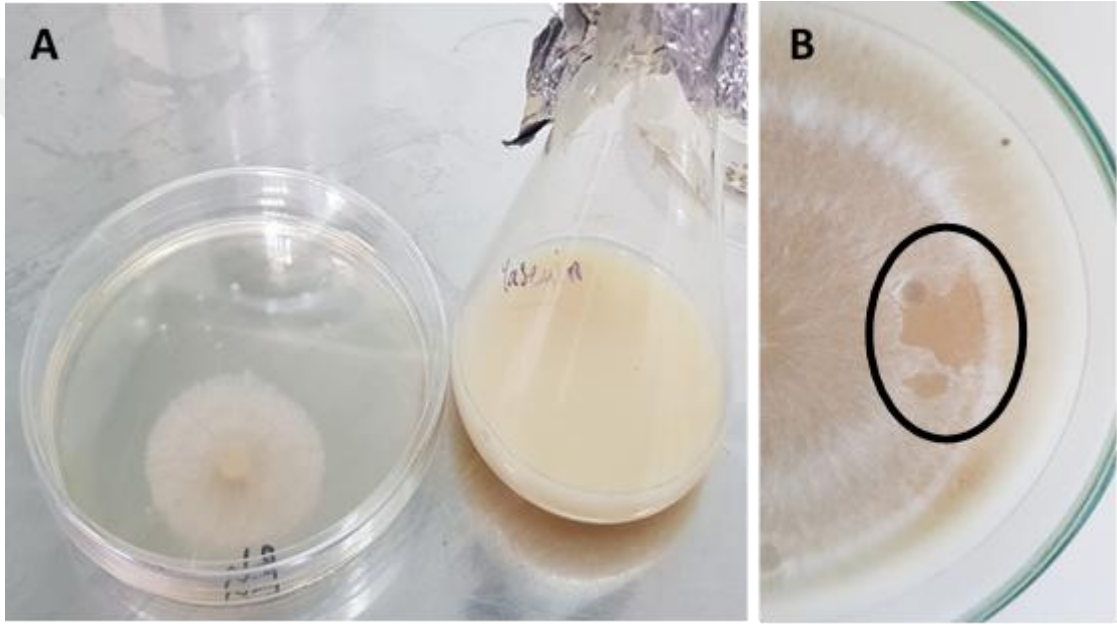
3.2.5. EEP'nin Farklı Konsantrasyonlarının Misel Gelişimi Üzerine Fungisidal ve Fungistatik Etkilerinin Belirlenmesi

Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmenlerin misel gelişimde değme etkisinin fungisidal veya fungistatik olduğunu belirlemek amacıyla değme etki denemesi sonunda misel gelişimi göstermeyen en düşük konsantrasyondaki fungus diskleri EEP uygulaması yapılmamış yeni PDA ortamlarına alınarak 5-12 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda misel gelişiminin görülmediği konsantrasyonlarda EEP etkisinin fungisidal olduğu, misel gelişiminin görüldüğü konsantrasyonlarda ise etkinin fungistatik olduğuna karar verilmiştir.

3.2.6. EEP'nin Minimum Engelleme Konsantrasyonlarının Fungusların Misel Yapılarında Meydana Getirdiği Morfolojik Değişikliklerin Belirlenmesi

EEP'nin minimum engelleme konsantrasyonlarının fungusların miselleri üzerinde meydana gelen morfolojik değişiklikler faz kontrast optiklerle donatılmış Olympus BX51 mikroskobu altında incelenmiştir. Fungus kültürlerinden alınan diskler PDA içeren petrilere aktarıldıktan sonra misel gelişimi için 2 gün 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır

(Şekil 3.2A). Fungus misellerinin diskten itibaren yaklaşık 2 cm gelişmesiyle EEP'nin denemelerde belirlenen minimum engelleme konsantrasyonları önceden belirtildiği şekilde petrilere gelişen misellerin en uç noktasına pipet yardımı ile damlatılarak işaretlenmiş, petri kapakları parafilmle kapatıldıktan sonra, 3 gün daha 25 °C de inkübasyona bırakılmıştır. EEP'nin uygulandığı işaretli bölgelerden (Şekil 3.2B) alınan fungal miseller üzerindeki morfolojik değişiklikler mikroskopta incelemek için %50 glycerol içinde preparatları hazırlanmış, fungal hifler üzerindeki yapısal değişiklikler incelenmiştir (Soylu ve ark., 2010).



Şekil 3.2. Farklı EEP konsantrasyonlarının misel yapıları üzerine olan etkinliğinin belirlenmesi. (A) Fungal kültür 2 gün ön gelişmeye bırakıldıktan sonra, (B) uygulama yapılan alan (daire içine alınarak) 3 gün daha inkübasyona bırakılmış ve daha sonra mikroskop gözlemleri için hazırlanmıştır.

3.2.7. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Tüm *in vitro* denemeleri tesadüf parselleri deneme desenine göre, her bir uygulama için 3 tekerrür olacak şekilde kurulmuştur. Farklı konsantrasyonlardaki misel gelişiminin engellenme oranları % oranlarına çevrilmeden SPSS istatistik programı (SPSS Statistics 17.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve farklı EEP konsantrasyonları arasındaki farklılık Tukey HSD Testi ile tespit edilmiştir ($P \leq 0.05$).

EEP'nin farklı konsantrasyonlarda misel gelişimini %50 düzeyinde engelleyen etkili konsantrasyonları (EC_{50}) her bir EEP için farklı konsantrasyonlarda elde edilen değerleri kullanılarak SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılarak belirlenmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Farklı Bölgelerden Temin Edilen Propolislerin Ekstraksiyonu ve Kimyasal Bileşenlerin Belirlenmesi

Farklı bölgelerden temin edilen propolislerden hazırlanan EEP ekstraktlarının kimyasal bileşenleri GC-MS sistemi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.11’de verilmiştir. Farklı illerden elde edilen EEP ekstraktlarının kimyasal içeriğinin bölgelere göre farklılık gösterdiği, genel anlamda tüm EEP tarçın asidi olarak bilinen cinnamic acid türevlerinin yüksek oranda bulunduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Denemede kullanılan EEP içeriğinde yüksek oranda cinnamic acid türevleri (%11.3-88.3), aldehyde (%0.27-8.31), ketone (%0.12-7.8), yağ asitleri (%1.58-6.58), alkol (%0.5-5.56), uçucu yağlar (%0.1-4.66), terpenoitler (%0.6-4.64), ester (%0.47-2.44), phenol (%0.73) bileşenleri EEP’lerin ana bileşenler olarak belirlenmiştir.

Farklı illerden temin edilen EEP ekstraktlarının tüm fungal etmenlere karşı göstermiş oldukları antifungal etkinlik açısından değerlendirildiğinde etkinliği yüksek olarak gözlenen Ordu EEP içeriğinin büyük oranda %60.13 ile tarçın asidi olarak bilinen cinnamic acid türevi bileşenlerden oluştuğu, bunu sırasıyla farklı kimyasal yapıdaki alkol (%5.56), yağ asidi (%3.71), keton (%3.32) ve ester (%2.44) yapıdaki bileşeklerin takip ettiği görülmüştür. Benzer şekilde etkinliği yüksek olarak belirlenen Edirne ili EEP ekstraktlarında %88.29 oranla cinnamic acid türevi bileşenlerden oluştuğu belirlenmiştir. Etkinliği diğer EEP’ler kıyasla düşük antifungal etkinlik gösteren Hatay ili EEP örneğinde cinnamic acid türevlerinin %11.3 gibi oranla oldukça düşük seviyede olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda kullanılan propolis içeriklerinde tespit edilen içerik farklılıklarının benzeri ülkemizde ve farklı ülkelerde yapılan önceden çalışmalarda da kaydedilmiştir. Bu farklılığın ana sebebi coğrafi bölgeye özgün çiçek/bitki farklılığından kaynaklandığı bilinmektedir (Şahinler ve Kaftanoğlu, 2005; Sforcin ve Bankova, 2011; Isidorov ve ark., 2014). Yapılan çalışmalarda propolislerin flavonoids, aromatic acids ve phenolic gibi farklı ana bileşenlerinden oluştuğu bildirilmiştir (Bankova ve ark., 2000; Chen ve ark., 2008; Dausch ve ark., 2008; Kumazawa ve ark., 2008; Markham ve ark., 1996; Márquez Hernández ve ark., 2010; Popova ve ark., 2010). Propolis örneklerinde tespit ettiğimiz

bileşenlerden özellikle cinnamaldehyde, benzyl cinnamate, methyl cinnamate, caffeic acid, cinnamyl cinnamate ve cinnamoylglucine gibi bileşiklerin birçok mikrobiyal etmenlere karşı antifungal, antibakteriyal, antiviral, anti-inflamatuar ve anti kanserojen etkinlikten sorumlu olduğu yapılan önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Bufalo ve ark., 2009; Orsi ve ark., 2005; Silva ve ark., 2009; Mengüllüoğlu, 2012).

Çizelge 4.1 Farklı illerden temin edilen propolis ekstraktlarının kimyasal içerikleri (%)

Ana Bileşen Grupları ve Bileşenleri	Ordu	Edirne	Muğla	Ardahan	Hatay
<i>AROMATİK ASİTLER</i>	0.23	0.43	<i>ND</i>	<i>ND</i>	0.74
β-Nitrostyrene	+	-			-
2-Heptadecanone	-	-			+
Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)	-	+			
<i>TERPENÖİD</i>	1.95	0.63	0.99	4,64	3.58
Caryophyllene oxide	-	-	-	+	+
2-Naphthalenemethanol	+	+	+	+	-
12-Oxabicyclo[9.1.0]dodeca	-	-	-	+	-
Azulene	-	-	-	+	-
Hinesol	-	-	-	+	-
Thymol	+	-	-	-	-
α-Pinene	-	-	-	-	+
α-Caryophyllene	-	-	-	-	+
α-Guaiene	-	-	-	-	+
α-Cadinol	-	-	-	-	+
<i>ESANSİYEL(Uçucu) YAĞ</i>	1.21	<i>ND</i>	<i>ND</i>	0,07	4.66
Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)	-			+	-
Nerolidol	+			-	-
Cyclohexene	+			-	-
4-Hydroxy-2-methoxybenaldehyde	+			-	-
Benzeneacetaldehyde	+			0,74	-
Hexanedioic acid	-			+	-
Cyclotetradecatetraene	-			-	+
<i>AROMATİK KETON</i>	0.23	1.23	2.69	7,88	4.53
2-Propen-1-one	-	+	+	+	+
Benzene	-	-	+	-	-
Acetophenone	+	-	+	-	+
<i>KETON</i>	3.32	2.0	0.12	<i>ND</i>	0.85
Pyridine, 3-butyl-, 1-oxide	+	-	+		-
Tetrahydrothiophen-3-One	+	-	-		-
Methyl N-Hexadecyl Ketone	+	-	-		-
3-Buten-2-One, 4-Phenyl	+	-	-		-
2-Nonadecanone	+	+	-		-

Çizelge 4.1 (devam). Farklı illerden temin edilen propolis ekstraktlarının kimyasal içerikleri (%)

Acridin-1(2H)-One, 3,4-Dihydro-9-	+	-	-	-	-
2-Pentacosanone	+	-	-	-	-
Heptadecane-2,4-dione	-	-	-	-	+
Ketone, methyl 2-methyl-1-cyclohex	-	-	-	-	+
Pentadecatrien-2-one	-	+	-	-	-
Propen-1-one	-	+	-	-	-
ALKOL	5.56	0.49	1.99	1,99	3.33
2- Propanol, 2 Metil	-	-	-	+	-
3-Cyclohexene 1 Metanol	-	-	-	+	-
Benzil Alkol	-	-	+	+	-
Phenylethyl Alcohol	+	-	+	+	-
Oxirane, Tetradecyl	+	-	-	-	-
Farnesol	+	-	-	-	-
Benzene, 1-Cyclopenten-1-Yl-	+	-	-	-	-
2-Propen-1-Ol, 3-Phenyl	+	-	-	-	+
Guaiol	-	+	-	-	-
ESTERLER	2.44	1.58	1.28	0,47	ND
Heneicosane	-	-	-	+	-
Hexadecanoic Acid, Methyl Ester	-	-	+	+	-
Hexadecanoic Acid, Ethyl Ester	+	-	-	+	-
4-Vinylbenzoic Acid	-	-	+	-	-
Nonadecane	+	+	-	-	-
Benzenepropanoic Acid, Ethyl Ester	+	+	-	-	-
9-Octadecenoic Acid (Z)-, Methyl Ester	+	-	-	-	-
Methyl P-Methoxycinnamate	+	-	-	-	-
ALDEHYDE	0.83	ND	8.31	0,27	0.49
1-Phenanthrenecarboxaldehyde	-	-	-	+	-
Benzaldehyde	+	-	+	-	+
Benzeneacetaldehyde	-	-	+	-	+
Cinnamaldehyde	+	-	+	-	+
Vanillin	-	-	+	-	-
CINNAMIC ACID	60.13	88.29	53.06	58,14	11.3
Cinnamamide	+	-	+	+	-
Cinnamyl cinnamate	+	+	-	+	+
Vinyl <i>trans</i> -cinnamate	+	-	-	+	+
<i>trans</i> -Cinnamic acid	+	+	+	+	+
Cinnamoylglycine, methyl ester	-	+	+	-	-
Benzyl cinnamate	+	+	+	-	+
PHENOLIC	-	-	0.73	-	-
Phenol 2 methoksil	-	-	+	-	-
YAĞ ASİTLERİ	3.71	ND	1.58	ND	6.58
Ethyl oleate	+	-	+	-	+

Çizelge 4.1 (devam). Farklı illerden temin edilen propolis ekstraktlarının kimyasal içerikleri (%)

Hexanoic acid, 2-methyl-	+	-	+		
2-Buten-1-ol, 3-methyl acetate	+	-			
3-Buten-1-ol, 3-methyl	+	-			
Linoleic acid ethyl ester	-	-	+		
GENEL TOPLAM (%)	78.32	94.65	70.75	74.2	77.06

ND: analizlerde tespit edilememiştir.

4.2. Farklı EEP Ekstraktlarının Fungal Etmenlerin Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine *in vitro* Antifungal Etkileri

Farklı bölgelerden elde edilen EEP'lerin çalışmalarda kullanılan fasulyenin önemli toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinden olan *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* ve *Macrophomina phaseolina*'nın misel gelişimini engelleme (antifungal) potansiyelleri farklı konsantrasyonlarda EEP eklenmiş PDA içeren petri kaplarında (Şekil 4.1, Şekil 4.3, Şekil 4.5, Şekil 4.7) belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

4.2.1. Farklı EEP Ekstraktlarının *Sclerotinia sclerotiorum*'un Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine *in vitro* Antifungal Etkinliğinin Belirlenmesi

In vitro antifungal etkinliklerinin belirlendiği testlemeleri sonucunda elde edilen farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen *Sclerotinia sclerotiorum*'nın misel gelişimini engelleme düzeyleri açısından değerlendirildiğinde (Şekil 4.1); en etkili EEP'in Ordu ilinden temin edilen propolis ekstraktları tarafından gösterildiği, bunu sırası ile Muğla, Edirne, Ardahan ve Hatay illerinden temin edilen propolis ekstraktlarının izlediği belirlenmiştir. Fungal etmenin misel gelişimini engelleyen Minimum Engelleme Konsantrasyonlarının (Minimum Inhibition Concentration, **MIC**) Ordu, Muğla ve Edirne illerinden elde edilen EEP için 6000 ppm, Ardahan ve Hatay illerinden elde edilen EEP için 10000 ppm olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3). Yapılan istatistik analiz sonucunda EEP konsantrasyonları arasında önemli farklılıkların olduğu, tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni *S. sclerotiorum* misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliği

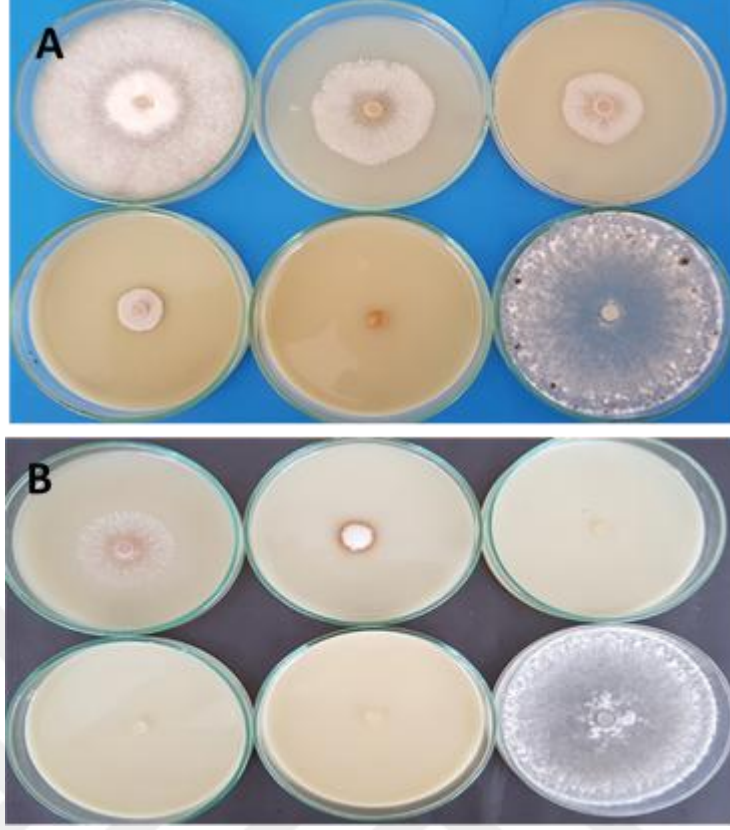
Farklı illerden temin edilen EEP'lerin misel gelişimi (mm) üzerine etkinliği					
Doz (ppm)	Ordu	Ardahan	Hatay	Muğla	Edirne
0,0	89.7g	89.7i	89.7f	89.7g	89.7e
1000	61.3fA	88.0iB	88.3fB	85.7fgB	88.3eB
2000	40.0eA	86.3iC	85.0fC	81.7eB	85.0C
3000	25.3dA	71.3hC	83.3efD	60.0dB	59.3dB
4000	13.7cA	52.7gD	81.7efE	35.0cB	43.3cC
5000	7.7bA	44.0fC	74.7deD	17.0bB	18.7bB
6000	0.0aA	35.3eB	66.7dC	0.0aA	0.0aA
7000	0.0aA	26.0dB	51.3cC	0.0aA	0.0aA
8000	0.0aA	18.3cB	42.0cC	0.0aA	0.0aA
9000	0.0aA	8.3bB	18.7bC	0.0aA	0.0aA
10000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
11000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
12000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
13000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
14000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
EC₅₀	1649.4	4742.5	6869.4	3315.4	3551.5

Sütun veya satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük veya büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak Tukey HSD testine göre önemli olduğunu gösterir (P<0.05).

Çizelge 4.3. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni *S. sclerotiorum* misel gelişiminin % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği

Farklı illerden temin edilen EEP'lerin misel gelişimini engellemesi (%) üzerine etkinliği					
Doz (ppm)	Ordu	Ardahan	Hatay	Muğla	Edirne
0,0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1000	31.6	1.9	1.5	4.5	1.5
2000	55.4	3.7	5.2	8.9	5.2
3000	71.7	20.4	7.1	33.1	33.8
4000	84.8	41.3	8.9	61.0	51.7
5000	91.5	50.9	16.7	81.0	79.2
6000	100.0*	60.6	25.7	100.0*	100.0*
7000	100.0	71.0	42.8	100.0	100.0
8000	100.0	79.6	53.2	100.0	100.0
9000	100.0	90.7	79.2	100.0	100.0
10000	100.0	100.0*	100.0*	100.0	100.0
11000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
12000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
13000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
14000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

* % 100 engellenmenin gözlemlendiği bu konsantrasyonlardaki petrilere alınan örnekler yeni PDA petrillerinde gelişme göstermesi nedeni ile bu değerlerdeki antifungal etkinlik **fungisitativ** olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen *S. sclerotiorum*'un misel gelişimini engelleme potansiyelleri. (A) Ardahan EEP, (B) Ordu EEP örnekleridir.

Probit analiz sonucunda fungal misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon (EC_{50}) değerleri, Ordu örneği için 1649.4 ppm, Muğla örneği için 3315.4 ppm, Edirne örneği için 3551.5 ppm, Ardahan örneği için 4742.5 ppm olarak hesaplanırken, en yüksek EC_{50} değeri Hatay örneği için ise 6869.4 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Farklı bölgelerden hazırlanan farklı EEP konsantrasyonlarının fungusidal/fungistatik etkisinin araştırıldığı çalışmada fungus misellerinin hiç gelişmediği konsantrasyonların (MIC) bulunduğu petrilerden alınan misel disklerin EEP içermeyen PDA üzerine konduklarında, fungal etmenin misel gelişimini engelleyen Ordu, Muğla ve Edirne illerinden elde edilen EEP için minimum engelleme konsantrasyonu olan 6000 ppm dozunda fungal gelişimin yeniden başladığı bu sebeple bu dozda görülen etkinliğin **fungistatik** olduğu, benzer şekilde Ardahan ve Hatay illerinden elde edilen EEP için belirlenen minimum engelleme konsantrasyonu olan 10000 ppm dozunda fungal

gelişimin yeniden başladığı bu sebeple bu dozda görülen etkinliğin **fungistatik** olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Fungal etmen *S. sclerotiorum*'a karşı minimum engellemenin görüldüğü EEP konsantrasyonunun (Edirne EPP 6000 ppm) fungistatik etkinliği. Engellemelerin görüldüğü petrilere (ok) alınan fungal misel diskleri (*) yeni kondukları petrilere yeniden gelişme göstermiştir.

4.2.2. Farklı EEP Ekstraktlarının *Sclerotium rolfsii*'nin Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine *in vitro* Antifungal Etkinliğinin Belirlenmesi

In vitro antifungal etkinliklerinin belirlendiği testlemeleri sonucunda elde edilen farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen *Sclerotium rolfsii*'nin misel gelişimini engelleme düzeyleri açısından değerlendirildiğinde (Şekil 4.3); en etkili EEP'in fungal etmen *S. sclerotiorum*'a karşı etkinliğinde olduğu gibi Ordu ilinden temin edilen propolis ekstraktları tarafından gösterildiği, bunu sırası ile Edirne, Muğla, Ardahan ve Hatay illerinden temin edilen propolis ekstraktlarının izlediği belirlenmiştir. Fungal etmenin misel gelişimini engelleyen Minimum Engelleme Konsantrasyonlarının (Minimum Inhibition Concentration, **MIC**) Ordu, Edirne ve Muğla illerinden elde edilen EEP için 6000 ppm, Ardahan ilinden elde edilen EEP için 8000 ppm ve Hatay ilinden elde edilen EEP için 10000 ppm olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).

Çizelge 4.4. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni *S. rolfsii* misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliği

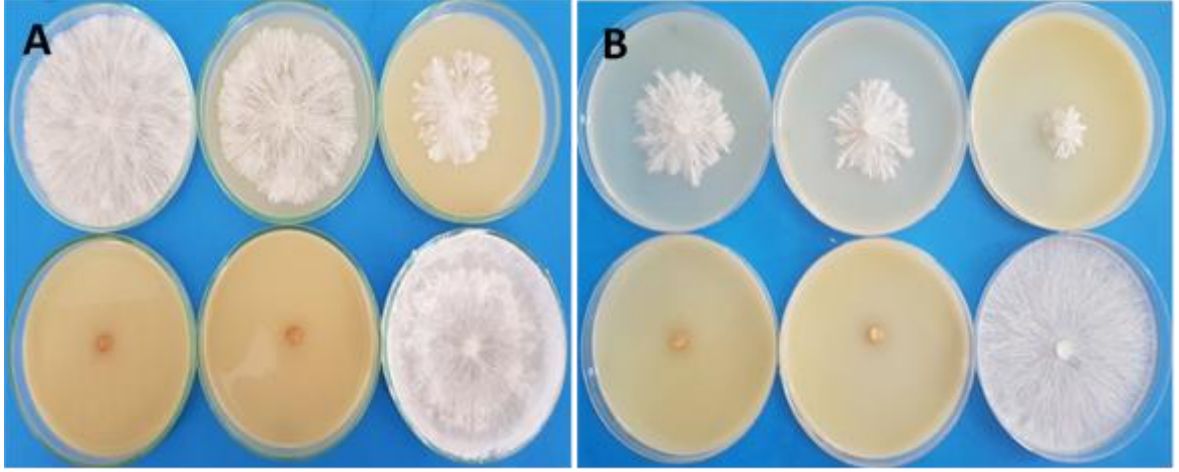
Farklı illerden temin edilen EEP'lerin misel gelişimi (mm) üzerine etkinliği					
Doz (ppm)	Ordu	Ardahan	Hatay	Muğla	Edirne
0,0	89.7g	89.7g	89.7h	89.7g	89.7g
1000	46.7fA	88.3gC	89.0hC	78.3fB	79.3fB
2000	39.7eA	88.3gC	86.7hC	61.3eB	40.3eA
3000	30.3dA	68.3fC	80.7gD	39.0dB	32.3dA
4000	22.0cB	52.0eC	73.7fD	15.7cA	24.0cB
5000	12.0bC	42.3dD	62.3eE	7.3bA	8.3bB
6000	0.0aA	31.7cB	44.7dC	0.0aA	0.0aA
7000	0.0aA	19.7bB	25.3cC	0.0aA	0.0aA
8000	0.0aA	0.0aA	12.7bB	0.0aA	0.0aA
9000	0.0a	0.0a	7.7b	0.0a	0.0a
10000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
11000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
12000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
13000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
14000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
EC₅₀	1385.0	4497.3	5454.5	2361.3	2138.8

Sütun veya satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük veya büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak Tukey HSD testine göre önemli olduğunu gösterir (P<0.05).

Çizelge 4.5. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni *S. rolfsii* misel gelişiminin % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği

Farklı illerden temin edilen EEP'lerin misel gelişiminin engellenmesi (%) üzerine etkinliği					
Doz (ppm)	Ordu	Ardahan	Hatay	Muğla	Edirne
0,0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1000	48.0	1.5	0.7	12.6	11.5
2000	55.8	1.5	3.3	31.6	55.0
3000	66.2	23.8	10.0	56.5	63.9
4000	75.5	42.0	17.8	82.5	73.2
5000	86.6	52.8	30.5	91.8	90.7
6000	100.0*	64.7	50.2	100.0*	100.0*
7000	100.0	78.1	71.7	100.0	100.0
8000	100.0	100.0*	85.9	100.0	100.0
9000	100.0	100.0	91.5	100.0	100.0
10000	100.0	100.0	100.0*	100.0	100.0
11000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
12000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
13000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
14000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

* % 100 engellenmenin gözlemlendiği bu konsantrasyonlardaki petriyelerden alınan örnekler yeni PDA petriyelerinde gelişme göstermemesi nedeni ile bu değerlerdeki antifungal etkinlik **fungisidal** olarak belirlenmiştir.

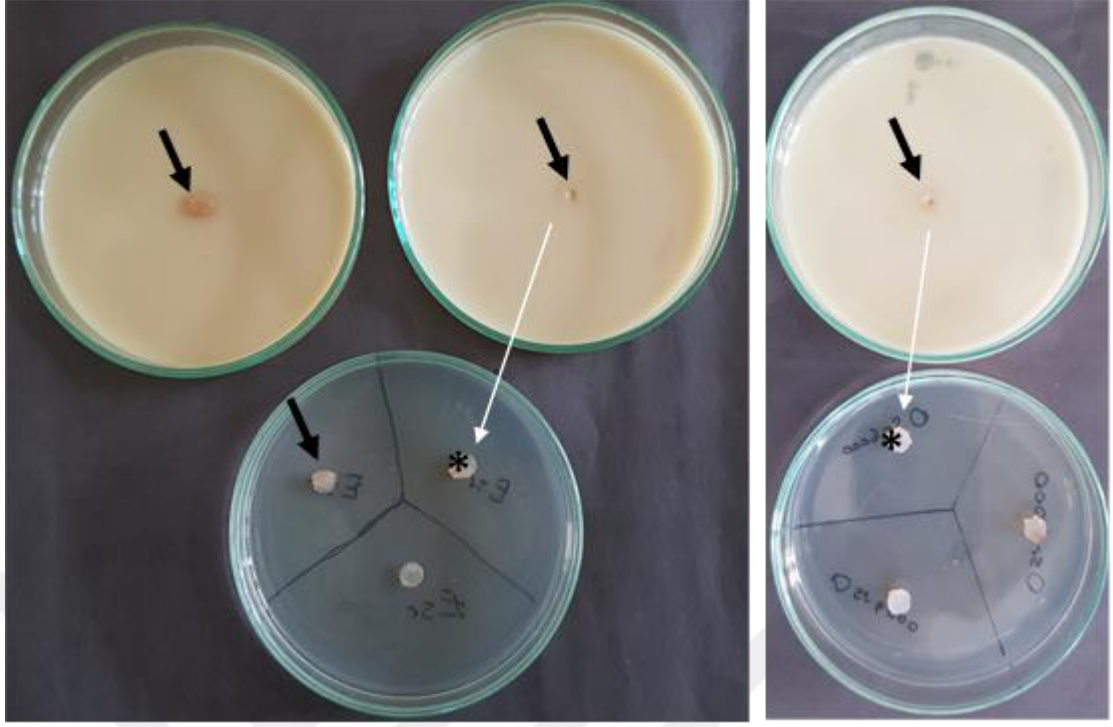


Şekil 4.3. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen *S. rolfsii*'nin misel gelişimini engelleme potansiyelleri. (A) Ardahan EEP, (B) Edirne EEP örneğini gösterir.

Yapılan istatistik analiz sonucunda EEP konsantrasyonlar arasında önemli farklılıkların olduğu, tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Probit analiz sonucunda fungal misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon (EC_{50}) değerleri, Ordu örneği için 1385.0 ppm, Edirne örneği için 2138.8 ppm, Muğla örneği için 2361.3 ppm, Ardahan örneği için 4497.3 ppm olarak hesaplanırken, en yüksek EC_{50} değeri Hatay örneği için ise 5454.5 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Farklı bölgelerden hazırlanan farklı EEP konsantrasyonlarının fungusidal/fungistatik etkisinin araştırıldığı çalışmada fungus misellerinin hiç gelişmediği konsantrasyonların (MIC) bulunduğu petrilere alınan misel disklerin EEP içermeyen PDA üzerine konduklarında, fungal etmenin misel gelişimini engelleyen Ordu, Muğla ve Edirne illerinden elde edilen EEP için minimum engelleme konsantrasyonu olan 6000 ppm dozunda fungal gelişimin görülmediği, bu sebeple bu dozlarda görülen etkinliğin **fungusidal** olduğu, benzer şekilde Ardahan ve Hatay illerinden elde edilen EEP için belirlenen minimum engelleme konsantrasyonu olan 8000 ve 10000 ppm dozlarında da fungal gelişimin gözlenmediği, bu sebeple bu dozlarda görülen etkinliğin **fungusidal** olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Fungal etmen *S. rolfsii*'ye karşı minimum engellemenin görüldüğü EEP konsantrasyonunun (Ordu EEP 6000 ppm) fungusidal etkinliği. Engellemelerin görüldüğü petrilere (ok) alınan fungal misel diskleri (*) yeni kondukları petrilere yeniden gelişme göstermemiştir.

4.2.3. Farklı EEP Ekstraktlarının *Rhizoctonia solani*'nin Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine *in vitro* Antifungal Etkinliğinin Belirlenmesi

In vitro antifungal etkinliklerinin belirlendiği testlemeleri sonucunda elde edilen farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen *Rhizoctonia solani*'nin misel gelişimini engelleme düzeyleri açısından değerlendirildiğinde (Şekil 4.5); en etkili EEP'in benzer şekilde diğer fungal etmenlerde olduğu gibi Ordu ilinden temin edilen propolis ekstraktları tarafından gösterildiği, bunu sırası ile Edirne, Muğla, Ardahan ve Hatay illerinden temin edilen propolis ekstraktlarının izlediği belirlenmiştir. Fungal etmenin misel gelişimini engelleyen Minimum Engelleme Konsantrasyonlarının (Minimum Inhibition Concentration, **MIC**) Ordu, Edirne ve Muğla illerinden elde edilen EEP için 8000 ppm, Ardahan ilinden elde edilen EEP için 10000 ppm, Hatay ilinden elde edilen EEP için 12000 ppm olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7). Yapılan istatistik analiz sonucunda EEP konsantrasyonları arasında önemli farklılıkların olduğu, tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni *R. solani* misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliği

Farklı illerden temin edilen EEP'lerin misel gelişimi (mm) üzerine etkinliği					
Doz (ppm)	Ordu	Ardahan	Hatay	Muğla	Edirne
0,0	75.3h	75.3k	75.3k	75.3g	75.3h
1000	48.0gA	51.3jA	60.3jB	64.7fB	62.7gB
2000	37.0fA	43.3iB	58.0jD	52.0eC	37.3fA
3000	30.3eB	36.3hC	50.3iD	48.7deD	25.7eA
4000	23.0dB	28.7gC	44.7hD	46.3dD	17.7dA
5000	17.3cB	22.7fC	42.3hE	28.7cD	12.3cA
6000	13.3cAB	19.3eC	37.3gD	12.0bA	9.7bcA
7000	7.3bA	15.7dB	32.0fC	7.3bA	6.3bA
8000	0.0aA	12.3cB	27.0eC	0.0aA	0.0aA
9000	0.0aA	7.3bB	17.3dC	0.0aA	0.0aA
10000	0.0aA	0.0aA	10.3cB	0.0aA	0.0aA
11000	0.0aA	0.0aA	6.0bB	0.0aA	0.0aA
12000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
13000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
14000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
EC₅₀	1864.1	2369.8	4303.4	3251.7	2137.1

Sütun veya satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük veya büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak Tukey HSD testine göre önemli olduğunu gösterir (P<0.05).

Çizelge 4.7. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni *R. solani* misel gelişiminin % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği

Farklı illerden temin edilen EEP'lerin misel gelişimini engellemesi (%) üzerine etkinliği					
Doz (ppm)	Ordu	Ardahan	Hatay	Muğla	Edirne
0,0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1000	36.3	31.9	19.9	14.2	16.8
2000	50.9	42.5	23.0	31.0	50.4
3000	59.7	51.8	33.2	35.4	65.9
4000	69.5	61.9	40.7	38.5	76.5
5000	77.0	69.9	43.8	61.9	83.6
6000	82.3	74.3	50.4	84.1	87.2
7000	90.3	79.2	57.5	90.3	91.6
8000	100.0*	83.6	64.2	100.0*	100.0*
9000	100.0	90.3	77.0	100.0	100.0
10000	100.0	100.0*	86.3	100.0	100.0
11000	100.0	100.0	92.0	100.0	100.0
12000	100.0	100.0	100.0*	100.0	100.0
13000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
14000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

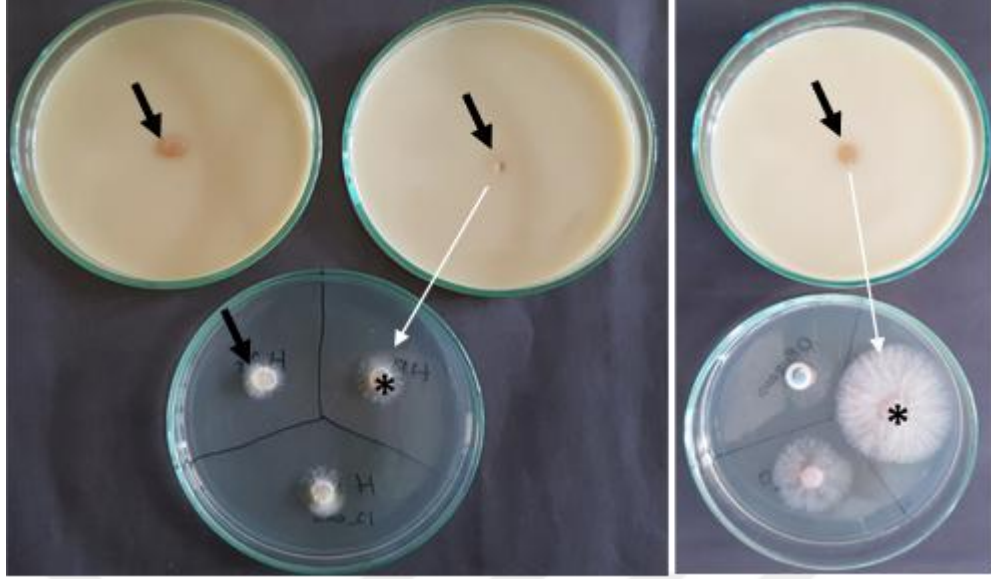
* % 100 engellenmenin gözlemlendiği bu konsantrasyonlardaki petriyelerden alınan örnekler yeni PDA petriyelerinde gelişme göstermesi nedeni ile bu değerlerdeki antifungal etkinlik **fungisitativ** olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen *R. solani*'nin misel gelişimini engelleme potansiyelleri. (A) Ardahan EEP, (B) Ordu EEP örneklerini gösterir.

Probit analiz sonucunda fungal misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon (EC_{50}) değerlerinin sırasıyla, en düşük olarak Ordu örneği için 1864.1 ppm, Edirne örneği için 2137.1 ppm, Ardahan örneği için 2369.8 ppm, Muğla örneği için 3251.7 ppm, olarak hesaplanırken, en yüksek EC_{50} değeri Hatay örneği için 4303.4 ppm olarak belirlenmiştir.

Farklı bölgelerden hazırlanan farklı EEP konsantrasyonlarının fungusidal/fungistatik etkisinin araştırıldığı çalışmada fungus misellerinin hiç gelişmediği konsantrasyonların (MIC) bulunduğu petrilerden alınan misel disklerin EEP içermeyen PDA üzerine konduklarında, fungal etmenin misel gelişimini engelleyen Ordu, Muğla ve Edirne illerinden elde edilen EEP için minimum engelleme konsantrasyonu olan 8000 ppm dozunda fungal gelişimin yeniden başladığı bu sebeple bu dozda görülen etkinliğin **fungistatik** olduğu, Ardahan ve Hatay illerinden elde edilen EEP için belirlenen minimum engelleme konsantrasyonu olan 10000 ve 12000 ppm dozlarında fungal gelişimin yeniden başladığı bu sebeple bu dozlarda görülen etkinliğin benzer şekilde **fungistatik** olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Fungal etmen *R. solani*'ye karşı minimum engellemenin görüldüğü EEP konsantrasyonunun (Hatay ve Ordu EEP 8000 ve 12000 ppm) fungistatik etkinliği. Engellemelerin görüldüğü petrilere (ok) alınan fungal misel diskleri (*) yeni kondukları petrilere yeniden gelişme göstermiştir.

4.2.4. Farklı EEP Ekstraktlarının *Macrophomina phaseolina*'nin Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine *in vitro* Antifungal Etkinliğinin Belirlenmesi

In vitro antifungal etkinliklerinin belirlendiği testlemeleri sonucunda elde edilen farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen *Macrophomina phaseolina*'nin misel gelişimini engelleme düzeyleri açısından değerlendirildiğinde (Şekil 4.7); minimum engellemeyi sağlayan dozların diğer fungal etmenlere nispeten daha yüksek dozlarda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Hastalık etmeninin misel gelişimini engellemede en etkili EEP'in diğer fungal etmenlerde olduğundan aksine Edirne ilinden temin edilen propolis ekstraktları tarafından gösterildiği, bunu sırası ile Ardahan, Ordu, Muğla, ve Hatay illerinden temin edilen propolis ekstraktlarının izlediği belirlenmiştir. Fungal etmenin misel gelişimini engelleyen Minimum Engelleme Konsantrasyonlarının (Minimum Inhibition Concentration, **MIC**) Edirne ilinden elde edilen EEP için 10000 ppm, Ardahan, Ordu, Muğla illerinden elde edilen EEP için 12000 ppm dozlarında gözlenirken, en düşük antifungal etkinliğin Hatay ilinden elde edilen EEP için 14000 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9). Yapılan istatistik analiz sonucunda EEP konsantrasyonları arasında önemli farklılıkların olduğu, tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni *M. phaseolina* misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinliği

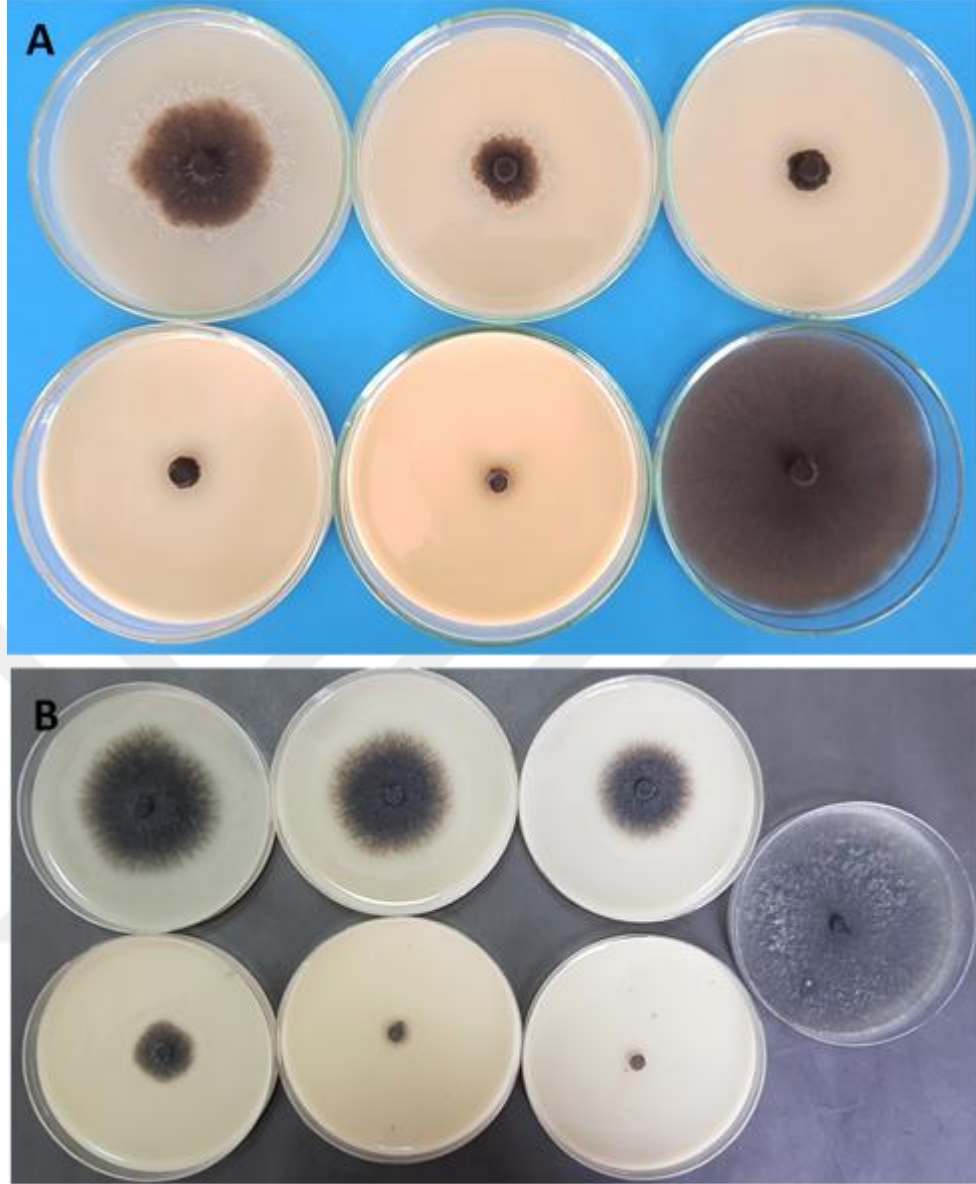
Farklı illerden temin edilen EEP'lerin misel gelişimi (mm) üzerine etkinliği					
Doz (ppm)	Ordu	Ardahan	Hatay	Muğla	Edirne
0,0	84.3k	84.3k	84.3n	84.3l	84.3j
1000	64.0j	61.3j	84.0n	73.3k	47.7i
2000	57.3i	54.3i	79.3m	68.7j	39.0h
3000	50.0h	43.3h	75.3l	60.0i	31.0g
4000	46.7gh	29.7g	71.0k	55.3h	27.3f
5000	43.0g	26.3g	63.3j	44.3g	22.0e
6000	36.3f	21.0f	58.3i	35.3f	15.3d
7000	26.0e	19.7ef	51.3h	29.3e	11.3c
8000	18.3d	16.7de	46.7g	22.0d	9.0bc
9000	13.7c	14.7cd	40.0f	16.7c	7.0b
10000	8.7b	11.3bc	33.7e	10.3b	0.0a
11000	6.7b	7.3b	25.7d	6.7b	0.0a
12000	0.0a	0.0a	19.0c	0.0a	0.0a
13000	0.0a	0.0a	9.7b	0.0a	0.0a
14000	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
EC₅₀	3484.5	2671.3	7552.7	4380.8	1666.8

Sütun veya satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük veya büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak Tukey HSD testine göre önemli olduğunu gösterir (P<0.05).

Çizelge 4.9. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeni *M. phaseolina* misel gelişiminin % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği

Farklı illerden temin edilen EEP'lerin misel gelişiminin engellenmesi (%) üzerine etkinliği					
Doz (ppm)	Ordu	Ardahan	Hatay	Muğla	Edirne
0,0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1000	24.1	27.3	0.4	13.0	43.5
2000	32.0	35.6	5.9	18.6	53.8
3000	40.7	48.6	10.7	28.9	63.2
4000	44.7	64.8	15.8	34.4	67.6
5000	49.0	68.8	24.9	47.4	73.9
6000	56.9	75.1	30.8	58.1	81.8
7000	69.2	76.7	39.1	65.2	86.6
8000	78.3	80.2	44.7	73.9	89.3
9000	83.8	82.6	52.6	80.2	91.7
10000	89.7	86.6	60.1	87.7	100.0*
11000	92.1	91.3	69.6	92.1	100.0
12000	100.0*	100.0*	77.5	100.0*	100.0
13000	100.0	100.0	88.5	100.0	100.0
14000	100.0	100.0	100.0*	100.0	100.0

* % 100 engellenmenin gözlemlendiği bu konsantrasyonlardaki petrilere alınan örnekler yeni PDA petrilere gelişme göstermesi nedeni ile bu değerlerdeki antifungal etkinlik **fungisitativ** olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.7. Farklı EEP konsantrasyonlarının fungal etmen *M. phaseolina*'nın misel gelişimini engelleme potansiyelleri. (A) Ardahan EEP, (B) Hatay EEP örneklerini gösterir

Probit analiz sonucunda fungal misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon (EC_{50}) değerlerinin sırasıyla, en düşük olarak Edirne örneği için 1666.8 ppm, Ardahan örneği için 2671.3 ppm, Ordu örneği için 3484.5 ppm, Muğla örneği için 4380.8 ppm, olarak hesaplanırken, en yüksek EC_{50} değeri Hatay örneği için 7552.7 ppm olarak belirlenmiştir.

Farklı bölgelerden hazırlanan farklı EEP konsantrasyonlarının fungusidal/fungistatik etkisinin araştırıldığı çalışmada fungus misellerinin hiç

gelişmediği konsantrasyonların (MIC) bulunduğu petrilerden alınan misel disklerin EEP içermeyen PDA üzerine konduklarında, fungal etmenin misel gelişimini engelleyen Edirne ilinden elde edilen EEP için minimum engelleme konsantrasyonu olan 10000 ppm dozunda, Ardahan, Ordu ve Muğla illerinden elde edilen EEP için minimum engelleme konsantrasyonu olan 12000 ppm dozunda, Hatay ilinden elde edilen EEP için belirlenen minimum engelleme konsantrasyonu olan 14000 ppm dozunda fungal gelişimin yeniden başladığı bu sebeple bu dozlarda görülen etkinliğin **fungistatik** olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Fungal etmen *M. phaseolina*'ya karşı minimum engellemenin görüldüğü EEP konsantrasyonunun (Muğla EPP 12000 ppm) fungistatik etkinliği. Engellemelerin görüldüğü petrilerden (ok) alınan fungal misel diskleri (*) yeni kondukları petrilerde yeniden gelişme göstermiştir.

Ülkemizin farklı arı yetiştiriciliği yapılan bölgelerinden temin edilen farklı EEP ekstraktlarının antifungal etkinlikleri tüm fungal etmenlerin misel gelişimini engeleyen MIC (Çizelge 4.10) ve EC₅₀ sonuçları (Çizelge 4.11) açısından değerlendirildiğinde fungal etmen *M. phaseolina* etmeni dışında tüm etmenlere en etkili EEP ekstraktının Ordu ilinden temin edilen propolis'ten hazırlanan ekstraktlar tarafından gösterildiği, bunu sırasıyla Edirne, Muğla ve Ardahan illerinden temin edilen propolis örneklerinin takip ettiğini, en düşük etkinliğin ise Hatay ilinden temin edilen propolis örnekleri tarafından gösterildiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.10. Çalışmalarda kullanılan EEP konsantrasyonlarının fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini engelleyen minimum engelleme konsantrasyonları (MIC)

Fungal Etmenler	Farklı EEP konsantrasyonları kullanılmak suretiyle tespit edilen Minimum Engelleme Konsantrasyonları (ppm)				
	Ordu	Edirne	Muğla	Ardahan	Hatay
<i>S. sclerotiorum</i>	6000	6000	6000	10000	10000
<i>S. rolfsii</i>	6000	6000	6000	8000	10000
<i>R. solani</i>	8000	8000	8000	10000	12000
<i>M. phaseolina</i>	12000	10000	12000	12000	14000

Çizelge 4.11. Çalışmalarda kullanılan EEP konsantrasyonlarının Probit analizi sonucu belirlenen fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini %50 engelleyen etkili konsantrasyon değerleri (EC₅₀)

Fungal Etmenler	Etkili konsantrasyon değerleri (EC ₅₀) (ppm)				
	Ordu	Edirne	Muğla	Ardahan	Hatay
<i>S. sclerotiorum</i>	1649.4	3551.5	3.315.4	4742.5	6869.4
<i>S. rolfsii</i>	1385.0	2138.8	2361.3	4497.3	5454.5
<i>R. solani</i>	1864.1	2137.1	3251.7	2369.8	4303.4
<i>M. phaseolina</i>	3484.5	1666.8	4380.8	2671.3	7552.7

Önceden yapılmış pek çok araştırmalarında propolis ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliklerinin daha çok gram pozitif ve gram negatif insan/hayvan/gıda patojenlerine karşı araştırıldığı (Marcucci, 1995; Burdock, 1998; Kujumgiev ve ark. 1999; Zabaoui ve ark., 2017), bitki patojenlerine karşı etkinliklerin ise oldukça kısıtlı sayıda çok az çalışmalarda irdelenerek gözardı edilmiştir. Yanar ve ark. (2016)'nın Tokat, Sivas ve Çorum illerinden temin ettikleri propolislerin %0.5, %1 ve %3 lük konsantrasyonlarının *Macrophomina phaseolina*, *Cylindrocarpon destructans*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium oxysporum* etmenlerine karşı antifungal etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında artan propolis konsantrasyonuna bağlı olarak antifungal etkinliğin arttığını, test edilen propolis ekstraktlarının %1 ve %3 lük konsantrasyonlarda test edilen fungal etmenlerin misel gelişimlerini %90 ve üzerindeki bir değerle engellediğini, etmenler arasında *F. oxysporum* diğer fungal etmenlere göre dayanıklı olduğunu, Sivas ilinden temin edilen propolis ekstraktlarının diğer propolis örneklerinden daha düşük etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Benzer şekilde Yanar ve ark. (2005), propolis'in metanol ekstraktının bir diğer önemli toprak kökenli pathojenlerden olan *Phytophthora* spp misel gelişimini 10, 7, 5, and 3 µg/ml konsantrasyonlarda tamamen (%100) engellediğini bildirmiştir. Özcan (1999) yapmış olduğu çalışmada suda ekstrakte edilmiş propolis'in %4'lük konsantrasyonunun test edildikleri fungal etmenlerin misel gelişimlerini %50 oranında engellediğini bildirmiştir. Özcan ve ark. (2004) yapmış oldukları bir diğer çalışmada %2 ve %5 lik propolis uygulamasının *Alternaria alternata* ve *Fusarium oxysporium* f. sp. *melonis* etmenlerinin misel gelişimini etkili bir şekilde engellediğini, test edilen etmenlerden *Fusarium oxysporium* f. sp. *melonis*'in *Alternaria alternata* kıyasla daha duyarlı olduğunu belirlemiştir. Curifuta ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada Şili kökenli EEP'nin %0.5, 1.0, 2.5 and 5.0 konsantrasyonlarının bitkilerde önemli fungal hastalık etmenlerinden *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp., *Ulocladium* sp., *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* and *Trichoderma reesei* karşı yüksek düzeyde antifungal etkinlik gösterdiğini, gösterilen etkinin kullanılan doza bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir.

Propolis ekstraktlarının farklı veya benzer hastalık etmeni mikroorganizmalara (fungal veya bakteriyel) değişen oranlarda antifungal etkinlik göstermesinin ana sebebi propolis içeriğinin temin edildikleri yerlerdeki bitki florasına bağlı olarak kimyasal

içeriğinin önemli düzeyde farklılık göstermesinden kaynaklanmaktadır. Benzer sonuçlar daha önceden yapılmış bir çok çalışmada da bildirilmiştir (Chee, 2002; Shehu ve ark. 2015). Nitekim yapılan bu çalışmalarda gösterilen antimikrobiyal etkinliğin kullanılan propolis'in kimyasal içeriği ve kullanılan ekstraksiyon yöntemine bağlı olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Katircioglu ve Mercan, 2006; Curifuta ve ark., 2012; Temiz ve ark., 2013; Shehu ve ark., 2015).

Quiroga ve ark. (2006)'nın yapmış olduğu bir çalışmada Arjantin'in farklı bölgelerinden temin edilen propolis ekstraktlarının ve 2 önemli ana bileşenlerinin (pinocembrin ve galangin) antifungal etkinlikleri fitopatojen fungal türlere [*Aspergillus niger*, *Fusarium spp.*, *Macrophomina sp.*, *Penicillium notatum*, *Phomopsis sp.* ve *Thichoderma spp.*] karşı araştırdıkları çalışmalarda, sentetik kimyasallardan ketoconazole ve clortrimazole'in antifungal etkinliğinin gerek propolis ekstraktı gerekse 2 ana bileşene kıyasla daha yüksek olmasına rağmen, gerek propolis ekstraktı gerekse ana bileşenlerin test edildikleri fungal etmenlere karşı yüksek düzeyde (%40 ila %97 arasında değişen engelleme oranlarında) antifungal etkinlik gösterdiğini, ana bileşenlerin propolis ekstraktına kıyasla daha yüksek düzeylerde antimikrobiyal etkinlikte olduğunu, bu sebeple bu doğal bileşenlerin fungal etmenlere karşı sentetik fungusitlere alternatif doğal kaynaklar olarak değerlendirilebileceği sonucuna varmışlardır.

Silva-Castro ve ark. (2018), orman ağaçlarında sorun olan fungal etmenlerden *Fusarium circinatum*, *Diplodia pinea*, *Gremmeniella abietina*, *Cryphonectria parasitica*, *Heterobasidion annosum*, ve *Phytophthora spp.* karşı chitosan oligomer (COs), propolis (Ps) ve gümüş nanopartikülleri (AgNPs)'in tekli ve kombinasyonlarının antifungal etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında propolis ekstraktının hastalık etmenlerinden *Phytophthora alni* ve *Phytophthora plurivora*'nın misel gelişimini tamamen engellediğini bildirmişlerdir. Soylu ve ark. (2008)'in yapmış oldukları bir diğer çalışmalarında, EEP'nin 10, 50 ve 100 µg mL dozlarında turunçgil depo patojeni *Penicillium digitatum*'nun konidilerinin çimlenmesini %70'lik etanol ekstraktının %100 oranında, %35'lik etanol ekstraktının ise %93 oranında engellediğini belirlemişlerdir.

Abd-El-Kareem ve ark. (2017) EEP'nin 0, %5, %10 ve %15 dozlarını fasulyede sorun beyaz çürüklük etmeni *S. sclerotiorum*'un misel ve sklerot çimlenmesi üzerine olan antifungal etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında EEP'nin artan dozlarda antifungal etkinliklerinin arttığını, en yüksek sklerot çimlenmesinin engellendiği dozun %15'lik

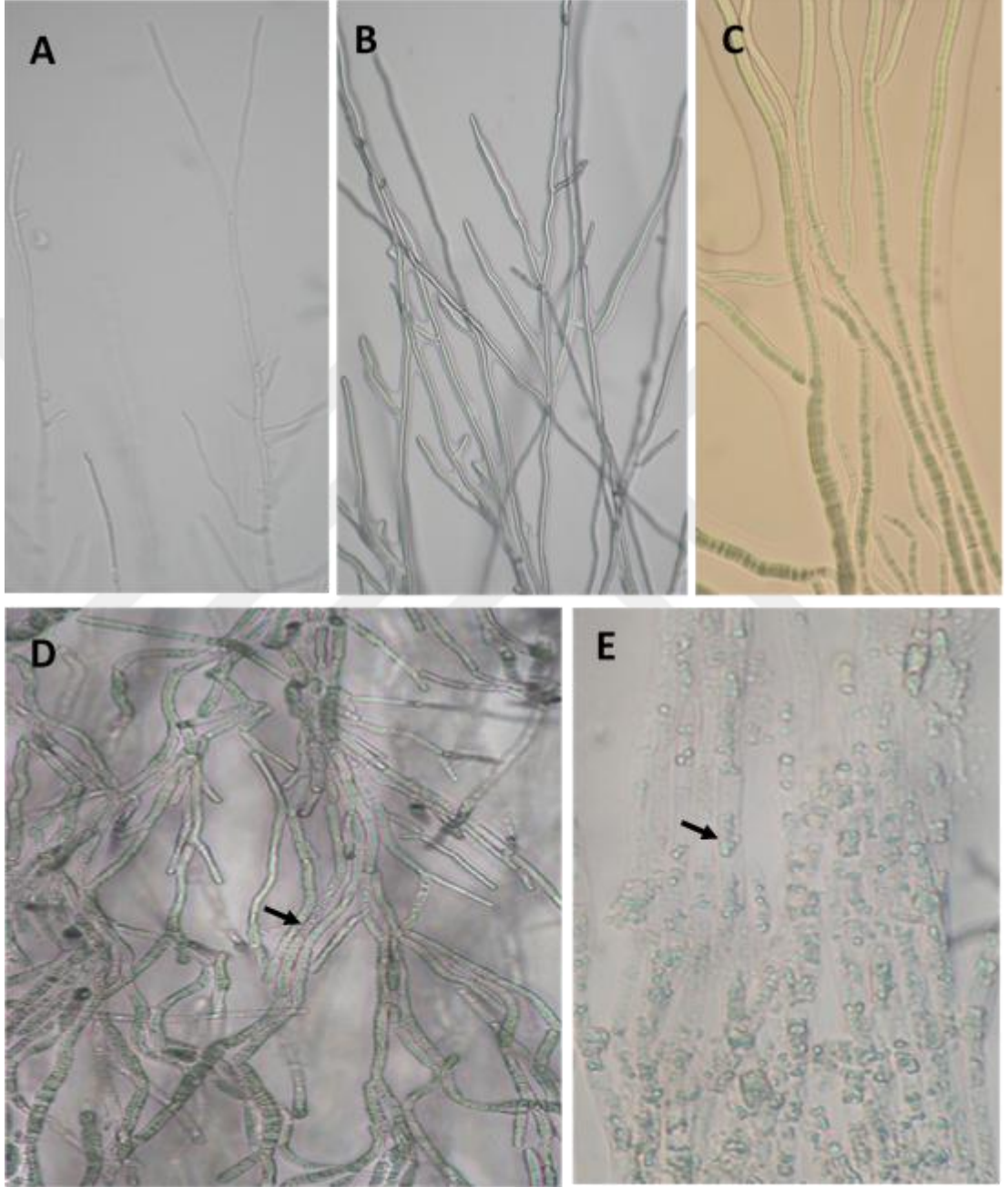
EEP olduğunu, %10'luk EEP dozunun sklerot çimlenmesinin %91 düzeyinde engellediğini, %15 lik EEP dozunun aynı zamanda hastalık çıkışını %90 düzeyinde engellediğini, elde edilen sonuçların EEP'nin hastalıkla entegre mücadelede kimyasallara alternatif iyi bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde bir diğer çalışmada, La Torre ve ark. (1990) çilekte EEP uygulamasının *in vitro* ve *in vivo* *Botrytis cinerea* tarafından neden olunan gri küf hastalığının çıkışı ve gelişimi üzerine fungistatik etkinliğinin olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar 4000 ppm dozunda EEP uygulaması ile kontrol arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın bulunmadığını belirlemişlerdir.

4.3. Farklı Propolis Ekstraktlarının Fungus Hifleri Üzerinde Sebep Olduğu Morfolojik Değişikliklerin Işık Mikroskobu Altında Belirlenmesi

In vitro antifungal etkinlik denemeleri sonucunda fungal misel gelişimini engelleyen en düşük konsantrasyonlar (MIC) EEP içermeyen PDA üzerinde gelişmiş 2 günlük fungus miselleri üzerine konulduktan 2-4 gün sonra uygulamaların fungusların miselleri üzerinde meydana gelen morfolojik değişiklikler ışık mikroskobu altında belirlenmiştir. Test edilen tüm MIC değerleri fungal etmenlerden *S. sclerotiorum*, *R. solani* ve *M. phaseolina* etmenlerinin hifleri üzerinde herhangi bir morfolojik değişikliğe sebep olmadığı gibi, fungal hif gelişiminde durdurmada başarılı olamamıştır. Test edilen tüm MIC değerleri uygulanmış fungal etmenlerden *S. rolfsii*'nin hifler ışık mikroskobu altında incelendiğinde sitoplazmik içeriğinde vakuolleşme ve büzüşme şeklinde morfolojik bozulmaların olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.9).

Propolis ekstraktların test edildikleri mikroorganizmaların morfolojik yapıları üzerine yapılmış oldukça kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yang ve ark. (2010) tarafından Çin'de yapılan bir çalışmada propolis'in etil asetat ekstraktının (EAEP) turunçgil depo çürüklüğü etmenleri *Penicillium digitatum* ve *Penicillium italicum*'un miselleri üzerine olan etkinliklerini araştırdıkları çalışmada EAEP'in 150 mg/L dozunda misel gelişimini tamamen engellediğini, bu dozlarda fungal etmenin hiflerinde ölüm göstergesi olan (apoptotik) incelmelere, hücre içerisinde vakuolleşmelere ve koyu nekrotik nükleusların oluşmasına neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Li ve ark. (2009) Myanmar'ın farklı bölgelerinden elde edilmiş metanol'de hazırlanmış propolis ekstraktlarının (MEP) insan kanser hücrelerinin nükleuslarında koyulaşmalara ve

bölmeler şeklinde bozulmalara neden olduğunu bildirmişlerdir. Propolis'lerin toprak kökenli hastalık etmenlerinin misellerinde neden olduğu morfolojik değişiklikler ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.



Şekil 4.9. *In vitro* testlerinde farklı EEP uygulaması yapılmış yerlerdeki fungal hastalık etmen, *M. phaseolina* (A), *R. solani* (B), *S. sclerotiorum* (C) ve *S. rolfsii* (D ve E) miselleri üzerinde neden olduğu morfolojik değişiklikler. EEP uygulaması fungal etmenler arasında sadece *S. rolfsii* hiflerinde vakolleşmeler şeklinde oluşan morfolojik bozulmalara (ok) neden olmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ülkemizin önemli bal üretim alanlarındaki kovanlardan toplanan propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının (EEP) kimyasal bileşenleri ile domates'in önemli toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinden olan *S. sclerorum*, *S. rolfsii*, *R. solani* ve *M. phaseolina*'nin misel gelişimi üzerine olan antifungal etkinlikleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Yapılan literatür araştırması sonucunda gerek ülkemizde gerekse farklı ülkelerde denemelerde kullanılan *S. sclerorum*, *R. solani* ve *M. phaseolina* etmenlerine karşı propolis ekstraktlarının antifungal etkinliği üzerine çalışmalar oldukça az olmakla birlikte, *S. rolfsii*'ye karşı EEP'lerin antifungal etkinlikleri ilk kez bu çalışma ile araştırılmıştır.

Farklı bölgelerden temin edilen propolislerden hazırlanan EEP ekstraktlarının kimyasal bileşenleri GC-MS sistemi ile belirlenmiş olup, EEP ekstraktlarının kimyasal içeriğinin bölgelere göre farklılık gösterdiği, genel anlamda tüm EEP tarçın asidi olarak bilinen cinnamic acid türevlerinin yüksek oranda (%11.3-88.3) bulunduğu, bunu sırasıyla aldehide (%0.27-8.31), ketone (%0.12-7.8), yağ asitleri (%1.58-6.58), alkol (%0.5-5.56), uçucu yağlar (%0.1-4.66), terpenoitler (%0.6-4.64), ester (%0.47-2.44), phenol (%0.73) bileşenleri takip ettiği belirlenmiştir. Antifungal etkinlik açısından değerlendirildiğinde etkinliği yüksek olarak gözlenen Ordu EEP içeriğinin büyük oranda %60.13 ile cinnamic acid türevi bileşenlerden oluştuğu, etkinliği diğer EEP'ler kıyasla düşük antifungal etkinlik gösteren Hatay ili EEP örneğinde cinnamic acid türevlerinin %11.3 gibi oranla oldukça düşük seviyede olduğu gözlenmiştir. Bu durum EEP'lerin sahip olduğu antifungal etkinliğin daha çok cinnamic acid türevlerinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre farklı bölgelerden elde edilen propolislerin etanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki etkinlikleri fungal türlere göre farklılık göstermiştir. Test edilen EEP'lerin EC₅₀ değerlerine göre test edildikleri tüm hastalık etmeni türler göz önünde bulundurulduğunda, iller arasında en yüksek antifungal etkinlik Ordu ilinden temin edilen EEP ekstraktından (Çizelge 4.1, 4.3, 4.5, ve 4.7), en düşük etkinlik ise Hatay ilinden temin edilen EEP ekstraktında gözlenmiştir.

Fungal türler arasında EEP uygulamalarına en duyarlı hastalık etmeni türün *S. rolfsii* (Ordu EEP'in 1.385,0 ppm EC₅₀ değeri ile), en dayanıklı hastalık etmeni türün ise *M. phaseolina*'nın (Hatay EEP'in 7.552,7 ppm EC₅₀ değeri ile) olduğu belirlenmiştir

Minimum engellenmenin gözlemlendiği konsantrasyonlardaki (MIC) fungal misel disklerin EEP içermeyen yeni petrilere aktarıldığında sadece *S. rolfsii* için belirlenen MIC değerlerdeki konsantrasyonların **fungusidal** etkinlikte olduğu belirlenirken, diğer tüm türlerde MIC değerlerinin gözlemlendiği EEP konsantrasyonların **fungistatik** etkinlikte olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan mikroskopik gözlemlerde, *M. phaseolina*, *R. solani*, ve *S. sclerotiorum* gibi fungal etmenlerin hipler üzerine EEP ekstraktlarının MIC değerlerinin uygulandığı petrillerdeki fungal hiplerde herhangi bir morfolojik bozulmalar olmazken, *S. rolfsii*'nin hiplerinde EEP ekstraktının MIC değerlerinde hiplerin hücrelerinde vakuolleşme şeklinde sitoplazmik değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. EEP'lerin fungal hastalık etmenleri üzerine olan antifungal etkinlik çalışmaları genellikle *in vitro* koşullarda misel gelişimini engellenmesi şeklinde karakterize edilirken, yapmış olduğumuz çalışmada propolis'lerin toprak kökenli fungal etmen miselleri üzerinde meydana getirdiği morfolojik değişiklikler ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak, EEP'lerin toprak kökenli hastalık etmenlere karşı *in vitro* koşullarda antifungal etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle Ordu ili gibi farklı bitki türlerinin yoğun olduğu bölgelerden elde edilen propolis ekstraktlarının antifungal etkinliklerin yüksek düzeyde görülmesi, yapılarında daha önceden antimikrobiyal etkinliği bilinen cinnamic acid ve diğer bileşenlerce zenginliği, EEP ekstraktının domateslerde sorun olan toprak kökenli fungal hastalıklara karşı pestisitlere alternatif, çevre dostu biyopreparat olarak hastalık yönetiminde kullanılabilir düşündürmektedir.

Elde edilen ön çalışma sonuçlarımız, gelecekte fungal etmenlere karşı güçlü *in vitro* antifungal etkinliğe sahip olan EEP'lerin teksele ve/veya karışım halinde preparatları yapılarak farklı toprak kökenli patojen funguslara karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda denenmesi çalışmalarına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Aanuoluwa, E.E., Kehinde, A., Esther, B.B., Juliet, A.B., and Clement, A.F. 2015. Optimizing culture conditions for the antagonistic activities of *Trichoderma viride* against *Sclerotium rolfsii* causative agent of southern blight disease of tomato. **Malaysian Journal of Microbiology**, 11: 240-245
- Abd-El-Kareem, F., Saied, N.M., and Abd-Elgawad, M.M.M. 2017. Postharvest application with propolis for controlling white rot disease of green bean pods. **Agricultural Engineering International: CIGR Journal**, Special Issue: 310-314.
- Abo-Elyousr, K.A.M., Seleim, M.E.A, El-Sharkawy, R.M., and Bagy, H.M.M.K., 2017. Effectiveness of Egyptian propolis on control of tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 124: 467-472
- Aliyazicioglu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E., Kolayli, S. 2013. Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey. **International Journal of Food Properties**, 16: 277-287.
- Anonim, 2017. Bitkisel Üretim İstatistikleri, Kaynak: <http://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Erişim Tarihi: 14.05.2019)
- Anonymous, 2016. FAOSTAT, Word Production Data. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim Tarihi 14.05.2019)
- Bankova, V., De Castro, S., Marcucci, M., 2000. Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, 31: 3–15.
- Bankova, V. 2005a. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, 100:114-117.
- Bankova, V. 2005b. Recent trends and important developments in propolis research. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 2:29-32.
- Banskota, A.H., Tezuka, Y., Adnyana, I.K., Midorikawa, K., Matsushige, K., Message, D., Huertas, A.A.G., and Kadota, S. 2000. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and Chine. **Journal of Etnopharmacology**, 72: 239-246
- Banskota, A.H., Nagaoka, T., Sumioka, L.Y., Tezuka, Y., Awale, S., Midorikawa, K., Matsushige, K., and Kadota, S. 2002. Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, 80: 67-73
- Basim E., Basim H. and Özcan M. 2006. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. **J. Food Eng.**, 77: 992-996.
- Bayram, N.E., and Gerçek, Y.C. 2017. Major constituents of different propolis samples. **Hacettepe J. Biol. & Chem.**, 45: 581-584
- Baysal-Gurel F., Gardener B.M., Miller S.A. 2012. Soilborne disease management in organic vegetable production. <http://www.extension.org/pages/64951>. (Erişim Tarihi: 14.08.2018)
- Brown, R. 1989. Hive products: pollen, propolis and royal jelly. **Bee World**, 70: 109-117.
- Bruehl, 1987 Bruehl, G.W. (1987) *Soilborne Plant Pathogens*, Macmillan Publishing Company, New York. Burnett, J.H. (1975) *Mycogenetics*, John Wiley and Son, London

- Bufalo, M.C., Figueiredo, A.S., Sousa, J.P.B., Candeias, J.M.G., Bastos, J.K., Sforcin, J.M., 2009. Anti-poliovirus activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis by cell viability determination and real-time PCR. **J. Appl. Microbiol.** 107, 1669–1680.
- Burdock, G.A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee Propolis (Propolis). **Food and Chemical Toxicology**, 36:347-363
- Can, C., Yucel, S., Korolev, N., and Katan, T. 2004. First report of fusarium crown and root rot of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in Turkey. **Plant Pathology**, 53: 814.
- Campos, M.G., Cunha, A., and Markham, K.R. 1997. Bee Products Chemical Composition and Application in Mizrahi, A., Lensky, Y. (Eds), Bee-Pollen Composition, Properties, and Applications, Plenum Press, New York. pp. 93-100.
- Çelemlı, O.G., Hatjina, F., Charistos, L., Schiesser, A., Ozkirim, A. 2013. More insight into the chemical composition of Greek propolis; differences and similarities with Turkish propolis. **Z Naturforsch C.**, 68: 429-38.
- Chee, H. Y. 2002. *In vitro* Evaluation of the antifungal activity of propolis extract on *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans*. **Mycobiology**, 30: 93-95.
- Chen, Y.W., Wu, S.W., Ho, K.K., Lin, S.B., Huang, C.Y., Chen, C.N., 2008. Characterization of Taiwanese propolis collected from different locations and seasons. **J. Sci. Food Agric.**, 88, 412–419.
- Curifuta, M., Vidal, J., Sanchez-Venegas, J., Contreras, A., Salazar, LA., and Alvear, M. 2012. The *in vitro* antifungal evaluation of a commercial extract of Chilean propolis against six fungi of agricultural importance. **Ciencia E Investigacion Agraria**, 39: 347-359.
- Çandır, E.E., Özdemir A.E., Soylu, E.M., Şahinler N., and Gül A. 2009. Effects of Propolis on Storage of Sweet Cherry Cultivar Aksehir Napolyon. **Asian Journal of Chemistry**, 21: 2659-2666
- Dalal, J., and Kulkarni, N. 2013. Antagonistic and plant growth promoting potentials of indigenous endophytic bacteria of soybean (*Glycine max* (L) Merril). **Current Research in Microbiology and Biotechnology**, 1: 62-69.
- Daugusch, A., Moraes, C.S., Fort, P., Park, Y.K., 2008. Brazilian red propolis-chemical composition and botanical origin. **Evid. Based Complem. Alternat Med.** 5, 435–441.
- Dixon, G.R. 1984. Vegetable Crop Disease. Macmillan, London.
- Doğan, N., ve Hayoğlu, İ. 2012. Propolis ve kullanım alanları. **Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 16:39-48.
- Erkmen, O., and Ozcan, M.M. 2008. Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. **Journal of Medicinal Food**, 11: 587-592.
- Ernst, E. 2002. Herbal medicinal products during pregnancy: are they safe? **BJOG**, 2: 27-235.
- Eroğlu, A., and Soran, H. 1992. The diseases determined in the tomatoes in Silivri and its surroundings. **Journal of Tekirdag Agricultural Faculty**, 1: 41-44.
- Falcão, S.I., M. Vilas-Boas, L.M. Estevinho, C. Barros, M.R. Domingues, and S.M. Cardoso. 2010. Phenolic characterization of Northeast Portuguese propolis: usual and unusual compounds. **Analytical Bioanalysis Chemistry**, 396: 887-897.

- Farooqui, T. 2012. Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases. **Frontiers in Bioscience**, 4: 779.
- Figueiredo, J.E.F., Gomes, E.A., and Guimarães, C.T., 2009. Molecular analysis of endophytic bacteria from the genus *Bacillus* isolated from Tropical maize (*Zea mays* L.). **Brazilian Journal of Microbiology**, 40:522-534.
- Gallez, L., Kiehr, M., Fernandez, L., Delhey, R., and Stikar, D. 2014. Antifungal activity *in vitro* of propolis solutions from Argentina against two plant pathogenic fungi: *Didymella bryoniae* and *Rhizotocnia solani*. **Journal of Apicultural Research**, 53:438-440
- Genç, F., ve Dodoloğlu, A. 2011. Arıcılığın Temel Esasları. Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 931. Ziraat Fakültesi Yayın No: 341 Erzurum-2011
- Georgieva, K., Trusheva, B., Uzunova, V., Stoyanova, T., Valcheva, V., Popova, M., Tzoneva, R., and Bankova, V. 2018. New cycloartane triterpenes from bioactive extract of propolis from Pitcairn Island. **Fitoterapia**, 128: 233-241.
- Greenaway, W., Scaysbrook, T., and Whatley, F.R. 1990. Plant origins of propolis: A report of work at Oxford. **Bee World**, 71:107-118.
- Gómez-Caravaca A.M., Gómez-Romero M., Arráez-Román D., Segura-Carretero A., and Fernández-Gutiérrez A. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. **J. Pharmaceut. Biomed. Anal.**, 41: 1220-1234.
- Guo, Z., Hua, R. and Bai, Y., 2011. Screening and evaluation of antiphytopathogenic activity of endophytic fungi from live foliages of *Ginkgo biloba* L. **African Journal of Microbiology Research**, 5(13):1686-1690.
- Jones, J.B., Jones, J.P., Stall, R.E., and Zitter, T.A. 1991. Compendium of Tomato Diseases. APS Press, St. Paul, Minnesota. 73 pp.
- Isidorov, V.A., Szczepaniak, L., Bakier, S., 2014. Rapid GC/MS determination of botanical precursors of Eurasian propolis. **Food Chem.**, 142, 101–106.
- Katircioglu, H., and Mercan, N. 2006. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different regions. **African Journal of Biotechnology**, 5: 1151-1153.
- Kıran, Ö.F. and Ertunç, F. 1998. Detection of the diseases of solanaceous plants in Van province. **Journal of Turkish Phytopathology**, 27:105-111.
- Koike, S.T., Gladders, P., and Paulus, A.O. 2007. Vegetable Diseases. A Colour Handbook, UK, Manson Publishing Ltd, pp. 117.
- Kordali, S., and Demirci, E. 1998. *Fusarium* species from various vegetables in Erzincan, Türkiye. **Journal of Turkish Phytopathology**, 27: 131-136.
- Kujungiev, A., Tsvetkoca, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., and Popov, S. 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **Journal of Ethnopharmacology**, 64: 235–240.
- Kumazawa, S., Nakamura, J., Murase, M., Miyagawa, M., Ahn, M.R., 2008. Fukumoto S: Plant origin of Okinawan propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. **Naturwissenschaften**, 95, 781–786.
- Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B. C., ve Ceyran G. 2002. Önemli Bir arı Ürünü; Propolis, **Uludağ Arıcılık Dergisi**, 2: 10-23.
- Krell, R. 1996. Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin, No. 124. Rome, Italy.
- Kurt, Ş. ve Şahinler, N. 2003. Propolis ekstraktının bitki patojeni funguslara karşı antifungal aktivitesi. **Uludağ Arıcılık Dergisi**, 3: 35-37.

- La Torre, A., Guccione, M., and Imbroglini, G. 1990. Preliminary Observations on the action of propolis based preparations against *Botrytis cinerea* Pers. on strawberries. **Apicoltura**, 6: 169-177.
- Li, F., Awale, S., Zg-hang, H., Tezuka, Y., Esumi, H., and Kadota, S. 2009. Chemical constituents of propolis from Myanmar and their preferential cytotoxicity against a human pancreatic cancer cell line. **J. Nat. Prod.**, 72: 1283–1287.
- Marcucci, M.C. 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, 26: 83-99
- Mărghitaş, L. A., Dezmirean, D. S., and Bobiş, O. 2013. Important developments in Romanian propolis research. **Evidence based Complementary and Alternative Medicine**, 2013: Article ID 159392.
- Markham, K.R., Mitchell, K.A., Wilkins, A.L., Daldy, J.A., Lu, Y., 1996. HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. **Phytochemistry**, 42: 205–211.
- Márquez Hernández, I., Cuesta-Rubio, O., Fernández, M.C., Pérez, A.R., Porto, R.M.O., Piccinelli, A.L., Rastrelli, L., 2010. Studies on the constituents of yellow Cuban propolis: GC-MS determination of triterpenoids and flavonoids. **J. Agric. Food Chem.** 58: 4725–4730.
- Martin, F.N., 2003. Development of alternative strategies for management of soilborne pathogens currently controlled with methyl bromide. **Annual Review of Phytopathology**, 41: 325-350
- Matsushige, K., Basnet, P., Hase, K., Kadota, S., Tanaka, K., and Namba, T. 1997. Propolis protects pancreatic β -cell against the toxicity of streptozotocin. **In: The XXXVth International Apicultural Congress of Apimondia. The Centenary Congress 1897- 1997.** Apimondia Publishing House, Bucharest, Romania. 423.
- McDonald, B.A., and Linde, C. 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. **Annual Review of Phytopathology**, 40: 349-79
- McLafferty, 1994. Interpretation of mass spectra. University Science Book. Cornell University, California, p:336
- Mengüllüoğlu, M. 2012. Bitki uçucu yağ ve önemli bileşenlerinin karpuz bakteriyel meyve lekeli hastalık etmeni *Acidovorax citrulli* üzerine olan antibakteriyel etkinliklerinin *in vitro* koşullarda araştırılması. **Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma ABD.** 64 sayfa.
- Mercan, N., Kivrak, I., Duru, M.E., Katircioglu, H., Gulcan, S., Malci, S., Acar, G., Salih, B., 2006. Chemical composition effects onto antimicrobial and antioxidant activities of propolis collected from different regions of Turkey. **Annals of Microbiology**, 56: 373-378
- Omar, R., Igoli, J.O., Zhang, T., Gray, A.I., Ebiloma, G.U., Clements, C.J, Fearnley, J., Ebel, R.E., Paget, T., de Koning, H.P., and Watson D.G. 2017. The chemical characterization of Nigerian propolis samples and their activity against *Trypanosoma brucei*. **Scientific Reports**, 7, 923.
- Orsi, R.O., Sforcin, J.M., Rall, V.L.M., Funari, S.R.C., Barbosa, L., Fernandes Jr., A., 2005. Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. **J. Venomous Anim. Toxins** 11, 109–116.
- Özcan, M. 1999. Antifungal properties of propolis. **Grasas y Aceites**, 50: 395-398.

- Özcan, M., Unver, A., Ceylan, D.A., and Yetisir, R. 2004. Inhibitory effect of pollen and propolis extracts. **Nahrung-Food**, 48: 188-194
- Quintero-Ceron, J.P., Vaquiro, H.A., Solanilla, J.F., Murillo, E., and Mendez, J.J. 2014. *In vitro* fungistatic activity of ethanolic extract of propolis against postharvest phytopathogenic fungi: Preliminary Assessment. II. International Conference on Postharvest Quality Management Of Horticultural Products Of Interest For Tropical Regions Book Series: **Acta Horticulturae**, 1016: 157-162.
- Quiroga, E.N., Sampietro, D.A., Soberon, J.R. Sgariglia, M.A., and Vattuone, M.A. 2006. Propolis from the northwest of Argentina as a source of antifungal principles. **Journal of Applied Microbiology**, 101: 103–110.
- Pietta P.G., Gardana C., and Pietta A.M. 2002. Analytical methods for quality control of propolis. **Fitoterapia**, 73 Suppl. 1: S7-S20.
- Popova ve ark., 2010 Popova M, Asatryan L, Ostrovskaya O, Wyatt RL, Li K, Alkana RL, Davies DL. A point mutation in the ectodomain-transmembrane 2 interface eliminates the inhibitory effects of ethanol in P2X4 receptors. **J Neurochem**. 2010;112:307–317
- Russo A., V. Cardile, F. Sánchez, N. Troncoso, A. Vanella, and J.A. Garbarino. 2004. Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines. **Life Sciences**, 76: 545-558.
- Santos, F.A., Bastos, E.M.A., Uzeda, M., Carvalho, M.A.R., Farias, L.M., and Moreira, E.S.A. 2002. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. **J. Ethnopharmacol.**, 80: 1-7.
- Schmit, J.O. 1997. Bee products: Chemical composition and application, p. 213-220.
- Sforcin, J.M., Bankova, V., 2011. Propolis: Is there a potential for the development of drugs? **J. Ethnopharmacol.** 133: 253–260.
- Shehu, A., Rohin, M. K., Aziz, A., and Ismail, S. 2015. Antifungal, characteristic properties and composition of bee glue (propolis). **J. Chem. Pharm. Res.**, 7: 1992-1996.
- Silva, A.M., Simeoni, L.A., Silveira, D., 2009. Genus Pouteria: Chemistry and biological activity. **Brazilian J. Pharmacogn.** 19: 501–509.
- Silva-Castro, I., Martín-García, J., Diez, J.J., Flores-Pacheco, J.A., Martín-Gil, J., and Martín-Ramos, P. 2018. Potential control of forest diseases by solutions of chitosan oligomers, propolis and nanosilver. **Eur. J. Plant Pathol.**, 150: 401–411.
- Sippell ve Hall, 1982 Sippell, D.W. and R. Hall. 1982. Effects of pathogen species, inoculum concentration, temperature, and soil moisture on bean root rot and plant growth. **Can. J. Plant Pathol.** 4:1–7.
- Smith, I.M., Dunez, J., Lelliott, R.A., Phillips, P.H., and Archer, S.A., 1988. European handbook of plant disease. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 583 pp.
- Sorkun, K., Suer, B., Salih, B. 2001. Determination of chemical composition of Turkish propolis. **Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences**, 56: 666-668.
- Soylu, S., and Kurt, Ş., 2001. Occurrence and distribution of fungal diseases on greenhouse grown pepper plants in Hatay Province. **International XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant**, pp 315-319. Antalya-Turkey.

- Soylu, E.M., Özdemir, A.E., Ertürk, E., Şahinler, N. and Soylu, S. 2008. Antifungal activity of propolis against postharvest disease agent *Penicillium digitatum*. **Asian Journal of Chemistry**, 20: 4823-4830.
- Soylu, E. M., Kurt, Ş., and Soylu, S. 2010. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, 143: 183-189.
- Sultana, V., Baloch, G.N., Ara, J., Ehteshamul-Haque, S., Tariq, R.M., and Athar, M. 2011. Seaweeds as an alternative to chemical pesticides for the management of root diseases of sunflower and tomato. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, 84: 162-168
- Şahinler, N. 1999. Propolisin bileşimi ve kullanma olanakları, **M.K.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi**, 4: 167-180.
- Şahinler, N., and Kaftanoğlu, O. 2005. Natural product propolis: Chemical composition. **Natural Product Research**, 19: 183-188.
- Temiz, A., Mumcu, A. S., Tüylü, A. Ö., Sorkun, K., and Salih, B. 2013. Antifungal activity of propolis samples collected from different geographical regions of turkey against two food-related molds, *Aspergillus versicolor* and *Penicillium aurantiogriseum*. **Gıda**, 38: 135-142.
- Toker, S., Kurt, S., Canihos, Y., Erkilic, A., ve Bicici, M. 1995. Limonlarda hasat sonrası mavi ve yeşil küf çürüklüklerine karşı Imazalil ile daldırma uygulamalarının etkinliği. **2nd National Horticultural Congress of Turkey** (Volume I), p. 576-580.
- Tripathi, P., Dubey, N.K., 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, 32: 235-245.
- Tuncer, G., and Erdiller, G. 1990. The identification of *Rhizoctonia solani* Kuhn anastomosis groups isolated from potato and some other crops in Central Anatolia. **Journal of Turkish Phytopathology**, 19: 89-93.
- Uzel, A., Sorkun, K., Oncag, O., Cogulu, D., Gencay, O., Salih, B., 2005. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiological Research**, 160: 189-195.
- Vallabh S. and Straker C. (2005) The efficacy of propolis as a natural control agent of fungal plant pathogens and insect pests. Honours dissertation. University of the Witwatersrand. South Africa.
- Velikova, M., Bankova, V., Sorkun, K., Houcine, S., Tsvetkova, I., Kujumgiev, A., 2000. Propolis from the Mediterranean region: Chemical composition and antimicrobial activity. **Zeitschrift Für Naturforschung C-A Journal of Biosciences**, 55: 790-793
- Walker, P. and Crane, E. 1987. Constituents of propolis. **Apidologie**, 18: 327-334.
- Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., Gardener, B.B.M., and Thomashow, L.S. 2002: Microbial population responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. **Annu. Rev. Phytopathol.** 40, 309-348.
- Willetts, J.M., and Wong, J.A.L. 1980. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum* and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. **Botanical Review**, 46: 102-165.
- Wilson, M.B., Brinkman, D., Spivak, M., Gardner, G., and Cohen, J.D. 2015. Regional variation in composition and antimicrobial activity of US propolis against

- Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*. **Journal of Intertebrate Pathology**, 124: 44-50.
- Yanar, Y., Yanar, D., and Arslan S. 2005. Antifungal activity of Turkish propolis against *Phytophthora* Species. **Plant Pathology Journal**, 4: 58-60.
- Yanar, Y., Belgüzar, S., and Yanar, D. 2016. Evaluation of anti-fungal effects of propolis extracts. **VII International Scientific Agriculture Symposium, "Agrosym 2016", 6-9 October 2016, Jahorina, Bosnia and Herzegovina**. Proceedings 2016 pp.1739-1744.
- Yang, S., Peng, L., Cheng, Y., Chen, F., and Pan, S. 2010. Control of citrus green and blue molds by Chinese Propolis. **Food Sci. Biotechnol.** 19: 1303-1308.
- Yıldız, A., and Döken, M.T. 2002. Anastomosis group determination of *Rhizoctonia solani* Kuhn (Teleomorph: *Thanatephorus cucumeris*) isolates from tomatoes grown in Aydın, Turkey and their disease reaction on various tomato cultivars. **Journal of Phytopathology**, 150: 526-528.
- Yücel, S. 1994. Akdeniz bölgesi örtü altı sebze alanlarında görülen fungal hastalıklar. **Bitki Koruma Bülteni**, 34: 23-34.
- Zabaioua, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M., and Lobaccaro J-M.A. 2017. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. **Chemistry and Physics of Lipids**, 207: 214–222

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Ceyhan Mustafabeyli kasabasında doğdu. İlkokul, Ortaokul ve Lise öğrenimini Ceyhan Mustafabeyli’de tamamladı. 2007 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’nü kazandı. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi’nden 2011 yılında mezun oldu. 2014 yılında Ocak ayında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Evli ve 2 çocuk annesidir.

