

***Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* ve *Anthemis aciphylla* var. *discoidea* Türlerinin Antibakteriyal Etkilerinin Araştırılması**

Gülfidan SERTKAN, Mehtap AKIN¹, Hatice TANER SARAÇOĞLU

Selçuk Üniv. Fen Edeb. Fak. Biyoloji Bölümü, Kampus KONYA

Özet: Bu çalışmada *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* ve *Anthemis aciphylla* var. *discoidea*'ya ait uçucu yağlar ve etanol ekstreleri disk difüzyon metodu kullanılarak yedi bakteri türüne karşı (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve ATCC 25923 suşları, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sarcinia lutea*, *Bacillus cereus*) antibakteriyal etkileri araştırılmıştır. *Anthemis aciphylla* var. *discoidea* uçucu yağı *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis*, *S. lutea* ve *B. cereus* bakterilerine karşı antibakteriyal etki gösterirken, *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* uçucu yağı bu bakterilerden ikisine karşı antibakteriyal etki göstermiştir (*S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis*). Her iki bitki türünün etanol ekstreleri 7 bakteri türünden 5'ine etki gösterirken (*S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis*, *S. lutea*, *B. cereus*), iki bakteri türüne karşı antibakteriyal etki gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba*, *A. aciphylla* var. *discoidea*, Uçucu yağ, Ekstrakt, Antibakteriyal Etki

The Investigation of Antibacterial Effects of *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* ve *Anthemis aciphylla* var. *discoidea*

Abstract: In this study, essential oils and ethanolic extracts of *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* and *Anthemis aciphylla* var. *discoidea* were investigated for their antibacterial effects against seven bacterial species (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sarcinia lutea*, *Bacillus cereus*) using the disc diffusion method.

The essential oil of *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* has shown antibacterial effect against *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis*, *S. lutea* and *B. cereus*, the essential oil of *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* has shown antibacterial effect against two both of these bacterias (*S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis*). Ethanolic extracts of both of these plant species are effective on 5 of the 7 species (*S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis*, *S. lutea*, *B. cereus*), on the other hand no antibacterial effect is observed against two of the bacterias species.

Key Words: *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba*, *A. aciphylla* var. *discoidea*, Essential oil, Extract, Antibacterial effect

¹ E-mail: makin@selcuk.edu.tr

Giriş

Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye' de de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır [1].

Son yıllarda sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması, özellikle antimikrobiyal olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı organizmaların direnç oluşturmaları gibi sebepler, doğal bitkisel kaynakların ve bu maddeleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha çok artırmıştır [2].

Bitki ekstralarının ve uçucu yağlarının bazı bakteri, küf ve maya türleri üzerine antimikrobiyal etkilerinin olduğu yıllardan beri bilinmektedir [3]. Son yıllarda ise bu çalışmalar artarak ve gelişerek devam etmektedir. *Anthemis* L. (*Asteraceae*) cinsi Türkiye florasında 81 taksona ait 29' u Türkiye için endemik olan 51 tür tarafından temsil edilir. Çalışmada kullandığımız türlerden *Anthemis aciphylla* Boiss. var. *discoidea* Boiss. bu endemik türlerden bir tanesidir [4,5]. Çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olan *Anthemis* türleri halk tıbbında yaygın olarak kullanılır. *Anthemis nobilis* L., Türkiye' de çoğunlukla Alman papatyası, Rumî papatya olarak bilinir ve memleketimizde Alman papatyası Adi papatyadan (*Matricaria chamomilla* L.) üstün tutulmaktadır. *A. altissima* L., *A. hyalina* DC., *A. arvensis* L., *A. auriculata* Boiss., *A. chia* L., *A. cotula* L. ve *A. tinctoria* L.'nin kurutulmuş çiçekleri uyarıcı, âdet getirici ve gaz söktürücü olarak infüzyon halinde Adi papatyanın yerine kullanılmaktadır [1].

Bu çalışmada folklorik ve halk tababetinde kullanımları yanında, kozmetik ve besin endüstrisinde de yaygın olarak kullanılan *Anthemis* (Papatya) cinsine ait olan iki türün bazı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkilerini tesbit etmek amaçlanmıştır. Bu türlerin uçucu yağlarının ve ekstralarının antimikrobiyal etkileri daha önce kaydedilmemiş olup, araştırılmasının mevcut bilgilere katkı sağlayabileceği ve gelecekte yapılacak olan çalışmalara ışık tutabileceği düşünülmektedir.

Materyal ve Metod

Materyal

Anthemis cretica subsp. *tenuiloba* ve *Anthemis aciphylla* var. *discoidea* Konya ' da doğal olarak yetişen *Compositae* familyasına ait 2 *Anthemis* türünden oluşmaktadır. Bitki örnekleri 2003 yılında Konya'nın Aydınlıköy Mahallesi, Sille yolu ve Beybes Mevki' sinden toplanmış ve sistematik kaynaktan [4] faydalanılarak Selçuk Üniversitesi KNYA herbaryumunda teşhis edilmiştir.

Mikrobiyolojik testlerde insan, hayvan ve gıdalarda yaygın olarak bulunan ve patojen olan 7 adet bakterinin standart suşları kullanılmıştır. Standart bakteri suşlarından *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından, *Sarcinia lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Bacillus cereus* ATCC 11778 S.Ü. Veterinerlik Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ise Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edilmiştir.

Metot

Uçucu Yağların Eldesi

Bitki türleri toplanırken vejetasyon dönemlerindeki büyüme durumları göz önüne alınmış ve toplandıktan sonra gölge bir yerde kurutulmuştur. Kurutulmuş bitki örneklerinin uçucu yağ taşıyan toprak üstü kısımları aseptik şartlara uyularak laboratuvar değirmeninde ince toz halinde öğütülmüştür. Öğütülmüş bitki türlerinin uçucu yağları Clevenger cihazında, su distilasyon yöntemiyle çıkarılmıştır [6,7]. Elde edilen uçucu yağlar, teste tabi tutuluncaya kadar +4 °C' de muhafaza edilmiştir.

Su distilasyonu yöntemiyle *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba*' dan elde edilen uçucu yağ verimi % 0.09 iken, *Anthemis aciphylla* var. *discoidea*' dan elde edilen uçucu yağ verimi % 0.13' tür.

Ekstrelerin Hazırlanışı

15 g bitki örneği 150 ml etanol içerisinde Soxhlet cihazına yerleştirilmiş ve 8 saat ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen ekstratlar, rotary evaporatör kullanılarak 40 °C' nin altındaki bir sıcaklık derecesinde, düşük basınç altında ayrı ayrı 1/10 oranında konsantre edilmiş ve testte kullanılmaya kadar + 4 °C' de muhafaza edilmiştir.

Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Stok bakteri suşlarını aktive etmek için kültürler Brain Heart Infusion Broth' a aşılanarak 37 °C' de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuşlardır. Mikroorganizmalar steril fizyolojik su ile Mc Farland 0.5 yoğunluğunda ayarlanmıştır. Her bir mikroorganizma Mueller Hinton Agar içeren steril petri kaplarına yayma metoduyla ekilmiştir. Petri kapları 5-15 dk süreyle oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

Antibakteriyal Etkinin Belirlenmesi

Elde edilen uçucu yağ ve ekstratların antibakteriyal etkisinin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır [8,9]. Bunun için 1:8 oranında Steril Tween 20 (Merck) ile süspansiyonları hazırlanan uçucu yağlar ve ekstratlar yaklaşık 25 µl emme kapasitesine sahip 6 mm çapındaki steril boş disklerle emdirilmiş ve diskler pens kullanılarak besiyeri üzerine yerleştirilmiştir [10]. Kontrol olarak da Kloramfenikol (30 µg) antibiyotik diskleri, ekstraksiyonda kullanılan etanol ve uçucu yağlar ile süspansiyon edilen Steril Tween 20 emdirilmiş diskler besiyerlerine yerleştirilmiştir. Besiyerleri 37 °C' de 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldıktan sonra oluşan inhibisyon zonları petri plağının alt yüzeyinden cetvelle ölçülmüştür. Denemeler 3 ayrı tekrarlı yapılmış olup sonuçlar ortalama olarak verilmiştir.

Sonuç

Uçucu yağ örneklerinin Disk difüzyon metodu kullanılarak ölçülen antibakteriyal etki sonuçları Tablo1' de verilmiştir.

Tablo 1: Uçucu yağların antibakteriyal etkileri

Mikroorganizmalar	A	B	C	D
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	9	10	20	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	-	-	17	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	7	20	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Sarcinia lutea</i>	-	12	30	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	9	22	-

A: *A. cretica* subsp. *tenuiloba*, B: *A. aciphylla* var. *discoidea*, C: Kloramfenikol (30µg), D: Tween 20 (25µl)

Rakamlar (↓) : 6 mm' lik disk çapı dahil inhibisyon zon çapları mm olarak ifade edilmiştir ve üç tekrarın ortalamasıdır.

- = inaktif / etkisiz

En yüksek inhibisyon zonunu *Anthemis aciphylla* var. *discoidea* *S. lutea* ATCC 9341' e karşı oluştururken, en düşük inhibisyon zonunu her iki bitki *S. epidermidis* ATCC 12228' e karşı oluşturmuşlardır.

Kullanılan test mikroorganizmalarından *S. lutea* ATCC 9341 ve *B. cereus* ATCC 11778 üzerine *Anthemis aciphylla* var. *discoidea* etkili olurken, *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* herhangi bir etki göstermemiştir.

Anthemis cretica subsp. *tenuiloba* ve *Anthemis aciphylla* var. *discoidea*'dan elde edilen uçucu yağların *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853' e karşı hiçbir antibakteriyal aktivitesi bulunmamaktadır.

Anthemis cretica subsp. *tenuiloba*'nın *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228' e karşı, *Anthemis aciphylla* var. *discoidea*'nın ise *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. lutea* ATCC 9341 ve *B. cereus* ATCC 11778' e karşı göstermiş olduğu etkinin mukayese antibiyotiğinden düşük olduğu belirlenmiştir.

Tween 20 test bakterilerine karşı inhibisyon zonu oluşturamamıştır.

Etanol ekstralarının disk difüzyon metodu kullanılarak ölçülen antibakteriyal etki sonuçları Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2: Bitki ekstralarının antibakteriyal etkileri

Mikroorganizmalar	A	B	C	D
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	7	8	20	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	7	6.5	17	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7.5	6.5	20	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Sarcinia lutea</i>	7	7	30	-
<i>Bacillus cereus</i>	7	6.5	22	-

A: *A. cretica* subsp. *tenuiloba*, B: *A. aciphylla* var. *discoidea*, C: Kloramfenikol (30µg), D: Etanol

Rakamlar (↓) : 6 mm' lik disk çapı dahil inhibisyon zon çapları mm olarak ifade edilmiştir ve üç tekrarın ortalamasıdır.

- = inaktif / etkisiz

Anthemis cretica subsp. *tenuiloba* ve *Anthemis aciphylla* var. *discoidea*'nın etanol ekstraları *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. lutea* ATCC 9341 ve *B. cereus* ATCC 11778' e karşı birbirine yakın antibakteriyal etki gösterirken, *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853' e karşı etkili olmadığı görülmüştür.

Mukayese antibiyotiği olarak kullanılan Kloramfenikol ve bitki ekstralarının aynı bakteriler üzerine etkili olduğu ancak ekstraların mukayese antibiyotiğine oranla daha düşük inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir.

Ekstraksiyon çözgeni olarak kullanılan etanol test bakterilerine karşı inhibisyon zonu oluşturamamıştır.

Tartışma

Anthemis cretica subsp. *tenuiloba* bitkisinin hem uçucu yağı hem de etanol ekstresi *S. aureus* ATCC 6538 ve *S. epidermidis* ATCC 12228' e karşı inhibisyon zonu oluşturmuştur. Aynı bitkinin uçucu yağı diğer bakteriler üzerinde etkili değil iken, ekstresinin *S. aureus* ATCC 25923, *S. lutea* ATCC 9341 ve *B. cereus* ATCC 11778' e karşı etkili olduğu görülmüştür.

Anthemis aciphylla var. *discoidea*'nın hem uçucu yağı hem de etanol ekstresinin *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. lutea* ATCC 9341 ve *B. cereus* ATCC 11778' e karşı etkili olduğu, buna karşılık *S. aureus* ATCC 25923'e karşı sadece ekstresinin antibakteriyal etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Çalışmamız sonucunda uçucu yağların bakteriler üzerinde oluşturdukları inhibisyon zon çaplarının ekstralarınınkinden daha fazla olduğu, buna karşın ekstraların uçucu yağlara oranla

daha fazla bakteri üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Bu durumun ekstrelerde bulunan bileşik veya bileşiklerden kaynaklandığı düşünülebilir.

S. aureus' un 2 ayrı suşunun kullanıldığı çalışmamızda, *S. aureus* ATCC 6538' e karşı her iki bitkinin hem uçucu yağları hem de ekstreleri etkili olurken, *S. aureus* ATCC 25923' e karşı sadece bitkilerin ekstreleri etkili olmuştur. Elde edilen sonuçlarda gözlenen bu farklılıkların suş farklılığından ve uçucu yağ dışında, ekstrede bulunan bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

S. lutea ATCC 9341 ve *B. cereus* ATCC 11778 bakterilerine karşı *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* bitkisinin uçucu yağının etkili olmamasına karşılık ekstresinin etkili olması, bitki ekstresinin içinde bulunan bileşik veya bileşiklerden kaynaklandığı sanılmaktadır.

Akın ve Gür [10], *Anthemis cretica* subsp. *anatolica* (Boiss.) Grierson bitkisinin uçucu yağının seri dilüsyon yöntemiyle St 9 *S. aureus* ATCC 6538' i inhibe ettiğini E 9 *E. coli* ATCC 11775 ve E 99 *E. coli* suşlarına karşı antibakteriyel etki göstermediğini bildirmiştir.. Çalışmamızda disk difüzyon yöntemiyle *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* bitkisinin uçucu yağının *S. aureus* ATCC 6538' e karşı etkili, *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. coli* ATCC 25922' ye karşı ise etkisiz olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda *S. aureus* ve *E. coli*' ye karşı benzer sonuçlar elde edilmesine rağmen, *S. aureus* ATCC 25923 için bu geçerli olmamıştır. Bunda bitkilerdeki alttür seviyesindeki farklılığın, lokalite, metot ve bakteri suş farklılıklarının etkisi dikkate alınmalıdır.

Akın ve ark. [11] yaptıkları çalışmada, *A. cretica* bitkisinin uçucu yağının disk difüzyon metoduna göre *S. aureus*, *S. lutea* ve *E. coli* saha suşlarına ve *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ve *P. aeruginosa*' ya karşı farklı çaplarda inhibisyon zonu oluşturduğunu, Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü saha suşlarından *P. aeruginosa*' ya ve Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD saha suşlarından *S. lutea* ATCC 9341' e karşı etkisiz olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada *A. cretica*' nın alt türü ve bazı bakterilerin suş numaraları verilmemiştir. Araştırmamızda *A. cretica* subsp. *tenuiloba* bitkisinin uçucu yağı disk difüzyon metoduyla *S. aureus* ATCC 6538' e karşı etkili olduğu halde *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. lutea* ATCC 9341'e karşı etkisiz olduğu gözlenmiştir. Her iki çalışmada da uçucu yağlar *S. aureus* ATCC 6538' e karşı etkili, *S. lutea* ATCC 9341' e karşı etkisiz bulunmuştur. Ancak sonuçlarda görülen farklılıkların bitkinin alt tür seviyesinin ve diğer bakterilerin suş numaralarının farklı olabileceği ihtimalinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Başer ve ark. [12] 2002' de mikrodilüsyon yöntemiyle *Anthemis cretica* L. subsp. *leucanthemoides*' in uçucu yağının *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 27853'e karşı değişen oranlarda etkili olduğunu bildirmişlerdir. Disk difüzyon yöntemini kullandığımız çalışmamızda *A. cretica* subsp. *tenuiloba* bitkisinin uçucu yağının *S. aureus* ATCC 6538' e karşı etkili, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853' e karşı etkisiz olduğu gözlenmiştir. Bakterilerin suş numaraları ve bitki türlerinin aynı olmasına rağmen, bitkilerin lokalite farkı, alttür seviyesinde farklı olması, kullanılan yöntemlerin farklılığı gibi sebeplerden dolayı bu farklılıkların oluştuğu düşünülebilir.

Başer ve ark. [13] 2006' da yaptıkları çalışmalarında Broth Mikrodilüsyon metodu ile *A. aciphylla* Boiss. var *discoidea* Boiss. bitkisinin uçucu yağının *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. epidermidis* ATCC 12228 ve *S. aureus* ATCC 6538 bakterilerine karşı etkili olduğunu bulmuşlardır. Disk difüzyon metodunun uygulandığı çalışmamızda aynı bitkinin uçucu yağının yukarıda adı geçen mikroorganizmalardan *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853' e karşı inhibisyon zonu oluşturmadığı, ancak *S. epidermidis* ATCC 12228 ve *S. aureus* ATCC 6538' e karşı etki gösterdiği gözlenmiştir. Sonuçlardaki bu farklılık uygulanan yöntem farklılığından ve bitkinin toplandığı lokalitenin farklı olmasından kaynaklanabilir.

Araştırmamızda farklı yörelerde değişik biçimlerde farklı amaçlarla tüketilen *Anthemis* L. türlerinin kullanımının bilimsel bir temele dayandırılmasında yardımcı bazı bilgiler elde edilmiştir. Bitkilerin yetiştiği coğrafi bölgenin, toplama zamanının kullanılan kısımların, yöntemlerin, kullanılan bakteri suşlarının v.s. farklı olması gibi etkenler dikkate alındığında benzer çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Baytop, T. 1999. **Türkiye' de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)**, İlaveli İkinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
2. Nakipoğlu, M., Otan, H. 1992 **Tıbbi Bitkilerin Flavanoitleri** , Anadolu J. of AARI. 4 (1): 70-93.
3. Hammer, K.A., Carson, C. F., Riley, T. V. 1999 **Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts**. Journal of Applied Microbiology 86 (6): 985-990.
4. Davis, P. H. 1975. **Flora of Turkey and the East Aegean Islands**. Vol.5 University prees, Edinburgh.
5. Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K. H. C. 2000. **Flora of Turkey and the East Islands**, Vol.11, Uiversity Pres, Ecdinburgh.
6. Council of Europe, European pharmacopoeia (2005) 5th edn, Strasbourg..
7. Baytop, T. 1983. **Farmakognozi II**. İst. Üniv. Ecz. Fak. Yay. 35.
8. Collins, C. H., Lyne, P. M., Grange, J. M. 1989. **Microbiological Methods**. Butterworths & Co. (Publishers) Ltd. London. 410s.
9. Bradshaw, L. J. 1992. **Laboratory Microbiology**. Fourth Edition. Printed in U. S. A. 435s.
10. Akın, M., Gür, K. 2000. **Konya ve çevresinde doğal olarak yetişen ve uçucu yağ içeren bazı bitkilerin antibakteriyal etkilerinin belirlenmesi**. pp 46.XV. Ulusal Biyoloji Kongresi "Uluslararası Katılımlı". Ankara.
11. Akın, M., Aktümsek, A., Okur, O. 2001. **Bazı bitki uçucu yağlarının bazı hayvan patojenlerine karşı antimikrobiyal etkilerinin araştırılması**. Veterinarium 12 (1): 83-85.
12. Başer, K. H. C., Özek, T., Demirci, F., Boydağ, İ. 2002. **The essential oil of *Anthemis cretica* subsp. *leucanthemoides* (Boiss.) Grierson**. Acta Pharmaceutica Turcica 44: 189-194.
13. Başer, K. H. C., Demirci, B., İşcan, G., Hashimoto, T., Demirci, F., Noma, Y., Asakawa, Y. 2006. **The essential oil constituents and antimicrobial activity of *Anthemis aciphylla* Boiss. var. *discoidea* Boiss**. Chem. Pharm. Bull. 54 (2) 222-225