



KIRŞEHİR İL'İNDE YAYILIŞ GÖSTEREN

***Salvia cryptantha* (Montbret Et Aucher Ex Benth.)'NİN**

UÇUCU YAĞ VE EKSTRAKTININ BİYOLOJİK AKTİVİTESİ VE

UÇUCU YAĞ KOMPOZİSYONUNUN BELİRLENMESİ

YUSUF YIKILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN

Temmuz - 2019

Her hakkı saklıdır

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KIRŞEHİR İL'İNDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Salvia cryptantha*
(Montbret Et Aucher Ex Benth.)'NİN UÇUCU YAĞ VE
EKSTRAKTININ BİYOLOJİK AKTİVİTESİ VE UÇUCU YAĞ
KOMPOZİSYONUNUN BELİRLENMESİ**

YUSUF YIKILMAZ

TOKAT
Temmuz - 2019

Her hakkı saklıdır



Bu tez çalışması;


Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından 2018/54 nolu proje ile desteklenmiştir.

Yusuf Yıkılmaz tarafından hazırlanan “Kırşehir İl’inde Yayılış Gösteren *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.)’nın Uçucu Yağ ve Ekstraktının Biyolojik Aktivitesi ve Uçucu Yağ Kompozisyonunun Belirlenmesi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 16 TEMMUZ 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

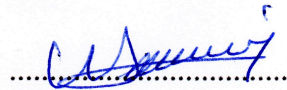
Jüri Üyeleri

İmza

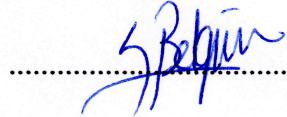
Danışman
Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi



Üye
Dr. Öğr. Üyesi Melih YILAR
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi



Üye
Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi



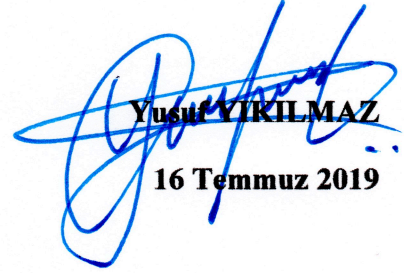
ONAY

Prof. Dr. Çetin ÇEKİC
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdığı yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.


Yusuf YIKILMAZ
16 Temmuz 2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR İL'İNDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Salvia cryptantha* (Montbret Et Aucher Ex Benth.)'NİN UÇUCU YAĞ VE EKSTRAKTININ BİYOLOJİK AKTİVİTESİ VE UÇUCU YAĞ KOMPOZİSYONUNUN BELİRLENMESİ

YUSUF YIKILMAZ

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ABDURRAHMAN ONARAN

Bu çalışmada, Kırşehir İlinde endemik olarak yetişen *Salvia cryptantha*'nın uçucu yağ ve bitki ekstraktının *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında antifungal (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM) ve *Sclerotinia sclerotiorum* (SS)) ve antibakteriyel (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst)) aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca, hidro-distilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların temel bileşenleri GC/MS analizleri ile belirlenmiştir. Antifungal aktivite çalışmaları *in vitro* (PDA ve TSA besi yeri üzerinde) ve *in vivo* koşullar altında (domates bitkisi, hıyar ve kavun meyvesi üzerinde) ekstraktların ve bitki uçucu yağlarının farklı dozları kullanılarak belirlenmiştir. Fungal hastalıkların (FOM, SS) *S. cryptantha* bitki ekstraktına ve uçucu yağlara karşı göstermiş olduğu miselyum gelişimleri (mm), miselyum gelişim engellemeleri (%) ve lezyon gelişimleri (mm) belirlenmiştir. Ekstrakt ve uçucu yağların bakteriyel hastalıklara karşı etkileri ve domates bitkisi üzerindeki belirtileri farklı parametreler kullanılarak ölçülmüştür. GC/MS analiz sonuçlarına göre, *S. cryptantha*'nın uçucu yağlarında bulunan başlıca bileşenler; Eucalyptol (%20,61), camphor (%19,83), α -pinene (%8,79), Camphene (%7,82), Borneol (%7,32), Viridiflorol (%7,84) ve β -pinene (%5,72) olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda bakteri ve funguslara karşı, uçucu yağın 20 μ l dozunda %100 engellemelerin olduğu görülmüştür. Bitki ekstraktında da benzer sonuçlar belirlenmiştir. Sonuç olarak, *S. cryptantha*'nın *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında uçucu yağ ve ekstraktının antifungal ve antibakteriyel özelliklerinin sahip olduğu belirlenmiştir.

2019, 63 SAYFA

ANAHTAR KELİMELER: Uçucu yağ, Biyolojik aktivite, Bitki ekstraktı, *Salvia cryptantha*, Bitki patojeni bakteri ve funguslar

ABSTRACT

MASTER THESIS

BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL AND EXTRACT OF *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) SPREADING IN KIRŞEHİR PROVINCE AND DETERMINATION OF ESSENTIAL OIL COMPOSITION

YUSUF YIKILMAZ

**TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

SUPERVISOR: Assoc. Prof. Dr. Abdurrahman Onaran

In this study, antifungal (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM) and *Sclerotinia sclerotiorum* (SS)) and antibacterial (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst)) activities of essential oil and plant extracts from endemic species of *Salvia cryptantha* in Kırşehir province were determined under *in vitro* and *in vivo* conditions. In addition, the composition of essential oils obtained by the Hydro-distillation method from this plant was determined using GC/MS analysis. Antifungal activity studies were determined using different doses of extracts and essential oils under *in vitro* (PDA and TSA) and *in vivo* conditions (tomato plant, cucumber and melon fruit). Mycelium growth (mm), mycelium growth inhibitions (%) and lesion growth (mm) of fungal diseases (FOM, SS) were determined against plant extract and essential oil of *S. cryptantha*. The effects of extract and essential oils on bacterial diseases and their symptoms on the tomato plant were measured using different parameters. According to GC / MS analysis results, the main components were found in the essential oils of *Salvia cryptantha*; Eucalyptol (20.61%), camphor (19.83%), α -pinene (8.79%), Camphene (7.82%), Borneol (7.32%), Viridiflorol (7.84%) and β -pinene (5.72%). As a result of this study, 100% inhibitions were observed using 20 μ l dose of essential oil against bacteria and fungi under *in vitro* and *in vivo* conditions. Similar results were found in plant extract. In conclusion, *S. cryptantha* has been determined to have antifungal and antibacterial properties of essential oil and extract under *in vitro* and *in vivo* conditions.

YEAR, 63 PAGE

KEYWORDS: Essentials oil, Biological activity, Plant extract, *Salvia cryptantha*, Plant pathogenic Fungi and Bacteria

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bilgisini ve tecrübesini benimle paylaşarak, çalışmam boyunca bana destek veren ve yol göstericim olan saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN'a teşekkürü borç bilirim. Tez çalışmalarımı yürüttüğüm süreçte laboratuvar çalışmalarında yardım ve destekleri sebebiyle Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü'nde yüksek lisans öğrencisi Zir. Müh. Aslı YAVUZ'a teşekkür ederim. Yüksek lisans savunma sınavımda tecrübeleri ve bilgileriyle bana yol gösteren sayın Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR ve Dr. Öğr. Üyesi Melih YILAR hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca hayatımın her döneminde, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen ve her daim arkamda varlıklarını hissettiğim aileme sonsuz minnet ve sevgilerimi sunarım.

Bu projeye maddi destek sağlayan TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOMİSYONU'na, teşekkürlerimi sunarım.

Yusuf YIKILMAZ

16 Temmuz 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.1.1. Bitki materyalleri.....	14
3.1.2. Fungus ve bakteri kültürleri.....	14
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Uçucu yağların ekstraksiyonu.....	14
3.2.2. Bitki ekstraktının hazırlanması.....	14
3.2.3. <i>In vitro</i> antifungal aktivite çalışmaları.....	15
3.2.4. <i>In vitro</i> antibakteriyel aktivite çalışmaları.....	16
3.2.5. <i>In vivo</i> antifungal aktivite çalışmaları.....	17
3.2.6. <i>In vivo</i> antibakteriyel aktivite çalışmaları.....	18
3.2.7. Uçucu yağ kompozisyonun belirlenmesi.....	19
3.2.8. Verilerin değerlendirilmesi.....	20
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	21
4.1. <i>In Vitro</i> koşullarda antifungal ve antibakteriyel aktivite çalışmaları....	21
4.1.1. <i>İn vitro</i> antibakteriyel aktivite çalışmaları.....	21
4.1.2. <i>İn vitro</i> antifungal aktivite çalışmaları.....	26
4.2. <i>In vivo</i> koşullarda antifungal ve antibakteriyel aktivite çalışmaları....	31
4.2.1. <i>İn vivo</i> antibakteriyel aktivite çalışmaları.....	32
4.2.2. <i>İn vivo</i> antifungal aktivite çalışmaları.....	35
4.2.3. <i>Salvia cryptantha</i> L. türünün uçucu yağ kompozisyonu.....	38
5. SONUÇ.....	42
6. KAYNAKLAR.....	44
7. ÖZGEÇMİŞ.....	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
g	Gram
kg	Kilogram
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
p	Olası Hata Miktarı
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
dk	Dakika

Kısaltmalar	Açıklama
EI	Elektron impact
GC	Gaz Kromotografi
MS	Kütle spektrometre
C-	Negatif Kontrol
C+	Pozitif Kontrol
MFC	Minimal Fungusidal Konsantrasyon
MIC	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MG	Misel Büyümesi
MGI	Miselyum Gelişim Engelleme
PDA	Patates Dekstroza Agar
ppm	Milyonda Bir Kısım
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
v/v	Hacimce Yüzde
TSA	Tryptic Soy Agar
w/v	Hacimde Ağırlıkça Yüzde
w/w	Ağırlıkça Yüzde

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. <i>Salvia cryptantha</i> bitkisinin toplanma yerinden görünüşü	1
Şekil 1.2. <i>S. cryptantha</i> 'nın Türkiye'deki yayılış durumu	1
Şekil 1.3. <i>Fusarium oxysporium</i> f. sp. <i>melonis</i> hastalık etmeninin meyve (a) ve bitki üzerinde (b) göstermiş olduğu belirtiler.....	3
Şekil 1.4. <i>Sclerotium sclerotiorum</i> hastalık etmeninin hıyar bitkisinin gövde (a) ve meyve(b) üzerindeki belirtileri	3
Şekil 1.5. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> hastalık etmeninin bitki (a) ve meyve (b) üzerinde belirtileri.....	5
Şekil 1.6. <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> hastalık etmeninin yaprak (a) ve meyve (b) üzerinde belirtileri.....	5
Şekil 3.1. <i>İn vivo</i> koşullar altında kavun ve hıyar meyvesi üzerinde FOM ve SS ve patojenine karşı uçucu yağ ve ekstrakt uygulanması.....	18
Şekil 3.2. <i>İn vivo</i> koşullar altında domates bitkisi üzerinde <i>Cmm</i> (solda) ve <i>Pst</i> (Ortada)'nin bitkilere inokulasyonu ve ekstrakt ve uçucu yağ uygulanması (sağda).....	19
Şekil 4.1. <i>S. cryptantha</i> ekstraktının <i>Cmm</i> ve <i>Pst</i> bitki patojeni bakterilere karşı antibakteriyal aktivitesi.....	22
Şekil 4.2. <i>S. cryptantha</i> uçucu yağının <i>Cmm</i> ve <i>Pst</i> bitki patojeni bakterilere karşı antibakteriyal aktivitesi.....	22
Şekil 4.3. <i>S.cryptantha</i> ekstrakt ve uçucu yağ ilaveli besi yerinde <i>Pst</i> 'nin gelişimi	23
Şekil 4.4. <i>S.cryptantha</i> ekstrakt ve uçucu yağ ilaveli besi yerinde <i>Cmm</i> 'nin gelişimi.....	24
Şekil 4.5. <i>S. cryptantha</i> ekstraktının SS ve FOM bitki patojeni funguslara karşı antifungal aktivitesi	27
Şekil 4.6. SS ve FOM patojenine karşı <i>S. cryptantha</i> metanol ekstraktının antifungal aktivitesi.....	27
Şekil 4.7. <i>S. cryptantha</i> uçucu yağının <i>S. sclerotiorum</i> ve FOM bitki patojeni funguslara karşı antifungal aktivitesi.....	28
Şekil 4.8. SS ve FOM patojeni üzerinde karşı <i>S. cryptantha</i> uçucu yağının antifungal aktivitesi.....	28
Şekil. 4.9. <i>In vivo</i> koşullar altında uçucu yağ ve ekstrakt denemelerinin koruyucu ve tedavi edici etkileri.....	36
Şekil 4.10. Kavun meyvesi üzerinde yapılan uygulamalar.....	37
Şekil 4.11. Hıyar meyvesi üzerinde <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'a karşı yapılan uygulamalar.....	37

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1. <i>In vitro</i> çalışma sonucu <i>Cmm</i> ve <i>Pst</i> üzerinde <i>S. cryptantha</i> ekstrakt ve uçucu yağının etkisi (%).....	25
Çizelge 4.2. <i>In vitro</i> koşullar altında test edilen bitki patojeni funguslara karşı <i>Salvia cryptantha</i> uçucu yağ ve ekstraktının Miselyum Gelişim Engelleme oranları...	29
Çizelge 4.3. <i>In vitro</i> koşullarda, <i>Salvia cryptantha</i> ekstrakt ve uçucu yağının test edilen bitki patojeni funguslara karşı letal doz değerleri (LD ₅₀₋₉₀).....	30
Çizelge 4.4. <i>In vivo</i> koşullarda domates bitkisi üzerinde <i>S. cryptantha</i> ekstrakt ve uçucu yağının <i>Cmm</i> patojenine karşı antibakteriyel aktivitesi.....	33
Çizelge 4.5. <i>In vivo</i> koşullar altında domates bitkisi üzerinde <i>S. cryptantha</i> ekstrakt ve uçucu yağının <i>Pst</i> patojenine karşı antibakteriyel aktivitesi.....	34
Çizelge 4.6. <i>In vivo</i> koşullar altında test edilen bitki patojeni funguslara karşı <i>Salvia cryptantha</i> uçucu yağ ve ekstraktının yüzde engelleme oranları (%).....	36
Çizelge 4.7. <i>Salvia cryptantha</i> bitkisinden elde edilen uçucu yağın GC/MS'de belirlenen bileşenleri.....	39

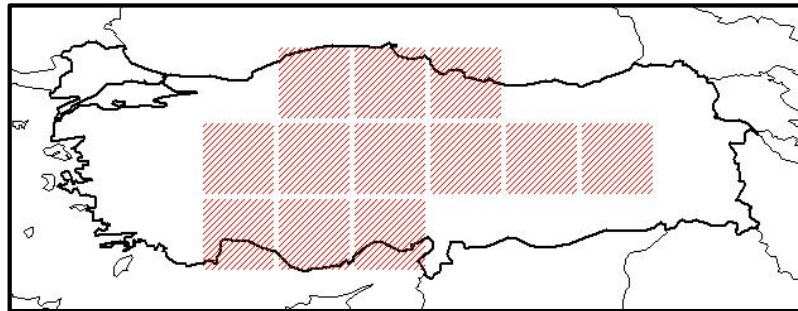
1. GİRİŞ

Son yıllarda, tarımsal üretimde verim kayıplarına neden olan fungal ve bakteriyel hastalıklara karşı bitki uçucu yağ (Kim ve ark., 1995; Soylu ve ark., 2010; Bayar ve ark., 2018; Massiha ve ark., 2018) ve ekstraktlarının (Ghos ve ark., 2008; Onaran ve Yılar, 2012; Yuan ve Yuk, 2018) biyolojik aktivitelerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar yapılmaktadır. Bugün bütün Dünya’da kimyasal ilaçlara karşı alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik araştırmalar hız kazanmıştır.

Salvia cryptantha (Şekil 1.1) türü ülkemizde kara ot, kara şabla, kara şalva ve Anadolu halısı olarak adlandırılmaktadır (Anonim, 2019a). Türkiye’de endemik olarak yayılış gösteren (Şekil 1.2) bu tür *Lamiaceae* familyası içerisinde yer almaktadır. *S. cryptantha* İç Anadolu ve Orta Karadeniz bölgesinde yoğun şekilde görülmektedir (Akın ve ark., 2010; Saadia ve ark. 2010).



Şekil 1.1. *Salvia cryptantha* bitkisinin toplanma yerinden görünüşü



Şekil 1.2. *Salvia cryptantha*’nın Türkiye’deki yayılış durumu (Anonim, 2019c)

Salvia cinsi yaklaşık 900 tür ile Dünya’da yayılım göstermektedir. Bu cinse ait Türkiye’de 89 tür bulunmakta olup, bu türler içinde 45 *Salvia* türünün Türkiye için

endemik olduğu bilinmektedir (Davis, 1982; Davis ve ark., 1988). *S. cryptantha* 700-2500 metre yükseklikte, kuru bozkır alanlarda, kayalıklı ve kireçli yamaçlarda ve yol kenarlarında bulunur. Bu bitki türü Mayıs ile Temmuz ayları arasında çiçeklenmektedir (Anonim, 2016b). Genel olarak çelik ve tohum yoluyla yayılır. Bu bitkinin çiçek kısımları bitkisel çay ve yerel materyal olarak kullanılmaktadır (Doğan ve ark., 2017).

Ülkemizde kavun yetiştiriciliği yapılan tarım alanlarında sorun olan toprak kökenli, kavun solgunluk hastalığının etmeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (şekil 1.3) tarafından gerçeleştirilmektedir. 1939 yılında Türkiye’de ilk olarak Manisa İl’inin kavun yetiştirilen tarlalarında görülmüştür. Bu hastalık ilk başta kökleri enfekte ederek, iletim demetlerinde kahverengileşmeye ve yapraklarda sararmalara neden olmaktadır.

Hastalığın ilerleyen dönemlerinde ise kurumalar ve ckmeler meydana gelmektedir (nl ve ark., 2009). Ülkemizin Orta Anadolu Bölgesi’nin yoğun olarak kavun üretimi yapılan Ankara, Kırıkkale, Konya ve Yozgat İl’lerinde yapılan survey çalışmaları sonucunda *Fusarium solgunluğu* belirtisi gösteren bitkilerde hastalık kayıp oranları %52.6, %59.6 ve %37.3 olarak belirlenmiştir (Altuğ ve Erzurum, 2002).

Fusarium solgunluk hastalığının mücadelesi diğer toprak kaynaklı fungal hastalıklara göre oldukça zordur. Bu nedenle dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi, hastalıklı bitkilerin ortamdaki uzaklaştırılması, temiz üretim materyalinin kullanılması, münavebe uygulanması, sulama ve toprak işlemeye dikkat edilmesi, aşırı azotlu gübrelemeden kaçınılması, toprak fumigasyonu ve solarizasyonu ve biyolojik mücadele uygulamaları alınan önlemlerdendir (Boyras ve Baştaş, 2005).

Sclerotinia sclerotiorum etmeni bitkilerde beyaz crklk hastalığına (şekil 1.4) neden olmaktadır (Agrios, 1997). Bu patojen, geniş konukçu çevresine sahip 64 aileye, 225 cins ve 361 tre ait bitkiyi etkilemektedir (Purdy, 1979). Ülkemizde geniş konukçu çevresine sahip olan patojen beyaz crklk, beyaz kf, yumuşak crklk gibi isimlerle adlandırılmaktadır. Geniş konukçu çevresine sahip olması ve toprakta uzun süre canlı kalabilmesi patojenin kontrolünü zorlaştırmaktadır. Askospor uçuşu ile yoğun bir yayılım gösteren bu hastalık, Dünya’da ve Türkiye’de hızlı bir şekilde yayılmaktadır (Onaran ve Yanar, 2009). *S. sclerotiorum* bitkilerin fide devresinde kök crklğne ve hastalık

ilerledikçe bitkilerin kök, gövde, yaprak ve meyvelerinde çürümelere neden olur. Hastalığın ilerlemesi ile gövde kısmında ve kök boğazında pamuk beyazlığında çok fazla misel tabakası oluşur. Bu miseller zamanla kirli beyaz renkte ve yapışkan bir halde iken havanın etkisi ile koyu kahverengiden siyaha dönüşerek sert yapıdaki skloratları oluşturur. Bu skloratlar yıllarca toprakta kalabilmektedir (Anonim, 2019f). Beyaz çürüklük patojeni genel olarak hıyar, ay çekirdeği, fasulye ve birçok bitkiye zarar verebilmektedir. Bu patojeni kontrol altında tutmak için kültürel, biyolojik ve kimyasal mücadele yöntemleriyle uygulama yapmak gerekmektedir (Tozlu, 2008).



Şekil 1.3. *F. oxysporium* f. sp. *melonis* hastalık etmeninin meyve (a) ve bitki üzerinde (b) göstermiş olduğu belirtiler (Anonim, 2019d,e)



Şekil 1.4. *S. sclerotiorum* hastalık etmeninin hıyar bitkisinin gövde (a) ve meyve (b) üzerindeki belirtileri (Onaran ve Yanar, 2009).

Dünya’da domates üretim alanlarında görülen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* önemli bir bakteriyel etmendir (Gleason ve ark., 1993). *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* (Şekil 1.5) Dünya’da ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri’nin Michigan eyaletinde gözlemlenmiştir. 1945’de Doğu Afrika’da %80’lerde, 1960’da

Kuzey Carolina’da %80 üzerinde ve 1962’de Kenya’da %60 oranında kayıplara neden olmuştur. Bu hastalık Amerika Birleşik Devletleri’nin Ontario eyaletinde yıllık yaklaşık olarak %5-10 oranında kayıplara neden olmuştur (Sherf ve Macnab, 1986a). Bu etmen domateslerde bakteriyel kanser ve solgunluğu olarak bilinir. Domates bitkilerinde solgunluk, yapraklarda yanıklık, iletim demetlerinde renklenme, gövdelerde siğil oluşumu ve çatlaklar oluşturmaktadır (Yıldız ve Aysan, 2008). Sistemik olarak yayılım gösteren *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* hastalık etmeni genel olarak enfekteli tohumlarla, hastalıklı bitki artıklarıyla ve bulaşık topraklarla bir dahaki sezonda büyük kayıplara neden olmaktadır (Belgüzar, 2014).

Pseudomonas syringae pv. *tomato* (Şekil 1.6) etmeninin dünyada ilk olarak görülmesi ve yayılması aynı zamanda olmuştur. Bu hastalık etmeninin ilk görüldüğü yıllarda ekolojisi ve epidemiolojisi hakkında fazla bilgi olmadığından dolayı patojenin tarlada ilk çıkışı ve yayılışının tohumla olduğu düşünülmüştür. Fakat o yıllarda çalışmaların az olmasından dolayı ve tohum testlerinin olmaması nedeniyle *P. syringae* pv. *tomato*’nun tohumdan kaynaklandığı saptanmıştır (McCarter ve ark., 1983).

Ülkemizde domates yetiştiriciliğinin giderek çoğalması ve çok sayıda domates çeşidinin ülkemize girmesinden dolayı 1960’lı yıllardan itibaren *P. syringae* pv. *tomato* patojeninde de bir artış görülmüştür (Öktem, 1985). Patojenin etkili olduğu bir domates serasında yaklaşık %12-23 oranında verimde bir azalma görülmüştür (Aysan ve ark., 2005).

Bu patojen; bitkinin meyve, yaprak, çiçek, gövde ve toprak üstü bütün aksamında hastalık belirtisi göstermektedir. Hastalık yapraklarda sarı bir hale ile çevrili koyu kahverengi veya siyah lekeler oluşturarak yaprağın kurummasına neden olmakta, yan dallar ve gövdedeki lekeler uzunlamasına siyah-kahverengi renk almaktadır. Eğer ilk çiçeklerde hastalık görülürse meyve tutumunu engelleyeceğinden verim kayıplarına neden olmaktadır (Sherf ve Macnab, 1986b).



Şekil 1.5. *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* hastalık etmeninin bitki (a) ve meyve (b) üzerinde belirtileri (Anonim, 2016g)



Şekil 1.6. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* hastalık etmeninin yaprak (a) ve meyve (b) üzerinde belirtileri (Anonim, 2019h)

Bu çalışma ile kültür bitkilerinde yoğun şekilde zarara neden olan fungus türlerinden *F. oxysporium* f. sp. *melonis* ve *S. sclerotiorum*, bakteri türlerinden *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *P. syringae* pv. *tomato* türlerine karşı *S. cryptantha*'dan elde edilen uçucu yağ ve ekstraktların *in vitro* ve *in vivo* koşullarda antifungal, antibakteriyel aktiviteleri ve uçucu yağ kompozisyonu araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitkiler, patojenlerin saldırılarına karşı bazı savunma mekanizmalarına sahiptirler. Bu savunma mekanizmaları ile bitki içeriğindeki enzimsel faaliyetler sonucunda antimikrobiyal maddeler (fitoantisipin ve fitoaleksinler) salgılanmakta ve bitki dışarıdan gelebilecek tehditlere karşı tepki gösterebilmektedir. Günümüzde, bitkilerin bünyelerinde bulunan bu antimikrobiyal maddeler farklı organik çözücüler kullanılarak ekstraktları elde edilmekte ve etkinliklerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmalar, patojenlerin mücadelesinde kullanılacak yeni alternatif maddelerin bulunmasına olanak sağlamaktadır. Bu tez çalışmasında ise, *Salvia cryptantha* bitkisinden elde edilen uçucu yağ ve metanol ekstraktının *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında antimikrobiyal etkinlikleri ve kimyasal kompozisyonu belirlenmiştir. Bu ve buna benzer birçok araştırma mevcuttur. Bunlar;

Yapılan bir çalışmada, Ege Bölgesi'nde doğal olarak yetişen bazı tek ve çok yıllık bitkiler ile kültür bitkilerinin yapraklarından hazırladıkları su ekstraktlarının bitkide sorun oluşturan fungal patojenlerden *Alternaria alternata*, *A. solani*, *Drechslera sorankiniana* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı *in vitro* koşullarda antifungal etkileri araştırılmıştır. Bu araştırmada fungal hastalıkların spor çimlenmesi, sporlasyon yoğunluğu ve koloni gelişimi etkisine bakılmıştır. Spor çimlenmesi ve patojen koloni gelişimine karşı en etkili bitki türünün *Hedera helix*'den elde edilen yaprak ekstraktının olduğu belirlenmiştir. Bunu takip eden *Datura stramonium* olmuştur. Patojenlerin koloni oluşturması *Ficus caria* ve *Avena sativa* ekstraktları tarafından engellenmiştir. *D. stramonium*, *F. caria*, *A. sativa*, *Xanthium strumarium* ve *Nicotiana tabacum* ekstraktları patojenlerin sporlasyon yoğunluklarını %12-82 arasında değişen oranlarda engellemişlerdir (Türküsay ve Onoğur, 1998).

Origanum vulgare, *Thymus vulgare*, *Dictamnus albus*, *Origanum majorana*, *Lavandula officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* ve *Mentha pulegium* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların, *B. cinerea*, *Fusarium* sp. ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bitki patojenlerine karşı etkilerini araştırmışlardır. Bu bitkilerin uçucu yağ bileşenlerinin GS-MS ile analizleri yapılmıştır. *O. vulgare*, *T.*

vulgare, *D. albus* ve *O. majorana* uçucu yağlarının düşük konsantrasyonları (85-300 µg/ml) *B. cinerea*, *Fusarium* sp. ve *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* patojenlerini tamamen engellemiştir. *L. officinalis*, *R. officinalis*, *S. officinalis* ve *M. pulegium* bitkilerinin uçucu yağlarında ise daha az engelleme olduğu belirtilmiştir (Daferera ve ark., 2003).

Coriandrum sativum ve *Foeniculum vulgare* bitkisinin meyvelerinden elde edilen uçucu yağlar, *Escherichia coli* ve *Bacillus megaterium* hastalık etmenlerine karşı antibakteriyel aktivite için *in vitro* koşullarda test edilmiştir. Agar difüzyon yöntemi kullanılarak yürütülmüş olan bu çalışmada, önemli bakteriyel etki *C. sativum* uçucu yağında görülürken *F. vulgare*'nin uçucu yağında çok az bir etki görülmüştür. Sonuç olarak, *C. sativum* ve *F. vulgare* uçucu yağlarının, bitkilerin bakteriyel hastalıklarının kontrolü ve tohum tedavisinde faydalı doğal bakterisitler olarak kullanılabilceği kanısına varılmıştır (Lo Cantore ve ark., 2004).

Kekik (*Thymus vulgaris*), bergamot (*Citrus bergamia*), sarımsak (*Allium sativum*), karabaş, (*L. stoechas*), karanfil (*Caryophyllus aromaticum*) ve okaliptüs (*Eucalyptus globus*) uçucu yağlarının farklı uygulama, doz ve sürelerde *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye karşı antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Yapılan araştırmada disk ve süspansiyona karıştırma yöntemleri uygulanmış ve uçucu yağ dozu arttıkça antibakteriyel etkinin de arttığı gözlemlenmiştir. Bu uçucu yağlar farklı zamanlarda uygulanmış ve 24 saat sonra yapılan ekimlerde bakteri popülasyonunda değişiklik görülmemiştir. 0, 1, 3 ve 6 saat sonra yapılan ekimlerde ise bakteri popülasyonlarında önemli bir azalma görülmüştür. Bu bitkilerden kekik uçucu yağının antibakteriyel aktivitesinin en yüksek olduğu belirlenmiş ve diğer bitkilerin uçucu yağlarının da patojene karşı etkili olduğu görülmüştür (Öksel, 2004).

Koçak ve Boyraz (2006), yaptıkları bir çalışmada, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria mali*, *Botrytis cinerea* ve *Colletotrichum circinans* bitki fungal hastalıklarına karşı yavşan (*Artemisia* sp.), kekik (*T. vulgaris*), okaliptüs (*Eucalyptus* sp.), kimyon (*Cuminum cymimum* L.), ardıç (*Juniperus communis* L.), nane (*M. piperita* L.) ve çörtük (*Echinophora tenuifolia* L.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların antifungal aktivitelerini araştırmışlardır. Belirlenen dozlar 1, 10 ve 50 µl olarak uygulanmışlardır. 1 µl'lik dozlarda herhangi bir etki gözlemlenmemiş fakat bazı fungal hastalıklardan *F.*

oxysporum, *B. cinerea* ve *C. circinans* 'a karşı çok az düzeyde antifungal etki görüldüğünü belirtmişlerdir. Ardiç ve çörtük uçucu yağları hariç diğer uçucu yağların 10 µl ve 50µl dozlarında fungusların miselyumlarını tamamen engellediği görülmüştür. Bitkilerin uçucu yağlarının patojenlerin miselyum gelişimlerini engelleme oranları en yüksekten en düşüğe doğru kekik, nane, kimyon, okaliptüs, ardiç ve çörtük olarak bulmuşlardır.

Yapılan başka bir çalışmada, dağ kekiği (*Origanum syriacum* var. *bevanii*) ve rezene (*Foeniculum vulgare*) uçucu yağlarının antifungal etkileri *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı değerlendirilmiştir. Yapılan denemede *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Petri kaplarının üst kapağına yapıştırılan steril kurutma kağıtlarına 0.1, 0.15, 0.2, 0.25 ve 0.3 µg/ml konsantrasyonlarda uçucu yağlar eklenmiş ve bu yağların etkileri gözlemlenmiştir. Bu çalışma 7 gün sonunda değerlendirilmeye alınmıştır. Her iki uçucu yağın, *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimini doza bağlı bir şekilde engellediği bulunmuştur. Rezene uçucu yağının *S. sclerotiorum*'a karşı hem uçucu hem de temas etki çalışmalarında kekik uçucu yağından daha fazla engelleyici olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, araştırmacılar kekik ve rezene uçucu yağlarının fitopatojenik funguslara karşı biyo-fungisit olarak kullanılabilceği sonucuna varmışlardır (Soylu ve ark., 2007).

Bazı önemli fungal hastalıklardan *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum capsici*, *Phytophthora capsici* ve *Rhizoctonia solani* 'ye karşı kullanılan Melisa (*Cestrum nocturnum*) uçucu yağının antifungal etkisi araştırılmıştır. Minimum engelleme oranlarının %62.5 ile 500 µg/ml arasında olduğu ve miselyum gelişim engelleme oranlarının %59.2-80.6 arasında olduğu bulunmuştur. Konsantrasyona bağlı olarak uçucu yağın tüm funguslarda spor çimlenmesine bağlı olarak önemli derecede etki ettiği belirlenmiştir. *In vivo* çalışması olarak seralarda yetiştirilen biber bitkilerinde uçucu yağın %82.4-100 arasında antifungal etki oluşturduğu gözlemlenmiştir (Al-Reza ve ark., 2010).

Aktarlarda ticari olarak satılan *Teucrium polium* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağının antifungal ve herbisidal aktiviteleri ve kimyasal içeriği belirlenmiştir. *T. polium* L. uçucu yağının *F. oxysporum* ve *A. solani* fungal patojenlerine karşı *in vitro* çalışması yapılmıştır. Yapılan çalışmada 0 (Kontrol), 125, 250 ve 500 ppm oranlarında uçucu yağ

dozları kullanılmıştır. 7 gün gelişmeleri izlendikten sonra miselyum gelişmeleri kumpas ile ölçülerek kontrol ile karşılaştırması yapılmıştır. Peryavşanı uçucu yağının *A. solani*'nin miselyum gelişimini az da olsa engellediği gözlemlense de antifungal aktivitesinin yeterli düzeyde olmadığı saptanmıştır (Özcan ve ark., 2013).

Salvia cryptantha ve *Salvia multicaulis*'in uçucu yağları ve metanolik ekstraktları potansiyel antimikrobiyal ve radikal süpürücü aktiviteleri açısından incelenmiştir. Ekstraktların polar ve polar olmayan alt fraksiyonları test edildiğinde hafif aktivite gözlemlenirken, uçucu yağların antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. *S.cryptantha* ve *S.multicaulis*'den elde edilen uçucu yağlar, GC-MS ile analiz edilmiş ve sırasıyla 53 ve 47 bileşen tanımlanmıştır. Ekstraktların polar ve polar olmayan alt fraksiyonları ve uçucu yağın antioksidan aktiviteleri, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), hidroksil radikal temizleme ve lipidperoksidasyon analizleri kullanılarak incelenmiştir. Özellikle uçucu yağlar ve methanol ekstraktlarının polar olmayan alt bölümleri, antioksidan aktivite göstermiştir. Sonuçlar *S. cryptantha* ve *S. multicaulis* yağlarının serbest radikalleri süpürme ve patojenik mikroorganizmaların büyümesini engelleme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Bu nedenle gıda endüstrisinde antimikrobiyal ve anti-oksidatif ajanlar olarak kullanılmaya uygun olduğu bulunmuştur (Tepe ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada, *Fusarium spp.* ve *Rhizoctonia solani* (AG4) patojenlerine karşı kekik (*Thymus vulgaris* L.), nane (*Mentha piperita* L.) ve lavanta (*Lavendula angustifolia* Mill.) bitkilerinin uçucu yağları ve su ekstraktlarının antifungal aktivitesini belirlemek için *in vitro* koşullarda yapılan çalışmada su ekstraktlarının konsantrasyonu %0.5, %1, %2, %4 ve %8 dozunda ve uçucu yağlar ise 1, 2, 3, 5 ve 10 µl/ml dozunda ayarlanmıştır. Çalışma sonucunda % engelleme oranları hesaplanmıştır. Bu çalışmada kekik, nane ve lavanta uçucu yağlarının antifungal etkisi bitki ekstraktlarına göre daha yüksek olmuştur. Bu bitkilerin ekstraktları *Fusarium spp.* ve *R. solani*'nin misel gelişimlerini farklı oranlarda engellemiştir. Fungi-toksik etki kekik ekstraktının %8 dozunda en yüksek olarak saptanmıştır. Kekik uçucu yağının bütün dozlarında %100 fungisidal etki gözlemlenmiştir. Lavanta ve nane uçucu yağlarının fungisidal etkisi doza ve patojene bağlı olarak değişmekle birlikte birbirlerine çok yakın sonuçlar vermiştir (Erdoğan ve ark., 2014).

Tohum endüstrisini tehdit eden en önemli patojenlerden birisi de domateste bakteriyel kanser ve solgunluk oluşturan *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*)'dir. Bu hastalık tarlalarda %100 verim kayıplarına neden olabilmektedir. Bir çalışmada *Cmm* patojenine karşı ticari olarak üretilen içerisinde *Salvia officinalis* L.'inde bulunduğu 34 bitkinin 18 tanesinin agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak uçucu yağların antibakteriyel etkisine ve inhibisyon çaplarına (mm) bakılarak etkilerini belirlenmişlerdir. Denemede, 100 ml NA (Nutrient Agar) besi yerine 1 ml bakteri süspansiyonu (1×10^8 CFU/ml, yoğunlukta) olacak şekilde karıştırılıp petrilere dökülmüştür. Uçucu yağların dozunun belirlenmesi için yapılmış olan çalışmaların sonuçları ve kullanılacak olan dozun ekonomik olarak uygulanabilir bir doz olması kriterleri dikkate alınarak belirlemişlerdir. Her bir uçucu yağın dozu 1000 ppm olacak şekilde uygulanmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda 18 adet uçucu yağın %67 ve üzerinde antibakteriyel etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Adaçayı ise %58,3 oranında antibakteriyel etki göstermiştir (Yılmaz ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada, Mersin ilinden toplanan kekik (*Thymus vulgaris* L.) bitkisinden elde edilen uçucu yağın ve su ekstraktının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* patojeni üzerindeki antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. *In vitro* koşullarda yapılan çalışmada su ekstrakt konsantrasyonu %0.5, %1, %2, %4 ve %8 olarak belirlenmiştir. Ekstraktlar PAF (Pseudomonas Agar F) besi yerine eklenmiştir. 10^6 hücre/ml konsantrasyonda hazırlanan *Cmm* solüsyonunun besi ortamına ekimi yapılmıştır. Uçucu yağ çalışmasında petri kapağına yapıştırılan kurutma kâğıdına emdirme, besi yerine katılması ve agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle 3 farklı şekilde denemeler kurularak 5, 10, 15 ve 20 µl/ml dozlarında uygulamışlardır. Uçucu yağ ve ekstrakt içermeyen kontrol grubunda PSF besi yeri kullanmışlardır. İnkübasyon süresi 28 °C'de 3 gün olarak belirlenmiş ve sonunda ekstrakt çalışmasında koloni sayımı, uçucu yağda ise inhibisyon zon ölçümü ve koloni sayımı yapmışlardır. Çalışma sonunda *T. vulgaris* ekstraktlarının doz artışına paralel olarak *Cmm* koloni sayımının azaldığı %8'lik konsantrasyonda ise *Cmm*'nin gelişiminin tamamen engellendiği gözlemlenmiştir. Petri kabının kapağına yapıştırılmış kurutma kâğıtlarına uçucu yağın emdirilmesinin en etkili yöntem olduğu belirtmişlerdir. 20 µl/ml'lik dozun *Cmm*'nin gelişimini %99.39 oranda engellediğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak bu bitkinin ekstrakt ve uçucu yağının antibakteriyel madde olarak kullanılabileceğini bildirilmişlerdir (Belgüzar ve ark., 2016).

Salvia viridis L. (tek yıllık) ve *Salvia cryptantha* (çok yıllık) adaçayı tohumlarının bazı fiziksel özelliklerini belirlemek için bir çalışma yapılmıştır. Bu iki adaçayı türünün tohumlarının geometrik ortalama çap, küresellik, yüzey alanı, yığılma açısı, yağın hacim ağırlığı, prozite değerleri belirlenmiştir. Bu değerler sırasıyla; 1.69 mm ve 2.96 mm; % 62.90 ve % 84.06; 9.00 ve 27.53 mm² ; 14.09° ve 14.33°; 587.25 ve 718.08 kg m⁻³ ; % 10.27 ve % 33.22 olarak bulunmuştur. *S. cryptantha* adaçayı çeşidine ait tohumların laminant, kontrplak, lastik ve galvaniz sac sürtünme yüzeylerindeki sürtünme katsayısı değerleri sırasıyla; 0.48, 0.96, 0.64 ve 0.60 olarak belirlenmiştir (Yılar ve Altuntaş, 2017).

Başer ve ark., (1995) yaptıkları çalışmalarında, *S. cryptantha*'nın buhar-su distilasyonunun uçucu yağının GC ve GC/MS ile analizi yapılmıştır. Uçucu yağdaki başlıca bileşenlerin 1,8-cineole (% 15.69-37.12), kafur (% 5.95-13.04), a-plnene (% 1.00-11.93) ve camfen (% 0.89-7.71) olduğu bulunmuştur.

Akgül ve ark. (1999), yaptıkları bir çalışmada *S. cryptantha*, *Satureja cuneifolia*, *Tymbra spicata* ve *Thymus cilicicus* bitkilerinin çiçekli ve çiçeksiz bölümlerinden hidrodistilasyon yöntemiyle elde ettikleri uçucu yağların GC ve GC/MS ile analizlerini yapmışlardır. *S. cryptantha* uçucu yağında toplamda 54 bileşen olmak üzere; camphor (%18.1), 1,8-cineole [eucalyptol] (%17.8) ve bornyl acetate (%11.4) temel bileşenler olarak belirlenmiştir.

S. cryptantha yaprak ve çiçekleri serin havada kurutulmuş ve uçucu yağları elde edilmiştir. Türkiye'de yetişen *S. cryptantha*'nın hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen yağlarının bileşimi GC ve GC/MS ile analiz edilmiştir. Yağın % 98.5'ine karşılık gelen en az 16 bileşen izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Başlıca bileşikler kafur (% 25.6), 1,8-cineole (% 20.3), β-pinen (% 12.8), n-heksan (% 10.6), heptan (%8.9), borneol (%5.1) ve a-pinen (% 4.1) olarak bulunmuştur. Yağlar monoterpenik hidrokarbonlar ve oksijenli monoterpenlerden oluşmaktadır (Saadia ve ark., 2010).

Ülkemizde endemik olarak bulunan *S. cryptantha* adaçayının toprak üstü aksamı ve çiçek kısımlarından hidrodistilasyon yoluyla elde edilen uçucu yağların GC-MS ile analizleri yapılmıştır. Adaçayının uçucu yağ oranı toprak üstü aksamında %1.44 ve çiçekte ise %0.4 olarak bulunmuştur. Bu adaçayının her iki kısmında 1,8-cineole (%36.28 ve %30.38), valencene (%26.53 ve %24.34) ve camphor (%14.72 ve %12.29) gibi önemli birleşenler

olmak üzere toplam 10 (toprak üstü aksamı) ve 13 (çiçek) bileşen tanımlanmıştır (Bingöl ve ark., 2009).

Doğal koşullarda ve tarlada yetişen *S. cryptantha* bitkisinin toprak üstü aksamından hidrodistilasyon yoluyla elde edilen uçucu yağ GC-MS yöntemi ile analiz edilmiş ve B-pinene (%15.63), Eucalyptol (%23.61) ve Valencene (%31.80) temel bileşenler olarak bulunmuştur (İpek ve ark., 2012).

Başka bir çalışmada ise, Türkiye’de endemik olarak bulunan *Salvia cryptantha*’nın uçucu yağ kompozisyonu analizi yapılmıştır. Bu bitkinin nitel ve nicel uçucu yağ içeriği incelenerek birbirleriyle karşılaştırması yapılmıştır. Uçucu yağın içeriği su damıtma yöntemiyle belirlenerek, GC ve GC-MS ile analizi yapılmıştır. *S. cryptantha*’nın uçucu yağ içeriğinin %98.7’sini 63 bileşenin oluşturduğu görülmüştür. Temel bileşenler 1,8-cineol (%21), kamfen (%8.7), α -pinen (%12.5) ve kafur (%19.1) olarak belirlenmiştir (Doğan ve ark., 2017).

Batı Azerbaycan’da kendiliğinden gelişen 9 farklı *Salvia* türünün yapraklarından elde edilen ekstraktların fenolik bileşikleri kromatografi ile ayrılmış ve toplam fenolik miktarı belirlenmiştir. Fenolik spotların dağılımlarına göre türler arasındaki ilişki, eşleme katsayısı ve benzerlik katsayıları hesaplanmış ve bu katsayılar dikkate alınarak türler iki grupta kategorize edilmiştir. Fenolik bileşiklerin toplam içeriklerinin bu türleri ayırt etmede önemli faktör olabileceği belirtilmiştir (Habibvash ve ark., 2007).

Bayrak ve Akgül (1987), bazı *Salvia* türlerinin uçucu yağ bileşenlerini incelemişlerdir. Bu türlerde uçucu yağ oranı ve ana bileşeni sırasıyla; *S. candidissima*’da % .6 - β pinene, *S. cryptantha*’da % G.6 - borneol, *S. fruticosa* ’da % 2.8 - 1,8-cineole, *S. tomentosa* ’da % G.3 - β pinene, *S. officinalis* ’de % 1.6 camphor tespit etmişlerdir. *Salvia officinalis* L. türünde % 3.5 α -pinene, % 1.8 β -pinene, % 5 cineol, % 20.6 athujone, % 15.1 β -thujone, % 22.9 camphor, % 2.6 bornylacetat, % 7.9 borneol, % 4.1 β coryophyllen bileşenleri olduğunu bildirmektedirler.

Demirci ve ark. (2002), bazı *Salvia* türleri içerisindeki uçucu yağ miktarı ve ana bileşenlerin dağılışı üzerine kapsamlı bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada türlerin

uçucu yağ oranları yanında, bunların camphor, borneol, linalool, limonene, α -pinene ve β -pinene içerikleri ayrıntılı incelenmiştir. Türkiye'nin değişik yerlerinden toplanan içerisinde *S. cryptantha*'nın da bulunduğu sekizi endemik olan toplamda 19 *Salvia* türlerinin uçucu yağları bu çalışmada kapsamlı olarak incelenmiştir. Hatay içinde endemik bir tür olan *S. aucheri* (endemik) türü Karaman, Ermenek, Mut yöresinden toplanmıştır. Bu türde uçucu yağ oranı % 0.7, ana bileşenlerden olan camphor miktarı ise % 5.9-94.1 arasında değişmiştir.

Yapılan bir çalışmada *S. cryptantha* ve *S. multicaulis*'in uçucu yağ ve metanolik ekstraktları antimikrobiyal ve antioksidatif aktiviteleri açısından incelenmiştir. *S. cryptantha* ve *S. multicaulis*'ten izole edilen uçucu yağların GC-MS ile analizi yapılmış ve sırasıyla 53 ve 47 adet bileşen bulunmuştur. *S. cryptantha* uçucu yağında belirlenen ana bileşenler α -Pinene (%18.1), eucalyptol (%15.3), camphor (%7.7), camphene (%6.4) ve borneol (%4.8) olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, *S. cryptantha* ve *S. multicaulis* uçucu yağlarının serbest radikalleri temizleme ve patojenik mikroorganizmaların gelişimini önleme kapasitesine sahip olduğunu belirtmişlerdir (Tepe ve ark., 2004).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyalleri

Salvia cryptantha türü, 2018 yılı Mayıs-Eylül ayları arasında çiçeklenme dönemi boyunca Kırşehir İl'inden toplanmıştır. Toplanan bitkilerin kısımları Kırşehir Ahi Evran, Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümünde uçucu yağı elde edilmiştir. Ekstrakt elde etmek için kullanılacak bitkiler ise, steril saf suyla yıkanarak, oda sıcaklığında gölgede kurutulmuştur. Çalışmanın bundan sonraki kısmında bu bitki materyalleri kullanılmıştır.

3.1.2. Fungus ve bakteri kültürleri

Çalışmada kullanılan bitki patojeni fungus (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* ve *Sclerotium sclerotiorum*) ve bakteri (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) türleri Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji laboratuvarlarında bulunan stok kültürlerden elde edilmiştir.

3.2.Yöntem

3.2.1. Uçucu yağların ekstraksiyonu

Bitkilerinin uçucu yağları, Schilcher cihazı ile hydro-distilasyon yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Tartılan bitki örneklerine saf su ilave edilmiş (1:10 w/v) ve 2 saat süre ile kaynatılmıştır. Elde edilen uçucu yağlar denemelerde kullanılana kadar +4°C de muhafaza edilmiştir (Telci ve ark., 2006).

3.2.2. Bitki ekstraktının hazırlanması

Öğütülmüş bitki materyali 100 gr tartılarak 1 litrelik cam kavanozlara konulmuş ve üzerini kapatacak kadar metanol organik çözücüsü ilave edilmiştir. 72 saat oda

sıcaklığında orbital çalkalayıcıda 120 rpm de karıştırılmıştır. Daha sonra elde edilen ekstrakt filtre kâğıdından geçirilmiştir. Çözücü, ratory evaporator ile 40 °C de evapore edilerek uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan kuru ekstrakt %10 sulu aseton ile çözülerek, çalışmamızda kullanılmak üzere farklı konsantrasyonlar elde edilmiştir (Kalkışım, 2012).

3.2.3. *In Vitro* antifungal aktivite çalışmaları

Hazırlanan Potato Dextrose Agar PDA besi yeri otoklav edilerek 40 °C'ye kadar soğutulmuştur. Daha sonra, ekstraktın farklı konsantrasyonları 5, 10, 20, 40 ug/ml dozunda olacak şekilde PDA besi yerine eklenerek 90 mm çaplı petri kaplarına (20 ml olacak şekilde) aktarılmıştır. Bitki ekstraktı ilave edilmiş PDA besi yeri 12 saat bekletilerek, daha sonra hastalık etmenlerinin ekimi yapılmıştır. Funguslarda 5 mm çapındaki miselyum disklerinin petri kabının merkezine inokulasyonu yapılmış ve bu fungus kültürleri 24±2°C'de 7 gün boyunca inkübasyona tabi tutulmuştur.

Uçucu yağ için, PDA aktarılmış petri kaplarının kapaklarına 5 mm çapında steril filtre kağıdı yapıştırılmıştır. Petri kaplarına 7 günlük fungus kültürlerinden alınan 5 mm çapında miselyum disklerinin inokulasyonu yapılmıştır. Petri kaplarının kapaklarına yapıştırılan filtre kağıtlarına uçucu yağlar 1, 2, 5, 10 ve 20 µl dozda mikropipetle uygulanmıştır (Hadizadeh ve ark., 2009). Fungus kültürleri 24±2°C'de 7 gün boyunca, inkübasyona bırakılmıştır.

Denemeler 4 tekerrürlü ve 2 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Kontrol grubundaki gelişmelere bakılarak uygulama yapılan petrilere gelişim engelleme oranları ölçülmüştür (Pandey ve ark., 1982, Onaran ve Yılar 2012). Pandey ve ark. (1982)'na göre gelişimdeki engelleme kontroldeki gelişime kıyaslanarak yüzde miselyum gelişimi hesaplanmıştır.

Yüzde miselyum gelişmesi şu formüle göre hesaplanmıştır (Pandey ve ark., 1982).

$$MGI=100\times(dc-dt)/dc$$

MGI; Miselyum gelişim engellemesi

dc; Kontroldeki miselyum gelişmesi

dt; Davranışlardaki miselyum gelişmesi

3.2.4. *In vitro* antibakteriyel aktivite çalışmaları

Salvia cryptantha bitkisinden elde edilen bitki ekstraktının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* bitki patojeni bakterilere karşı etkilerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada besi yeri olarak Tryptic Soy Agar (TSA) besi yeri kullanılmıştır. Otoklav edilerek 40 °C'ye kadar soğutulan besi yerlerine son konsantrasyon 2.5, 5 10, 20 ug/ml dozlarında olacak şekilde bitki ekstraktı eklenmiştir. Hazırlanan ekstraktlı besi yerleri 90 mm çaplı petri kaplarına (20 ml olacak şekilde) aktarılmıştır. 48 saatlik patojen bakteri kültürlerinden saline buffer (tuzlu su) içerisinde hazırlanan süspansiyonlar spektrofotometrede 600 nm'de 0.2 absorbans değerine ayarlanmıştır. Bakteri süspansiyonlarından mikropipet yardımıyla 100 µl alınarak bitki ekstraktı ilaveli besi yerlerine steril cam baget ile yayma ekim yapılmıştır. Kontrol olarak ekstrakt ilave edilmemiş besi yerlerine patojen bakterilerin yayma ekimi yapılmıştır. Uygulama yapılan petriyerler 27±2°C'de *Cmm* için 3 gün ve *Pst* için 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi bitiminde petriyerlerde gelişen bakteri kolonileri toplanarak spektrofotometrede 600 nm'de ölçülerek bakteri yoğunlukları belirlenmiştir. Çalışma 4 tekerrürlü olarak kurulmuş olup, 2 kez tekrarlanmıştır.

Salvia cryptantha bitkisinden elde edilen uçucu yağın *Cmm* ve *Pst* üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada ise, ekstrakt çalışmasında olduğu gibi, 48 saatlik *Cmm* ve *Pst* kültürlerinden hazırlanan süspansiyonlar spektrofotometrede 600 nm'de 0.2 absorbans değerine ayarlanmıştır. Süspansiyonlardan 100 µl alınarak TSA besi yerlerine steril cam baget ile yayma ekim yapılmıştır. Bakteri ekiminden sonra petri kaplarının kapaklarına yapıştırılan 5 mm çapındaki steril filtre kağıdına mikropipet ile uçucu yağ uygulanmıştır (Hadizadeh ve ark., 2009). Çalışmada steril filtre kağıdına uçucu yağın 1, 2, 5, 10 ve 20 µl dozları uygulanmıştır. Kontrol olarak uçucu yağ uygulaması yapılmaksızın TSA besi yerine bakterilerin ekimi yapılmıştır. Uygulama yapılan petriyerler 27±2°C'de *Cmm* için 3 gün ve *Pst* için 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi bitiminde petriyerlerde gelişen bakteri kolonileri toplanarak spektrofotometrede 600 nm'de ölçülerek bakteri yoğunlukları belirlenmiştir. Çalışma 4 tekerrürlü olarak kurulmuş olup, 2 kez tekrarlanmıştır.

Kontrol grubundaki bakteri koloni gelişimine göre uygulama yapılan petrielerde ekstrakt ve uçucu yağın patojen bakteriler üzerindeki engelleme oranları belirlenmiştir (Vyas ve ark., 2006).

$$\% \text{ Engelleme} = (BC-BT)/BC \times 100$$

BC; Kontroldeki bakteri yoğunluğu (hücre/ml)

BT; Davranışlardaki bakteri yoğunluğu (hücre/ml)

3.2.5. *In Vivo* antifungal aktivite çalışmaları

In vitro çalışmalarda test organizmalarına karşı en yüksek etkiyi gösteren uçucu yağ ve ekstrakt dozlarının *in vivo* denemelerde kullanılmıştır. *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM) bitki patojenleri PDA besi yeri üzerinde 7 gün boyunca 22 ± 2 °C’de geliştirilmiştir. Daha sonra, hıyar ve kavun meyveleri yüzey sterilizasyonu için %2’lik NaOCl (Sodyum Hipoklorit) içerisinde 5dk bekletildikten sonra steril saf sudan geçirilmiştir ve sonrasında laminar flow kabin içinde kurutma kağıdı üzerinde kurumaya bırakılmıştır. Sonrasında hastalık etmenlerine sırasıyla inokulasyon işlemleri yapılmıştır. *S. sclerotiorum* inokulasyonu için hıyar meyvesi kullanılmıştır. Ji ve ark. (2013)’na göre yapılan uygulamalar modifiye edilerek uygulanmıştır. Buna göre; Her bir meyveye 2 adet 8 mm çapında (Cork Borer ile) kuyucuklar açılmıştır. Bu kuyucuklara her bir ekstrakt ve uçucu yağ dozundan 100 µL uygulama yapılmıştır. Daha sonra kuyucuklara test organizmalarına ait 8 mm çapında miselyum diskler yerleştirilmiştir. FOM bitki patojeni içinde aynı uygulamalar kavun meyvesi üzerinde gerçekleştirilmiştir. 10 gün sonra test mikroorganizmalarının meyve yüzeyinde oluşturdukları belirtilerin yarıçapları ölçülmüştür. Fungal patojenler 8 saat karanlık 16 saat aydınlıkta 22 ± 2 °C sıcaklık ve 75-90% nemde inkubasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.1. *In vivo* koşullar altında kavun ve hıyar meyvesi üzerinde FOM ve SS ve patojenine karşı uçucu yağ ve ekstrakt uygulanması

3.2.6. *In vivo* antibakteriyel aktivite çalışmaları

In vitro çalışmalarda test organizmalarına karşı en yüksek etkiyi gösteren uçucu yağ ve ekstrakt dozları ile *in vivo* denemeler yürütülmüştür. Çalışmada Alsancak RN F1 çeşidi domates fidesi kullanılmıştır. Çalışmada 48 saat geliştirilen *Cmm* ve *Pst* kültürleri spektrofotometrede 600 nm’de 0.2 absorbans değerine ayarlanmıştır. *In vivo* çalışmada, bitki ekstrakt ve uçucu yağın *Cmm*’ye olan etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, 10^6 hücre/ml yoğunluğundaki bakteri kültüründen 100 µl alınarak 3-5 yapraklı dönemdeki domates bitkilerinin gövde kabuk altından uygulama yapılmıştır. Bitki ekstrakt ve uçucu yağın *Pst*’ye olan etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada ise, 10^6 hücre/ml yoğunluğundaki bakteri kültürü bitkilere bir el pülverizatörü ile spray edilmiştir. İnokulasyon işleminden sonra bitkiler bir gün boyunca nem çemberine alınmıştır. Nem çemberinden çıkarılan bitkilere uygulamadan 24 saat sonra *in vitro* çalışmalarda yüksek etkiye sahip uçucu yağ ve ekstrakt dozları uygulanmıştır. Pozitif kontrol bitkilerine *Pst* ve *Cmm* patojen bakteri uygulaması, negatif kontrol bitkilerine ise saf su uygulaması yapılmıştır. İklim odasında muhafaza edilen bitkilerde günlük kontroller yapılarak pozitif kontrolde hastalık belirtileri takip edilmiştir. Deneme 4 tekrürlü ve 2 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Cmm’nin uygulandığı bitkilerde solgunluk, kanser, yanıklık belirtileri dikkate alınarak hastalık şiddeti Francis ve ark. (2001)’nin belirlediği skalaya göre yapılmıştır. Bitkilerdeki solgun yaprak sayısı, yanıklık ve kanser dokusunun oluşumuna göre skala

değerleri belirlenmiştir. Bitki sağlıklı ise 0, bitki tamamen kurumuş-ölmüş ise 5 olarak değer verilmiştir. Belirtilerin varlığına göre skala değerleri birim düzeyinde artırılmıştır. Hastalık şiddetine ilaveten bitkilerde bitki boyu, iletim demetlerindeki lezyon boyu, nekroz oranı, bitki yaş ve kuru ağırlık, kök yaş ve kuru ağırlık ve kök uzunluğu verileri de alınmıştır.

Pst'nin uygulandığı bitkilerde ise yapraklarda oluşan sararma dikkate alınmıştır. Bitkilerde tüm yaprak sayısı, sararma olan yaprak sayısı alınmıştır. Buna ilaveten bitki boyu, bitki yaş ve kuru ağırlık, kök yaş ve kuru ağırlık ve kök uzunluğu verileri de alınmıştır.



Şekil 3.2. *In vivo* koşullar altında domates bitkisi üzerinde *Cmm* (solda) ve *Pst* (Ortada)'nin bitkilere inokulasyonu ve ekstrakt ve uçucu yağ uygulanması (sağda)

3.2.7. Uçucu yağ kompozisyonunun belirlenmesi

Salvia cryptantha bitkisinden elde edilen 20 mg uçucu yağ 1,2 mL aseton içinde çözülerek analize hazır hale getirilmiştir. Analiz, BPX5 (0,25mm ID, film kalınlığı 0,25 µm) 30 m kapiler kolon ile Perkin Elmer Clarus 500 GC-MS yöntemi ile yürütülmüştür. İnjektion hacmi 1 µL, injeksiyon port sıcaklığı 250 °C olarak belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz olarak 50:1 split oranı ve 1 mL/dakika akış hızı ile helyum kullanılmıştır. Fırın programı; 50 °C'den başlanarak 3 °C/dakika ısıtma hızı ile 210 °C'ye çıkarılmıştır. Toplam program süresi 30 dakika olarak belirlenmiştir.

MS parametreleri; iyonlaştırıcı: EI (elektron impact), iyonlaştırıcı enerjisi: 70 eV, iyon kaynağı sıcaklığı; 250 °C şeklinde ayarlanmıştır.

Bileşenlerin aydınlatılmasında; mevcut standart bileşenlerin kolonda alıkonma süreleri (retention time) ile numune bileşenlerinin alıkonma sürelerinin karşılaştırılması (co-injection), literatürde verilen kovats index ya da retention index (RI) değerlerinin karşılaştırılması ve bileşenlerin spesifik kütle spektrumlarının dijital ortamda mevcut MS kütüphanelerindeki (NIST, Willey ve Pflieger) veriler ile karşılaştırılması ile yapılmıştır.

Bileşenlerin uçucu yağ içindeki göreceli yüzdeleri ise; Turbomass ver 5.4.2 yazılımı ile her bir bileşenin pik alanlarının toplam pik alanına oranının yüz ile çarpılması ile hesaplanmıştır.

3.2.8. Verilerin değerlendirilmesi

Çalışma sonucunda elde edilen veriler, SPSS 16.00 istatistik paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş, ortalamalar arasındaki farklar Duncan testi ile belirlenmiştir. Ayrıca, bitki ekstrakt ve uçucu yağın lethal dozları Polo plus 1.0 programı kullanılarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bitkilerden elde edilen ekstraktların ve uçucu yağların bünyelerinde barındırdıkları kimyasal maddelerin antifungal ve antibakteriyel özellik gösterdiği uzun yıllardan beri bilinmektedir. Doğada bulunan bitki çeşitliliğinin çok fazla olması yeni alternatif maddelerin keşfedilmesine olanak sağlamaktadır. Bu sayede yeni antimikrobiyal etkinliği olan maddelerin açığa çıkarılması ve kullanımının artırılması sağlanmış olacaktır.

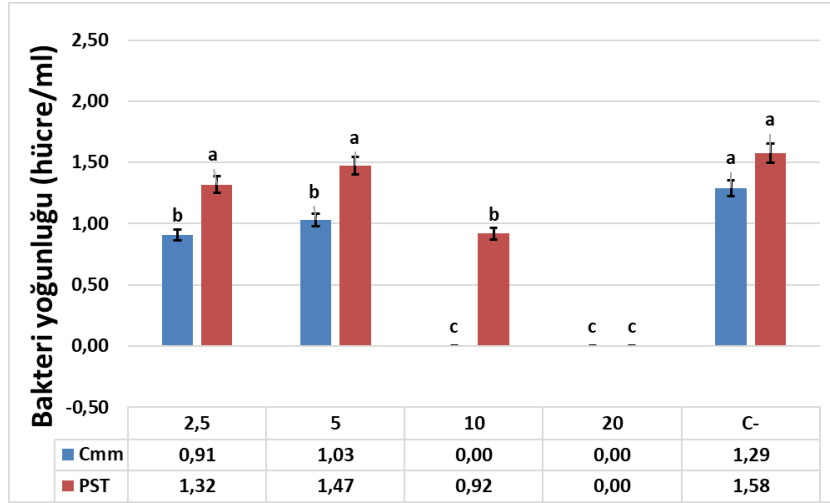
Bu çalışmada, *Salvia cryptantha* bitkisinden elde edilen uçucu yağ ve metanol ekstraktının bitki patojeni bakterilerden *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) patojenlerine karşı, funguslardan ise, *Sclerotinia sclerotiorum* (*SS*) ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (*FOM*) patojenlerine karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. Ayrıca *S. cryptantha*'nın uçucu yağının bileşenleri GC/MS ile belirlenmiştir.

4.1. *In Vitro* koşullar altında antifungal ve antibakteriyel aktivite çalışmaları

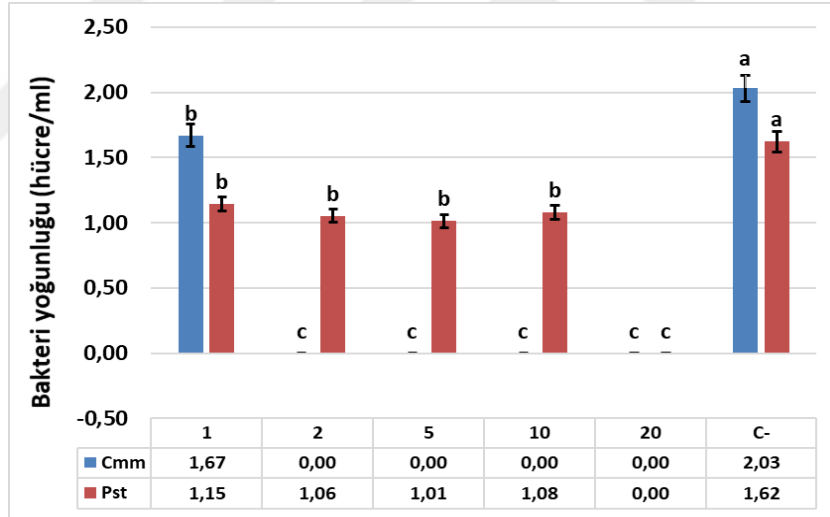
In vitro koşullar altında, Potato Dextrose Agar (PDA) ve Tryptic Soy Agar (TSA) besi yerlerinde geliştirilen fungus ve bakteri kültürlerine karşı *S. cryptantha* bitkisinden elde edilen ekstrakt ve uçucu yağların etkinlik çalışmaları yürütülmüştür.

4.1.1. *In vitro* antibakteriyel aktivite çalışmaları

Antibakteriyel aktivite çalışmalarında, *S. cryptantha* bitkisinden elde edilen ekstrakt ve uçucu yağların *Cmm* ve *Pst* bitki patojeni bakterilere karşı etkinlik çalışmaları yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre istatistiki olarak önemli derece aktivite gözlenmiştir ($p < 0.05$). *Salvia cryptantha* bitkisinin 20 mg/ml'lık ekstrakt uygulamasında *Cmm* ve *Pst*'nin yoğunluğu tamamen engellenmiştir. Bunun yanında en düşük 2,5 mg/ml dozunda ise *Cmm*'de 0,91 hücre/ml, *Pst*'de 1,32 hücre/ml bakteri yoğunluğu ölçülmüştür (Şekil 4.1).



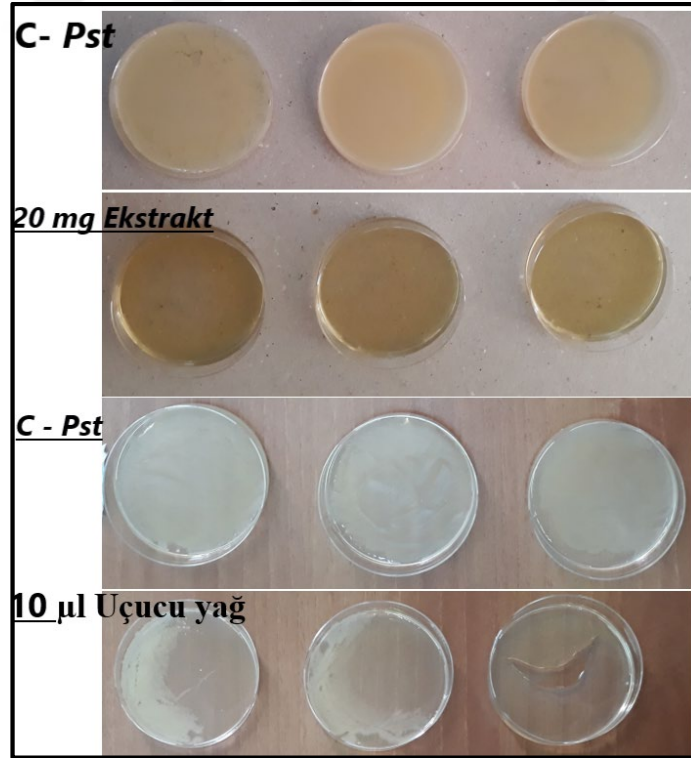
Şekil 4.1. *Salvia cryptantha* ekstraktının *Cmm* ve *Pst* bitki patojeni bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi (Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. Her hastalık etmeni kendi arasında analiz yapılmıştır $p<0.05$).



Şekil 4.2. *Salvia cryptantha* uçucu yağının *Cmm* ve *Pst* bitki patojeni bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi (Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. Her hastalık etmeni kendi arasında analiz yapılmıştır $p<0.05$).

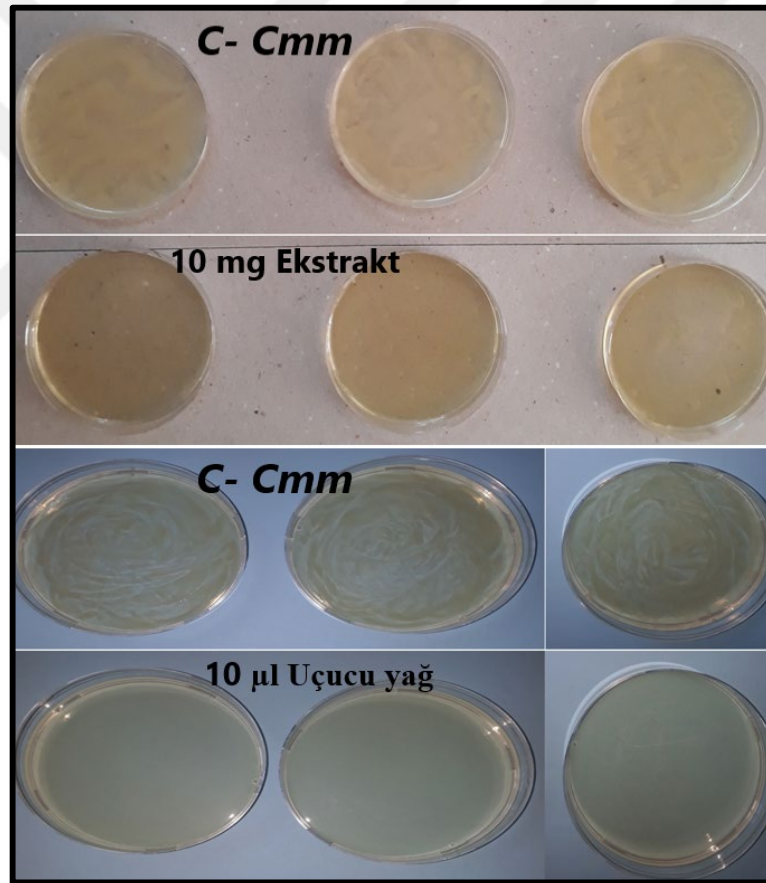
S. cryptantha uçucu yağının *Cmm* ve *Pst* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi ise Şekil 4.2’de verilmiştir. Buna göre, uçucu yağın kullanılan bütün dozlarında bitki patojeni bakterilere karşı önemli düzeyde etki gözlenmiştir. Bu etkiler 2, 5, 10 ve 20 μ l dozlarında *Cmm*’nin gelişimini tamamen engellemiştir. Benzer şekilde *Pst*’ye karşı kullanılan 20 μ l

uçucu yağ dozunda ise gelişimini tamamen engellemiştir. Buna karşın, *Cmm*'nin 1 µl dozunda 1,67 bakteri yoğunluğu ölçülmüştür. *Pst* için ise bu oranlar 1, 2, 5 ve 10 µl dozlarında sırasıyla 1.15, 1.06, 1.01 ve 1.08 olarak ölçülmüştür. Çalışmamıza benzer özellik gösteren yapılan bir araştırmada, Sivas İl'inden toplanan *Salvia cryptantha* ve *Salvia multicaulis* bitkilerinden elde edilen uçucu yağ ve metanol ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal (antifungal ve antibakteriyel) etkileri belirlenmiştir. Çalışmada *S. cryptantha* ekstraktlarının *St. pneumoniae* ve *C. albicans*'a karşı orta derecede aktivite gösterirken, buna karşın *S. multicaulis* ekstraktı ise *S. pneumoniae*, *B. cereus*, *S. aureus*, *M. catarrhalis*, *C. perfringens* ve *C. albicans*'a karşı daha geniş aktivite sergilemiştir (Tepe ve ark., 2004). Uçucu yağın aktivitesi ekstraktlardan daha etkili bulunmuştur. *S. cryptantha* uçucu yağına en duyarlı patojenler *C. albicans*, *C. krusei*, *M. smegmatis*, *A. lwoffii*, *S. pneumoniae* ve *C. perfringens* olarak tespit edilmiş ve 2.25 ile 18 mg/ml arasında MİK değerleri belirlenmiştir. *S. multicaulis*'in uçucu yağı için belirlenen MİK değerleri ise 2.25 ile 36 mg/ml olarak hesaplanmıştır (Tepe ve ark., 2004).



Şekil 4.3. *S.cryptantha* ekstrakt ve uçucu yağ ilaveli besi yerinde *Pst*'nin gelişimi

In vitro koşullarda yurütölen antibakteriyel aktivite çalışmalarının sonuçlarına göre test edilen bitki patojeni bakterilerin her birinde farklı aktiviteler gözlenmiştir. Bu aktivite sonuçları *Salvia cryptantha*'nın ekstrakt ve uçucu yağlarında da farklı şekilde gözlemlenmiştir. Bakterilere karşı *in vitro* koşullarda çalışmada kullanılan her bir ekstrakt ve uçucu yağ için *Pst*'ye göre *Cmm* daha hassas olarak belirlenmiştir. Çünkü ekstraktın 10 ve 20 mg/ml dozlarında ve uçucu yağın 2, 5, 10 ve 20 µl dozlarında *Cmm*'nin gelişimi tamamen engellenmiştir (Şekil 4.4, Çizelge 4.1). Bunun yanında *Pst* üzerinde ekstraktın 20 mg/ml ekstrakt dozu tamamen ve 10µl'lik uçucu yağ oranında %42 bakterinin gelişimini engellenmiştir (Şekil 4.3, Çizelge 4.1).



Şekil 4.4. *S. cryptantha* ekstrakt ve uçucu yağ ilaveli besi yerinde *Cmm*'nin gelişimi

Çizelge 4.1 görüldüğü gibi, *in vitro* koşullar altında bitki patojeni bakterilere karşı *S. cryptantha* uçucu yağ ve ekstraktının yüzde engelleme oranları verilmiştir. Buna göre Uçucu yağın *Cmm* patojenine karşı, 2, 5, 10 ve 20 µl dozlarda %100 engelleme

gözlenirken, 1 µl dozunda ise %18 engelleme görülmüştür. *Pst*'ye karşı uçucu yağ uygulamalarında ise 1, 2, 5, 10 ve 20 µl dozlarda sırasıyla, %29, %33, %35, %37 ve %100 arasında engelleme oranları gözlenmiştir. Yine aynı şekilde, uygulanan ekstrakt denemelerinde ise, *Cmm*'ye karşı kullanılan 2.5 ve 5 mg/ml dozlarında %20, %30 oranlarında, 10 ve 20 mg/ml dozlarında ise %100 oranında engelleme gözlenmiştir. *Pst* patojenine karşı ise, 2.5, 5, 10 ve 20 mg/ml dozlarında ise %7, %17, %42 ve % 100 olarak bulunmuştur. *Cmm* ve *Pst* için negatif kontrolde herhangi bir engelleme görülmemiştir.

Çizelge 4.1 *In vitro* çalışma sonucu *Cmm* ve *Pst* üzerinde *S. cryptantha* ekstrakt ve uçucu yağının etkisi (%)

<i>Salvia cryptantha</i>					
Uçucu yağ			Ekstrakt		
Dozlar (µl)	<i>Cmm</i>	<i>Pst</i>	Dozlar (mg/ml)	<i>Cmm</i>	<i>Pst</i>
	%	%		%	%
1	18	29	2,5	30	17
2	100	33	5	20	7
5	100	35	10	100	42
10	100	37	20	100	100
20	100	100	C-	0	0
C-	0	0	-	-	-

Petri çalışmalarında *Cmm* ve *Pst* bitki patojeni bakterilere karşı uygulanan *S. cryptantha* ekstrakt ve uçucu yağının kullanılan bütün dozlarında % engelleme oranları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Uçucu yağ ve ekstrakt denemelerinde %100 engellemelerin olduğu görülmektedir. Bu engellemeler daha çok *Cmm* patojeninde gerçekleşmiştir. Elde edilen verilere göre *Cmm* patojeni *Pst* patojenine göre daha fazla hassas olduğu belirlenmiştir.

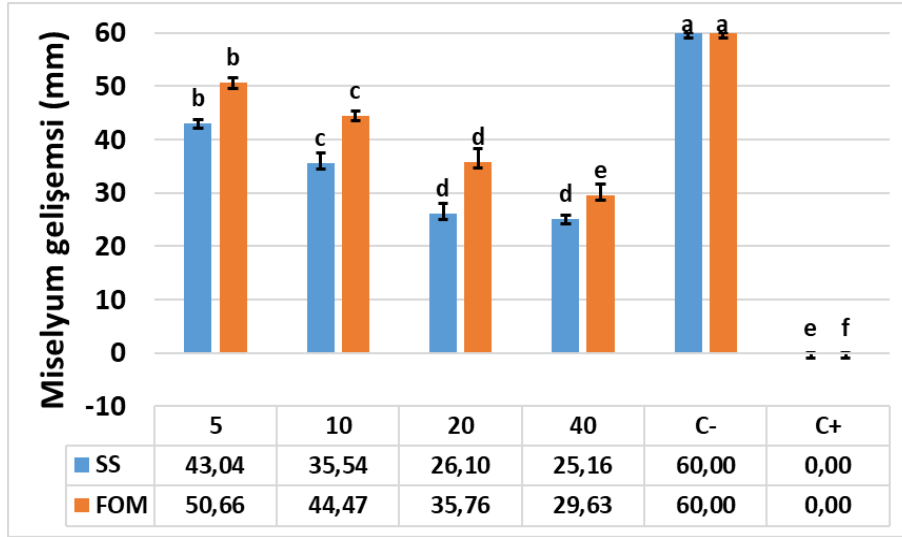
Kızılkeçili, (2007)'de yaptığı benzer çalışmada, *S. cryptantha* ve *S. pomifera*'nın metanol, etanol ekstraktları ve essensiyel yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmada, her iki bitki türünün essensiyel yağının metanol ve etanol ekstraktlarına göre daha yüksek düzeyde aktivite gösterdiği, *S. cryptantha*'nın uçucu yağları gram negatif bakteriler *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* üzerinde dikkate değer şekilde aktivite sergilediği belirtilmiştir. *S. cryptantha* ve *S. pomifera*'nın metanol ekstraktlarının *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pnemonia* patojenleri üzerinde etkiye sahip olduğunu ve

belirlenen MİK değerlerinin ise 5mg/ml olarak belirlendiğini belirtmiştir. Başka bir çalışmada ise, *S. cryptantha*'nın *Sarcinia lutea* bakterisine karşı yüksek oranda antibakteriyel aktivite sergilediği vurgulanmıştır (Akın ve ark., 2010). Erzincan bölgesinden toplanan *S. cryptantha* ekstraktlarının *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus* bakteri türlerine ve *Candida albicans* fungusuna karşı etkinlikleri araştırılmıştır. Buna göre ekstraktların gram pozitif bakterilere karşı etkin olduğu fakat gram negatif bakterilere ve *C. albicans* türlerine karşı etkin olmadığı belirmemiştir (Yiğit ve Kandemir 2002). Yine benzer şekilde *Salvia spp.* türleriyle benzer aktivite çalışmaları da bulunmaktadır. Bunlar, *Salvia smyrnaea*'dan elde edilen uçucu yağın *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* bakterilerine karşı antibakteriyel etki gösterdiği (Haznedaroğlu ve ark., 2002) ve *Salvia officinalis* ve *Salvia triloba* türlerinden elde edilen uçucu yağların, *Bacillus cereus*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus subtilis*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* ve *Klebsiella oxytoca* patojenlerine karşı antibakteriyel etki gösterdiği de (Delamare ve ark., 2007) vurgulanmıştır.

Çalışmamızın bulguları ve daha önce yapılmış çalışmaların bulgularına baktığımız zaman *Salvia cryptantha* türünün ve diğer *Salvia* türlerinden elde edilen uçucu yağ ve ekstraktların antibakteriyel etkiye sahip olduğu görülmektedir. Aynı zamanda uçucu yağların etkinliklerinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Bizim çalışmamızdan da elde edilen sonuçlar da benzer aktiviteler gözlenmiştir.

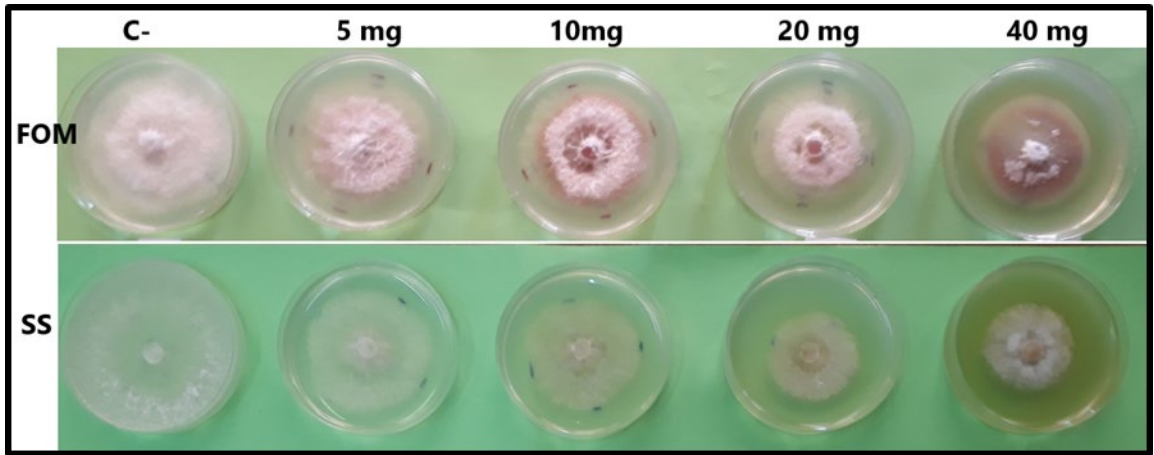
4.1.2. *In vitro* Antifungal aktivite çalışmaları

In vitro koşullar altında yürütülen çalışmalarda, *Salvia cryptantha*'nın ekstrakt ve uçucu yağlarının hıyar ve kavunlarda hastalık oluşturan SS ve FOM bitki patojenlerine karşı değişen oranlarda antifungal aktiviteye sahip olduğu Şekil 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8'de gösterilmiştir.

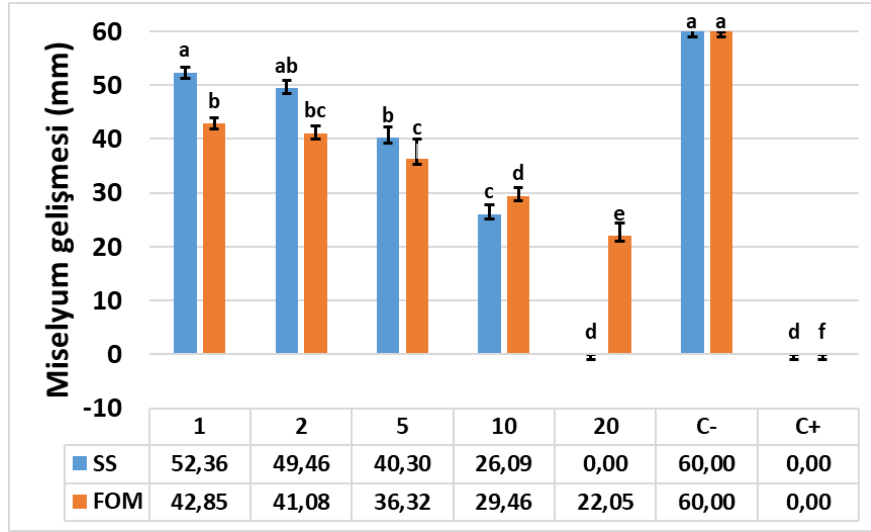


Şekil 4.5. *Salvia cryptantha* ekstraktının *S. sclerotiorum* ve FOM bitki patojeni funguslara karşı antifungal aktivitesi (Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. Her hastalık etmeni kendi arasında analiz yapılmıştır $p < 0.05$).

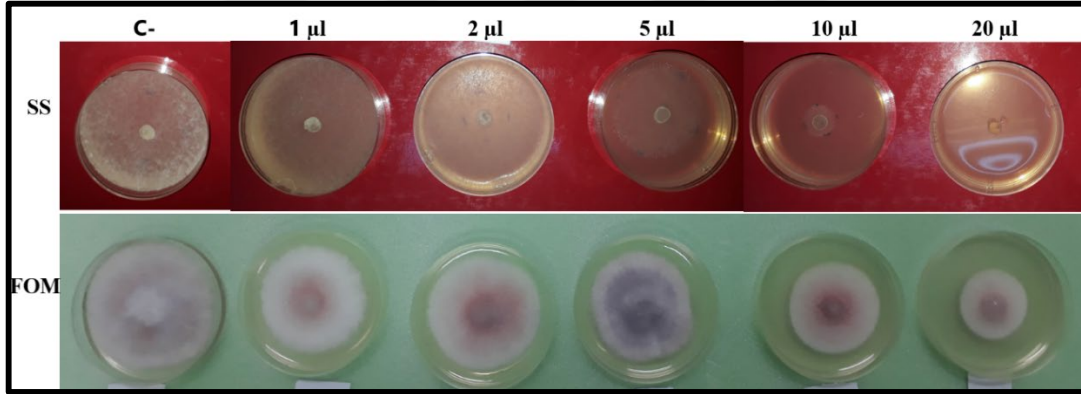
Test edilen patojenlere karşı *S. cryptantha* ekstraktının kullanılan bütün dozlarında antifungal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Kullanılan ekstraktın SS'nin gelişimi üzerine FOM'a göre daha fazla etkili olduğu belirlenmiştir. Ekstraktın kullanılan bütün dozlarında test edilen patojenlere karşı antifungal aktivite gözlenmiştir. Bu aktiviteler doz miktarı arttıkça artmıştır. Şöyleki; SS'ye karşı kullanılan 5mg/ml'lik dozda 43.04 mm miselyum gelişmesi olurken, 40 mg/ml'lik dozda ise 25.16 mm miselyum gelişmesi gözlenmiştir. Bu FOC patojeni içinde aynı şekilde gerçekleşmiştir (Şekil 4.5 ve 4.6)



Şekil 4.6. SS ve FOM patojenine karşı *S. cryptantha* metanol ekstraktının antifungal aktivitesi. (Fotoğraflar denemeden 7 gün sonra çekilmiştir).



Şekil 4.7. *Salvia cryptantha* uçucu yağının *S. sclerotiorum* ve FOM bitki patojeni funguslara karşı antifungal aktivitesi (Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. Her hastalık etmeni kendi arasında analiz yapılmıştır $p < 0.05$).



Şekil 4.8. SS ve FOM patojeni üzerinde karşı *S. cryptantha* uçucu yağının antifungal aktivitesi (Fotoğraflar denemeden 7 gün sonra çekilmiştir).

Bitki patojeni SS ve FOM funguslarına karşı *S. cryptantha* uçucu yağının etkisine baktığımız zaman negatif kontrole karşılaştırdığımızda kullanılan bütün dozlarda antifungal aktivite gözlenmiştir. Yine aynı şekilde ekstrakta olduğu gibi, doz miktarı arttıkça aktivite oranlarında artış göstermektedir. Patojen funguslara karşı kullanılan 20 µl dozunda SS'nin miselyum gelişimini tamamen engellemiştir. FOM'da ise 20 µl dozunda bu 22.05 mm miselyum gelişimi olarak gözlenmiştir. Bu oranlar, SS ve FOM patojenleri için sırasıyla 5 µl'de 40.30 mm ile 36.32 mm arasında iken, 10 µl uygulamalarda ise 26.09 mm ile 29.46 mm arasında değişmektedir. Şekil 4.7'de görüldüğü gibi funguslarına uçucu yağdan etkilenme düzeyleri 5 ve 10 µl uygulamalardan

sonra SS'de etki düzeyi çok hızlı gerçekleşirken, FOM'da ise SS'ye göre daha yavaş şekilde olduğu görülmektedir. Bu antifungal etkinin ise fungusların uçucu yağa gösterdikleri seçici özellikten olduğu düşünülmektedir (şekil 4.7 ve 4.8).

Bunun yanında, uçucu yağ ve ekstrakt uygulamalarında kullanılan doz miktarına göre, negatif kontrolle karşılaştığımızda, SS patojeninin sklerot oluşumunun engellendiği veya bazı durumlarda miselyum gelişmesinin olmadan sklerot oluşumunun gerçekleştiği durumlar olmuştur. Her iki patojen (SS ve FOM) için ise havai miselyum gelişiminin ve miselyumlarının renk değişimine uğradığı, miselyum gelişiminde fiziksel olarak dairesel olmayan gelişmelerin gerçekleştiği durumlar gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. *S. cryptantha* uçucu yağ ve ekstraktın SS ve FOM'un miselyum gelişim engelleme oranları

<i>Salvia cryptantha</i>					
Uçucu yağ			Ekstrakt		
Dozlar (μ l)	SS	FOM	Dozlar (mg/ml)	SS	FOM
	%	%		%	%
1	13	29	5	28	16
2	18	32	10	41	26
5	33	39	20	56	40
10	57	51	40	58	51
20	100	63	C-	0	0
C-	0	0	C+	100	100
C+	100	100	-	-	-

Petri çalışmalarına göre *S. cryptantha* uçucu yağ ve ekstraktının SS ve FOM bitki patojeni funguslarına olan yüzde miselyum gelişim engellemeleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Buna göre, SS patojeni FOM patojenine göre uygulamalardan daha fazla etkilenmiştir. Uçucu yağda SS ve FOC'a karşı 1 μ l uygulamada sırasıyla %13 ve %29 etki gözlenirken, 20 μ l'lik uygulamada ise %100 ve %63 etki gözlenmektedir (Çizelge 4.2). *S. cryptantha* ekstraktı için ise kullanılan 5 mg/ml dozlarda SS ve FOC için sırasıyla %28 ve %16 etki gözlenirken, 40 mg/ml'de ise %58 ve %51 etki gözlenmektedir.

Çizelge 4.3. *In vitro* koşullarda, *Salvia cryptantha* ekstrakt ve uçucu yağının test edilen bitki patojeni funguslara karşı letal doz değerleri (LD₅₀₋₉₀)

Bitki		LD ve LC Değerleri	Bitki Patojeni Funguslar	
			SS	FOM
<i>Salvia cryptantha</i>	Ekstrakt	LD ₅₀ (mg/ml)	19.0	35.6
		LD ₉₀ (mg/ml)	491.0	435.1
		Slope	0.9±0.1	1.1±0.1
		Heterojenite	0.76	0.31
	Uçucu Yağ	LC ₅₀ (µl)	5.7	8.6
		LC ₉₀ (µl)	24.9	597.7
		Slope	2.0±0.1	0.6±0.0
		Heterojenite	1.21	0.59

In vitro koşullarda antifungal denemeler sonunda, *Salvia cryptantha* bitkisinden elde edilen ekstrakt ve uçucu yağların test edilen patojenlere karşı kullanılan bütün dozlarının etkinlik çalışmalarının sonlandırılmasından sonra elde edilen veriler ile patojenlere karşı letal doz ve konsantrasyon değerlerinin hesaplanması yapılmıştır. Bu değerlendirme sonunda SS ve FOM patojenlerine karşı uçucu yağın Letal konsantrasyon (LC), ekstraktların ise letal doz (LD) değerleri belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Denemede kullanılan ekstrakt ve uçucu yağın, fungus popülasyondaki bireylerin %50 veya %90'nını öldüren doza ve konsantrasyona LD₅₀₋₉₀ ve LC₅₀₋₉₀ değerleri denilmektedir. Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi, ekstrakt ve uçucu yağ için sırasıyla LD₅₀ ve LC₅₀ değerleri SS'de 19 mg/ml ve 5.7 µl, FOM için ise 35.6 mg/ml ve 8.6 µl olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızda etkinliği belirlenen *Salvia cryptantha* türünün ve diğer *Salvia* türleriyle ilgili daha önce yapılmış antifungal çalışmalar bulunmaktadır. Bu yapılan çalışmalarda da bizim yaptığımız araştırmayla ilgili benzer sonuçlar elde edilmiştir. Benzer bir çalışmada, Tokat ilinde yayılış gösteren içinde *S. cryptantha*'nın da olduğu 11 adaçayı türü saptanmıştır. Hidro-distilasyon yöntemiyle *S. cryptantha*'nın elde edilen uçucu yağı, su, metanol ve etanol ekstraktları *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria solani*, *Ascochyta rabiei*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Penicillium italicum*, *Aspergillus niger* ve *Monilia laxa* bitki patojenlerine karşı *in vitro* koşullarda etkinlikleri belirlenmiştir. *S. cryptantha*'nın uçucu yağ ve ekstraktlarının patojenler üzerine etkili olduğu ve bu etkilerin kullanılan bitki ekstraktında, doz miktarına ve fungusun türüne bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir (Yılar,2014). Yunanistan'ın farklı bölgelerinde yetişen *Salvia sclarea*'dan elde edilen uçucu yağın *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum*,

Fusarium oxysporum f.sp. *dianthi* bitki patojenlerinin gelişimini kullanılan dozlara göre engellediği (Pitarokili ve ark., 2002), farklı bir çalışmada ise *Salvia sclarea* uçucu yağının 25 µl/ml'lik konsantrasyonun, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* türleri ve *Trichoderma viride*'ye karşı fungisidal aktivite sergilediği (Džamić ve ark., 2008) belirtilmiştir. *Salvia macrochlamys* ve *Salvia recognita*'nın elde edilen uçucu yağların *Colletotrichum aculatum*, *Colletotrichum fragariae* ve *Colletotrichum gloeosporioide* patojenlerine karşı antifungal aktivite sergilediği belirtilmiştir (Tabanca ve ark., 2006). Ülkemizde endemik olarak yetişen *Salvia tigrina* türünün yaprak, çelik ve yaprak+çelik etanol ekstraktlarının *Aspergillus flavus*, *Penicillium frequentans*, *Botrytis cinerea*, *Geotrichum candidum*, *Fusarium oxysporum* ve *Alternaria alternata* bitki patojenlerine karşı yüksek düzeyde antifungal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir (Dulger ve Hacıoğlu, 2008).

In vitro koşullarda *S. cryptantha* ekstraktının ekstrakt ve uçucu yağının bitki patojeni funguslara karşı elde edilen sonuçlarına göre, her iki patojeninde miselyum gelişimi engellediği görülmektedir. Uçucu yağın, ekstraktta göre daha etkili sonuçlar ortaya çıkardığı belirlenmiştir. Patojenlere karşı bitkinin her iki farklı uygulamasında SS patojenin FOM patojenine göre daha hassas özellik gösterdiği ortaya çıkarılmıştır.

4.2. *In Vivo* Koşullar altında Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

In vitro koşullar altında yürütülen çalışmalar sonunda elde edilen veriler ışığında, *Cmm* ve *Pst* için domates bitkisinde, SS için hıyar meyvesi ve FOM için ise kavun meyvesi üzerinde *Salvia cryptantha* bitkisinden elde edilen ekstrakt ve uçucu yağın *in vivo* koşullar altında antibakteriyel ve antifungal aktivite çalışmaları yürütülmüştür. Yürütülen bu çalışmada, *in vitro* koşullar altında etkinliği belirlenen en yüksek dozlar kullanılmıştır. Ekstrakt için 40 mg/ml, uçucu yağ için ise 20 µl dozları uygulanarak *in vivo* çalışmalar yürütülmüştür.

4.2.1. *In vivo* antibakteriyel aktivite çalışmaları

In vitro koşullar altında *Cmm* ve *Pst* bitki patojeni bakterilere karşı etkinliği belirlenen *Salvia cryptantha*'nın ekstrakt ve uçucu yağının, *in vivo* koşullar altında patojenlerin konukçusu olduğu domates bitki üzerinde uygulamaları yapılmıştır. Bu uygulama, laboratuvar koşulları altında domates bitkisi üzerinde patojenlerin inokulasyonu ve gelişimi, ekstrakt, uçucu yağ, pozitif kontrol ve negatif kontrol uygulamaları olarak denemeler kurulmuştur. *Cmm* ve *Pst*'nin bitki üzerinde oluşturduğu farklı belirtiler gözlemlendiği için bazı farklı değerlendirme parametreleri bulunmaktadır. Bunlar Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'de gösterilmiştir.

Bu bilgilere göre, *Salvia cryptantha*'nın *Cmm* patojenine karşı domates bitkisi üzerinde yapılan uygulamalar sonucunda antibakteriyel etkinlik düzeyleri belirlenmiştir. Negatif kontroldeki hastalık şiddetine göre, uygulama yapılan bitkilerde hastalık şiddeti bakımından önemli düzeyde azalmalar olduğu görülmektedir. Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi, negatif kontrolde hastalık şiddeti 3,3 olarak bulunmuştur. Ekstrakt uygulanan bitkilerde hastalık şiddeti 2,8 iken, uçucu yağ uygulanan bitkilerde ise 2,0 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, negatif ve pozitif kontrole göre, ekstrakt ve uçucu yağ uygulaması yapılan bitkilerin değerlendirilen parametre ölçümleri dikkate alındığında; bitki yaş ve kuru ağırlığı arasında, kök yaş ve kuru ağırlığı arasında, bitkilerin kök boylarında dikkate değer şekilde farkların olduğu görülmüştür. Bunun yanında bitkilerdeki nekroz oranları negatif kontrol, ekstrakt ve uçucu yağ uygulamalarında sırasıyla %40,9, %6,4 ve %10,1 olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi sadece hastalık inokulasyonunun yapıldığı negatif kontrole göre, ekstrakt ve uçucu yağ uygulaması yapılan bitkilerde büyük oranda *Cmm*'nin gelişimini engellemiştir. Bitkilerin kök kuru ve yaş ağırlıklarına göre değerlendirdiğimiz zaman, istatistiki olarak önemli derece fark olmadığı görülse de, hastalık yayılması ve engellenmesi açısından negatif kontrole göre, ekstrakt, uçucu yağ ve pozitif kontrol açısından önemli derece farkların olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *In vivo* koşullarda domates bitkisi üzerinde *S. cryptantha* ekstrakt ve uçucu yağının *Cmm* patojenine karşı antibakteriyel aktivitesi

<i>Cmm</i>	PK	NK	Ekstrakt	Uçucu yağ
Hastalık şiddeti	0b±0	3.3a±1.3	2.8a±1.7	2.0ab±1.5
Bitki Boyu (cm)	30.8a±3.4	26.1a±3.4	28.1a±5.9	28.5a±3.6
Nekroz boyu (cm)	0c±0	10.5a±0.9	1.7bc±0.8	2.8b±1.4
Nekroz oranı (%)	0b±0	40.9a±8.2	6.4b±3.	10.1b±4.8
Bitki yaş ağırlık (g)	11.1a±1.5	9.3a±1.3	11.2a±3.3	8.7a±2.0
Bitki kuru ağırlık (g)	1.9a±0.3	1.1a±0.4	1.7a±0.5	1.5a±0.3
Kök yaş ağırlık (g)	13.3a±3.0	18.6a±3.3	17.0a±2.3	17.4a±3.7
Kök kuru ağırlık (g)	5.2a±1.3	4.4a±2.2	5.7a±1.2	5.8a±1.5
Kök boyu (cm)	13.7a±1.7	14.7a±1.7	15.8a±2.0	15.0a±0.9

Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir $p<0.05$. *Cmm*=*Clavibacte rmichiganensis* subsp. *michiganensis* PK=Pozitif kontrol (% 10 aseton), NK= Negatif Kontrol (Sadece *Cmm* uygulanmış).

Yine benzer şekilde Çizelge 4.5’de görüldüğü gibi, domates bitkisi üzerine inokulasyonu yapılan *Pst*’ye karşı ekstrakt, uçucu yağ, negatif (*Pst* inokule edilmiş) ve pozitif (%10 aseton uygulanmış) kontrol olmak üzere dört farklı uygulama yapılmıştır. Bu uygulamalar sonunda elde edilen sonuçlara göre, inokulasyonu yapılan bitkilerde farklı parametrelerin sayımları ve ölçümleri yapılarak ekstrakt ve uçucu yağın *Pst* patojeni üzerinde etkinlik değerlendirmesi yapılmıştır. Buna göre, bitkideki yaprak sayısındaki sararma belirtisinin hastalık oranına göre değerlendirdiğimiz zaman, büyük oranda *Pst* patojenine karşı uygulanan ekstrakt ve uçucu yağın etkin olduğu görülmüştür. Buna göre, negatif kontrolde 36,2 adet sararan yaprak var iken, bu sayı ekstrakt ve uçucu yağda sırasıyla 28 ve 22,7 olarak sayılmıştır. Hastalık oranında ekstrakt ve uçucu yağ ile yaklaşık benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ekstrakt, uçucu yağ ve negatif kontroldeki hastalık oranları sırasıyla % 33.2, %28,9 ve %45,7 olarak bulunmuştur. Yapılan farklı uygulamalarda bitki boylarında fark görülmemiştir. Bitki yaş ağırlığı negatif kontrolde 14.2 gr iken, pozitif kontrolde, 11.1 gr, ekstrakt ve uçucu yağda sırasıyla 12 ve 10.8 gr olarak ölçülmüştür. Kuru ağırlığında ise, aynı şekilde sırasıyla, 2.0, 1.9, 1.5 ve 1.8 gr olarak ölçülmüştür. Diğer kök boyu, kök yaş ve kuru ağırlık parametrelerinde ise değişen oranlarda farklılıkların olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Domates bitkisinde üzerinde *S. cryptantha* ekstrakt ve uçucu yağının *Pst*'ye olan antibakteriyel aktivitesi

<i>Pst</i>	PK	NK	Ekstrakt	Uçucu yağ
Bitkideki Yaprak Sayısı (adet)	90.5a±19.5	77.5a±19.8	84.8a±8.6	80.2a±29.5
Sararma Olan Yaprak Sayısı (adet)	0a±0	36.2a±14.5	28.0a±5.5	22.7a±10.9
Hastalık Oranı (%)	0b±0	45.7a±5.9	33.2a±7.1	28.9a±15.0
Bitki Boyu (cm)	30.8a±3.4	30.1±5.7	30.7a±3.3	29.6a±3.0
Bitki yaş ağırlık (g)	11.1a±1.5	14.2a±3.1	12.0a±0.7	10.8a±1.9
Bitki kuru ağırlık (g)	1.9a±0.3	2.0a±0.4	1.5a±0.1	1.8a±0.5
Kök yaş ağırlık (g)	13.3a±3.0	17.1a±1.8	12.9a±1.6	13.7a±5.0
Kök kuru ağırlık (g)	5.2a±1.3	4.0a±0.6	4.8a±0.9	4.9a±0.5
Kök boyu (cm)	13.0a±1.7	14.7a±0.9	16.5a±3.1	13.7a±3.0

Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir $p < 0.05$. *Pst*=*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, PK=Pozitif kontrol (%10 aseton uygulanmış), NK= Negatif Kontrol (Sadece *Pst* uygulanmış).

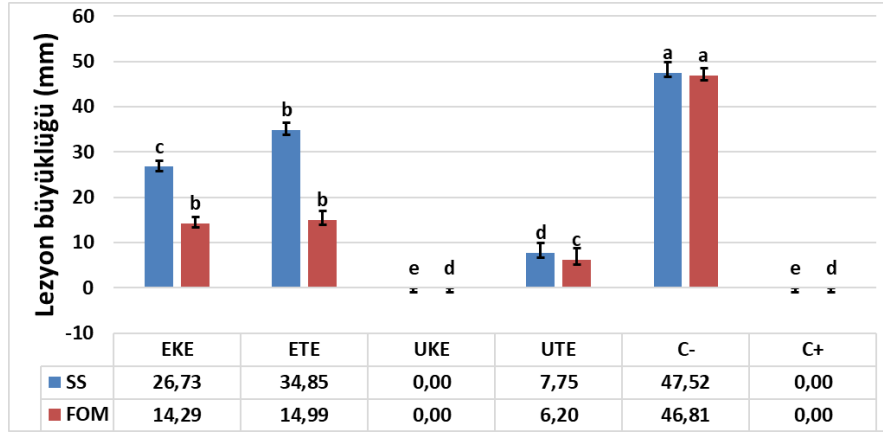
Benzer bir çalışmada, domates bitkileri üzerinde ciddi problemlere neden olan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*), *Xanthomonas vesicatoria* (*Xv*) ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) patojenlerine karşı *Allium sativum* toprak üstü aksamı ve *Ficus carica* meyvelerinden elde edilen ekstraktların *in vivo* koşullarda (sera koşullarında) 10 adet domates bitkisi üzerinde 3 tekrarlamalı olarak uygulamaları yapılmıştır. Bakterilerin 10^5 cfu ml⁻¹ süspanyon yoğunluğunda, *A. sativum* 10 g/l, *F. caria* 300 g/l şeklinde dozları domates bitkisi üzerine uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, *A. sativum* ekstraktında, *Pst*, *Cmm* ve *Xv* için hastalık indikası bitki başına sırasıyla 16, 20 ve 22 olarak bulunmuştur. *Pst* için negatif kontrolle karşılaştırıldığında %58 oranında hastalığın azami gelişimini engellemiştir. Ayrıca hastalık şiddeti bakımından negatif kontrolle karşılatırıldığı zaman *Pst*, *Cmm* ve *Xv* sırasıyla %68, %56 ve %65 oranlarında azalmalar görülmüştür. *F. caria*'nın meyve ekstraktlarıyla *A. sativum*'un ekstraktını karşılaştırdığımız zaman, *F. caria*'nın meyve ekstraktından bakteri türlerinin daha az etkilendiğini belirtmişlerdir. Bakır uygulaması yapılan pozitif kontrol %100 etkili olduğu düşünüldüğünde, *A. sativum* ekstraktının *Pst*, *Xv* ve *Cmm* tarafından aşılana domates bitkilerinde %65, %52 ve %56 oranlarında iken, *F. carica* ekstraktı için hastalık kontrolü sırasıyla *Pst*, *Xv* ve *Cmm* tarafından aşılana domates bitkilerinde %32, %38 ve %38 olarak belirlemişlerdir (Balestra t al., 2009). *In vivo* koşullarda, yapılan farklı bir çalışmada, *Punica granatum* ekstraktında bulunan doğal maddelerin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde, 10^5 CFU ml⁻¹ konsantrasyonunda

Pst süspansiyonu ile aşılınmış domates bitkileri üzerinde denemelerini kurmuşlardır. Buna göre, ekstraktın %0.5, %1 ve %5 konsantrasyonundaki dozlarının etkinlikleri belirlenmiştir. Hastalık inokulasyonundan 15 gün sonra, kullanılan %0.5'lik dozda kontrol bitkisine göre, bitki başına 31 adet hastalıklı yaprak belirlenmiş ve %18 hastalığı engellediği, %1'lik dozda bitki başına 26 hastalıklı yaprak sayısı belirlenmiş ve %31 oranında hastalığı engellediği ve %5'lik dozda ise, bitki başına 16 adet hastalıklı yaprak belirlendiği ve %58 oranında hastalığı engellediğini belirlemişlerdir. Ayrıca, domates bitkilerinin hiçbirinde negatif (fitotoksik) etki kaydedilmediğini vurgulamışlardır (Quattrucci ve ark., 2013).

Daha önce yapılmış çalışmalarda ve bizim yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçlara göre, bitkilerin bünyelerinde bulunan doğal maddelerin antimikrobiyal etkilerinin *in vivo* koşullarda yapılan çalışmalarda da etkin sonuçların elde edildiği görülmektedir. Fakat yapılan literatür çalışmaları ile uçucu yağların antibakteriyel etkinliğine yönelik *in vivo* koşullarda yapılmış araştırmalara rastlanmamıştır. Daha çok bitkilerden elde edilen ekstrakt denemelerine yoğunluk verildiği görülmüştür.

4.2.2. *In vivo* antifungal aktivite çalışmaları

In vivo koşullar altında antifungal aktivite çalışmalarında ekstrakt ve uçucu yağların test edilen patojenlere karşı koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda hıyar ve kavun meyvesi üzerinde yürütülen *in vivo* çalışmalar boyunca, koruyucu etki denemesinde patojenin meyve üzerine inokulasyonundan önce ekstrakt veya uçucu yağ uygulanmıştır. Tedavi edici etkide ise, patojenin meyve üzerine inokulasyonundan sonra ekstrakt ve uçucu yağ uygulanmıştır. Her iki uygulama sonunda elde edilen sonuçlarda, uçucu yağın koruma etkisinin ekstrakt uygulamasındaki koruyucu etkiye göre her iki patojen için daha yüksek olduğu ve patojenlerin meyve üzerinde lezyon gelişimini tamamen durdurduğu uygulamalar görülmüştür. Benzer şekilde ekstraktın koruyucu etkisi kontrole göre önemli ölçüde her iki patojen için etki göstermiştir. Uçucu yağ ve ekstraktın tedavi edici etkisinde ise benzer şekilde uçucu yağ etkisinin ekstraktta göre daha fazla olduğu görülmüştür.



Şekil. 4.9. *In vivo* koşullar altında uçucu yağ ve ekstrakt denemelerinin koruyucu ve tedavi edici etkileri. Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. Her hastalık etmeni kendi arasında analiz yapılmıştır $p < 0.05$. SS=*Sclerotinia sclerotiorum*, FOM=*Fusarium oxysporum f. sp. melonis*, EKE=Ekstrakt koruyucu etki, ETE=Ekstrakt tedavi edici etki, UKE=Uçucu yağ koruyucu etki, UTE=Uçucu yağ tedavi edici etki, C-=Negatif Kontrol, C+=Pozitif Kontrol.

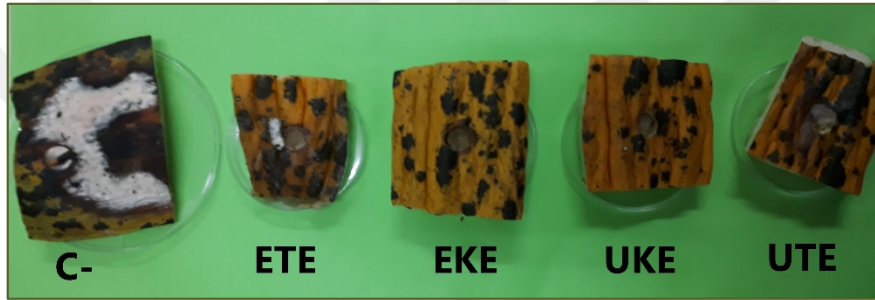
Her iki uygulama içinde, şekil 4.9’da görüldüğü gibi, SS ve FOM’a karşı ekstrakt ve uçucu yağın koruyucu etkisinin daha fazla olduğu, tedavi edici etkisinin ise daha az olduğu belirlenmiştir. Buna göre UKE’de SS ve FOM’un gelişimini kontrole göre tamamen durdurmuştur. UTE’de ise SS’de 7,75 mm iken, FOM’da 6,20 mm lezyon gelişimi gözlenmiştir. Aynı şekilde ekstrakt uygulamasında EKE’de SS patojeninde 26,73 mm, FOM için 14,29 mm lezyon gelişimi olduğu ve ETE’de ise SS ‘ye karşı 34,85 mm ve FOM’da 14,99 mm lezyon gelişimleri gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. *In vivo* koşullar hıyar ve kavun meyvesi üzerinde test edilen bitki patojeni funguslara karşı *Salvia cryptantha* uçucu yağ ve ekstraktının yüzde engelleme oranları (%)

Uygulamalar	Bitki patojeni funguslar	
	SS	FOM
	%	%
EKE (mg/ml)	44	69
ETE (mg/ml)	27	68
UKE (µl)	100	100
UTE (µl)	84	87
C-	0	0
C+	100	100

SS=*Sclerotinia sclerotiorum*, FOM=*Fusarium oxysporum f. sp. melonis*, EKE=Ekstrakt koruyucu etki, ETE=Ekstrakt tedavi edici etki, UKE=Uçucu yağ Koruyucu etki, UTE=Uçucu yağ tedavi edici etki, C-=Negatif Kontrol, C+=Pozitif Kontrol.

In vivo koşullar altında uçucu yağ ve ekstraktın koruyucu ve tedavi edici etkisinin belirlenmesi amacıyla hıyar ve kavun meyvesi üzerinde yürütülen çalışmada % engelleme oranları çizelge 4.6 verilmiştir. Buna göre SS ve FOM'a karşı yapılan uçucu yağın koruyucu etki uygulamalarında %100 oranında (pozitif kontrolle aynı oranda) engellemeler olmuştur. Yine benzer şekilde uçucu yağ tedavi edici uygulamasında ise SS'ye karşı %84 ve FOM'a karşı ise %87 engelleme oranı belirlenmiştir. Benzer şekilde ekstraktın koruyucu etkisinde SS'ye karşı %44 iken, FOM'da ise %69 oranında engelleme olmuştur. Ekstraktın tedavi edici etkisinin araştırıldığı uygulamada ise, SS ve FOM'da sırasıyla %27 ve %68 oranında lezyon engellemesi gerçekleşmiştir.



Şekil 4.10. Kavun meyvesi üzerinde yapılan uygulamalar. (Fotoğraflar uygulamadan 10 gün sonra çekilmiştir) EKE=Ekstrakt koruyucu etki, ETE=Ekstrakt tedavi edici etki, UKE=Uçucu yağ Koruyucu etki, UTE=Uçucu yağ tedavi edici etki, C-=FOM uygulanmamış kavun meyvesi



Şekil 4.11. Hıyar meyvesi üzerinde *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı yapılan uygulamalar. (Fotoğraflar uygulamadan 10 gün sonra çekilmiştir). EKE=Ekstrakt koruyucu etki, ETE=Ekstrakt tedavi edici etki, UKE=Uçucu yağ Koruyucu etki, UTE=Uçucu yağ tedavi edici etki, C-=SS uygulanmamış hıyar meyvesi

Yapılan benzer çalışmalarda ise, *Salvia officinalis*, *S. tomentosa* ve *S. cryptantha* türlerinden elde edilen ekstrakt ve uçucu yağların *in vivo* şartlarda (meyve üzerinde)

Botrytis cinerea, *Penicillium italicum*, *Aspergillus niger* ve *Monilia laxa*'ya karşı etkinlikleri belirlenmiştir. Bütün ekstrakt ve uçucu yağlar meyve üzerinde hastalık gelişimini azalttığı vurgulanmıştır. *Salvia cryptantha* metanol ekstraktı *B. cinerea*'da %43.59, *P. italicum*'da % 95.42, *A. niger*'de %75.64 ve *M. laxa*'da %10,90 oranlarında konukçusu oldukları meyveler üzerinde gelişmelerini engellemişlerdir. Ayrıca *S. cryptantha*'nın uçucu yağının ise *B. cinerea*'da %46.54, *P. italicum*'da %5.69, *A. niger*'de %16.32 ve *M. laxa* %19.19 olarak belirlenmiştir (Yılar 2014). Farklı bir araştırmada ise, *Salvia officinalis*'in uçucu yağı ve camphor bileşiğinin *in vivo* koşullar altında domates bitkisi üzerinde *Botrytis cinerea*'ya karşı etkinliği araştırılmıştır. Uçucu yağın sulu formulasyonları hazırlandığı ve daha sonra bunların 5 ve 10 g/L konsantrasyonları *in vivo* koşullarda patojenin miselyum gelişimini engellemiştir. Ayrıca sentetik fungusitlerden biri olan Dichlofluanid'in uçucun yağ uygulanması ile benzer sonuçların elde edildiğini vurgulamışlardır (Moretti ve ark., 1998). Çalışmamızda ve daha önce yapılan çalışmaların bulgularına göre *Salvia cryptantha* veya farklı *Salvia* türlerinin *in vivo* koşullarda yürütülen çalışmalarında, *in vitro* denemelerde elde edilen sonuçlara benzer veriler elde edilmiştir. Fakat, Bazı çalışmalarda da *in vitro* da etki gözlenirken, *in vivo* da etki görülmemiştir. Yapılan bir çalışmada, *In vitro* ve *in vivo* koşullarda *S. sclerotiorum* patojenine karşı *S. officinalis* bitkisinden elde edilen uçucu yağların *in vitro* koşullarda patojenin gelişimini engellerken, *in vivo* koşullarda etkininin olmadığını vurgulamışlardır (Pansera ve ark., 2013). Yaptığımız çalışmadaki gözlemlerimiz ve uygulamalardaki deneyimlerimize dayanarak, *in vitro* ve *in vivo* denemelerin bazı araştırmalardaki sonuçlarının farklı olmasının test edilen patojene, kullanılan uçucu yağ ve ekstraktta, doza ve konukçu bitkiye göre farklılık gösterebileceği düşünülmektedir.

4.3. *Salvia cryptantha* L. türünün uçucu yağ kompozisyonu

Kırşehir İl'inden toplanan *Salvia cryptantha* bitkisinden elde edilen uçucu yağın GC-MS analizi sonucunda 29 adet bileşen tanımlanmıştır. Bu bileşenler içinde en yüksek oranda bulunan Eucalyptol (%20.61) ve camphor (%19.83) olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında α -pinene (% 8.79), Camphene (%7,82), Borneol (% 7.32), Viridiflorol (%7.84) ve β -pinene (%5.72) yüksek oranda bulunan ana bileşenler olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. *Salvia cryptantha* bitkisinden elde edilen uçucu yağın GC/MS’de belirlenen bileşenleri

No	RT (Geliş zamanı)	Bileşikler	RI (İndeks)	(%)
1	8.455	α -thujene	927	1,19
2	8.755	α-pinene	933	8,79
3	9.330	Camphene	953	7,82
4	10.205	Sabinene	972	1,86
5	10.340	β-pinene	978	5,72
6	10.615	Vinyl amyl carbinol	978	0,35
7	10.735	Amyl ethyl ketone	986	0,17
8	10.905	Myrcene	991	2,73
9	11.890	α -terpinene	1018	0,59
10	12.510	Eucalyptol	1032	20,61
11	13.105	(e)-beta-ocimene	1046	0,40
12	13.515	γ -Terpinene	1058	1,12
13	14.545	Terpinolene	1086	0,57
14	15.520	1-Octen-3-yl acetate	1109	0,14
15	16.955	Camphor	1149	19,83
16	17.425	cis-pinocamphone	1176	0,97
17	17.900	Borneol	1165	7,32
18	18.240	terpinen-4-ol	1180	2,09
19	25.315	α -copaene	1375	1,01
20	25.575	β -bourbonene	1382	0,84
21	26.785	β -chamigrene	1479	1,32
22	27.135	γ -cadinene	1512	0,83
23	27.970	α -humulene	1454	0,53
24	29.065	β -selinene	1487	0,59
25	30.035	δ -cadinene	1518	1,81
26	30.580	Cyclosativene	1367	0,30
27	31.295	Germacrene B	1557	1,94
28	31.830	Spathulenol	1576	0,73
29	32.385	Viridiflorol	1594	7,84
Toplam				100

Salvia cryptantha uçucu yağında antifungal ve antibakteriyel özellik gösteren bileşenlerin olduğu daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Bu bileşenlerin daha çok *Salvia* türlerinin bünyelerinde bulunan ana bileşenlerden oluştuğu birçok araştırmada değerlendirilmiştir. Antifungal ve antibakteriyel özelliğe sahip Eucalyptol (1,8-cineole) ve camphor bileşikleri *Salvia* türlerinde bulunan ana bileşenlerdendir (Tzakou et al., 2001; Tepe ve

ark., 2004). Ayrıca α -pinene ve borneol bileşenlerinin daha zayıf aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Dorman ve Deans, 2000).

Daha önce yapılmış çalışmalarda, Tokat İl'inden toplanan *Salvia cryptantha*'nın uçucu yağından GC-MS analizinde 33 adet bileşen tespit edilmiştir. Bu belirlenen ana bileşenleri arasında, camphor (%29,87), Eucalyptol (%27,64), α -pinene (%11,91) ve Camphene (%6,32) olarak bulunmuştur (Yılar, 2014). Farklı bir çalışmada, Orta Anadolu bölgesinde yayılış gösteren *Salvia cryptantha*'nın da içinde olduğu dört farklı bitkiden elde edilen uçucu yağların içerikleri (GC ve GC-MS ile) belirlenmiştir. Buna göre *S. cryptantha* bitkisinde 54 adet bileşen tanımlanmış olup, bunlarda ana bileşenlerin camphor (%18,1), 1,8-cineole [eucalyptol] (% 17,8) ve bornyl acetate (%11,4) temel bileşen olarak belirlemişlerdir (Akgül ve ark., 1999). *S. cryptantha* türünde yapılan GC-MS sonucunda %21.4 oranında Viridiflorol bileşeninin olduğu, %16.7 oranında 1,8-cineole rastlandığı belirtmişlerdir (Kızılkıçlı ve ark., 2007). Yapılan bir diğer çalışmada ise, *Salvia cryptantha*'nın çiçek ve toprak üstü aksamından elde edilen uçucu yağların GC-MS analizlerinde sırasıyla 10 ve 13 bileşen belirlemişlerdir. Bu belirlenen bileşenlerde yine sırasıyla (toprak üstü ile çiçek) 1,8-cineole (%30,38 ile %36,28), valencene (%24,34 ile % 26,53) ve camphor (% 12,29 ile % 14,72) temel bileşenler olarak belirlemişlerdir (Bingöl ve ark., 2009). *S. cryptantha* bitkisinden elde ettikleri uçucu yağda, camphor (% 19,1), 1,8-cineole (% 16,4), borneol (% 11,9), viridiflorol (% 11,5) ve bornyl acetate (% 2,4) maddelerinin ana bileşen olarak bulunduğunu vurgulamışlardır (Akın ve ark., 2010). Farklı bir araştırmada yine *Salvia cryptantha*'nın toprak üstü aksamından elde edilen uçucu yağın GC-MS analizi yapılmıştır. Yapılan bu analiz sonucunda 9 adet bileşen tanımlanmış ve temel bileşenlerin Valencene (%31,80), eucalyptol (% 23,61) ve β -pinene (% 15,63) olduğunu belirtmişlerdir (İpek ve ark., 2012). *Salvia* türleri içinde yer alan Türkiye'de endemik olarak yetişen *Salvia pisidica* bitkisinin toprak üstü aksamından elde edilen uçucu yağların GC-MS analizleri sonucunda 31 farklı bileşiğe sahip olduğu ve bu bileşenlerden camphor (% 23,76), sabinol (% 19,2), α -thujone (% 14,2) ve eucalyptol (% 5,8)'ün temel bileşen olduğuna yer verilmiştir (Özkan ve ark., 2010). Türkiye'de yetişen *Salvia aucheri*, *Salvia aramiensis*, *Salvia fruticosa*, *Salvia tomentosa* ve *Salvia verticillata* beş farklı *Salvia* türleridir. Bu türlerden elde edilen uçucu yağların analizleri yapılmıştır. *S. aucheri*, *S. aramiensis* ve *S. fruticosa* bitkilerinin ana

bileşenlerinin 1,8-cineol olduğu ve sırasıyla % 39,2, % 55,6, % 52,8 oranlarında bitki bünyesinde bulunduğunu vurgulamışlardır. *S. tomentosa* bitkisinin ana bileşenleri α -pinene (%25,1), kafur (%14,9) ve borneol (%13,2) olarak ve *Salvia verticillata*'nın ana bileşeni ise β -pinene (% 21,4) ve 1,8-cineol (%16,1) olarak belirlenmiştir (Aşkun ve ark., 2010).

Çalışmamızda ve bu güne kadar yapılmış diğer çalışmalarda, *S. cryptantha* ve diğer *Salvia* türlerinden elde edilen uçucu yağların GC ve GC-MS analizlerinden elde edilen sonuçlarında belirlenen temel ve ana bileşenlerin daha çok hepsinde eucalyptol (1,8-cineol), β -pinene, camphor, α -pinene, borneol, viridiflorol bileşenlerinden oluştuğu, bizim çalışmamızda ve yapılan diğer çalışmalarda belirtilmiştir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada, *Salvia cryptantha* bitkisinden elde edilen uçucu yağ ve metanol ekstraktının *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) bitki patojeni bakterilere *Sclerotinia sclerotiorum* (SS) ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM) bitki patojeni funguslara karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, *S. cryptantha*'nın uçucu yağı test edilen bütün patojen gruplarına (bakteri ve fungus) *in vitro* ve *in vivo* koşullarda yüksek düzeyde etki göstermiştir. Benzer şekilde elde edilen metanol ekstraktı da patojenlere karşı değişen oranlarda etki göstermiştir. *In vitro* denemelerde elde edilen sonuçlar *in vivo* denemelerde elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Test edilen patojenlerine karşı *S. cryptantha*'nın ekstrakt ve uçucu yağının kullanılan doz miktarları arttıkça homojen şekilde antifungal ve antibakteriyel etkide artış göstermiştir. Bu artışın, bitkilerin bünyelerinde barındırdığı antifungal ve antibakteriyel özellikteki maddelerin doz artımına bağlı olarak artacağından kaynaklandığı düşünülmektedir. *In vivo* koşullarda domates bitkisi (*Cmm* ve *Pst* için), hıyar (SS için) ve kavun (FOM için) meyvesi üzerinde yürütülen deneme sonuçlarında elde edilen sonuçlar negatif kontrolle karşılaştırıldığında bakteri ve fungus hastalıklarına karşı uçucu yağ ekstraktının daha etkili bulunduğu ve ümit var sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Genel olarak hastalık etmenlerine karşı hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda ekstrakt ve uçucu yağ uygulamaları sonucunda, bakterilerden en hassas patojenin *Cmm* olduğu ve funguslardan ise en hassas patojenin SS olduğu belirlenmiştir. Diğer *Pst* ve FOM patojenlerine karşı da etkin sonuçlar bulunmuştur.

Bütün bu sonuçlara göre, *S. cryptantha* bitkisinin içeriğindeki belirlenen ana bileşenlerin antifungal ve antibakteriyel özellik gösterdiği ve yüksek ve orta düzeyde bitki patojeni fungus ve bakterilere karşı etki gösterdiği bu çalışmaya bir kez daha belirlenmiştir. Test edilen patojenlere karşı ümit var sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre test edilen patojen gruplarına veya bitki ekstrakt ve uçucu yağı için;

- Yapılan çalışmalar sonucunda, yeni alternatif maddelerin geliştirmesine olanak sağlaması açısından, etkili bulunan antifungal ve antibakteriyal özellikteki maddelerin ağığa çıkarılması
- Yeni geliştirilecek alternatif mücadele yöntemleri için yol gösterici olması,
- Tarla ve sera denemelerinin yapılarak test patojenlerine karşı etkinlik çalışmalarının yürütülmesi,
- Çevreyle ve insanlarla dost kalıntı sorunu olmayan maddelerin üretilmesi ve kullanılmasına olanak sağlaması açısından önemli olduğu kanaatine varılmıştır.



6. KAYNAKLAR

- Agrios, G.N., 1997. Plant Pathology 4th edn. San Diego, Academic Press.
- Akgül, A., Özcan, M., Chialva, F. and Monguzzi, F., 1999. Essential oils of four Turkish wild-growing Labiatae herbs: *Salvia cryptantha* Montbr. & Auch., *Satureja cuneifolia* Ten., *Thymbra spicata* L. and *Thymus cilicicus* Boiss. et Bal. Journal of Essential Oil Research, 1(2), 209-214.
- Akın, M., Demirci, B., Bağcı, Y., and Baser, K.H.C., 2010. Antibacterial activity and composition of the essential oils of two endemic *Salvia* sp. from Turkey. African Journal of Biotechnology, 9(15), 2322-2327.
- Al-Reza, S.M., Rahman, A., Ahmed, Y. and Kang, S.C., 2010. Inhibition of plant pathogens *in vitro* and *in vivo* with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. Pesticide Biochemistry and Physiology, 96(2), 86-92.
- Altuğ, S. ve Erzurum, K., 2002. Orta Anadolu Bölgesinde Kavunda Solgunluk Hastalığı Oluşumunda Bazı Fusarium Türlerinin Rolü. Tarım Bilimleri Dergisi, 8(3), 208-211.
- Anonim, 2019a. *Salvia cryptantha* Anadolu Halısı. <http://www.gezenadam.com/flora/AI.php?ID=438>. (18.05.2019).
- Anonim, 2019b. *Salvia cryptantha* kara ot, Anadolu halısı (Lamiaceae-Ballıbabagiller). <https://turkiyecicek.wordpress.com/2016/04/09/salvia-cryptantha-kara-ot-anadolu-halisi-lamiaceae-ballibabagiller/> (18.05.2019).
- Anonim, 2019c. *Salvia cryptantha*'nın Türkiye'deki yayılış durumu http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=8076 (18.05.2019).
- Anonim, 2019d. *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Kavun Solgunluğu. http://www.bitkisagligi.net/Cucurbit_Fusarium_oxysporum_melonis (kavun).htm (18.05.2019).
- Anonim, 2019e. *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. <http://ephytia.inra.fr/fr/D/5645> (18.05.2019).
- Anonim, 2019f. Sebzelerde Beyaz Çürüklük (*Sclerotinia sclerotiorum*). <https://www.sorhocam.com/etiket.asp?sid=4947&sebzelerde-beyaz-curukluk-sclerotinia-sclerotiorum/> (18.05.2019).
- Anonim, 2016g. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Bakteriyel Solgunluk. <http://spatialepidemiologylab.weebly.com/completed-projects.html> (18.05.2019).
- Anonim, 2016h. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Domateste Bakteriyel Benek. <http://news.cornell.edu/stories/2016/09/collaboration-identify-new-disease-resistance-tomato> (18.05.2019).

- Aşkun, T., Başer, K.H.C., Tümen, G. ve Kürkçüoğlu, M., 2010. Characterization of essential oils of some *Salvia* species and their antimycobacterial activities. *Türk. J. Biol.*, 34,89-95.
- Aysan, Y., Mirik, M., Çetinkaya-Yıldız, R. ve Küsek, M., 2005. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun yayılmasında tohum kökenli inokulumun rolü, Türkiye II. Tohumculuk Kongresi, 9-11 Kasım 2005, Adana, 353 (özet).
- Balestra, G. M., Heydari, A., Ceccarelli, D., Ovidi, E. ve Quattrucci, A. 2009. Antibacterial effect of *Allium sativum* and *Ficus carica* extracts on tomato bacterial pathogens. *Crop Protection*, 28(10), 807-811.
- Baser, K.H.C., Beis, S.H. and Özek, T., 1995. Composition of the Essential Oil of *Salvia cryptantha* Montbret et Aucher ex Bent. From Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 7, 113-114.
- Bayar, Y., Onaran, A., Yılar, M. and Gul, F., 2018. Determination of the Essential Oil Composition and the Antifungal Activities of Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and Bay Laurel (*Laurus nobilis* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 1-8.
- Bayrak, A. ve Akgül, A., 1987. Composition of essential oils from Turkish *Salvia* species. *Phytochemistry*. Vol. 26, Issue. 3:846-847.
- Belgüzar, S., 2014. Tokat yöresinde domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'nin tanımlanması ve epidemiyolojisi üzerine araştırmalar. (Doktora Tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Tokat.
- Belgüzar, S., Yılar, M., Yanar, Y., Kadioğlu, İ. ve Doğan, G., 2016. *Thymus vulgaris* L. (Kekik) Ekstrakt ve Uçucu Yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Üzerine Antibakteriyel Etkisi. *Turkish Journal of Weed Science*, 19(2), 22-27.
- Bingöl, Ü., Cosge, B., İpek, A., Gürbüz, B. and Geven, F.G., 2009. Identification of essential oil components of *Salvia cryptantha* Montbret & Aucher ex Benth, growing wild in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21 (5), 3836-3840.
- Boyraz, N. ve Baştaş, K.B., 2005. Kavun Fusarium Solgunluğuna Bazı Biotik ve Abiyotik Uyarıcıların Etkileri. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(37), 106-112.
- Chalupowicz, L., Zellermann, E. M., Flügel, M., Dror, O., Eichenlaub, R., Gartemann, K. H. and Manulis-Sasson, S., 2012. Colonization and movement of GFP-labeled *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* during tomato infection. *Phytopathology*, 102(1), 23-31.
- Daferera, D.J., Ziogas, B.N. 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, 39-34.
- Davis, P.H., 1982. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburg University, Vol. 7, Press, 400-461 pp.

- Davis, P.H., Mill, R.R. and Tan, K., 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg University, Press, Vol. 10, 210 p.
- Delamare, A.P.L., Moschen-Pistorello, I.T., Artico, L., Atti-Serafini, L. ve Echeverrigaray, S., 2007. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. Food Chemistry, 100, 603–608.
- De León, L., Siverio, F., López, M. M. and Rodríguez, A., 2008. Comparative efficiency of chemical compounds for *in vitro* and *in vivo* activity against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, the causal agent of tomato bacterial canker. Crop protection, 27(9), 1277-1283.
- Demirci, B., Tabanca, N., Başer, K.H.C., 2002. Enantiomeric distribution of some monoterpenes in the essential oils of some *Salvia* species. Flavour Fragr.J., 17:54-58.
- Dulger, B. ve Hacıoğlu, N., 2008. Antifungal Activity of Endemic *Salvia tigrina* in Turkey. Tropical Journal of Pharmaceutical Research., 7 (3), 1051-1054.
- Doğan, G., Hayta, Ş., Demirpolat, A. ve Bağcı, E., 2017. Türkiye’de Endemik *Salvia cryptantha* (Lamiaceae)’nın Montbret & Aucher Ex Bentham Uçucu Yağ Kompozisyonu. Fırat University, Science Faculty, Biology Department, Elazığ, Turkey, 45(3), 315-320.
- Dorman, H. J. D. ve Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88, 308–316.
- Džamić, A., Soković, M., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., & Marin, P. D. (2008). Chemical composition and antifungal activity of *Salvia sclarea* (Lamiaceae) essential oil. Arch. Biol. Sci, 60(2), 233-237.
- Erdoğan, O., Çelik, A., Yıldız, Ş. ve Kökten, K., 2014. Pamukta Fide Kök Çürüklüğü Etmenlerine Karşı Bazı Bitki Ekstrakt ve Uçucu Yağlarının Antifungal Etkisi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 3(1).
- Gleason, M.L., Gitaitis, R.D. and Ricker, M.D., 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in Eastern North America. Plant Disease, 77, 1069-1076.
- Ghosh, A., Das, B. K., Roy, A., Mandal, B. and Chandra, G., 2008. Antibacterial activity of some medicinal plant extracts. Journal of natural medicines, 62(2), 259-262.
- Habibvash, F.N., Rajamand, M.A., Heidari, R., 2007. Study of some *Salvia* L. (Lamiaceae) species native to west azarbaijan (Iran) considering their phenolic compounds. Pakistan Journal of Nutrition, 6(5), 443-446
- Hadizadeh, I., Peivastegan, B. and Hamzehzarghani, H., 2009. Antifungal Activity of Essential Oils from Some Medicinal Plants of Iran against *Alternaria alternata*. American Journal of Applied Sciences. 6(5), 857-861.

- Haznedaroğlu, M.Z., Öztürk, T. ve Konyalıoğlu, S., 2002. *Salvia smyrnaea* Boiss. Uçucu yağının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs, Eskişehir.
- İpek, A., Gürbüz, B., Bingöl, M.Ü., Geven, F., Akgül, G., Rezaeieh, K.A.P. and Coşge, B., 2012. Comparison of essential oil components of wild and field grown *Salvia cryptantha* Montbert & Aucher ex Benth, in Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 36, 668-672.
- Ji, S. H., Paul, N. C., Deng, J. X., Kim, Y. S., Yun, B. S. and Yu, S. H., 2013. Biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against fungal plant diseases. Mycobiology, 41(4), 234-242.
- Kalkışım, Ö., 2012. *In vitro* antifungal evaluation of various plant extracts against walnut anthracnose (*Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces et de Not.). The Journal of Food, Agriculture & Environment, 10(3-4), 309-313.
- Kızılkıçlı, Ö., 2007. *Salvia cryptantha* montbret & auchr ex bentham ve *Salvia pomifera* L. türlerinin metanol, ethanol ekstraktlarının ve uçucu yağlarının antibakteriyel, antifungal ve antitüberküloz aktivitelerinin tayini.(Yüksek Lisan Tezi).Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,Biyoloji anabilim dalı,Balıkesir.
- Kim, J., Marshall, M. R. and Wei, C. I., 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. Journal of Agricultural and Foodchemistry, 43(11), 2839-2845.
- Koçak, R. ve Boyraz, N., 2006. BAZI BİTKİ UÇUCU YAĞLARININ FUNGİSİDAL VE FUNGİSTATİK ETKİLERİ. Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(38), 76-81.
- Lo Cantore, P., Lacobellis, N.S., De Marco, A., Capasso, F. and Senatore, F., 2004. Antibacterial Activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller Var. vulgare (Miller) Essential Oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(26), 7862-7866.
- Massiha, A., Issazadeh, M. K. P. K. and Babaahmadi, F., 2018. Antibacterial Activity of Essential Oils and Plant Extracts of *Artemisia (Artemisia annua) in vitro*. Food Processing Letters, 1(1).
- McCarter, S.M., Jones, J.B., Gitaitis, R.D. and Smitley, D.R., 1983. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in association with tomato seed, soil, host tissue and epiphytic weed hosts in Georgia. Phytopathology, 73, 1393-1398.
- Moretti, M. D., Peana, A. T., Franceschini, A. ve Carta, C. 1998. *In vivo* activity of *Salvia officinalis* oil against *Botrytis cinerea*. Journal of Essential Oil Research, 10(2), 157-160.
- Onaran, A. ve Yanar, Y., 2009. Türkiye’de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary Üzerinde Yapılan Çalışmalar. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2(2), 75-80.

- Onaran, A. and Yılar, M., 2012. Antifungal activity of *Trachystemon orientalis* L. aqueous extracts against plant pathogens. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10(3-4), 287-291.
- Öksel, C., 2004. ZEYTİN DAL KANSERİ ETMENİ *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye KARŞI *in vitro* KOŞULLARDA FARKLI BİTKİLERİN UÇUCU YAĞLARININ ETKİSİ. (Yüksek Lisans Tezi), Namık Kemal Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Bitki Koruma Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Öktem, Y. E., 1985, Studies on Determination of Susceptibility of Tomato Varieties Against *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*, IV. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 8-11 Ekim 1995, İzmir, Türkiye, 79-106.
- Özcan, S., Yılar, M., Belgüzar, S. ve Önen, H., 2013. *Teucrium polium* L. Uçucu Yağının Herbisidal ve Antifungal Etkileri ile Kimyasal İçeriğinin Belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 5, 94-103.
- Özkan, G., Sağdıç, O., Göktürk, R.S., Ünal, O. ve Albayrak, S., 2010. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extract from *Salvia pisdica*. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 186-190.
- Pandey, D.K., Tripathi, N.N., Tripathi, R.D. and Dixit, S.N., 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 89, 344-349.
- Pansera, M.R., Pauletti, M., Fedrig, C.P., Sartori, V.C., Ribeiro, R.T.S., 2013. Utilization of essential oil and vegetable extracts of *Salvia officinalis* L. in the control of rot sclerotinia in lettuce. *Applied Research & Agrotecnology*. 6(2), 83-88.
- Pitarokili, D., Couladis, M., Petsikos-Panayotarou, N., & Tzakou, O. (2002). Composition and antifungal activity on soil-borne pathogens of the essential oil of *Salvia sclarea* from Greece. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(23), 6688-6691.
- Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A., & Harvala, C. (2003). Volatile metabolites from *Salvia fruticosa* as antifungal agents in soilborne pathogens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(11), 3294-3301
- Purdy L., 1979 *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. *Phytopathology*, 69(8), 875-880.
- Quattrucci, A., Ovidi, E., Tiezzi, A., Vinciguerra, V. ve Balestra, G. M. (2013). Biological control of tomato bacterial speck using *Punica granatum* fruit peel extract. *Crop protection*, 46, 18-22.
- Saadia, Z., Özcan, M. M., Bağcı, Y., Ünver, A., Arslan, D., Durak, G., Er, F. and Sağlam, C., 2010. Chemical composition of the essential oil of *Salvia cryptantha*. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 13(2), 200-204.
- Sherf, A.F. and Macnab, A.A., 1986a. Bacterial speck. In: *Vegatable Diseases and Their Control*. A Wiley-Interscience Publication, 728 p.

- Sherf, A.F. and Macnab, A.A., 1986b. Vegetable diseases and their control. A Wiley Interscience Publication, New York, 711 p.
- Soylu, S., Yigitbas, H., Soylu, E. M. and Kurt, Ş., 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. Journal of applied microbiology, 103(4), 1021-1030.
- 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(3), 183-189.
- Tabanca, N., Demirci, B., Başer, K.H.C., Aytaç, Z., Ekici, M., Khan, S.I., Jacob, M.R. ve Wedge, D.E., 2006. Chemical composition and antifungal activity of *Salvia macrochlamys* and *Salvia recognita* essential oils. J. Agric. Food Chem., 54, 6593-6597.
- Telci, İ., Bayram, E., Yılmaz, G. and Avcı, B., 2006. Variability in essential oil composition of Turkish basil (*Ocimum basilicum* L.). Biochemical Systematics and Ecology, 34, 489-497.
- Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., ... and Sokmen, A., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). Food chemistry, 84(4), 519-525.
- Tozlu, E., 2008. Ayrıçeği'nde *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Sclerotinia minor*'ın kültürel, biyolojik ve kimyasal mücadelesi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 39(2), 281-286.
- Türküsoy, H. ve Onoğur, E., 1998. Bazı Bitki Ekstraktlarının *In Vitro* Antifungal Etkileri Üzerine Araştırmalar. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 22, 267-271.
- Tzakou, O., Pitarokili, D., Chinou, I. B. ve Harvala, C. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens*. Planta Medica, 67, 81-83.
- Ünlü, M., Ünlü, A. ve Kabaş, A., 2009. Bazı Yerel Kavun Genotiplerinin *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*' e Reaksiyonlarının Tespiti. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, ANTALYA.
- Vyas, Y. K., Bhatnagar M. and Sharma K. J., 2006. Antimicrobial activity of a herb, herbal based and synthetic dentrificates, against oral microflora. Journal of Cell & Tissue Research, 6(1), 639-642.
- Yılar, M. ve Altuntaş, E., 2017. Tek yıllık ve çok yıllık adaçayı (*Salvia viridis* L., *Salvia cryptantha* Montbret et Aucher) tohumlarının bazı fiziksel özelliklerinin belirlenmesi. Mediterranean Agricultural Sciences, 30(2), 137-141.
- Yılar, M. 2014. Tokat ve Çevresinde Yaygın Olarak Görülen Salvia Türlerinin Antifungal ve Biyoherbisidal Aktivitelerinin Belirlenmesi. Doktora tezi.

- Yıldız, R.Ç. ve Aysan, Y., 2008. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.]'Nin İzolasyonu, Geleneksel, Serolojik Ve Moleküler Yöntemlerle Tanılanması. Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü 19-1
- Yılmaz, M., Kavak, S. ve Baysal, Ö., 2014. Bazı Ticari Sabit ve Uçucu Yağların Domates Bakteriyel Kanseri ve Solgunluk Etmeni Üzerine Antibakteriyel Etkileri. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, 31(1), 50-60.
- Yiğit, D. ve Kandemir, A., 2002. Bazı endemik bitkilerin (*Salvia cryptantha*, *Origanum acutidens*, *Thymus sipyleus* Boiss. Subsp. *Sipyleus*) antimikrobiyal etkileri. Erzincan Eğitim Fakültesi Dergisi, 4(2), 77-81.
- Yuan, W. and Yuk, H. G., 2018. Antimicrobial efficacy of *Syzygium antisepticum* plant extract against *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* and its application potential with cooked chicken. Food microbiology, 72, 176-184.

7. ÖZGEÇMİŞ

Araştırıcı 1993 yılında Yozgat'ta doğdu. İlk, orta ve lise eğitimi Yozgat'ta tamamladı. Lisans öğrenimini Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde tamamladı.

