T.C.
HAKKARİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ASMADA KURŞUNİ KÜFE (*Botrytis cinerea*) KARŞI TİMOL, ÖGENOL VE 1,8- SİNEOL UÇUCU YAĞ BİLEŞENLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Benazir YELBOĞA

Tez Danışmanı:
Dr. Öğretim Üyesi Sinem KARAKUŞ

HAKKARİ
2021

T.C.
HAKKARİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
HAKKARİ

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Benazir YELBOĞA tarafından hazırlanan ‘‘**Asmada Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea*)’e Karşı Timol, Ögenol ve 1,8- Sineol Uçucu Yağ Bileşenlerinin Antifungal Etkilerinin Belirlenmesi**’’ başlıklı tez, (savunma tarihi) tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Unvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof. Dr. Ökkeş ATICI	Atatürk Üniversitesi	
Üye :	Dr. Öğr. Üyesi Sinem KARAKUŞ	Hakkari Üniversitesi	
Üye :	Doç. Dr. Can YILMAZ	Hakkari Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ……Sayılı kararıyla ……. tarihinde onaylanmıştır.

Doç. Dr. Can YILMAZ
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

..../..../20..

İmza

Benazir YELBOĞA

ÖZET

ASMADA KURŞUNİ KÜFE (*Botrytis cinerea*) KARŞI TİMOL, ÖGENOL VE 1,8-SİNEOL UÇUCU YAĞ BİLEŞENLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Benazir YELBOĞA
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Sinem KARAKUŞ

2021, 82s

Bu çalışmada, asma (*Vitis vinifera* L.) bitkisinde kurşuni küfün (*Botrytis cinerea* Pers.) sebep olduğu kayıpların önlenmesinde Timol, Ögenol ve 1,8-Sineol UY (uçucu yağlar) etkileri *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırılmıştır. Hastalıklı asma bağlarından izole edilen *B. cinerea*, 18S rRNA gen dizi analizine göre tanımlanmıştır. *İn vitro* ortamda, UY 25 µL, 50 µL ve 100 µL dozlarının fungusun miselyal gelişimi, konidispor çimlenmesi ve çim tüpü uzunluğu üzerindeki etkileri belirlenmiştir. *İn vivo* çalışmada, aynı UY %90 seyreltik çözeltilerinin asma yaprağı üzerinde fungusun lezyon oluşumu üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Timol ve Ögenol, fungus miseliyal gelişimi üzerinde önemli inhibisyona neden olmuş ve en yüksek inhibisyon (%100) her iki UY özellikle 100 µL dozlarında belirlenmiştir. Buna karşılık 1,8-Sineol'e ait tüm dozların miseliyal gelişim üzerinde anlamlı bir etkisi belirlenememiştir. Konidipor çimlenmesi Timol'un 25, 50 ve 100 µL dozlarıyla kontrol grubuna göre sırasıyla %22, %45 ve %72 oranında inhibe edilirken, diğer iki UY konidispor çimlenmesi üzerinde inhibisyon etkisi yapmamıştır. Buna karşılık, fungusun çim tüpü uzunluğu Timol ve Ögenol'ün özellikle 50 µL ve 100 µL dozlarında %100 inhibe olurken, 1,8-Sineol'de ise sırasıyla %49 ve %85 oranında bir inhibisyon belirlenmiştir. *İn vivo* çalışmalarda tüm UY özellikle 50 ve 100 µL'lik dozları, canlı asma yaprakları üzerinde fungusun lezyon oluşumunu %100'e yakın bir oranda baskılamıştır. Elde edilen veriler, biyolojik kaynaklı ve çevre sağlığı için toksik olmayan bu iki UY, *B. cinerea'*nın mücadelesinde kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Botrytis cinerea, Vitis vinifera,* Timol, Ögenol, 1,8- Sineol

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE ANTIFUNGAL EFFECTS OF THYMOL, EUGENOL AND 1,8-CINEOLE ESSENTİAL OIL COMPONENTS AGAINST GREY MOLD (*Botrytis cinerea*) in *Vitis vinifera*

Benazir YELBOĞA

Thesis of Master of Science, Department of Biology

Thesis advisor: Asst. Prof. Dr.Sinem KARAKUŞ

2021, 82p

In this study, the effects of Thymol, Eugenol and 1,8-Cineol UY (essential oils) in the prevention of losses caused by grey mold (*Botrytis cinerea* Pers.) in grapevine (*Vitis vinifera* L.) were investigated *in vitro* and *in vivo*. *B. cinerea* isolated from diseased vine vineyards was identified according to 18S rRNA gene sequence analysis. The effects of UY 25 µL, 50 µL and 100 µL doses on mycelial growth, spore germination and germ tube elongation were determined *in vitro*. *In vivo* study, the effect of 90% dilution solutions of the same UY on the formation of fungus lesions on grapevine leaves was evaluated. Thymol and Eugenol caused significant inhibition on fungal mycelial growth and the highest inhibition (100%) was determined in both UYs, especially at 100 µL doses. On the other hand, all doses of 1,8- Cineole could not have a significant effect on micellar development. Conidipor germination was inhibited by 25, 50 and 100 µL doses of Thymol compared to the control group by 22%, 45%, and 72% respectively, while the other two UYs did not have an inhibitory effect on conidyspore germination. On the other hand, while the length of the germ tube elongation of the fungus was 100% inhibition, especially at the doses of 50 µL and 100 µL of Thymol and Eugenol, an inhibition of 49% and 85% was determined in 1,8- Cineole, respectively. *In vivo* studies, all UY doses, especially 50 and 100 µL, suppressed the lesion formation of the fungus on live grape leaves by nearly 100%. The data obtained show that these two UYs, which are of biological origin and are non-toxic for environmental health, have the potential to be used in the control of *B. cinerea*.

Keywords: *Botrytis cinerea, Vitis vinifera,* Thymol, Eugenol, 1,8- Cineole

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu araştırma, FM20BAP5 nolu Hakkari Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi tarafından olarak desteklenmiştir.

Çalışmanın her aşamasında yanımda olan ve manevi desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam, Sayın Dr. Öğretim Üyesi Sinem KARAKUŞ'a ve yüksek lisans süresince en az danışman hocam kadar üzerimde emeği geçen ve tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam, Sayın Ali KARAKUŞ'a teşekkürlerimi sunarım. Değerli jüri üyelerinden Sayın Prof. Dr. Ökkeş Atıcı ve Sayın Doç. Dr. Can Yılmaz'a değerli görüş ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Özellikle, benden ilgi ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan yegane sevgili varlıklarım annem, Ayhan TURAN'a ve Babam, Hasan TURAN'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Ayrıca, çalışma süresince desteğini ve ilgisini esirgemeyen değerli eşim, Av. Ferzan YELBOĞA'ya (Tarım ve Orman Bakanlığı) ve tezim süresince annesini sabırla bekleyen kızım Sare'ye çok teşekkür ederim.

Benazir YELBOĞA

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ ..... İİ
ÖZET ..... İİİ
ABSTRACT ..... İV
ÖNSÖZ V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... Vİİİ
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... Vİİİ
ÇİZELGELER DİZİNİ iX
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ÖZETLERİ 12
3. MATERYAL VE YÖNTEM 34
3.1. Materyal 34
3.1. Yararlanılan Makina ve Teçhizatlar 34
3.2. Yöntemler 34
3.2. *Botrytis cinerea* İzolatlarının Elde Edilmesi ve Saflaştırılması 34
3.2.2. Bitki Materyalinin Toplanması 34
3.2.3. Uçucu Yağların Antifungal Etkilerinin Belirlenmesi 35
3.2.3.1. Uçucu yağların *in vitro* koşullarda patojenin miselyal gelişimi üzerine antifungal etkilerinin belirlenmesi 35
3.2.3.2. Uçucu yağların *in vitro* koşullarda patojenin spor çimlenmesi ve çim tüpü uzunluğu üzerine antifungal etkilerinin belirlenmesi 36
3.2.3.3. *In vivo* denemelerde uçucu yağ stok çözeltilerinin hazırlanması 37
3.2.3.4. B. cinerea'nın asma yapraklarına enfekte edilmesi ve uçucu yağların uygulanması 37
3.2.4. Filogenetik ve İstatistik Analiz 38
3.2.4.1. Moleküler analiz 38
3.2.4.2. İstatiksel analiz 38
4. BULGULAR 39
4.1. *B. cinerea*'nın İzolatının Moleküler Tanısı 39

4.2. Uçucu Yağların *İn Vitro* ve *İn Vivo* Koşullarda *B. cinerea*'ya Karşı Antifungal Etkileri 39
4. 3. Uçucu Yağların *B. cinerea*'nın Miseliyal Gelişimi Üzerine Etkisi 40
4.4. Uçucu Yağların *B. cinerea*'nın Spor Çimlenmesi ve Çim Tüpü Uzunluğu Üzerine Antifungal Etkileri 43
4.5. Uçucu Yağların Yaprak Testleri İle Etkinliklerinin Tespiti 46
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 51
KAYNAKLAR 60
ÖZGEÇMİŞ 82

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C : Santigratderece

g : Gram

Kg : Kilogram

m : Metre

mg : Miligram

µL : Mikrolitre

mm : Milimetre

nm : Nanometre

ppm : Milyoda bir

pH : Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)

µg/mL : Mililitre başına mikrogram

µm : Mikromolar

µL/L : Mililitre başına mikro litre

Kısaltmalar

DPPH : Potansiyel antioksidan madde tayini

EY :Esansiyel yağ

FAO : Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü

FDA : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

GC-FID :Gaz kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektör

GC-MS : Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi

GRAS : Güvenilir zararsız kabul edilen

MGO : Yaprak miselyum gelişim oranı

MİK : Minimal inhibitör konsantrasyon

PDA : Potato Dextrose Agar

UY : Uçucu Yağ

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. *B. cinerea*'nın meyvedeki belirtisi……...2
Şekil 1.2. *B.cinerea*'nın konidiospor ve miselyumları…….3
Şekil 1.3. *B. cinerea*'nın hastalık döngüsü……...4
Şekil 1.4. Timol'ün kiyasal yapısı ……....6
Şekil 1.5. Bitkilerden elde edilen ve oksijen bulunduran doğal organik bileşikler ……7
Şekil 1.6. Ögenol'ün kimyasal yapısı……...9
Şekil 1.7. 1,8-Sineol'ün kimyasal yapısı.……10
Şekil 3.1. Çeliklerin yetiştirilmesi……..35
Şekil 4.1. *B. cinerea* izolatının Genbank'tan elde edilen B. cinerea izolatları ile birlikte UPGMA uzaklık ağacı…….39
Şekil 4.2. *B.cinerea* izolatı kontrol grubu……..40
Şekil 4.3. *B. cinerea* izolatı üzerine Timol'ün farklı konsantrasyonlarda kullanılması(a.25 µL, b. 50 µL, c. 100 µL)…….. 41
Şekil 4.4. *B. cinerea* izolatı üzerine Ögenol'ün farklı konsantrasyonlarda kullanılması (a.25 µL, b. 50 µL, c. 100 µL)……..41
Şekil 4.5. *B. cinerea* izolatı üzerine 1,8-Sineol'ün farklı konsantrasyonlarda kullanılması (a. 25 µL, b.50 µL, c.100 µL)……...42
Şekil 4.6. Konidiospor çimlenme şekilleri (a: Anormal olarak çimlenmiş konidiospor, b: Normal olarak çimlenmiş konidiospor) ……...44
Şekil 4.7. Uçucu yağların çim tüpü uzunluğuna etkileri ……...46
Şekil 4.8. (a) Kontrol, (b) *B. cinerea* uygulamalı yaprak……..48
Şekil 4.9. *B. cinerea* uygulamalı yaprak üzerine Timol'ün farklı konsantrasyonlar da kullanılması (a: 25 µL, b: 50 µL, c: 100 µL) ….49
Şekil 4.10. *B. cinerea* uygulamalı yaprark üzerine Ögenol'ün farklı konsantrasyonlar da kullanılması (a: 25 µL, b: 50 µL, c: 100 µL) ….49
Şekil 4.11. *B. cinerea* uygulamalı yaprak üzerine 1,8- Sineol'ün farklı konsantrasyonlar da kullanılması (a: 25 µL, b: 50 µL, c: 100 µL) …...49
Şekil 4.12. Uçucu yağların yaprakta miselyum gelişim oranları……...50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Timol'ün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)……42

Çizelge 4.2. Ögenol'ün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)……42

Çizelge 4.3. 1,8- Sineol'ün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)… 43

Çizelge 4.4. Kontrol ve Timol'e ait çim tüpü uzunlukları ile konidiospor çimlenmesi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)……....44

Çizelge 4.5. Kontrol ve Ögenol' e ait çim tüpü uzunlukları ile konidiospor çimlenmesi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)…… 45

Çizelge 4.6. Kontrol ve 1.8- Sineol'e ait çim tüpü uzunlukları ile konidiospor çimlenmesi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001) ……..45

Çizelge 4.7. Timol'ün yapraklarda miselyum gelişim oranına (YMGO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.0; c: p<0.001)….47

Çizelge 4.8 Ögenol'ün yapraklarda miselyum gelişim oranına (YMGO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)…47

Çizelge 4.9 1,8- Sineol'ün yapraklarda miselyum gelişim oranına (YMGO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)……..48

1. GİRİŞ

Asma (*Vitis vinifera* L.), *Rhamnales* takımına bağlı olup dünya üzerinde çok geniş bir alanda tarımı yapılan en yaygın ve en eski tarımsal ürünler içerisinde yer almaktadır (Winkler vd., 1974). Ekonomik açıdan en önemli meyve türlerinden birini veren çok yıllık ve tırmanıcı bir bitkidir (Vincent vd., 2007). Asmanın, iklim ve toprak istekleri bakımından seçici olmayışı, çok yıllık olması, çoğaltma yöntemlerinin kolay olmasından dolayı dünyada geniş alanlarda yetiştirilen, ekonomik öneme sahip bir bitkidir. Tarihte bağcılık, Avrupa ile Asya'nın (Anadolu) doğal florasında bulunan bu bitkinin kültüre alınmasıyla başlamıştır. Bağcılık için oldukça elverişli iklim kuşağı üzerinde bulunan ülkemiz, asmanın gen merkezlerinin kesiştiği noktada yer almaktadır. Ayrıca ülkemiz, coğrafi konumundan dolayı zengin bir asma gen potansiyeline sahiptir (Çelik vd., 1998).

Asma meyvesi olan üzüm, beslenme ve sağlık açısından önemli bir besin kaynağıdır. Ayrıca sodyum, potasyum, kalsiyum ve demir bakımından zengin olduğu kadar A, B ve C vitaminleri bakımından da zengindir (Çelik vd., 1998). Üzüm meyvesi özelliğine göre farklı şekillerde değerlendirilmektedir. Bazı çeşitleri kurutulmakta ya da sofralık olarak tüketilmekte, bazı çeşitleri de pekmez, şarap, sirke vb. elde edilmesinde kullanılmaktadır (Kısmalı, 1996). Bu anlamda bağcılık, milli gelire sağladığı katkı ile ülkemiz ekonomisi içerisinde ayrı bir öneme sahip olan tarımsal üretim koludur. Ülkemizdeki toplam bağ alanı ise 462.296 hektar olup bu alandan 4.275.659 ton üzüm üretilmektedir (Anonim, 2014).

Asmada çoğu ekonomik olarak ciddi kayıplara yol açan birçok fungal hastalık bulunmaktadır. Bu hastalıklardan direkt olarak üründe meydana getirdikleri kayıplar nedeniyle büyük öneme sahip olan külleme (*Uncinula necator*), mildiyö (*Plasmopara viticola*), kurşuni küf (*Botrytis cinerea*), antraknoz (*Elsinoe ampelina*), siyah çürüklük (*Guignardia bidwelli)* ve acı çürüklük (*Greeneria uvicola*) en önemlileri arasındadır (Jermini ve Gessler, 1996; Schilder vd., 2005; Longland vd., 2008). Bunlar arasında *Botrytis* salkım çürüklüğü olarak adlandırılan kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.), dünyada bağcılık tarımının

yapıldığı tüm alanlarda asmanın en önemli hastalıklarından biri olarak bilinmektedir (Elmer ve Michailides 2007; Komarek vd., 2010; Wu vd., 2010; Aminifard ve Mohammadi, 2012; Mundy vd., 2014). *B. cinerea* asmanın bütün dokularında sürgünler, yapraklar, çiçekler ve tanelerde enfeksiyon oluşturmaktadır (Şekil 1.1). Asmada çiçeklenme zamanı ve tanelere ben düşme sonrası enfeksiyon için en duyarlı konukçu dönemidir (Broome vd., 1995). Patojen bağda çiçeklenme döneminden itibaren yoğun inokulum oluşturmaktadır (Holz vd., 2000; Delen, 2001; Koplay, 2003).

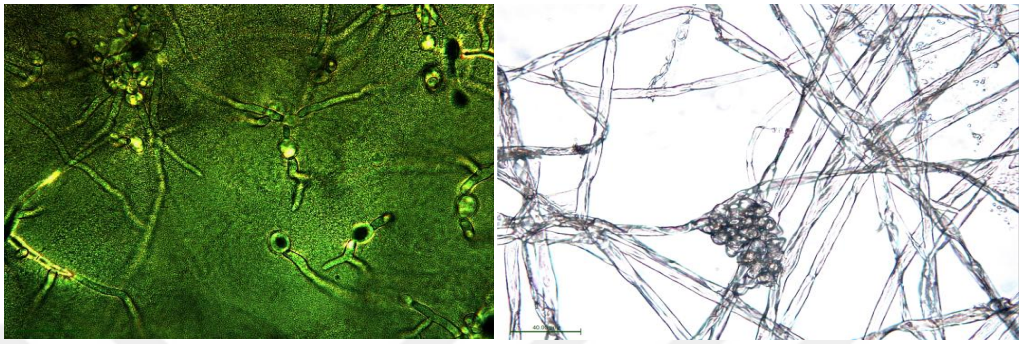


Şekil 1.1. *B. cinerea*'nın meyvedeki belirtisi

Botrytis cinerea Pers. *Pezizomycotinia* alt şubesi içinde *Sclereotiniceae* ailesine ait bir askomisettir. *Bortytis* cinsi farklı morfoloji, biyoloji, ekoloji ve konukçu spektrumuna sahip polifag fungustur (Elad vd., 2007; Rossi vd., 2011). *Bortytis* türleri, geniş konukçu spektrumuna sahip olduğundan, tarım sektöründe ağır ekonomik kayıplara neden olmaktadır. *B. cinerea* 586 bitki cinsini enfekte ettiği bilinen hasat öncesi ve sonrasında görülen bir bitki patojenidir (Elad vd., 2016; Pañitrur-De La Fuente vd., 2018). *Bortytis'*in neden olduğu kurşuni küf açık tarlalarda, bağlarda, seralarda ve depolarda görülmektedir. Nekrotrofik ve hetereokaryotik çekirdek yapısına sahip olan bu patojen *Magnaporte oryzae*'den sonra en önemli ikinci fungal bitki patojeni olarak literatürde geçmektedir (Liu ve Yang, 2004; Dean vd., 2012).

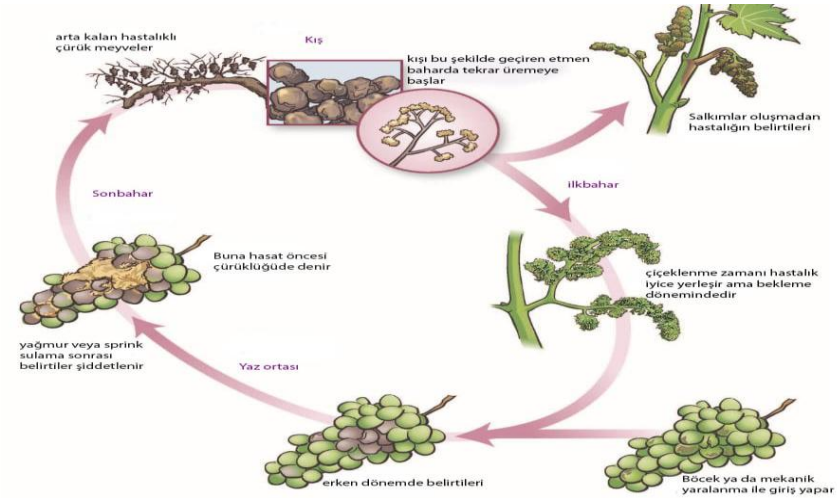
Fungusun eşeyli formu *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel, eşeysiz formu *Botrytis cinerea* Pers.'dir. Bağ alanlarında yalnızca eşeysiz formu bulunmaktadır. Miselyumları kahverengi, kalın ve bölmelidir. Konidiosporlar 10-

12 x 8-10 µm boyutlarında, kül renkli, tek hücreli elipsoit veya yuvarlağımsı biçimdedir (Şekil 1.2). Konidiosporlar, konidioforlara üzüm salkımı şeklinde bağlı olarak bulunmaktadır. Konidioforlar koyu renkli, dik dallanmış, boyları ise ortalama 1-3 mm'dir (Anonim, 2008).



Şekil 1.2. *B.cinerea*'nın konidiospor ve miselyumları

Fungus kışı, hastalıklı tane ve salkım sapları üzerinde spor ya da miselyum, çubuklar üzerinde sklerot, kabuk üzerinde ve dormant tomurcuklar içinde ise miselyum şeklinde geçirerek bağda bir yıl canlı kalabilmektedir (Yıldız, 1991). Enfeksiyon için mutlak su damlasına veya %90 nispi neme ihtiyaç vardır. Hastalık için optimal sıcaklık 15-20 °C olup, inkubasyon süresi 3-5 gün arasında değişmektedir. Ancak, patojen 0-10 °C gibi düşük sıcaklıklarda da aktiftir. Bu nedenle depolanan üzümlerde de sorun olmaktadır (Elad ve Stewart, 2004; Anonim, 2008). Ben düşmeden itibaren taneler doğrudan epidermis, yara vb. yolla enfekte olmaya başlamakta, taneler olgunlaştıkça enfeksiyon hızlanmaktadır (Şekil 1.3) (Pearson ve Goheen 1988; Deytieux - Belleau vd., 2009). Fungal etmen enfeksiyon aşamasında hücre duvarında pektinin yapısını bozan enzimleri (pektin metil esteraz, pektin liyaz ve çok sayıda üretilen poligalakturonaz enzimleri) salgılayarak konukçuda hücre ölümlerine neden olmaktadır (Buzi vd., 2003). Hastalıklı tanelerde enfeksiyon sonucu etilen sentezi, solunum ve ısı üretimindeki artış sağlam olanlarını da etkilemektedir (Baraldi, 2002; Benli, 2003). Bu durum daha çok depolarda sağlam ve enfekteli üzümlerin birbirine temas etmesi sonucunda patojenin hızla yayılmasına neden olmaktadır (Barkai ve Golan, 2001).



Şekil 1.3. *B. cinerea*'nın hastalık döngüsü

B. cinerea ile mücadele etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin başında kimyasal mücadele gelmektedir. Fungusitler hasat öncesi ve sonrası patojeni kontrol etmede kullanılan ilk sentetik koruyuculardır (Singh ve Sharma, 2007). Her yıl yaklaşık 23 milyon kg fungusit sebze ve meyve üzerine uygulanmaktadır. Uygulanan bu fungusitlerin karsinojenik, teratojenik, yüksek akut toksijenik etkileri bulunmaktadır. Kullanılan bu kimyasallar uzun bozulma sürelerine sahip olduklarından çevre kirliliğine yol açmaktadır (Lingk, 1991; Unnikrishnan ve Nath, 2002; Gisi ve Sierotzki, 2008). Fungusitlerle ilgili diğer bir problem ise etki güçlerinin artırılmasıyla yan etkilerinin de her geçen gün artmasıdır (Tyler, 1992; Sorour ve Larink, 2001). *B. cinerea'*nın çok çekirdekli hücre yapısına sahip olması fungusitlere karşı hızlı bir şekilde direnç geliştirmesine neden olmaktadır (Reimann ve Deising, 2000; Dianz vd., 2002). Ayrıca kışlamış inokulum kaynaklarının çeşitliliği ile hem nekrotrofik hem de saprofitik özelliğinden dolayı mücadelesi her geçen gün zorlaşmaktadır (Mundy vd., 2014).

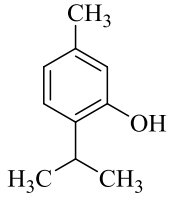
Günümüzde çevre sorunlarının ve gıda kaynaklı hastalıkların (obezite, deli dana, kanser vb.) hızla çoğalması sonucu doğal dengeyi bozan tarım uygulamalarının azaltılması gerekmektedir. Bunun sonucunda çevreyle uyumlu tekniklerin geliştirilmesi, kimyasal girdi kullanımının azaltılması, toprak, su kaynaklarının korunmasını amaçlayan "sürdürüle-bilir tarım" kavramı ortaya çıkmıştır (Yüksel ve Delice, 2005). Sürdürülebilir tarım uygulamalarında

biyolojik mücadele başta olmak üzere, kimyasal mücadeleye alternatif yöntemler ve entegre mücadele yer almaktadır (Turhan, 2005).

Toprağın ve bitkinin direncini artıran doğal bitki ekstraktlarından elde edilen maddelerin kullanılması da biyolojik mücadelenin hedeflerindendir (Ertem, 1993). Bitkisel pestisit olarak kullanılan ürünlerden en önemlisi de bitkilerden elde edilen uçucu yağlardır. Bitkisel pestisit olarak kullanılan bitkilerin fungitoksik etkileri, içerdikleri uçucu yağlardan ileri gelmektedir. Uçucu yağı oluşturan bileşiklerin miktarı her bitkide farklılık göstermektedir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların insan sağlığını ve doğayı tehdit etmemeleri nedeniyle sentetik kimyasallara alternatif olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Sawamura, 2000; Bautista - Banos vd., 2006; Szczerbanik vd., 2007; Nazzaro vd., 2017). Bazı aromatik ve tıbbi bitkilerden ekstrakte edilen uçucu yağlar, hasat öncesi ve sonrası patojenleri kontrol altına almak için kullanılmaktadır. Uçucu yağlar, terpen grubu bileşiklerdir. Oksijenli terpenoit türevleri (alkoller, aldehitler, ketonlar ve esterler), benzenoit yapıdaki bileşenler (alkoller, esterler, asitler, aldehitler, ketonlar, fenoller, fenol eterler, laktonlar vb.) ve nadir olarak azot ve kükürt içeren bileşenleri de içermektedir. Uçucu yağ, oleoresin, esans, emulsiyon gibi baharat ekstraksiyonları patojen ve enzim içermemektedir. Bundan dolayı uçucu yağlar bazı bitki patojenleri gıda zehirlenmesi ve gıda bozulmasına yol açan mikroorganizmalara karşı etki göstermektedir (Letesserier vd., 2001; Monahar vd., 2001; Sakkas ve Papadopoulou, 2017). Uçucu yağlarla ilgili yapılan araştırmalar bu sekonder metobolitlerin biyolojik olarak aktif bileşenler olduklarını; analjezik, antiseptik, antifungal, antiviral, bakterisit, insektisit, sedatif, stimulan, antioksidan ve biyolojik düzenleyici özelliklere sahip olduklarını göstermiştir. Uçucu yağların hidrofobik özellikte olmaları, patojenlerin hücrelerine girmelerini kolaylaştırmaktadır (de Rapper vd., 2012; Prakash vd., 2012; Roby vd., 2013; Shojaee ve Aliabadi vd., 2013; Varona vd., 2013). Bu antimikrobiyal ve antifungal etkilerini arttırmaktadır. Bu özellikleri sayesinde ambalajlarda ve yenilebilir filmlerde kimyasal koruyuculara alternatif olarak kullanılmaktadır (Astani vd., 2014; Böhme vd., 2014; Civitelli vd., 2014; Gilling vd., 2014; Raut ve Karuppayil, 2014; Teixeira vd., 2014). Uçucu yağların gösterdiği antimikrobiyal aktiviteler fenolik bileşenlerinden kaynaklanmaktadır

(Davidson ve Naidu, 2000; Bagamboula vd., 2004; Başer vd., 2004). Fenolik (timol, ögenol, sineol vb.) bileşikler, mikroorganizmaların enzimatik reaksiyonlarını durdurarak, ortamdaki besin maddelerinin alımını engeller ve hücre zarın yapısının bozulmasına neden olur (Rouro vd., 2005; Coşkun, 2006; Lacroix vd., 2006; Uçan, 2008; Soylu vd., 2010). Karanfilde ögenol, sarımsakta allicin, mercanköşk ve kekikte karvakrol ve timol, tarçında sinamik aldehit ve ögenol, yenibaharda ögenol ve metil ögenol, kimyonda cumin aldehit, hardalda isothiocyanate, zencefilde gingerol ve gingeron, kuşburnunda timol, adaçayında borneol gibi fenolik bileşenlerin gıda kaynaklı patojenler ve mikotoksin oluşturan küfleri kapsayan geniş bir yelpazede bulunan mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği belirtilmiştir (Takikawa vd., 2002; Valero ve Salmeron, 2003; Tassaou vd., 2004; Rao vd., 2010). Ayrıca bu uçucu yağ bileşenlerinin gıdaların organoleptik özelliğinde kayba neden olmaksızın bakteriyel bozulmayı geciktirdikleri için koruyucu olarak da kullanılabileceği bildirilmiştir (Giese, 1994; Hulin vd., 1998; Üner vd., 2000).

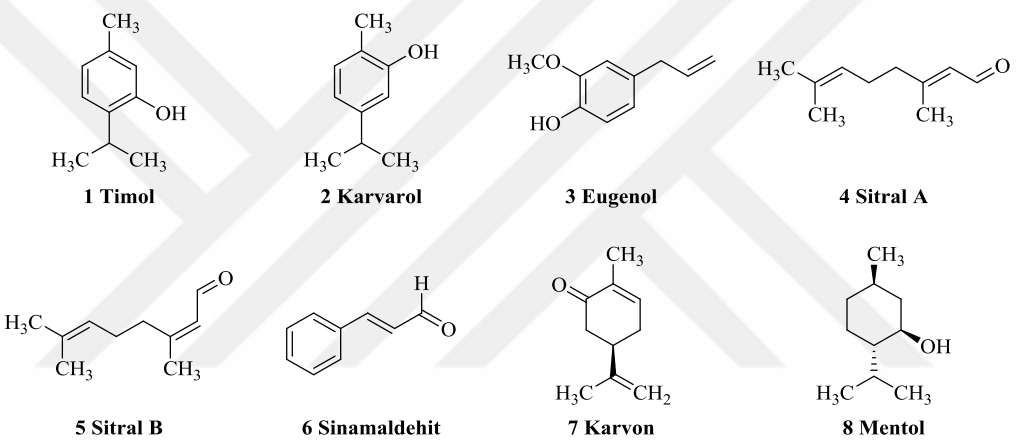
Timol 5-methly-2-isopropylphenol yapısında olan hidroksi grubu taşıyan en temel fenollerden biridir (Şekil 1.4) (Rajput vd., 2018). Doğal kaynağı *Thymus vulgaris* L. olsa da *Labiatae* grubu bitkilerinin uçucu yağlarından da elde edilmektedir. Türkiye'de Kekik adıyla bilinen *Lamiaceae* ailesinde çok sayıda bitki türü bulunmaktadır. Bu bitkiler yüksek miktarda Timol içermektedir. Timol güçlü ve önemli bir antioksidan olarak bilinmektedir. Kendine özgü kokusu ve aromasından dolayı gıda sektöründe de kullanılmaktadır. Bilimsel alanda güçlü bir antiseptik olduğu ve antibakteriyal olarak kullanıldığı bilinmektedir. *Thymus vulgaris* L.'nin uçucu yağının ana bileşenlerinden olan Timol'ün fenollere göre 30 kat daha fazla antiseptik etkisi ve 4 kat daha az toksit etkisi olduğu rapor edilmiştir (Rajput vd., 2018; Salehi vd., 2018; Karpinski, 2020).



1 Timol

Şekil 1.4. Timol'ün kiyasal yapısı

Doğal kekik bitkisinin uçucu yağında %64 oranında Timol etken maddesi bulunmaktadır. Bununla birlikte Timol'ün bir izomeri olan Karvakrol de bulunmaktadır (Salehi vd., 2018). Toprağın kimyasal özelliği, sıcaklık ve nem gibi iklim faktörleri bitkinin bileşiminde değişiklik oluşturabilmekte, birbirinden 200 m uzak mesafede yetişen kekik bitkilerinde bile farklılık olabilmektedir. Ayrıca kekik gibi uçucu yağ taşıyan bitkilerin içerik ve bileşimi toplama mevsimine göre de farklılık göstermektedir. Dolayısıyla bölgesel faktörlere bağlı olarak uçucu fenollerin oranı da değişiklik göstermektedir. Timol gibi yapısında bir oksijen atomu taşıyan farklı doğal ürünlerde mevcuttur. Bunların birkaç örneği Şekil 1.5'de gösterilmiştir (Pereıra vd.,2000).

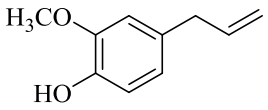


Şekil 1.5. Bitkilerden elde edilen ve oksijen bulunduran doğal organik bileşikler

Önemli biyolojik özelliklere sahip olan Timol molekülü bulundurduğu hidrofil grubundan dolayı fenollere benzer şekilde yükseltgenme tepkimeleri verebilmektedir. Timol ve izomeri karkavol yükseltgendiklerinde benzokinon izomerlerine dönüşmektedirler. Bu şekildeki yükseltgenme indirgenme tepkimeleri Timol'lerin biyolojik uygulamalarda kritik rol oynamalarına neden olmaktadır (Soliman vd., 2020). Timol'ler organik sentez içinde oldukça önemli bir yere sahiptirler. Bunlardan en önemlilerinden biri Timol'lerden mentol elde edilmesidir. Normal sentez koşullarında 8 basamakta elde edilebilen mentol yapısı, Timol'ün hidrojenlenme tepkimesi ile tek basamakta elde edilebilmektedir (Marques, 2010).

Timol, en eski antibiyotiklerden bir tanesidir. Birçok mikroorganizmanın gelişimini yavaşlatmakta veya tamamen durdurmaktadır. Ağız antiseptiği olarak gargara halinde, öksürük şurupların içerisinde mukoza sekresyonunu arttırmak amacıyla, bronşitte ve boğmacada kullanılmaktadır. Antifungusit olarak mantar enfeksiyonlarına karşı haricen kullanılan ilaçların bileşiminde bulunur (Baytop, 1984; Tanker, 1998).

Ögenol 4-allil-2-metoksifenol, fenilpropanoid sınıfından bir allilfenoldür (Şekil 1.6). Orjini *Syzygium* türünden gelen karanfil (*Syzygium aromaticum*), muskat (*Myristica fragrans*), tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*), fesleğen (*Ocimum basilicum*), defneyaprağı (*Laurus nobilis*) gibi bitkilerin uçucu yağında bulunmaktadır. Değişen ortam koşullarına göre Ögenol büyük oranda uçucudur (Goncalves vd., 2015; Gong vd., 2016). Ögenol tatlandırma, parfümeri, lokal antiseptik ve anestetik olarak tıpta vb. alanlarda kullanılmaktadır. Aynı zamanda bakteriyosit, antiviral bileşen, hepatotoksik olarak bilinmekte; yapay ve canlı ortamda kolon kanser hücrelerini öldürdüğü de bildirilmiştir (Pal vd., 2010; Goncalves vd., 2015). 100 g taze karanfil bitkisinde 9381.70 ile 14650.00 mg oranında Ögenol bulunmaktadır. Karanfilin çiçek tomurcuğunda %18 oranında uçucu yağ bulunmaktadır. Bu uçucu yağın yaklaşık olarak %89'u Ögenol, %5 ile %15'i Ögenol asetat ve β-kariofilenoldur (Cortes-Rojas vd., 2014). Ögenol'ün geçiş spektrumlu bir fungisit olduğu da bildirilmiştir. *Cladosporium* türleri ve *Trichophyton rubrum* için miminum inhibisyon konsantrasyonu sırasıyla 350 ve 256 µg/mL olarak belirlenmiştir. U.S. Food and Drug Administration (FAO), Ögenol'ü farede oral LD50 3000 mg/kg şeklinde gıda katkısı olarak kabul etmiştir. Ayrıca 74 ve 984 µL/L konsantrasyonlarında Ögenol'ün *Penicillium expansum* konidiyal ve miselyal gelişmesini inhibe ettiği belirtilmiştir (Neri vd., 2006). Ögenol antianestezik, antistres, antiviral, bakteriyostatik, antifungal, antioksidan özellikte olup, membranlarda radyasyonun neden olduğu oksidatif hasarı önlemektedir (Krishnaswamy ve Raghuramulu, 1998; Ito vd., 2005).



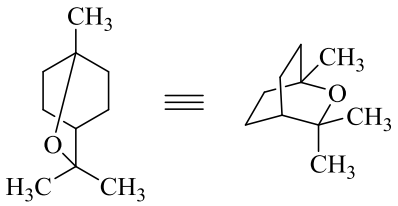
3 Eugenol

Şekil 1.6. Ögenol'ün kimyasal yapısı

Okaliptüs *Myrtaceae* familyasına ait her dönem yeşil, çoğunlukla ağaç ve bazen de ağaççık şeklinde bulunan bir bitki olup anavatanı Avustralya'dır (Batish vd., 2008). Türkiye de Okaliptüsün yetiştiği başlıca yerler Doğu Akdeniz, Akdeniz ve Ege bölgeleridir (Özkurt, 1994). Okaliptüs yapraklarından elde edilen uçucu yağın içerisinde "1,8- Sineol (eucalyptol = ökaliptol) " adı verilen eterik yağ bulunmaktadır. Halkasal eter ve monoterpenoit yapıda olan 1,8-Sineol, renksiz sıvı, kendine has kokusu olan bir terpen oksittir (Şekil 1.7) (Harborne ve Baxter, 2001).

Okaliptüs yağı monoterpen, seskiterpen, aromatik fenoller, eterler, oksitler, esterler, alkoller, aldehitler ve ketonları içeren doğal bir karışım halindedir. Bu bileşenlerin miktar ve bileşimi türe göre farklılık göstermektedir (Brooker ve Kleinig, 2006). Yapraklardan destilasyon yolu ile elde edilen ve kimya sanayinin önemli maddelerinden biri olan 1,8- Sineol tıp alanında da haricen kullanılmaktadır. 1,8- Sineol'ün yapısında bulunan flavon glikozitlerinin idrar söktürücü ve idrar yollarını temizleyici etkisinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca 1,8- Sineol'ün merkezi sinir sistemini uyardığı ve şeker hastalarında kan şekerinin düşürülmesine yardımcı olduğu da belirtilmiştir (Asımgil, 1997). *Eucalyptus* yapraklarından elde edilen uçucu yağ gıda, parfümeri ve ilaç sektöründe geniş bir kullanım alanına sahiptir. Ayrıca antimikrobiyal etkisi ile mantar, böcek, ot, nematod, akar vb. haşerelerin biyolojik kontrolünde kullanılıyor olması çevre sağlığı açısından önem taşımaktadır (Batish vd., 2008). *Eucalyptus citriodora* yapraklarından elde edilen uçucu yağın farklı dozları doğal herbisit olarak kullanıldığı ve bazı bitkilerin (*Triticum aestivum, Zea mays, Raphanus sativus, Cassia occidentalis, Amaranthus viridis* ve *Echinochloacrus-galli)* tohumlarının çimlenmesini önlediği ve fitotoksik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Batish vd., 2004). Okaliptüs uçucu yağının pestisidal etkisi 1,8- Sineol, citronellal, citronellol, citronellyl asetat, p-cymen, eucamalol, limonen, linalol, α-pinen, a-terpineol, terpinen, allocimen ve aromadendren gibi bileşiklerden

kaynaklanmaktadır. Okaliptüs uçucu yağının bu bileşenleri içinde pestisidal etkisi 1,8-Sineol bileşeninden kaynaklanmaktadır (Duke vd., 2000).



1,8-Sineol

Şekil 1.7. 1,8-Sineol'ün kimyasal yapısı

Çalışmamızın amacı literatür taramaları sonucunda elde ettiğimiz veriler ve gözlemlerimiz sonucunda yaşadığımız çevreye, tükettiğimiz sebze ve meyvelere uygulanan kimyasal madde uygulamalarına kayıtsız kalmamak ve bu uygulamalara alternatif olabilecek çevre dostu koruyucular geliştirilmesine katkıda bulunmaktır. Bu sebeple bitkilerden elde edilen uçucu yağların, doğada mevcut olmaları, toksik madde yaymamaları, toprak ve su kirliliklerine neden olmamaları, uygulandıkları ürünler üzerinde insan sağlığını tehdit edecek uzun süreli kalıntılar oluşturmamaları, seçici olmaları vb. özelliklerden dolayı tercih edilmiştir. Çalışmamızda, Timol, Ögenol ve 1,8- Sineol uçucu yağlarının asmalarda hastalığa neden olan *Botrytis cinerea'*ya karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda antifungal etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda asma gibi ülkemiz ekonomisi için yüksek önem arz eden bir ürünün hastalığı engellenerek yurt içi ve dışında daha güvenilir, rahat bir şekilde pazarlanabilmesine katkıda bulunacağı düşünülmektedir. Uçucu yağların hem gıda endüstrisi için hem de insan sağlığı açısından önemli bir doğal antifungal olarak kullanılabilecektir. Çalışmamız asmaların yaprakları üzerine uçucu yağ uygulaması ilgili herhangi bir çalışmanın henüz yapılmamış olması, hem bu konudaki temel bilimlerde önemli bir boşluğu dolduracak hem de ileriki aşamalarda bu uçucu yağların zirai alanlarda kullanılmasına öncülük etmesi yönü ile özgündür. Organik tarımın önem kazandığı ve zamanla daha da gelişeceği öngörüldüğünde bu çalışmanın önemi daha da iyi anlaşılacaktır. Dolayısıyla yapılan bu çalışma, tarım alanında uygulanması zor ve zararlı olan uygulamalara

karşı alternatif olarak doğal pestisitlerin kullanılmasına ve bu alanda yapılacak olan araştırmalara ivme kazandıracaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kurşuni Küf'e neden olan etmen *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel'in anamorfu *Botrytis cinerea* Pers: Fr., dünya genelinde önemli kayıplara neden olan bir fungustur (Elad vd., 2007; Williamson vd., 2007).

Botrytis cinerea, üzümün varyetesine ve gelişmesinin derecesine göre bağ alanında, nakliye sırasında ya da soğuk hava deposunda önemli zararlar oluşturmaktadır. Erken hasat edilen üzümler, geç hasat edilenlere göre Kurşuni küf çürüklüğünden genellikle daha az etkilenmektedirler. Enfeksiyonu kuru hava takip ederse taneler salkımların üzerinde kuruyabilmekte veya sertleşip kahverengine dönüşmektedir. Enfeksiyonda nemli hava devam ederse çürüklük hızla yayılabilmektedir. Üzümden rahatça sıyrılan kabuk alanları, *Botrytis* çürüklüğünün erken belirtilerindendir. Üzümde ilk belirtileri genellikle inokulasyondan 72 saat sonra görülmeye başlamaktadır (Winkler vd., 1974).

B. cinerea'nın enfeksiyon yolları konidi ve miselyum için farklıdır. Konidi çiçek, genç meyve salkımları ve olgun tane enfeksiyonlarına neden olurken, miselyum tane enfeksiyonuna neden olmaktadır (Elmer ve Michailides, 2007).

B. cinerea konidilerinin, konukçularının enfeksiyon bölgelerinde etkili olması için konidilerin üretim, dağılım ve birikimi için uygun şartların ve canlı kaynakların olması gerekmektedir. Sporulasyon için en uygun koşulların 15-20 °C arasındaki sıcaklık ve %65 üzerindeki nem olduğu bildirilmektedir (Ciliberti vd., 2016).

B. cinerea sadece asmaya özgü bir patojen değildir. Pek çok kültür ve yabani bitkide zarar oluşturmakta ve saprofit olarak bitkilerin nekrotik, yaşlı ya da ölü dokuları üzerinde bulunabilmektedir. Hastalık ılıman, soğuk ve nemli iklimlere sahip yerlerde hızla yayılmaktadır. Konidiler rüzgâr, yağmur vb. ile dağılmaktadır. Kurşuni küf enfeksiyonuna karşı çeşitlerin duyarlılığı salkımların yoğunluğuna, tane kabuğunun kalınlığına, anatomisine ve kimyasal yapısına göre farklılık göstermektedir. Hastalıkla mücadelede genellikle kimyasal yöntemler uygulanmaktadır. Kimyasal yöntemler *B. cinerea* ırklarının fungusitlere karşı benzimidazol ve dicarboximid'de olduğu gibi direnç geliştirmesine, neden olarak

etkisini yitirebilmektedir (Pearson ve Goheen, 1988; Wilson vd., 1994; Delen vd., 1998).

B. cinerea'nın kontrolü için fungusun barınağı olabilecek malçlama materyalinin kaldırılması ve bağda patojenin enfeksiyon kaynaklarının en aza indirilmesinin gerekliliği vurgulanmaktadır. Bu kaynakların salkım sapları, enfekte olmuş çubuklar, yaprak sapları ve filizler olduğu belirtilmektedir. Kontrol amacıyla budamanın, sezon boyunca *B. cinerea* ile bulaşmış olan dokuları elemine ettiği ve patojenin ölü dokuda saprofit şeklinde hayatta kalmasını önlediği belirtilmektedi (Mundy vd., 2012).

B. cinerea'nın kontrolünde gereksiz ilaçlamalar, fungusitlere artan dayanıklılık nedeniyle kabul edilmemektedir. Bu nedenle direnç önleyici uygun stratejilerin takibi ve sadece gerektiği zaman fungusit uygulamaları ile bağ alanlarında *B. cinerea* kontrolünü geliştirmeye ihtiyaç duyulmaktadır (De Miccolis Angelini vd., 2012; Fernández - Ortuño vd., 2015).

B. cinerea'nın genetik değişkenliği, konukçularının fazlalığı, aşırı yayılma yeteneği, bol inokulum üretiminin yanı sıra epidemisinin başlangıcında etmen tarafından sergilenen üstsel ilerleme ve çok halkalı yapı göstermesi hastalık kontrolünde karşılaşılan zorluklardır. Günümüzde entegre mücadele yönetimi hastalıkla savaşımda esas kontrol stratejisidir. Son yıllarda bu patojenin biyolojisi ve epidemiyolojisinin karmaşıklığını açıklayan birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu durum *B. cinerea*'ya karşı daha etkili ve sürdürülebilir kontrol stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlamıştır (Latorre vd., 2015).

Bitki patojenlere karşı kullanılan doğal bileşikler genellikle tıbbi bitki veya baharat niteliği taşıyan bitkilerden elde edilmektedir. Bu bitkilerin bazılarının içermiş olduğu bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu yapılan çeşitli tıbbi, gıda ve tarımsal araştırmalarla ispatlanmıştır (Balandrin, 1985; Vaughn ve Spencer, 1994; Isman, 2000; Burt, 2004; Bakkali vd., 2008).

Bazı uçucu yağlar yabancı ot tohumlarının çimlenmesini veya çimlenen bitkinin gelişmesini engellemektedirler. Uçucu yağların fungusit ve herbisit olarak kullanılma olanakları araştırılmakta ve bu anlamda önemli bir potansiyele sahip oldukları bildirilmektedir (Putnam vd., 1978; Rice, 1984; Dudai vd., 1999; Duke vd., 2000).

Literatürde uçucu yağların bitki hastalıklarının sebep olduğu ürün kayıplarının önlenmesine yönelik pek çok araştırma bulunmaktadır. Araştırmalarda uçucu yağların entegre mücadelede alternatif bir yaklaşım olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Araştırmacılar sentetik pestisitlerin yerine bitki hastalıklarının kontrolünde çevre dostu ve düşük toksisiteli yeni antifungal bileşiklerin kullanılmasına yönelik çalışmalara yönelmişlerdir.

Song vd. (2007), *Botrytis cinerea, Monilinia fructicola, Sclerotinia sclerotiorum, Alternaria alternata* ve *Colletotrichum gloeosporioides* gibi fungal patojenlerine karşı doğal uçucu hexenalın antifungal etkisini incelemişlerdir. Hexenalın antifungal etkisi konsantrasyon ve etki süresine göre değişkenlik göstermiştir. *B. cinerea* ve *M. fructicola*'nın sporlarının çoğunluğu 900 µL/L ve 450 µL/L konsantrasyonda üretememiştir. 200 µL/L konsantrasyonda ise belirli sayıda spor çimlenememiştir. Bununla birlikte 12 saat ve 900 µL/L konsantrasyonda *S. sclerotiorum* miselleri tamamen inhibe edilmiştir, 450 µL/L konsantrasyonda kısmen engelleme sağlanırken, 200 µL/L konsantrasyonda çimlenme görülmüştür. *A. alternata*ve *C. gloeosporioides* miselleri, 450 µL/L konsantrasyonda çimlenmemiştir. Aynı durum, 7 °C'de spor canlılığı ve misel gelişiminde de gözlemlenmiştir. Hexanal buharının antifugal etkisi, *B. cinerea* ile doğal olarak enfekteli ahududu meyvesi ve *M. fructicola* sporları enjekte edilen şeftali meyvesi üzerinde de denenmiştir. 900 µL/L ve 24 saat uygulama sonucunda ahududu meyvesindeki çürüme önemli ölçüde azalırken, şeftalide ise tamamen kontrol altına alındığı belirtilmiştir.

Bajpai vd. (2007) yaptıkları çalışmada, *Metasequoia gyptostroboides* Miki ex Hu'nun çiçeklerinden saflaştırılan uçucu yağın kimyasal bileşimini GC-MS ile analiz etmişler ve uçucu yağın %97.06'sını oluşturan kısmında 59 bileşiğin bulunduğunu belirtmişlerdir. Uçucu yağın temel bileşenlerinin ise α-pinene (%29.54), bornylene (%8.63) α-thujene (%8.63), totarol (%5.28), caryophyllene oxide (%4.49), β-caryophyllene (%4.40), δ-3-carene (%3.19), β-pinene (%2.25) ve α-humulene (%1.18) olduğunu belirtmişlerdir. *M. glyptostroboides*'in uçucu yağı ile bitkinin metanol, hegzan, kloroform ve etil asetat ekstrelerinin antifungal etkisini minimum inhibisyon konsantrasyonu ve disk difüzyon yöntemlerini kullanarak gözlemlemişlerdir. Uçucu yağ ve ekstrelerin *Botrytis cinerea,*

Fusarium oxysporum, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotricum capsici* ve *Phytophthora capsici* funguslarının misel büyümesini engelleyerek güçlü antifungal etki gösterdiklerini gözlemlemişlerdir.

Thymbra sintenisii Bornm. et Aznav. subsp. *İsaurica'*dan elde edilen uçucu yağın *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporium*, *Rhizoctonia solani* mantarlarının misel büyümeleri üzerine çeşitli seviyelerde antifungal etki gösterdiğini bildirilmiştir (Baðcý vd., 2008).

Basile vd. (2013)'e göre, Akdeniz Bölgesi'nden toplanan *Otanthus maritimus* L.'nin çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşenlerini GC ve GC-MS analizleri ile belirlemişler. Bu şekilde belirlenen 66 bileşenin yüksek miktarda monoterpen yapıda olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan denemeler sonucunda uçucu yağın *Botrytis cinerea* ve *Rhizoctonia solani*'ye karşı güçlü antifungal etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Karakuş (2016); allelopatik bir bitki olan *Nepeta meyeri* (Benth.)'den elde edilen esansiyel yağ, su ve metanolik özütleri, üzümde (*Vitis vinifera* L. cv. Kareerik) önemli zararlara yol açan kurşuni küfün (*Botrytis cinerea*) biyolojik mücadelesinde kullanmıştır. Araştırmada esansiyel yağın (EY) 600, 800 ve 1000 µL/Petri veya yaprak; su özütünün 2, 5 ve 10 mL/Petri veya yaprak; metanolik özütün 1, 2 ve 3 mL/Petri veya yaprak dozları çalışılmıştır. Özütlerin öncelikle fungusun miseliyal gelişimi ve spor çimlenmesi üzerinde *in vitro* ve *in vivo* etkileri incelenmiştir. EY, hem *in vitro* hem de *in vivo*da fungusun miseliyal ve spor çimlenmesini önemli seviyede engellerken, su ve metanolik özütler engellememiştir. Sonuçlara göre, *N. meyeri* esansiyel yağlarının asmada *B. cinerea*'nın biyolojik mücadelesinde kullanılabilme potansiyelinin olduğu ileri sürülmüştür.

Timol (2-isopropyl-5methylphenol), *Thyme* (Kekik) bitkisinden elde edilen doğal bir antiseptiktir. Tıpta, tarımda, kozmetikte ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Timol, monoterpen grubu içersinde sınıflandırılan bir bileşiktir. Genel olarak bir antimikrobiyal ajan olarak bilinir. Timol'ün bakteriosit ve fungusit etkisinin bulunduğu bilinmektedir (Szentandrassy vd., 2003; Sanchez vd., 2004).

Arras ve Usai (2001) yaptıkları çalışmada; tıbbi bitkilerden elde edilen 12 uçucu yağın *Alternaria citri, Botrytis cinerea, Penicillium italicum* ve *Penicillium digitatum*'a karşı fungitoksik etkilerini belirmek amacıyla *in vitro* koşullarda yaptıkları denemelerde; 250 ppm konsantrasyonda kekik (*Thymus capitatus*) yağının dört fungusun gelişimini engelleyen güçlü fungitoksik aktivitesi olduğunu gözlemlemişlerdir. Taramalı elektron mikroskobu ile yaptıkları incelemelerde kekik uçucu yağının buhar etkisinin, *P. digitatum*'un hif ve konidi morfolojisini değişikliğe uğrattığını gözlemlemişlerdir. Yapılan denemeler sonucunda Karvakrol'un, kekik uçucu yağının en önemli antifungal bileşeni olduğunu belirlenmiştir.

Elgayyar vd. (2001), bazı bitki uçucu yağlarının mikroorganizmalara karşı sahip oldukları antimikrobiyal aktivitelerini Agar Difüzyon metodu ile incelemişlerdir. Çalışmada kekik, anason, melekotu, havuç, fesleğen, kereviz, kişniş, dereotu, rezene, maydanoz ve biberiye uçucu yağlarını *Listeria monocygenes, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Yersinia enterocolitica, Lactobacillus plantarum, Aspergillus niger, Geotrichum* ve *Rhodotorula* gibi bakteri ve funguslara karşı test etmişlerdir. Yapılan denemeler sonucunda kekik uçucu yağının patojenlerin gelişimlerini tamamıyla inhibe ettiği, havuç uçucu yağının ise herhangi bir etki göstermediğini gözlemlemişlerdir. Kişniş ve fesleğen uçucu yağının ise 25-50 ppm konsantrasyonlarında bakteri ve fungusların gelişimlerini yüksek düzeylerde engellediğini gözlemlemişlerdir.

Origanum compactum L. ve *Thymus glandulosus* Lag. bitkilerinden elde edilen uçucu yağların antifungal etkileri araştırılmıştır. Uçucu yağların temel bileşenlerini GC/MS analizleri sonucu belirlenmiştir. İki uçucu yağında en önemli ana bileşiklerinin timol ve karvakrol olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu yağların 100 ppm'lik dozlarının *Botrytis cinerea*'nın misel gelişimini %100 oranında engellediği belirtilmiştir (Bouchra vd., 2003).

Daferera vd. (2003), kekik türleri (*Origanum vulgare, Thymus capitatus, Origanum dictamnus, Origanum majorana*), biberiye, lavanta, adaçayı ve yarpuz bitkisinin uçucu yağlarının *Botrytis cinerea, Fusarium solani* var. *coeruleum* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganesis* üzerindeki aktivitelerini

incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda kekik türlerinden elde edilen uçucu yağların düşük dozlarının dahi (85-300 µg/mL) *B. cinerea, Fusarium* sp. ve *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişimini tamamen inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Lavanta, biberiye, adaçayı ve yarpuz uçucu yağlarının ise patojenler üzerinde düşük engelleme aktivitesi gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Bazı kekik türlerinin (*T. capitatus, O. dictamnus, O. majorana*) uçucu yağının ana bileşeni karvakrol iken, İstanbul Kekiği yağının ana bileşenin timol olduğunu, adaçayı ve biberiye yağlarının ana bileşeni okaliptol iken, lavanta yağının içeriğinde linalool ve linalyl acetate bulunduğunu tespit etmişler. Yarpuz yağının ise cismenthone ve pulegone'ce zengin olduğunu belirtmişlerdir.

Domates meyvesinde hasat sonrası çürümeye sebep olan fungal patojenlere karşı bazı bitki yağları ve bu yağlarda bulunan bileşiklerin toksik etkisi araştırılmıştır. Kekik otu, çin maydanozu ve limon otu bitkilerinin uçucu yağlarının ana bileşenlerinin sırasıyla karvakrol, timol, sitral ve trans-2-decenal olduğu tespit edilmiştir. Bu bitkilerden elde edilen yağlar ve bu yağlardaki ana bileşenlerin buhar şeklinde ve *in vitro* koşullarda *Botrytis cinerea* ve *Alternaria arborescens'*e uygulanmıştır. Bu uygulama sonucunda fungusların spor çimlenmesinin tamamen engellediği saptanmıştır. Aynı koşullarda *Rhizopus stolonifer* sporlarının çimlenmesini ise sadece Timol buharının engellediği belirtilmiştir. Uçucu yağların buharına maruz bırakılan ve yapay inokulasyon yapılmış domates meyvelerinde, buhar uygulamasının fungal etmenlerin neden olduğu hastalıkları engellemediği gibi uzun süreli buhar uygulamalarının da meyvelerde fitotoksiteyi tetiklediği gözlenmiştir. Aynı çalışmada 5000 ppm kekik yağı çözeltisine daldırılan domates meyvelerinde *B. cinerea* ve *A. Arborescens*'nın gelişimlerinin engellendiği saptanmıştır (Plotto vd., 2003).

Kekik yağında bulunan Timol'ün antifungal etkisinin mekanizması incelenmiştir. Denemede *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen mayası kullanılmıştır. Maya hücrelerinin bu bileşen ile muamelesi, 260 nm'de absorbe edilen maddelerin salınımı ile gösterildiği gibi hücre erimesine neden olmuştur. Elektron mikroskobu gözlemleri sonucunda denemede kullanılan maya hücrelerinin neredeyse tamamının zarara uğradığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak Timol'ün antifungal etkisinin mikroorganizmaya ait hücre zarı ve duvarında

meydana getirdiği geri dönüşümsüz değişikliğe bağlı olduğu belirtilmiştir (Bennis vd., 2004).

Zambonelli vd. (2004), *Thymus vulgaris*'in ticari olarak satılan uçucu yağını fitopatojenik funguslar; *Colletotrichum lindemuthianum, Fusarium solani* ve *Rhizoctonia solani'*nin misel gelişimi üzerindeki antifungal etkisini gözlemlemişlerdir. Gaz kromatografisi yöntemi ile inceledikleri uçucu yağın timol, *p*-cymene ve γ-terpinene açısından zengin karvakrol bakımından ise düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Uçucu yağların fungisidal aktivitelerinin timol bulundurma oranına göre korelasyon gösterdiğini ve timol içeriğine sahip yağlara göre saf timol bileşiğinin fungisidal etkinliğinin daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kotan vd. (2010), yapmış olduğu çalışmada; *Thymus fallax, Satureja spicigera, Achillea biebersteinii* ve *Achillea millefolium* bitkilerinin uçucu yağları ve bunların n-heksan, kloroform, aseton ve metanol ekstrelerini 25 bitki patojenine karşı antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. *T. fallax* uçucu yağı ana bileşenlerinin karvakrol (%51,26), β-karyofilen (%5,25), γ-kadinen (%5,13), 1,8-sineol (%5,12) ve timol (%4,29) olduğunu belirtmişlerdir. Bu bileşenlerin potansiyel antibakteriyel etkisini tespit etmişlerdir. Özellikle major bileşenler olan timol ve karvakrol'un etkisinin daha belirgin olduğunu gözlemlemişlerdir.

Portillo-Ruiz vd. (2005), yaptıkları çalışmada Meksika kekiği olarak bilinen *Lippia berlandieri* uçucu yağının antifungal etkinliğini incelenmiştir. *L. berlandieri'*ın % 0.25-4.0 konsantrasyonlarının antifungal etkisi PDA ortamında denenmiştir. *L. berlandierin* antifungal aktivitesi *Geotrichum, Penicillium, Aspergillus ve Bipolaris* patojenleri üzerindeki etkisi disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *Lippia* uçucu yağı denemelerde kullanılan tüm funguslara karşı değişen konsantrasyonlarda değişen oranlarda antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Dob vd. (2006), Cezayir'de yaptıkları çalışmada yabani olarak yetişen *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. bitkisinden hidrodistilasyon yöntemi ile elde ettikleri uçucu yağı GC-MS ile analiz ederek 47 bileşen tanımlamışlardır. Uçucu yağ içeriğinde; timol (%29,3), γ-terpinene (%21,7), *p*-cymene (%15,9) ve thymol methyl ether (%11,4) monoterpenleri fazla miktarda bulunurken, linalool (%4,8)

ve β-caryophyllene (%2,9)'nin az miktarda olduğunu tespit etmişlerdir. *İn-vitro* ortamda MIC ve disk difüzyon yöntemleri kullanılarak yapılan antimikrobiyal testlerde uçucu yağların antifungal aktiviteye sahip olduğunu ve gram-negatif bakterilerin büyümesine karşı güçlü etki gösterdiklerini gözlemlemişlerdir.

Martinez-Romero vd. (2007), atmosferdeki Karvakrol buharının, PDA besi yerindeki ve üzüm tanelerine inokule edilen *Botrytis cinerea* üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Petriler içerisinde 0.005, 0.2, 0.5 ve 1.10 mL/L konsantrasyonları denenmiştir. Uygulanan tüm konsantrasyonlar, PDA ortamında *B. cinerea* gelişimini tamamen engellerken Karvakrol konsantrayonun arttırılmasıyla üzüm tanelerindeki hastalıkta azalma gözlemlenmiştir. İnokule edilmiş kontrol meyvelerinde etilen üretimi ve solunum hızı artarken, bu artış uygulanan Karvakrolün miktarı artıkça azalmıştır. Bu araştırmanın sonucunda, Karvakrolün sofralık üzüm depolamasında oluşan fungal hastalıkların kontrolü için sentetik fungusit kullanımına alternatif yenilikçi bir yaklaşım olarak ortaya koymuşlardır.

Lee vd. (2007), *Thymus vulgaris* ve *Origanum vulgare* bitkilerinde elde edilen uçucu yağların; *Colletotrichum gloeosporioides, Fusarium oxysporum* ve *Rhizoctonia solani* funguslarının misel büyümesini tamamen önlediğini gözlemlemişlerdir. *Eucalyptus citriodorave* ve *Cuminum cyminum* bitkilerinden saflaştırılan uçucu yağların ise farklı ürünlerde depo hastalıklarına neden olan patojenleri engelleyebilecek potansiyele sahip olduklarını ifade etmişlerdir.

Tagami vd. (2009), *Bidens pilosa, Thymus vulgaris, Lippia alba* ve *Rosmarinus officinalis* bitkilerinin sulu ekstrelerinin *in-vitro* ortamda *Alternaria alternata, Colletotrichum graminicola, Rhizoctonia solani* ve *Sclerotium rolfsii* funguslarına karşı iyi derecede fungitoksik etki gösterdiklerini belirtmişlerdir.

Camele vd. (2010), Akdeniz Bölgesi'nden toplanan 12 aromatik bitkiden elde edilen uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının antifungal etkinliğini turunçgillerde önemli hasat sonu fungal patojenlerden olan, *Penicillium italicum, Botrytis cinerea, Phytophthora citrophthora* ve *Rhizopus stolonifer* karşı test etmişlerdir. Uçucu yağlar, kekik türleri (*Origanium vulgare, Thymus vulgaris*), rezene (*Foeniculum vulgare*), zufa otu (*Hyssopus officinalis),* oğul otu (*Melissa officinalis),* mercan köşk (*Majorana hotensis*), fesleğen (*Ocimum basilicum*), *Verbena officinalis,* anason (*Pimpinella anisum)* ve Frenk kimyonu (*Carum carvi*)

bitkilerinden saflaştırılmıştır. *İn vitro* da yapılan denemeler sonucunda yalnızca *V. officinalis, T. vulgaris* ve *O. vulgare* uçucu yağlarının kuvvetli düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Kekik uçucu yağının 2000 ppm konsantrasyonda fungal etmenlerden *B. cinerea, P. citrophthora* ve *R. stolonifer*'in gelişimini inhibe ettiğini fakat maviküf hastalığı etmeni olan *P. italicum*'a karşı etki göstermediği gözlemlenmiştir. *V. officinalis* ve *O. vulgare* uçucu yağlarınında *P. citrophthora, B. cinerea* ve *P. italicum*'un gelişimini inhibe ettiği gözlemlenmiştir.

Marandi, vd. (2010) yaptıkları çalışmada; *Thymus kotschyanus* bitkisinin toprak üstü kısımlarını Clevenger cihazı distile edip antifungal etkisini incelemek amacıyla uçucu yağını elde etmişlerdir. Elde edilen uçucu yağın GC-MS cihazı kullanılarak içeriği analiz edilmiştir. Yapılan analize göre; *T. kotschyanus* bitkisinin uçucu yağ içeriğinin; carvacrol (%28.54), α-pinene (%1.46), camphene (%3.27), α-terpinene (%0.68), γ-terpinene (%14.66), β-pinene (%1.56), limonene (%7.1), terpinen-4-ol (%3.16), cis-sabinenehyrate (%2.01), pcymene (%11.45), p-cymene-8-ol (%0.92), α-terpineol (%2.9), sabinene (%2.35), myrcene (%2.91), linalool (%1.2), transpinocarveol (%0.6), E-caryophyllene (%2.57), (Z)-β-ocimene (%0.67), translinalooloxide (%0.42), β-bisabolene (%0.29), spathulenol (%0.46) ve thymol (%3.31) bileşenlerinden oluştuğu tespit edilmiştir. Antifungal aktivite testlerinde *Penicillium digitatum* ve *Botrytis cinerea'*ya karşı 0-100-200-300- 400 ve 500 (µL/L) konsantrasyonlar da uygulama yapılmıştır. 300 (µL/L) konsantrasyon da uygulandığında funguslarda misel büyümesinin olmadığı gözlemlenmiştir.

Origanum rotundifolium, Origanum acutidens ve *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* bitkilerinden elde ettikleri uçucu yağları *in-vitro* ortamda 14 fungus, 3 maya ve 26 bakteri türüne karşı disk-difüzyon ve minimal inhibisyon konsantrasyonu yöntemlerini kullanarak antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Mikroorganizmaların duyarlılık seviyesi uçucu yağ bileşimine ve oranına bağlı olarak değişmiş ve uçucu yağların antibiyotiklerden daha yüksek etkiler gösterdiği gözlemlenmiştir. Kekik bitkisinden saflaştırılan uçucu yağın insanlar üzerindeki toksik ve tahriş edici etkisi test edildikten sonra bu uçucu yağın gıda endüstrisinde

doğal antimikrobiyal ürün olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu belirtmişlerdir (Çetin vd., 2011).

Marandi vd. (2011), armut meyvesinde *Penicillium expansum* ve *Botrytis cinerea*'nın neden olduğu hasat sonrası oluşan kayıpları kontrol altına almak için *Thymus kotschyanus*, *Rosmarinus officinalis* ve *Ocimum basilicum* uçucu yağlarının etkinliğini *in-vitro* ve *in-vivo* koşullarda denemişlerdir. Çalışmanın sonucunda, *in-vitro* ortamda *T. kotschyanus* uçucu yağının en yüksek antifungal aktiviteye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. *İn-vivo* denemelerde ise, *T. kotschyanus* uçucu yağı hastalık şiddetini azaltmış, *B. cinerea* ve *P. expansum* ile inokule edilen enfekteli armut meyvelerinin sayısında düşüş olmuştur. Ayrıca armut meyvesinin kalite sensörlerinin ölçümünde uçucu yağların meyve aromasını artırdığını ve *T. kotschyanus* yağının meyve sıkılığını azalttığını, *O. basilicum* yağının ise artırdığını belirtmişlerdir. *T. kotschyanus* uçucu yağının fitopatojen fungusların gelişmesi üzerinde engelleyici etkisinin iyi olduğunu, armut meyvelerinin korunması ve raf ömrünün uzatılması için kimyasal koruyuculara alternatif olabilacek yeni bir kontrol aracı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Mostafa vd. (2012), *Lantana camara, Salvadora persica, Thymus vulgaris, Zingiber officinale* ve *Ziziphus spina-christi* bitkilerinin metanol ekstrelerinin domateste hastalık etmeni olan *Fusarium oxysporum, Pythium aphanidermatum* ve *Rhizoctonia solani'*ye karşı antifungal etkilerini incelemişlerdir. *T. vulgaris* ve *Z. Officinale* metanol ekstrelerinin *F. oxysporum* fungusuna karşı önemli ölçüde etki gösterdikleri, *S. persica* metanol ekstresinin ise *L. camara* ve *Z. spina-christi* funguslarına etki etmediğini gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak bu şekildeki bitki ekstraklarının patojen fungusların kontrolünde potansiyel olarak etkili olduğunu, çevre sağlığı içinde güvenli olduklarını ve alternatif fungusit üretilmesine katkı sağlayabileceğini ifade etmişlerdir.

Onaran vd. (2014), *Thymus fallax, Origanum vulgare* ve *Mentha dumetorum* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal içeriklerini GC-MS yöntemi ile analiz etmişlerdir. Yapılan analiz sonucunda uçucu yağların; *T. fallax*'ta thymol (%41.48), *o*-cymene (%26.75), γ-terpinene (%15.84), 2-isopropyl-1-methoxy-4-methylbenzene (%5.10), terpinolene (%2.11) ve carvacrol

(%1.28); *O. vulgare*'de thymol (%50.41), carvacrol (%12.96), 2-bornene (%11.28), γ-terpinene (%8.80); *M. dumetorum*'da carvone (%39.64), eucalyptol (%14.34), dihydrocarvone (%12.78), limonene (%7.79) bileşenleri tespit etmişlerdir. Yapılan testlerde uçucu yağlardan *T. fallax* ve *O. vulgare*'nin *Alternaria solani, Fusarium oxysporum* ve *Rhizoctonia solani*'nin büyümesini önemli ölçüde engellediğini, *M. dumetorum* uçucu yağının ise *R. solani*' nin büyümesine etki etmediğini, *A. solani, F. oxysporum*'un misel gelişiminede engelleyici etkisinin bulunmadığını gözlemlemişlerdir. Araştırmada kullanılan uçucu yağların aynı zamanda *Abutilon theophrasti* Medik., *Agrostemma githago* L., *Medicago sativa* L. ve *Lepidium sativum* L.'nin tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerine baskılayıcı etkilerinin olduğuda ifade edilmiştir. Yapılan bu araştırmaya göre, bitkilerden elde edilen uçucu yağların doğal herbisit ve fungusit olarak kullanılabileceği, aynı zamanda sentetik pestisitlere olan bağımlılığın azalabileceğini ifade etmişlerdir.

Küçükbay vd. (2014), Erzincan-Kemaliye ve çevresinden topladıkları *Thymus kotschyanus* var. *glabrascens* bitkisinin toprak üstü kısımlarını Clevenger cihazı ile distile etmişlerdir. Elde ettikleri uçucu yağın antifungal ve antimikrobiyal aktivitesini test etmişlerdir. Uçucu yağı GS-MS cihazı ile analiz etmişler ve uçucu yağ içeriğinin; thymol (%0.4), nerolidol (%0.1), borneol (%0.6), β-caryopyllene (%2.2), α-terpineol (%0.3), carvacrol (%57.2), carvacrolmethylether (%0.1), α-terpineol (%0.3), carvone (%0.1), nerol (%0.1), trans-carveol (%0.1), caryophylleneoxide (%0.5) ve spathulenol (%0.1) bileşenlerinden oluştuğunu tespit etmişlerdir. Antifungal denemelerin sonucunda % inhibisyon oranları *A. flavus* (29.68*), A. Niger* (8.33), *P. expansum* (21,42), *P. lanosum* (5.88) ve *A. alternata* (16.07) olarak gözlemlenmiştir. Disk difüzyon testlerinde ise (mm); *E. erogenes NRRL 3567* (9 mm), *E. coli ATCC 25292* (10 mm), *L. monocytogenes ATCC 7644* (9 mm), *P. Aeruginosa ATCC 27853* (9 mm), *P. vulgaris NRRL 123* (9 mm), *S. marcescens* (8 mm), *S. aureus ATCC 6538* (9 mm), *C. jejuni ATCC 33291* (10 mm) ve *C. albicans* (9 mm) şeklinde gözlemlenmiştir. MİK değeri ise 250 (mg/mL) olarak rapor etmişlerdir.

Thymus praecox bitkisinden elde ettikleri uçucu yağın analizi yapılmıştır. Yapılan analiz sonucunda; *trans*-nerolidol (%19.79), germacrene-D (%18.48) ve

timol (%9.62) ana bileşen olarak tespit etmişlerdir. Bu şekilde analiz ettikleri uçucu yağın antimikrobiyal etkisini 16 fungus ve bakteri türü üzerinde test etmişlerdir. Yapılan denemelerden sonra uçucu yağın yüksek derecede antimikrobiyal etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir (Petrovic vd., 2016).

Oregano vulgare uçucu yağ buharını dünya çapında bağcılıktaki başlıca patojenlerden biri olan *Plasmopara viticola*'ya (Bağ mildiyösü) karşı etkisini incelemişlerdir. Çalışmada Asma *P. viticola* ile enfekte edilmiş ve ardından 2 uygulama süresi boyunca (24 ve 10 saat) farklı konsantrasyonlarda uçucu yağların sürekli fümigasyonuna maruz bırakılmıştır. *O. vulgare* uçucu yağ buharı işleminin enfeksiyondan 24 saat sonra bağ mildiyösünün neden olduğu küf oluşumunu %95 oranında azalttığı belirtilmiştir. Yapılan çalışmada ki Transkriptomik veriler, tedavinin bitki de var olan bağışıklık sistemini salisilik, jasmonik asit ve etilen sentezinde yer alan genlerle tetiklediğini, patojenle ilgili proteinleri ve fitoaleksin sentezini aktive ettiğini açıkça göstermiştir. Bu sonuçlar, ilk kez uçucu yağ-konakçı-patojen etkileşimlerini açıklığa kavuşturmuş ve uçucu yağın antifungal etkinliğinin esas olarak konakçı bitkiler içindeki direnç yollarının tetiklenmesine bağlı olduğunu göstermiştir. Bunun, biyopestisitlerin üretimi ve araştırılması, dirençli bitki yetiştirme stratejileri için büyük önem taşıdığı belirtilmiştir (Rienth vd., 2019).

Botrytis cinerea'ya karşı timol ve karvakrolün antifungal aktivitesini araştırılmıştır. Deney sırasında timol ve karvakrolün *B. cinerea*'nın fiziksel ve biyokimyasal parametreleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlar timol ve karvakrolün hedeflenen patojene karşı güçlü antifungal aktivite sergilemiştir. Timol ve karvakrol, *B. cinerea*'nın hif ve miselyum yapılarını bozmuştur. Kullanılan uçucu yağların konsantrasyonlarının artmasıyla hiflerin zar geçirgenliği, hücre dışı iletkenlik artışı, hücre bileşeninin salınımı ve hücre dışı pH'ın azalmasına neden olmuştur. Bu nedenle mevcut sonuçlar, timol ve karvakrolün, bahçecilik ürünlerindeki *B. cinerea*'ya karşı geleneksel fungisitlere iyi bir alternatif olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Zhang vd., 2019).

Burggraf ve Rienth (2020); yapmış oldukları çalışmada, *Origanum vulgare* (Kekik) uçucu yağının *Botrytis cinerea*'ya karşı antifungal olarak etkilerini araştırmıştır. Doğrudan uçucu yağ uygulamasının dezavantajlarını önlemek için *in*

vitro ve in vivo deneyler buharlaştırma sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiş. *İn vitro* deneylerde, *B. cinerea* büyümesinin %100 inhibisyonunu sağladığı belirtilmiştir. *Vitis vinifera* cv. *Chasselas* meyvelerinde, kekik uçucu yağ buharı mantar büyümesinde %73'lük bir azalmaya neden olmuştur. Bu çalışma, sentetik ve bakır bazlı fungisitlerin kullanımını azaltabilen tarla içi veya sera buharlaştırma sistemlerinin geliştirilmesi için yeni olanaklar sağlayan üzüm meyveleri üzerindeki buhar fazında uçucu yağların etkinliğini göstermiştir.

Ögenol *Syzygium* cinsine ait karanfil ve bazı bitkilerin yağında bulunan kısa hidrokarbon zincirli bir methoksifenoldür. Karanfil ekstraktının en büyük yapısal unsurunu (%75-85) oluşturur. Suda çözünmez, alkolde veya yağda kolayca çözünebilir. FDA tarafından GRAS statüsüne uygun görülmüş bir maddedir (Fujisawa vd., 2002). Yapılan çalışmalarda Ögenolün antikanserojen ve antifungal özellikleri olduğu vurgulanmıştır (Shibamoto, 2001; Burt, 2004).

Nascimento vd. (2000), tarafından *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Bacillus subtilis, Candida albicans, Klebsiella pneumoniae, Proteus* spp., *Shigella* spp., *Enterobacter aerogenes* türlerine karşı karanfilin antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Yapılan denemeler sonucunda karanfil özütünün bu mikroorganizmalara karşı yüksek düzeyde aktivite gösterdiği ve onları inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Karanfil özleri kullanılan türlere karşı 20-250 µg/mL aralığında MİK değerleri ölçülmüştür.

Tworkoski (2002), yaptığı çalışmada; 25 farklı uçucu yağın Dandelion (Karahindiba) bitkisinin yaprakları üzerine ve *Chenopodium album*, L., *Ambrosia artemisiifolia* L., *Taraxacum officinale, Sorghum halepense* bitkilerinin kök gelişimine olan fitotoksik etkilerini incelemiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda *Thymus vulgaris, Cinnamomum zeylanicum, Satureja hortensis, Syzygium aromaticum* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların fitotoksik etkilerinin en fazla olduğu ve ölü hücrelerle sonuçlanan elektriksel iletkenliğin artığını belirtmişlerdir. İçeriğinde önemli bileşen olarak Ögenol bulunan *C. zeylanicum* uçucu yağının en yüksek herbisidal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara göre organik tarım sistemleri için bitkilerden elde edilen uçucu yağların doğal ürün herbisitler olarak kullanılabileceği bildirmişlerdir.

Edris ve Farrag (2003), şeftali meyvelerinde pazarlama, taşıma ve depolama esnasında çürümelere neden olan *Sclerotiniasclerotorium, Rhizopus stolonifer* ve *Mucor* sp. funguslarına karşı nane ve fesleğen bitkilerinin uçucu yağının antifungal aktivitesi test edilmiştir. Nane yağının önemli iki bileşeni olan menthol ve menthone, fesleğen yağının iki önemli bileşenini olan linalool ve ögenolün kapalı sistemlerde buharları *S.sclerotorium, R. stolonifer* ve *Mucor* sp.'e karşı uygulanmıştır. Uçucu yağlar, farklı oranlarda ve doza bağlı olarak fungusların gelişimini inhibe etmiştir. Fesleğen yağının bileşenleri olan linalool tek başına orta düzeyde aktivite gösterirken, ögenol ise etki göstermemiştir. Ögenol ve linalool'un fesleğen yağındaki orana benzer konsantrasyonda karıştırıldığında antifungal aktivitelerinin arttığı ve bunun da aralarındaki sinerjistik etkiden kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Kalembad ve Kunicka (2003) yaptıkları çalışmada, Ögenol'ün *Bacillus cereus, Listeriamonocytogenes, Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Salmonella enterica, Aeromonas hydrophila, Salmonella typhimurium* ve *Enterobacter aerogenes* bakterilerine karşı antibakteryel aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Aynı zamanda *Aspergillus spp.* ve *Penicillium spp.* küflerine karşı da antifungal etki gösterdiğini ispatlamıştır.

Dev vd. (2004) yaptıkları çalışmada, 16 aromatik kimyasalın *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. et Jain, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Phomopsis sojae* Leh., *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson ve *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. tohum kaynaklı fungal patojenlere karşı antifungal etkisini 100-8000 ppm konsantrasyonlarında uygulama yaparak incelemişlerdir. Patojenlere karşı her bir kimyasal minimum engelleyici konsantrasyonda uygulanmıştır. Test edilen kimyasallar misel gelişimini doza bağlı olarak inhibe etmiştir. Ögenol, methyl ögenol, citral, 2-phenethyl alcohol, 2-phenethyl acetate and 2-phenethyl propionate bileşenlerinin 270-1704 ppm konsantrasyonlarında engelleme göstermiştir. Bitki hastalıkları mücadelesinde ve karantinada kullanılabilecekleri belirtilmiştir.

Hersch-Martínez vd. (2005), *Syzygium aromaticum* uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlar ve bunun için agar disk difüzyon metodunu kullanmışlardır. Koagülaz negatif *Staphylococcus aureus, Escherichia*

coli, Serratia marcescens, Shigella sonnei, Pseudomonas aeruginosa bakteri izolatlarına karşı *Syzygium aromaticum* uçucu yağlarının inhibisyon zon çaplarını sırasıyla 12.90 mm, 14.30 mm, 09.50 mm, 09.00 mm, 21.70 mm, 03.10 mm inhibisyon zonu verdiğini belirlemişlerdir.

Yano vd. (2006) yaptıkları çalışmada, *Vibrio parahaemolyticus* izolatı üzerine 18 farklı bitki türünün antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmişlerdir. *V. parahaemolyticus* izolatı üzerine en etkili olan bitkinin *Syzygium aromaticum* olduğunu ve MİK değerinin ise 30 °C'de %0.125 olduğunu belirtmişlerdir.

Pinto vd. (2009), *Syzygium aromaticum* tomurcuğundan elde edilen karanfil uçucu yağının bileşenleri ve antifungal etkisini incelenmiştir. Çalışmada *Candida parapsilosis* ATCC 90018, *Candida krusei* ATCC 6258, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *Epidermophyton floccosum* türleri kullanılmıştır. En yüksek aktivite, beş farklı dermatofit türü üzerinde gözlemlenmiş ve MİK değeri 0.16 mL/mL olarak bulunmuştur. Diğer MİK değerleri *Aspergillus* ve *Candida* suşlarına karşı 0.32-064 mg/mL arasında değiştiği gözlemlenmiştir. *S. aromaticum* uçucu yağının %97,3'ünü oluşturan toplam 19 bileşen tespit edilmiştir. Etkili olan bileşenin %85.3 içeriğe sahip olan Ögenol olduğu belirlenmiştir.

Menniti vd. (2010), trans-2 -heksenal, karvakrol ve ögenol bileşiklerinin *in vitro* koşullarda ve suni olarak inokule edilmiş mısır danelerinde *Fusarium verticillioides*'e etkisini test etmişlerdir. Trans-2-heksenal, karvakrol ve ögenol buharının *F.verticillioides*'e karşı *in vitro* denemelerde fungisidal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Trans-2-heksenal iyi derecede patojenin gelişimini engellerken, bunu karvakrol ve ögenol takip etmiştir. Mısır danelerinde trans-2-heksenal (369 mL/L) ile yapılan fumigasyon, *F.verticillioides*'e karşı 11 günlük inkübasyon süresinde %100 oranında engelleyici aktivite göstermiştir ve bunun etkinliği konsantrasyon ve inkübasyon süresine bağlı olarak değişkenlik göstermiştir.

Ögenolün antifungal özelliği, on bitki patojenine karşı test edilmiş ve *Botrytis cinerea* üzerindeki *in vitro* aktivitesi ile ilgili ayrıntılı çalışmalar yapılmıştır. *B. cinerea*'nın miselyal radyal büyümesi üzerindeki Ögenolün EC50

değeri 38,6 µg /mL iken; konidi çimlenmesine karşı etkili olmamıştır. Ögenole maruz kalan hiflerde sitoplazmik pıhtılaşma, vakuolasyon ve hiflerde büzülme gibi önemli morfolojik değişikliklere neden olduğu belirtilmiştir. Ögenol, H_2O_2 oluşumunu tetikledi ve sitoplazmada serbest Ca^{2+}'yı arttırdı. Bu sonuçlar, Ögenolün antifungal aktivitesinin, membran bağlanması ve geçirgenlik değişikliğine bağlı olduğunu ve plazma membranının bozulmasına yol açtığı fikrini öne sürmüşlerdir (Wang vd., 2010).

Combrinck vd. (2011), *in vitro* ortamda yapmış oldukları araştırmada; armut, avakado, üzüm ve narenciyeden elde edilen uçucu yağların *Lasiodiplodia theobromae, Colletotrichum gloeosporioides, Alternaria citrii, Botrytis cinerea* ve *Penicillium digitatum* patojenlerine karşı antifungal aktivitelerini test etmişlerdir. Bazı uçucu yağ bileşenlerinin etkilerini farklı spektroskopi yöntemlerini kullanılarak sayısal verileriyle tespit etmişlerdir. Test edilen uçucu yağlar arasında kekik uçucu yağı funguslara karşı en etkili uçucu yağ olarak belirlenmiştir. Ögenol içeren tarçın yağı her ne kadar iyi bir engelleme etkinliği göstersede, karvakrol'ca zengin uçucu yağların antifungal etkinlik yönünden daha iyi düzeyde aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir.

Morcia vd. (2011), uçucu yağlarda doğal olarak bulunan beş bileşiğin birçok bitkide hastalığa neden olan 10 farklı mikotoksijenik fungus türü üzerindeki aktivitesini incelenmiştir. Terpinen-4-ol, Ögenol, Carvone, 1,8-Sineol ve Timol'ün, *Fusarium subglutinans, Fusariumcerealis, Fusarium verticillioides, Fusarium proliferatum, Fusarium oxysporum, Fusarium sporotrichioides, Aspergillus tubingensis, Aspergillus carbonarius, Alternaria alternata* ve *Penicillium* türlerine karşı antifungal etkileri laboratuar koşullarında gözlemlenmiştir. Test edilen doğal bileşenler, bütün fungus türlerinin misel gelişmesi üzerine potansiyel olarak farklı düzeyde toksik etkiler göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, bu uçucu yağ bileşenlerinin bitkiler üzerindeki antifungal aktivitelerinin olumlu sonuçlar verdiğini ve daha fazla incelenmesi gerektiğini göstermiştir.

Pandey ve Singh (2011), karanfilin ham etanolik ve metanolik ekstraktlarının *in vitro* antimikrobiyal etkisini; *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* gıda patojenlerine karşı test

etmişlerdir. Karanfilin metanolik ekstratı, *S. aureus* türüne karşı maksimum 24.00 mm, minimum *P. aeruginosa* türüne karşı 19.00 mm inhibisyon zon meydana getirmiştir. Karanfilin etanolik ekstraktı *P. aeuginosa* türüne karşı maksimum inhibisyon zonu 20.00 mm iken minimum inhibisyon zonu *E. coli* türüne karşı 18.00 mm olarak gözlemlenmiştir. Karanfilin metanolik özütü, test organizmalarına karşı MİK değeri *E. coli* türü için 2.31 mg/mL, *S. aureus* türü için 0.385 mg/mL ve *P. aeruginosa* türü için 0.010 mg/mL olarak tespit edilmiştir.

Rana vd. (2011), *Syzygium aromaticum* uçucu yağının, *Fusarium moniliforme* NCIM 1100, *Fusarium oxysporum* MTCC 284, *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Trichophyton rubrum* ve *Microsporum gypseum* türleri üzerine antifungal etkisini incelemişlerdir. Disk difüzyon metoduna göre inhibisyon zon değerlerinin 12.00-22.00 mm aralığında olduğu gözlemlenmiştir. Hassasiyetlik sıra dizi değerleri *Mucor* sp. > *M. gypseum* > *F. monoliforme* > *T. rubrum* > *Aspergillus* sp. > *F. oxysporum* şeklinde hesaplanmıştır. Test edilen fungal türler için *S. aromaticum* uçucu yağının MİK değeri 9-12 µL/mL aralığında hesaplanmıştır. *Mucor* sp., *M. gypseum* ve *T. rubrum*, 9 µL/mL, *Aspergillus* sp. ve *F. oxysporum*, 10 µL/mL, *F. monoliforme* 12 µL/mL şeklinde MİK değerleri ölçülmüştür.

La Torre vd. (2016), domateste *Fusarium* hastalığının kontrolü için kekik yağı, karanfil yağı, biberiye yağı ayrıca iki ticari ürün olan Bioxeda (Karanfil yağı esanslı) ve Sporatec'in (içerisinde biberiye yağı, karanfil yağı ve kekik yağı bulunan) antifungal etkisini *in vitro* da ve serada saksı denemeleri ile gözlemlemişlerdir. *İn vitro* denemeler, test edilen uçucu yağ ve bileşenlerinin neredeyse tamamının misel büyümesini, konidial çimlenmeyi engellediğini göstermiş ve en iyi sonucu karanfil yağının ana bileşeni olan Ögenol göstermiştir. Biberiye yağının ise en düşük inhibisyon aktivitesine sahip yağ olduğu gözlemlenmiştir. Serada yapılan saksı denemeleri sonucunda ise test edilen tüm uçucu yağların domates *Fusarium* solgunluğunu azaltabileceğini belirtmişlerdir.

Ökaliptol ya da kajeputol olarak ta bilinen 1,8-Sineol birçok bitkinin esansiyel yağında bulunan bir terpen oksittir (De Vincenzi vd., 2002; Lahlou vd., 2005). *Eucalyptus* türlerinin yapraklarından elde edilen esansiyel yağlarında bol miktarda (%25- 90) bulunur (Giamakis vd. 2001).

Son zamanlarda 1,8-Sineol'un birçok mikroorganizmanın gelişimini inhibe edici etkisinin bulunduğu rapor edilmiştir (Santos vd., 2001). Bu bileşik burun spreyi, dezenfektan, analjezik gibi farmasötik preparatlarda ve gıda maddelerinde de tatlandırıcı olarak kullanılır. Ayrıca 1,8-Sineol romatizma, soğuk algınlığı, bronşial astım ve septik-sokla birleşen patolojilerin tedavisinde de kullanılmaktadır (Miyazawa vd., 2000; Duisken vd., 2005; Lahlou vd., 2005). 1,8-Sineol antibakteriyal (Pattnaick vd., 1997; Santos vd., 2001) ve antitümoral etkilere sahiptir (Santos vd., 2001; Moteki vd., 2002).

Müller-Riebau vd. (1995), Türkiye'nin güneyinde yetişen yabani bitkilerden *Thymbra spicata, Satureja thymbra, Salvia fruticosa, Laurus nobilis, Inula viscosa, Mentha pulegium, Pimpinella anisum, Eucalyptus camaldulensis* ve *Origanum minitiflorum*'un uçucu yağlarının kimyasal içeriklerini GC-MS yöntemi ile analiz edilmiştir. 1,8-cineole, pulegone ve anethole, γ- terpinene, p-cymene, tyhmol ve cavracrol bileşenlerinden oluştuğunu tespit etmişlerdir. Yapılan denemelerde uçucu yağların içerisindeki fenolik fraksiyonların farklı konsantrasyonlarının bitki hastalıklarına neden olan toprak kökenli funguslardan *Rhizoctonia solani, Fusarium moniliforme, Sclerotinia sclerotiorum* ve *Phytophthora capsici'*ye karşı antifungal etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Sokovic vd. (2002), Yunanistan'da yabani olarak yetişen *Salvia pomifera* subsp. *calycina, Salvia fruticosa, Satureja thymbra* ve *Origanum onites* bitkilerinin uçucu yağları ve bileşenlerinden olan karvakrol, camphor ve 1,8-Sineol'un antifungal etkilerini incelemişlerdir. Uçucu yağ ve ana bileşenlerini bitki, hayvan ve insan patojeni olan 13 fungus türüne karşı test etmişlerdir. Uygulanan uçucu yağların incelenen bütün funguslara karşı değişik oranlarda engellemeler gösterdiğini gözlemlemişlerdir. En az etkinliği olanın adaçayı yağı, en yüksek ve en geniş aktiviteye sahip olanların ise Karvakrol içeren *O. onites* ve *T. spicata* uçucu yağları olduğunu belirlemişlerdir. Denenen bileşenler arasında en yüksek antifungal aktiviteyi Karvakrol ve en düşük aktiviteyi 1,8-Sineol göstermiştir.

Pitarokili vd. (2003), *Salvia fruticosa'*nın GC-MS analizi ile ana bileşenlerini belirlemişler ve bu ana bileşenlerden 1,8-Sineol'ün *Fusarium oxysporum f. sp. dianthi ve Fusarium proliferatum, Rhizoctonia solani,*

Sclerotinia sclerotiorum ve *Fusarium solani f. sp. cucurbitae'*ye karşı yüksek antifungal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Simic vd. (2004), *Sassafras abidium, Aniba rosaenodora, Laurus nobilis* (defne) ve *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın) uçucu yağlarını bozulma ve zehirlenmeye neden olan türlerden oluşan 17 micromycetese karşı denemişlerdir. *A. rosaenodora'*nın ana bileşeni linalool iken defne (*L. nobilis*) yağında 1,8-Sineol'ün daha baskın olduğu gözlemlenmiştir. Sassafras yağının önemli bileşeni safrole ve *C. zeylanicum* yağının ana bileşeni *trans*- cinnamaldehyde olarak belirlenmiştir. Test edilen uçucu yağlar değişen oranlarda fungusitik etki göstermişlerdir. En güçlü antifungal aktiviteyi tarçın yağı göstermiştir.

Salvia recognita ve *Salvia macrochlamys* 'nın toprak üstü kısımlarının kurutularak, hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağları GC ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Yapılan analiz sonucunda 1,8-Sineol, borneol ve camphor temel bileşenler olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada, *Salvia* türlerine ait uçucu yağların bitki patojenleri *Colletotrichum fragariae, Colletotrichum aculatum* ve *Colletotrichum gloeosporioides* üzerine antifungal aktivite gösterdiği, ancak bu etkinin patojenlere karşı seçici olmadığı belirtilmiştir (Tabanca vd., 2006).

Soylu vd. (2006), Hatay ilinden toplanan tıbbi bitkilerden origanum, kekik, lavanta, biberiye, rezene ve defne bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerini analiz etmişlerdir. Elde edilen uçucu yağların domatesin önemli yaprak kökenli fungal hastalık etmeni olan *Phytophthora infestans*'a karşı antifungal etkinliğini incelemişlerdir. Yağların ana bileşenlerinin sırasıyla carvacrol (%79.8), borneol (%20.4), camphor (%20.2), anethole (%82.8) ve 1,8-cineole (%35.5) olduğunu tespit etmişlerdir. Yağların *in vitro* koşullarda buhar fazının değme fazına oranla daha yüksek düzeyde etkinlik gösterdiğini, uçucu yağın aynı zamanda fungus sporangiumlarının çimlenmesini engellediğini, yapılan elektron mikroskobu çalışmalarında yağların fungus hifleri üzerinde oldukça önemli morfolojik bozulmalara neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Pitarokili vd. (2008), Yunanistan'da doğal olarak yetişen *Rosmarinus officinalis* uçucu yağların kimyasal bileşimleri GC/MS ile analiz etmişler ve beş patojene karşı antifungal aktivitesini incelemişlerdir. Yapılan analizde ana bileşenler olarak; a-pinene (%24.1), camphor (%14.9), 1,8-cineole (%9.3),

camphene (%8.9), a-terpineol (%8.8) ve borneol (%8.0) tespit edilmiştir. Yapılan denemelerde en hassas fungusun *Phytophthora nicotianae* olduğu ve bunu *Sclerotinia sclerotioum, Sclerotinia cepivorum, Fusarium proliferatum* ve *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*'nin takip ettiğini gözlemlemişlerdir.

Giweli vd. (2013), Libya'da yetişen *Salvia fruticosa* bitki uçucu yağının GC-MS yöntemi ile analizi sonucunda uçucu yağda 1,8-cineole (%49.34), camphor (%7.53), β-pinene (%7.38), myrcene (%7.38), α-pinene (%5.15), β-caryophyllene (%4.13) ve α-terpineol (%3.25) bileşenleri tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada 8 bakteri (4 Gram negatif, 4 Gram pozitif) ve 8 fungusa karşı uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Uçucu yağın test edilen tüm mikroorganizmalara karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bitki uçucu yağının DPPH metodu kullanılarak antioksidan aktivitesi gözlemlenmiş, uçucu yağın düşük bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Birçok ülkede doğal olarak yetişen aynı zamanda bir Akdeniz bitkisi olan ve Ürdün'de, cilt hastalıklarına karşı geleneksel tıpta kullanıldığı belirtilen *Salvia officinalis* (*Lamiaceae*)'in uçucu yağlarının antifungal, anti-inflamatuar etkisi ile makrofaj ve keratinositler üzerine sitotoksisitesi araştırılmıştır. Uçucu yağlar, GC/MS ile analiz edilmiştir. Uçucu yağın ana bileşenleri 1,8- Sineol (%39.5-50.3) ve camphor (%8.8-25) olarak belirlenmiştir. Uçucu yağın antifungal aktivitesi maya mantarı olan *Aspergillus ve S. Officinalis'e* karşı araştırılmıştır. Yağların dermatofit strainlere karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Abu-Darwish vd., 2013).

Baratta vd. (2013), defne uçucu yağının kimyasal bileşimini GC-MS yöntemi ile analiz ederek antibakteriyel, antifungal ve antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada 25 farklı bakteri türü ve bir mantar türü kullanılmıştır. Sonuç olarak defne uçucu yağının tüm bakteri türleri ve bir maya türüne karşı sırası ile antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdiği ve test edilen uçucu yağın ana bileşenin 1,8- Sineol (%46.5) olduğu belirtilmiştir.

Türkölmez ve Soylu (2014), Hatay ilin de doğal olarak yetişen rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.), kekik (*Origanum syriacum* L.), defne (*Laurus nobilis* L.) bitkilerinden elde ettikleri uçucu yağları, bunların ana bileşenleri olan carvacrol, *trans*-anethole,1,8-cineole'un *in-vitro* ortamda fasulyede toprak

kaynaklı fungal patojenler olan *Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii* ve *Macrophomina phaseolina*'ya karşı antifungal etkinliklerini araştırmışlar. Yapılan denemeler sonucunda uçucu yağların ve ana bileşenlerinin fungusların misel gelişimini önemli ölçüde azalttığını gözlemlemişlerdir.

Elgorban vd. (2015), Ökaliptus (*Eucalyptus globulus* Labill.), *Allium* soğanı (*Allium cepa*) ve siyah çörek otu tohumlarından (*Nigella sativa*) elde ettikleri uçucu yağların 500 ppm'lik konsantrasyonlarını *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Rhizoctonia solani* funguslarına karşı test etmişlerdir. Yapılan testler sonucu uçucu yağların misel büyümesini ve spor çimlenmesini önemli derecede engellediğini gözlemlemişlerdir.

Kordali vd. (2016), Türkiye'de yetişen dört farklı *Myrtus communis* L. bitkisinin meyvelerinden izole edilen uçucu yağların kimyasal bileşenlerini GC-FID ve GC/MS cihazı ile analiz etmişlerdir. *M. Communis* türlerinin uçucu yağlarında bulunan başlıca bileşenler 1,8-cineole (%29.20-31.40), linalool (%15.67-19.13), α-terpineol (%8.40-18.43), α-pinene (% 6.04-20.71) ve geranyl acetate (%3.98-7.54) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bu uçucu yağların 19 fitopatojenik fungusun misel gelişimini önemli derecede engellediğini ve bu fungusların mücadelesinde ticari olarak kullanılan Benomyl'den daha iyi etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca yapılan denemeler sonucunda uçucu yağ ve bileşenlerinin *Amaranthus retroflexus, Chenopodium album, Circium arvense, Lactuca serriola* ve *Rumex crispus* yabancı ot tohumlarının çimlenmelerini ve tohum gelişmesini önemli ölçüde engellediklerini belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, *M. communis* türlerinin uçucu yağlarının doğal fungusit ve herbisit olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Kifer vd. (2016) yaptıkları çalışmada, uçucu yağ bileşini olan 1,8-Sineol'un *Staphylococcusaureus* bakterisinin 5 farklı suşuna karşı antibakteriyel aktivitesini MİK yöntemi ile incelemişlerdir. Yapılan denemeler sonucunda *S.aureus* ATCC 29213, *S.aureus* MFBF 10674, *S.aureus* MFBF 10676, *S.aureus* MRSA 10679 ve *S.aureus* MRSA 10680 suşları için 8 mg/mL^{-1}, *S.aureus* MFBF 10677 suşu için ise 4 mg/mL^{-1} MİK değeri bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmaya göre okaliptus ve tarçın bitkilerine ait uçucu yağların, *Aspergillus flavus* büyümesinin güçlü inhibitörleri ve aflatoksin baskılayıcısı olduğu bildirilmiştir (Bluma vd., 2008; Mateo vd., 2017). Çalışmada kullanılan bitkilerin ana bileşenleri sırasıyla; 1,8-sineol ve t-cinnamaldehit'tir. Daha önce yapılan çalışmalarda da bu uçucu yağların antifungal ve antiaflatoksijenik etkileri ispatlamıştır (Shukla vd., 2012; Mateo vd., 2017).

Dammak vd. (2019), *Laurusnobilis* uçucu yağının *Aspergilluscarbonarius* mantarına karşı konsantrasyonları %0, %0.1, %0.2, %0.3, %0.4 ve %0.5 olmak üzere antifungal aktivitesini incelemişlerdir. %0'lık konsantrasyonda 15.4 mm, %0.1'lik konsantrasyonda 8.9 mm ve %0.2'lik konsantrasyonda 4.6 mm inhibisyon zon elde ederken, diğer konsantrasyonlarda herhangi bir antifungal aktivite kaydedilmemiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Yararlanılan Makina ve Teçhizatlar

İnkübatör : Memmert, GERMANY, INBE 410 1583

Otoklav : Hirayama, JAPAN, HVE 50

Hassas terazi : Shimadzu AY220

Işık mikroskobu : Boeco BM–180, Germany

Buzdolabı : Vestel

Karıştırıcı : Fısons Whırlımixer

Otomatik pipetler : Ependhof, Axigen

Soğutmalı santrifüj : Elektromag 4500RPM/1615ML

Etüv : Memmert, GERMANY, INBE 410 1583

Saf Su cihazı : Nüve NS 112

3.2. Yöntemler

3.2.1. *Botrytis cinerea* İzolatlarının Elde Edilmesi ve Saflaştırılması

B. cinerea izolatları üzüm bağlarında hastalıklı bitkilerden izole edilmiştir. Fungus izolasyonunda ve saflaştırma basamaklarında Patates Dekstroz Agar (PDA; Potato infusion, 4.0 g/L; D(+) glucose, 20.0 g/L; Agar-agar, 15.0g/L; pH, 3.5± 0,2) besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan besiyeri Petrilere döküldükten sonra fungusun saf izolasyonları yapılmıştır. Saf olarak izole edilen fungusun moleküler tanısında, Ankara'da RefGen Biyoteknoloji Şirketi tarafından PCR kullanılarak çoğaltıldı. Çalışmada tespit edielen 18S rRNA gen bölgesi dizileri daha önceki çalışamalarda tanımlanmış olan 18S rRNA gen bölgeleri ile kıyaslanarak (GenBank; http://ncbi.nlm.nih.gov) moleküler tanısı gerçekleştirldi. *B. cinerea* izolatları çalışmalarda kullanılmak üzere eğik agarda +4 °C koşullarında ve silika jel içerisinde -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Barnett ve Hunter, 1972, Domsch vd., 1980).

3.2.2. Bitki Materyalinin Toplanması

Bu çalışmada, asma (*Vitis vinifera* L.) bitkisi bağlardan uygun zamanda ve uygun koşullarda çelikler alınıp laboratuvara getirilmiştir. Araziden toplanan tek gözlü çelikler, laboratuvara getirilip ve uygun koşullarda köklendirilmiştir. Bunun için asmalar kış dinlenmesini tamamlamış, 1 yaşlı çubuklardan hazırlanan tek

gözlü çelikler torf-kum karışımı ile doldurulmuş saksılar içerisine dikilmiştir. Dikilen çelikler düzenli olarak sulanmış ve bir aylık inkübasyon sonrası köklenen çeliklerden aynı zamanda sürgünler oluşması beklenmiştir. Köklenecek asma fideleri 5 yapraklı fidan oluşuncaya kadar uygun koşullarında yetiştirilmiştir (Şekil 3.1.). Deneysel çalışmalarda bu fidanlardan alınan yaprak sapları, yaprak ayaları ve sürgün eksplantları kullanılmıştır. Kullanılan yaprakların mümkün olduğunca aynı olmasına, üzerinde herhangi bir yaralanma ve çürüme olmamasına dikkat edilmiştir.



Şekil 3.1. Çeliklerin yetiştirilmesi

3.2.3. Uçucu Yağların Antifungal Etkilerinin Belirlenmesi

Çalışmada; Timol (Aldrich C121452), Ögenol (Fluka 45980) ve 1,8- Sine ol ticari firmadan (Sigma-Aldrich 183164) saf halde temin edilmiştir. Uçucu yağlar denemeler boyunca, buzdolabında +4 derecede muhafaza edilmiştir.

Uçucu yağ bileşenleri olan Timol, Ögenol ve 1,8-Sineol'ün antifungal etkisi *in vitro* ve *in vivo* olarak test edilmiştir.

3.2.3.1. Uçucu yağların *in vitro* koşullarda patojenin miselyal gelişimi üzerine antifungal etkilerinin belirlenmesi

Timol, Ögenol ve 1,8-Sineol uçucu yağları (UY) Tween-20 içerisinde çözdürülmüştür. Bunun için %2 oranında Tween- 20 içeren %88 steril saf suya %10 uçucu yağ ilave edilmiş ve iyice çözününceye kadar karıştırılmıştır (Lopez-Reyes vd., 2010). Her bir UY yağ için bu şekilde ayrı ayrı hazırlanan stok çözeltilerden 25 µL, 50 µL, 100 µL UY çözeltisi bir otomatik pipet yardımıyla alınarak 20 µL PDA besiyeri içeren Petrilere ilave edilmiştir. Kontrol Petrilerine

sadece Tewen-20'li steril saf su ilave edilmiştir. UY konsantrasyonlarının belirlenmesinde önceden yapılmış olan benzer çalışmalardan ve yaptığımız ön denemelerden faydalanılmıştır.

Yukarıda açıklandığı şekilde hazırlanan Petriler oda sıcaklığında 1 gün bekletildikten sonra, daha önceden PDA ortamında geliştirilmiş olan 7-10 günlük saf fungus kültürlerinden diskler alınarak uçucu yağ bileşeni içeren ve içermeyen Petriler içine inokule edilmiştir. Petrilerin etrafı parafilm ile kapatılmış ve 25 ºC'de inkübasyona bırakılmıştır. Değerlendirmeler kontrol Petrilerinde fungusun petrileri tamamen kaplaması beklenmeden ortam yüzeyindeki fungusun misel çapları ölçülerek yapılmıştır. İnkübasyonun 2. gününden itibaren her gün Petriler kontrol edilmiş ve günlük olarak fungal misel çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Misel çapının ölçümü fungus misel çapının birbirine dik ayrı yönde ölçülmesi şeklinde yapılmıştır (Benjilali vd., 1984). Denemeler beş kez tekrar edilmiştir.

Kontrollere göre UY % engelleme oranları,

E= ((K – M) / K) x 100 formülü baz alınarak hesaplanmıştır (Deans ve Svoboda, 1990).

Buna göre:

E= Engelleme (%)

K= Kontrol petrideki misel çapı (mm)

M= Uygulama yapılan petrideki misel çapı (mm)

3.2.3.2. Uçucu yağların *in vitro* koşullarda patojenin spor çimlenmesi ve çim tüpü uzunluğu üzerine antifungal etkilerinin belirlenmesi

UY'lerin fungusun spor çimlenmesine ve çim borusu uzunluğuna etkilerini belirlemek için UY'lerin 25 µL, 50 µL, 100 µL dozları kullanılmıştır. PDA ortamında geliştirilen 7-10 günlük fungus kültürlerinin sporulasyonunu sağlamak için, içinde Tween-20 bulunan 5 mL steril saf suya steril bir cam çubuk yardımıyla kültürün yüzeyi kazınmıştır. Buradan elde edilen süspansiyon 3 katlı steril gazlı bezden geçirilerek içerisindeki miselyal parçacıklar uzaklaştırılmıştır. Yukarıda açıklandığı şekilde hazırlanmış uçucu yağ bileşeni içeren Petrilere hazırlanan sporulasyonundan 10 µL ilave edilmiştir. Örnekler 25°C'de karanlık koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.

Değerlendirmeler, 24 saat sonra ışık mikroskobunda, mikrometre yardımıyla sayılan 100 spordan çimlenen ve çimlenmeyen sporların belirlenmesi şeklinde yapılmıştır. Belirgin olarak uzunluklarının 1/2'si kadar çim tüpü oluşturmuş sporlar çimlenmiş olarak kabul edilmiştir. Çim tüpü uzunluğunun değerlendirilmesinde 40X büyütmeli objektif kullanılmış ve her bir tekerrürdeki 30 sporun çim tüpü uzunluğu (µm) ölçülerek ortalamaları hesaplanmıştır. 40X büyütmeli objektif ile 3 farklı görüntü alanında görülen sporlar sayılarak ve toplam spor sayısı, çimlenen spor sayısına oranlanarak % çimlenme oranı belirlenmiştir.

% çimlenme = [a/(a+b)] x 100

a; çimlenen spor sayısı

b; çimlenmeyen spor sayısı

Yapılan denemeler, tesadüf parselleri deneme desenine göre beş kez tekrarlanmış ve kontrol örnekli yürütülmüştür.

3.2.3.3. *In vivo* denemelerde uçucu yağ stok çözeltilerinin hazırlanması

Çalışmada yaprak üzerine uygulanacak olan Timol, Ögenol ve 1,8-Sineol uçucu yağları Tween-20 içerisinde çözdürülmüştür. Bunun için %2 oranında Tween- 20 içeren %88 steril saf suya %10 uçucu yağ ilave edilmiş ve iyice çözününceye kadar karıştırılmıştır. Her bir uçucu yağ bu şekilde ayrı ayrı hazırlanmıştır. Hazırlananan bu stok çözeltiler de %90 seyreltilerek deneyde kullanılan yapraklara 25 µL, 50 µL, 100 µL olarak püskürtülmüştür. Hazırlanan çözeltilerin oranı önceden yaptığımız denemelere göre belirlenmiştir.

3.2.3.4. *B. cinerea*'nın asma yapraklarına enfekte edilmesi ve uçucu yağların uygulanması

Üzüm yaprağı sulu sodyum hipoklorit (%5) ile birkaç dakika sterilize edildikten sonra steril su ile durulanmıştır. Yapraklar, içerisinde steril filtre kağıtları bulunan cam petri kutularına yerleştirilmiş (Deliere vd., 2010). Yaprakların yüzeyine 25 µL, 50 µL, 100 µL UY çözeltileri püskürtülmüştür. Daha sonra *B. cinerea*'nın PDA ortamında geliştirilmiş olan 4 günlük kolonilerinin kenar kısımlarından bir delici yardımı ile 1 cm çapında diskler alınarak hafifçe yaralanmış olan yaprak kısmına gelecek şekilde ve her bir yaprağa karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. Kontrol yaprakları ise sadece steril saf su uygulamasına

tabi tutulmuştur (Vallejo vd., 2003). Deneyde bu şekilde hazırlanan ve cam petri kutusu içerisine yerleştirilen ekim yapılan ve yapılmayan yapraklar 23°C'de 7 gün boyunca, 12 saat ışık ve 12 saat karanlık olacak şekilde bekletilmiştir. İnkübasyon peryodu sonunda *B. cinerea* izolatlarının yapraklar üzerinde oluşturduğu lezyonların çapı ölçülmüştür. 25 µL, 50 µL, 100 µL uçucu yağa maruz bırakılan yapraklarda kontrol, tek başına uçucu yağ ve tek başına fungus uygulaması tüm dozlar için denemelerde tekrar edilmiştir.

Uçucu Yağlı Yapraklarda Grupların Oluşturulması;

1. Kontrol (K): Yaprağa hiçbir uygulama yapılmamıştır.

2. Uçucu Yağ (UY): Yapraklar sadece uçucu yağa tabi tutulmuştur.

3. Fungus (F): Yapraklara sadece fungus inoküle edilmiştir.

4. Uçucu Yağ+Fungus (UY+F): Yapraklara fungus ve uçucu yağ bir arada uygulanmıştır.

3.2.4. Filogenetik ve İstatistik Analiz

3.2.4.1. Moleküler analiz

B. cinerea izolatından elde edilen 18S rRNA gen dizisi daha önceki çalışmalarda tanımlanmış 18S rRNA gen dizileri ile kıyaslanarak *B. cinerea*'nın moleküler olarak tanımlanması sağlanmıştır. Moleküler tanımlama için Genbank (http://ncbi.nlm.nih.gov) veri tabanından elde edilen MF7413141, MH997908, MK562062 ve MH782039 numaralı *B. cinerea* izolatları kullanıldı. UPGMA uzaklık ağcı, Jukes-Counter modeli kullanılarak MEGA v.5 programı ile oluşturuldu.

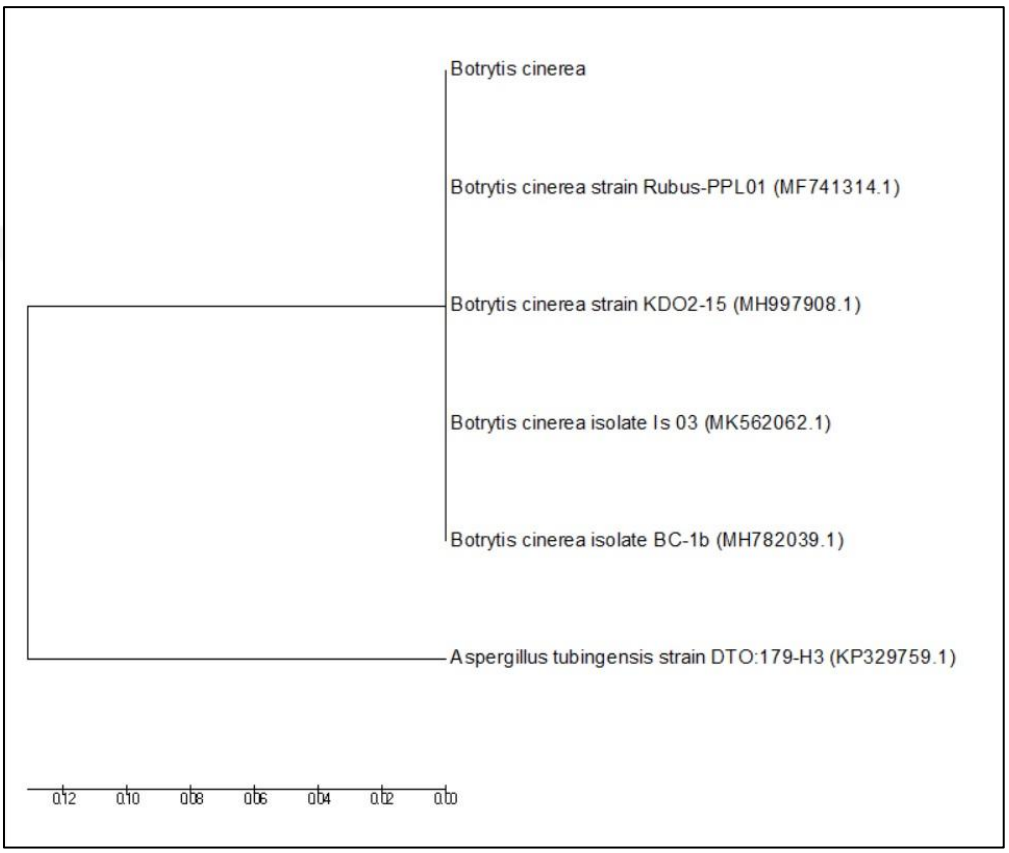
3.2.4.2. İstatiksel analiz

Sonuçlar, her bir uygulamadan üç örnek ve her örnekten 3 tekerrür şeklinde yapılmıştır. Araştırma sonrasında elde edilen verilerin karşılaştırılması tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile hesaplanmıştır. Analizler $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır. Tüm analizler SPSS (20.0) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Yüzde değerlerimize ait verilerimiz normal dağılışa uyması sebebiyle bu verilerimizin istatistik analizinde açı transformasyonu uygulanmamıştır. Her doz kendi içerisinde analiz edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. *B. cinerea*'nın İzolatının Moleküler Tanısı

Çalışmada *B. cinerea* izolatından elde edielen 18S rRNA gen bölgesi dizisi Genbank'tan elde edilen *B. cinerea* izolatları ile karşılaştırıldığında %100 eşleşmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *B. cinerea* izolatının Genbank'tan elde edilen *B. cinerea* izolatları ile birlikte UPGMA uzaklık ağacı

4.2. Uçucu Yağların *İn Vitro* ve *İn Vivo* Koşullarda *B. cinerea*'ya Karşı Antifungal Etkileri

İn vitro koşullarda 3 farklı uçucu yağın (Timol, Ögenol, 1,8- Sineol), farklı konsantrasyondaki (25 µL, 50 µL, 100 µL) dozlarının fungusun miseliyal gelişimi, spor çimlenmesi ve çim tüpü uzunluğu üzerine etkilerinin farklı seviyelerde olduğu belirlenmiş ve antifungal etkileri ayrı ayrı çizelgeler halinde verilerek yorumlanmıştır. *İn vivo* koşullarda uçucu yağların farklı

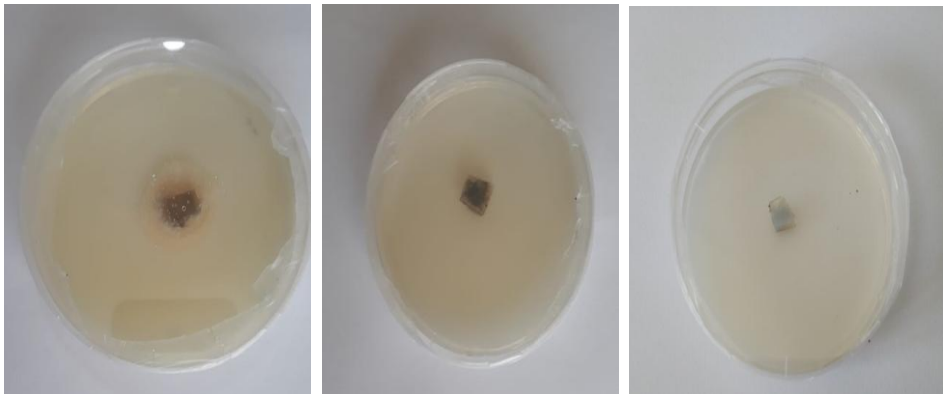
konsantrasyondaki dozlarının yapraklarda yaprak miselyum gelişim oranı (MGO) belirlenmiş ve etkileri çizelgeler halinde verilmiştir.

4. 3. Uçucu Yağların *B. cinerea*'nın Miseliyal Gelişimi Üzerine Etkisi

İn vitro ortamda uygulanan uçucu yağ konsantrasyonlarının *B. cinerea*'nın miseliyal gelişimi üzerine etkileri Şekil 4.2-5'te verilmiştir. *B. cinerea*'nın miseliyal gelişimi üzerindeki antifungal etkinin uçucu yağların doz oranına paralel olarak arttığı gözlemlenmiştir. Kontrol ile kıyaslandığında, en yüksek engelleme oranı %100 ile Timol'un 100 ve 50 µL'lik, Ögenol'ün ise 100 µL'lik dozunda görülmüştür (Çizelge 4.1). Timol'un 25 µL dozunda %85 oranında engelleme olmuştur. Ögenol'ün 50 µL'lik dozunda %81 ve 25 µL dozda da %65 oranında engelleme görülmüştür (Çizelge 4.2). 1,8- Sineol'nin tüm konsantrasyonlarının (25, 50, 100 µL) *in vitro* ortamda anlamlı bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Elde edilen sonuçlar kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırıldığında uçucu yağlardan miseliyal gelişimi engellemede en etkili Timol'un olduğu, 1,8- Sineol'un ise etkili olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1, 4.3).

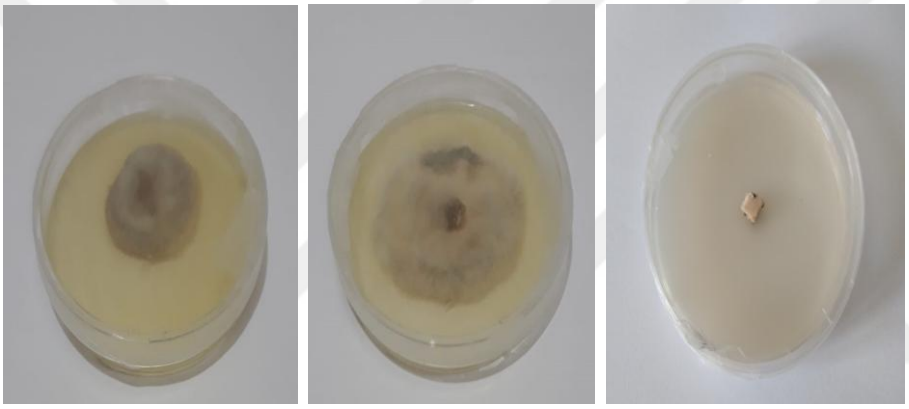


Şekil 4.2. *B.cinerea* izolatı kontrol grubu



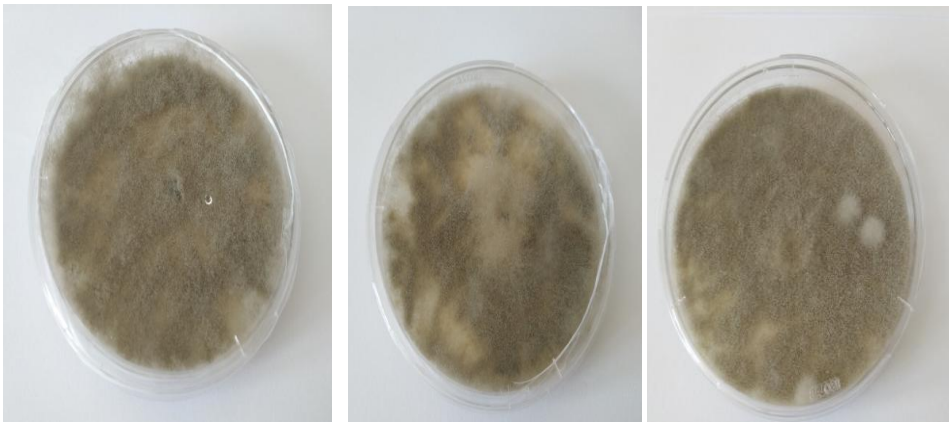
a) **b)** **c)**

Şekil 4.3. *B. cinerea* izolatı üzerine Timol'ün farklı konsantrasyonlarda kullanılması (a.25 µL, b. 50 µL, c. 100 µL)



a) **b)** **c)**

Şekil 4.4. *B. cinerea* izolatı üzerine Ögenol'ün farklı konsantrasyonlarda kullanılması (a.25 µL, b. 50 µL, c. 100 µL)



a) **b)** **c)**

Şekil 4.5. *B. cinerea* izolatı üzerine 1,8-Sineol'ün farklı konsantrasyonlarda kullanılması (a. 25 µL, b.50 µL, c.100 µL)

Çizelge 4.1. Timol'ün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: $p<0.05$; b: $p<0.01$; c: $p<0.001$)

UY dozları (µL)	**MEO (%)**
25 µL	84.78 ± 1.8^{a}
50 µL	100 ± 0.0^{b}
100 µL	100 ± 0.0^{c}
P	0.001

Çizelge 4.2. Ögenol'ün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: $p<0.05$; b: $p<0.01$; c: $p<0.001$)

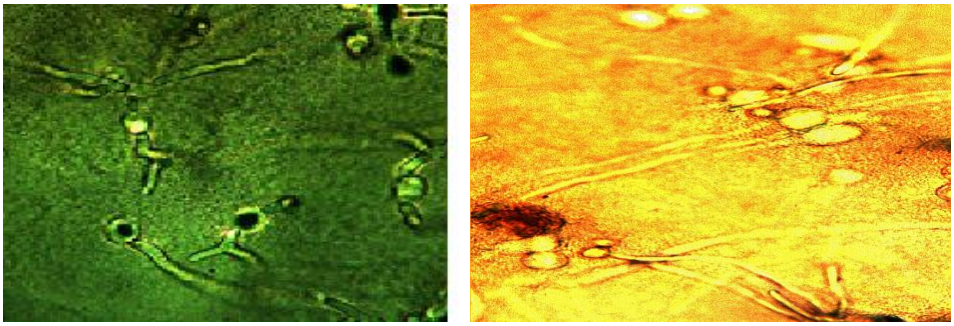
UY dozları (µL)	**MEO (%)**
25 µL	65.00 ± 0.57^{a}
50 µL	77.29 ± 1.58^{b}
100 µL	100 ± 0.0^{c}
P	0.001

Çizelge 4.3. 1,8- Sineol'ün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)

UY dozları (µL)	MEO (%)
25 µL	0.0 ± 0
50 µL	0.0 ± 0
100 µL	0.0 ± 0
P	0.001

4.4. Uçucu Yağların *B. cinerea*'nın Spor Çimlenmesi ve Çim Tüpü Uzunluğu Üzerine Antifungal Etkileri

B. cinerea'nın konidispor çimlenme yüzdesi ve çim tüpü uzunluğu üzerine uçucu yağ dozlarının antifungal etkilerine ait bulgular Çizelge 4.4-6'da verilmiştir. Konidisporlar kontrol grubunda %100 çimlenirken, Timol'un 100 µL dozunda sporların %18'nin, 50 µL'de %55'nin, 25 µL'de ise %78 oranında çimlendiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Çim tüpü uzunluğuna bakıldığında kontrol grubunda 74.55 µm iken, Timol'de 100 ve 50 µL'de uzama olmadığı, 25 µL'de 5.55 µm olduğu tespit edilmiştir. Ögenol'ün 25, 50 ve 100 µL dozlarında konidiosporlar %100 çimlenmiştir (Çizelge 4.5). Çim tüpü uzunluğuna bakıldığında kontrol grubunda 74.55 µm iken, 100 ve 50 µL'de uzama olmadığı, 25 µL'de 11.11 µm olduğu belirlenmiştir. 1,8-Sineol'nin 25, 50 ve 100 µL dozlarında konidiosporlar %100 çimlenmiştir (Çizelge 4.6). Çim tüpü uzunluğunda ise kontrol grubunda 74.55 µm iken, 100 µL'de 14.77 µm, 50 µL'de 50.55 µm, 25 µL'de 72.33 µm olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağ uygulamalarında doz oranına paralel olarak çim tüpü uzunluklarının azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.8). Sonuçlar kendi içinde karşılaştırıldığında spor çimlenmesi ve çim tüpü uzunluğunu engellemede en yüksek antifungal etkiyi Timol'un 50 ve 100 µL'lik dozlarında gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4' de sunulmuştur (Çizelge 4.4). Şekil 4.6 ise normal ve anormal olarak çimlenmiş konidosporlar gösterilmiştir.



a) **b)**

Şekil 4.6. Konidiospor çimlenme şekilleri (a: Anormal olarak çimlenmiş konidiospor, b: Normal olarak çimlenmiş konidiospor)

Çizelge 4.4. Kontrol ve Timol'e ait çim tüpü uzunlukları ile konidiospor çimlenmesi (istatiksel anlamlılık değerleri a: $p<0.05$; b: $p<0.01$; c: $p<0.001$)

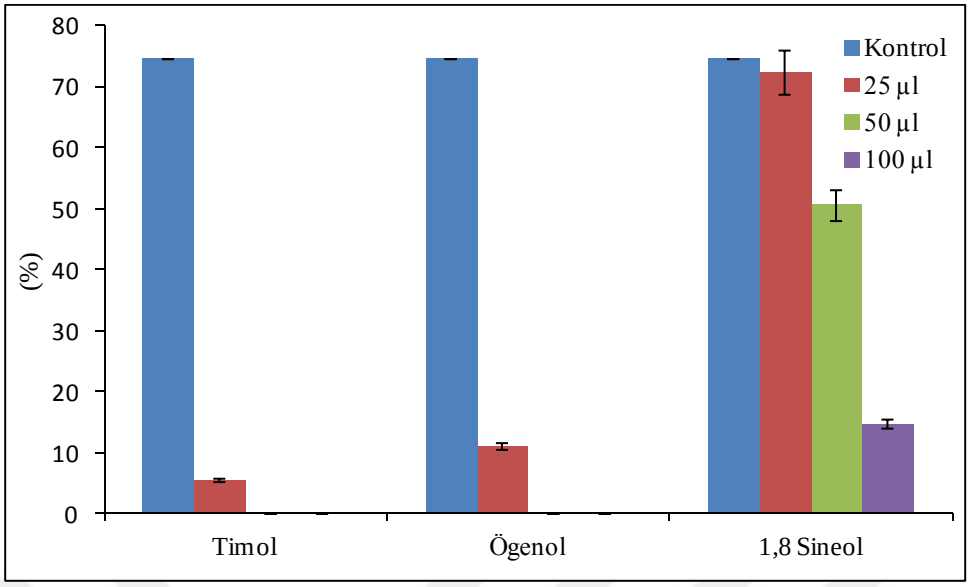
Gruplar	**N**	**Çim tüpü uzunluğu (µm)**	**Konidiospor çimlenmesi (%)**
Kontrol	30	74.55 ± 4.17	100±0.0
25 µL	30	5.55 ± 0.74^{a}	78 ± 1.58^{a}
50 µL	30	0 ± 0^{b}	55 ± 1.37^{b}
100 µL	30	0 ± 0^{c}	18 ± 0.7^{c}
P	120	0.001	0.001

Çizelge 4.5. Kontrol ve Ögenol' e ait çim tüpü uzunlukları ile konidiospor çimlenmesi (istatiksel anlamlılık değerleri a: $p<0.05$; b: $p<0.01$; c: $p<0.001$)

Gruplar	**N**	**Çim tüpü uzunluğu (µm)**	**Konidiospor çimlenmesi (%)**
Kontrol	30	74.55 ± 4.17	100±0.0
25 µL	30	11.11 ± 1.34[a]	100±0.0
50 µL	30	0 ± 0[b]	100±0.0
100 µL	30	0 ± 0[c]	100±0.0
P	120	0.001	0.001

Çizelge 4.6. Kontrol ve 1.8- Sineol'e ait çim tüpü uzunlukları ile konidiospor çimlenmesi (istatiksel anlamlılık değerleri a: $p<0.05$; b: $p<0.01$; c: $p<0.001$)

Gruplar	**N**	**Çim tüpü uzunluğu (µm)**	**Konidiospor çimlenmesi (%)**
Kontrol	30	74.55 ± 4.17	100±0.0
25 µL	30	72.33 ± 4.69[a]	100±0.0
50 µL	30	50.55 ± 6.16[b]	100±0.0
100 µL	30	14.77 ± 1.52[c]	100±0.0
P	120	0.001	0.001



Şekil 4.7. Uçucu yağların çim tüpü uzunluğuna etkileri

4.5. Uçucu Yağların Yaprak Testleri İle Etkinliklerinin Tespiti

Uçucu yağ konsantrasyonlarının (25, 50 ve 100 µL) antifungal etkileri *in vitro* şartlarının yanında *in vivo*'da canlı yaprak denemeleriyle de belirlenmiştir Petri uygulamalarında kullanılan uçucu yağ konsantrasyonları yapraklara uygulandığında çürümeler meydana gelmiştir. Bu yüzden yaprak uygulamalarında ki uçucu yağ konsantrasyonları %90 seyreltilerek uygulama gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmeler yapraklar üzerindeki lezyon çapları ölçülerek yapılmıştır.

Yapılan denemeler kontrol grubu ve kendi içerisinde karşılaştırıldığında, tüm uçucu yağların 100 µL'lik konsantrasyonunda, lezyon oluşumuna rastlanmamıştır, kontrol grubu ile aynı etki görülmüştür (Şekil 4.9-12). Timol'ün 50 µL'lik dozunda da lezyon oluşmamışken, Ögenol ve 1,8- Sineol'enin 50 µL'lik dozunda lezyon oluşumu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.7-9). Ögenol'da yaprak miselyum gelişim oranı (MGO) 7.65 iken, 1,8-Sineol'de 8.75 olmuştur (Çizelge 4.8). Tüm uçucu yağların 25 µL'lik konsantrasyonlarında lezyon oluşumu gözlemlenmiştir. Örneğin sadece fungus uygulanan yapraklarda misel gelişimi alanı 20.17 iken, 25 µL'lik uygulamalarda Timol'de 8.22, Ögenol'da 12.56 ve 1,8-Sineol'e de 14.12 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7-9). Bu değerlendirmeler doğrultusunda yaprak miselyum gelişim oranına (MGO) etkisi en fazla olan uçucu yağın Timol olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.10).

Çizelge 4.7. Timol'ün yapraklarda miselyum gelişim oranına (YMGO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.0; c: p<0.001)

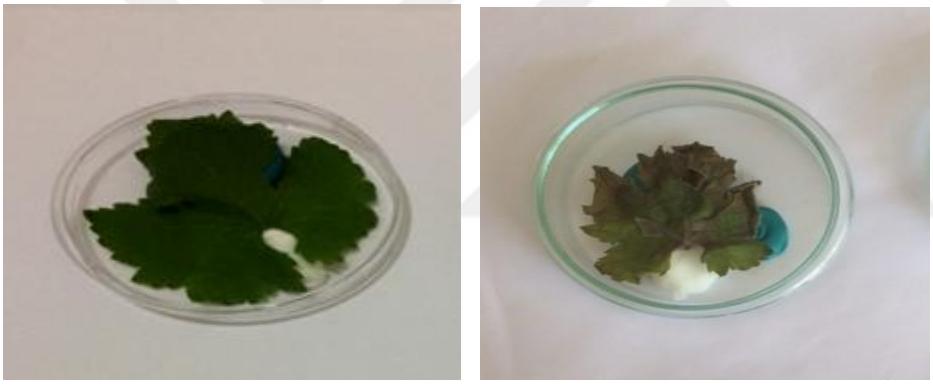
UY dozları (µL)	**YMGO (%)**
Fungus	20.17 ± 0.74
25 µL	8.22 ± 1.48[a]
50 µL	0. ± 0.0[b]
100 µL	0. ± 0.0[c]
P	0.001

Çizelge 4.8. Ögenol'ün yapraklarda miselyum gelişim oranına (YMGO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)

UY dozları (µL)	**YMGO (%)**
Fungus	20.17 ± 0.74
25 µL	12.56 ± 1.1[a]
50 µL	7.65 ± 0.91[b]
100 µL	0.0 ± 0.0[c]
P	0.001

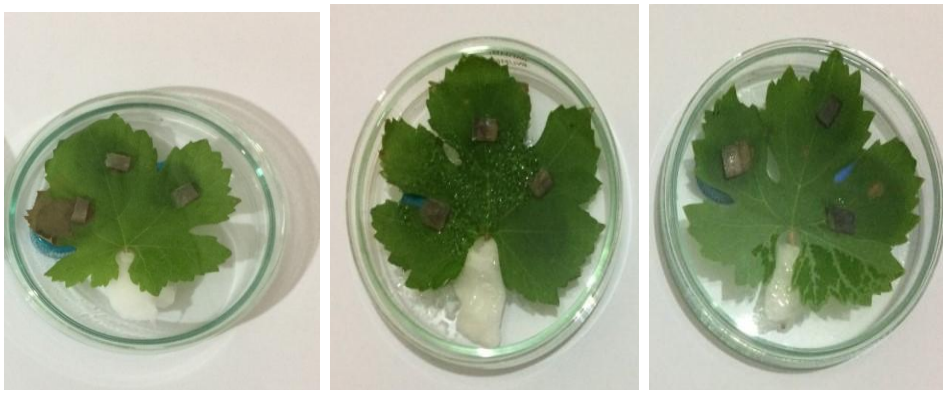
Çizelge 4.9. 1,8- Sineol'ün yapraklarda miselyum gelişim oranına (YMGO) etkisi (istatiksel anlamlılık değerleri a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001)

UY dozları (µL)	**YMGO (%)**
Fungus	20.17 ± 0.74
25 µL	14.12 ± 2.05[a]
50 µL	8.75 ± 1.93[b]
100 µL	0.0 ± 0.0[c]
P	0.001



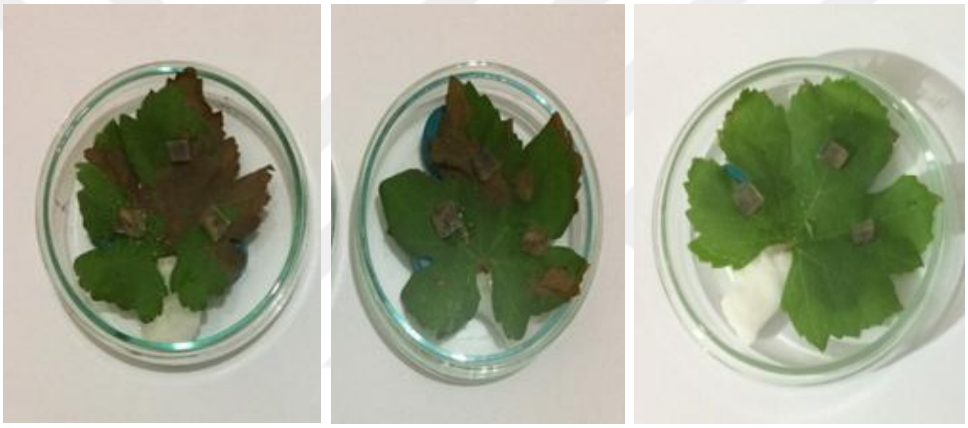
a) **b)**

Şekil 4.8. a)Kontrol, b)*B. cinerea* uygulamalı yaprak



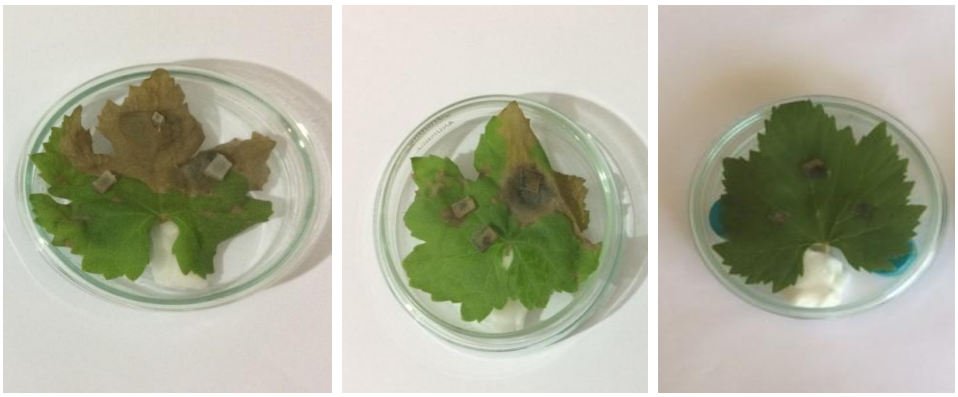
a) **b)** **c)**

Şekil 4.9. *B. cinerea* uygulamalı yaprak üzerine Timol'ün farklı konsantrasyonlar da kullanılması (a: 25 µL, b: 50 µL, c: 100 µL)



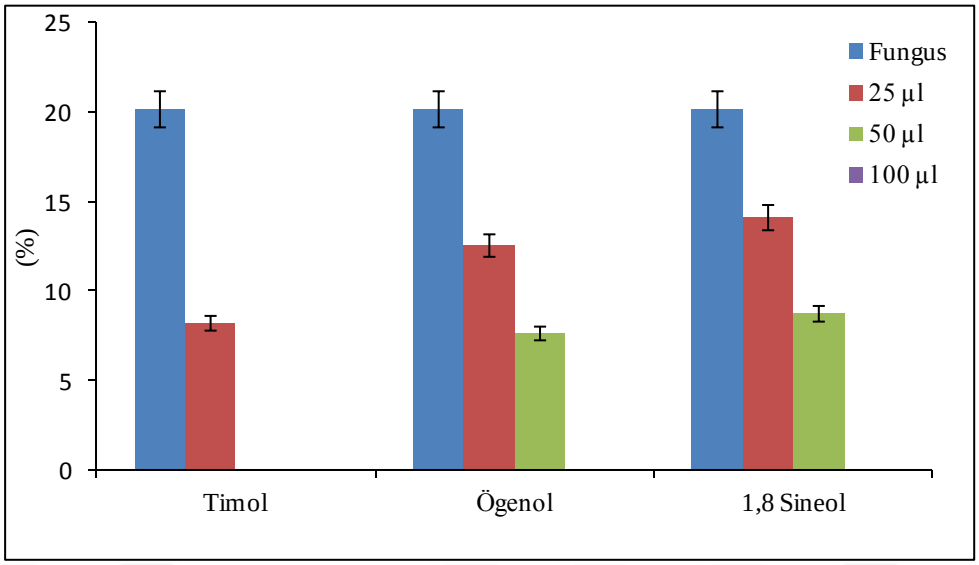
a) **b)** **c)**

Şekil 4.10. *B. cinerea* uygulamalı yaprak üzerine Ögenol'ün farklı konsantrasyonlar da kullanılması (a: 25 µL, b: 50 µL, c: 100 µL)



a) **b)** **c)**

Şekil 4.11. *B. cinerea* uygulamalı yaprak üzerine 1,8- Sineol'ün farklı konsantrasyonlar da kullanılması (a: 25 µL, b: 50 µL, c: 100 µL)



Şekil 4.12. Uçucu yağların yaprakta miselyum gelişim oranları

Şekil 4.12'de görüldüğü gibi bitkisel kökenli uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının *B. cinerea*'nın yapraktaki misel gelişimine olan etkileri incelendiğinde; uçucu bileşikler içerisinde en düşük etkiyi 1,8- Sineol göstermiştir. En yüksek etkiyi ise Timol göstermiştir. Sonuçlar kontrol ile karşılaştırıldığında her üç bileşende değişen oranlarda engelleme olduğu gözlemlenmektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Uçucu yağlar; terpenler, terpenoidler, monoterpenler, seskiterpenler, triterpenler, alkoller, aldehitler, eterler, esterler ve keton bileşiklerinden meydana gelmektedirler (Cowan, 1999). Bazı aromatik ve tıbbi bitkilerden ekstrakte edilen uçucu yağ ve bu yağların ana bileşenleri, tarım sektöründe hasat sonrası ve öncesinde patojenlerin neden olduğu çürümeleri kontrol altına almak için kullanılmaktadırlar (Caccioni ve Guizardi, 1994; Hadizadeh vd., 2009; Saharkhiz vd., 2009). Uçucu yağların gösterdiği bu antimikrobiyal etkinin fenolik bileşenlerinden kaynaklandığı ifade edilmektedir (Bagamboula vd., 2004).

Uçucu yağların bitki patojeni funguslar üzerindeki antifungal etkisini belirlemek amacıyla yapılan araştırma sayısı ise azdır (Letessier vd., 2001). Etki mekanizmaları ile ilgili edinilen bilgiler sınırlı olmakla beraber, uçucu yağlarda birbirinden farklı kimyasal bileşiklerden oluşan gruplar dikkate alınırsa, antifungal aktivitenin tek bir mekanizmaya bağlı olmadığı, hücre içinde birçok mekanizmayı etkilediği sonucu ortaya çıkmaktadır (Toroğlu vd., 2005). Ayrıca, bitki materyalinin kökeni, yetiştiği çevresel koşullar ve gelişim süreci dikkate alındığında, uçucu yağ bileşiminde de farklılıklar gözlemlenebilmektedir. Genellikle, uçucu yağların antimikrobiyal etkisinin esas olarak ana bileşenlerine bağlı olduğu ileri sürülmektedir ancak uçucu yağ içerisinde bulunan herhangi bir bileşenin az miktarlarda bulunması bile antifungal mekanizma bakımından sinerjistik veya antagonistik etki meydana getirebilmektedir (Gershenzon vd., 2000; Figueiredo vd., 2008).

Son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda, uçucu yağların ana bileşenleri olan özellikle monoterpenler ve seskiterpenlerin fungal patojenler üzerinde antifungal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Antifungal açıdan büyük öneme sahip olan terpenlerin antifungal etki mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte, fungal hücre duvarı ve membran yapısının hasara uğramasının, çoğunlukla terpenik bileşiklerden ileri gelebileceği ortaya konmuştur (Akhtar vd., 2013). Monoterpenlerin ve seskiterpenlerin patojen hücreler üzerindeki aktivitesinin, sitoplazma granülasyonu, sitoplazmik membran parçalanması ve hücrede enzim sentezinin engellenmesi gibi faktörlerden ileri geldiği ifade

edilmiştir (Cowan, 1999). Uçucu yağların antimikrobiyal etkisi; OH grupları sayesinde hidrojen bağları oluşturarak enzimlere etki etmeleri sonucu; küf morfolojisinin etkilemesine neden olmaktadırlar (Garcia vd., 2008). Fungusun hücresinde meydana gelen bu etkileşimler, hücresel solunumun engellenmesine, membranın lipid yapısının bozulmasına, membran akışkanlığının değişmesine ve hücre permeabilitesinin etkilenmesine sebep olabilmektedir. Monoterpenlerin, pektin metil esteraz (PME) ve selülaz enzimlerinin sentezlenmesini engelleyerek antifungal etki gösterdiği de belirtilmiştir (Gehan vd., 2012). Funguslar, patogenez esnasında hücre duvarlarını yıkmak için selülaz ve kütinaz gibi enzimler üretmekte ve bu enzimlerin sentezlenememesi sonucunda hastalık gelişimi engellenmektedir (Goodman vd., 1967; Camele vd., 2012).

Bu çalışmada Timol, Ögenol ve 1,8-Sineol uçucu yağlarının asmalarda hastalığa neden olan *Botrytis cinerea'*ya karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda antifungal etkisi araştırılmıştır. *İn vitro* ortamda uygulanan uçucu yağ konsantrasyonlarının *B. cinerea*'nın miseliyal gelişimi üzerine etkileri Şekil 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5 verilmiştir. *B. cinerea*'nın miseliyal gelişimi üzerindeki antifungal etkinin uçucu yağların doz oranına paralel olarak arttığı gözlemlenmiştir. En yüksek engelleme oranı %100 ile Timol'un 100 ve 50 µL'lik, Ögenol'ün ise 100 µL'lik dozunda görülmüştür (Çizelge 4.1). Timol'un 25 µL dozunda %85 oranında engelleme olmuştur. Ögenol'ün 50 µL'lik dozunda %81 ve 25 µL dozda da %65 oranında engelleme görülmüştür (Çizelge 4.2). 1,8-Sineol'nin tüm konsantrasyonlarının (25, 50, 100 µL) *in vitro* ortamda hiçbir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.3).

B. cinerea'nın konidispor çimlenme yüzdesi ve çim tüpü uzunluğu üzerine uçucu yağ dozlarının antifungal etkilerine ait bulgular Çizelge 4. 4, 4.5 ve 4.6'da verilmiştir. Sonuçlar kendi içinde karşılaştırıldığında spor çimlenmesi ve çim tüpü uzunluğunu engellemede en yüksek antifungal etkiyi Timol'un 50 ve 100 µL'lik dozlarında gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4' de sunulmuştur.

Çalışmada uygulanan uçucu yağlardan Timol ve Ögenol'ün bağ alanlarında önemli kayıplara neden olan *B. cinerea'*ya karşı *in vitro* ortamda güçlü antifungal etkiye sahip olduğu bulunmuştur. 1,8-Sineol'nin ise uygulanan

konsantrasyonlarda etkisinin oldukça düşük olduğu bulunsa da; doz miktarının artırılmasına bağlı olarak etkisinin artabileceğini düşünmekteyiz. Literatürde uçucu yağların ve ana bileşenlerinin farklı patojenlere karşı antifungal etkilerinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur (Sharma ve Tripathi, 2006; Combrinck vd., 2011; Feng vd., 2011). Kekik uçucu yağı ile yapılan tüm araştırmalarda kekiğin farklı fungusların miselyal gelişimini inhibe edici etkisinin olduğu görülmektedir (Bouchra vd., 2003; Daferera vd., 2003; Zhang vd., 2019). Nitekim mevcut araştırmada da kekik yağının bileşenlerinden olan Timol'ün oldukça güçlü bir engelleyici olduğu görülmektedir. *B. cinerea*'nın koloni çapı değerleri üzerine inkübasyon süresinin etkinliği incelendiğinde inkübasyon süresinin artışına bağlı olarak koloni çapı değerleri artmıştır. Uçucu yağ konsantrasyonunun patojenin koloni çapı değerleri üzerine etkisi incelendiğinde ise uçucu yağ konsantrasyonunun artmasına paralel olarak fungal koloni çap değerleri azalmıştır. Literatürde benzer sonuçlar bulunmaktadır.

Köse, (2007) yaptığı çalışmada, *B. cinerea*'ya karşı *Origanum onites* (Ak Kekik) ve *Origanum syriacum* var. *bevanii* Holmes (Suriye Kekiği) uçucu yağlarının 80 µg/mL, *Thymbra spicata* L. (Karabaş Kekik) uçucu yağının 800 µg/mL ve *Foeniculum vulgare* Mill. (Rezene) 1520 µg/mL konsantrasyonlarının misel gelişimini tamamen engelledikleri belirtmiştir.

Daferera vd., (2003), *Origanum vulgare* (İzmir Kekiği), *Thymus vulgaris* (Kekik), lavanta, biberiye ve adaçayı uçucu yağlarının *Botrytis cinerea* ve *Fusarium solani* var. *coeruleum* funguslarının misel gelişimlerini 85-300 µg/mL konsantrasyonlarında engellediğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar kekikten elde edilen uçucu yağların antifungal etkisinin kuvvetli olduğunu ve bunun içerdikleri Timol ve Karvakrol'den kaynaklandığını belirtmişlerdir. Adaçayı ve biberiye uçucu yağlarının antifungal etkisi ise doz miktarının artmasına bağlı olarak *B. cinerea* ve *F. solani* var. *coeruleum*'un misel gelişimini engelleyebileceğini belirtmişlerdir. Lis-Balchin ve Deans (1997), uçucu yağların bu şekilde gösterdikleri antimikrobiyal etkilerin, yüksek oranda monoterpenleri olan, ögenol, sinamik aldehit ve timol'den kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Aralarında timol ve ögenol'ün bulunduğu 22 adet monoterpenin, *in vitro* ortamda meyvelerde hasat sonrası dönemde çürümelere neden olan *Monilinia*

fructicola (G. Wint) Honey ve *B. cinerea*'ya karşı antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. Buna göre besi yerine eklenen 100 g/mL'lik timol'ün her iki fungusun gelişimini tamamen engellediği gözlemlenmiştir (Tsao ve Zhou, 2000). *İn vitro* ortamda ögenol'ün *Aspergillus, Penicillium* ve *Fusarium* cinsi funguslar üzerindeki toksik etkisi araştırılmıştır. Toksik etkiye sahip ögenol dozunun, fungus cinsi ve türü gibi etmenlere göre değişiklik gösterdiği gözlemlenmiştir. Buna göre 100 mg/L oranında besiyerine ilave edilen ögenol'ün, *P. expansum, P. glabrum, P. italicum* ve *A. niger* için toksik açıdan kritik doz olduğu belirtilmiştir. *A. terreus* ve *F. avenaceum*'un radyal gelişimi ögenol'ün 140 mg/L'lik dozu ile tamamen engellenmiş olup *F. oxysporum* için ise bu dozun 150 mg/L olduğu belirlenmiştir (Campaniello vd., 2010). Yapılan başka bir çalışmada da aralarında timol ve ögenol'ün bulunduğu 18 farklı bileşiğin *in vitro* ortamda *Lasiodiplodia theobromae, Colletotrichum gleosporioides* (Penz) Penz & Sacc., *Alternaria citri* (Penz.) Mussat, *B. cinerea* ve *P. digitatum* funguslarına karşı antifungal etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre fungusların gelişimini engelleme açısından en etkili bileşiğin timol olduğu saptanmıştır. Her bir patojenin *in vitro* koşullardaki gelişimi 100 µL/L timol dozu ile tamamen engellenmiştir. Ögenol'ün de hastalık etmenlerinin gelişimini engellediği gözlemlenmiştir (Combrincka vd., 2010).

Salvia desoleana Atzei & Picci uçucu yağı ve üç bileşeninin 17 mikromysetese karşı antifungal etkilerinin araştırıldığı çalışmada, 1,8-Sineol'ün orta derecede aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Soković vd., 2009). *Salvia officinalis* (Lamiaceae)'in uçucu yağlarının antifungal ve antiinflamatuar potansiyeli, makrofaj ve keratinositler üzerine sitotoksisitesi araştırılmıştır. Yağların, antifungal etkisi mayalar, *Aspergillus* ve dermatofit strainlerine karşı etkinliği incelenmiştir. *S. officinalis* uçucu yağının ana bileşenleri olan 1,8- Sineol (%39,5-50,3) ve camphor (%8,8-25,0)'un dermatofit strainlere karşı antifungal etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Abu-Darwish vd., 2013).

İn vitro etkinliğini araştırdığımız bitki uçucu yağlarının *in vivo* denemeleri yapılarak bu konuda yapılan çalışmaların geliştirilmesi üzerine ve geliştirilen preparatların hastalıklarla mücadelede kullanılması sonucunda zirai üretime katkıda bulunacağı açıkça görülmektedir.

Çalışmada asma yaprağı kullanılarak yapılan *iv-vivo* denemelerde ise Petri uygulamalarında kullanılan uçucu yağ konsantrasyonları yapraklara uygulandığında çürümeler meydana gelmiştir. Bu yüzden yaprak uygulamalarında ki uçucu yağ konsantrasyonları %90 seyreltilerek uygulama gerçekleştirilmiştir. Uygulanan uçucu yağların 100 µL'lik konsantrasyonları etkili olmuştur. Timol'ün 50 µL konsantrasyonunda da lezyon oluşumu gözlenmezken Ögenol ve 1,8-Sineol'ün 50 µL'lik konsantrasyonlarında görülmüştür. Dolayısıyla uygulanan uçucu yağların 25 µL'lik konsantrasyonlarda da lezyon oluşumu görülmüştür. Uçucu yağ uygulaması yapılan yaprakların deney boyunca tazeliğini koruması ve deney süresince herhangi bir soluma göstermemesi uygulanan uçucu yağların, etkili konsantrasyonlarının mikrobiyal bozulmayı engellediği kadar, yaprağın tazeliğini ve kalitesini de koruduğunu ifade edebiliriz. Bu anlamda daha önce yapılan çalışmalar ve deney süresince yaptığımız gözlemler düşüncemizi desteklemektedir.

Yapılan literatür incelemelerine göre, asma yapraklarında *B. cinerea'*dan kaynaklı hastalığa karşı uçucu yağların etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu yönü ile orijinal bir çalışma niteliğinde olan araştırmamızdan elde edilen veriler, literatür için önemli bir kaynak olacaktır. Literatürde asmanın meyvesi üzüm üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur.

Karvakrol buharının hasat sonrası üzüm kalitesi üzerindeki rolü incelenen çalışmada 100, 250, 500 ve 1000 µL karvakrol absorbe edilmiş gazlı bezler salkımların yanına yerleştirilmiş. Ayrıca kükürt dioksit (SO_2) üreten pedler ve kontrol üzümleri de karşılaştırmak amacıyla kullanılmıştır. Sonuç olarak, tüm karvakrol konsantrasyonlarında, titre edilebilir asitlik (TA) ve sertlik ve depolama sonunda ağırlık kaybını azaltmıştır. Ayrıca, mantar çürümesi de karvakrol konsantrasyonuna bağlı olarak azalmıştır. Tüm karvakrol ve SO_2 uygulamaları ile tedavi edilen 40. gün depolamada herhangi bir bozulma gözlenmemiştir. Ayrıca çalışmada karvakrol 'ün tat açısından kontrol ve SO_2 uygulamasına göre daha başarılı olduğu görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, karvakrol'ün SO_2 kullanımına alternatif olarak sofralık üzüm depolaması sırasında hasat sonrası kaliteyi korumak için yenilikçi bir araç olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Babalık vd., 2020).

Yapılan başka bir çalışmada, *Vitis vinifera* cv. Chasselas meyvelerine *Origanum vulgare* (Kekik) uçucu yağının *B. cinerea*'ya karşı *in vitro ve in vivo* olarak etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, kekik uçucu yağ buharı mantar büyümesinde %73'lük bir azalmaya neden olmuştur. Bu çalışma, sentetik ve bakır bazlı fungisitlerin kullanımını azaltabilen tarla içi veya sera buharlaştırma sistemlerinin geliştirilmesi için yeni olanaklar sağlayan üzüm meyveleri üzerindeki buhar fazında uçucu yağların etkinliğini göstermiştir (Burggraf ve Rienth, 2020).

Hassani vd., (2012), kayısı meyvelerini *Botrytis cinerea* ile inokule ederek *Thymus vulgaris* (Kekik), *Eugenia caryophyllatum* L. (Karanfil), *Carum capticum* (Kimyon) ve *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Tarçın) uçucu yağlarının 200, 400, 600 µL/L konsantrasyonlarını test ettikleri çalışmada 600 µL/L dozunda bütün uçucu yağların yüksek derecede antifungal etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Kekik uçucu yağının diğer uçucu yağlara oranla her iki etmende hastalık şiddetini daha fazla azalttığını belirtmişlerdir.

Başka bir araştırmada da kiraz meyvesinde hasat sonrası dönemde fungus gelişiminden kaynaklanan çürümeleri ve duyusal özellikteki kayıpları engellemek için kirazlar, içerisine timol, ögenol ve mentol ilave edilen modifiye atmosfer paketlerde (MAP) 1 °C'de %90 oransal nem koşullarında 16 gün depolanmışlardır. Uçucu yağlar ile kombine edilmiş MAP'larda depolanan kirazların mikrobiyal analiz sonuçlarına göre meyve yüzeyindeki fungusların ve mayaların ve toplam aerobik mezofilik bakteri kolonilerinin sadece MAP'lardaki kontrol grubuna göre sırasıyla 4 ve 2-log CFU oranında engellediğini belirtmişlerdir. Meyveler kalite bakımından karşılaştırıldığında ise kontrol grubuna göre uygulama yapılan gurupta ağırlık kaybının daha az, daha sert ve sapların daha yeşil olduğu gözlemlenmiştir (Serrano vd., 2005). Sofralık üzümlerin 56 gün boyunca MAP içerisinde timol veya ögenol eklenmesi ile aktif paketleme yöntemi geliştirilmiştir. Kontrol grubuna oranla uygulama yapılan gruptaki tanelerde daha az mikrobiyal bozulma olduğu ve niteliksel kayıpların daha az olduğu gözlemlenmiştir (Valero vd., 2006).

Yukarıda çalışmamıza benzer olarak verilen araştırmalar bizim bulgularımızı desteklemektedir. Bu yüzden uçucu yağın, *B. cinerea*'nın asmada

neden olduğu biyotik strese karşı kullanılması gerektiği hipotezimizi desteklemektedir.

Elma patojenleri olan *Phylectema vagabunda, P. expansum, B. cinerea* ve *Monilinia fructigena* Honey'e *in vivo* ortamda ögenol'ün etkisi araştırılmıştır. Fungal patojenlere karşı içerisinde ögenol ile birlikte Tween- 80, etoksilat veya lesitin içeren 3 farklı formülasyon hazırlanmıştır. Etoksilat ve Tween-80ögenol formülasyonlarının patojenlerin gelişimini engellemede önemli bir etkilerinin olmadığı saptanmıştır. Bu iki formülasyon 50 °C'ye ısıtılıp elmalara uygulandığında meyvede fitotoksik etki oluştuğu gözlenmiştir. Ancak ögenol'den kaynaklanan aynı fitotoksik etkinin, 50 mg/mL soy lesitin ve 2 mg/mL ögenol içeren formülasyonda gözlenmediği belirtilmiştir. Soy lesitin ve ögenol içeren 50°C'ye ısıtılmış formülasyon ile uygulama yapılan elmalar, 2 °C'de 6 ay depolanmış ve depolama sonunda *P. expansum, P. vagabunda, B. cinerea* ve *M. fructigena* funguslarından kaynaklanan hastalık oranlarının sırası ile %7, 6, 4 ve 2 olduğu bulunmuştur (Amiri vd., 2008).

Loi vd., (2008), 1,8-Sineol'un bitkiler üzerinde allelopatik etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Monoterpenoidlerle yapılan başka bir çalışmada Salmonella/microsome deneyi (TA97a, TA98, TA100 ve TA102 test ırklarında) sonuçlarına göre ise 1,8-Sineol'un herhangi bir mutajenik etkisi saptanmamıştır. Bir başka çalışmada ise Kantaron uçucu yağının içeriğinde tespit edilen 1,8-sineol'nun *Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum, Penicillium digitatum* ve *Aspergillus niger* patojenlerine karşı antifungal etkisi olduğu tespit edilmiştir (Gehan vd., 2012). Bu şekilde yaptığımız kaynak taramalarında 1,8-Sineol'ün çeşitli patojenlere karşı etkili olduğu belirtilmiş olsa da çalışmamızda 1,8-Sineol yeteri kadar etkili bulunmamıştır. Bu durumun kullanılan uçucu yağ bileşenin konsantrasyonuna bağlı olabileceği gibi uçucu yağın kimyasal özelliklerine bağlı olarak ta oluşabileceğini düşünmekteyiz. Uçucu yağlar ve bileşenlerinin optimum konsantrasyonlarda besiyerinde ve *in vivo da* uygulama yapılan materyal ile bütünleşmeleri veya iyice karışmaları iyi derecede antimikrobiyal etki açısından önem taşımaktadır (Seow vd., 2014). Uçucu yağlar ve bileşenlerinin antifungal etkisi üzerine yapılan bir araştırmada mikrodilüsyon yönteminin makrodilüsyon yöntemine göre daha yüksek etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Soković vd.,

2009). Bu durumun hidrofobik uçucu yağların sudaki çözünürlüklerinin düşük olması ve katı besiyerindeki difüzyonlarının sınırlayıcı oluşundan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Griffin vd., 2000). Sudaki çözünürlüğü daha yüksek olan 1,8-Sineol, karvon, terpinen-4-ol ve α-terpineol gibi bileşenler, daha düşük çözünürlüğe sahip olanlara kıyasla katı besiyerinden daha kolay difüze olmaktadırlar (Griffin vd., 2000; Soković vd., 2009). Bu şekilde, hidrokarbon bileşenlerin besiyerinin yüzeyinde kalması veya buharlaşmasından dolayı daha düşük antimikrobiyal etki gösterdiği belirtilmiştir (Griffin vd., 2000). Mikrodilüsyon yönteminde katı besiyeri kullanılmaması uçucu yağların ve bileşenlerinin sıvı besiyerinde daha iyi difüze olmasına neden olmaktadır (Soković vd., 2009). Genel olarak uçucu yağlar veya saf bileşenlerin yüksek konsantrasyonlarda kullanımı daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği ileri sürülmektedir. Uçucu yağ konsantrasyonu, aktiviteyi etkileyen en önemli etkendir. Bu nedenle uçucu yağlar ve bileşenlerinin su bazlı besiyerindeki çözünürlüğü uçucu yağların biyoaktivitesini etkileyen en önemli faktör olarak görülmektedir (Seow vd., 2014). İyonik olmayan sürfaktanlar (Tween 20 veya Tween 80), çözücüler (dimetil sülfoksit (DMSO) veya etanol), stabilizatörler (agar ve lesitin) uçucu yağların ve bileşenlerinin besiyerindeki çözünürlüğünü arttırdığından dolayı mikroorganizmalarla daha kolay etkileşim sağlamaktadır (Seow vd., 2014). Bununla birlikte bu kombinasyonlar uçucu yağlar ve bileşenlerinin fiziksel veya kimyasal karakterizasyonları üzerine değişikliklere sebep olabileceğinden onların fonksiyonellikleri üzerinde de etkileri olabilmektedir (Chalova vd., 2010).

Sonuç olarak, denenen uçucu yağ uygulamaları arasında, Timol'ün 50 µL,100 µL konsantrasyonları, Ögenol'ün 50 µL ve 100 µL konsantrasyonlarının *B. cinerea*'ya karşı %80 ve üzeri antifungal etki gösterdiği dikkate alındığında, bitkisel uçucu yağların ekolojik tarımda obligat fungal patojenlere karşı kullanılabileceği ve pratiğe aktarılabileceği sonucuna varılabilir.

Literatürden ve çalışmadan elde edilen veriler ışığında, bitkisel pestisitlerin bitki hastalıkları üzerine etkili oldukları, çevre ve insan sağlığı açısından çok sayıda avantajının olduğu açıktır. Bitki florası bakımından son derece zengin olan ülkemizde, bitkilerden elde edilen uçucu yağların pestisit

olarak kullanım potansiyelini arttırmak için uçucu yağın bünyesinde bulunan antimikrobiyal özelliğe sahip bileşenlerin tespit edilip bunlarla ilgili formülasyon çalışmalarının yapılması ve elde edilen formülasyonun *in vivo* şartlarda etkinliğinin test edilmesi için daha ileri seviyede çalışmaların yapılması gerekmektedir. Ayrıca, bu bileşenlerin yapılarının analiz edilerek sentetik olarak üretimlerinin yapılmasına, hastalık ve zararlılara karşı etkinliklerinin arttırılmasına yönelik araştırmalar da yapılmalıdır. Zira, gelecekte doğal dengeyi bozmayan, insan ve çevreye zararlı etkileri bulunmayan, kimyasal pestisitlerin yerine çok daha kolay dönüşüme uğrayan doğal pestisitlere ihtiyaç olacaktır. Dolayısıyla, uçucu yağlar, patojenlere karşı biyoaktif bileşenler yönünden zengin olup, günümüzde yoğun olarak uygulanmakta olan kimyasal pestisitlere alternatif olabilecek potansiyeldedirler.

Bu çalışmanın sonunda elde edilen verilere göre, uçucu yağların düşük toksite ve biyolojik parçalanmalarının kolay olmasından dolayı, bitki patojeni *B.cinerea*'ya karşı biyofungusit olarak kullanılabilme potansiyelinin olduğunu desteklemiştir.

Gelecekte bu konu da yapılacak yeni çalışmalara temel teşkil etmesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

Abu-Darwish, M.S., Cabral, C., Ferreira, I.V., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Al-bdour, T.H., Salgueiro, L. 2013. Essential oil of common sage (*Salvia officinalis* L.) from Jordon: Assessment of safety in mammalian cells and ıts antifungal and anti-inflammatory potential. **BioMed Res. Int.**, 1-9.

Akbulut, U. 2014. Bitkisel Kaynaklar 60 Bin Yıl Önceye Uzanır. http://www.uralakbulut.com.tr/wpcontent/uploads/2014/10/B%C4%B0TK%C4%B0SEL-%C4%B0LA%C3%87LAR-60-B%C4%B0N-YIL-%C3%96NCEYE-UZANIR-1 EK%C4%B0M-2014.pdf. (10.05.2019).

Akhtar, T.A., Matsuba, Y., Schauvinhold, I., Yu, G., Lees, H.A., Klein, S.E., Pichersky, E. 2013. The tomato *cis*-prenyltransferase gene family. **Plant J.**, 73:640–652.

Albayrak, S., Turak, S., Gökçe, Y., Bozbek, Ö. 2002. Erzincan ili bağlarında fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesi üzerinde ön çalışmalar. **Bitki Koruma Bülteni**, 42(1-4):81-90.

Aminifard, M.H., Mohammadi, S. 2012. Essential oils to control *Botrytis cinerea in vitro* and *in vivo* on plum fruits. **J. Sci. Food Agric.**, 93:348–353.

Amiri, A., Dugas, R., Pichot, A.L., Bompeix, G. 2008. *In vitro* and *in vivo* activity of eugenol oil (*Eugenia caryophylata*) against four important postharvest apple pathogens. **Int. J. Food Microbiol.**, 126:13-19.

Anonim, 2014. Production statistics. Food and Agriculture Organization of the United Nations, http://www.fao.org (23.03.2017).

Anonim. 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları Cilt 4. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, 273-275 s, Ankara.

Anonim. 2009. Marul Hastalıkları Kursuni Küf (*Botrytis cinerea* Pers.) http://www.bitkisagligi.net/Marul/ozellik.asp?patlatin=Botrytis%20cinerea.

Arras, G., Usai, M. 2001. Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and

its effect in subatmospheric pressure conditions. **J. Food Prot.**, 64:1025-1029.

Asımgil, A. 1997. Şifalı Bitkiler. Timaş Yayınları 176, Aile Sağlığı Dizisi: 2, İstanbul, 16-307, İstanbul.

Astani, A., Schnitzler, P. 2014. Antiviral activity of monoterpenes beta-pinene and limonene against herpes simplex virus in vitro. **Iran J. Microbiol.**, 6(3):149.

Babalık, Z., Onursal, C.E., Erbaş, D., Koyuncu, M.A. 2020. Use of carvacrol helps maintain postharvest quality of red globe table grape. **J Anim Plant Sci.**, 30(3):655-662.

Baðcý, Y., Dural, H., Arslan, D., Özcan, M.M. 2008. Inhibition of Some Fungi by Essential Oil of *Thymbra sintenesii* Bornm. et Aznav. subsp. isaurica in Model System. **J. Essent. Oil-Bear. Plants**,11(3):311-318.

Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., Debevere, J. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and S. flexneri. **Food Microbiology**, 21:33-42.

Bajpai, V.K., Rahman, A., Kang, S.C. 2007. Chemical Composition and Antifungal Properties of the Essential Oil and Crude Extracts of Metasequoia glyptostroboides Miki ex Hu. **Ind. Crops Prod.**, 26:28–35.

Bakkalı, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – a review. **Food Chem. Toxicol.,** 46:446–475.

Baraldi, E., Bertolini, P., Chierici, E., Trufelli, B., Luiselli, D. 2002. Genetic diversity between *B. cinerea* isolates from unstored and Cold Stored Kiwi fruit. **Phytopathology**, 150(11- 12):629–635.

Barkai-Golan, R. 2001. Postharvest diseases of fruit and vegetables. Elsevier B.V., 299 pp.

Barnett, H.L., Hunter, B.B. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Third Edition, Minneapolis, 218 pp.

Basile, A., Rigano, D., Sorbo, S., Conte, B., Rosselli, S., Bruno, M., Senatore, F. 2013. Antibacterial and Antifungal Activities of *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link Essential Oil from Sicily. **Nat. Prod. Res**., 27 (17):1548-1555.

Başer, K.H.C., Özek, T., Kırımer, N., Tümen, G. 2004. A comparative study of the essential oils of wild and cultivated Satureja hortensis. **J. Essent. Oil Res.**, 16:422-424.

Batish, D., Setia, N., Singh, H.P., Kohli, R.K. 2004. Phytotoxicity of Lemon-Scented Eucalypt Oil and its Potential Use as a Bioherbicide, **J. Crop Prot.**, 23:1209-1214.

Batish, D., Singh, H., Kohli, R., Kaur, S. 2008. Eucalyptus Essential Oil as a Natural Pesticide. **Forest Ecol. Manag.**, 13:2166-2174.

Bautista-Banos, S., Hernandez-Lauzardo, A.N., Velazquez-del Vaile, M.G., Hernandez-lopez, M., Ait-Barka, E., Bosquez-Molina, E., Wilson, C.L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities, **J. Crop Prot.,** 25:108.

Baykal, N. 1997. Sebze Fungal Hastalıkları Uludağ Univ. Ziraat Fak. Ders Kitapları.138 s, **Phytopathology,** 150:629-635, Bursa.

Baytop, T. 1984. Türkiye'de Bitkilerde Tedavi. İstanbul Ünivesitesi Yayınları, No: 3255, İstanbul.

Benjilali, B., Tantaduı-Elarakı, A., Ayadı, A., Ihlal, M. 1984. Method to study antimicrobial effects of essential oils: Application to the Antifungal Activity of Six Moroccan Essences. **J. Food Protect.**, 47:748-752.

Benli, M. 2003. Hasat sonrası fungal hastalıklarla kimyasal ve biyolojik mücadele. **Ortab on-line mikrobiyoloji dergisi,** 1(8):1-25.

Bennis, S., Chamil, F., Chamil, N., Bouchikhi, T., Remmal, A. 2004. Surface alteration of Saccharomyces cerevisiae induced by thymol and eugenol. **Lett. Appl. Microbiol.**, 38:454-458.

Bluma, R., Amaiden, M.R., Etcheverry, M. 2008. Screening of argentine plant extracts: impact on growth parameters and aflatoxin B1 accumulation by Aspergillus section Flavi. Int. **J. Food Microbiol.**, 122:114–125.

Bouchra, C., Achouri, M., Idrissi Hassani, L.M., Hmamouchi, M. 2003. Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils of Seven Moroccan Labiatae Against *Botrytis cinerea*. Fr. **J. Ethnopharmacol.**, 89:165- 169.

Böhme, K., Barros-Velazquez, J., Calo-Mata, P., Aubourg, S.P. 2014. Antibacterial, antiviral and antifungal activity of essential oils: mechanisms

and applications In: Antimicrobial Compounds. T. G. Villa, P. Vegia-Crespo, Springer Berlin Heidelberg, 51-81 pp.

Brooker, H., Kleining, A. 2006. Field Guide to Eucalyptus Vol1, Blooming boks, South Eastern Australia, Melbourne.

Broome, J.C., English, J.T., Marois, J.J., Latorre, B.A., Aviles, J.C. 1995. Development of an infection model for *Botrytis* Bunch Rot of grapes based on wetness duration and temperature. **Phytopathology**, 85:97-102.

Budge, S.P., Whipps, J.M. 2001. Potential for integrated control of Sclerotinia sclerotiorum in glasshouse lettuce using Coniothyrium minitans and reduced fungicide application. **Phytopathology**, 91(2):221-227.

Burggraf, A., Rienth, M. 2020. *Origanum vulgare* essential oil vapour *impedes Botrytis cinerea* development on grapevine (*Vitis vinifera*) fruit. **Phytopathol. Mediterr.**, 59(2):331-344.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods. **Int. J. Food Microbiol.**, 94:223-253.

Buzi, A., Chilosi, G., Timperio, A.M., Zolla, L., Rossall, S., Magro, P. 2003. Polygalacturonase produced by Botrytis fabae as elicitor of two furanoacetylenic phytoalexins in Vicia Faba Pods. **J. Plant Pathol.**, 85(2):111-116.

Caccioni, D., Guizardi, M. 1994. Inhibition of germination growth of fruit and vegetable post-harvest pathogenic fungi by essential oil components, **J. Essent. Oil Res.**, 6:173-179.

Camele, I., De Feo, V., Altieri, L., Mancini, E., De Martino, L., Rana, G.L. 2010. An attempt of postharvest orange fruit rot control using essential oils from Mediterranean plants. **J. Med. Food**,13:1515-1523.

Camele, I., Altieri, L., De Martino, L., De Feo, V., Mancini, E., Rana, G.L. 2012. In vitro control of post-harvest fruit rot fungi by some plant essential oil components. **Int. J. Mol. Sci.,** 13:2290– 2300.

Campaniello, D., Corbo, M.R., Siniggaglia, M. 2010. Antifungal activity of eugenol against Penicillium, Aspergillus and Fusarium species. **J. Food Prot.**, 73(6):1124-8.

Chalova, V.I., Crandall, P.G., Ricke, S.C. 2010. Microbial inhibitory and radical scavenging activities of cold-pressed terpeneless *Valencia orange* (Citrus sinensis) oil in different dispersing agents. **J. Sci. Food Agric.**, 90:870–876.

Ciliberti, N., Fermaud, M., Roudet, J., Languasco, L., Rossi, V. 2016. Environmental effects on the production of *Botrytis cinerea* conidia on different media, grape bunch trash, and mature berries. **Aust. J. Grape Wine Res.**, 22(2):262-270.

Civitelli, L., Panella, S., Marcocci, M.E., De Petris, A., Garzoli, S., Pepi, F., Vavala, E., Ragno, R., Nencioni, L., Palamara, A.T. 2014. *In vitro* inhibition of herpes simplex virus type 1 replication by Mentha suaveolens essential oil and its main component piperitenone oxide. **Phytomedicine**, 21(6):857-865.

Combrinck, S., Regniera, T., Kamatoub, G.P.P. 2011. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Ind. Crops Prod.**, 33:344–349.

Cortes-Rojas, D.F., de Souza C.R., Oliveira, W.P. 2014. Clove (Syzygium aromaticum): a precious spice. **Asian Pac. J. Trop. Biomed.,** 4(2):90-96.

Coskun, F. 2006. Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, 2:27-33.

Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. **Clin. Microbiol. Rev.**, 12:564–82.

Cutter, C.N. 2000. Antimicrobial effect of herb extracts against Eshericia coli O157:H7, Listeria monocytogenes, and Salmonella Typhimurium associated with beef. **J. Food Prot.**, 63(5):601-607.

Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Marasalı, B., Söylemezoğlu, G. 1998. Genel bağcılık. Ankara.

Çetin, B., Cakmakci, S., Cakmakci, R. 2011. The investigation of antimicrobial activity of thyme and oregano essential oils. **Turk. J. Agric. For.**, 35(2):145-154.

Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.G. 2003. The Effectiveness of Plant Essential Oils on the Growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter* subsp. *michiganensis*. **J. Crop Prot.**, 22:39-44.

Dammak, I., Hamdi, Z., El Euch, S.K., Zemni, H., Mliki, A., Hassouna, M., Lasram, S. 2019. Evaluation of Antifungal and Anti-ochratoxigenic Activities of *Salvia officinalis*, *Lavandula dentata* and *Laurus nobilis* Essential Oils and a Major Monoterpene Constituent 1,8-cineole Against Aspergillus carbonarius. **Ind. Crops Prod.**, 128:85–93.

Davidson, P.M., Naidu, E.S. 2000. Phyto-Antimicrobials in Natural Food Antimicrobial Systems. Eds. Naidu A.S., CRC Press, (http://www.foodnetbase.com /ejournals/books).

De Miccolis Angelini, R.M., Rotolo, C., Masiello, M., Pollastro, S., Ishii, H. ve Faretra, F. 2012. Genetic analysis and molecular characterisation of laboratory and field mutants of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) resistant to QoI fungicides. **Pest Manag. Sci.**, 68(9):1231-1240.

De Rapper, S., Van Vuuren, S.F., Kamatou, G.P.P., vd. 2012. The additive and synergistic antimicrobial effects of select frankincense and myrrh oils—a combination from the pharaonic pharmacopoeia. **Lett. Appl. Microbiol.**, 54:352–358.

Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Dı Pıetro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., Foster, G.D. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Mol. Plant Pathol.**, 13:414–430.

Deans, S.G., Svoboda, K.P. 1990. The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. **Flavour Frag. J.**, 5:187–190.

Delen, N. 2001. Bağlarda fungal kaynaklı salkım çürüklükleri konusunda çalışmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi, Tekirdağ.

Delen, N**.** 2008. Fungisitler. Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi Yayın. No: 43. Ankara, 318 pp.

Delen, N., Tosun, N., Yıldız, Z., Köycü, D. 1998. *B. cinerea* izolatlarının bazı DMI fungisitlere duyarlılıkları. Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi, Ankara.

Deliere, L., Miclot A.S., Sauris P., Rey, P., Calonnec, A. 2010. Efficacy of fungicides with various modes of action in controlling the early stages of an Erysiphe necator-induced epidemic. **Pest Manag. Sci.**, 66(12):1367–1373.

Dev, U., Devakumar, C., Mohan, J., Agarwal, P.C. 2004. Antifungal activity of aroma chemicals against seedborne fungi. **J. Essent. Oil Res.**, 16:496-499.

Deytieux-Belleau, C., Geny, L., Roudet, J., Mayet, V., Donèche, B., Fermaud, M. 2009. Grape berry skin features related to ontogenic resistance to *Botrytis cinerea*. **Eur. J. Plant Pathol**., 125:551-563.

Dianz, F., Santos, M., Blanco, R., Tello, J.C. 2002. Fungicide resistance in *Botrytis cinerea* isolate from strawberry crops in Huelva (southwestern Spain). **Phytoparasitica**, 30:529-534.

Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., Chelghoum, C. 2006. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus fontanesii*. **Pharm. Biol.**, 44 (8):607-612.

Domsch, K.H., Gamsand, W., Anderson, T.H. 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Pres London. 859 pp.

Dudai, N., Pojakof-Mayber, A., Mayer, A.M., Putıevsky, E., Lerner, H.R. 1999. Essential Oils as Allelochemicals and Their Potential Use as Bioherbicides. **J. Chem. Ecol.**, 25(5):1079-1089.

Duke, S.O., Dayan, F.E., Romagni, J.G., Rimando, A.M. 2000. Natural Products as Sources of Herbicides: Current Status and Future Trends. **Weed Res.**, 40:99-111.

Edris, A.E., Farrag, E.S. 2003. Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. **Nahrung.**, 47(2):117-21.

Elad, Y., Stewart, A. 2004. Micrbial Conrol of *Botrytis* spp. Y Elad et al (eds.), *Botrytis*: Biology, pathology and control, 2004 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. Pp. 223-236.

Elad, Y., Vivier, M., Fillinger, S. 2016. *Botrytis*, the Good, the Bad and the Ugly. In: Botrytis-the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems. (Fillinger, S., Elad, Y. Eds.) Springer International Publishing pp 1-15, Switzerland.

Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., Delen, N. 2007. Botrytis spp. and diseases they cause in agricultural systems-an introduction. Botrytis: Biology, Pathology Con., Springer, 1-8.

Elad,Y. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of Trichoderma harzianum and potential modes of action. **J. Crop Prot.**, 19:709-714.

Elgayyar, M., Draughon, F.A., Golden, D.A. ve Mount J.R. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. **J. Food Prot.**, 64:1019-1024.

Elgorban, A.M., Bahkali, A.H., El-Metwally, M.A., Elsheshtawi, M., Abdel-Wahab, M.A. 2015. In vitro antifungal activity of some plant essential oils. **Int. J. Pharmacol.**, 11(1):56-61.

Elmer, P.A.G., Michailides, T.J. 2007. Epidemiology of Botrytis cinerea in orchard and vine crops. Botrytis: Biology, Pathology Con., Springer, 243-272, Netherlands.

Ertem, A. 1993. Ekolojik Tarım Ve Rapunzel. İzmir, s 36.

Feng,W., Chen j., Zheng X., Liu Q. 2011. Tyme oil to control Alternaria alternata in vitro and in vivo as fumigant and contact treatments. **Food Control.**, 22:78-81.

Fernández-Ortuño, D., Grabke, A., Li, X., Schnabel, G. 2015. Independent emergence of resistance to seven chemical classes of fungicides in Botrytis cinerea. **Phytopathology**, 105(4):424-432.

Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Scheffer, J.J.C. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants volatile components and essential oils. **Flavour Frag J.**, 23(4):213-226.

Fujisawa, S., Atsumi, T., Kadoma, Y., Sakagami, H. 2002. Antioxidant and prooxidant action of eugenol related compound and their cytotoxicity. **Toxicology**, 177:39-54.

Garcia, R., Alves, E.S.S., Santos, M.P., Viegas Aquije, G.M.F., Fernandes, A.A.R., Dos Santos, R.B., Ventura, J.A., Fernandes, P.M.B. 2008. Antimicrobial activity and potential use of monoterpenes as tropical fruits preservatives. **Braz. J. Microbiol.**, 39:163–168.

Gehan, I.K.M., Mona, A.R., Samir, A.M.A. 2012. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. **Pestic. Biochem. Physiol.**, 103:56–61.

Giese, J. 1994. Spices and seasoning blends: A taste for all seasons. **Food Technol.**, 48(4):87-98.

Gilling, D., Kitajima, M., Torrey, J., Bright, K. 2014. Antiviral efficacy and mechanisms of action of oregano essential oil and its primary component carvacrol against murine norovirus, **J. Appl. Microbiol.**, 116(5):1149-1163.

Gisi, U, Sierotzki, H. 2008. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. **Eur. J. Plant Pathol.**, 122(1):157–67.

Giweli, A.A., Džamić, A.M., Soković, M., Ristić M.S., Janaćković P., Marin, P.D. 2013. The chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Salvia fruticosa* growing wild in Libya. **Arch. Biol. Sci.**, 65(1):321-329.

Goncalves, G.E., de Souza, F.S., Lago, J.H., Caseli, L. 2015. The interaction of eugenol with cell membrane models at the air-water interface is modulated by the lipid monolayer composition. **Biophys. Chem.**, 207:7-12.

Gong, L., Li, T., Chen, F., Duan, X., Yuan, Y., Zhang, D., Jiang, Y. 2016. An inclusion complex of eugenol into beta-cyclodextrin: Preparation, and physicochemical and antifungal characterization. **Food Chem.**, 196:324-330.

Goodman, R.N., Kiraly, E., Zaitlin, M. 1967. The biochemistry and physiology of infectious plant diseases. Princeton, NJ: D. VanNosti and Co.

Gould, A.B., Kobayashi, D.Y., Bergen, M.S. 1996. Identification of bacteria for biological control of *Botrytis cinerea* on petunia using a petal disk assay. **Plant Dis.**, 80:1029-1033.

Greche, H., Hajjaji, N., Ismaili-Alaoui, M., Mrabet, N., Benjilali, B. 2000. Chemical composition and antifungal properties of the essential oil of *Tanacetum annuum*. **J. Essent. Oil Res.**, 12(1):122-124.

Griffin, S.G., Markham, J.L., Leach, D.N. 2000. An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils. **J. Essent. Oil Res.**,12(2): 249–255.

Hadizadeh, L., Peivasteag, B., Hamzezharghani, H. 2009. Antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran against *Alternaria alternata*, **Am. J. Appl. Sci.**, 6:744-748.

Hassani, A., Fathi, Z., Ghosta, Y., Abdollahi, A., Meshkatalsadat, M.H., Marandi, R.J. 2012. Evaluation of plant essential oils for control of postharvest brown and gray mold rots on apricot. **J. Food Saf.**, 32:94-101.

Hersch-Martínez, P., Leaños-Miranda, B.E., Solórzano-Santos F. 2005. Antibacterial Effects of Commercial Essential Oils over Locally Prevalent Pathogenic Strains in Mexico. **Fitoterapia**, 76:453–457.

Holley, R.A., Patel, D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiol.**, 22:273- 292.

Holz, G., Gutschow, M., Fredericks, C., du Preez, D., Coertze, S. 2000. Infection pathways of *Botrytis cinerea* on grape bunches. XII International *Botrytis* Symposium. Reims-France.

Hulin, V., Mathot, A.G., Mafart, P., Dufosse, L. 1998. Les Proprietes Antimicrobiennesdes Huiles Essentielles et Composes D'aromes. **Sci. Aliments**, 18:563-582.

Hunter, P.A., Reeves, D.S. 2002. The current status of surveillance of resistance to antimicrobial agents: report on a meeting. **J. Antimicrob. Chemother.**, 49:17–23.

Ito, M, Murakami, K.A., Yoshino, M. 2005. Antioxidant action of eugenol compounds: role of metal ion in the inhibition of lipid peroxidation. **Food Chem. Toxicol.**, 43:461–466.

Jacometti, M.A., Wratten S.D., Walter M. 2010. Review: alternatives to synthetic fungicides for Botrytis cinerea management in vineyards. **Aust. J. Grape Wine Res.**, 16:154–172.

Kalemba, D., Kunicka, A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Curr. Med. Chem.**, 10:813-829.

Karakuş, S., 2016. Üzüm Bağlarında Hastalık Etmeni Kurşuni küfün (*Botrytis cinerea*) Biyolojik Mücadelesinde *Nepeta meyeri* (benth.) Bitki Ekstraktlarının Kullanılması. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 110-116, Erzurum.

Karatepe, P. 2010. Eugenol ve thymol'ün pastörize tereyağının kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal kalitesi üzerine etkisi. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 144, Elazığ.

Karpinski, T.M. 2020. Essential Oils of Lamiaceae Family Plants as Antifungals. **Biomolecules**, 10(1):103.

Kısmalı, İ., 1996. Genel Bağcılık. İzmir.

Kifer, D., Mužinić, V., Klarić, S.M. 2016. Antimicrobial Potency of Single and Combined Mupirocin and Monoterpenes, Thymol, Menthol and 1,8-cineole Against Staphylococcus aureus Planktonic and Biofilm Growth. **J. Antibiot.**, 69:689–696.

Komarek, M., Čadkova, E., Chrastny, V., Bordas, F., Bollinger, J.C. 2010. Contamination of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects. **Environ. Int.**, 36:138-151.

Koplay, C. 2003. Sofralık Sultani Üzümlerde Fungal Kaynaklı Çürüklük Patojenlerinin Saptanması ve in-vitro Koşullarda Etkili Fungisitlerle Önlenmesi Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Eğe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Kordali, S., Usanmaz, A., Cakir, A., Komaki, A., Ercisli, S. 2016. Antifungal and Herbicidal Effects of Fruit Essential Oils of Four Myrtus communis Genotypes. **Chem. Biodivers.**, 13(1):77-84.

Kotan, R., Cakir, A., Dadasoglu, F., Aydın, T., Cakmakci, R., Ozer, H., Kordali, S., Mete, E., Dikbas, N. 2010. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish Achillea, Satureja and Thymus species against plant pathogenic bacteria. **J. Sci. Food Agric.**, 90:145-160.

Kotzekidou, P., Giannakidis, P., Boulamatsis, A. 2006. Antimicrobial activity of some plant extracts and essential oils against foodborne pathogens in vitro and on the fate of inoculated pathogens in chocolate. **LWT.**, 41:119-127.

Köse, F. 2007. Turunçgillerde hasat sonrası patojenlere karşı bazı bitki uçucu yağlarının antifungal etkinliği. Yüksek Lisans tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antakya, 11-45.

Krıshnaswamy, K., Raghuramulu, N. 1998. Bioactive phytochemicals with emphasis on dietary practices. **Indian J. Med. Res.**,108:167-181.

Küçükbay, F.Z., Kuyumcu, E., Celen, S., Azaz, A.D., Arabaci, T. 2014. Chemical Composition of the Essential Oils of Three Thymus Taxa from Turkey with Antimicrobial and Antioxidant Activities. **Rec. Nat. Prod.**, 8(2):110-120.

La Torre, A., Caradonia, F., Matere, A., Battaglia, V. 2016. Using Plant Essential Oils to Control Fusarium Wilt in Tomato Plants. **Eur. J. Plant Pathol.**, 144(3):487-496.

Lacroix, M., Saucier, L., Caillet, S., Qussalah**,** M. 2006. Inhibitory effects of selected plant essential oils on growth of four pathogenic bacteria: *E. coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, Staphylacoccus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, 18(5):414-420.

Latten, J., Scherer, M. 1994. Resistenzinduktion im Labor und Freiland mit Hilfe von Pflanzenextrakten**. Mitt. A. d. Biol. Bundesanst.**, 301:390.

Lee, J.P., Lee, S.W., Kim, C.S., Son, J.H., Song, J.H., Lee, K.Y., Kim, H.J., Jung, S.J., Moon, B.J. 2006. Evaluation of formulations of *Bacilllus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*. **Biol. Control.**, 37(3):329-337.

Lee, K.G, Shibamoto, T. 2001. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds. **Food Chem.**, 74:443-448.

Lee, S.O., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Cho, K.Y., Kim, J. 2007. Antifungal Activity of Five Plant Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi. **Plant Pathol. J.**, 23(2):97-102.

Letessier, M.P., Suoboda, K.P., Alters, D.R. 2001. Antifungal activity of the essential oil of hyssop (Hyssopus officinalis). **J. Phytopathol.**, 149:673-678.

Lıs-Balchin, M., Deans, S.G. 1997. Bioactivity of selected plant essential oils against Listeria monocytogenes. **J. Appl. Microbiol.**, 82:759–762.

Lingk, W. 1991. Health risk evaluation of pesticide contamination in drinking water. **Gesunde Pflanzen.**, 43:21–25.

Liu, X.Q., Yang J. 2004. Prp8 Intein in Fungal Pathogens: Target for Potential Antifungal Drugs. **FEBS Letters**, 572:46–50.

Loi, R.X., Solar, M.C., Weıdenhamer, J.D. 2008. Solid-phase microextraction method for in vivo measurement of allelochemical uptake. **J. Chem. Ecol.**, 34(1):70-75.

Lopez-Reyes, j.G., Spadaro, D., Gullino, M.L., Garibaldi, A. 2010. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples in vivo. **Flavour Fragr. J.**, 25:171-177.

Manohar, V., Ingram. C., Gray, J., Talpur, N.A., Echard, B.W., Bagchi, D., Preuss, H.G. 2001. Antifungal activity of origanum oil against Candida albicans**. Mol. Cell. Biochem.**, 28:111-117.

Marandi, R.J., Hassani, A., Ghosta, Y., Abdollahi, A., Pirzad, A., Sefidkon, F. 2010. Improving postharvest quality of table grape cv. 'Rish Baba'' using *Thymus kotschyanus* and *Carum copticum* essential oils. **J.Food Saf.**, 31:132-139.

Marandi, R.J., Hassani, A., Ghosta, Y., Abdollahi, A., Pirzad, A., Sefidkon, F. 2011. Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on Pear with *Thymus kotschyanus, Ocimum basilicum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils. **J. Med. Plant Res.**, 5(4):626-634.

Marques, H.M.C. 2010. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles **Flavour Fragr. J.**, 25(5):313-326.

Martínez Romero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Bailén, G., Zapata, P., Serrano, M., Castillo, S., Valero, D. 2007. Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in table grapes. **Int. J. Food Microbiol.**, 115:144-148.

Mateo, E.M., Gómez, J.V., Domínquez, I., Gimeno-Adelantado, J.V., Mateo-Castro, R., Gavara, R., Jiménez, M. 2017. Impact of bioactive packaging systems based on EVOH films and essential oils in the control of aflatoxigenic fungi and aflatoxin production in maize. **Int. J. F. Microbiol.**, 254:36–46.

Menniti, A.M., Gregori, R., Neri, F. 2010. Activity of natural compounds on Fusarium verticillioides and fumonisin production in stored maize kernels. **Int. J. Food Microbiol.**, 136:304–309.

Mohammadi, S., Aroiee H., Aminifard M.H., Tehranifar A., Jahanbakhsh V. 2013. Effect of fungicidal essential oils against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* rot fungus in vitro conditions. **Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz.**, 47:1603–1610.

Molisch, H., 1937. Der Einfluss einer Pflanze auf die Andere-Allelopathie. Fischer: Jena, Doi.org/10.1038/141493a0.

Morcia, C., Malnatib, M., Terzi, V. 2011. In vitro antifungal activity of terpinen-4- ol, eugenol, Carvone, 1,8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. **Food Addit. Contam.**, 29:415–422.

Mostafa, A.A., Al-Rahmah, A.N., Abdel-Megeed, A., Sholkamy, E.N., Al-Arfaj, A.A., El shikh, M.S. 2012. Fungitoxic Properties of Some Plant Extracts Against Tomato Phytopathogenic Fungi. **J. Pure Appl. Microbiol.**, 6(4):1889-1898.

Müller-Riebau, F., Berger, B., Yegen, O. 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic. **J. Agric. Food Chem.**, 43:2262-2266.

Mundy, D.C., Haycock, S.R., McLachlan, A.R.G., Wood, P.N., Raw, V. 2012. Tendrils as a source of seasonal carryover of *Botrytis cinerea* in vineyards. **N. Z. Plant Prot.**, 65:236-240.

Mundy, D.C., Agnew, R.H., Wood, P.N. 2012. Grape tendrils as an inoculum source of *Botrytis cinerea* in vineyards. **N. Z. Plant Prot.**, 65:218-227.

Nascimento, G.G.F., Locatelli, J., Freitas, P.C., Silva, G.L. 2000. Antibacterial Activity Of Plant Extracts and Phytochemicals On Antibiotic resistant Bacteria. **Braz. j. Microbiol.**, 31:247-256.

Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., De Feo, V. 2017. Essential oils and antifungal activity. **Pharmaceuticals**, 10:86.

Neri, F., Mari, M., Menniti, A.M., Brigati, S. 2006. Activity of trans-2-hexenal against Penicillium expansum in 'Conference' pears. **J. Appl. Microbiol.**, 100:1186-1193.

Onaran, A., Yilar, M., Belguzar, S., Bayan, Y., Aksit, H. 2014. Antifungal and Bioherbicidal Properties of Essential Oils of *Thymus fallax* Fish & Mey.,

Origanum vulgare L. and *Mentha dumetorum* Schult. **Asian J. Chem.**, 26(6):5159-5164.

Özcan, M., Erkmen, O. 2001. Antimikrobial activity of essential oil of Turkey plantspecies. **Eur. Food. Res. Technol**., 212:658-660.

Özkurt, A. 1994. Çukurova Bölgesinde Okaliptüs İşletmeciliğinin Yapısı ve Ekonomisi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.

Pal, D., Banerjee, S., Mukherjee, S., Roy, A., Panda, C.K., Das, S. 2010. Eugenol restricts DMBA croton oil induced skin carcinogenesis in mice: downregulation of c-Myc and H-ras, and activation of p53 dependent apoptotic pathway. **J. Dermatol. Sci.**, 59(1):31-39.

Pandey, A., Singh, P. 2011. Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) with metal ion effect against food borne pathogens. **Asian J. Plant Sci.**, 1(2):69-80.

Paňitrur-De La Fuente, C., Valdes-Gomez, H., Roudet, J., Acevedo-Opazo, C., Verdugo-Vasquez, N., Fermaud M. 2018. Classification of winegrape cultivars in Chile and France according to their susceptibility to *Botrytis cinerea* related to fruit maturity. **Aust. J. Grape Wine Res.**, 24:145-157.

Pearson, R.C., Goheen, A.C. 1988. Compendium of Grape Diseases. American Phytopathological Society.,13-14, St. Paul, Minnesota, USA.

Pereira, S.I., Santos, P.A., Barroso, J.G., Fıgueıredo, A.C., Pedro, L.G., Salgueiro, L.R., Deans, S.G., Scheffer, J.J. 2000. Chemical polymorphism of the essential oils from populations of *Thymus caespititius* grown on the island S. Jorge (Azores). **Phytochemistry**, 55:241-246.

Petit, A.N., Vaillant-Gaveau, N., Walker, A.S., Leroux, P., Baillieul, F., Panon, M.L., Clement, C., Fontaine, F. 2010. Determinants of fenhexamid effectiveness against Grey mould on grapevine: Respective role of spray timing, fungicide resistance and plant defences. **J. Crop Prot.**, 29(10):1162-1167.

Petrovic, N.V., Petrovic, S.S., Ristic, M.S., Dzamic, A.M., Ciric A.D. 2016. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Thymus praecox* Opiz ssp. polytrichus Essential Oil from Serbia. **Rec. Nat. Prod.**, 10(5):633.

Pichersky, E. 2013. The tomato cis-prenyltransferase gene family. **Plant J.**, 73:640–652.

Pinto, E., Vale-Silva, L., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. 2009. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on Candida, *Aspergillus* and dermatophyte species. **J. Med. Microbiol.**, 58:1454-1462.

Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A., Harvala, C. 2003. Volatile metabolites from Salvia fruticosa as antifungal agents in soil-borne pathogens. **J. Agric. Food Chem.**, 51:3294-3301.

Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A. 2008. Composition of the essential oil of spontaneous *Rosmarinus officinalis* from Greece and antifungal activity against phytopathogenic fungi. **J. Essent. Oil Res.**, 20:457-459.

Plotto, A., Roberts, D.D., Roberts, R.G. 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). **XXVI International Hor. Con.**: Issues and Advances in Postharvest Horticulture, 12 December, 2003, Toronto, Canada.

Portillo-Ruiz, MC., Viramontes-Ramos, S., Munoz-Castellanos, L.N., Gastelum-Fanco, M.G., Nevarez-Moorillon, GV. 2005. Antifungal activity of Mexican oregano (Lippia berlandieri Shauer) **J. Food Prot.**, 68:2713-2717.

Prakash, B., Singh, P., Mishra, P.K., Dubey, N.K. 2012. Safety assessment of Zanthoxylum alatum Roxb. essential oil, its antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activity and efficacy as antimicrobial in preservation of Piper nigrum L. fruits. **Int. J. Food Microbiol.**, 153(1-2):183-19.

Putnam, A.R., Duke, W.B. 1978. Allelopathy in Agroecosystems. **Annu. Rev. Phytopathol.**, 16:431-451.

Rajput, J.D., Bagul, S.D., Pete, U.D., Zade, C.M., Padhye, S.B., Bendre, R.S. 2018. Perspectives on medicinal properties of natural phenolic monoterpenoids and their hybrids. **Mol. Divers.**, 22(1):225-245.

Rana, S.I., Rana, S.A., Rajak, R.C. 2011. Evaluation of Antifungal Activity in Essential Oil of the *Syzgium aromaticum* By Extraction, Purification and Analysis of Its Main Component Eugenol. **Braz. j. Microbiol.**, 42:1269-1277.

Rao, A., Zhang, Y., Muend, S., Rao, R. 2010. Mechanism of antifungal activity of terpenoid phenols resembles calcium stress and inhibition of the TOR pathway. **Antimicrob. Agents Chemother.**, 54:5062–5069.

Raut, J.S., Karuppayil, S.M. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils, **Ind. Crop. Prod.**, 62:250-264.

Reimann, S., Deising, H.B. 2000. Fungicides risk of resistance devolepment and search for new targets, **Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz.**, 33:329-349.

Rice, E.L. 1984. Allelopathy. Second Editions. Acedemy pres Inc. Ltd., London.

Rienth, M., Crovadore, J., Ghaffari, S., Lefort, F. 2019. Oregano essential oil vapour prevents *Plasmopara viticola* infection in grapevine (*Vitis Vinifera*) and primes plant immunity mechanisms. **Plos One**, 14(9):1-29.

Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.H., Khalel, K.I. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.), **Ind. Crop Prod.**, 44:437-445.

Romagnoli, C., Bruni, R., Andreotti, E., Rai, M.K., Vicentini, C.B., Mares, D. 2005. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian Tagetes patula L., **Protoplasma**, 225:57-65.

Rossi, F.R., Gárriz, A., Marina, M., Romero, F.M., Gonzalez M.E., Collado I.G., Pieckenstain F.L. 2011. The sesquiterpene botrydial produced by *Botrytis cinerea* induces the hypersensitive response on plant tissues and its action is modulated by salicylic acid and jasmonic acid signaling. **Mol. Plant Microbe Interact.**, 24(8):888-896.

Roura, S.I., Valle, C.E., Ponce, A.G., Moreira, M.R. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food born pathogen. **LWT – F. Sci.Technology**, 38(5):565-570.

Sabaratnam, S., Traquair, J.A. 2002. Formulation of a Streptomyces biocontrol agent for the suppression of Rhizoctonia damping-off in tomato transplants. **Biol. Control.**, 23(3):245-253.

Saharkhiz, M.J. Ashiri, F., Salehi, M.R., Ghaemghami, J., Mohammadi, S.H. 2009. Allelopathic potential of essential oils from *Carum capticum* L.,

Cuminum cyminum L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Zateria multiflora* Boiss., **Med. Aromat. Plant Sci. Biotechnol.**, 3:32-35.

Sakkas, H., Papadopoulou C. 2017. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. **J. Microbiol. Biotechnol.**, 27:429-438.

Salehi, B., Mishra, A.P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contreras, M.D., Segura-Carretero, A., Fathi, H., Nasrabadi, N.N., Kobarfard, F., Sharifi-Rad, J. 2018. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. **Phytotherapy Research**, 32(9):1688-1706.

Sanchez, M.E., Turina, A.V., Danial, A.G., Nolan, M.V., Perillo, M.A. 2004. Surface activity of thymol: implication for an eventual pharmacological activity. **Colloids Surf. B.**, 34:77-86.

Sawamura, M. 2000. Aroma and functional properties of Japaneseyuzu (*Citrus junos* Tanaka) essential oil. **Aroma Res.**, 1(1):14–19.

Seow, Y.X., Yeo, C.R., Chung, H.L., Yuk, H.G. 2014. Plant essential oils as active antimicrobial agents. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, 54(5):625-644.

Serrano, M., Martinez, R.D., Castillo, S., Guillen, F., Valero, D. 2005. The use of the natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage, **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, 6:115-123.

Sharma, N., Tripathi, A. 2006. Fungitoxicity of the essential oil of Citrus sinensis on post-harvest pathogens, **World J. Microbiol. Biotechnol.,** 22: 587-593.

Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M.A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S.M., Hosseini, S.M., Khaksar, R. 2013. Characterization of antioxidant-antimicrobial kappa-carrageenan films containing Satureja hortensis essential oil, **Int. J. Biol. Macromol.**, 52:116-124.

Shukla, R., Singh, P., Prakash, B., Dubey, N.K. 2012. Antifungal, aflatoxin inhibition and antioxidant activity of *Callistemon lanceolatus* (Sm.) sweet essential oil and its major component 1,8-cineole against fungal isolates from chickpea seeds. **Food Control**, 25:27-33.

Simic, A., Sokovic, M.D., Ristic, M., Grujiç-Jovanoviç, S., Vukojeviç, J., Marin P.D. 2004. The chemical composition of some lauraceae essential oils and their antifungal activities. **Phytother. Res.**, 18:713–717.

Singh, D., Sharma, R.R. 2007. Postharvest diseases of fruit and vegetables and their management. In: Prasad, D. (Ed.). sustainable Pest Management, Daya Publishing House, New Delhi, India.

Sokovic, M., Tzakou, O., Pitarokili, D., Couladis, M. 2002. Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. **Nahrung-Food**, 46:317-320.

Soković, M.D., Brkić, D.D., Džamić, S.M., Ristić, M.S., Marin, P.D. 2009. Chemicals composition and antifungal activity of Salvia desoleana Atzei & Picci essential oil and its major components. **Flavour Fragr. J.**, 24:83-87.

Song, J., Hıldebrand, P.D., Fan, L., Forney, C.F., Renderos, W.E., Campbell-Palmer, L., Doucette, C. 2007. Effect of hexanal vapor on the growth of postharvest pathogens and fruit decay. **J. Food Sci.**, 72:4-9.

Sorour, J., Larink, O. 2001. Toxic effects of benomyl on the ultrastructure during spermatogenesis of the earthworms Eisenia fetida, **Exotoxicol. Environ. Saf.**, 50(3):180-188.

Soylu, E.M., Soylu, S., Kurt, Ş. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent Phytophthora infestans. **Mycopathologia**, 161:119-128.

Soylu, E.M., Kurt, Ş., 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*. **Int. J. Food Microbiol.**, 143:183-189.

Szczerbanik, M., Jobling, J., Morrıs, S., Holford, P. 2007. Essential oil vapours control some common postharvest fungal pathogens, **Aust. J. Exp. Agric.**, 47:103-109.

Szentandrassy, N., Szentesi, P., Magyar, J., Nanasi, P.P., Csernoch, L. 2003. Effect of thymol on kinetic properties of ca and K currents in rat skeletal muscle. **BMC Pharmacol.**, 3:9.

Tabanca, N., Demirci, B., Başer, K.H.C., Aytaç, Z., Ekici, M., Khan, S.I., Jacob, M.R., Wedge, D.E. 2006. Chemical composition and antifungal activity of Salvia macrochlamys and Salvia recognita essential oils. **J. Agric. Food Chem.**, 54:6593-6597.

Tagami, O.K., Gasparin, M.D.G., Schwan-Estrada, K.R.F., da Silva Cruz, M.E., Itako, A.T., Júnior, J.B.T., Stangarlin, J.R. 2009. Fungitoxicty of Bidens pilosa, Thymus vulgaris, *Lippia alba* and *Rosmarinus officinalis* in the *In Vitro* Development of Phytophatogens Fungi. Semina: **Ciências Agr.**, 30(2):285-294.

Takikawa, A., Keiko, A., Yamamoto, M., Ishımaru, S., Yasui, M., Okubo, Y., Yokoigawa, K. 2002. Antimicrobial activity of nutmeg against Escherichia coli 0157. **J. Biosci. Bioeng.**, 94(4):315-320.

Tanker, M., Tanker, N. 1998. Farmakognozi, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi yayınları 65 (2), Ankara, 358-363.

Tassaou, C.C., Nycas, J.E., Scandamis P.N. 2004. Herbs and spices, in Handbook of Herbs and Spices, ch 3, Eds. Peter, K. V., Woodhead Publishing Ltd., England.

Teixeira, M.L., Cardoso, M.D.G., Figueiredo, A.C.S., Moraes, J.C., Assis, F.A., De Andrade, J., Nelson, D.L., De Souza Gomes, M., De Souza, J.A., De Albuquerque, L.R.M. 2014. Essential oils from Lippia origanoides Kunth. and Mentha spicata L.: Chemical composition, insecticidal and antioxidant activities, **Am. J. Plant Sci.**, 5 (9).

Toroğlu, S., Dığrak, M., Kocabaş, Y.Z. 2005. Çay Veya Baharat Olarak Tüketilen *Teucrium polium* L, *Thymbra spicata* L. var. spicata, *Ocimum basilicum* L. Ve *Foeniculum vulgare* Millerin Uçucu Yağlarının In vitro Antimikrobiyal Aktivitesi ve Bazı Antibiyotiklerle Etkileşimleri. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 8(2).

Tsao, R., Zhou, T. 2000. Antifungal activity of monoterpenoids against postharvest *Botrytis cinerea* and *Monilia fructicola*. **J. Essent. Oil Res.**, 12(1):113-121.

Turhan, S. 2005. Tarımda Surdurulebilirlik ve Organik Tarım Tarım Ekonomisi.

Turkusay, H., Tosun, N. 2005. Hidrojen Peroksit Uygulamalarının Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalığı (*Clavibacter michiganensis* ssp. *Michiganensis* (Smith) Davis et al)'na Etkileri, **Ege Univ. Ziraat Fak. Derg.**, 42(2):45-56.

Türkölmez, S., Soylu, E.M. 2014. Antifungal Efficacies of Plant Essential Oils and Main Constituents Against Soil-Borne Fungal Disease Agents of Bean. **J. Essent. Oil-Bear. Plants.**, 17(2):203-211.

Tworkoski, T. 2002. Herbicide effects of essential oils. **Weed Sci.**, 50:425-431.

Tyler, V.E. 1992. Phytomedicines: back to the feature. **J. Nat. Prod.**, 62:1587-1592.

Uçan, F. 2008. DL-Limonenin mayalar üzerine antifungal etkisi. Ç.Ü., FenBil. Enst., Biyoteknoloji ABD., Yüksek lisans tezi. Adana. 62 s.

Ultee, A., Bennink, M.H.J., Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus. **Appl. Environ. Microbiol.**, 68(4):1561-1568.

Ulukus, D., Akteke, S.A., Damdere, H., Develiler, O. 1997. Akdeniz bölgesi seralarında sebzelerde zarar yapan Kurşuni küf (*Botrytonia fuckeliana* 'De Bary' Whetzel) hastalığına karsı biyolojik mucadele olanakları üzerinde araştırmalar. A.Z.M.M.A.E. Bitki Koruma Bulteni 37(1-2):21-34.

Unnikrishnan, V., Nath, B.S. 2002. Hazardous chemical in foods. **Indian Journal of Dairy and Biosciences,** 11:155-158.

Üner, Y., Aksu, H., Ergün, Ö. 2000. Baharatın Çeşitli Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Vetfak dergi, 1.

Valero, M., Salmeron, M.C. 2003. Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in tyndallized carrot broth. **Int. J. Food Microbiol.**, 85:73-81.

Valero, D., Valverde, J.M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Castillo, S., Serrano, M. 2006. The combination of modified athmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. **Postharvest Biol. Tech.**, 41:317-327.

Vallejo, I., Carbu, M., Rebordinos, L., Cantoral, J. M. 2003. Virulence of *Botrytis cinerea* strains on two grapevine varieties in South-Western Spain. **Biologia Bratislava**, 58:1067-1074.

Varona, S., Rodriguez Rojo, S., Martin, A., Cocero, M.J., Serra, A.T., Crespo, T., Duarte, C.M. 2013. Antimicrobial activity of lavandin essential oil

formulations against three pathogenic food-borne bacteria**. Ind. Crop. Prod.**, 42:243-250.

Wang, C., Zhang, J., Chen, H**.**, Fan, Y**.,** Shi., Z. 2010**.** Antifungal activity of eugenol against *Botrytis cinerea*. **Trop. Plant Pathol.**, 35(3):137-143.

Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., Van Kan, J.A.L. 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of Grey mould disease. **Mol Plant Pathol.**, 8(5):561-580.

Wilson, C.L., EL Ghaouth, A., Chalutz, E., Droby, S., Stevens, C., Lu, J.L., Khan, V., Arul, J. 1994. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant Dis.**, 78:837-844.

Winkler, A.J., Cook, J.A., Kliewer, W.M., Lider, L.A. 1974. General Viticulture. Univ. Calif. Press, Berkeley, Los Angeles.

Wu, M.D., Zhang, L., Li, G., Jiang, D., Ghabrial, S.A. 2010. Genome characterization of a debilitation-associated mitovirus infecting the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. **Virology**, 406(1):117–126.

Yano, Y., Satomi, M., Oikawa, H. 2006. Antimicrobial effect of spices and herbs on Vibrio parahaemolyticus. **Int. J. Food Microbiol.**, 11:6-11.

Yıldız, F. 1991. *In vitro* investigations on the antagonistic effects of several isolates against *Botrytis cinerea*. **The Journal of Turkish Phytopathology**, 20(1):11-22.

Yüksel, N., Delice, A. 2005. Uyum Çalışmaları Çerçevesinde İyi Tarım Uygulamaları.

Zambonelli, A., D'Aulerio, A.Z., Severi, A., Benvenuti, S., Maggi, L., Bianchi, A. 2004. Chemical Composition and Fungicidal Activity of Commercial Essential Oils of *Thymus vulgaris* L. **J. Essent. Oil Res.**, 16(1):69-74.

Zhang, J., Ma, S., Du, S, Chen, S., Su, H. 2019. Antifungal activity of thymol and carvacrol against postharvest pathogens *Botrytis cinerea*. **J. Food Sci. Technol.**, 56(5): 2611-2620.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Benazir YELBOĞA
Doğum Yeri ve Tarihi :

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Dicle Üniversitesi Ortaöğretim ve Matematik Alanlar Eğitimi Bölümü Biyoloji Öğretmenliği Anabilim Dalından Tezsiz Yüksek Lisans Derecesiyle Mezun Olmuştur (2016).

Yüksek Lisans Öğrenimi: Hakkari Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü.

Yabancı Diller: İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

A) Bildiriler

-