

Thymus vulgaris L. (Kekik) Ekstrakt ve Uçucu Yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Üzerine Antibakteriyel Etkisi

Sabriye BELGÜZAR^{1*}, Melih YILAR², Yusuf YANAR¹, İzzet KADIOĞLU¹, Gizem DOĞAR¹

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

² Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kırşehir

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

ÖZET

Bu çalışma, Mersin İlinden toplanan Kekik (*Thymus vulgaris* L.) bitkisinden elde edilen su ekstraktı ve uçucu yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki antibakteriyel etkisinin belirlenmesi amacıyla *in vitro* koşullarda yürütülmüştür. Bitkiden elde edilen su ekstraktı son konsantrasyon %0.5, %1, %2, %4 ve %8 olacak şekilde Pseudomonas Agar F (PSF) besi yerine ilave edilmiştir. *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* kültüründen 10⁶ hücre/ml konsantrasyonunda hazırlanan süspansiyondan ekstraktlı besi yerlerine ekim yapılmıştır. Uçucu yağ çalışmasında ise uçucu yağ 3 farklı yöntemde (besi yerine katılması, petri kapağına yapıştırılan kurutma kağıdına uçucu yağ emdirme ve agar kuyucuk difüzyon) ve 4 farklı dozda (5, 10, 15 ve 20 µl/ml) uygulanmıştır. Kontrol grubu olarak ekstrakt ve uçucu yağ içermeyen PSF besi yeri kullanılmıştır. Deneme dört tekrerrürlü olarak kurulmuş olup, 2 kez tekrarlanmıştır. 28°C'de 3 günlük inkübasyon süresi sonunda ekstrakt çalışmasında koloni sayımı, uçucu yağda ise inhibisyon zon ölçümü ve koloni sayımı yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, *T. vulgaris* ekstraktının katıldığı besi yerlerinde doz artışına paralel olarak *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* koloni sayısının azaldığı, %8'lik konsantrasyonda ise *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişiminin tamamen engellendiği belirlenmiştir. Uçucu yağ çalışmasında ise petri kabı kapağına yapıştırılmış kurutma kağıtlarına uçucu yağın emdirilmesinin en etkili yöntem olduğu ve 20 µl/ml'lik dozun *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişimini %99.39 oranında engellediği belirlenmiştir. Sonuç olarak, *T. vulgaris* ekstrakt ve uçucu yağı antibakteriyel madde olarak kullanılmaya potansiyeline sahiptirler. *T. vulgaris* ekstrakt ve uçucu yağının *in vitro* etkisinin ve fitotoksik etkisinin belirlenmesine yönelik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Thymus vulgaris* L., *Clavibacter michiganensis*, ekstrakt, uçucu yağ, antibakteriyel.

Antibacterial Activities of *Thymus vulgaris* L. (Thyme) Extract and Essential Oil Against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

ABSTRACT

This study was performed to determine antibacterial effects of Thyme (*Thymus vulgaris* L.), that collected Mersin, aqueous extract and essential oil against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* under *in vitro* conditions. Aqueous extract of the plant was adjusted to get final concentrations of 0.5%, 1%, 2%, 4%, 8% than were added Pseudomonas Agar F (PSF) medium. 10⁶ cells/ml of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* suspension was plated on the medium containing the extract. In antibacterial activity tests, three different method were used for application of thyme essential oil, mixing in medium, filter paper impregnation and well diffusion methods. Four different dose (5, 10, 15 and 20 µl/ml) of essential oil were tested. The plain PSF medium was used as a control in each test. Experiment was set up with four replications and repeated twice. At the end of incubation period (28°C for 3 days), colony count in extract study, and measurement of inhibition zone and colony count in essential oil study was performed. According to the results, colony number of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* was decreased with increase in dose of *T. vulgaris* extract and 8% extract concentration resulted in 100% colony growth inhibition. In essential oil study, filter paper impregnation was the most effective method and 20 µl/ml essential oil of *T. vulgaris* inhibited 99.39% colony growth of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*. In conclusion, thymus extract and essential oil have potential to use as antibacterial agents. Further studies should be performed to determine the invitro efficacies and phytotoxic effects of thymus extract and essential oil.

Keywords: *Thymus vulgaris* L., *Clavibacter michiganensis*, extract, essential oil, antibacterial.

GİRİŞ

Ülke ekonomisinde çok önemli bir yeri olan domates (*Lycopersicum esculentum* Miller) yetiştirme yapılan bölgelerde çiftçimizin önemli gelir kaynaklarından birisini oluşturmaktadır. Dünya’da ve Türkiye’de taze ve işlenerek tüketimi en başta gelen sebzeler arasında yer almaktadır. Ülkemizde yaygın olarak üretimi yapılan domates bitkisinin diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi fitopatolojik sorunları vardır. Domateslerde fungal ve viral hastalık etmenlerinin yanı sıra pek çok bakteriyel etmen de önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Karaca ve Saygılı, 1982). Bu bakteriyel hastalıklardan birisi de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis ve ark.’in neden olduğu domates bakteriyel solgunluk hastalığıdır. *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, dünya çapında domates üretimini kısıtlayan en önemli bakteriyel etmenlerden birisidir. *Solanaceae* familyasından biber ve patlıcanda da hastalık oluşturabilme yeteneğindeki etmen sadece domateste ekonomik zarar meydana getirir. Hem örtü altı hem de açık alanda yapılan domates üretimini olumsuz etkilemektedir. *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* sistemik yayılan bir hastalık etmeni olması nedeniyle genelde infekteli tohumlarla taşınmakta, ayrıca hastalıklı bitki artıkları ve bulaşık topraklarla gelecek üretim sezonuna aktarılarak büyük ürün kayıpları meydana getirebilmektedir (Çetinkaya-Yıldız ve Aysan, 2008).

Domates bakteriyel solgunluk hastalığına karşı etkili bir mücadele yöntemi olmadığından çok sayıda ülkede ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Domates bakteriyel solgunluk hastalığına karşı etkili bir kimyasal bulunmamaktadır. Zaten günümüzde kimyasal mücadele çevre kirlenmesi, biyolojik dengenin bozulması,

hastalık ve zararlı etmenlerin ilaçlara karşı direnç kazanması gıda maddelerinde kalıntı oluşturması gibi birçok sorunları da meydana getirmektedir (Beever ve Brien, 1983; Yiğit, 1993; Baroffio ve ark., 2003; Milijasevic ve ark., 2009). Bu yüzden kimyasal mücadeleye alternatif kültürel önlemlere ek olarak çeşitli uygulamalar yapılmaktadır. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların ve ekstraktların kullanımı da bu uygulamalardan birisidir. Uçucu yağ ve ekstraktlar insana ve doğaya olumsuz bir etki yapmadığından ve ürünler üzerinde kalıntı problemi oluşturmadığından bitki hastalıkları ile mücadelede kullanılabilir. Bitki hastalıklarının kontrolünde uçucu yağların ve ekstraktların kullanımı ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar arasında domates bakteriyel solgunluk hastalığına karşı yapılan uygulamalar da mevcuttur. Çeşitli çalışmalar ile, *Origanum vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites*, *O. dictamnus*, *O. majorana*, *O. syriacum* var. *bevanii* *Thymus vulgaris*, *T. capitatus*, *Lavandula angustifolia*, *L. stoechas* subsp. *Stoechas*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia fruticosa*, *Mentha pulegium*, *Thymbra spicata* subsp. *spicata*, *Lippia citriodora* bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların domates bakteriyel solgunluk hastalık etmeni üzerinde etkili olduğu ve alternatif mücadele olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir (Basım ve ark., 2000; Daferera ve ark., 2003; Dimitra ve ark., 2003; Iacobellis ve ark., 2005; Kızıl ve Uyar, 2006; Soylu ve ark., 2006; Tanovic ve ark., 2007; Kotan ve ark., 2010; Yılmaz ve ark., 2014; Yanar ve ark., 2016).

Bu bilgiler doğrultusunda, bu çalışma, kekik (*T. vulgaris* L.) bitkisinden elde edilen su ekstraktı ve uçucu yağının *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*

üzerindeki antibakteriyel etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyali

Çalışmanın ana materyalini, kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisi oluşturmaktadır. Kullanılan bitki materyali 2012 yılında, Temmuz-Ağustos aylarında, uçucu yağ oranının en yüksek olduğu çiçeklenme döneminde, Mersin ilinin Erdemli ilçesinden toplanmıştır. Toplanan bitkiler gölgede, havadar bir yerde kurutularak, ekstraksiyona ve distilasyona hazır hale getirilmiştir.

Kullanılan Bitki Patojeni

Çalışmada kullanılan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatı (Cmm-PK-1 kodlu izolat) 2012 yılında Tokat ili Şenyurt Kasabası domates üretim alanlarından izole edilmiş olup, Fitopatoloji laboratuvarında stok kültür olarak -20°C' de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

***Thymus vulgaris* Ekstraktının Antibakteriyel Etkisinin Saptanması**

Çalışmada kullanılan bitki materyali kurutulduktan sonra öğütülmüş, 400 gr tartılarak plastik bidonlara konulmuştur. Bitki materyalinin üzerine 4 litre saf su eklenerek orbital çalkalayıcıda 120 rpm'de 1 gün (24 saat) bekletilmiştir. Filtre kağıdı ile steril erlenmayerlere süzülen ekstrakt, 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra kullanıma hazır hale getirilmiştir. Çalışmada, besi yeri olarak *Pseudomonas* Agar F (PSF; Proteose peptone 10 g, Tryptone 10 g, Magnesium sulfate heptahydrat 1.5 g, Dipotassium hidrogen 1.5 g, Gliserin 10 ml, Agar 15 g, Distile su 1000 ml) kullanılmıştır. *T. vulgaris*'den elde edilen ekstrakt son konsantrasyon %0.5, %1, %2, %4 ve %8 olacak şekilde, besi yeri otoklav edilmeden önce, besi yerine eklenmiştir. Ekstrakt

katılarak hazırlanan besi yerleri otoklavda 121°C'de 20 dakika sterilize edilmiştir. Sterilize edilen karışımdan her bir steril plastik petrilere 15 ml dökülmüştür. 72 saatlik PSF besi yerinde geliştirilmiş olan bakteri kültüründen spektrofotometrede 600 nm'de 0.2 absorbans değerinde (10^6 hücre/ml yoğunluğunda) bakteri solüsyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan bakteri solüsyonundan 100 µl alınıp besi yerlerine bir baget yardımı ile ekim yapılmıştır. Her bir uygulama 4 tekerrürlü olarak yapılmış olup, uygulama yapılan petrilere 28°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontroldeki gelişimler gözlemlenerek uygulamadan 3 gün sonra petrilere koloni sayımı yapılmıştır. Çalışma 2 kez tekrarlanmıştır.

***Thymus vulgaris* Uçucu Yağının Antibakteriyel Etkisinin Saptanması**

Çalışmada kullanılan bitki materyali kurutulduktan sonra distilasyona hazır hale getirilmiştir. Su distilasyonu ile uçucu yağ elde etmek amacıyla Neo-clevenger aparatı kullanılmıştır. 500 gram tartılan bitki materyali şilifli balonlar içerisine alınmıştır. Üzerine 400 ml saf su ilave edilmiş ve 2 saat süreyle distilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Bitkiden elde edilen uçucu yağın antibakteriyel etkisi, uçucu yağ besi yerine katma, petri kapağına yapıştırılan kurutma kağıdına uçucu yağ emdirme ve agar kuyucuk difüzyon olmak üzere 3 yöntem ve 5, 10, 15 ve 20 µl/ml olmak üzere 4 farklı doz kullanılarak yapılmıştır.

Uçucu Yağı Besi Yerine Katma Yöntemi

Her bir doz için 250 ml'lik erlenmayerlere 100 ml PSF besi yeri hazırlanmıştır. Hazırlanan besi yerleri otoklavda 121°C'de 20 dakika steril edilmiştir. Sterilize edilen besi yerlerinin her birine uçucu yağ dozları sırasıyla (5 µl, 10 µl, 15 µl, 20 µl) mikropipet ile katılmış ve besi yeri steril plastik petrilere

15 ml olacak şekilde dökülmüştür. PSF besi yerinde 72 saat geliştirilmiş olan bakteri kültüründen bakteri solüsyonu hazırlanmıştır. 10^6 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan bakteri solüsyonundan 100 µl alınıp besi yerleri bulunan petrilere bir baget yardımı ile ekim yapılmıştır. Her bir uygulama 5 tekerrürlü olarak yapılmış olup, uygulama yapılan petrilere 28°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontroldeki gelişimler gözlemlenerek uygulamadan 3 gün sonra petrilere koloni sayımı yapılmıştır. Çalışma 2 kez tekrarlanmıştır.

Petri Kapağına Yapıştırılan Kurutma Kağıdına Uçucu Yağ Emdirme Yöntemi

1000 ml'lik erlenmayere 500 ml PSF besi yeri hazırlanmıştır. Hazırlanan besi yerleri otoklavda 121 °C'de 20 dakika steril edilmiştir. Hazırlanan besi yeri steril plastik petrilere 15 ml olacak şekilde dökülmüştür. PSF besi yerinde 72 saat geliştirilmiş olan bakteri kültüründen bakteri solüsyonu hazırlanmıştır. 10^6 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan bakteri solüsyonundan 100 µl alınıp besi yerleri bulunan petrilere bir baget yardımı ile ekim yapılmıştır. Besi yerleri donduktan sonra, petri kaplarının kapaklarına steril kurutma kağıdı yapıştırılmış ve kurutma kağıtlarına mikropipet yardımı ile belirlenen dozlarda (5 µl, 10 µl, 15 µl, 20 µl) uçucu yağ emdirilmiştir. Kontrol grubu olarak kurutma kağıdına 20 µl steril saf su emdirilmiştir. Her bir uygulama 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Petrilere etrafı parafilm ile kapatılmış ve 28°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Uygulamadan 3 gün sonra besi yerinde oluşan inhibisyon zon ölçülmüş ve koloni sayımı yapılmıştır. Çalışma 2 kez denlenmiştir.

Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi

Kurutma kağıdına uçucu yağ emdirme yönteminde olduğu gibi, bakteri ekiminin

yapıldığı besi yerlerinde koch-borer (mantar delici) ile 5 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Hazırlanan uçucu yağdan 5, 10, 15 ve 20 µl dozlarında alınarak açılan kuyucuklara damlatılmıştır. Kontrolde ise kuyucuğa 20 µl steril saf su damlatılmıştır. Her bir uygulama 3 tekerrürlü olarak yapılmış olup, uygulama yapılan petrilere 28°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Uygulamadan 3 gün sonra besi yerinde oluşan inhibisyon zon ölçülmüş ve koloni sayımı yapılmıştır. Çalışma 2 kez denlenmiştir.

Verilerin Değerlendirilmesi ve Analizi

Uygulama yapılan petrilere koloni sayıları ile kontrol petrilere koloni sayıları kıyaslanarak % engelleme oranları belirlenmiştir. Engelleme oranı, Deans ve Soboda (1990)'nın belirttiği formüle göre hesaplanmıştır. Elde edilen veriler SPSS (SPSS, Inc., 2007 version 16) paket programı ile varyans analizine tabi tutulmuştur. Ortalamaların karşılaştırılmasında çoklu karşılaştırma testi TUKEY kullanılmıştır.

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

$$MGI = \text{Engelleme } (\%)$$

$$dc = \text{Kontrol petrisindeki koloni sayısı}$$

$$dt = \text{Uygulama yapılan petrideki koloni sayısı}$$

BULGULAR ve TARTIŞMA

***Thymus vulgaris* Ekstraktının Antibakteriyal Etkisinin Saptanması**

Thymus vulgaris ekstraktının antibakteriyal etkisini belirleme çalışmasında, uygulama yapılan petrilere bakteri gelişimleri takip edilerek, koloni sayımları yapılmıştır. %0.5, %1, %2, %4 ve %8'lik dozlarda, ekstrakt dozu arttıkça *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki engelleme oranı da artmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. *Thymus vulgaris* Ekstraktının Farklı Dozlarının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Üzerindeki Etkisi

Dozlar	Engelleme oranı (%)
Kontrol	0 a*
% 0,5	29.87b
% 1	36.02bc
% 2	41.11 c
% 4	63.05 d
% 8	100 e

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

Ekstraktı besi yerine katma metodunun yüzde engellemelerine bakıldığında, %0.5'lik dozda %29.87, %1'lik dozda %36.02, %2'lik dozda %41.11, %4'lük dozda %63.05, %8'lik dozda %100 engelleme oranı tespit edilmiştir.

Tablo 2. Yöntemler Bazında Uçucu Yağın Farklı Dozlarının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Üzerindeki Etkisi

Dozlar	Engelleme oranı (%)		
	Uçucu Yağı Besi Yerine Katma Yöntemi	Petri Kapağına Yapıştırılan Kurutma Kağıdına Uçucu Yağ Emdirme Yöntemi	Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi
Kontrol	0 a*	0 a	0 a
5 µl/ml	20.53 b	68.09 b	18.86 b
10 µl/ml	95.46 c	69.52 b	49.13 b
15 µl/ml	96.06 c	87.51 c	49.86 b
20 µl/ml	97.14 c	99.39 d	56.28 b

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

Tablo 3. Dozlar Bazında Farklı Yöntemlerin *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Üzerindeki Etkisi

Yöntemler	Engelleme oranı (%)			
	5 µl/ml	10 µl/ml	15 µl/ml	20 µl/ml
Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi	18.86 a*	49.13 a	49.86 a	56.28 a
Uçucu Yağı Besi Yerine Katma Metodu	20.53 a	95.46 c	96.06 b	97.14 b
Petri Kapağına Yapıştırılan Kurutma Kağıdına Uçucu Yağ Emdirme Yöntemi	68.09 b	69.52 b	87.51 b	99.39 b

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

Tablo 2 incelendiğinde, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde, *T. vulgaris* uçucu yağının 5 µl'lik dozu besi yerine katıldığında %20.53, 10 µl'lik dozu besi yerine katıldığında %95.46, 15 µl'lik dozu besi yerine katıldığında %96.06, 20 µl'lik dozu besi yerine katıldığında ise %97.14

Thymus vulgaris Uçucu Yağının Antibakteriyal Etkisinin Saptanması

Çalışmanın bu kısmında, *T. vulgaris* uçucu yağının *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki antibakteriyal etkisi 3 farklı yöntem ve 4 farklı doz ile belirlenmiştir. Uçucu yağı besi yerine katma, kapağına yapıştırılan kağıda uçucu yağın emdirilmesi ve kuyucuk yöntemi olmak üzere 3 farklı yöntem, 5, 10, 15 ve 20 µl olmak üzere 4 farklı doz kullanılmıştır. Yöntemler bazında uçucu yağın farklı dozlarının *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki etkisi Tablo 2'de, dozlar bazında farklı yöntemlerin *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki etkisi ise Tablo 3'de verilmiştir.

oranında bir engelleme görülmüştür. Kuyucuk yöntemi kullanıldığında ise, 5 µl'lik doz kuyucuğa eklendiğinde %18.86, 10 ve 15 µl'lik dozlarda %49, 20 µl'lik dozda ise %56.28 oranında bir etki tespit edilmiştir. Yöntemler arasında en düşük etki agar kuyucuk difüzyon yönteminde

belirlenmiştir. Yöntemler arasında en yüksek etki ise petri kapağına yapıştırılan kurutma kağıdına uçucu yağ emdirme yönteminde belirlenmiştir. 5 µl uçucu yağ emdirilen petri kabında uçucu yağın *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerine etkisi %68.09 oranında olmuştur. Bunu takiben 10 µl uçucu yağ emdirilen petri kabında %69.52, 15 µl uçucu yağ emdirildiğinde %87.51 ve 20 µl uçucu yağ emdirildiğinde ise %99.39 oranında en yüksek etki belirlenmiştir.

Uçucu yağların *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'e olan etkilerinin araştırıldığı benzer bir çalışmada Daferera ve ark. (2003) tarafından yapılmıştır. Yöntem olarak bitkilerden elde edilen uçucu yağlar besi yerine katılmıştır. *T. vulgaris*'in de içinde bulunduğu 8 bitki türünden elde edilen uçucu yağların *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. ve *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'ye karşı etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada, suni besi yerlerinde kekik, gazel otu ve güvey otu yağlarının düşük konsantrasyonlarının (85-300 µg/ml) bile her üç patojenin gelişimini tamamen engellediği görülmüştür. Soylu ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada da, kağıt disk difüzyon yöntemi ile *Thymra spicata* subsp. *spicata*, *Origanum syriacum* var. *bevanii*, *Mentha spicata* ve *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'e olan etkileri araştırılmıştır. Testlenen bitkiler arasında en yüksek etki *T. spicata* subsp. *spicata*'da görülmüştür.

Tablo 3 incelendiğinde ise, 5, 15 ve 20 µl/ml dozların uygulandığı her üç yöntem içerisinde en etkili olanı petri kapağına yapıştırılan kurutma kağıdına uçucu yağ emdirme yöntemi olmuştur. 10 µl/ml dozda ise en etkili uçucu yağı besi yerine katma yöntemi olmuştur.

Uçucu yağların *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'e olan etkilerinin araştırıldığı benzer bir çalışma ise, Iacobellis ve ark. (2005) tarafından yapılmıştır. *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* de dahil 32 bitki patojenine karşı *Cuminum cyminum* L. ve *Carum carvi* L. bitkilerinden elde edilen uçucu yağların antibakteriyal etkisi araştırılmıştır. Çalışmada agar difüzyon yöntemi kullanılmış olup, uçucu yağların özellikle *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Rhodococcus*, *Erwinia*, *Xanthomonas*, *Ralstonia* ve *Agrobacterium* cinslerine ait türler üzerinde oldukça yüksek etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Tanovic ve ark. (2007) tarafından yürütülen çalışmada ise, 17 adet uçucu yağın *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'e olan etkisi araştırılmış olup, kekik, tarçın, fesleğen, rezene bitkilerinden elde edilen uçucu yağların 0.65 µl/ml konsantrasyonda bile patojenin gelişimini engelledikleri belirtilmiştir. Kotan ve ark. (2010) ise, *Achillea*, *Satureja* ve *Thymus* bitki türlerine ait uçucu yağ ve ekstraktların 25 adet bitki patojeni bakteriyeye karşı antibakteriyal etkilerini araştırmışlardır. Antibakteriyal çalışma disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır. Uçucu yağların ve ekstraktların kimyasal bileşenlerinin de belirlendiği çalışmada, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde *T. fallax* türünden elde edilen ekstrakt %80 oranında, uçucu yağ ise %62.5 oranında bir etki göstermiştir. Yılmaz ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada ise, bazı ticari sabit ve uçucu yağların domates bakteriyel kanser ve solgunluk etmeni üzerine antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Uçucu yağların antibakteriyel etkisi inhibisyon zon çapları (mm) dikkate alınarak agar kuyu difüzyon yöntemine göre belirlenmiştir. Toplam 34 uçucu yağdan 18 adeti *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde

%67 ve üzerinde engelleyici etki göstermiştir.

T. vulgaris'in antibakteriyal etkisine yönelik diğer bir çalışma ise *Clostridium* türleri üzerine Kacaniova ve ark. (2014) tarafından yapılmıştır. 15 adet bitki türünden elde edilen uçucu yağın *Clostridium butyricum*, *C. hystoliticum*, *C. intestinale*, *C. perfringens* ve *C. ramosum* etmenlerine olan etkileri disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışma sonucuna göre, *T. vulgaris*'den elde edilen uçucu yağ %86.8'lik bir antibakteriyal aktivite göstermiştir. Yanar ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada ise, *Origanum vulgare*, *O. syriacum*, *O. onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *Lippia citriodora* bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların *Botrytis cinerea* ve *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki etkisi araştırılmıştır. 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozlarında hazırlanan uçucu yağlar besi yerlerine katılmış olup, özellikle *Origanum* ve *Lippia* türlerinin etmenler üzerinde farklı düzeylerde engelleyici etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Yukarıda belirtilen önceki çalışmalara ait sonuçlarla mevcut çalışma sonuçları paralellik göstermektedir. Düşük düzeyde de olsa etki oranları ile ilgili varyasyonların çalışmalarda kullanılan dozlardaki

farklılıklardan ve bitki materyalinin toplandığı bölgelerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

SONUÇ

Kekik (*Thymus vulgaris* L.) bitkisinden elde edilen ekstrakt ve uçucu yağın *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, *T. vulgaris*'in *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde farklı düzeylerde engelleyici etkiye sahip olduğu ve *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'in mücadelesinde kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada uygulanan yöntemlerin hepsi belirli oranlarda *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* gelişimini engellemiştir. Yöntemler arasında *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde en etkili yöntem petri kapağına yapıştırılan kurutma kağıdına uçucu yağ emdirme yöntemi olmuştur. En düşük etki ise, agar kuyucuk difüzyon yönteminde belirlenmiştir. Bu bulgular doğrultusunda hem kekik uçucu yağının ve hem de ekstraktının in vitro ve fitotoksik etkisine yönelik çalışmaların yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Baroffio CA., Siegfried W., Hilber, UW. (2003). Long-term monitoring for resistance of *Botryotinia fruckeliana* to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, and hydroxanilide fungicides in Switzerland. *Plant Disease*, 87:662-666.
- Basım H., Yegen O., Zeller W. (2000). Antibacterial Effect of Essential Oil of *Tymbra spicata* L. var. *spicata* on Some Plant Pathogenic Bacteria. *Journal of Plant Diseases and Protection* 279(3),279-284.
- Beever RE., Brien HMR. (1983). A survey of resistance to the dicarboximide fungicides in *Botrytis cinerea*. *New Zealand Journal Agricultural Research*, 26:391-400.
- Çetinkaya-Yıldız R., Aysan Y. (2008). Bitki Bakteri Hastalıkları, Editörler: Saygılı, H., Şahin, F. ve Aysan, Y. Meta Basım, İzmir. sayfa 49.
- 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 Fragrance Journal*, 187-190.
- Dimitra JD., 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*, 22:39-44.

- Iacobellis NS., Cantore PL., Capasso F., Senatore F. (2005). Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. Essential Oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53:57-61.
- Kacaniova M., Vukovic N., Horska E., Salamon I., Bobkova A., Hleba L., Mellen M., Vatlak A., Petrova J., Bobko M. (2014). Antibacterial activity against Clostridium genus and antiradical activity of the essential oils from different origin, Journal of Environmental Science and Health, Part B (2014) 49, 505–512.
- Karaca İ., Saygılı H. (1982). Batı Anadolu'nun bazı illerinde domates ve biberde görülen bakteriyel hastalıkların oranı, etmenleri ve konukçu çeşitlerinin duyarlılığı üzerine araştırmalar. III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 12-15 Ekim, Adana, 182-192.
- Kızıl F., Uyar F. (2006). Antimicrobial activities of some thyme (Thymus, Satureja, Origanum and Tymbra) species against important plant pathogens. Asian Journal of Chemistry, 18: 1455-1461.
- Kotan R., Çakır A., Dadaşoğlu F., Aydın T., Çakmakçı R., Özer H., Kordali Ş., Mete E., Dikbaş N. (2010). Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. Journal Science Food Agriculture, 90:145-160.
- 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. Phytomed. (Belgrade), 24, 19-27.
- 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.
- SPSS, 2007. SPSS Statistical Software CD-ROM Version 16.0 for Windows ChicagoIL, SPSS Inc., USA.
- 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.
- Yanar Y., Belgüzar S., Telci İ. (2016). *Origanum* spp., *Mentha* spp. ve *Lippia* sp. Türlerine Ait Uçucu Yağların *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Botrytis cinerea*'ya Karşı Antimikrobiyal Etkisi. Turkish Journal of Weed Science, 19 (1): 18-25.
- Yılmaz M., Kavak S., Baysal Ö. (2014). Bazı Ticari Sabit ve Uçucu Yağların Domates Bakteriyel Kanseri 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, İzmir.

©Türkiye Herboloji Derneği, 2016

Geliş Tarihi/ Received: Ekim/October, 2016
Kabul Tarihi/ Accepted: Aralık/December, 2016

To Cite:	Belguzar S., Yılar M., Yanar Y., Kadioğlu I., Doğar G. 2016. Antibacterial Activities of <i>Thymus vulgaris</i> L. (Thyme) Extract and Essential Oil Against <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (In Turkish with English Abstract). Turk J Weed Sci, 2016:19(2): 20 - 27
Alıntı için:	Belgüzar S., Yılar M., Yanar Y., Kadioğlu İ., Doğar G. 2016. <i>Thymus vulgaris</i> L. (Kekik) Ekstrakt ve Uçucu Yağının <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> Üzerine Antibakteriyel Etkisi. Turk J Weed Sci, 2016:19(2): 20 - 27
