



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

**TURUNÇGİLLERDE HASAT SONRASI PATOJENLERE KARŞI BAZI BİTKİ
UÇUCU YAĞLARININ ANTİFUNGAL ETKİNLİĞİ**

FATİH KÖSE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTAKYA/HATAY

TEMMUZ -2007



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

**TURUNÇGİLLERDE HASAT SONRASI PATOJENLERE KARŞI BAZI BİTKİ
UÇUCU YAĞLARININ ANTİFUNGAL ETKİNLİĞİ**

FATİH KÖSE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTAKYA/HATAY

TEMMUZ -2007

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TURUNÇGİLLERDE HASAT SONRASI PATOJENLERE KARŞI BAZI BİTKİ
UÇUCU YAĞLARININ ANTİFUNGAL ETKİNLİĞİ

FATİH KÖSE

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Yrd. Doç. Dr. E. Mine SOYLU Danışmanlığında Hazırlanan Bu Tez 04/07/2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

İmza:.....	İmza:.....	İmza:.....
Yrd.Doç.Dr. E. Mine SOYLU	Prof.Dr. Ali ERKİLİÇ	Doç.Dr. Şener KURT
Başkan	Üye	Üye

Bu tez Enstitümüz **Bitki Koruma** Anabilim Dalında hazırlanmıştır

Kod No:

Prof.Dr. Nejat AĞCA
Enstitü Müdürü

İmza ve Mühür

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca Desteklenmiştir.

Proje No: 06-M-0203

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

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1 Fungus Materyali.....	11
3.1.2 Bitki Materyali.....	11
3.2. Yöntem.....	13
3.2.1. Hastalık Etmeni Fungusların İzolasyonu ve Muhafazası.....	13
3.2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Elde Edilmesi.....	13
3.2.3. Fungal Gelişim Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Etkileri	13
3.2.3.1. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Değme Etkilerinin Belirlenmesi	13
3.2.3.2. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Etkilerinin Belirlenmesi	14
3.2.3.3. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Fungisidal ve Fungistatik Etkilerinin Belirlenmesi	14
3.2.3.4. Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Değme Etkilerinin Belirlenmesi	15
3.2.3.4. Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Etkilerinin Belirlenmesi	15
3.2.4. Fungusların Misel Yapılarında ve Hiflerde Bitki Uçucu Yağlarının Meydana Getirdiği Değişikliklerin Belirlenmesi.....	16
3.2.5. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler.....	16

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	18
4.1. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Etkinlikleri.....	18
4.1.1. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Değme Etkileri ,,,,,,	18
4.1.2. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Etkileri ,,,,,,	21
4.1.3. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Fungisidal ve Fungistatik Etkileri,,,	23
4.2 Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağların Etkinlikleri,,,	24
4.2.1. Spor Çimlenmesi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Değme Etkileri,,,,,,	24
4.2.2. Spor Çimlenmesi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Etkileri,,,,,,	26
4.2.3. Çim Borusu Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Değme ve Buhar Etkileri,,,	28
4.3.Bitki Uçucu Yağlarının Fungusların Misel Yapılarında Meydana Getirdiği Değişiklikler ,,	30
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	37
KAYNAKLAR.....	39
TEŞEKKÜR.....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	45

ÖZET

TURUNÇGİLLERDE HASAT SONRASI PATOJENLERE KARŞI BAZI BİTKİ UÇUCU YAĞLARININ ANTİFUNGAL ETKİNLİĞİ

Yapılan bu çalışmada Doğu Akdeniz Bölgesinde yetişen ak kekik (*Origanum onites* L.), Suriye kekiği (*Origanum syriacum* var. *bevanii* Holmes.), karabaş kekik (*Thymbra spicata* L.), karabaş lavanta (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) ve defne (*Laurus nobilis* L.) gibi farklı familyalara dahil bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların antifungal etkinlikleri depolanmış turunçgil meyvelerinde sorun olan fungal hastalık etmenlerinden *Alternaria alternata* (Kahverengi Leke Hastalığı), *Penicillium digitatum* (Yeşil küf çürüklüğü), *Botrytis cinerea* (Kurşuni küf) ve *Aspergillus niger*'e (Siyah çürüklük) karşı *in vitro* koşullarda araştırılmıştır.

Uçucu yağların fungal etmenlerin misel, spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerine değme ve buhar etkinlikleri farklı konsantrasyonlar kullanılarak araştırılmıştır. Uçucu yağların değme ve buhar etkinliklerine bakıldığında *O. onites*, *O. syriacum* ve *T. spicata* bitkilerinin uçucu yağları test edilen fungal etmenlere karşı *F. vulgare*, *L. nobilis* ve *L. stoechas* uçucu yağlarına göre daha yüksek düzeyde antifungal etkinlik göstermiştir. Fungal etmenlerin misel, spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerinde uçucu yağların buhar etkinliği değme etkinliğine göre daha düşük konsantrasyonlarda ortaya çıkmıştır.

Uçucu yağların fungal etmenlerin hif ve sporları üzerinde neden olduğu morfolojik değişiklikler, ışık ve taramalı elektron mikroskobu ile araştırılmıştır. Uçucu yağların buharına maruz kalmış fungusların hiflerinde sitoplazmik pıhtılaşma, protoplastlarında vakuolleşme, hiflerde erime ve sitoplazmik boşalma şeklinde gözlenen önemli yapısal deformasyonlar gözlenmiştir.

2007, 45 sayfa

Anahtar Kelimeler: Antifungal etkinlik, uçucu yağ, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Alternaria*,

ABSTRACT**ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SOME PLANT ESSENTIAL OILS AGAINST
POSTHARVEST PATHOGENS OF CITRUS**

In this study, Antifungal activities of the essential oils obtained from different plant species such as white oregano (*Origanum onites* L.), Syrian oregano (*Origanum syriacum* var. *bevanii* Holmes), tyme (*Thymbra spicata* L.), lavender (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.), fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and laurel (*Laurus nobilis* L.) growing in the Eastern Mediterranean Region of Turkey, were investigated against major post-harvest fungal pathogens of Citrus, *Alternaria alternata* (Brown spot), *Penicillium digitatum* (green mold), *Botrytis cinerea* (grey mold) and *Aspergillus niger* (Aspergillus rot).

Antifungal activities of contact and volatile phases of essential oils on mycelial growth, conidial germination and germ tube elongation were determined by using different concentrations. The results indicate that essential oils of *O.onites*, *O. syriacum* and *T.spicata* were strongly inhibitory to all fungi tested compare with other essential oils of *F. vulgare*, *L. nobilis* and *L. stoechas*. Volatile phase effects of essential oil was consistently found to be more successful on inhibition of mycelial growth, spore germination and germ tube elongations at lower concentrations in comparison to contact phase effect of the oils tested.

Light and scanning electron microscopes were used to observe possible morphological alterations caused by essential oils on fungal hyphae and conidia. Microscopic observation of fungal hyphae, exposed to volatile phase of essential oils revealed considerable structural deformations such as cytoplasmic coagulation, vacuolations, hyphal lysis and protoplast leakage.

2007, 45 pages

Key words: Antifungal activity, Essential oil, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Alternaria*

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

PDA	P atates D ekstroz A gar katı besi ortamı
GC-MS	G as C romotography- M ass S pectroscopy (Gaz kromotografi ve kütle spektroskopi)
MIC	M inimum I nhibition C oncentration (Patojen gelişimini engelleyen en düşük konsantrasyon)
SEM	S canning E lectron M icroscope

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Denemede uçucu yağları kullanılan bitkilerin bilimsel, yöresel ve familya adı, toplandığı yer ve tarihleri.....	11
Çizelge 4.1	<i>A.alternata</i> ve <i>B.cinerea</i> 'nın misel gelişimi üzerine uçucu yağların değme etkileri (%)......	19
Çizelge 4.2	<i>A. alternata</i> ve <i>B. cinerea</i> 'nın misel gelişimi üzerine uçucu yağların buhar etkileri (%)......	21
Çizelge 4.3	Uçucu Yağların Değme ve Buhar Fazının Fungisidal ve Fungistatik Etkileri.....	23
Çizelge 4.4	Farklı uçucu yağların değme uygulamalarında patojenlerin spor çimlenmesi(%)	25
Çizelge 4.5	Farklı uçucu yağların buhar uygulamalarında patojenlerin spor çimlenmesi (%)......	27
Çizelge 4.6	Uçucu yağların buhar uygulamalarında patojenlerin ortalama çim borusu gelişimi (µm)......	28
Çizelge 4.7	Uçucu yağların değme uygulamalarında patojenlerin ortalama çim borusu gelişimi (µm)......	29

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Çalışmalarda kullanılan patojenlerin depo koşullarında oluşturduğu hastalık belirtileri.....	3
Şekil 3.1	Çalışmalarda uçucu yağları kullanılan tıbbi bitkilerin doğadaki görüntüleri.....	12
Şekil 4.1	Uçucu yağların <i>A. alternata</i> ve <i>B. cinerea</i> 'nin misel gelişimi üzerine değme etkileri.....	20
Şekil 4.2	Uçucu yağların <i>A. alternata</i> ve <i>B. cinerea</i> 'nin misel gelişimi üzerine buhar etkileri.....	22
Şekil 4.3	Ak kekik uçucu yağının <i>A. alternata</i> hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların taramalı elektron (SEM) ve ışık mikroskobu altındaki görüntüleri.....	31
Şekil 4.4	Ak kekik uçucu yağının <i>A. niger</i> konidi ve hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların taramalı elektron (SEM) ve ışık mikroskobu altındaki görüntüleri.....	32
Şekil 4.5	Ak kekik uçucu yağının <i>B. cinerea</i> konidi ve hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların taramalı elektron (SEM) ve ışık mikroskobu altındaki görüntüleri.....	33
Şekil 4.6.	Ak kekik uçucu yağının <i>P. digitatum</i> hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların taramalı elektron (SEM) ve ışık mikroskobu altındaki görüntüleri.....	35

1. GİRİŞ

Ülkemizde, turunçgiller meyveler içerisinde önemli bir yere sahip olan kültür bitkileridir. Akdeniz bölgesi toplam turunçgil alanlarının %73.9' una sahip olup, yıllık ülke üretiminin %88.4'ünü karşılamaktadır. Turunçgil ihracatı yönünden değerlendirildiğinde Doğu Akdeniz Bölgesi Türkiye turunçgil ihracatının %75'ni sağlamaktadır (Anonim, 1997). Ülkemizin Akdeniz, Ege ve Doğu Karadeniz bölgelerinde turunçgil yetiştiriciliği ve ihracatı günden güne artmakta ve dolayısıyla ekonomimize önemli katkıları bulunmaktadır. Ülke ekonomisi ve yöre çiftçisi açısından oldukça önemli olan turunçgil meyvelerinde hasat ve hasat sonrası dönemlerinde fungal hastalık etmenlerinin neden olduğu oldukça ciddi ürün kayıpları ortaya çıkmaktadır. Hasat sonrası hastalıklar nedeniyle turunçgillerde bahçe, hasat, taşıma ve depolama döneminde ortalama % 10-30 ürün kayıpları oluşurken, bu rakam yoğun inokulum kaynaklarının bulunduğu durumlarda %50' yi bile aşabilmektedir (Kaplan ve Dave, 1979; Salunkhe ve Desai, 1984; Wilson ve Pusey, 1985; Açar, 1987; Cohen, 1989 ve Wilson ve Ark., 1994).

Turunçgillerde depolama sırasında ciddi kayıplara neden olan fungal etmenlerin başlıcaları; Meyve içi siyah çürüklük etmeni *Alternaria alternata* (Peever T. L ve ark.,2005), yeşil küf çürüklüğü etmeni *Penicillium digitatum*, kurşuni küf etmeni *Botrytis cinerea* ve siyah çürüklük hastalığı etmeni *Aspergillus niger'* dir.

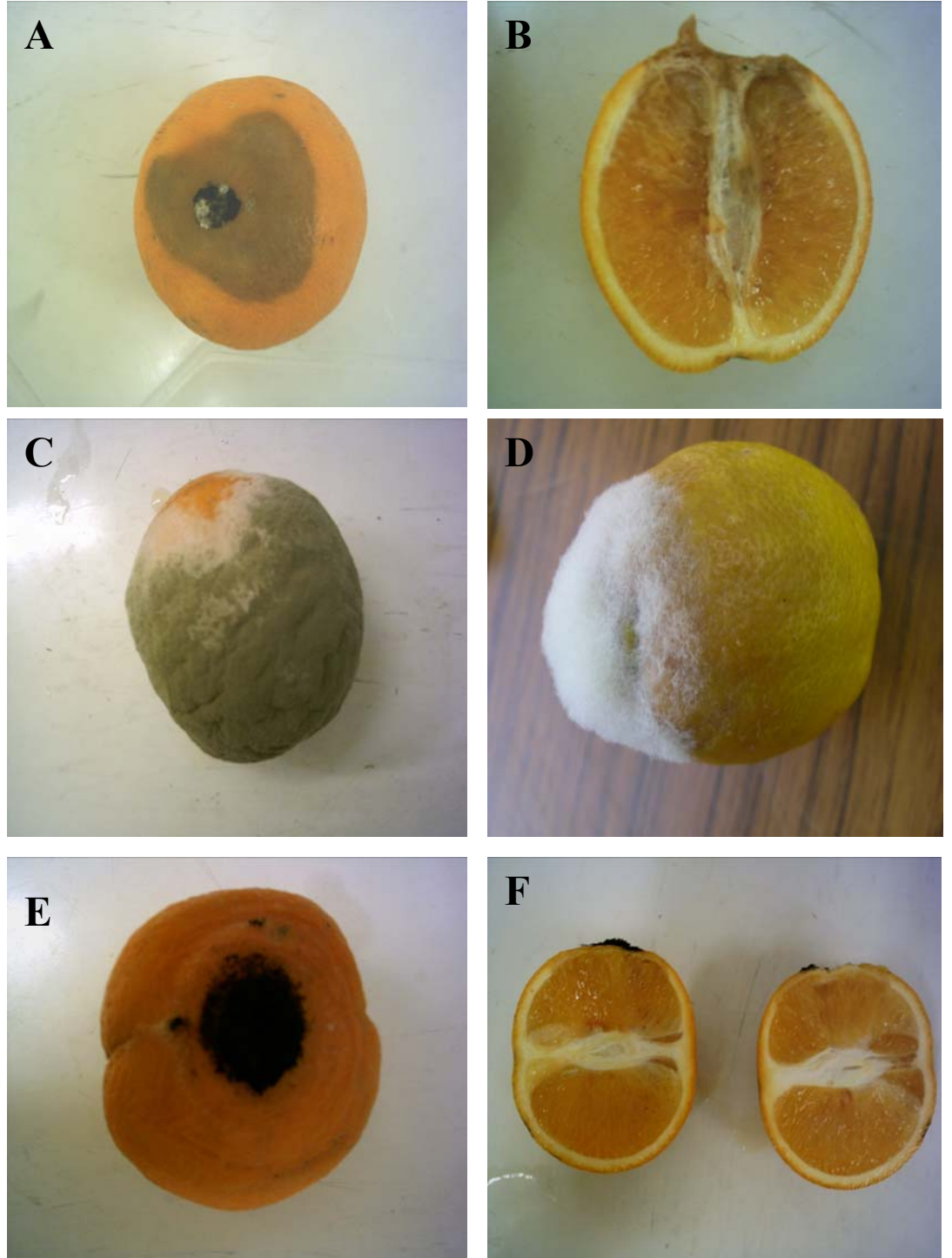
Turunçgil patojenlerinden *A. alternata* ile bulaşık depolarda enfeksiyon düğme noktalarından gerçekleşir. Bu dokular önce kahverengi bir hal alır, daha sonra düğme dokusunun çukuru içeriye doğru çöker ve pembemsi kahverengi hal alır. Bu renk değişimi kabuğun altındaki iç dokularda görülür. Ancak bu aşamadan sonra meyvenin üzerinde de gelişmeye başlar ve kabuk üzerinde gelişerek kurşuni siyahımsı bir renk oluşturarak (**Şekil 1A**) kabuğu çürütür. Etmen meyvenin içini cıvık bir kitleye dönüştürür (**Şekil 1B**). Düşük sıcaklıklarda depolanan limonlar hastalığa çok duyarlıdır. Depolardaki meyvelerin üzerinde sap kısmından çekirdeğe kadar etmen ilerleyerek çürüme yapar. Böyle meyvelere çok az bir basınç uyguladığında meyve parçalanır. Etilen ile sarartılmış veya çok uzun bir süre depolanmış turunçgillerde çok yaygındır.

Oldukça geniş konukçu dizisine sahip olan *P. digitatum* ve *P. italicum* mandarin, portakal, greyluft ve limon meyvelerinde uygun gelişme ortamları bulduklarında %1.7 -

9.7 oranında bir ürün kaybına yol açmaları nedeniyle bölgemiz için en önemli hasat sonrası hastalıklar arasına girmişlerdir (Toker ve Biçici, 1996). *P. digitatum*'un oluşturduğu belirti, meyve kabuğunun herhangi bir yerinde 6-12 mm çapında yumuşama şeklinde başlar. Bu dönem iğne ucu çürüklüğü olarak adlandırılır. Sıcaklığın uygun olduğu koşullarda lekeler 24-36 saat içerisinde 50 mm' ye kadar ulaşır. Bu döneme ise kabarcık çürüklüğü dönemi denir. Sonra bu yumuşaklık genişler ve lekenin ortasından başlayarak fungusun beyaz renkli misel tabakası oluşur. Misel tabakasının oluşumunu izleyen 1-2 gün içinde misel kitlesi üzerinde yine merkezden başlayarak yeşil renkli spor kitlesi görülür. Yeşil küf çürüklüğünde fungus gelişiminin sporlanmış kısmı zeytini yeşil bir renge sahiptir. Beyaz miselyum geniş bir alan ile çevrilir ve etrafında da ince sulu bir alan ortaya çıkar. Sonuçta meyve yeşil bir küf topu şeklini alır (**Şekil 1C**). *P. digitatum*, meyve solunumunu arttıran etilen gazı üretmektedir. Bu gaz, kabuk renklenmesini ve olgunluğu hızlandırmakta ve sonuçta sağlıklı meyve düğmesinin canlılığını azaltmaktadır. Bu nedenle yeşil küf ile infektelenmiş meyveler ile sağlıklı meyveler aynı depoda tutulduklarında sağlıklı meyveler etilenin etkisiyle hastalanmaya müsait olarak depolama süreleri kısalmaktadır (Çınar, 1987).

B. cinerea ise, birçok meyve ve sebze türlerini kapsayan çok geniş konukçu dizisine sahiptir. Turunçgillerde uygun ortamlarda zararlara neden olabilmektedir. Diğer turunçgil çeşitlerine göre limonlarda ve mandarinlerde genellikle daha fazla bulunur. Enfekteli meyve kabuğu önce kahverengileşir ve sonradan siyah olarak renk değiştirir. Siyah bölgeler üzerinde fungusun kurşuni renkli misel yığınları teşekkül eder (**Şekil 1D**).

A. niger, zayıflık paraziti olan bir etmendir. Siyah çürüklüğe en çok portakallarda rastlanır. Hastalık meyve kabuğunda haşlanmış gibi, küçük, yuvarlak ve yumuşak bir bölge olarak başlar. Kısa zamanda leke çökük bir durum alır, genişler ve rengi koyulaşır. Lekenin bulunduğu bölgeye elle dokunulduğunda yumuşaktır. Enfeksiyondan sonra çürüklük başlayınca çürüyen bölgenin rengi kirli sarı ve solgundur. Bir müddet sonra çürüklüğün ilerlemesiyle birlikte bu bölge misel ve siyah sporlarla örtüldüğünden siyah bir renk alır (**Şekil 1E**). Meyve kesildiği zaman ise hiçbir belirti görülmez (**Şekil 1F**).



Şekil 1.1. Çalışmalarda kullanılan patojenlerin depo koşullarında oluşturduğu hastalık belirtileri. (A), (B), *Alternaria alternata*; (C), *Penicillium digitatum*; (D), *Botrytis cinerea*; (E), (F), *Aspergillus niger* tarafından oluşturulan hastalık belirtileri.

Turunçgillerin de içinde bulunduğu meyvelerde sorun olan hasat sonu hastalıklarından korunma amacıyla kültürel, fiziksel, mekanik ve kimyasal mücadele yöntemleri geliştirilmiştir. Hastalıklar açısından uygun depolama şartlarının oluşmasıyla patojenin yoğun inokulum kaynağı oluşturup hızlı bir şekilde epidemi yapması, üreticileri özellikle kısa sürede etkisini gösteren kimyasal pestisitleri uygulamaya zorlamaktadır. Bilinçsizce ve yoğun olarak kullanılan pestisitler gerek kalıntı problemlerine neden olarak gerekse, doğal su kaynaklarına karışarak insan sağlığına ve doğal dengeye önemli ölçüde zarar vermektedir. Bununla birlikte sıkça ve yüksek konsantrasyonlarda kullanılan pestisitlere dayanıklı yeni patojen ırkları ortaya çıkmaktadır (Pappas, 1982). Bu konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda; *P. digitatum*'un thiabendazole, benomyl ve imazalil gibi fungusitlere dayanıklı izolatları vardır. (Kelly ve Austin, 1985; Dave ve ark., 1990; Wild ve Eckert, 1982; Stange ve Eckert, 1994; Özbek ve Delen, 1995; Toker ve Bıçıcı, 2001). *B. cinerea* izolatları benomyl, dicarboximidlere, pyrimethanile ve procymidone'a dayanıklıdır (Dianez ve ark., 2002; Benlioğlu ve ark., 1998), mancozeb'e duyarlılığı önemli ölçüde azalmış ve thiram ile metiram, mancozeb ile maneb arasında çarpaz dayanıklılık oluşmuştur (Delen ve Tosun, 1995).

Kimyasal uygulamalar sonucu meydana gelen olumsuzluklar ve diğer mücadele yöntemlerinin etkin olarak kullanılamaması araştırmacıları alternatif mücadele yöntemleri geliştirme konusunda arayışlara yöneltmiştir. Bu amaçla çevreye ve insan sağlığına zarar vermeyecek, kalıntı süresi uzun olmayan, kolay elde edilebilen, tıbbi ve baharat niteliği taşıyan bitkilerdeki antimikrobiyal aktiviteye sahip uçucu yağ ve bitki ekstraktlarının kullanımına dair çalışmalara başlanmıştır (Benjilali ve ark., 1984; Tabanca ve ark., 2001; Zaika ve ark., 1983; Alice ve Kıvanç, 1987; Locke ve ark., 1993). Kullanılan baharatların içermiş oldukları uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (Zaika ve ark., 1983).

Bitkilerin içerdikleri bu uçucu yağlar birbirleriyle sinerjistik etkileşim içinde olan çok sayıda bileşikten oluşmaktadır (Ceylan, 1987). Antimikrobiyal özelliğe sahip bitki uçucu yağlarının bileşenlerinde bulunan fenoller, aldehitler ve alkoller mikroorganizmalara karşı hidrokarbonlar, eteroksit ve ketonlara göre daha fazla antimikrobiyal etkiye sahiptir (Agarwall ve ark., 1979; Benjilali ve ark., 1984).

Ülkemizde ve dünyada bitkilerin içerdikleri inhibitör maddelerin saptanması, bunların yapay yolla sentezlenmesi ve bu bileşiklerin zararlı organizma ve mikroorganizmalara karşı kullanımına ilişkin çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Letessier ve ark., 2001; Özcan ve Erkmen, 2001). Uçucu yağ, oleoresin, esans ve emulsiyon gibi baharat ekstraksiyonları patojen ve enzimlerden aridir (De Boer ve ark., 1985). Bundan dolayı baharat, tıbbi bitki ve bunlara benzer birçok bitki ve bunların uçucu yağlarının bazı bitki patojenleri (Ghosh ve ark., 1982; Maiti ve ark., 1984; Alice ve Kıvanç, 1987; Arras, 1988; Çakır, 1992; Yonucu, 1997; Türküsay ve Onuğur, 1998; Basim ve ark., 2000; Letessier ve ark., 2001; Monahar ve ark., 2001; Özcan ve Erkmen, 2001; Soylu ve ark., 2005a; Soylu ve ark., 2005b; Soylu ve ark., 2006), gıda zehirlenmesi ve gıda bozulmasına yol açan mikroorganizmalara (Agarwall ve ark., 1979; Zaika ve ark., 1983; Shelef ve ark., 1984; Vokou ve ark., 1984; De Boer ve ark., 1985; Tabanca ve ark., 2001; Karaman ve ark., 2001) etkilidir. Bitkilerden elde edilen bu uçucu yağ ve ekstraktların doğal olmaları, insan sağlığını ve doğayı tehdit etmemeleri nedeniyle çeşitli alanlarda kullanılan sentetik pestislere göre daha fazla tercih edileceği düşünülmektedir (Szczerbanik ve ark., 2007).

Bu çalışmada Doğu Akdeniz bölgesinde doğal olarak yetişen veya ticari olarak kültürü yapılan uçucu yağ verimi yüksek olan bazı bitkilerin özellikle turunçgillerde hasat sonrasında önemli düzeyde ürün kayıplarına neden olan bazı bitki hastalık etmenleri üzerindeki antifungal etkilerinin *in vitro* koşullarda belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tompson ve Canon (1986), farklı türlere dahil olan 40 bitki uçucu yağının *Rhizopus sp.*, *Mucor sp.* ve *Aspergillus sp.*'nin misel gelişimi üzerine antifungal etkinliğini araştırmışlardır. Sarmısak yağının 100 ppm'de misel gelişimi engellemiş olup en etkili yağ olarak bulunmuştur.

Antalya çevresinde yetişen ve antimikrobiyal özellikleri olduğu bilinen bazı bitkilerin toprak kökenli bazı funguslar üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda kekik türlerinin fungusların misel gelişimi üzerine en fazla fungitoksik etkiye sahip olduğu ortaya çıkartılmıştır (Çakır ve Yeğen 1988)

Sardunya'da yetişen *Thymus capitatus* (kekik) uçucu yağı, 400 ppm konsantrasyonda *A. alternata*'ya karşı fungisidal ve *Penicillium italicum*'a karşı fungistatik etki göstermiştir. Kullanılan uçucu yağın fungitoksik özelliğinin GC-MS cihazı ile belirlenen uçucu yağın ana bileşenlerden biri olan carvacrol'den kaynaklandığı bildirilmiştir (Arras ve Grella, 1992).

Fungal hastalık etmenlerinden *Zygorrhynchus sp.*, *A. niger* ve *P. italicum*'un spor çimlenmesi, misel gelişimi ve sporlasyonuna karşı test edilen yağlar içinde bir kekik türü olan *Origanum compactum* uçucu yağı en etkili olmuştur. Aseksüel üreme dönemlerine oranla misel gelişimi dönemi en duyarlı dönem olarak bulunmuştur (Tantoui ve ark., 1993).

Origanum syriacum L. (Suriye kekiği)'nin GC kullanılarak uçucu yağının içeriği carvacrol ve thymol olarak tanımlanmıştır. Sezon ortasında toplanan bitkilerden çıkarılan *Origanum* yağının, *Penicillium* türleri, *A. niger* ve *F. oxysporum*'a karşı antifungal etkisi değerlendirilmiştir. Kullanılan uçucu yağ, denemeye alınan 3 fungusu karşı güçlü engelleyici etki göstermiştir. Test edilen funguslarda yağın en düşük engelleyen konsantrasyonu (MIC) 0.1 µl/ml olarak belirlenmiştir (Daouk ve ark., 1995).

Müller-Ribeau ve ark., (1995), Türkiye'nin güneyinde yetişen yabani bitkilerden *T. spicata*, *S. thymbra*, *S. fruticosa*, *L. nobilis*, *I. viscosa*, *Mentha pulegium*, *P. anisum*, *Eucalyptus camaldulensis* ve *Origanum miniiflorum*'un kimyasal yapılarını GC-MS ile incelemişler ve bileşiklerinin 1,8-cineole, pulegone ve anethole kadar γ -terpinene, p-cymene, thymol ve carvacrol olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca biyolojik denemelerde uçucu yağların içerisindeki fenolik fraksiyonların farklı konsantrasyonları yardımıyla

bitki hastalıklarına neden olan toprak kökenli funguslara fungitoksik olduğunu tespit etmişlerdir.

Yonucu (1997)' de yapmış olduğu çalışmada, toprak kökenli patojenlerden *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*, *Pythium sp.*, *R. solani*, *S. sclerotiorum* ve *Sclerotium rofsii* üzerine bazı bitkilerin ekstrakt, uçucu yağ ve kompost ekstraktlarının etkileri araştırmış ve en etkili bitkinin kekik olduğu bildirmiştir.

B. cinerea'ya karşı test edilen 49 uçucu yağ arasında *Cymbopogon martini* (palmarosa), *Thymus zygis* (limon kekiği), *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın) ve *Eugenia caryophyllata* (karanfil)'nin patojen gelişimini diğer uçucu yağlara kıyasla daha fazla antifungal etkinlik göstermiştir (Wilson ve ark., 1997).

Monilia laxa ve *Rhizopus stolonifer* gibi hasat sonrası patojenlere karşı *Thymus*, *Origanum*, *Anethum*, *Eucalyptus*, *Foeniculum* ve *Citrus* gibi cinslerden elde edilen yağların fungisidal etkinliği konusunda yapılan bir çalışmada *Thymus* ve *Origanum* yağında bulunan carvacrol ve p-anisealdehide (anason yağında bulunan)'in belirgin bir fungisidal aktivite gösterdiği saptanmıştır (Mari ve Guizzardi, 1998).

P. digitatum konidi çimlenmesi ve koloni gelişimi 250-400 µg/mL gibi nispeten düşük konsantrasyonlarda kekik, girit kekiği ve güvey otu uçucu yağları tarafından tamamen engellendiğini belirlenmiştir (Daferera ve ark. 2000).

Tıbbi bitkilerden elde edilen 12 uçucu yağın *Alternaria citri*, *B. cinerea*, *P. italicum* ve *P. digitatum*'a karşı fungitoksik etkilerini belirlemek amacıyla yapılan *In vitro* çalışmada 250 ppm konsantrasyonda *T.capitatus* (kekik)'un dört fungusun gelişimini engelleyen güçlü fungitoksik etkisi olduğunu belirlenmiştir. Taramalı elektron mikroskobu ile yaptıkları gözlemlerinde kekik uçucu yağın buhar etkisinin *P.digitatum* hif ve konidini morfolojisini değişikliğe uğrattığı görülmüştür. Carvacrol'un, kekik uçucu yağ unsurları arasında en önemli fungitoksik bileşimi olduğu belirlenmiştir (Arras ve Usai, 2001).

Walter ve ark., (2001) üzümelerde *B. cinerea*'nın neden olduğu yaprak leke ve dane çürümelerini *Thymus vulgaris* (kekik), *Syzygium aromaticum* (karanfil) ve *Cryptocarya massoia* ağacının kabuklarından elde edilmiş yağlar ile kontrolü için laboratuvar ve tarla denemeleri yapmışlardır. Nekrotik yaprak lekelerine neden olan *B. cinerea* sporulasyonu, %0,33 konsantrasyonundaki *Thymus* ve *Cryptocarya* yağları tarafından önemli ölçüde azaltılmış, %0,33 konsantrasyondaki diğer bileşiğin tek uygulamasının

kontrol uygulaması ile karşılaştırılmış ve *B. cinerea*'nın neden olduğu dane çürüklüğünü ve nekrotik yaprak lekelerini kontrol ettiği belirlenmiştir.

Salvia pomifera subsp. *calycina*, *Salvia fruticosa*, *S. thymbra* ve *O. onites* gibi Yunanistan' da yabani olarak yetişen bitkilerin uçucu yağları ve bileşenleri olan carvacrol, camphor ve 1,8- cineole' un antifungal etkileri arasında gıda, bitki, hayvan ve insan patojeni olan 13 fungus türüne karşı denenmiştir. En az etkinliği olan adaçayı yağı iken, en yüksek ve en geniş etkinliği carvacrol içeren yağları olan *O.onites* ve *T.spicata* olmuştur. Denenen bileşenler arasında en yüksek antifungal etkiyi carvacrol ve en düşük etkiyi 1,8-cineole göstermiştir (Sokovic ve ark., 2002).

Thymus glandulosus ve *Origanum compactum* gibi iki kekik türünün *B. cinerea*'ya karşı antifungal aktivitesinin araştırıldığı çalışmada tyhmol ve cavracrol içeren 100 ppm konsantrasyondaki yağlarının misel gelişimini %100 engellemiştir (Bouchra ve ark., 2003).

Daferera ve ark., (2003) bazı kekik türleri (*T. capitatus*, *Origanum vulgare*, *O. dictamnus*, *O. majorana*) ile birlikte lavanta, biberiye, adaçayı ve yarpuz uçucu yağlarının *B. cinerea*, *Fusarium solani* var. *coeruleum* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin araştırdıkları çalışmada, kekik türlerinin uçucu yağlarının düşük konsantrasyonlarının (85-300µg/ml) patojenlerin gelişimini tamamen engellediğini bildirmişlerdir.

Shahi ve ark., (2003) *Cymbopogon flexuosus* (Limonotu)' dan elde edilen uçucu yağın oldukça güçlü antifungal etkinlik gösterdiği belirlemişlerdir. Uçucu yağın fungisidal etkinliği test edilen türlere göre değişiklik göstermiş olup, belirlenen etkin konsantrasyonların *Alternaria alternata* için 0.2 µl, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. parasiticus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Colletotrichum capsici*, *C. falcatum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium cerealis*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. udum*, *Gloeosporium fructigenum*, *Penicillium expansum*, *P. italicum*, *P. implicatum*, *P. digitatum*, *P. minio-luteum*, *P. variable* için 0.4 µl ve *B. cinerea*, *Helminthosporium oryzae*, *H. maydis*, *Phoma violacea*, *Rhizopus nigricans* için 0.5µl olduğu belirlenmiştir.

Chrysanthemum viscidhirtum (krizantem) yağının 150 ppm'lik konsantrasyonda *Phytophthora citrophthora* ve *B. cinerea*'nın gelişimini tamamen engellediği görülmüştür (Chebli ve ark., 2004).

Plaza ve ark., (2004), *P. italicum* ve *P. digitatum*'un misel gelişimi üzerine 20 uçucu yağın buhar ve değme etkilerini *in vitro* da değerlendirmişlerdir. Kekik, mercanköşk, karanfil ve tarçın uçucu yağlarının buhar ve değme etkilerini inceledikleri çalışmalarında, Petri kapağına konan 10 µl lik yağın buharlaşmasıyla veya 1 lt'lik besi ortamına eklenen 1 ml lik uçucu yağın *P.italicum* ve *P.digitatum*'un gelişimi tamamen engellediğini belirlemişlerdir.

Achillea atrata L. (Civan perçemi)'nin uçucu yağı ve ana bileşeni olan 1.8-cineole'un antifungal etkinliği *A. alternata*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, *A. flavus*, *A. terreus*, *C. cladosporioides*, *Fusarium tricinctum*, *Penicillium ochrocloron*, *P. funiculosum*, *Phomopsis helianthi*, *Trichoderma viride*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, *M. gypseum*'e karşı araştırılmış olup, uçucu yağın 2.0 ile 8.0 µl/ml arasındaki minimum engelleyen konsantrasyonun (MIC) değerleri ile denenen tüm funguslara karşı güçlü antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir (Ristic ve ark., 2004).

Romagnoli ve ark., (2005) yaptıkları çalışmalarında *B. cinerea* ve *P. digitatum*'a karşı antifungal etkiye sahip *Tagetes patula* (kadife çiçeği) yağının fungusların gelişimini tamamen engelleyen konsantrasyonlarının sırasıyla 10 µl/ml ve 1.25 µl/ml olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, uçucu yağların piperitone ve piperitenone gibi iki ana bileşenin etkinliği de değerlendirilmiş ve elektron mikroskobu ile fungal hif morfolojisindeki büyük değişiklikler gözlemiştir. Sonuçta uçucu yağların patojen gelişimi engellemede çok yönlü etki mekanizmalarına sahip olduklarını bildirilmiştir.

Artemisia annua L. (pelin) uçucu yağının farklı konsantrasyonlarının buhar ve değme etkisinin araştırıldığı bir çalışmada test edilen funguslar arasında *S. sclerotiorum*'un, uçucu yağ değme ve buhar etkisine yüksek derecede hassas olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağın *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *P. infestans* ve *V. dahliae* için buhar etkisinin en düşük fungisidal konsantrasyonlarının sırayla 1.6, 2.4, 2.4 ve 4.4 µg/ml olduğu ve değme etkide uçucu yağın en düşük fungisidal konsantrasyonunun 6.4 µg/ml den 51.2 µg/ml ye kadar değişen konsantrasyonlarda olduğunu belirlenmiştir. Uçucu yağın hem buhar hem de değme etkisinin test edilen patojenlerin konidi çimlenmesini ve çim borusu oluşumunu engellediği belirlenmiştir (Soylu ve ark., 2005a).

Turunçgil kabuğundan çıkarılan uçucu yağın bazı patojenlere karşı değme ve buhar etkinlikleri araştırılmış ve yağın buhar etkinliği daha yüksek bulunmuştur. *A. niger*'e yağın etki şeklini belirlemek için yapılan taramalı elektron mikroskobu çalışmasında patojene yağ uygulamalarında konidioforlarının yok olması, hif çapının azalması, hif duvarının zayıflaması ve tahrip olması gözlemlenmiştir (Sharma ve Tripathi, 2006).

Rezene (*Foeniculum vulgare*) uçucu yağının GC ve GC-MS analizinde toplam miktarın % 94.6' sını 35 bileşenin oluşturduğu görülmüştür. Ana unsur % 70.1 ile trans-anathole olmuştur. Ters çevrilmiş petri metodunda uçucu yağın *A. niger*, *A. flavus*, *F. graminearum* ve *F. moniliforme*' ye karşı 6 ml/L konsantrasyonda tam gelişimi engellediği görüldü. Yağın *Aspergillus niger* için 4 ml/L konsantrasyonda bile etkin olduğu bulunmuştur (Singh ve ark., 2006).

Viuda-Martos ve ark., (2007) karanfil (*Syzygium aromaticum*), kekik (*Thymus vulgaris*) ve mercanköşk (*Origanum vulgare*) uçucu yağlarının *A. niger* ve *A. flavus*'a antifungal etkilerini belirlemek için yaptıkları çalışmalarda kullanılan üç uçucu yağın da her iki patojene karşı antifungal etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar *A. flavus*' un, *A. niger*'e göre kekik uçucu yağına daha hassas olduğu, karanfil uçucu yağının, *A. flavus*'a göre *A. niger*'e karşı daha güçlü bir engelleyici olduğunu belirlemiştir.

Tarçın, çam ağacı, çay ağacı ve nane yağlarının ve bunların karışımlarının, yaygın sekiz hasat sonu fungal patojenin gelişiminde buhar fazının etkisi *in vitro*' koşullarda araştırılmıştır. *B. cinerea*, *F. solani*, *Colletotrichum sp.*, *Geotrichum candidum*, *R. oryzae*, *A. niger* ve *C. cladosporioides*' un gelişimini kontrol eden çay ağacı ve nane yağlarının, tarçın ve çam ağacı yağlarından daha etkili olduğu fakat *P. digitatum*'a karşı etkinliğinin ise daha düşük olduğu bulunmuştur. Antifungal aktiviteye sahip olan nane ve çay ağacı yağlarının *A.niger*'in spor çimlenmesini engellediği, *R. oryzae*, *A. niger* ve *P. digitatum*'un sporlasyonunu azalttığı bildirilmiştir. Bu çalışma nane ve çay ağacı yağlarının buhar etkisinin hasat sonu patojenlerinin kontrolünde alternatif olmasını sağlayabileceğini göstermiştir (Szczerbanik ve ark., 2007).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Fungus Materyali

Çalışmada kullanılan *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* ve *Penicillium digitatum* Hatay ili paketleme evlerinden izole edilmiştir.

3.1.2. Bitki Materyali

Hatay ili çevresinde doğal olarak yetişen ve çalışmada kullanılan bitkilerin bilimsel ve yöresel isimleri, dahil olduğu familya, toplandığı yer ve tarihleri verilen **Çizelge 3.1.**'de verilmiştir. *Origanum onites*, *Laurus nobilis*, *Thymbra spicata*, *Lavandula stoechas* ve *Origanum syriacum* bitkilerinin yaprakları toplanmıştır. *Foeniculum vulgare* tohum halinde aktardan temin edilmiştir (**Şekil 3.1.**).

Çizelge 3.1. Denemede uçucu yağları kullanılan bitkilerin bilimsel, yöresel ve familya adı, toplandığı yer ve tarihleri

Yöresel Adı	Bilimsel Adı	Familya	Toplandığı Yer	Toplandığı Tarih
Ak kekik	<i>Origanum onites</i> L.	<i>Lamiaceae</i>	Yayladağ/Hatay	Nisan
Defne	<i>Laurus nobilis</i> L.	<i>Lauraceae</i>	Harbiye/Hatay	Nisan
Karabaş kekik	<i>Thymbra spicata</i> L.	<i>Lamiaceae</i>	Arsuz / Hatay	Nisan
Karabaş lavanta	<i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i> L.	<i>Lamiaceae</i>	Serinyol/Hatay	Nisan
Rezene	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	<i>Umbelliferae</i>	Aktar	-
Suriye kekiği, Halil İbrahim Zahteri	<i>Origanum syriacum</i> var. <i>bevanni</i> Hom.	<i>Lamiaceae</i>	Samandağ/Hatay	Nisan



Şekil 3.1. Çalışmalarda uçucu yağları kullanılan bitkilerin Ak kekik (A), Suriye kekiği (B), Karabaş kekik (C), Rezene tohumları (D), Defne (E), ve Lavanta (F)'in doğal ortamlardaki görüntüleri.

3.2. Yöntem

3.2.1. Hastalık Etmeni Fungusların İzolasyonu ve Muhafazası

Hastalıklı meyvelerden izolasyon yapmak amacıyla örneklerin hastalıklı ve sağlıklı kısımlarını içerecek şekilde alınan bitki parçacıkları %1' lik NaOCl solüsyonunda 2 dakika yüzeyden steril edildikten sonra, 3 kez steril saf su içerisinde durulanıp, steril filtre kağıtları arasında kurutulmuştur. Bu parçacıklar daha sonra streptomycin sülfat (100 mg/L) ilave edilmiş PDA besi ortamını içeren petrilere aktarılmıştır. Bu petrilere 23 ± 2°C sıcaklıkta 4-8 gün inkübe edildikten sonra gelişen koloniler PDA ortamında saflaştırılmıştır. Kültürler -20°C' ye ayarlanmış derin dondurucuda saklanmıştır.

3.2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Elde Edilmesi

Hava sirkülasyonunda kurutulan bitkilerin uçucu yağları Clevenger tipi aletin yardımı ile 3 saatlik buhar distilasyonu ile elde edilmiş ve 0.22 µm porluk membran filtrelerden geçirilerek sterilize edilmiştir (Çakır, 1992). Elde edilen uçucu yağlar denemelerde kullanılmaya kadar +4°C' de içerisinde anhydrous sodium sulphate bulunan koyu renkli vida kapaklı cam şişelerde korunmuştur.

3.2.3. Fungal Gelişim Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Etkileri

3.2.3.1. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Değme Etkilerinin Belirlenmesi

Uçucu yağların misel gelişimine değme etkisini araştırmak için; uçucu yağların 0 - 3920 µg/ml konsantrasyonlarına %0,1 oranında Tween 20 ilave edilerek, önceden hazırlanmış PDA ortamına (45 °C) katılmasından önce karıştırılmış ve 9 cm çapındaki petri kaplarına dökülmüştür. Ortam katıldıktan sonra 5-12 günlük fungus kültürlerinden 1 cm çapındaki mantar delici ile alınan disklerin misel gelişimi görülen

yüzeyi besi ortamına temas edecek şekilde petri kabının merkezine yerleştirilmiştir. Petri kabının etrafı parafilm ile kapatılarak 25 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol petrilerinde ortama yağ eklemesi yapılmamıştır. Değerlendirmeler kontrol petrilerinde fungusun petrileri tamamen kaplaması beklenmeden ortam yüzeyindeki fungus kolonilerinin çapları ölçülerek yapılmıştır.

3.2.3.2 Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Etkilerinin Belirlenmesi

Uçucu yağların misel gelişiminde buhar etkisini araştırmak için, 9 cm çapındaki steril petri kaplarına PDA ortamı dökülerek petri kabının merkezine 1 cm çapındaki mantar delici ile alınan 5-12 günlük fungus kültürlerinin diskleri, diskin misel gelişimi görülen yüzeyi PDA ile temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Uçucu yağların 0-640 µg/ml konsantrasyonları petri kabının kapağının merkezine yapıştırılan steril filtre kağıdına damlatılarak ve daha sonra petri kabının etrafı parafilm ile kapanıp ters çevrilerek (kapak altta kalacak şekilde) 25° C’de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol petri kapaklarına steril saf su damlatılarak aynı işlemlere tabi tutulmuştur. Değerlendirmeler kontrol petrilerinde fungusun petrileri tamamen kaplaması beklenmeden koloni çaplarının ölçülmesiyle yapılmıştır.

3.2.3.3. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Fungisidal ve Fungistatik Etkilerinin Belirlenmesi

Uçucu yağların misel gelişimde değme ve buhar etkisinin fungisidal veya fungistatik olduğunu belirlemek amacıyla değme ve buhar etki denemesi sonunda misel gelişimi göstermeyen en düşük konsantrasyondaki fungus diskleri uçucu yağ uygulaması yapılmamış yeni PDA ortamlarına alınarak 5-12 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Her iki etki için bu süre sonunda misel gelişiminin görülmediği konsantrasyonlarda uçucu yağ etkisinin fungisidal olduğu, misel gelişiminin görüldüğü konsantrasyonlarda ise etkinin fungistatik olduğuna karar verilmiştir.

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

Uçucu yağların *A. alternata*, *A. niger*, *B. cinerea* ve *P. digitatum*' un spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerine değme etkilerinin belirlenmesi için Bölüm 3.2.3.1'de belirtildiği şekilde uçucu yağların farklı konsantrasyonları önceden hazırlanmış PDA ortamına (45 °C) karıştırılarak 9 cm çapındaki steril petri kaplarına dökülmüştür. Ortam katılaştıktan sonra PDA' da geliştirilen *A. niger*'in 4 günlük, *B. cinerea*'nın 5 günlük, *P. digitatum*'un 7 günlük ve *A. alternata*'nın 12 günlük kültürlerine içinde % 0.5 (v/v) tween bulunan 5 ml steril saf su eklenerek steril bir cam çubuk yardımıyla kültürün yüzeyi kazanmıştır. Buradan elde edilen süspansiyon 3 katlı steril tülbentten geçirilerek içerisindeki misel parçacıklar uzaklaştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan spor süspansiyonu uçucu yağ içeren PDA ortamına yayılarak, 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol petrilere uçucu yağ uygulaması yapılmamıştır. Değerlendirmeler *P. digitatum* için 12 saat, *B. cinerea* ve *A. alternata* için 16 saat ve *A. niger* için 18 saat sonra yapılmıştır.

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

Uçucu yağların *A. alternata*, *A. niger*, *B. cinerea* ve *P. digitatum*' un spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimleri üzerine buhar etkilerinin belirlenmesi için 9 cm çapındaki steril petri kaplarına PDA ortamı dökülmüştür. Ortam katılaştıktan sonra Bölüm 3.2.3.4'de belirtildiği şekilde hazırlanan spor süspansiyonu PDA içeren petri kaplarına yayılmıştır. Uçucu yağların farklı konsantrasyonları petri kapağının merkezine yapıştırılan steril filtre kağıdına damlatılıp, petri kabının boşlukları parafilm ile kapanıp ters çevrilerek (kapak altta kalacak şekilde) 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol petri kapaklarına da saf su damlatılmıştır. Değerlendirmeler *P. digitatum* için 12 saat, *B. cinerea* ve *A. alternata* için 16 saat ve *A. niger* için 18 saat sonra yapılmıştır.

3.2.4. Fungusların Misel Yapılarında ve Hiflerde Bitki Uçucu Yağlarının Meydana Getirdiği Değişikliklerin Belirlenmesi

Uçucu yağların etkili olduğu belirlenen konsantrasyonlarının fungusların miselleri ve çim boruları üzerinde meydana gelen morfolojik değişiklikler faz kontrast optiklerle donatılmış Olympus BX51 mikroskobu ve değişken basınçlı taramalı (JEOL SEM-5500VP) elektron mikroskobu altında incelenmiştir. Fungus kültürlerinden alınan diskler ve spor süspansiyonu PDA içeren petrilere aktarıldıktan sonra misel gelişimi için 2 gün ve spor çimlenmesi için 16 saat 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Fungus misellerinin diskten itibaren yaklaşık 2 cm gelişmesiyle ve spor çimlenmesinden 16 saat sonra uçucu yağların farklı konsantrasyonları önceden belirtildiği şekilde kapaklara damlatılarak, petri kapakları parafilmle kapatılıp tekrar inkübasyona bırakılmıştır.

Muamele görmüş fungal yapılar ışık mikroskobunda petrilere alınan çok ince agar bloklarının preparatları hazırlanarak incelenmiştir.

Taramalı elektron mikroskobu analizleri için uçucu yağ uygulamasına maruz bırakılmış üzerinde fungal miseller bulunan agar diskleri 0.1 M phosphate- buffer (pH= 7.2) içinde hazırlanan % 2.5' lik gluteraldehit içinde 2saat süre oda sıcaklığında fiske edildikten sonra ve aynı buffer ile yıkanmıştır. Fiksasyondan sonra örnekler dereceli ethanol (%70, 80, 90, 100) serilerinde her birinde 30 dakika tutularak dehidrasyona bırakılmış ve daha sonra, Polaron CPD 7501,UK kritik nokta kurutucusu ile kurutulmuştur. Bu örnekler stab üzerine çift taraflı karbon yapıştırıcılı bantlar ile monte edilip Polaron SC7620,UK sputter coaterda altın/ palladium ile kaplanmıştır. Örnekler 5 kV akımda çalışan JEOL JSM 5500 SEM kullanılarak incelenmiştir (Soylu ve ark., 2006).

3.2.5. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Misel gelişimi ve spor çimlenmesi tesadüf parselleri deneme desenine göre, her konsantrasyonda 3 tekerrür ve her tekerrürde 1 petri olacak şekilde kurulmuştur. Spor çimlenmesi denemesinde her tekerrür için 100 spor sayılarak çimlenme oranı belirlenmiştir. Çim borusu gelişiminin değerlendirilmesi amacıyla her bir tekerrürde

Çimlenen 30 sporun çim borusu lulerek (μm) ortalamaları hesaplanmıştır. Elde edilen tüm veriler SPSS istatistik programı (SPSS Inc., versiyon 11.5.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar Duncan oklu Karşılaştırma testi ($p \leq 0.05$) ile tespit edilmiştir. Tüm denemeler 2 kez tekrar edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.2. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Etkinlikleri

Bitki uçucu yağların misel gelişimi üzerine olan etkinliğinin belirlendiği çalışmalarda test edilen funguslar arasında petride en iyi ve uygun sürede radyal şekilde misel gelişimi gösteren funguslar olan *A. alternata* ve *B. cinerea* patojenleri kullanılmıştır. *P. digitatum* ve *A. niger* bol sporulasyon göstermesi sonucu petride üniform bir şekilde misel gelişimi gösterememesi nedeni ile bu tür çalışmalarda kullanılmamıştır.

4.1.1. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Değme Etkileri

Bu çalışma kapsamında Ak kekik, Defne, Karabaş kekik, Lavanta, Rezene ve Suriye kekiğinden elde edilen uçucu yağlarının farklı konsantrasyonların kullanıldığı besi ortamına 1 cm çapındaki patojen diskleri yerleştirilmiş olup, inokulasyondan 5-12 gün sonra koloni gelişimleri değerlendirilmiştir ve sonuçlar **Çizelge 4.1** ve **Şekil 4.1**'de verilmiştir.

Çizelge 4.1'de görülebileceği gibi her iki patojenin misel gelişimi üzerine en fazla fungitoksik etkiyi ak kekik ve suriye kekiği uçucu yağları göstermiş olup bu yağları sırasıyla karabaş kekik ve rezene uçucu yağları takip etmiştir. Yağlar içinde en az antifungal etkiyi karabaş lavanta ve defne bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar göstermiştir. Uçucu yağların besi ortamında kullanılan ve patojen gelişiminin tamamen durduran konsantrasyonlarına bakıldığında, ak kekik ve suriye kekiği uçucu yağlarının *A. alternata* ve *B. cinerea*'yı sırasıyla 400 ve 80 µg/ml, karabaş kekik uçucu yağı 640 ve 800 µg/ml ve rezene uçucu yağı 1680 ve 1520 µg/ml konsantrasyonlarında tamamen engelleme göstermiştir. Etki düzeyi düşük olan karabaş lavanta uçucu yağı 2000 ve 3920 µg/ml, defne uçucu yağı ise 3280 ve 3920 µg/ml'lik konsantrasyonda fungusları engelleme başarısı göstermiştir.

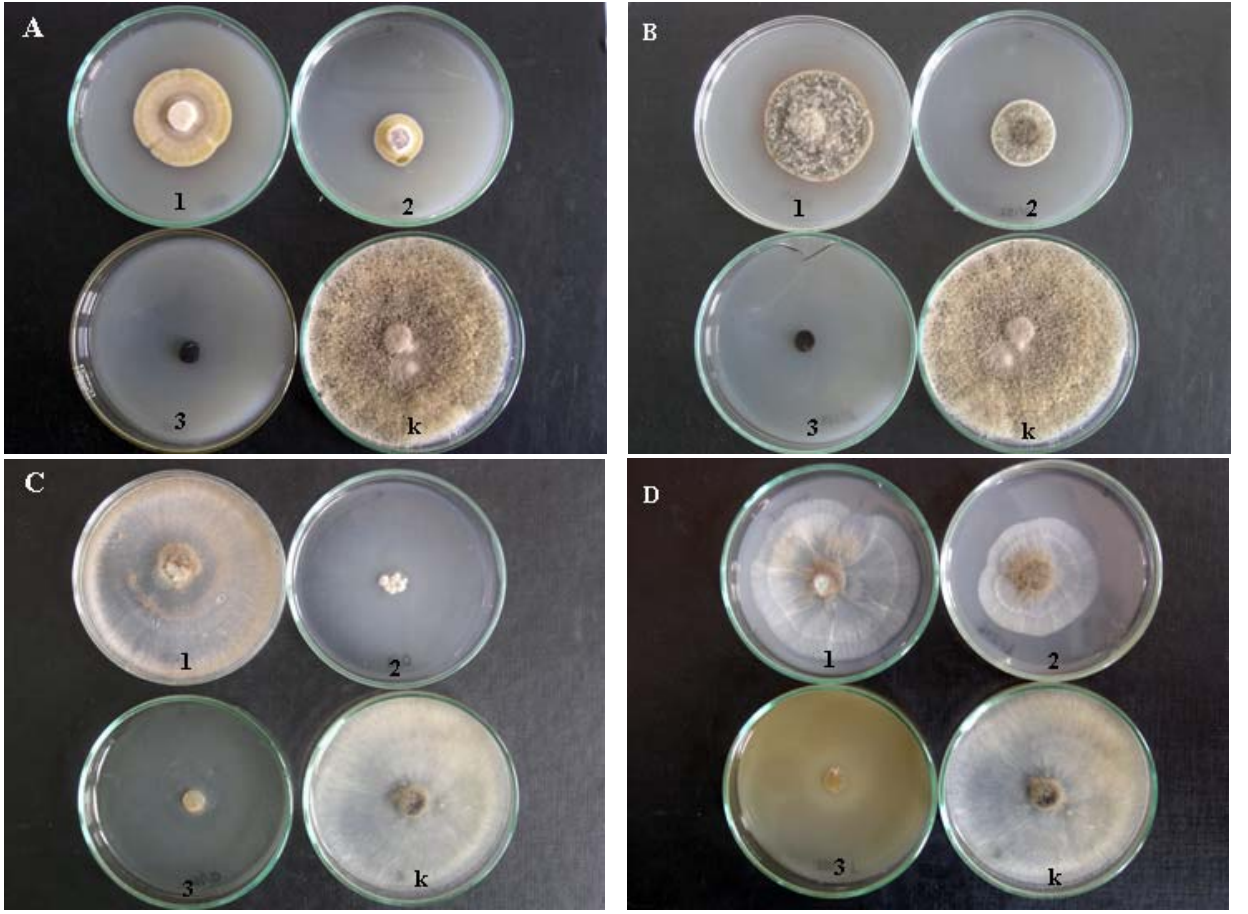
Daha önce yapılan pek çok çalışmada da kekik türlerinin uçucu yağlarının diğer bitki uçucu yağlarından daha düşük konsantrasyonlarda fungusların misel gelişimi ve

bakteriler üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Benjilali ve ark., 1984; Çakır ve Yeğen, 1988; Charai ve ark., 1996; Sivropoulou ve ark., 1996; Basım ve ark., 2000; Bouchra ve ark., 2003). Benzer şekilde Daferera ve ark., (2003) test ettikleri tüm yağlar arasında kekik türlerinin *B. cinerea*'nın gelişimini 85-300 µg/ml gibi kullanılan konsantrasyonlar arasında en düşük konsantrasyonda etkinlik gösterdiğini, lavanta uçucu yağının ise patojen gelişimini ancak yüksek konsantrasyonlarda gerçekleştirdiğini bildirerek elde ettiğimiz sonuçları desteklemiştir.

Çizelge 4.1. *A.alternata* ve *B.cinerea*'nın misel gelişimi üzerine uçucu yağların değme etkileri (%)

Kons µg/ ml	Ak kekik		Defne		Karabaş kekik		Karabaş Lavanta		Rezene		Suriye kekiği	
	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>
10	0g*	0c	0n	0g	0h	0j	0h	0e	0k	0h	0g	0c
20	0g	0c	0n	0g	0h	0j	0h	0e	0k	0h	0g	0c
40	3f	86b	0n	0g	0h	0j	0h	0e	0k	0h	2f	81b
80	23e	100 a	0n	0g	0h	0j	0h	0e	0k	0h	14e	100 a
160	52d		0n	0g	11g	10i	0h	0e	0k	0h	62d	
240	68c		0n	0g	24f	16h	0h	0e	6 j	0h	66c	
320	77b		0n	0g	41e	32g	0h	0e	11ij	0h	76b	
400	100 a		0n	0g	66d	43f	0h	0e	15i	0h	100 a	
480			0n	0g	81c	54e	0h	0e	26h	0h		
560			0n	0g	84b	61d	0h	0e	28h	0h		
640			0n	0g	100 a	65c	0h	0e	37g	0h		
720			4m	0g		81b	0h	0e	43f	16g		
800			6l	0g		100 a	6g	0e	54e	32f		
880			10k	0g			11f	0e	64d	45e		
1040			15j	0g			15e	0e	67d	76d		
1200			18i	0g			26d	0e	75c	83c		
1360			21h	0g			28d	0e	80c	93b		
1520			27g	0g			37c	0e	86b	100 a		
1680			37f	0g			40b	0e	100 a			
2000			43e	14f			100 a	4e				
2320			56d	26e				11d				
2640			63c	48d				16d				
2960			73b	53d				58 c				
3280			100 a	66c				80b				
3600				76b				84b				
3920				100 a				100 a				

*: sütun içerisinde farklı harfi içeren ortalamalar Duncan (0,05) çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak farklıdır.



Şekil 4.1. Uçucu yağların *A. alternata* ve *B. cinerea*'nin misel gelişimi üzerine değme etkileri. **(A)** Ak kekik yağının *A.alternata*'ya karşı; 1- 160, 2- 320, 3- 400 $\mu\text{g/ml}$ **(B)** Rezene yağının *A.alternata*'ya karşı; 1- 640, 2- 1200, 3- 1680 $\mu\text{g/ml}$ **(C)** Suriye kekiği yağının *B.cinerea*'ya karşı; 1- 20, 2- 40, 3- 80 $\mu\text{g/ml}$, **(D)** Karabaş lavanta uçucu yağının *B.cinerea*'ya karşı 1- 2320, 2- 2960, 3- 3920 $\mu\text{g/ml}$ değme etkilerini göstermektedir. Her resimdeki petripler kullanılan uçucu yağların konsantrasyonlarına göre küçükten büyüğe (soldan sağa doğru) sıralanmıştır. **k**, Kontrol petriyi gösterir

4.1.2. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Etkileri

A.alternata ve *B.cinerea*'nın misel gelişimi üzerine ak kekik, defne, karabaş kekik, karabaş lavanta, rezene ve Suriye kekiğinden elde edilen uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının buhar etkisini belirlemek için yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar **Çizelge 4.2** ve **Şekil 4.2**'de verilmiştir.

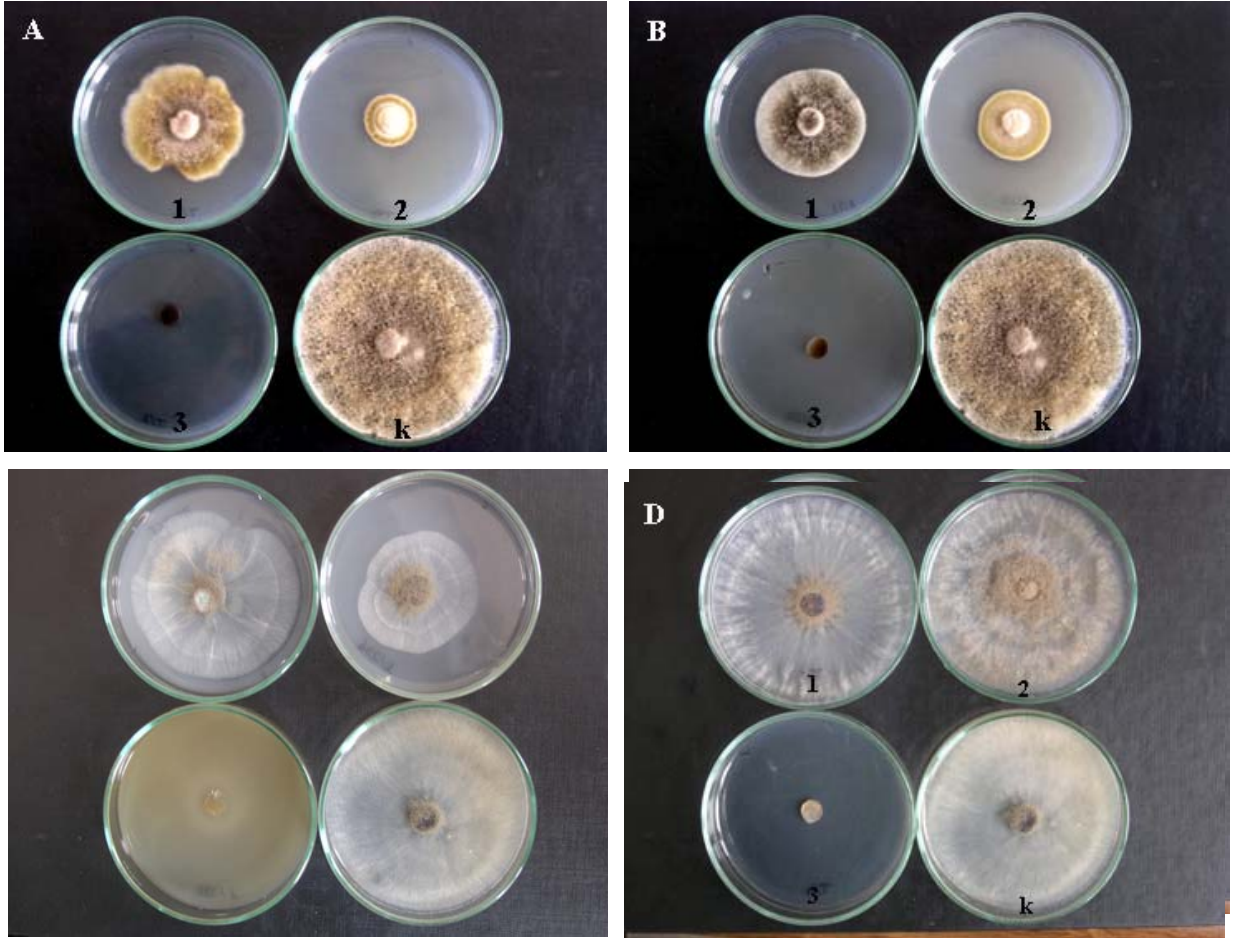
Çizelgede de görülebileceği gibi her iki patojenin misel gelişimi üzerine en fazla fungitoksik etkiyi benzer şekilde ak kekik ve Suriye kekiği gösterirken bu bitkileri sırasıyla karabaş kekik, rezene, karabaş kekik ve defne bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar izlemiştir. Patojen gelişimin tamamen durduran konsantrasyonlara bakıldığında, ak kekik ve Suriye kekiği yağı *A. alternata* ve *B.cinerea*'yı 20 ve 10 µg/ml, karabaş kekik uçucu yağı 80 ve 40 µg/ml, rezene uçucu yağı 240 ve 120 µg/ml konsantrasyonlarda olduğu tespit edilmiştir. Defne uçucu yağının aynı patojenleri 560 ve 240 µg/ml, karabaş lavanta uçucu yağının ise 640 ve 240 µg/ml'lik konsantrasyonlarda patojenlerin misel gelişimlerini tamamen engellediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. *A. alternata* ve *B. cinerea*'nın misel gelişimi üzerine uçucu yağların buhar etkileri (%)

Kons µg/ml	Ak kekik		Defne		Karabaş kekik		Karabaş Lavanta		Rezene		Suriye kekiği	
	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>	<i>A.a</i>	<i>B.c</i>
10	86b*	100a	6,6i	0d	34d	0b	4ij	0e	0f	0d	85b	100a
20	100a		8,8ih	0d	40c	5,5b	6hi	0e	0f	0d	100a	
40			10ghi	0d	74b	100a	7ghi	0e	11e	32c		
80			12fgh	5,5d	100 a		11gh	6d	24d	62b		
120			13fg	31c			12g	33c	37c	100a		
160			15ef	60b			11g	87b	62b			
240			17e	100 a			17f	100a	100a			
320			27d				23e					
400			63c				46d					
480			70b				66c					
560			100a				78b					
640							100a					

*: sütun içerisinde farklı harfi içeren ortalamalar Duncan (0,05) çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

Daha önce *T. spicata*, *S. thymbra*, *L. nobilis*, *I. viscosa*, *M. spicata* ve *S. fruticosa* uçucu yağlarının funguslar üzerindeki buhar etkisini araştırmak için yapılan çalışmalarda da, en fazla fungitoksik etkiyi benzer şekilde kekik uçucu yağının göstermiş olduğu bildirilmiştir (Çakır, 1992). Daouk ve ark., (1995) *O. syriacum* uçucu yağının *Penicillium* türleri ve *A. niger*'e karşı etkili en düşük engelleyen konsantrasyonun (MIC) 0.1 µl/ml olduğunu bildirmiştir.



Şekil 4.2. Uçucu yağların *A.alternata* ve *B.cinerea*'nın misel gelişimi üzerine buhar etkileri. **(A)** Karabaş kekik uçucu yağının *A.alternata*'ya karşı; 1- 20, 2- 40, 3- 80 µg/ml, **(B)** Rezene uçucu yağının *A.alternata*'ya karşı; 1- 120, 2- 160, 3- 240 µg/ml, **(C)** Rezene uçucu yağının *B.cinerea*'ya karşı; 1- 40, 2- 80, 3- 120 µg/ml, **(D)** Karabaş kekik uçucu yağının *B.cinerea*'ya karşı 1- 10, 2- 20, 3- 40 µg/ml buhar etkilerini göstermektedir. Her resimdeki petripler kullanılan uçucu yağların etkinliklerine göre küçükten büyüğe (soldan sağa doğru) sıralanmıştır. **k**, Kontrol petriyi gösterir.

4.1.3. Misel Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Fungisidal ve Fungistatik Etkileri

Uçucu yağların değme fazının fungal misel gelişimini engelleyen en düşük konsantrasyonlarda fungisidal veya fungistatik etkileri **Çizelge 4.3**'de verilmiştir. *A. alternata*'ya ak kekik, karabaş kekik ve rezene fungisidal, defne, karabaş lavanta ve Suriye kekiği fungistatik etki göstermiştir. *B. cinerea*'ya defne, karabaş kekik, karabaş lavanta ve rezene fungisidal, ak kekik ve Suriye kekiği fungistatik etki göstermiştir. Arras ve Grella, (1992) tarafından yapılan bir araştırmada *T. capitatus* uçucu yağı, 400 ppm konsantrasyonunda *A. alternata*'ya karşı fungisidal ve *P. italicum*'a karşı fungistatik etki gösterdiğini bildirmiştir. Fungisidal etkinliğinin belirlenmesi konusunda yapılan bir başka çalışmada *Thymus* ve *Origanum* yağında carvacrol'un belirgin bir fungisidal aktivite gösterdiği saptanmıştır (Mari ve Guizzardi, 1998).

Çizelge 4.3. Uçucu Yağların Değme ve Buhar Fazının Fungisidal ve Fungistatik Etkileri.

Uçucu yağlar	Fungal Etmenler			
	<i>A. alternata</i>		<i>B. cinerea</i>	
	Değme	Buhar	Değme	Buhar
Ak kekik	400 µg/ml **	20 µg/ml **	80 µg/ml *	10 µg/ml **
Defne	3280 µg/ml *	560 µg/ml *	3920 µg/ml **	240 µg/ml **
Karabaş kekik	640 µg/ml**	80 µg/ml **	800 µg/ml **	40 µg/ml **
Karabaş Lavanta	2000 µg/ml *	640 µg/ml *	3920 µg/ml **	240 µg/ml **
Rezene	1680 µg/ml **	240 µg/ml *	1520 µg/ml **	120 µg/ml **
Suriye kekiği	400 µg/ml *	20 µg/ml *	80 µg/ml *	10 µg/ml **

*fungistatik etki gösteren konsantrasyon, **fungisidal etki gösteren konsantrasyon

Uçucu yağların buhar fazının fungal misel gelişimini engelleyen en düşük konsantrasyonlarda fungisidal veya fungistatik etkileri **Çizelge 4.3**'de verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi *A. alternata*'ya ak kekik ve karabaş kekik fungisidal olurken defne, karabaş lavanta, rezene ve Suriye kekiği fungistatik etki göstermiştir. *B. cinerea*'ya ise uçucu yağların tamamı fungisidal etki göstermiştir. Daha önce yapılmış olan çalışmada da, *T. spicata*, *S. thymbra*, *L. nobilis*, *I. viscosa*, *M. spicata* ve *S. fruticosa* uçucu yağları içerisinde buhar etkide en fazla fungitoksik etkiyi kekik uçucu yağları göstermiş ve test edilen tüm funguslar üzerinde fungisidal etki yaptığı

bildirmiştir Çakır, (1992), ayrıca *T. spicata* uçucu yağının fungitoksik etki gösteren bileşeninin carvacrol, *S. thymbra* uçucu yağının fungitoksik etki gösteren bileşeninin thymol olduğu belirtilmiştir.

4.2. Spor Çimlenmesi ve Çim Borusu Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağların Etkinlikleri

4. 2. 1. Spor Çimlenmesi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Değme Etkileri

Bitki uçucu yağlarının *A. alternata*, *A. niger*, *B. cinerea* ve *P. digitatum* sporlarının çimlenmesi üzerine değme etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda ak kekik, defne, karabaş kekik, karabaş lavanta, rezene ve Suriye kekiğinden elde edilen uçucu yağlar kullanılmış olup, elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4' te verilmiştir.

Çizelgelerden de görülebileceği gibi uçucu yağların konsantrasyonlarının artmasıyla fungusların spor çimlenme oranları azalmıştır. Dört patojenin spor çimlenmesi üzerine en fazla fungitoksik etkiyi sırasıyla ak kekik, Suriye kekiği, karabaş kekik, rezene, defne ve karabaş lavanta bitkilerinden elde edilen uçucu yağlarının gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ak kekik yağının *A.alternata*, *A. niger*, *B. cinerea* ve *P. digitatum*'u sırasıyla 240, 320, 320 ve 560 µg/ml; Suriye kekiği yağının sırasıyla 240, 320, 320 ve 640 µg/ml; karabaş kekik uçucu yağının sırasıyla 320, 480, 480 ve 640 µg/ml; rezene uçucu yağının sırasıyla 720, 880, 1040 ve 1040 µg/ml konsantrasyonlarda spor çimlenmesini tamamen engellediği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Uçucu yağlar arasında en düşük etkinliği gösteren yağlardan defne uçucu yağı *A. alternata* ve *B.cinerea*'yı ancak sırasıyla 2960 ve 3600 µg/ml konsantrasyonda engelleme başarısı gösterirken, *P. digitatum* ve *A. niger* sporlarını 3920 µg/ml gibi kullanılan en yüksek konsantrasyonda dahi tamamen engelleyememiştir (Çizelge 4.4). Benzer şekilde düşük etkinlik gösteren karabaş lavanta uçucu yağı *A.alternata*'yı 2000 µg/ml konsantrasyonda tamamen engellerken, *A. niger*, *B. cinerea* ve *P. digitatum*'u 3920 µg/ml gibi kullanılan en yüksek konsantrasyonda dahi tamamen engellemediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı uçucu yağların değme uygulamalarında patojenlerin spor çimlenmesi(%)

Kons. µg/ml	Ak kekik				Karabaş kekik				Suriye kekiği			
	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>
0	80i*	100g	100g	100g	80i	100d	100g	100h	80i	100g	100g	100h
10	73 h	100g	100g	100g	80i	100d	100g	100h	74h	100g	100g	100h
20	60 g	100g	100g	100g	71 h	100d	100g	100h	63g	100g	100g	100h
40	39 f	100g	100g	100g	60 g	100d	100g	100h	42f	100g	100g	100h
80	30 e	90 f	92 f	100g	53 f	100d	94g	100h	32e	94f	95f	100h
120	17 d	87 e	60 e	100g	42 e	100d	92f	100h	17d	88e	62e	100h
160	10 c	78 d	45 d	96 g	33 d	100d	86f	100h	10c	81d	48d	100h
200	6 b	46 c	14 c	80 f	12 c	100d	82e	91g	6b	48c	16c	89g
240	0 a	9 b	9 b	71 e	5 b	100d	77d	79f	0 a	11b	13b	78f
320		0 a	0 a	37 d	0 a	84c	70c	51e		0 a	0 a	46e
400				11 c		33b	28b	22d				21d
480				7 b		0 a	0 a	14c				11c
560				0 a				5bg				6b
640								0 a				0 a

Kons. µg/ml	Defne				Karabaş Lavanta				Rezene			
	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>
0	80h*	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	80 l	100e	100h	100i
10	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	80 l	100e	100h	100i
20	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	80 l	100e	100h	100i
40	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	80 l	100e	100h	100i
80	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	69k	100e	100h	100i
120	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	63j	100e	100h	100i
160	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	55i	100e	100h	100i
200	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	5h	100e	100h	100i
240	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	43g	100e	100h	100i
320	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	38f	100e	93g	100i
400	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	28e	100e	91g	91h
480	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	21d	100e	69f	78g
560	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	15c	91d	66f	66f
640	80h	100f	100h	100f	80h	100d	100f	100f	10b	76c	42e	52e
720	80h	100f	100h	100f	69g	100d	100f	100f	0 a	17b	15d	41d
800	80h	100f	100h	100f	63f	100d	100f	100f		4 a	9c	29c
880	80h	100f	100h	100f	53e	100d	100f	100f		0 a	4b	14b
1040	74g	100f	100h	100f	41d	100d	100f	100f			0 a	0 a
1360	68f	100f	89g	100f	20c	100d	100f	100f				
1680	59e	100f	79f	100f	4b	100d	100f	100f				
2000	45d	100f	63e	100f	0 a	100d	100f	100f				
2320	25c	100f	59d	100f		100d	100f	100f				
2640	7b	90e	53c	90e		100d	90e	95e				
2960	0 a	63d	8b	54d		94c	78d	89d				
3280		46c	5b	36c		92c	60c	47c				
3600		34b	0 a	26b		88b	47b	23b				
3920		23 a		14 a		83 a	36 a	6 a				

*: sütun içerisinde farklı harfi içeren ortalamalar Duncan (0,05) çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

Daha önce Tantoui ve ark., (1993) tarafından yapılan çalışmalarda *Zygorrhynchus* sp., *A. niger* ve *P. italicum* gibi hasat sonu hastalık etmenlerine ait spor çimlenmesi, misel büyüme ve sporlasyon oluşumunun engellenmesinde bitki uçucu yağları arasında en yüksek etkiyi kekik (*Origanum compactum*) uçucu yağının gösterdiğini bildirmiştir. Benzer şekilde yapılan bir diğer çalışmada *P. digitatum* konidi çimlenmesi ve koloni gelişimi 250-400 µg/mL gibi nispeten düşük konsantrasyonlarda kekik, girit kekiği ve güvey otu uçucu yağları tarafından tamamen engellenmiştir. Lavanta, biberiye ve adaçayı uçucu yağları *P. digitatum*' un konidi çimlenmesi ve koloni gelişimininde daha düşük düzeyde antifungal etki göstermiştir (Daferera ve ark., 2000). Pelin bitkisinden (*A. annua*) elde edilen uçucu yağının 2.4 µg/ml (buhar etkinliği) ve 51.2 µg/ml (değme etkinliği) konsantrasyonlarda *B. cinerea* konidi çimlenmesini ve çim borusu oluşumunu engellediği bildirilmiştir (Soylu ve ark., 2005a).

4. 2. 2. Spor Çimlenmesi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Etkileri

A. alternata, *P. digitatum*, *B. cinerea* ve *A. niger*'in spor çimlenmesi üzerine bitki uçucu yağlarının buhar etkilerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelgeden de görülebileceği gibi uçucu yağların konsantrasyonlarının artmasıyla fungusların spor çimlenme oranları azalmıştır. Dört patojenin spor çimlenmesi üzerine en fazla fungitoksik etkiyi sırasıyla ak kekik, karabaş kekik, Suriye kekiği, rezene, karabaş lavanta ve defne bitkilerinden elde edilen uçucu yağlarının gösterdiği belirlenmiştir. Benzer durum aynı uçucu yağların değme etkinliğinde de gözlenmiştir (Çizelge 4.5).

Uçucu yağların spor çimlenmesini tamamen engelleyen konsantrasyonlarına bakıldığında, ak kekik ve karabaş kekik yağının test edilen fungal etmenlerden *A. alternata*, *A. niger*, *B. cinerea* ve *P. digitatum*, sporlarını 10 µg/ml gibi oldukça düşük bir konsantrasyonda engellerken, Suriye kekiği ve rezene yağları söz konusu patojenlerin sporlarını sırasıyla 10, 10, 10 ve 20 µg/ml; karabaş lavanta uçucu yağı sırasıyla 120, 60, 40 ve 120 µg/ml; defne uçucu yağı ise 160, 60, 60 ve 120 µg/ml konsantrasyonlarda tamamen engellediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Sharma ve Tripathi, (2006) turunçgil kabuğundan çıkarılan uçucu yağın test edilen 12 fungustan 10

tanenin spor çimlenmesini 700 ppm gibi oldukça düşük konsantrasyonda engellediği bildirilmişlerdir. Aynı araştırmacılar turunçgil uçucu yağının 300 ppm konsantrasyonda ise testlenen fungusların çoğunda spor çimlenmesini %70–100 oranında engellediğini saptamışlardır. Szczerbanik ve ark., (2007), antifungal etkinliğe sahip olan nane ve çay ağacı uçucu yağlarının *A. niger* etmeninin spor çimlenmesini engellediği, aynı uçucu yağların *R. oryzae*, *A. niger* ve *P. digitatum* etmenlerinin buldukları ortamda sporlasyonunu azalttığını bildirmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlardan nane ve çay ağacı uçucu yağlarının buhar etkisinin hasat sonu patojenlerinin kontrolünde alternatif yöntem olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Çizelge 4.5. Farklı uçucu yağların buhar uygulamalarında patojenlerin spor çimlenmesi(%)

Kons. µg/ml	Ak kekik				Karabaş kekik				Suriye kekiği			
	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>
0	80b*	100b	100b	100b	80b	100b	100b	100b	80b	100b	100b	100c
10	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	14b
20												0 a

Kons. µg/ml	Defne				Karabaş Lavanta				Rezene			
	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>
0	80g*	100d	100d	100f	80f	100d	100d	100f	80b	100b	100b	100c
10	41f	100d	100d	100f	51e	100d	71c	93,6e	0 a	0 a	0 a	37b
20	31e	90c	62c	92e	35d	83c	23b	66 d				0 a
40	20d	58b	4b	16d	15c	53b	0 a	21c				
60	12c	0 a	0 a	10c	8,b	0 a		16b				
80	7b			4b	4ab			14b				
120	3fa			0 a	0 a			0 a				
160	0 a											

*: sütun içerisinde farklı harfi içeren ortalamalar Duncan (0,05) çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

4. 2. 3. Çim Borusu Gelişimi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Değme ve Buhar Etkileri

Bitki uçucu yağlarının patojenlere karşı çim borusu gelişimi üzerine değme ve buhar etkilerinin araştırılmasına yönelik çalışmalar bitkilerden elde edilen uçucu yağların farklı konsantrasyonları bölüm 3.2.3.4 ve 3.2.3.5’de belirtildiği şekilde yapılmış olup, elde edilen sonuçlar **Çizelge 4.6** ve **4.7**’de verilmiştir.

Çizelgelerden de görülebileceği gibi uçucu yağların konsantrasyonlarının artmasıyla fungusların çim borusu gelişimi azalmıştır. Denemeye alınan dört patojenin çim borusu gelişimi üzerine en fazla fungitoksik etkiyi misel gelişimi ve spor çimlenmesinin engellenmesinde olduğu gibi ak kekik, Suriye kekiği, karabaş kekik, rezene, karabaş lavanta ve defne bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar olmuştur. Çim borusu gelişiminin azaltılmasında uçucu yağların buhar etkisi yağların değme etkisinden daha etkili olmuştur. Uçucu yağların çim borusu gelişimini tamamen engelleyen konsantrasyonlarına bakıldığında bu konsantrasyonların aynı fungusların spor çimlenmesini engelleyen konsantrasyonlarla eşit olduğu görülmektedir (**Çizelge 4.6** ve 4.7). Daha önce yapılan çalışmalarda da turuncgil kabuğundan çıkarılan uçucu yağın buhar etkinliğinin, değme etkinliğine orana daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Sharma ve Tripathi, 2006).

Çizelge 4.6. Uçucu yağların buhar uygulamalarında patojenlerin ortalama çim borusu gelişimi (μm)

Kons. $\mu\text{g/ml}$	Ak kekik				Karabaş kekik				Suriye kekiği			
	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>
0	343b**	285b	180b	179b	343b	285b	180b	179b	343b	285b	180b	179c
10	0a*	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	10b
20												0a

Kons. $\mu\text{g/ml}$	Defne				Karabaş Lavanta				Rezene			
	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>
0	343f*	285d	180c	179f	343e	285e	180c	179c	343b	285b	180b	179c
10	234e	67c	42b	91e	152d	72d	29b	62c	0b	0a	0a	15b
20	216e	58c	14ab	48d	105c	42c	7b	29b				0a
40	110d	35b	4a	41cd	43b	16b	0a	23b				
60	73c	0a	0a	31c	36b	0a		20b				
80	47bc			15b	18a			16b				
120	41b			0a	0a			0a				
160	0a											

*: satun içerisinde farklı harfi içeren ortalamalar Duncan (0,05) çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

** : her bir petride ölçülen 30 çim borusu uzunluğunun ortalamasıdır.

Çizelge 4.7. Uçucu yağların değme uygulamalarında patojenlerin ortalama çim borusu gelişimi (μm)

Kons. $\mu\text{g/ml}$	Ak kekik				Suriye kekiği				Karabaş kekik			
	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>
0	364g**	285g	180f	180j	364i	285g	180g	180 l	364i	285h	180g	180k
10	323f*	254f	170e	179j	337h	259f	170g	179l	364i	285h	180g	179k
20	311f	166e	129e	138i	317g	172e	131f	141k	346h	285h	175a	146j
40	233e	11dd	108d	101h	239f	125d	112e	106j	329g	230g	117f	108i
80	153d	55c	39c	76g	159e	63c	43d	87i	252f	195f	104e	94h
120	76c	26b	20b	60f	79d	33b	25c	72h	196e	148e	62d	79g
160	39b	24b	13ab	49e	44c	28b	15bc	62g	144d	130d	55cd	64f
200	23fa	9a	6a	36d	25b	12 a	8ab	48f	74c	48c	44c	53e
240	0 a	4a	4a	30cd	0 a	6 a	4ab	36e	25b	38c	20b	39d
320		0 a	0a	23c		0 a	0 a	29de	0 a	22b	14ab	29jc
400				14b				22cd		7ab	5 a	24c
480				10b				14bc		0 a	0 a	14b
560				0a				10ab				10b
640								0 a				0 a

Kons. $\mu\text{g/ml}$	Defne				Karabaş Lavanta				Rezene			
	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>	<i>A.a</i>	<i>A.n</i>	<i>B.c</i>	<i>P.d</i>
0	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	364i	285j	180h	180k
10	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	364i	285j	180h	180k
20	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	364i	285j	180h	171jk
40	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	364i	285j	180h	161ij
80	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	347hi	285j	180h	151hi
120	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	322gh	281j	174gh	146h
160	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	293g	230i	158g	131g
200	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	258f	218h	134f	121fg
240	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	228f	195g	117e	113ef
320	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	193e	166f	100de	101e
400	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	148d	124e	103de	71d
480	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	100c	72d	88cd	45c
560	364f	285i	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	66bc	48c	77 bc	41c
640	364f	230g	180f	180j	364 f	285h	180e	180i	38ab	21b	68b	33bc
720	364f	197f	156ef	168ij	322f	283h	180e	157h	0 a	11ab	18 a	28 b
800	364f	180cf	139de	163ij	272e	282h	180e	145gh		4ab	10 a	26 b
880	364f	150e	120cd	158hij	198d	275ah	146de	139gh		0 a	4 a	13 a
1040	326 ef	102e	98c	148ghi	145c	193g	131 d	132fg			0 a	0 a
1360	282de	85de	47b	142gh	75b	177g	117d	119ef				
1680	257d	72cd	42b	131fg	23 a	128f	88c	103de				
2000	162 c	52bc	28ab	113f	0 a	120ef	82c	101de				
2320	95 b	45b	19ab	90e		100de	70bc	91d				
2640	37 a	30ab	18ab	69d		78cd	64bc	62c				
2960	0 a	17 a	9a	42c		67bc	47ab	59c				
3280		12 a	4 a	33bc		50ab	43ab	52c				
3600		10 a	0 a	20ab		40a	31a	33b				
3920		4 a		11 a		33 a	17 a	10 a				

4.3. Bitki Uçucu Yağlarının Fungusların Misel Yapılarında Meydana Getirdiği Değişiklikler

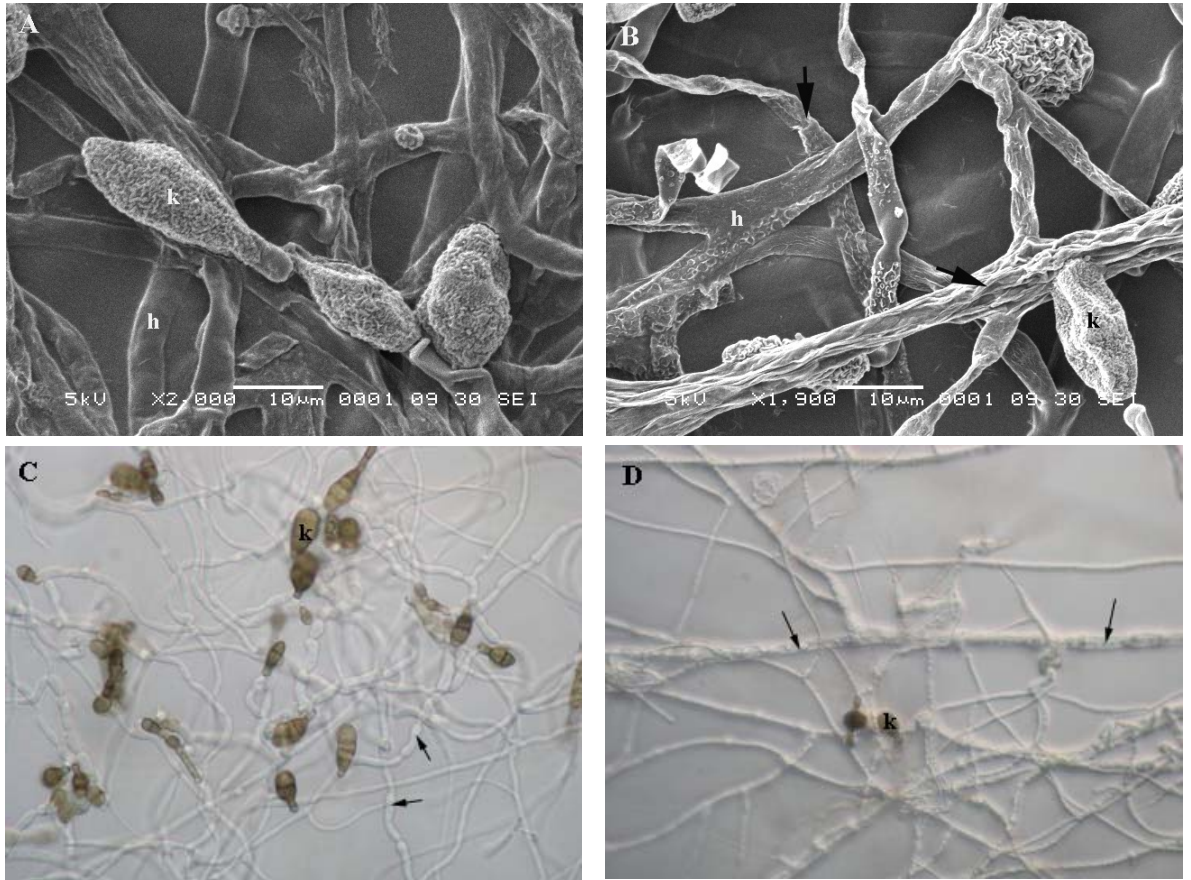
Bitki uçucu yağlarının fungal misel yapıları ve sporları üzerinde oluşturduğu morfolojik değişiklikler ışık mikroskobu ve elektron mikroskobunda altında incelenmiştir. Yapılan gözlemlerde ak kekik uçucu yağların buhar etkide bazı fungal misel ve sporları üzerinde oldukça şiddetli morfolojik bozulmalara neden olduğu gözlenmiştir.

Elektron mikroskobu incelemelerinde elde edilen sonuçlara göre petriye konan yağ miktarı arttıkça hiflerdeki deformasyonların arttığı belirlenmiştir. *O. onites* uçucu yağına 1 gün maruz bırakılan *A. alternata* misellerinin yapısının bozulup büzüldüğü (Şekil 4.3B), *P. digitatum*'un hiflerinde aynı şekilde büzüldüğü (Şekil 4.6C), uçucu yağ konsantrasyonu arttırıldığında, hiflerde erimeler şeklinde yapısal bozuklukların görüldüğü (Şekil 4.6 D), yeni çimlenmiş hifin uzamasının kontroldeki hiflere oranla oldukça etkili şekilde engellendiği (Şekil 4.6 E, F) belirlenmiştir. *B. cinerea*'nın hiflerinde de benzer şekillerde yapısal bozulmalar sebebiyle büzüşmeler olduğu (Şekil 4.5 B), uçucu yağ miktarı biraz arttırıldığında hiflerin eriyip yapısının bozulduğu (Şekil 4.5 C, D) gözlenmiştir. Her ne kadar antifungal etkinlik gösterdiği konsantrasyonlar kullanılsa da uçucu yağın *A. niger* hif ve sporlarında herhangi bir deformasyona neden olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.4 B). Bu durum söz konusu uçucu yağın *A. niger* hif ve sporlarının yüzey morfolojisinden ziyade hücre membranında etkinlik göstermiş olabileceğini göstermektedir.

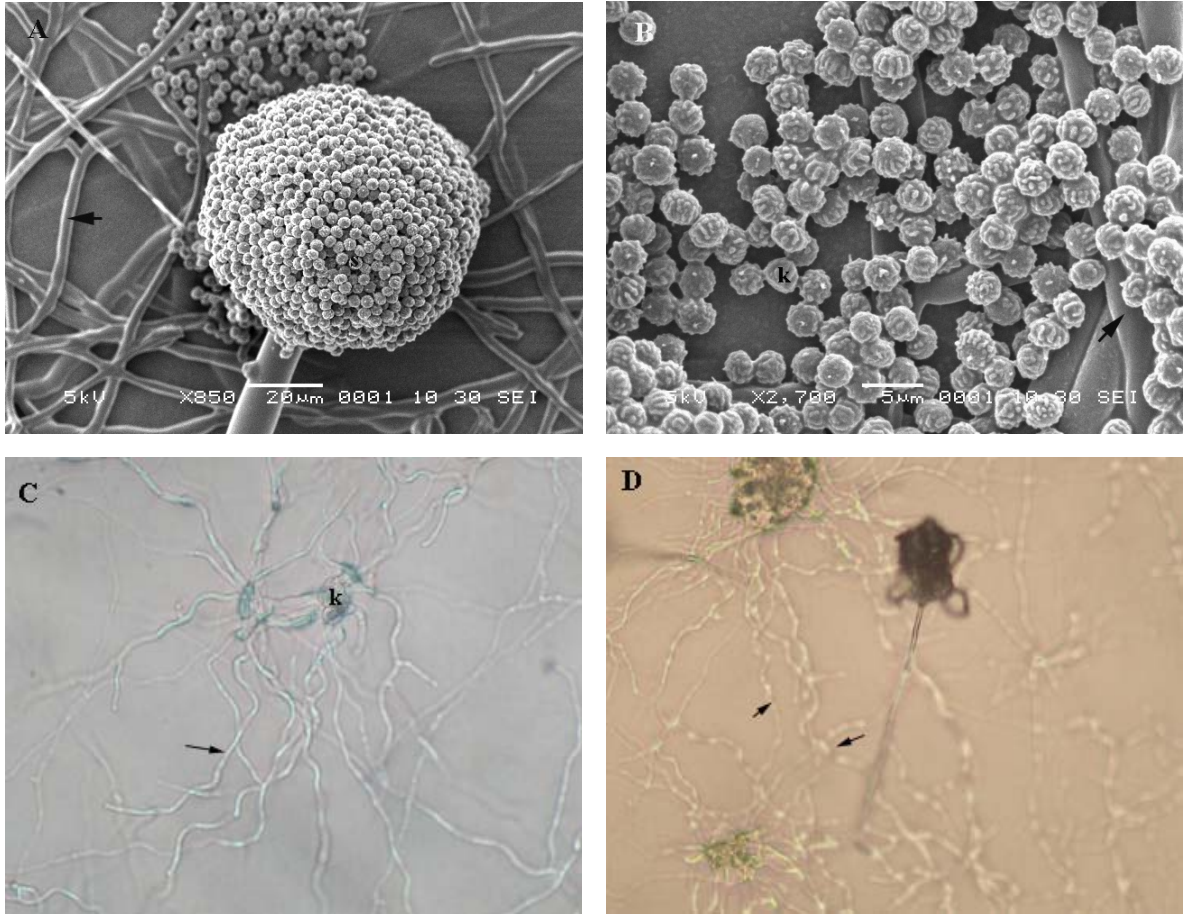
Işık mikroskobu ile yapılan gözlemlerde *O. onites* uçucu yağına 1 gün maruz kalmış *A. alternata* hiflerinde sitoplazmanın dağılarak yapısının bozulduğu (Şekil 4.3 D), *P. digitatum*'un hiflerinde aynı şekilde sitoplazmanın dağıldığı (Şekil 4.6 H) gözlenmiştir. Benzer şekilde *B. cinerea*'nın sporlarında sitoplazmik pıhtılaşmanın (koaligasyon) olduğu (Şekil 4.5 F) ve sonuçta hiflerindeki sitoplazmanın dağıldığı (Şekil 4.5 H) gözlenirken, *A. niger* hif ve sporlarında herhangi bir deformasyona rastlanılmadığı (Şekil 4,4 B) belirlenmiştir.

Elektron ve ışık mikroskobunda elde edilen sonuçlara benzer sonuçlar farklı bitki uçucu yağı çalışmalarda da bildirilmiştir. *T. vulgaris*, *Lavandula* ve *Mentha piperita* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların *Colletotrichum lindemuthianum* ve *Pythium*

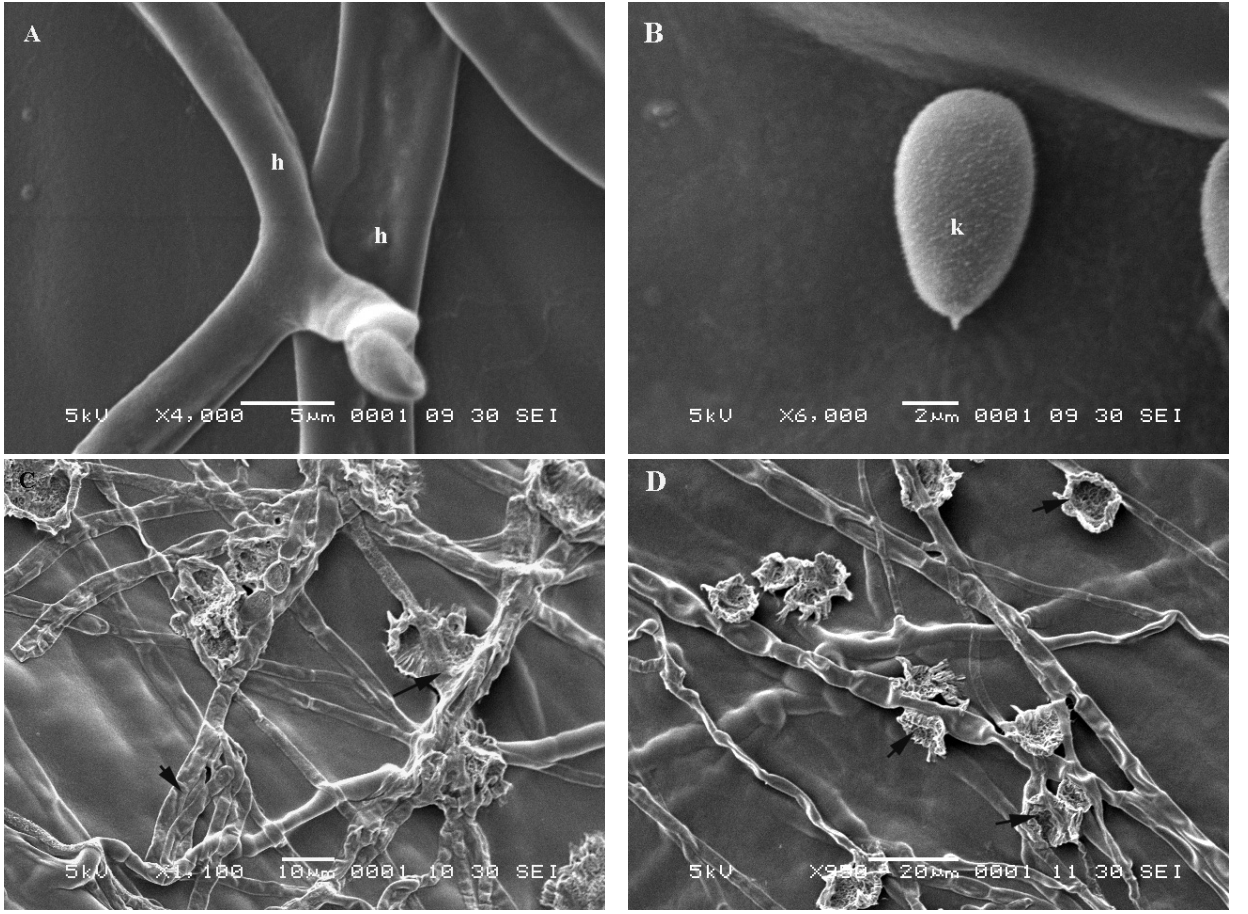
ultimum hifleri üzerinde dejenaratif değişikliklere ve sitoplazmik boşalmalara neden olduğunu bildirilmiştir (Zambonelli ve ark., 1996). Taramalı elektron mikroskobu ile yaptıkları gözlemlerinde kekik uçucu yağının buhar etkisinin *P. digitatum* hif ve konidi morfolojisini değişikliğe uğrattığı görülmüştür. (Aras ve Usai, 2001). *Botrytis cinerea* ve *P. digitatum*'a karşı iyi bir antifungal etkiye sahip kadife çiçeği yağının fungusların elektron mikroskobu ile hif morfolojisindeki büyük değişiklikler ve çok yönlü etki mekanizmaları belirlenmiştir (Romagnoli ve ark., 2005).



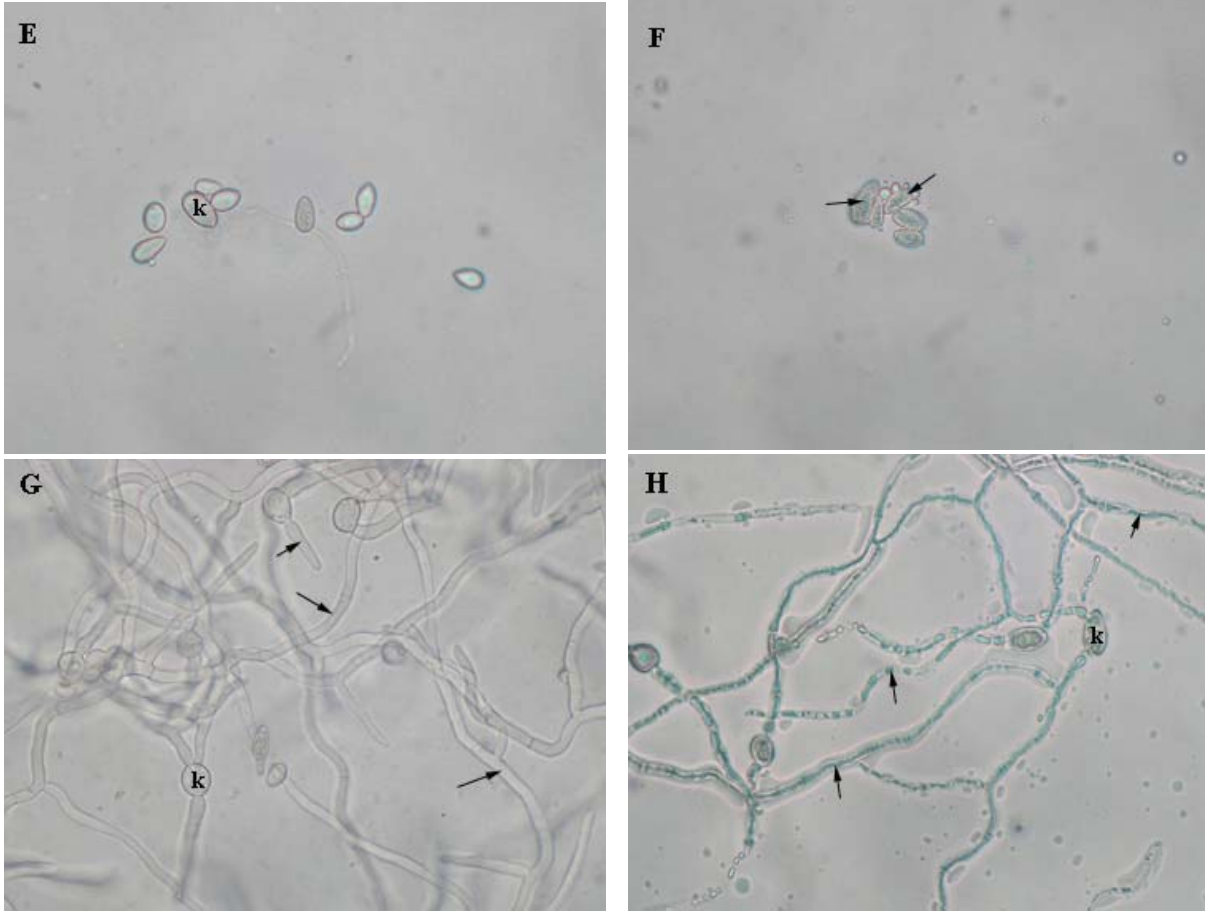
Şekil 4.3. Ak kekik uçucu yağının *A. alternata* hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların taramalı elektron (SEM) (A ve B) ve ışık mikroskobu (C ve D) altındaki görüntüleri. (A), Kontrol petrilerindeki sağlıklı *A. alternata* hif ve konidiler, (B) Uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, *A. alternata* hiflerinde gözlenen büzüşme ve kabarcıklaşmalar. (C), Işık mikroskobunda kontrol petrilerindeki sağlıklı *A. alternata* hif ve konidiler. (D), Uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, *A. alternata* hiflerin sitoplazmalarında koagülasyon oluşumu. h = hif; k = konidi.



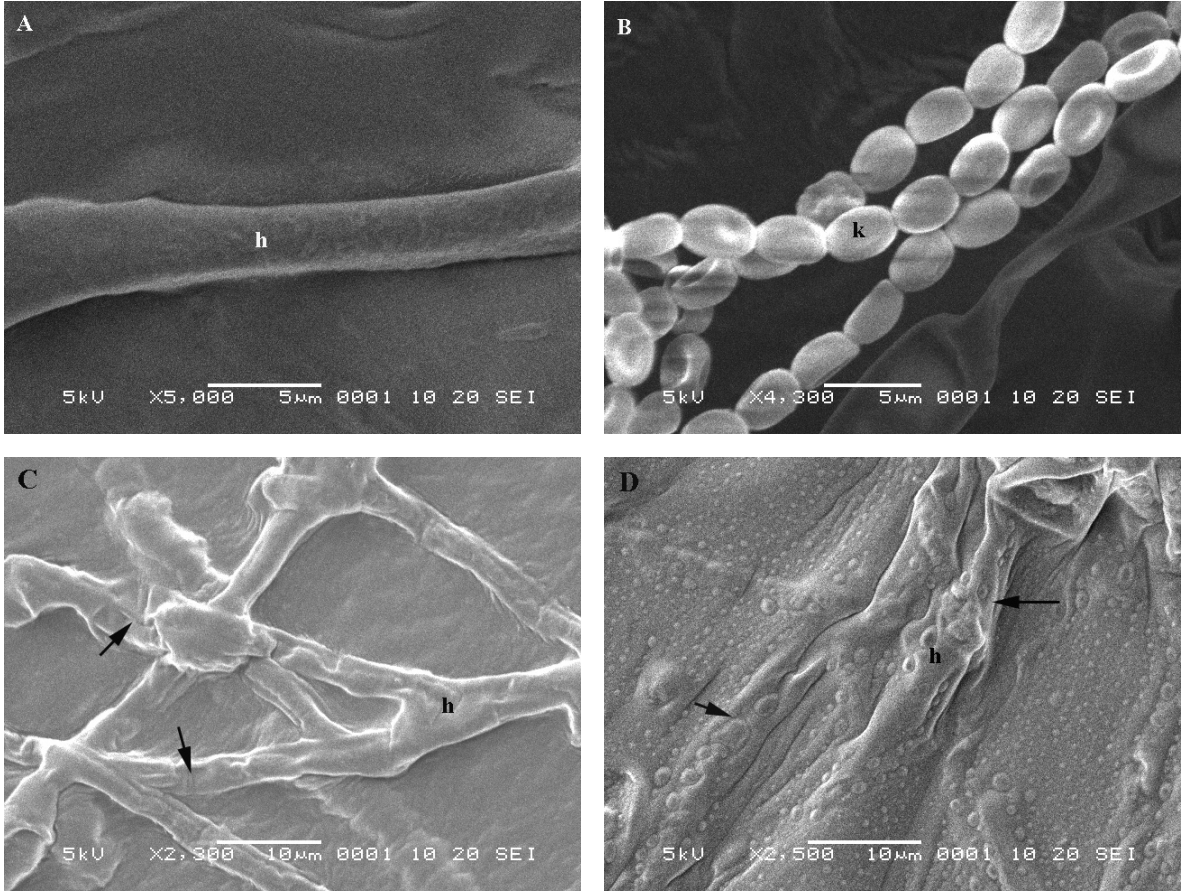
Şekil 4.4. Ak kekik uçucu yağının *A. niger* konidi ve hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların taramalı elektron (SEM) (A-B) ve ışık mikroskobu (C-D) altındaki görüntüleri. (A), Kontrol petrilerindeki sağlıklı *A. niger* konidi ve hifleri. (B) uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, *A. niger* hif (ok) ve konidilerinde belirgin bir değişiklik oluşmamıştır. (C), Kontrol petrilerindeki sağlıklı *A. niger* konidi ve hifleri. (D), uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, *A. niger* hif ve konidilerde belirgin bir değişiklik oluşmamıştır. k = konidi.



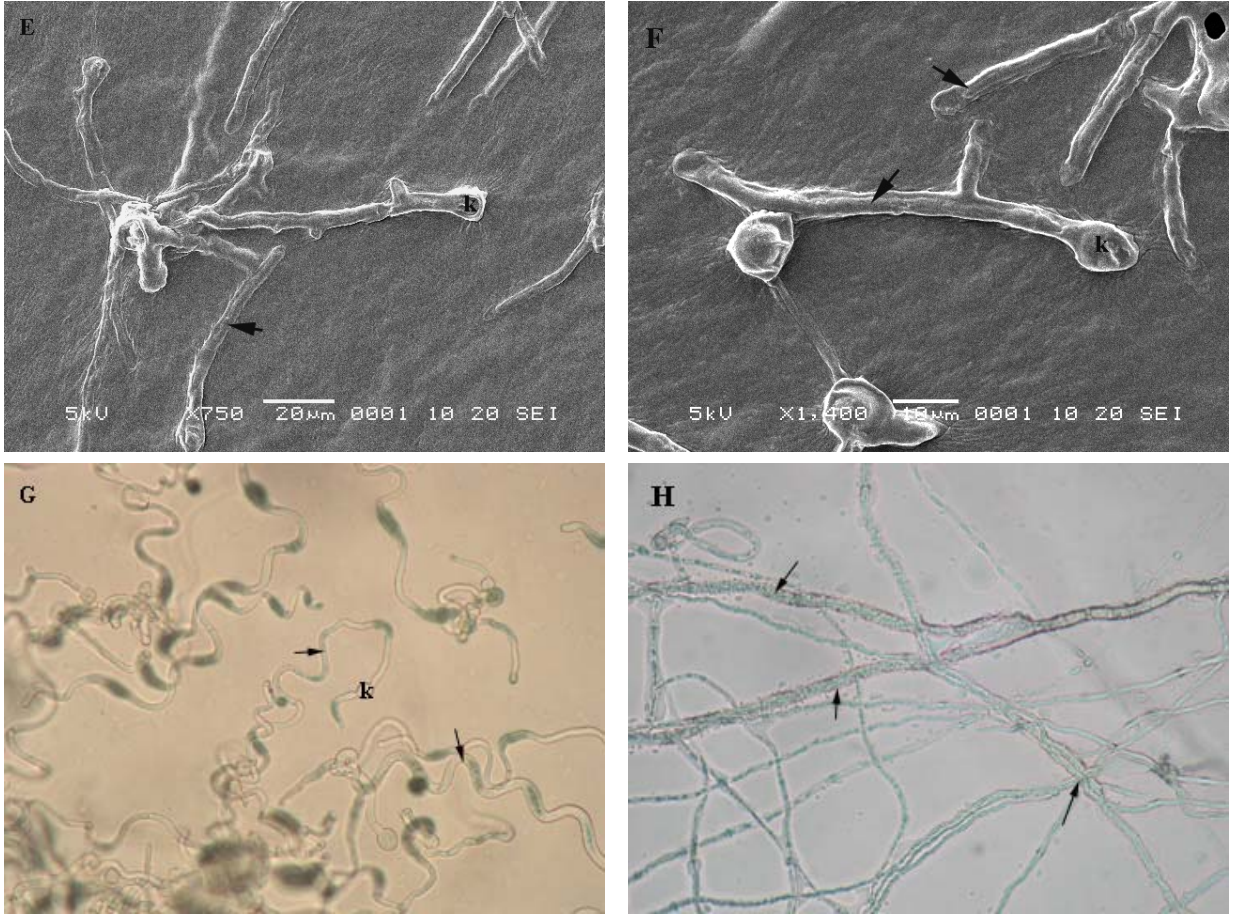
Şekil 4.5. Ak kekik uçucu yağının *B. cinerea* konidi ve hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların taramalı elektron (SEM) (A-D) ve ışık mikroskobu (E-H) altındaki görüntüleri. (A ve B), Kontrol petriyelerindeki sağlıklı *B. cinerea* hif ve konidisi. (C ve D) uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, *B. cinerea* hiflerin yapısının bozularak büzülmesi ve hif yüzeyinde parçalanma şeklinde erimeler. h = hif; k = konidi.



Şekil 4.5. (Devam) (E), Işık mikroskopunda kontrol petrilerindeki sağlıklı *B. cinerea* konidiler. (F), uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, *B. cinerea* konidilerinin sitoplazmalarında gözlenen koagülasyonlar. (G), Kontrol petrilerindeki sağlıklı *B. cinerea* hifleri. (H), Uçucu yağ eklendikten 2 gün sonra, *B. cinerea* hiflerinde ve konidilerinde gözlenen sitoplazmik koagülasyonlar. k = konidi.



Şekil 4.6. Ak kekik uçucu yağının *P. digitatum* hifleri üzerinde yaptığı deformasyonların taramalı elektron (SEM) (A-F) ve ışık mikroskobu (G-H) altındaki görüntüleri. (A ve B), Kontrol petrilerindeki sağlıklı *P. digitatum* hif ve zincir şeklindeki konidileri, (C), uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, *P. digitatum* hiflerinde meydana gelen büzüşmeler, (D), uçucu yağ eklendikten 2 gün sonra, *P. digitatum* hiflerinde gözlenen şiddetli yapısal bozuşmalar, kabarcık oluşumu ve erimeler. h = hif; k = konidi.



Şekil 4.6. (Devam) (E ve F) uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, çimlenmiş konidilerden uzayan çim borucuklarının uzamasının engellenmesi ve hiflerde gözlenen deformasyonlar. (G), Kontrol petrilerindeki sağlıklı *P. digitatum* hifleri. (H), uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, *P. digitatum* hiflerinin sitoplazmalarında görülen koagülasyonlar. k = konidi.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada hasat sonrası turunçgil meyvelerinde sorun olan *A. alternata*, *P. digitatum*, *B. cinerea* ve *A. niger* gibi fungal hastalık etmenlerine karşı, Doğu Akdeniz bölgesinde doğal olarak yetişen ve farklı kimyasal bileşenlere sahip ak kekik, defne, karabaş kekik, karabaş lavanta, rezene ve Suriye kekikği gibi tıbbi bitkilerden elde edilen uçucu yağların antifungal etkinliği araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında ak kekik, Suriye kekiği ve karabaş kekik uçucu yağlarının rezene, defne ve karabaş lavanta uçucu yağlarına göre daha yüksek düzeyde antifungal etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Yağların funguslar üzerinde misel, spor canlılığı ve çim borusu gelişimi üzerine olan etkinliklerine bakıldığında, buhar etkilerinin daha iyi sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

Uçucu yağların fungusların misel gelişimi üzerine değme etkilerinde *A. alternata*'ya ve karşı en iyi etkiyi 400 µg/ml ile ak kekik ve Suriye kekiği uçucu yağları gösterirken, *B. cinerea*'ya karşı en iyi etkiyi 80 µg/ml ile yine ak kekik ve Suriye kekiği uçucu yağları göstermiştir. Uçucu yağların fungusların misel gelişimi üzerine buhar etkilerinde *A. alternata*'ya karşı en iyi etkiyi 20 µg/ml ile ak kekik ve Suriye kekiği uçucu yağları gösterirken, *B. cinerea*'ya karşı en iyi etkiyi 10 µg/ml ile ak kekik ve Suriye kekiği uçucu yağları göstermiştir.

Uçucu yağlar arasında karabaş kekik ve rezene uçucu yağlarının fungusların misel gelişimi üzerine değme etkide gelişimi tamamen engelleyen konsantrasyonlarda *A. alternata* ve *B. cinerea*'ya karşı fungisidal olduğu, buhar etkide ise *A. alternata*'ya yağlar içinde sadece ak kekik ve karabaş kekik uçucu yağlarının fungisidal olduğu belirlenmiştir. *B. cinerea*'ya karşı denenen bütün bitki uçucu yağlarının buhar etkide fungisidal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Uçucu yağların spor çimlenmesi üzerine değme etkilerinin tamamen engelleyen en küçük konsantrasyonlarına bakıldığında; *A. alternata*'ya karşı 240 µg/ml konsantrasyonunda ak kekik ve Suriye kekiği uçucu yağları, *B. cinerea* ve *A. niger*'e 320 µg/ml konsantrasyonunda ak kekik ve Suriye kekiği uçucu yağları ve *P. digitatum*'a 560 µg/ml konsantrasyonunda ak kekik uçucu yağları tespit edilmiştir.

Uçucu yağların spor çimlenmesi engelleyen buhar etkilerine bakıldığında *A. alternata*, *A. niger* ve *B. cinerea*'ya karşı en yüksek etkiyi 10 µg/ml konsantrasyonunda

ak kekik ve Suriye kekiği, karabaş kekik ve rezene uçucu yağları gösterirken, *P. digitatum*'a karşı en yüksek etkiyi 10 µg/ml konsantrasyonunda ak kekik ve karabaş kekik uçucu yağları göstermiştir.

Uçucu yağ konsantrasyonlarının artmasına bağlı olarak spor çimlenmesini ve çim borusu gelişimini engelleme oranının arttığı görülmüştür.

Işık ve taramalı elektron mikroskobu incelemelerinde ak kekiğ'in buhar etkide *A. alternata*, *B. cinerea*, *P. digitatum*'un misel yapıları ve sporlarında deformasyonlar yaptığı gözlenmiştir. Aynı yağın *A. niger* hif ve sporları üzerinde belirgin bir morfolojik değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir. Bu durum yağların *A. niger* üzerinde daha çok hücre membranı düzeyinde etkileşimde bulunduğunu düşündürmektedir.

Denemelerde kullanılmış olan bitkilerin denemeye alınan turunçgil hasat sonu fungal etmenler üzerinde etkili olacağı açıkça görülmektedir. Bu bitkilerden özellikle kekik tipi bitki türleri olan ak kekik ve Suriye kekiği ve karabaş kekiğin patojenlerin gelişimi üzerine etkileri oldukça ümit vericidir. Bölgede araştırmamızda kullanılan bitkilere benzer diğer bitkilerin de bitki patojenleri üzerinde antimikrobiyal etkinliğinin olabileceği ihtimali üzerinde durulup, bu tip bitkilerle farklı bakteriyel ve fungal etmenlere karşı antimikrobiyal potansiyellerinin belirlenmesi gereklidir. Bu bitkilerden elde edilecek uçucu yağların doğal dengeye zarar vermemesi nedeniyle zirai ilaçların yerine kullanılabilen kuvvetli ihtimaldir. *In vitro* etkinliğini araştırdığımız bitki uçucu yağlarının *in vivo* denemeleri yapılarak uçucu yağların bahçe ve depo koşullarındaki etkinliklerinin araştırılması bu konuda yapılan çalışmaların gelişmesi ve zirai üretime katkıda bulunacağı açıkça görülmektedir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal içeriklerinin belirlenmesi ve patojenlerin gelişimi etkileyen bileşenlerinin tespiti bu bileşenlerin yapay yollarla üretilerek diğer patojenler üzerine etkinliklerinin araştırılması antimikrobiyal etkinliği olan uçucu yağlar üzerine yapılan çalışmaların gelişmesine katkıda bulunacağı kesindir. Ülkemizde ve özellikle Hatay ili ve çevresinde bu tür doğal olarak yetiştiği dikkate alınacak olursa bu ve benzeri konulara yönelik araştırmaların artması muhtemeldir. Bu nedenlerden dolayı yöre halkı tarafından bilinçsizce toplanan bu bitkilerin korunmaya alınması, kültür bitkisi olarak yetiştiriciliğinin teşvik edilmesi, gelecekte bu konu da yapılacak yeni çalışmalara temel teşkil etmesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- AGARWAL, I., MATHELA, C.S., and SINHA, S. 1979. Studies on the antifungal activity of terpenoids against *Aspergilli*. **Indian Phytopathology**, 32:104-105.
- AĞAR, İ.T. 1987. Satsuma, klemantin ve fremont mandarinleri ile mineola tangelo'nun kontrollü atmosferde muhafaza olanakları üzerinde araştırmalar. Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 160 sayfa.
- ALICE, A and KIVANÇ, M. 1987. Antifungal effects of plant extracts on *Drechslera oryzae* in rice. **International Rice Research Newsletter**, 12: 28
- ANONİM, 1997. Turunçgil bahçelerinde entegre mücadele teknik talimatı. **Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü**, 52-53
- ARRAS, G., and GRELLA, G.E. 1992. Wild thyme, *Thymus capitatus* essential oil seasonal changes and antimycotic activity. **Journal of Horticultural Science**, 67:197-202.
- ARRAS, G., 1988. Antimicrobial activity of various essential oils against some citrus fruit disease agents. **Rehovat, Balaban Publishes**, 49: 787-793.
- ARRAS, G., and USAI, M. 2001. Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. **Journal of Food Protection**, 64: 1025-1029.
- BASIM, H., YEGEN, O., and ZELLER, W. 2000. Antimicrobial effects of essential oil of *Thymbra spicata* L.var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 279: 279-284.
- BENJILALI, B., TANTAOUİ-ELERAKI, A., AYADI, A., and IHLAL, M. 1984. Method to study antimicrobial effects of essential oil: application to the antifungal activity of six Moroccan essences. **Journal of Food Protection**, 47:748-752
- BOUCHRA, C., ACHOURI, M., IDRİSSİ HASSANI, L. M. and HMAMOUCHE, M. 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan labiatae against *Botrytis cinerea* pers: Fr. **Journal of Ethnopharmacology**, 89: 165-169.
- CEYLAN, A. 1987. Tıbbi bitkiler (Uçucu yağ içerenler), Ege üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 481 Bornova-İZMİR.
- CHARAI, M., MOSADDAK, M., and FAID, M. 1996. Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants: *Origanum majorana* L. and *O. compactum* Benth. **Journal of Essential Oil Research**, 8: 657-664
- CHEBLI, B., HMAMOUCHE, M., ACHOURI, M, and HASSANI, ALMI. 2004. Composition and *in vitro* fungitoxic activity of 19 essential oils against two post-harvest pathogens. **Journal of Essential Oil Research**, 16: 507-511.
- COHEN, E. 1989. Evaluation of fenpropimorph and flutriafol for control of sour rot, blue mold and green mold in lemon fruit. **Plant Disease**, 73: 807-809

- ÇAKIR, C., ve YEĞEN, O., 1988, Antalya ve çevresindeki bazı bitkilerin uçucu yağlarının fungitoksik potansiyellerinin araştırılması.
- ÇAKIR, C. 1992. Antalya ve çevresinde doğal olarak yetişen bazı bitkilerin fungitoksik potansiyellerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, 91 sayfa.
- ÇINAR, Ö. 1987. Meyve ve Bağ Hastalıkları. Ç.Ü Ziraat Fakültesi, Ders Notları, No: 66, 192
- DAFERERA, DJ., ZIOGAS, BN., and POLISSIOU, MG. 2000. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48: 2576-2581
- DAFERERA, DJ., ZIOGAS, BN., and POLISSIOU, M.G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp and *Clavibacter michiganensis subsp michiganensis*. **Crop Protection**, 22: 39-44
- DAVE, B., SALES, M., and WALIA, M. 1990. Resistance of different strains of *Penicillium digitatum* to imazalil treatment in California citrus packinghouse. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, 102:178-179.
- DAOUK, R.K., DAGHER, S.M., and SATTOUT, E.J. 1995. Antifungal activity of the essential oil of *Origanum syriacum* L. **Journal of Food Protection** 58: 1147-1149.
- DE BOER, E., SPIEGELENBERG, W. M., and JANSEN, F. M. 1985. Microbiology of spices and herbs. **Antonic van Leeuwenhoek**, 51: 485-438.
- DELEN, N., ve TOSUN, N. 1995. *Botrytis cinerea* izolatlarının bazı dithiocarbamate'lara duyarlılığı üzerinde çalışmalar. 7.Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, Adana, 141-144.
- DIANEZ, F., SANTOS, M., BLANCO, R., and TELLO, J.C. 2002. Fungicide resistance in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry crops in Huelva (southwestern Spain). **Phytoparasitica** 30: 529-534.
- GHOSH, J., NANDI, B., and FRIES, N., 1982. Use of some volatile compounds in the preservation of wheat grains from fungal deterioration in storage under Indian conditions. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 89: 410-418
- KAPLAN, H.J., and DAVE, B.A. 1979. The current status of imazalil: a post harvest fungicide for Citrus. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, 92:37-43.
- KARAMAN, S., DİGRAK, M., RAVID, U., and ILCIM, A. 2001. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. **Journal of Ethnopharmacology**, 76: 183-186
- KELLY, J.L and AUSTIN, L.A. 1985. A quantitative detection method for *P. italicum* and *P. digitatum* in citrus packinghouses. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, 98: 211-213
- LETESSIER, M. P., SUOBODA, K.P. and WALTERS, D.R. 2001. Antifungal activity of the essential oil of hyssop (*Hyssopus officinalis*). **Journal of Phytopathology**, 149: 673-678

- LOCKE, J.C., LAREW, H.G., and WALTER, J.F. 1993. Efficacy of clarified neem seed oil against foliar fungal pathogens and greenhouse whiteflies. **American Chemical Society**, 21: 287-298.
- MAITI, D., KOLE, C.R. and SEN, C. 1984. Antimicrobial efficacy of some essential oils. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 92: 64-68.
- MANOHAR, V., INGRAM, C., GRAY, J., TALPUR, N. A., ECHARD, B.W., BAGCHI, D., and PREUSS, H.G. 2001. Antifungal activity of origanum oil against *Candida albicans*. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 28:111-117.
- MARI, M., and GUIZZARDI, M., 1998. The postharvest phase: Emerging technologies for the control of fungal diseases. **Phytoparasitica**, 26:59-66.
- MULLERRIEBAU, F., BERGER, B., and YEGEN, O. 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 43: 2262-2266.
- ÖZBEK, T., ve DELEN, N. 1995. Turunçgil meyvelerinde *Penicillium* türlerinin oluşturdukları hasat sonrası çürüklüklerine karşı fungusitlerin etkinlikleri üzerinde çalışmalar. 7.Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 220-223.
- ÖZCAN, M. ve ERKMEN O., 2001. Antimikrobiale aktivite of essential oil of Turkey plant species. **Eur. Food. Res. Technol.**, 212:658-660
- PAPPAS, A.C. 1982. Metalaxyl resistance and control of cucumber downy mildew with oomycetes-fungicides. **Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki**, 13:194-212.
- PEEVER T L, Carpenter-Boggs L, Timmer L W, Carris L M and A. Bhatia., 2005. Citrus Black Rot is Caused by Phylogenetically Distinct Lineages of *Alternaria alternata*. **Phytopathology**; 95, 5; pg 512.
- PLAZA, P., TORRES, R., USALL, J., LAMARCA, N., and VINAS, I. 2004. Evaluation of the potential of commercial post-harvest application of essential oils to control citrus decay. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, 79: 935-940.
- RISTIC, M., SOKOVIC, M., GRUBISIC, D., and KOVACEVIC, N., 2004. Chemical analysis and antifungal activity of the essential oil of *Achillea atrata* L. **Journal of essential Oil Research**, 16: 75-78.
- ROMAGNOLI, C., BRUNI, R., ANDREOTTI, E., RAI, M.K., VICENTINI, C.B., and MARES, D. 2005. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of *Capitula* from wild Indian *Tagetes patula* L. **Protoplasma**, 225: 57-65.
- SALUNKHE, DK., and DESAI, B.B. 1984. Postharvest Biotechnology of Fruits. Mahatma Phule Agricultural University, India, CRS Pres, Vol 1:59-75
- SHAHI, S.K., PATRA, M., SHUKLA, A.C., and DIKSHIT, A. 2003. Use of essential oil as botanical-pesticide against post harvest spoilage in *Malus pumilo* fruits. **Biocontrol**, 48: 223-232.
- SHARMA, N., and TRIPATHI, A. 2006. Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. **World Journal of Microbiology & Biotechnology** 22: 587-593.
- SHELEF, L.A., JYOTHI, E.K., and BULGARELLI, M.A. 1984. Growth of Enteropathogenic and spoilage bacteria in sage-containing broth and foods. **Journal of Foods Science**, 49: 737-740.

- SINGH, G., MAURYA, S., DE LAMPASONA, M.P., and CATALAN, C. 2006. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. **Food Control** 17: 745-752.
- SIVROPOULOU, A., PAPANIKOLAOU, E., NIKOLAOU, C., KOKKINI, S., LANARAS, T., and ARSENAKIS, M. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* oils. **J. Agric. Food Chem.** 44: 1202-1205.
- SOKOVIC, M., TZAKOU, O., PITAROKILI, D., and COULADIS, M. 2002. Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. **Nahrung-Food** 46: 317-320.
- SOYLU, E.M., YIĞITBAŞ, H., TOK, F.M., SOYLU, S., KURT, Ş., BAYSAL, Ö., and KAYA, A.D. 2005a. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia annua* L. against foliar and soil-borne fungal pathogens. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, 112: 229-239.
- SOYLU, E.M., TOK, F.M., SOYLU, S., KAYA, A.D., and EVRENDILEK, G.A. 2005b. Antifungal activities of the essential oils on post-harvest disease agent *Penicillium digitatum*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 8: 25-29.
- SOYLU, E.M., SOYLU, S., and KURT, Ş. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. **Mycopathologia**, 161: 119-128.
- STANGE, R.R., and ECKERT, J.W. 1994. Influence of postharvest handling and surfactants on control of green mold of lemons by curing. **Phytopathology**, 84: 612-616.
- SZCZERBANIK, M., JOBLING, J., MORRIS, S., and HOLFORD, P. 2007. Essential oil vapours control some common postharvest fungal pathogens. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, 47: 103-109.
- TABANCA, N., DEMİRCİ, F., ÖZEK, T., TÜMEN, G., and BASER, K.H.C. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum x dolichosiphon* P.H.Davis. *Chemistry of Natural Compounds*, 37:3
- TANTAOUI, E.A., FERHOUT, H., and ERRIFI, A., 1993. Inhibition of the fungal asexual reproduction stages by three Moroccan essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, 5: 535-545.
- TOMPSON, D.P. and CANON, C. 1986. Toxicity of essential oils on toxigenic and nontoxigenic fungi. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, 36: 527-532.
- TOKER, S., ve BİÇİCİ, M. 1996. Turunçgil meyvelerinde görülen hasat sonrası hastalıklara bazı fungusit ve depolama uygulamalarının etkisi. **Tr. J. Of Agricultural and Forestry**, 20:73-83
- TOKER, S., ve BİÇİCİ, M. 2001. Doğu Akdeniz turunçgillerinde *Penicillium digitatum* Sacc. ve *Penicillium italicum* Wehm. izolatlarının fungusitlere direnç durumları. Türkiye 9. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, Tekirdağ, 324-335.
- TÜRKÜSAY, H., ve ONOĞUR, E. 1998. Bazı bitki ekstraktlarının *in vitro* antifungal etkileri üzerine araştırmalar. **Tr. J. of Agriculture and Forestry**, 22:267-271.

- VIUDA-MARTOS, M., RUIZ-NAVAJAS, Y., FERNANDEZ-LOPEZ, J., and PEREZ-ALVAREZ, J.A. 2007. Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils. **Journal of Food Safety**, 27: 91-101.
- VOKOU, D., MARGARIS, N.S., and LYNCH, J.M. 1984. Effect of volatile oils from aromatic shrubs on soil microorganisms. **Soil. Biol. Biochem**, 16: 509-513.
- WALTER, M., JASPERS, M. V., EADE, K., FRAMPTON, C. M. ve STEWART, A. 2001. control of *Botrytis cinerea* in grape using thyme oil. **Australasian Plant Pathology**, 30: 21-25.
- WILD, B.L., and ECKERT, J.W., 1982. Synergy between a benzimidazole-sensitive isolate and benzimidazole-resistant isolates of *Penicillium digitatum*. **Phytopathology**, 72:1 329-1332
- WILSON, C.L., and PUSEY, P.L. 1985. Potential for biological control of postharvest plant diseases. **Plant Disease**, 69: 375-378.
- WILSON, C.L., GHAOUTH, A.E, CHALUTZ, E., DRONY, S., STEVENS, C., LU, J.Y., KHAN, V., and ARUL, J. 1994. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant Disease**, 78: 837-844
- WILSON, C. L., SOLAR, J. M., EL GHAOUTH, A. and WISNIEWSKI, M.E. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant. Disease**, 81: 204-210.
- YONUCU, N. 1997. bitki ekstrakt ve kompostlarının çukurova bölgesinde sorun olan bazı fungal hastalıklara karşı antifungal özelliklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniv., Fen bilimleri Enst.
- ZAİKA, L.L., KISSINGER, J. C. and WESSERMAN, A.E. 1983. Inhibition of lactic acid bacteria by herbs. **Journal of Food Science**, 48:1455-1459.
- ZAMBONELLI, A., ZECHINI D'AULERIO, A., BIANCHI, A., and ALBASIN, A. 1996. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi *in vitro*. **Journal of Phytopathology**, 144: 380-383.

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde, laboratuvar çalışmaları ve yazım aşamasında değerli fikir ve katkılarıyla çalışmalarımı yönlendiren sayın hocam Yrd. Doç. Dr. E. Mine SOYLU'ya sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca katkı ve yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Soner SOYLU, Doç. Dr. şener KURT ve Araş. Gör. M.Fatih TOK'a, tez çalışmalarına maddi desteğinden dolayı M.K. Araştırma Fonuna da ayrıca teşekkür ederim.

Tüm ğrenim hayatım boyunca ve özel hayatımda maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Gülnar'da doğdum. İlk, orta eğitimimi Gülnar'da ve lise eğitimimi Mersin'de tamamladıktan sonra 2000 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitkisel Üretim Bölümünü kazandım. 2003 yılında Bitki Koruma Alt programını tercih ettim. 2004 yılında bu bölümden mezun oldum ve aynı yıl M.K.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım.