

Origanum spp., *Mentha* spp. ve *Lippia* sp. Türlerine Ait Uçucu Yağların *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Botrytis cinerea*'ya Karşı Antimikrobiyal Etkisi

Yusuf YANAR¹, Sabriye BELGÜZAR^{1*}, İsa TELCİ²

¹ Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Tokat

² Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, ISPARTA

*Sorumlu yazar: sabriye.yazici@gop.edu.tr

ÖZET

Bu çalışma, *Origanum vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *Lippia citriodora* bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların *Botrytis cinerea* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla *in vitro* koşullarda yürütülmüştür. Bitki türlerinden elde edilen uçucu yağlar 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozlar halinde, patates dekstroz agar (PDA) ve King B besi yerlerine katılmıştır. *B. cinerea*'ya ait 5 mm miselyum diskleri PDA besi yerlerine, 10⁶ hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* süspansiyonu ise King B'ye ekilmiştir. Kontrol grubu olarak uçucu yağ içermeyen PDA ve King B besi yeri kullanılmıştır. PDA'lar 25°C'de, King B'ler 28°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Her uygulama üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Yedi günlük inkübasyon süresi sonunda fungusun miselyum çapları ölçülmüş ve üç gün sonra da bakteri koloni sayımları yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, *M. piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *L. citriodora* türleri *B. cinerea* üzerinde etkili olmazken, *O. vulgare*, *O. syriacum* ve *O. onites* türlerinin 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları patojenin miselyum gelişimini %93,82 engellemiştir. *O. vulgare* ve *L. citriodora* türlerinin 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları, *O. syriacum* ve *O. onites* türlerinin 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişimini tamamen engellemiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde *O. vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites*, ve *L. citriodora* uçucu yağları ile doz ölüm testleri yapılmıştır. Bu uçucu yağların *B. cinerea* için hesaplanan LC₅₀ değerleri sırasıyla 0.094, 0.120, 0.148 ve 0.392 µl/ml olurken, bu değerler *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'de 0.163, 0.122, 0.122 ve 0.07 µl/ml olmuştur. Sonuçlar bu doğal materyallerin sentetik pestisitlerin yerine etkili bir alternatif olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Uçucu yağ, *Origanum*, *Mentha*, *Lippia*, *Botrytis cinerea*, *Clavibacter michiganensis*

Antimicrobial activities of *Origanum* spp., *Mentha* spp. and *Lippia* sp. Species Essential Oils Against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and *Botrytis cinerea*

ABSTRACT

In vitro study was carried out to determine antifungal and antibacterial activities of *Origanum vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* and *Lippia citriodora* essential oils against *Botrytis cinerea* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. The essential oils were mixed with autoclaved potato dextrose agar (PDA) and King B media to obtain the final concentrations of 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 µl/ml, respectively. Discs (5-mm diameter) of the mycelial plugs from actively growing edge of the fungal colony and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* suspension (10⁶ cells/ml) were plated on the PDA and King B plates. Three replicates were used for each treatment. PDA and King B plates were then incubated in the dark at 25°C and 28°C respectively. Mycelial diameter of the fungus was measured and colony number of the bacterium was counted at the end of 7 and 3 days incubation periods respectively. The PDA and King B media without essential oils were used as negative controls. Based on the results of the study, *O. vulgare*, *O. syriacum* ve *O. onites* essential oils at 0.4 and 0.5 µl/ml doses inhibited the mycelia growth of *B. cinerea* at a rate of 93,82%, while *M. piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* and *L. citriodora* essential oils did not have any effects on mycelial growth of *B. cinerea*. *O. vulgare* and *L. citriodora* essential oils at 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 µl/ml doses, and *O. syriacum* ve *O. onites* essential oils at 0.3, 0.4 and 0.5 µl/ml doses inhibited the growth of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* completely. In the second part of the study, the dose response bioassays with *O. vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites* and *L. citriodora* were carried out. The calculated LC₅₀ values for *B. cinerea* were 0.094, 0.120, 0.148, and 0.392 µl/ml essential oil respectively. The calculated LC₅₀ values for *Clavibacter*

michiganensis subsp. *michiganensis* were 0.163, 0.122, 0.122, and 0.07 µl/ml essential oil respectively. The results proved the potential use of these natural materials as effective alternatives to synthetic pesticides.

Keywords: Essential oil, *Origanum*, *Mentha*, *Lippia*, *Botrytis cinerea*, *Clavibacter michiganensis*

INTRODUCTION

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*, dünya çapında domates üretimini kısıtlayan en önemli bakteriyel etmenlerden birisidir. Etmen hem örtü altı hem de açık alanda yapılan domates üretimini olumsuz etkilemektedir. Etmen Solanaceae familyasından domates, biber, patlıcan ve *Lycopersicon hirsutum*, *L. pimpinellifolium* gibi türlerde hastalık oluştursa da ekonomik anlamda zarar verdiği tek kültür bitkisi domatestir (Gleason ve ark., 1993). Ayrıca Solanaceae familyasındaki yabancı otlar (*Solanum mammosum*, *S. douglasii*, *S. nigrum* ve *S. triflorum*) da konukçuları arasındadır (Sherf ve Macnab, 1986).

Etmenin ülkemizdeki varlığı Tokgönül (1998)'ün bildirdiğine göre ilk olarak İç Anadolu Bölgesi'nde (Bremer ve Özkan, 1950) saptandıktan sonra, Güney Doğu Anadolu (Bremer ve ark., 1952), Marmara (Karahana, 1965) ve Ege Bölgesi'nde (Karaca ve Saygılı, 1977) tespit edilmiştir. Daha sonra hastalığın diğer bölgelerimizdeki varlığı ve yaygınlığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Çınar, 1980; Öktem, 1984; Özyılmaz, 2001; Şahin ve ark., 2002; Basım ve ark., 2004; Çetinkaya-Yıldız, 2007; Belgüzar, 2014). Hastalık iklim koşullarına bağlı olarak değişmekle birlikte, domates üretim alanlarında %100'e varan ürün kayıplarına neden olmaktadır.

Geniş bir konukçu çevresine sahip olan diğer bir etmen ise çilek başta olmak üzere bir çok kültür bitkisinde kurşuni küf olarak adlandırılan hastalığa sebep olan *Botrytis cinerea* Fr. (teleomorph: *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel)'dir. Birçok bitki üzerinde hastalık yapabilmek ve gelişebilme kabiliyetine sahiptir. Bitkilere gelişmesi için ideal bir beslenme yeri oluşturan yaralı kısımlardan ya da dokulardan giriş yaparlar. Konukçu bitkileri arasında domates marul, fasulye, salata, biber, patlıcan ve çilek gibi bitkiler yer almaktadır. Konidi, miselyum ve sclerot gibi değişik formlarda bitki artıkları üzerinde ve toprakta kışlar. Yağmur, rüzgar ve örtü altında hava akımları yardımıyla kolaylıkla yayılmaktadır. Hastalık etmeni toprak üstü tüm yeşil aksamalara saldırılmaktadır. Etkilenen meyve ve yapraklarda yumuşak çürüklük görülür. Fungal etmen gelişirken, grimsi ya da kurşuni renkte bir küf tabakası etkilenen alan üzerinde meydana gelir. Bu fungusun spor yığınları olup, hastalık etmeninin kurşuni ya da

gri küf ismini almasına da neden olmaktadır (Anonim, 2016).

Kurşuni küfün kontrolü birinci derecede fungusit uygulamaları ile gerçekleştirilmektedir (Sutton, 1991; Cooley ve ark., 1996). Aynı şekilde, domates bakteriyel solgunluk hastalığına karşı da kültürel önlemlere ek olarak etkili bir mücadele yöntemi bulunmamaktadır. Kültürel önlemin tek başına yetersiz olması, çiftçileri yoğun olarak kimyasal ilaç kullanımına yöneltmiştir. Kimyasal mücadele, kolay uygulanabilirliği, çabuk, kesin ve gözle görülebilir sonuçlar vermesi gibi özelliklere sahiptir. Ancak bu yararlarının yanı sıra, ilaçların sürekli, geliş güzel ve talimatlara uygun olmayan bir şekilde kullanımı sonucu çevre kirlenmesi, biyolojik dengenin bozulması, hastalık ve zararlı etmenlerin ilaçlara karşı direnç kazanması (Beever ve Brien, 1983; Baroffio ve ark., 2003; Milijasevic ve ark., 2009), gıda maddelerinde kalıntı sorunları gibi birçok sorunu da beraberinde getirmiştir (Yiğit, 1993). Bu nedenle son yıllarda organik tarım ve iyi tarım uygulamaları gibi uygulamalar önem kazanmaktadır. Bilindiği gibi dünyada yaklaşık 2000 üzerinde bitkiden uçucu yağ veya uçucu bileşikler elde edilmektedir (Başer, 2008).

Uçucu yağlar, doğada çabuk parçalanmaları, ürünler üzerinde kalıntı oluşturmamaları, insan ve doğaya olumsuz etkileri olmamasından dolayı özellikle hastalık ve zararlı kontrolünde ön plana çıkmaktadırlar. Bitkilerden elde edilen bazı uçucu yağların bitki hastalıklarının kontrolünde kullanımına yönelik birçok araştırma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar arasında *B. cinerea* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde etkinlik çalışmaları da mevcuttur. Özellikle *in vitro* koşullarda yürütülen bu çalışmaların bazıları *B. cinerea* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde etkili olmuş olup, alternatif mücadele olarak kullanılmaya potansiyeline sahiptirler (Daferera ve ark., 2003; Soylu ve ark., 2006; Vitoratos ve ark., 2013; Belgüzar ve ark., 2014; Yılmaz ve ark., 2014).

Bu bilgiler doğrultusunda, bu çalışma, *Origanum vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *Lippia citriodora* bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların *B. cinerea* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyali

Çalışmanın ana materyalini *Origanum vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *Lippia citriodora* bitki türleri oluşturmaktadır. Kullanılan bitki materyalleri 2012 yılında, Temmuz-Ağustos aylarında, uçucu yağ oranının en yüksek olduğu çiçeklenme döneminde, Tokat ili Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Araştırma ve Uygulama Merkezi arazisindeki üretim parsellerinden toplanmıştır. Toplanan bitkiler gölgede, havadar bir yerde kurutularak distilasyona hazır hale getirilmiştir. Bitki materyallerinin herbaryumu yapılarak Prof. Dr. İsa TELCİ tarafından teşhisleri yapılmıştır.

Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan *Botrytis cinerea* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatları Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji Laboratuvarı stok kültürlerinden temin edilmiştir. *Botrytis cinerea* izolatu çilek bitkisi meyvelerinden, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatu ise domates bitkisi iletim demetlerinden izole edilmiştir.

Uçucu Yağların *Botrytis cinerea*'ya Karşı Antifungal Etkisinin Saptanması

Origanum vulgare, *O. syriacum*, *O. onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *Lippia citriodora* bitki türlerinin uçucu yağları Neo-clevenger cihazı kullanılarak hidro-distilasyon yöntemi ile elde edilmiştir. *In vitro* deneme şeklinde yürütülen çalışmada, besi yeri olarak Patates Dekstroz Agar (PDA) (39 g/1000 ml saf su) kullanılmıştır. Bitki türlerinden elde edilen uçucu yağlardan 0.3 µl/ ml dozu ayarlanarak tek doz çalışması yapılmıştır. Hazırlanan doz 121°C'de 15 dk otoklav edilen PDA besi yerleri (besi yeri 45°C sıcaklıkta) içerisine katılmıştır. Hazırlanan besi yerleri 9 cm çaplı plastik petri kaplarına 15 ml olacak şekilde dökülmüştür. Kontrol grubu olarak uçucu yağ içermeyen steril PDA besi yeri kullanılmıştır. Stok kültürden daha önceden geliştirilen *B. cinerea*'ya ait 5 mm çapındaki miselyum diskleri PDA besi yerlerine ekildikten sonra 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Doz engelleme çalışmaları ise 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları ile yapılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak kurulmuş olup, kontrol grubu petrilerinde miselyumların petri yüzeyini tamamen kapladığı günde miselyum koloni çapları kumpas ile ölçülmüştür. Uçucu yağ eklenmiş petrilerdeki

patojenin miselyum gelişimleri, kontrol petrilerindeki gelişimler ile kıyaslanarak % engelleme oranları belirlenmiştir. Engelleme oranı, Deans ve Soboda (1990)'nın belirttiği formüle göre hesaplanmıştır.

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

MGI = Engelleme (%)

dc= Kontrol petrisindeki radial büyüme (mm)

dt= Uygulamalı petrideki radial büyüme (mm)

Denemeler süresince petrilerde gelişme göstermeyen fungusların misel parçaları, uçucu yağ içermeyen steril PDA besi yerlerine alınıp 1 hafta süreyle gözlenmiştir. Bu süre sonunda aktarma yapılan besi yerlerinde fungal koloni gelişimi gözlenmemişse, bu durumda gözlenen etki fungusidal, gelişim gözlenmişse fungistatik etki olarak kaydedilmiştir (Thompson, 1989; Tripathi ve ark., 2004).

Uçucu Yağların *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e Karşı Antibakteriyal Etkisinin Saptanması

Antifungal çalışmada olduğu gibi, 0.3 µl/ml dozu ile tek doz çalışması, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları ile doz engelleme çalışması yapılmıştır. Antibakteriyal çalışmada besi yeri olarak King B besi yeri (20 g Proteose peptone, 1,5 g K₂HPO₄ · 3H₂O, 1,5 g MgSO₄ · 7H₂O, 10 g Glycerol, 15 g Agar, 1000 ml Distile Su) kullanılmıştır. Dozları ayarlanan uçucu yağlar 121°C'de 20 dk otoklav edilen King B besi yerlerine (besi yeri 45°C sıcaklıkta) katılmıştır. Hazırlanan besi yerleri 9 cm çaplı plastik petri kaplarına 15 ml olacak şekilde dökülmüştür. Kontrol grubu olarak uçucu yağ içermeyen steril King B besi yeri kullanılmıştır. Daha sonra, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* kültüründen 10⁶ hücre/ml konsantrasyonunda hazırlanan süspansiyondan besi yerlerine ekim yapılmıştır. Uygulama yapılan petri kapları 28°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Her uygulama üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. İnkübasyon süresi sonunda besi yerlerinde gelişen bakteri koloni sayımları yapılmıştır. Uçucu yağ eklenmiş petrilerdeki *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* koloni sayıları, kontrollerdeki koloni sayıları ile kıyaslanarak % engelleme oranları belirlenmiştir. Engelleme oranı, antifungal denemenin değerlendirilmesinde kullanılan Deans ve Soboda (1990)'nın belirttiği formüle göre hesaplanmıştır.

Verilerin analizi

Elde edilen veriler varyans analizi (ANOVA) ve muameleler arasındaki farklılıklar çoklu karşılaştırma

testi (Duncan) ile karşılaştırılmıştır. Deneme sonucunda elde edilen veriler POLO-PC (LEORA Software, 1994) paket programı kullanılarak probit analizine tabi tutulmuş ve LC₅₀ slope ve intercept değerleri hesaplanmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

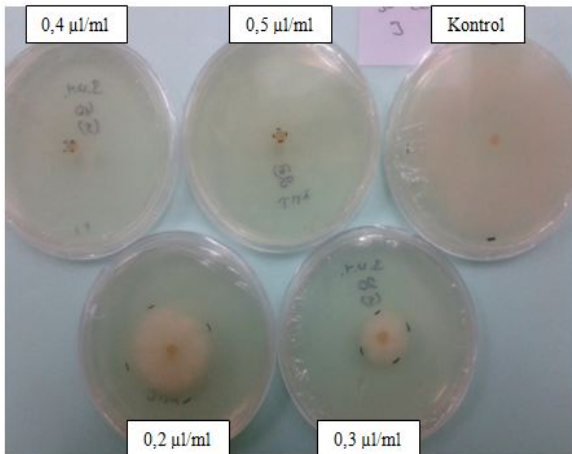
Origanum vulgare, *O. syriacum*, *O. onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *Lippia citriodora* bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların *Botrytis cinerea* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişimi üzerine etkileri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Uçucu yağların (0.3 µl/ml) *Botrytis cinerea* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerine kontak etkisi

Uçucu Yağlar	Engelleme oranı (%)	
	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
<i>Origanum vulgare</i>	100,0a*	100,0a
<i>Origanum syriacum</i>	82,6b	100,0a
<i>Origanum onites</i>	68,0c	100,0a
<i>Mentha piperita</i>	50,9d	78,1b
<i>Mentha spicata</i>	36,0e	78,9b
<i>Lippia citriodora</i>	31,3e	100,0a
<i>Mentha dumetorum</i>	21,9f	66,7c
Kontrol	0,0g	0,0d
LSD	6,2	2,2

*Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak ($p \leq 0.05$) birbirinden farklıdır.

Tablo 1 incelendiğinde, tek doz çalışmasında (0.3 µl/ml) *B. cinerea*'nin miselyum gelişimini *Origanum vulgare* uçucu yağ %100 oranında, *O. syriacum* %82,6 oranında, *O. onites* %68 oranında, *Mentha piperita* %50,9 oranında, *M. spicata* %36 oranında, *Lippia citriodora* %31,3 oranında ve *M. dumetorum* %21,9 oranında engellemiştir.



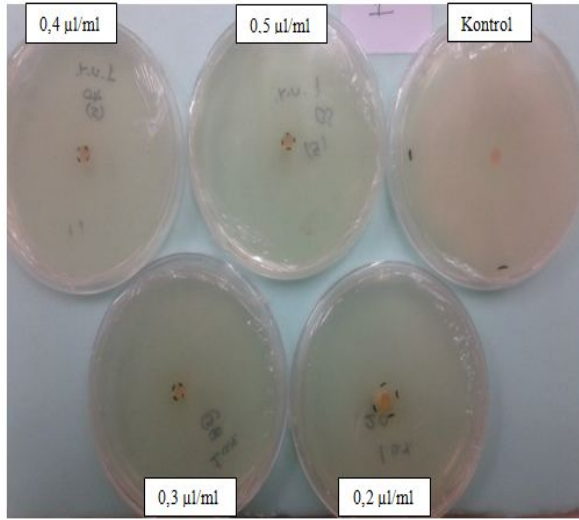
Şekil 1: *Origanum onites*'in farklı dozlarının *B. cinerea*'nin miselyum gelişimine etkisi.

Antibakteriyal etki çalışmasında ise, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişimi

üzerinde, *Origanum vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites* ve *Lippia citriodora* bitki türlerinden elde edilen uçucu yağlar %100 oranında etkili olmuştur. *Mentha spicata* uçucu yağı *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* gelişimini %78,9 oranında, *M. piperita* %78,1 oranında ve *M. dumetorum* %66,7 oranında engellemiştir. Çalışmada kullanılan uçucu yağların hepsinin de her iki patojen üzerine olan etkisi kontrole göre istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

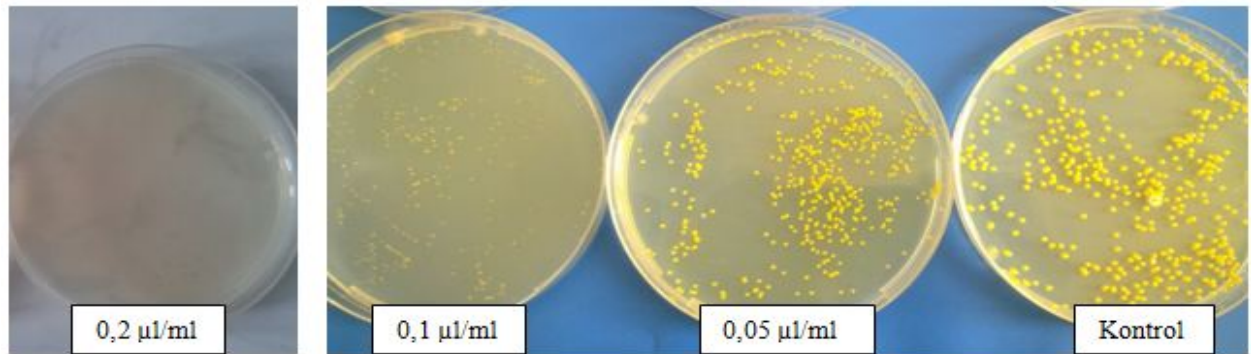
Elde edilen verilere göre, *M. piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *L. citriodora* türleri *B. cinerea* üzerinde etkili olmamıştır. Bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların patojenler üzerindeki etkileri, doz artışına paralel olarak artmıştır. *Origanum vulgare*, *O. syriacum* ve *O. onites*'den elde edilen uçucu yağların 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları *B. cinerea* gelişimini %93,82 oranında engellemiştir (Şekil 1). *O. vulgare* ve *L. citriodora* türlerinin 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları, *O. syriacum* ve *O. onites* türlerinin 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişimini tamamen engellemiştir. Doz engelleme çalışmalarına ait sonuçlar Tablo 2, Tablo 3, Tablo 4 ve Tablo 5'te verilmiş olup, her iki etmen için *O. vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites* ve *L. citriodora* uçucu yağlarının LC₅₀ değerleri ayrı ayrı hesaplanmıştır. *B. cinerea*

üzerinde en yüksek engelleme etkisi 0.094 $\mu\text{l/ml}$ LC_{50} değeriyle *O. vulgare* uçucu yağında elde edilirken, bunu sırasıyla 0.12, 0.148 ve 0.392 $\mu\text{l/ml}$ LC_{50} değerleriyle *O. syriacum*, *O. onites* ve *L. citriodora* uçucu yağları takip etmiştir (Şekil 2). Uçucu yağların LC_{50} değerleri *B. cinerea* üzerindeki toksisitelerinin farklı olduğunu ortaya koymuştur. Bu farkın uçucu yağların aktif bileşenlerinin ve bu aktif bileşenlerin oranlarının farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Probit analiz verileri eğim değerlerinin 2.89 ile 4.09 arasında değiştiğini göstermektedir (Tablo 2, 3, 4, ve 5).



Şekil 2: *Origanum vulgare*'in farklı dozlarının *B. cinerea*'nın miselyum gelişimine etkisi.

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* üzerinde ise en yüksek engelleme etkisi 0.07 $\mu\text{l/ml}$



Şekil 3. *Lippia citriodora*'nın farklı dozlarının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişimine etkisi.

Tablo 2. *Origanum vulgare* uçucu yağıyla yapılan doz-engelleme testlerinden elde edilen verilerin probit analiz parametreleri

Patojenler	Eğim \pm standart hata	LC_{50} ($\mu\text{l/ml}$) (güven aralığı)
<i>Botrytis cinerea</i>	4.09 \pm 0.173	0.094 (0.073-0.117)
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	6.06 \pm 0.26	0.163 (0.149-0.177)

LC_{50} değeriyle *L. citriodora* uçucu yağında elde edilirken bunu sırasıyla 0.122, 0.122 ve 0.163 $\mu\text{l/ml}$ LC_{50} değerleriyle *O. syriacum*, *O. onites* ve *O. vulgare* uçucu yağları takip etmiştir (Tablo 2, 3, 4, ve 5) (Şekil 3).

Uçucu yağların LC_{50} değerleri *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki toksisitelerinin farklı olduğunu ortaya koymuştur. Aynı şekilde bu farkın uçucu yağların aktif bileşenlerinin ve bu bileşenlerin oranlarının farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Probit analiz verileri eğim değerlerinin 4.23 ile 6.06 arasında değiştiğini göstermektedir (Tablo 2, 3, 4, ve 5). Yine bu bulgular uçucu yağların etkinliklerinin patojenlere göre de farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. *L. citriodora* uçucu yağının antibakteriyel etkisinin antifungal etkisinden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Elde edilen sonuçlar, Daferera ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışma ile benzerlik göstermektedir. Daferera ve ark. (2003), *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *O. dictamnus*, *O. majorana*, *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia fruticosa*, *Mentha pulegium* bitki türlerinden elde edilen uçucu yağlarının *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'ye karşı etkilerini araştırdıkları çalışmada, suni besi yerlerinde kekik, gazel otu ve güvey otu yağlarının düşük konsantrasyonlarının (85-300 $\mu\text{g/ml}$) her üç patojenin gelişimini tamamen engellediğini, lavanta, biberiye, adaçayı ve fesleğen yağlarının ise 1000 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha yüksek konsantrasyonlarda etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Benzer şekilde, Vitoratos ve ark. (2013) *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*, *Thymus vulgaris* L. ve *Citrus limon* L. bitkilerinden elde edilen uçucu yağların *B. cinerea*, *Penicillium digitatum* ve *P.italicum* üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada, uçucu yağlar patojenlerin spor çimlenmeleri üzerinde

etkili olmuştur. *B. cinerea* üzerinde *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* 0,02 µl/ml gibi düşük bir dozda etkili olmuştur. Yapılan *in vivo* testlerde de *B. cinerea* üzerinde *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* 0.3 µl/ml dozunda etki göstermiştir.

Tablo 3. *Origanum syriacum* uçucu yağıyla yapılan doz-engelleme testlerinden elde edilen verilerin probit analiz parametreleri

Patojenler	Eğim ± standart hata	LC ₅₀ (µl/ml) (güven aralığı)
<i>Botrytis cinerea</i>	2.98±0.118	0.120 (0.104-0.137)
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	4.23±0.16	0.122 (0.104-0.141)

Uçucu yağların *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e olan etkilerinin araştırıldığı benzer bir çalışmada ise, *Thymbra spicata* subsp. *spicata*, *Origanum syriacum* var. *bevanii*, *Mentha spicata* ve *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* uçucu yağları kullanılmıştır. Uçucu yağlar içerisinde *Clavibacter*

michiganensis subsp. *michiganensis* üzerinde en etkili *Thymbra spicata* subsp. *spicata* olmuştur. Bunu takiben *Origanum syriacum* var. *bevanii* ve *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* uçucu yağları da *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde etkili olmuştur (Soylu ve ark., 2006).

Tablo 4. *Origanum onites* uçucu yağıyla yapılan doz-engelleme testlerinden elde edilen verilerin probit analiz parametreleri

Patojenler	Eğim ± standart hata	LC ₅₀ (µl/ml) (güven aralığı)
<i>Botrytis cinerea</i>	2.89±0.114	0.148(0.121-0.178)
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	4.23±0.16	0.122(0.104-0.141)

Tablo 5. *Lippia citriodora* uçucu yağıyla yapılan doz-engelleme testlerinden elde edilen verilerinin probit analiz parametreleri

Patojenler	Eğim ± standart hata	LC ₅₀ (µl/ml) (güven aralığı)
<i>Botrytis cinerea</i>	3.22±0.187	0.392 (0.359-0.434)
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	5.84±0.341	0.070 (0.669-0.732)

Elde edilen sonuçlar diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. *Lippia citriodora* uçucu yağının antifungal ve antibakteriyel etkiye sahip olduğu önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (Combrinck ve ark., 2011, Ansari ve ark., 2012). Benzer şekilde, Tanovic ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı 17 adet uçucu yağın 0.65 µl/ml konsantrasyonda patojenin gelişimini kısmen veya tamamen engelledikleri belirtilmiştir. Yine bir diğer çalışmada, Yılmaz ve ark. (2014), bazı ticari sabit ve uçucu yağların domates bakteriyel kanser ve solgunluk etmeni üzerine antibakteriyel etkilerini araştırmışlardır. Uçucu yağların antibakteriyel etkisi inhibisyon zon çapları (mm) dikkate alınarak agar kuyu difüzyon yöntemine göre belirlenmiştir. Toplam 34 uçucu yağdan 18 adeti *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde %67 ve üzerinde engelleyici etki göstermiştir. Kullanılan uçucu

yağların tamamı antibakteriyel etki göstermiştir. Belgüzar ve ark. (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada ise, kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinden elde edilen su ekstraktı ve uçucu yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada uçucu yağın fumigant etki gösterdiği ve petri kabı kapağına yapıştırılmış kurutma kağıtlarına 20 µl oranında uçucu yağın damlatılması ile *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* gelişimini %100 oranında engellediği belirlenmiştir.

Bitki ekstrakt ve uçucu yağlarının hastalık etmenlerinin gelişimini baskılama etkileri bünyelerinde bulundukları fenoller gibi sekonder metabolitlerden kaynaklanmaktadır (Yonucu, 1997).

Örneğin, *Origanum* türlerinin yüksek antifungal etkisinin uçucu yağların fenolik maddeleri olan thymol ve carvacrol, terpinen, *p-simen*'e bağlı olduğu bildirilmektedir (Çakır, 1992). Aynı şekilde Baydar ve

ark. (2004), *Origanum* türlerinin uçucu yağlarının antimikrobiyal etkisinin içeriklerinde bulunan yüksek miktardaki carvacrol'den kaynaklandığını bildirmişlerdir. Diğer birçok araştırmacı da carvacrolün yüksek düzeyde antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Panizi ve ark., 1993; Mullerriebau ve ark., 1995; Sivropoulou ve ark., 1996; Aligiannis ve ark., 2001).

SONUÇ

Origanum vulgare, *O. syriacum*, *O. onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *Lippia*

citriodora bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların *Botrytis cinerea* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, kontrolle kıyaslandığında özellikle *Origanum* ve *Lippia* türlerinin etmenler üzerinde farklı düzeylerde engelleyici etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Elde edilen bulgular, çalışmada kullanılan bitkilerden elde edilen uçucu yağların özellikle *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* gibi mücadelesi zor olan birçok patojene karşı kullanılabilir potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Aligiannis N., Kalpoutzakis E., Mitaku S., Chinou IB. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49, 4168–4170.
- Anonim (2016). <http://www.bitkisagligi.net>. *Botrytis cinerea*, Kurşunu Küf. 02.01.2016.
- Ansari M., Larijani K., Saber-Tehrani M. (2012). Antibacterial activity of *Lippia citriodora* herb essence against *MRSA Staphylococcus aureus* African Journal of Microbiology Research Vol. 6(1), pp. 16-19.
- Baroffio CA., Siegfried W., Hilber, UW. (2003). Long-term monitoring for resistance of *Botryotinia fruckeliana* to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, and hydroxyanilide fungicides in Switzerland. *Plant Dis.* 87:662-666.
- Basım E., Basım H., Dickstein ER., Jones JB. (2004). Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse-grown tomato in the Western Mediterranean Region of Turkey, *Plant Disease*, 88:1048.
- Baydar H., Sagdic O., Ozkan G., Karadoğan T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control* 15, 169–172.
- Beever RE., Brien HMR. (1983). A survey of resistance to the dicarboximide fungicides in *Botrytis cinerea*. *N. Z. J. Agric. Res.* 26:391-400.
- Başer KHC. (2008). Biological and pharmacological activities of carvacrol ve carvacrol bearing essential oils. *Current Pharmaceutical Design*, 14 (29) : 3, 106-119.
- Belgüzar S. (2014). Tokat Yöresinde Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'nin Tanınması ve Epidemiyolojisi Üzerine Araştırmalar. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, TOKAT.
- Belgüzar S., Yılar M., Yanar Y., Kadioğlu İ., Doğan G. (2014). *Thymus vulgaris* (Kekik) Ekstrakt ve Uçucu yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, 3-5 Şubat 2014, Antalya, sayfa 362.
- Combrinck S., Regnier T., Kamatou GPP. (2011). *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit, *Industrial Crops and Products*, 33 (2), 344-349.
- Cooley DR., Wilcox WF., Kovach J., Schloemann G. (1996). Integrated pest management programs of strawberries in The Northeastern in The United State. *Plant Dis.* 80:228-237.
- Çakır C. (1992). Antalya ve Çevresindeki Doğal Olarak Yerleştirilen Bazı Bitkilerin Fungitoksik Potansiyellerinin Araştırılması. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Çetinkaya-Yıldız R. (2007). Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.)'nin Tanınması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler İle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması. (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Adana.
- Çınar Ö. (1980). Bakteriyel Domates Solgunluğu Hastalığı (*Corynebacterium michiganense* (Erwin. F. Smith) Jensen)'nin Tanımı, Savaş Yöntemleri ve Etmene Karşı Dayanıklı Domates Çeşitleri Üzerine Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 139- Bilimsel Araştırma ve İnceleme Tezleri.
- Daferera DJ., Ziogas BN., Polissiou MG. (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.
- Deans SG., Sobada KP. (1990). Antimicrobial Properties of Marjoram (*Origanum marjorana* L.) Volatile Oil, *Flavour Fragr. J. S.* 187-190.
- Gleason ML., Gitaitis RD., Ricker MD. (1993). Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in Eastern North America. *Plant Disease*, 77:1069-1076.
- Leora Software (1994). Polo-Pc: Probit and Logit Analysis, Berkeley, CA, the USA.
- Milijasevic S., Todorovic B., Potocnik I., Rekanovic E., Stepanovic M. (2009). Effects of Copper-based Compounds, Antibiotics and a Plant Activator on Population Sizes and Spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in Greenhouse Tomato Seedlings. *Pestic. Phytomed.* (Belgrade), 24, 19-27.
- Mullerriebau FB., Berger-Yegen O. (1995). Chemical composition and fungitoxic properties of phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(8), 2262–2266

- Öktem YE. (1984). Domates bakteriyel solgunluğu (*Corynebacterium michiganense*)'nun Ankara İlindeki yayılışı, etmenin toprak ve bitkiden izolasyonu ile bitki artıklarında yaşama süresi üzerine çalışmalar. Türkiye'de Sertifikalı ve Kontrollü Tohumluk Üretim ve Dağıtım Sorunları Sempozyumu, 8-10 Şubat, s 27, Ege Üniversitesi, Atatürk Kültür Merkezi, İzmir.
- Özyılmaz Ü. (2001). Aydın İlinde Sera Domateslerinde Toprak Kaynaklı Bakteriyel Hastalıkların Saptanması. (Yüksek Lisans Tezi), Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Aydın.
- Panizi L., Flamini G., Cioni PL., Morelli I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology* 39, 167–170.
- Sherf AF., Macnab AA. (1986). Vegetable diseases and their control. A Wiley Interscience Publication, New York, 711 p.
- Sivropoulou A., Papanicalaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 1202–1205.
- Soylu S., Soylu EM., Baysal Ö., Zeller W. (2006). Antibacterial activities of the essential oils from medicinal plants against the growth of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases, Seeheim, Darmstadt, Germany, 23-26 October, 2005.
- Sutton TB. (1991). Compendium of Apple and Pear Diseases. White Rot. Pages 16-18 in: A.L. Jones and H. Aldwinckle, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Şahin F., Uslu H., Kotan R., Dönmez MF. (2002). Bacterial canker, caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, on tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey. *Plant Pathology*, 51, 399.
- Tanovic B., Milijasevic S., Obradovic A. (2007). In vitro effect of plant essential oils on growth of some soil-borne pathogens. *Acta Horticulturae*, 729, 467-470.
- Thompson DP. (1989). Fungitoxic activity of essential oil components on food storage fungi. *Mycologia* 81: 151-153.
- Tokgönül S. (1998). Ticari Domates Tohumlarında Bakteriyel Solgunluk Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'nin Saptanması ve Etmene Karşı Mücadele Olanakları Üzerinde Araştırmalar. (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana.
- Tripathi P, Dubey NK., Banerji R., Chansouria JPN. (2004). Evaluation of some essential oils as botanical fungi toxicants in management of post-harvest rotting of citrus fruits. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20: 317-321.
- Vitoratos A., Bilalis D., Karkani A., Efthimiadou A. (2013). Antifungal Activity of Plant Essential Oils Against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Not Bot Horti Agrobo*, 41(1):86-92.
- Yılmaz M., Kavak S., Baysal Ö. (2014). Bazı Ticari Sabit ve Uçucu Yağların Domates Bakteriyel Kanser ve Solgunluk Etmeni Üzerine Antibakteriyel Etkileri. Araştırma Makalesi/Research Article Derim, 31 (1):50-60.
- Yiğit F. (1993). Domateslerde Erken Yanıklık Hastalığına Karşı Biyolojik Savasta *Verticillium psalliotae* Treschow'nin Etkinliği Üzerinde Araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi), Ege Üniversitesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı, İZMİR.
- Yonucu N. (1997). Bitki Ekstrakt ve Kompostlarının Çukurova Bölgesinde Sorun Olan Bazı Fungal Hastalıklara Karşı Antifungal Özelliklerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.

Geliş Tarihi/ Received: Nisan/April, 2016

Kabul Tarihi/ Accepted: Mayıs/May, 2016

To Cite:	Yanar Y., Belguzar S., and Telci I. 2016. Antimicrobial activities of <i>Origanum spp.</i> , <i>Mentha spp.</i> and <i>Lippia sp.</i> Species Essential Oils Against <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> and <i>Botrytis cinerea</i> (In Turkish with English Abstract). <i>Turk J Weed Sci</i> , 19(1):18-25.
Alıntı için:	Yanar Y., Belguzar S., ve Telci I. 2016. <i>Origanum spp.</i> , <i>Mentha spp.</i> ve <i>Lippia sp.</i> Türlerine Ait Uçucu Yağların <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ve <i>Botrytis cinerea</i> 'ya Karşı Antimikrobiyal Etkisi. <i>Turk J Weed Sci</i> , 19(1):18-25.