

T.C.  
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR  
ÜNİVERSİTESİ  
2008

**BALIK PATOJENİ OLAN *YERSINIA RUCKERI* ÜZERİNE REZENE  
ESANSİYEL YAĞLARININ ETKİSİNİN IN VITRO ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**İlon Veysiye ERKİL**

**Anabilim Dalı: Su Ürünleri**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Azime KÜÇÜKGÜL**

**TUNCELİ – 2017**

T.C.  
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIK PATOJENİ OLAN *YERSINIA RUCKERI* ÜZERİNE REZENE  
ESANSİYEL YAĞLARININ ETKİSİNİN IN VITRO ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
İlon Veysiye ERKİL  
(Enstitü No: 12876627)

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Azime KÜÇÜKGÜL

TUNCELİ – 2017

**T.C.**  
**MUNZUR ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BALIK PATOJENİ OLAN *YERSINIA RUCKERI* ÜZERİNE REZENE  
ESANSİYEL YAĞLARININ ETKİSİNİN IN VITRO ARAŞTIRILMASI**

**İlon Veysiye ERKİL**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

Bu tez / / 2016 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

**İmza:.....**

**İmza:.....**

**İmza:.....**

Doç. Dr. Azime  
KÜÇÜKGÜL  
(Munzur Üniversitesi)

Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ  
(Munzur Üniversitesi)

Prof. Dr. İbrahim  
CENGİZLER  
(Çukurova Üniversitesi)

**DANIŞMAN**

**ÜYE**

**ÜYE**

Bu tez, Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Numan YILDIRIM  
Enstitü Müdürü  
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

**Proje No: YLTUB016-05**

**NOT:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı "Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu"ndaki hükümlere tabidir

## ÖZET

Katkısız doğal ürünlerin ticari antibiyotiklere karşı alternatif bir tedavi olabileceği düşüncesiyle yapılan bu çalışmada, rezene (*Foeniculum vulgare* Miller) esansiyel yağının Enterik Kızıl Ağız Hastalığının etkeni olan *Yersinia ruckeri*'ye karşı inhibitör etkileri *in vitro* olarak araştırılmıştır. Rezene esansiyel yağının kimyasal bileşenleri GC ve GC-MS analizi ile belirlenmiş ve ana bileşenin trans-anetol (% 67,99) olduğu saptanmıştır. Rezene esansiyel yağının antimikrobiyal etkisi olup olmadığını belirlemek üzere ise disk difüzyon metodu kullanılmış, oluşturdukları inhibisyon zonları ölçülmüştür. Bu amaçla rezene esansiyel yağının iki deneysel konsantrasyonu (5 ve 10 µL) uygulanmış, kontrol grubu olarak ise antibiyotik (Streptomisin ve Tetrasiklin) kullanılmıştır. Rezene esansiyel yağı 5 µL/disk uygulaması ile *Y. ruckeri*'nin inhibisyon zonu 10,52 ± 1,04 mm; 10 µL/disk ile muamale edilen konsantrasyonda ise 13,10±1,67 mm olduğu gözlenmiştir. Streptomisin ve Tetrasiklin ise sırasıyla 21,05±3,23 ve 27,72±2,02 mm zon oluşumuyla güçlü bir antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Denenen iki konsantrasyon kontrol grubu antibiyotiklerle karşılaştırılmış ve daha zayıf bir inhibisyon zonu oluşturdukları anlaşılmıştır. Bu araştırma ile rezene esansiyel yağının *Y. ruckeri*'ye karşı antibakteriyel etkili olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Disk difüzyon metodu, GC-MS analizi, *Foeniculum vulgare*, İnhibisyon zonu, *Yersinia ruckeri*.

## ABSTRACT

### ***In vitro* Investigation the Effect of Fennel Essential Oils on *Yersinia ruckeri* to be Fish Pathogen**

In this study, with thinking it may be an alternative to commercial antibiotics of natural product without additives, inhibitor effects of fennel (*Foeniculum vulgare* Miller) essential oil to *Yersinia ruckeri*, etiologic agent of Enteric Red Mouth Disease, were investigated in vitro. The chemical components of fennel essential oil (*F. vulgare*) were determined by GC and GC-MS analysis and the main component was found to be transanethole (67.99%). The antimicrobial effect of *F. vulgare* was determined by disk diffusion method and inhibition zones were measured. For this purpose, two experimental concentrations of *F. vulgare* (5 and 10  $\mu$ L) were applied and antibiotics (Streptomycin and Tetracycline) as the control group used. In application of 5  $\mu$ L / disc of *F. vulgare*, the inhibition zone of the *Y. ruckeri* was  $10.52 \pm 1.04$  mm; was  $13.10 \pm 1.67$  mm in the concentration treated 10  $\mu$ L / disc. Streptomycin and Tetracycline had strong antibacterial activity with  $21.05 \pm 3.23$  and  $27.72 \pm 2.02$  mm zones, respectively. When compared to control group two concentrations tested, a weaker inhibition zone was observed. The data obtained indicated that *F. vulgare* essential oil had an antibacterial effect to *Y. ruckeri*.

**Key Words:** Disc diffusion method, GC-MS analysis, *Foeniculum vulgare*, Inhibition zone, *Yersinia ruckeri*

## TEŐEKKÖRLER

Bu alıőmada bana yol gösteren bilgi ve tecrbesi ile aydınlatan, yardım ve ilgisini esirgemeyen sayın danışman hocam Doç. Dr. Azime KÜÇÜKGÜL'e, laboratuvar çalıőmalarımnda tüm olanakları ile destek veren Munzur Üniversitesi Su rnleri Fakültesi ve Bilimsel Araştırma Projeler Birimi (MUNİBAP)'a, herdaim yanımda olan aileme teőekkür ederim.

**İlon Veysiye ERKİL**  
**TUNCELİ – 2017**

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

<b>ÖZET</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>TEŞEKKÜRLER</b> .....	<b>VI</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>VII</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>VIII</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>IX</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>9</b>
2.1. Materyal.....	9
2.1.1. Bakteri ( <i>Yersinia ruckeri</i> ATCC cat no: 29473).....	9
2.1.2. Bitki Esansiyel Yağı Rezene ( <i>Foeniculum vulgare</i> Miller) .....	10
2.2. Yöntem .....	10
2.2.1. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizi .....	10
2.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Analizi (Disk Difüzyon Yöntemi) .....	11
<b>3. BULGULAR</b> .....	<b>13</b>
3.1. GC ve GC-MS Analiz Sonuçları.....	13
3.2. Disk Difüzyon Değerleri .....	14
<b>4. TARTIŞMA</b> .....	<b>17</b>
<b>5. ÖNERİLER</b> .....	<b>20</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>21</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>28</b>

## ŞEKİLLER LİSTESİ

**Sayfa No**

Şekil 3.1. Rezene esansiyel yağının kromatogramı .....13



## TABLÖLAR LİSTESİ

### Sayfa No

Tablo 1.1. Esansiyel yağ elde edilmesinde kullanılan yöntemler .....	3
Tablo 1.2. Antimikrobiyel aktivitede rol oynayan bitki komponentlerinin ana grupları .....	5
Tablo 1.3. Rezenenin farklı kısımların kimyasal bileşimi .....	7
Tablo 3.1. Rezene ( <i>Foeniculum vulgare</i> Miller) esansiyel yağının kimyasal kompozisyonu .....	14
Tablo 3.2. <i>Foeniculum vulgare</i> esansiyel yağının (5 ve 10 µL) inhibisyon zon değerleri .....	15



## RESİMLER LİSTESİ

### Sayfa No

Resim 2.1. <i>Yersinia ruckeri</i> (ATCC 29473, orijinal).....	9
Resim 2.2. Deneysel ortam (orijinal) .....	10
Resim 2.3. Disk difüzyon metodu çalışması (orijinal).....	12
Resim 3.1. <i>Foeniculum vulgare</i> esansiyel yağının (5 ve 10 µL) antibakteriyel etkinliği (orijinal)..	14
Resim 3.2. Streptomisin ve Tetrasiklin'nin antibakteriyel etkinliği (orijinal) .....	15



## 1. GİRİŞ

Su ürünleri işletmelerinin en önemli problemlerinin başında enfeksiyöz hastalıklar ve bu hastalıklara bağlı olarak oluşan ölümler sonucunda ortaya çıkan ekonomik kayıplar yer almaktadır. Bu kayıplar neredeyse toplam üretimin % 10'nu oluşturmaktadır.

Yoğun yetiştiricilikte üretim artışıyla aynı seyreden hastalık problemleri çokça yaşanmaktadır. Yoğun stok, balık hastalıklarının (özellikle bakteriyel) sıklıkla ortaya çıkmasına sebep olmakta ve iyileştirilmediği takdirde balık ölümleri ve yavaş büyüme sebebiyle ekonomik olarak ciddi kayıplara sebep olabilmektedir. Bu sebeple yetiştiricilik sistemlerinde balık hastalıklarına karşı etkili tedavi metotlarının iyi tanımlanması gerekmektedir (Noga, 2000; Arda ve ark., 2002).

Hastalık, canlılarda iç ve dış etkenlerden meydana gelen zararlar sonucunda, normal fonksiyonların azalması, kaybolması veya canlının bu zarar sonucu ölmesi demektir. Hastalığın oluşumunda çevre, etken ve balığın savunma mekanizması önemli olmaktadır (Sarıeyyüpoğlu, 1996).

Enfeksiyöz hastalıklar, tedavilerinin güç ve pahalı olması nedeniyle intensif balık yetiştiriciliğinde büyük ekonomik sorunlar yaratabilmekte ve işletme ekonomisinin olumsuz yönde etkilenmesine yol açmaktadır. Bu nedenle balık hastalıklarının erken teşhisi, etkili tedavisi ve gerekli kontrol önlemlerinin alınması, kültür balığı yetiştiriciliğinde büyük önem taşımaktadır (Alpbaz, 1995; Rad, 1999; Arda ve ark., 2002; Tanrıkul ve ark., 2004).

Günümüzde hastalık insidensi çok yüksek olan *Yersinia ruckeri*, Ülkemizde dâhil olmak üzere son yıllarda dünyanın birçok ülkesinde balık populasyonlarını enfekte eden oportunist (fırsatçı) bir patojendir. Etken, balıklarda, olumsuz çevre koşullarında hastalığa neden olmakta ve Yersiniozis veya Enterik Kızılığız Hastalığı'nı oluşturmaktadır (Rucker, 1966). Yersiniozis, alabalık yetiştiricilik ünitelerinde yavru aşamasında ciddi kayıplara sebep olan ve septisemi ile seyreden bakteriyel kökenli bir hastalıktır. *Y. ruckeri*, balıklarda lezyon (özellikle deri), ülser, kanamalar ve doku yıkımları, ayrıca karaciğer ve böbrekte nekrotik odaklar ile karakterize edilen hemorajik septisemi hastalığına sebep olmaktadır (Austin ve ark., 1985; Timur ve Timur, 1991). *Y. ruckeri* suşları serolojik özellikleri dikkate alındığında farklılıklar gösterse de biyokimyasal açıdan benzerlikler söz konusudur *Y. ruckeri*'nin en bilinen ve en şiddetli tipi serotip 1 (Hagerman suşu) olarak bildirilmiştir

(Ross ve ark., 1966; Austin ve Austin, 1999). *Y. ruckeri* suşları TSA besi yerine 22°C'de 48 saat inkübasyon sonunda 1-2 mm çapında, yuvarlak, kenarları düz görünümde, beyazdan krem rengine kadar değişen renklerde, yarı şeffaf koloniler oluşturmaktadır (Busch, 1982).

Ülkemiz doğal su kaynaklarında ve yetiştiricilik ünitelerinde olduğu gibi yöremiz sucul habitatında hâkim tür olan gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) yapılan mikrobiyolojik çalışmalarda *Y. ruckeri* enfeksiyonunun oldukça yoğun insidense sahip olduğu gösterilmiştir (İspir ve ark., 2004; Kılıç ve ark., 2007). İlk kez 1950'li yılları takiben Amerika'nın Idaho Eyaletinin Hagerman Vadi'sinde ortaya çıkan bu hastalık, günümüzde Avrupa, Güney Amerika, Batı Afrika ve Avustralya kıtalarında çeşitli bölgeleri kapsayan ülkelerde dağılım sergilemektedir (Bullock ve ark., 1978; Alvarez ve ark., 1992). *Y. ruckeri* ülkemizde ise 1991 yılında ilk olarak Denizli Bölgesinde bir gökkuşağı alabalığı yetiştiricilik ünitesinden identifiye edilmiştir (Timur ve Timur, 1991). Bu tarihten günümüze kadar hızla diğer alabalık işletmelerine yayılan yersiniozis, ülkemizde ciddi bir problem haline gelmiştir.

Sucul canlıların birçok patojenden arı kalması, büyümeye katkı sağlaması ve temin edilen ürünün arttırılması dolayısıyla epey zamandır antibiyotikler kurtarıcı rol üstlenmişlerdir. Ancak patojenlere karşı hayvanlarda direnç gelişimi riskinin arttırması (Cabello, 2006; Moffitt ve Mobin, 2006; Benchaar ve ark., 2008; Navarrete ve ark., 2008) nedeniyle, gıda güvenliği açısından, başta AB ülkeleri olmak üzere Türkiye'de de antibiyotiklerin balıklarda büyüme performansını arttırıcı olarak yemlere ilavesi yasaklanmıştır (Anonim, 2007). Bu durum antibiyotiklere alternatif yeni yem katkı maddelerinin geliştirilmesine yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Araştırmacılar, özellikle doğal kaynaklı bitkilerin (kekik türleri gibi) yapısındaki ekstraktlar olan esansiyel yağlara (timol, trans-anetol, euganol gibi) odaklanmışlardır (Sartoratta ve ark. 2004).

İnsanlığın başlangıcından bu yana hayatın vazgeçilmez unsurlarından birisi bitkilerdir. Tıbbi amaçlarla birçok hastalığın iyileştirilmesinde ve tedavisinde doğal bitkisel ürünler kullanılmıştır. Günümüzde ise ayrıca yetiştiricilik sistemlerinde verim attırmadan sorumlu ve yem katkı maddeleri gibi birçok alanda da yararlanılmaktadır. Bununla birlikte bu ürünlerin (özellikle esansiyel yağ formları) bakteri, mantar, protozoa gibi birçok mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etkili olduğu ifade edilmektedir (Dean ve Ritchie, 1987; Chao ve Young, 2000; Çetin ve Yıldız, 2004).

Bitkilerin çeşitli kısımlarından (yaprak, çiçek, tohum ve kök vb.) elde edilen esansiyel yağlar oda sıcaklığında çoğunlukla sıvı halde ve hızlıca kristalize olabilen genellikle renk içermeyen veya açık sarı olabilen bileşimlerdir. Aynı zamanda temin edildiği bitkiye has karakteristik etkiler gösterip birçok kimyasal komponente sahip ve uçucu özellikli ve kokuludur (Sivropoulou ve ark., 1996). Uçucu yağ bileşiminde bulunan birçok komponent ekseriye terpenoidler (isoprenoidler) ve sıklıkla monoterenler ve sesquiterpenlerdir. Bunun yanında diterpenleri, molekül ağırlığı düşük olan alifatik hidrokarbonları, asitleri, alkoller, aldehytleri, asiklik esterleri veya laktonları, istisna olarak azot ve sülfür içeren bileşikler, kumarinleri ve fenilpropanoidlerin homologlarını da kapsarlar (Dorman ve Deans, 2000; Grassmann ve Elstner, 2003). Esansiyel yağların elde etme yöntemleri ise damıtma, ekstraksiyon ve mekanik olarak bilinmektedir (Tablo 1.1) (Sankarikutty ve Narayanan, 1993; Kılıç, 2008).

**Tablo 1.1.** Esansiyel yağ elde edilmesinde kullanılan yöntemler (Sankarikutty ve ark., 1993; Kılıç, 2008)

<p><b>1. Damıtma metodu:</b> Kaynama dereceleri ayrımlarından faydalanılarak yapılan ayırma olayıdır.</p>	a. Suyla damıtma
	b. Buharla damıtma
	c. Vakumla damıtma
<p><b>2. Ekstraksiyon metodu:</b> Çözücü içinde uçucu yağın ekstraksiyonudur.</p>	a. Çözücü ekstraksiyon
	b. Süper kritik sıvı ekstraksiyonu
	c. Mikrodalgayla ekstraksiyon
	d. Sıkıştırılmış çözücü
	e. Katı-faz mikro ekstraksiyon
	f. Çok yönlü ekstraksiyon
<p><b>3. Mekanik metot:</b> Bazı meyvelerin (limon, portakal vb.) kabuk kısımlarının bez torba içersine koyarak ve hidrolik soğuk presleme yapılarak uçucu yağ elde etme yöntemidir.</p>	

Esansiyel yağlar ya da uçucu yağlar antibiyotiklere alternatif olabilme kabiliyeti dolayısıyla antimikrobiyel etki göstermektedirler. Birçok araştırmacı tarafından bu konu uzun yıllardır üzerinde durulan önemli bir çalışma alanı olmuştur. Esansiyel yağların

antimikrobiyal etkisi aromatik ve fenolik vb. bileşiklerinden kaynaklanmaktadır (Tablo 1.2). En fazla sitoplazma zarında görülen bu antimikrobiyel etki, yapı ve fonksiyon değişikliğine ve özellikle sitoplazma zarının seçici geçirgenliğinin kaybı ile hücre ölümüne neden olmaktadır. Ayrıca mikrobiyel metabolizmanın enzimatik reaksiyonlarını durdurmakta, ortamdaki besin maddelerinin alımını engellemekte hatta çekirdek ve ribozomal seviyede enzim sentezini durdurabilmektedir (Çelik ve Çelik, 2007). Costa ve ark. (2008), tarçın (*Croton zehntneri*) yapraklarından elde ettikleri esansiyel yağın *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus* türlerin üzerinde antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. *Croton zehntneri*'nin 25  $\mu$ g/mL minimum inhibitör konsantrasyonun tüm bakterilere karşı etkin olduğunu, en yüksek ise *S. flexneri* üzerinde antibakteriyel etki gösterdikleirini bildirmişlerdir.

**Tablo 1.2.** Antimikrobiyel aktivitede rol oynayan bitki komponentlerinin ana grupları (Cowan, 1999)

<b>Sınıf</b>	<b>Altsınıf</b>	<b>Örnekler</b>	<b>Mekanizma</b>
<b>Fenolikler</b>	Basit fenoller	Katekol	Subtrat kaybı
		Epikateşin	Membran bozulması
	Fenolik asit	Sinamik asit	?
	Kinonlar	Hiperisin	Adezyonu kolaylaştırma Hücre duvarına karışma Enzim inaktivasyonu
	Flavanoid	Krizin	Adezyonu kolaylaştırma
	Flavon	-	Hücre duvarına karışma
		Abisinon	Enzim inaktivasyonu HIV rezerve transkriptaz inhibisyonu
	Flavanol	Totarol	?
	Tanenler	Elajitanen	Protein bağlama Adezyonu kolaylaştırma Enzim inhibisyonu Subtrat kaybı Hücre duvarına karışma Membran bozulması Metal-iyon kompleksini oluşturma
	Kumarin	Varfarin	Hücre duvarı ve/veya DNA ile etkileşim
<b>Terpenoitler, Esansiyel Yağlar</b>	-	Kapsaisin	Membran bozulması
<b>Alkaloidler</b>	-	Berberin	Hücre duvarı ve/veya DNA ile etkileşim
		Piperin	
<b>Lektinve Polipeptit</b>	-	Mannoz-spesifik aglütinin	Viral fizyon (erime) yada adsorbsiyonun (tutunma) blokesi
		Falksatin	Disülfid (2 S) köprü oluşturma
<b>Poliasetilen</b>	-	8s-heptadeka-2(Z), 9(Z)-dien-4,6-din-1,8-diol	?

Önemli bir baharat ve ilaç bitkisi olan rezene birçok araştırmacı için önemli bir çalışma bitkisi olmuş ve çokca araştırılmıştır. Apiaceae familyasından olan rezene (*Foeniculum vulgare* Miller) Rezene ülkemizin Kuzey Anadolu bölgesinde (Ordu ve Trabzon) yabani olarak bulunur (Zeybek, 1960). Türkiye de en çok Akdeniz ve Ege

bölgesinde yetiştiriciliği yapılp, diğer bazı ülkelerde ise (Mısır, Çin, Hindistan, İtalya, Almanya, Bulgaristan ve Romanya) kültürü yapılmaktadır (Davis, 1978; Baytop, 1999). Rezene halk arasında “Arapsaçı, İrziyan, Mayana, Raziyan ve Tatlı Rezene” olarak bilinen iki metre boyu olabilen iki yıllık kokulu bir bitki türüdür. Rezene eskiden beri halk hekimliğinde de kullanılmakta ve birçok rahatsızlık (dispeptik rahatsızlıklar, öksürük ve bronşitte, midevi, gaz söktürücü ve süt artırıcı vb.) için alternatif olduğu bilinmektedir (Baytop, 1999; Gruenwald ve ark., 2004).

Rezene acı (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*) ve tatlı rezene (*Foeniculum vulgare* var. *dulce*) olmak üzere iki kısımda ele alınmıştır. Acı rezene meyvelerinin uçucu yağ bileşenlerinden en fazla transanetol (% 50-75), fenkon (% 12-33) ve estragol (% 2-5), tatlı rezene uçucu yağ bileşenlerinde ise trans-anetol (% 80-90), fenkon (% 1-10) ve estragol (% 3-10) bulunmaktadır (Gruenwald ve ark., 2004). Türkiye de tatlı rezenenin tohumları ile ilgili yapılmış bir başka çalışmada; uçucu yağ ana bileşenlerinin bitkinin olgunlaşma seviyesi-hasat süresine göre değişkenlik içerdiği belirtilmiştir. Ana bileşen olan transanetol % 81,63-87,85 arasında değişmiştir. Diğer önemli bileşenler ise estragol (% 4,19-5,53), limonen (% 2,96-4,69), fenkon (% 1,17-2,65) ve trans-osimen (% 0,83-1,49) olarak belirlenmiştir (Telci ve ark., 2009). Yüksek transanethol içermesi sebebiyle tatlı rezene uçucu yağı daha kaliteli kabul edilir (Baydar, 2007). Uçucu yağın ana bileşeni trans-anetol’un östrojenik, lokal anestezi, anti-tümör ve anti-genotoksik etkilerinin bulunduğu görülmektedir (ESCOP, 2003).

Rezeneden birçok formda yararlanılmaktadır. En önemli yararlanma formlarından birisi tohumlarıdır. Tohumlarından çeşitli metotlarla temin edilen uçucu yağ bileşenleri gıda sanayi ve eczacılıkta, parfümeri ve kozmetik gibi çeşitli alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır.

Son zamanlarda birçok durumda sıklıkla tüketilen bitkisel çayların bileşimlerinde de rezene tohumlarından faydalanılmaktadır (Baranska ve ark., 2004). Barros ve ark. (2010), tarafından yapılan bir çalışmada rezenenin değişik kısımlarından (sürgün, yaprak, sap ve çiçek) kimyasal bileşimini incelenmiş en az su içeren kısmın çiçek (% 71,31), en fazla sulu bölgenin sap (% 77,46) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1.3).

**Tablo 1.3.** Rezenenin farklı kısımların kimyasal bileşimi % (Barros ve ark., 2010)

Rezene	Sürgün	Yaprak	Sap	Çiçek
<b>Nem</b>	73,88	76,36	77,46	71,31
<b>Kül</b>	2,39	3,43	1,62	3,23
<b>Yağ</b>	0,49	0,61	0,45	1,28
<b>Protein</b>	1,33	1,16	1,08	1,37

Birçok çalışmada büyümede hızlandırıcı, sindirimde uyarıcı, antimikrobiyel etkili özelliklere sahip olan esansiyel yağlar antibiyotiklerin kullanımını sınırlandırabilecek kapsamda olması sebebiyle alternatif olabilmektedir. Bununla birlikte içeriğinde bulunan birçok komponentin sinerjistik ve/veya antagonistik etkisinin tam bilinmemesi gibi durumlardan dolayı tedavi edici, antimikrobiyel ve antioksidan özellikleri üzerine daha çok çalışılması gerekmektedir (Mcintosh ve ark., 2003).

Uzun yıllardır rezene analjezik, antioksidan, anti-spasmodik, anti-inflamator, diüretik olarak kullanılmaktadır (Oktay ve ark., 2003; Mimica-Dukic ve ark., 2003). Son zamanlarda ise rezene bitkisinin çeşitli kısımlarından elde edilen ekstrat ve esansiyel yağının antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır (Ozcan ve ark., 2006; Mata ve ark., 2007). Gulfraz ve ark. (2008), *Bacillus cereus*, *Bacillus magaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus substilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Micrococcus lutus*, *Pseudomonas pupida*, *Pseudomonas syringae*, *Candida albicans* karşı rezene esansiyel yağının antibakteriyel etkilerini inceledikleri çalışmalarında tüm bakteriler üzerine etki gösterdiklerini saptamışlardır. Rezene uçucu yağ komponentleri ve antibakteriyel aktivitesi üzerine yapılan bir diğer çalışmada, Çin'deki Sichuan'dan elde edilen rezene tohumlarından yararlanılmıştır. Rezene tohumlarının uçucu yağ verimi %1,74 (hacim/kütle) olduğu bildirilmiş, majör bileşen olarak ise % 68,13 oranında trans-anetol belirlenmiştir. Bunu % 10,42 ile estragol, % 6,24 ile limonen ve % 5,45 ile fenkon izlemiştir (Diano ve ark., 2013).

Esansiyel yağların antimikrobiyel aktivitesini belirlemek için en sık kullanılan disk difüzyon yöntemidir. Agar difüzyon ve broth dilüsyon teknikleri diğer kullanılan yöntemler olup birçok araştırmacı tarafından araştırmalarda kullanılmıştır (İşcan ve ark., 2002; Oussalah ve ark., 2006; Çelik ve Çelik, 2007).

Disk diffüzyon yöntemi agar besi yeri üzerine uygun dilüsyonda mikroorganizma kültüründen ekim yapılması ile agarın bakteri solüsyonunu emmesi ve takibinde esansiyel yağ emdirilmiş steril diskler yerleştirilmesi esasına dayanmaktadır. Yeterli süre ve sıcaklıkta inkübasyon süresi sonunda inhibisyon zonlarının ölçümü ile antibakteriyel aktivite belirlenmektedir (Adıgüzel ve ark., 2005; Benli ve Yiğit, 2005).

Tepe ve ark. (2005), modifiye ederek tanımladıkları agar disk difüzyon metodu ile esansiyel yağların antibakteriyel kapasitesini belirlemişlerdir. Test edilecek mikroorganizmaların uygun süspansiyonlarını katı besi yeri üzerine yayma yöntemi kullanımı ile ekimi gerçekleştirmişler, steril filtre kağıt diskleri inoküle ettikleri petriler üzerine emdirmişlerdir. İnkübasyon süresi sonunda inhibisyon zon çaplarını milimetrik ölçmüşlerdir.

Bu araştırmada, tıbbi özellikleri bilinen rezene esansiyel yağın, içerdiği bileşenlerin oranları GC-MS analiziyle tespit edilerek, ülkemiz ve yöremiz balık yetiştiricilik tesislerinde önemli risk faktörü oluşturan *Yersinia ruckeri* enfeksiyonuna antibakteriyel etkileri agar difüzyon metodu kullanarak antibiyotiklere alternatif olarak doğal kaynaklı rezene (*Foeniculum vulgare* Miller) esansiyel yağının *in vitro* etkileri saptanmıştır.

## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Bakteri (*Yersinia ruckeri* ATCC cat no: 29473)

Çalışmamızda, ATCC 29473 katalog no'lu gökkuşuğu balığından izole edilen *Yersinia ruckeri* suşu kullanıldı. Bakteri suşu Pendik Veteriner Araştırma Entitüsü'nden temin edildi (İstanbul, Türkiye). *Y. ruckeri* triptik soy agar besiyerinde inoküle edildi ve 22 °C'de 24 saat inkübe edildi (Resim 2.1). Elde edilen saf kültürden 1 ml' lik fizyolojik tuzlu su (FTS) içeren tüplerde 0.5 Mcfarland bulanıklığına karşılı gelen (UV spektrofotometre ile OD600nm=0.132 absorbans)  $1.5 \times 10^8$  cfu/ml konsantrasyonunda bakteri süspansiyonu hazırlandı (Mcfarland, 1907) (Resim 2.2).



**Resim 2.1.** *Yersinia ruckeri* (ATCC 29473, orijinal)



**Resim 2.2.** Deneysel ortam (orijinal)

### **2.1.2. Bitki Esansiyel Yağı Rezene (*Foeniculum vulgare* Miller)**

Çalışmada kullanılan rezene esansiyel yağı yerel bir işletmeden temin edildi (Kırkambar/Elazığ).

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizi**

Rezene esansiyel yağının kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla ekstraksiyonu yapıldı. Ekstraksiyon işlemi gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) analiziyle Tubitak Marmara Araştırma Merkezi (İstanbul, Türkiye) laboratuvarının desteği ile sağlandı. Gaz kromatografisi analizleri Thermon-600 T (30mx0,25 mmx 0.25 µm film kalınlığı) ekipmanı yardımıyla Shimadzu GC-9A kromatografisi kullanılarak belirlendi (Bagamboula ve ark., 2004). 5 farklı konsantrasyondaki kalibrasyon çözeltileri gaz kromatografisine 3 tekerrürlü enjekte edilmiş ve elde edilen piklerin alanları temel

alınarak her bir bileşik için cevap faktörü hesaplanmıştır. Rezene esansiyel yağının miktarı cevap faktörü ile tayin edilmiştir (Anon, 2002).

$$RF = \frac{\text{Standardın Pik Alanı}}{\text{Bileşiğin Pik alanı}} \times \frac{\text{Bileşiğin Konsantrasyonu}}{\text{İç Standardın Konsantrasyonu}}$$

### 2.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Analizi (Disk Difüzyon Yöntemi)

Antimikrobiyal aktivite analizinin temelini esansiyel yağ içeren ve inokülasyon sahasına etki eden rezervuarın (örneğin filtre kağıdı) çevresinde, inkübasyon süresinin bitiminde gözlenen zon çapının belirlenmesine dayanmaktadır (Janseen ve ark., 1987). Bu çalışmada yayma ekim yöntemi ve Triptic Soy Agar besiyeri kullanılmıştır.

*Yersinia ruckeri* 0.5 McFarland'a eşit türbidite oluşana kadar Triptik soy broth (TSB) buyyona aşılınmış ve inkübasyon periyoduna (22 °C, 24 saat) tabi tutulmuştur. Sonrasında uygun bakteri süspansiyonundan 0,1 ml alınarak 9 cm çapındaki steril petri kaplarındaki triptic soy agara yayma ekim yapılmıştır. 5 ve 10 µl esansiyel yağ emdirilmiş steril diskler disk dağıtıcısı kullanılarak bu petri plaklara yerleştirilmiştir. Deneysel çalışma sonrası tüm petriler +4 °C de 2 saat bekletilerek inkübe (22 °C'de 24 saat) edilmişlerdir. İnkübasyon işleminin ardından inhibisyon elektronik dijital kaliper yardımıyla zon çapları ölçüldü. Pozitif kontrol olarak Streptomisin 10 mcg ve Tetrasiklin 30 mcg kullanılmıştır. Tüm testler (*Y. ruckeri*'ye karşı yapılan antimikrobiyal aktivite) 3 tekrarlı olacak şekilde yapıldı (Resim 2.3). Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde mm cinsinden verilmiştir (NCCLS, 1993).



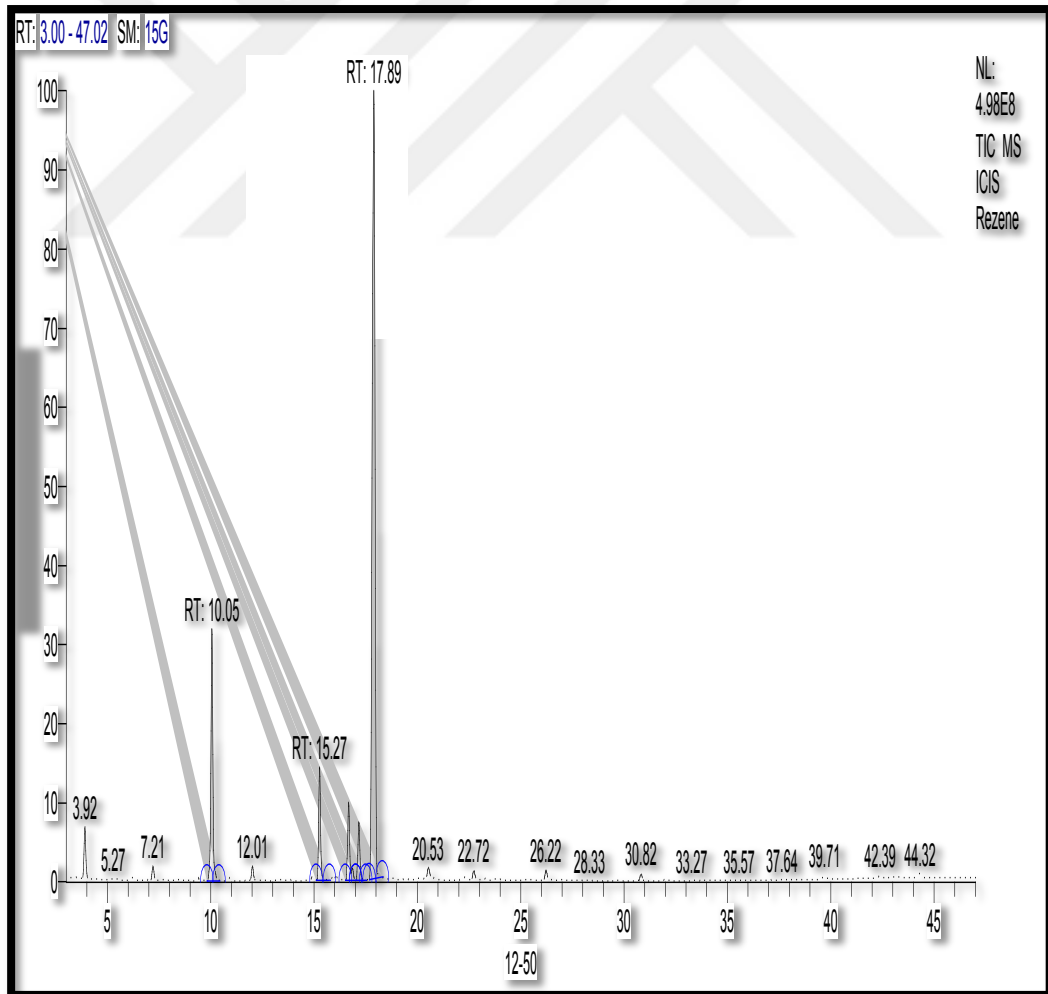
**Resim 2.3.** Disk difüzyon metodu çalışması (orijinal)

### 3. BULGULAR

Çalışmada *Yersinia ruckeri* (ATCC 29473)'nin rezene esansiyel yağına karşı antibakteriyel etkinliği disk difüzyon yöntemi temel alınarak belirlenmiştir.

#### 3.1. GC ve GC-MS Analiz Sonuçları

Rezene esansiyel yağının kimyasal komponentleri GC-MS analiziyle saptandı. GC ve GC/MS analizlerine göre rezene esansiyel yağının ana bileşeninin trans-anetol (% 67,99) olduğu ve toplamda ise 5 bileşen varlığı saptanmıştır (Şekil 3.1) (Tablo 3.1).



Şekil 3.1. Rezene esansiyel yağının kromatogramı

**Tablo 3.1.** Rezene (*Foeniculum vulgare* Miller) esansiyel yağının kimyasal kompozisyonu

Numara	Komponentler	Cevap Faktörü (RT)	Pik Alan	Konsantrasyon (%)
1	Fenchone	10,05	1113831854	16,03
2	Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl) - (CAS)	15,27	484400216	6,97
3	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S)-	16,67	372032722	5,35
4	dl-Limonene	17,16	254578110	3,66
5	Trans-anethole	17,89	4725541671	67,99

### 3.2. Disk Döfüzyon Değerleri

Deneysel konsantrasyon olarak belirlenen 5 ve 10 µL rezene esansiyel yağının etraflarında oluşturdukları zon çapları ile *Yersinia ruckeri*'ye karşı etkili oldukları saptanmıştır (Resim 3.1). Kontrol grubu antibiyotikler (Streptomisin ve Tetrasiklin) rezene esansiyel yağı ile karşılaştırılmış ve daha falza zon çapına sahip oldukları gözlenmiştir (Resim 3.2).



**Resim 3.1.** *Foeniculum vulgare* esansiyel yağının (5 ve 10 µL) antibakteriyel etkinliği (orijinal)



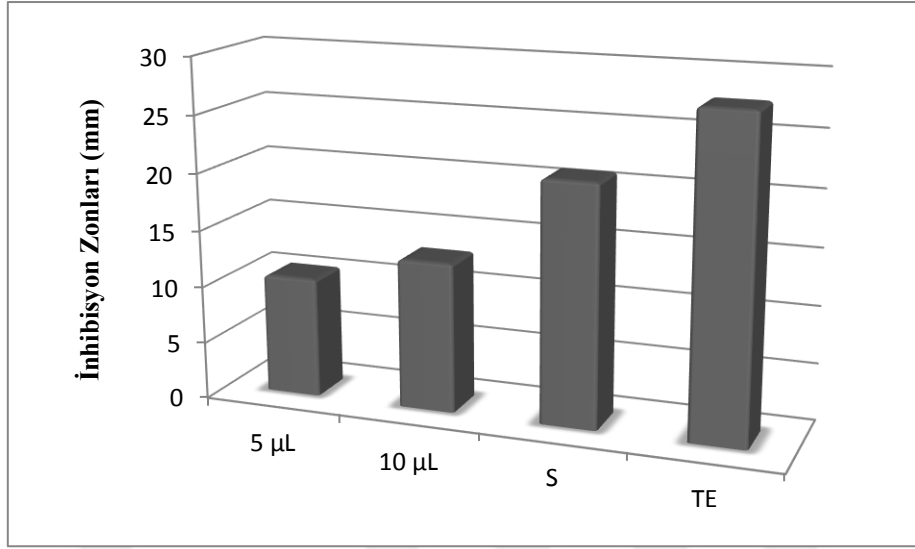
**Resim 3.2.** Streptomisin ve Tetrasiklin'in antibakteriyel etkinliği (orijinal)

Rezene esansiyel yağı 5  $\mu$ L/disk uygulaması ile *Y. ruckeri*'nin inhibisyon zonu  $10,52 \pm 1,04$  mm olarak ölçölmüş; 10  $\mu$ L/disk ile muamale edilen konsantrasyonda ise  $13,10 \pm 1,67$  mm değerini göstermiştir. Kontrol olarak kullanılan Streptomisin ve Tetrasiklin'in sırasıyla  $21,05 \pm 3,23$  ve  $27,72 \pm 2,02$  mm zon oluşumuyla güçlü bir antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Tablo 3.2).

**Tablo 3.2.** *Foeniculum vulgare* esansiyel yağının (5 ve 10  $\mu$ L) inhibisyon zon değerleri

Bitki Adı	İnhibisyon zonları (mm)		Kontrol	
	5 $\mu$ l	10 $\mu$ l	Streptomisin mcg	Tetrasiklin mcg
Rezene ( <i>F. vulgare</i> )	$10,52 \pm 1,04$	$13,10 \pm 1,67$	$21,05 \pm 3,23$	$27,72 \pm 2,02$

*F. vulgare*'nin etkinliği 5  $\mu$ L ve 10  $\mu$ L konsantrasyon için sırasıyla  $10,52 \pm 1,04$  ve  $13,10 \pm 1,67$  mm olarak belirlenmiş, konsantrasyon arttıkça antibakteriyel aktiviteninde arttığı incelenmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *Foeniculum vulgare*' nin İnhibisyon zonları (mm) [(S:Streptomisin; TE:Tetrasiklin)]

#### 4. TARTIŞMA

Günümüzde de balık hastalıklarında büyük sorunlardan birisi olan bakteriyel patojenler geniş bir spektruma sahiptir. Ülkemizde olduğu gibi, yöremizde de yetiştiricilik ünitelerinde büyük sorun oluşturan bakteriyel patojenlerden en önemlisi olanlarından birisi *Yersinia ruckeri*'dir. Bağırsağın opak, sarı, mukoid yâda sulu bir materyal ile dolması, intestinal yapının sarkık olması, internal organlarda peteşiyal ve subkutan hemorajilerin görülmesi gibi semptomlarla ve özellikle ağız ve boğaz kızarıklıkları ile karakterize bir hastalık olarak enterik kızılâğız hastalığı (ERM)'nin etkeni *Y. ruckeri*'dir (Austin ve Austin, 2007). Yapılan bir çalışmada, ülkemizde değişik alanlarda yetiştiriciliği yapılan alabalık işletmelerinden (19 adet) *Y. ruckeri* suşu identifiye edilmiş fenotipik ve serotipik karakteristikleri araştırılmıştır. Söz konusu araştırmada karşılaştırma 2 referans suşla (serotip 1 ve serotip 2) yapılmıştır (Altun ve ark., 2010).

Balık yetiştiriciliğinde balık hastalık salgınlarını kontrol altında tutmak ve önlemek için çeşitli kimyasallar ve antibiyotiklere alternatif olarak bitki özleri ve bitkisel esansiyel yağların kullanımı birçok araştırmacının da dikkatinin bu konu üzerinde odaklanmasına neden olmuştur (Harikrishnan ve ark., 2010a, 2010b) ve akuatik hayvanlar için bitkisel yağların kullanımı ile ilgili araştırmalar gün geçtikçe artarak devam etmektedir.

Halk dilinde arapsaçı olarak bilinen rezene Apiaceae familyasına dâhildir. Akdeniz ve Yakın Doğu'dan köken alan rezene ülkemizde de Trabzon yöresinde yabancı olarak bulunmaktadır. Güney bölgeleri ve Batı Anadolu'da ise yetiştiriciliği yapılmaktadır (Özbek, 2006). Önemli bir baharat bitkisi olup eskiden beri halk hekimliğinde de rezeneden faydalanılmaktadır. Konu ile ilgili yapılmış çalışmalar göstermiştir ki rezene birçok yönüyle etkili kullanım alanlarına sahiptir. Son yıllarda bilim insanları rezene bitkisinin meyvelerinden elde edilen esansiyel yağ bileşenlerinde majör rol oynayan trans-anetol'ün östrojenik, gaz söktürücü, antimikrobiyal etkileri olduğunu vurgulamışlardır (Baydar, 2007; Gruenwald ve ark., 2004).

Kan ve ark. (2006), yaptıkları bir çalışmada rezene bitkisinin uçucu yağ bakımından zengin bir bitki olduğunu ve ana bileşenlerinin trans-anetol (% 60.6-87.0), anisaldehit (% 6.1-21.3), estragol (% 3.2-11.7), fenkon (% 0.7-3.2), limonen (% 0.3-2.5), karvon (% 0.3-1.0) ve cis-anetol % (0.2-0.9)'den oluştuğunu bildirmişlerdir. Telci ve ark. (2009), Türkiye'de rezene esansiyel yağında majör bileşen olarak trans-anethole saptamış,

bunu ise sırayla metil-kavikol, limonen ve fenkon izlemiştir. Bir diğer çalışmada Hırvatistanda yetiştirilen rezene esansiyel yağının kimyasal kompozisyonu çalışılmıştır. Ana komponent olarak trans-anetol (% 77,6) kayıtlara geçmiştir (Polliteo ve ark., 2006). Major bileşenin trans-anetol olarak bildirdiği bir diğer çalışmada Cerpa Chevez (2007), fenkon, fenchone,  $\alpha$ -pinene, methyl-chavicol,  $\alpha$ -phellandrene ve d-limoneni rezene esansiyel yağının diğer kimyasal bileşenleri olarak rapor etmişlerdir. Napoli ve ark. (2010), ise Sicilyadan temin ettikleri rezene esansiyel yağının kimyasal komponentlerinde trans-anetol saptamışlar fakat limoneni (% 34) majör bileşen olarak bildirmişlerdir. Yapılan bir çalışmada Dadalioglu ve ark. (2004), yayla kekiği (*Origanum minutiflorum*), akdeniz defnesi (*Laurus nobilis*), karabaşotu (*Lavandula stoechas* L.) ve rezene (*Foeniculum vulgare*) uçucu yağlarını buhar destilasyonu yöntemi ile elde etmişler ve elde ettikleri uçucu yağları GC-MS analizine ve antibakteriyel aktivite testine tabi tutmuşlardır. GC-MS analizi sonuçlarına göre sırasıyla yayla kekiği, akdeniz defnesi, karabaşotu ve rezenenin majör bileşenlerini carvacrol (%68,23), 1,8- Cineole (%60,72), fenchone (%55,79) ve trans-anethole (%85,63) olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmada rezene esansiyel yağının trans-anethol (% 67.99) ve fenchone (% 16.03) ile ortaya çıktığı görülmüştür. Ana bileşen olarak trans-anethol (% 67.99) bulgumuz diğer çalışmalarla benzerlik göstereceği diğer bileşenler farklılıklar arz etmektedir. Bu farklılığın muhtemelen uçucu yağ oranı, uçucu yağ bileşenleri ve gelişme dönemleri boyunca bitki organ farklılığı ayrıca bitkinin toplanma yeri, zamanı ve çeşidinden kaynaklandığı söylenebilir.

Doğal bitkisel ürünlerden elde edilen esansiyel yağlar ve ekstraktların antibakteriyel etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar gösteriyor ki esansiyel yağ kimyasal bileşenlerinde bulunan etken maddeler (alkoller, aldehitler, fenoller vb.) gram negatif bakteriler üzerinde gram pozitiflere oranla daha dirençlidir. Bu direnç mekanizmasının ise hücre duvar yapısında bulunan lipopolisakkarit tabakasından kaynaklandığı bildirilmektedir (Nikaido, 2003; Trombetta ve ark., 2005).

Rezene yağlarının antibakteriyel aktivitesi birçok araştırma ile ortaya konmuştur. Antibakteriyel aktivite testi için ise *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Listeria monocytogenes* (NCTC 2167), *Salmonella typhimurium* (RHSM 1996) ve *Staphylococcus aureus* (43300) bakterileri kullanılmıştır. 0 (kontrol), 5, 10, 20, 30, 40, 50 ve 80  $\mu$ L/mL gibi farklı dozlarda uçucu yağ apliedikten sonra hayatta kalan bakterileri sayılarak antibakteriyel aktivite sonucunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak bütün uçucu yağların test sırasında kullanılan tüm bakterilere karşı güçlü bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini

bildirmişlerdir. Rezene ve adaçayı uçucu yağlarının antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada gram pozitif (*Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus aureus*) ve gram negatif bakteriler (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) deneysel bakteriler olarak seçilmiştir. Rezene esansiyel yağı *Pseudomonas aeruginosa* dışında test edilen bakteriler üzerinde orta düzeyde (inhibisyon zonu <20-12 mm); *Pseudomonas aeruginosa* da ise düşük seviyede (inhibisyon zonu <12 mm) bir antimikrobiyal aktivite sergilemiştir ki bu değerler inhibisyon zon çapı değerlendirmesinde düşük bir inhibisyon seviyesi izlenmesi bizim çalışmamız ile paralel seyir izlemiştir (Haşimi ve ark., 2015). Amira ve Okubadejo (2007) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, *Foneiculum vulgare* yağının *Serratia marcescens*'e karşı gösterdiği antibakteriyal aktivite MIC ve disk difüzyon metodu ile ortaya konmuş ve *Foneiculum vulgare* yağının *Serratia marcescens*'e karşı 7-20 mm arasında güçlü bir inhibisyon zona sahip olduğunu saptanmışlardır. Bu çalışmada ise *F. vulgare* esansiyel yağı (5 ve 10 µL) *Y. ruckeri* bakterisine karşı test edilmiş ve sırasıyla  $10,52 \pm 1,04$  ve  $13,10 \pm 1,67$  mm arasında bir inhibisyon zon gösterdikleri saptanmıştır. Yapılan birçok çalışmada esansiyel yağların aktivasyonu esansiyel yağların tipine, kompozisyonuna ve konsantrasyonuna, etki ettiği mikroorganizmaların cinsine ve sayısına, substratın kompozisyonuna ve işleme ve depolama şartlarına bağlıdır (Pandit ve Shelef, 1994; Skandamis ve Nychas, 2000; Marino ve ark., 2001). Çalışmamızla diğer çalışmalar arasında ortaya çıkan farklılıklar bu sebeplerden kaynaklanabilir.

## 5. ÖNERİLER

Birçok hastalığın tedavisinde eskiden beri kullanılan doğal bitkiler günümüzde de birçok formda kullanılarak etkinlikleri araştırılmıştır. Özellikle esansiyel yağ formda antibakteriyel etkinlikleri çalışılmıştır. Esansiyel yağların kimyasal bileşimlerinde bulunan etken maddelerle mikroorganizma üzerine etki mekanizması en fazla incelenen konuların başında gelmektedir. Bu etki mekanizması mikrobiyal solunumu engelleme, plazma zar geçirgenliğini arttırarak bakterilerin hücre ölümüne sebep olmasından kaynaklanmaktadır. Yapılan bu çalışma ile balık yetiştiriciliği yapılan işletmelerde önemli bir patojen olan *Yersinia ruckeri* üzerine rezene esansiyel yağının antibakteriyel etkinliği çalışılmıştır. Kontrol olarak kullanılan antibiyotikler rezene esansiyel yağları ile karşılaştırılmış ve oluşan inhibisyon zon çapları ile antibakteriyel etkinlik belirlenmiştir.

Bu çalışma konu ile ilgili yapılan literatür taramalarında bir örnek teşkil etmektedir. Bakteriyel balık hastalıklarının tedavisinde doğal ürünlerin antibakteriyel, antioksidan etkinliği ile ilgili daha detaylı çalışmaların yapılması literatürde yer alan boşlukların doldurulmasa önderlik edecektir.

## KAYNAKLAR

- Adıgüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Öğütçü, H., Şahin, F., Karaman, İ.,** 2005. Antimicrobial effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) extract. *Turk J. Biol.* 29: 155- 160.
- Anon,** 2002. Risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw. Scientific Committee on Food. SCF/CS/FMH/SURF.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M.,** 2002. Balık Hastalıkları, Medisan, Ankara, 51-57s.
- Alpbaz, A.,** 1995. Pratik alabalık yetiştiriciliği (II. Baskı). Ege Üniv. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, Teknik Bülten No: 2, İzmir.
- Altun, S., Kubilay, A., Diler, Ö.,** 2010. *Yersinia ruckeri* suşlarının fenotipik ve serolojik özelliklerinin incelenmesi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 16: 223-229.
- Alvarez, J.D., Austin, B., Conroy, D.A.,** 1992. First outbreak of Enteric redmouth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) cultured in Venezuela, *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 12: 189–190.
- Amira, O., Okubadejo, N.,** 2007. Frequency of complementary and alternative medicine utilization in hypertensive patients attending an urban tertiary care centre in Nigeria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 7(30):1-5.
- Anonim,** 2007. Macrolide Antibiotics Comparison, <http://www.emedexpert.com/compare/macrolides.shtml>, 26 Augustus 2014.
- Austin, B., Austin, D.A.,** 1999. Bacterial fish pathogens disease in farmed and wild fish. 3rd ed., p. 457, Praxis Publishing, Chichester, UK.
- Austin, B., Austin Allen, D.,** 1985. Bacterial pathogens of fish. *J. Apl. Bacteriol.*, 58: 483-506.
- Austin, B., Austin, D.,** 2007. Bacterial fish pathogens. Diseases of farmed and wild fish, 4th edn. Praxis Publishing, Chichester.
- 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 Microbiol*, 21: 33-42.

- Baranska, B., Schulz, H., Rosch, P., Strehle, M.A., Popp, J.,** 2004. Identification of secondary metabolites in medicinal and spice plants by NIR-FT-Raman microspectroscopic mapping. *Analyst (Lond)*, 129: 926–930.
- Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R.,** 2010. The nutritional composition of fennel (*Foeniculum vulgare*): Shoots, leaves, stems and inflorescences. *Food. Sci. Technol.*, 43: 814–818.
- Baydar, H.,** 2007. Tıbbi, aromatik ve keyf bitkileri bilimi ve teknolojisi (Geniřletilmiř II. Baskı) Sleyman Demirel Üniversitesi. Ziraat Fakültesi. Yayın No: 51.
- Baytop, T.,** 1999. Phytotherapy in Turkey. From past to present. 2. ed. Nobel Medical Publ, İstanbul, 480s.
- Benchaar, C.S., Calsamiglia, A.V., Chaves, G.R., Fraser, D., Colombatto, T.A., McAllister, Beauchemin, K.A.,** 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 145: 209-228.
- Benli, M., Yiğit, N.,** 2005. lkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyel aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 03(08):1-8.
- Busch, R.A.,** 1982 Enteric redmouth disease (*Yersinia ruckeri*). In *antigens of fish pathogens*, pp. 201-223, eds. Anderson, D.P., Dorson, M., Dubpurget, P., Marcel Merieox, Lyon.
- Bullock, G.L., Stuckey, H.M., Shotts, E.B.,** 1978. Enteric redmouth bacterium comparison of isolates from different geographic areas, *J. Fish Dis.*, 1: 351–356.
- Cabello, F.C.,** 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aguaculture; a grewing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Mikrobial.* 8: 1137-1144.
- Cerpa Chávez, M.G.,** 2007. Hidrodestilacin de aceites esenciales: Modelado y caracterización. *Phd Thesis*, Universidad de Valladolid.
- Chao, S.C., Young, D.G.,** 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research*, 12: 639–649.
- Costa, J.G.M., Rodrigues, F.F.G., Anglico, E.C., Pereira, C.K.B., Souza, E.O., Caldas, G.F.R.,** 2008. Chemical composition and evaluation of the antibacterial activity and toxicity of the essential oil of *Croton zehntneri* (variety estragol). *Rev Bras Pharmacogn*, 18(4):583-586.
- Cowan, M.M.,** 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12(4):564-82.

- Çelik, E., Çelik, G.Y.,** 2007. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2):1-6.
- Çetin, T., Yıldız, G.,** 2004. Esansiyel yağların alternatif yem katkı maddesi olarak kullanımı. *Yem Magazin Dergisi*, 38: 41-47.
- Dadalioglu, I., Akdemir Evrendilek, G.,** 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of turkish oregano (*Origanum Minutiflorum*), bay laurel (*Laurus Nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula Stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum Vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26): 8255-8260.
- Davis, P.H.,** 1978. Flora of Turkey and The East Aegean Islands, vol.4. Edinburgh University Press, pp 352-377, Edinburgh.
- Dean, S.G., Ritchie, G.,** 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5: 165-180.
- Diao, W., Hua, Q., Zhang, H. and Xu, J.,** 2013. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control*. 35. 109-116.
- Dorman, H.J.D., Deans, S.G.,** 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88:308–16.
- ESCOP,** 2003. Escop Monographs, 2nd edition, Thieme, New York, 162-168.
- Grassmann, J., Elstner, E.F.,** 2003. Essential oils. Properties and uses. In *encyclopedia of food science and nutrition*, eds. Caballero, B., Trugo. L., Finglas, P., 2nd ed. Amsterdam, pp. 2177–84, London, New York.
- Gulfraz, M., Mehmood, S., Minhas, N., Jabeen, N., Kausar, R., Jabeen, K., Arshad, G.,** 2008. Composition and antimicrobial properties of essential oil of *Foeniculum vulgare*. *African Journal of Biotechnology*, 7 (24): 4364-4368.
- Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C.,** 2004. PDR for Herbal Medicines, 3rd Ed. Montvale, pp. 267-274NJ: Thomson Healthcare.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Kim, M.C., Kim, J.S., Han, Y.J., Heo, M.S.,** 2010a. Effect of a mixed herb-enriched diet on the innate immune response and disease resistance of *Paralichthys olivaceus* against *Philasterides dicentrarchi* infection. *J. Aquat. Animal Health.*, 22: 235-243.
- Harikrishnan, R., Heo, J., Balasundaram, C., Kim, M C., Kim, J. S., Han, Y.J., Heo, M.S.,** 2010b. Effect of traditional Korean medicinal (TKM) triherbal extract on the innate immune system and disease resistance in *Paralichthys olivaceus* against *Uronema marinum*. *Vet Parasitol* 170: 1-7.

- Haşimi, N., Kızıl, S., Tolan V.,** 2015. Rezene ve adaçayı uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine bir araştırma. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 5(2): 227-235.
- İspir, U., Şeker, E., Sarıyüpoğlu, M.,** 2004. *Yersinia ruckeri* ile enfekte edilen Gökkuşığı Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss* W.1792) oluşan immunolojik değişimlerin araştırılması. *F.Ü. Fen ve Müh. Bil. Derg.*, 16(2),393-400.
- İşcan, G., Kirimer, N., Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H., Demirci, F.,** 2002. Antimicrobial Screening of *Mentha piperita* Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3943-3946.
- Janseen, A.M., Scheefer, J.J, Baerheim Svendsen, A.,** 1987. Antimicrobial Activity of Essential Oils: a1976-1986 Literature Review, Aspects of the Test Methods. *Planta Medica* 53, 395-398.
- Joseph Mcfarland, M.D.,** 1907. The nephelometer:an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *JAMA*. 1907;xlix(14):1176-1178. doi:10.1001/jama.1907.25320140022001f.
- Kan, Y., Kartal, M., Aslan, S., Yıldırım, N.,** 2006. Farklı koşullarda yetiştirilen rezene meyvelerinin uçucu yağ bileşenleri. *Ankara. Ecz. Fak. Derg.* 35 (2) 95-101.
- Kılıç, A.,** 2008. Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10(13): 37-45.
- Kılıç, A., Şeker, E., Özcan, M., İspir, Ü.,** 2007. Elazığ'daki gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinin bakteriyel yönden incelenmesi, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 19 (2): 129–132.
- Marino, M., Bersani, C., Comi, G.,** 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Copositae. *International Journal of Food Microbiology.*, 67: 187-195.
- Mata, A.T., Proenca, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araujo, M.E.M.,** 2007. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem.*, 103: 778-785.
- Mcintosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beever, D. A., Newbold, C.J.,** 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 5011-5014.
- Mimica-Dukic, N., Kujundzic, S., Sokovic, M., Couladis, M.,** 2003. Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. obtained by different distillation conditions. *Phytother. Res.*, 9: 552.

- Moffitt, C.M., Mobin, S.M.A.,** 2006. Profile of microflora of the posterior intestine of Chinook salmon before, during and after administration of rations with and without erythromycin. *North American Journal of Aquaculture*, 68: 176-185.
- Napoli, E.M., Curcuruto, G., Ruberto, G.,** 2010. Screening the essential oil composition of wild sicilian fennel. *Biochem. Syst. Ecol.*, 38: 213–223.
- Navarrete, S.A., Broitman, B.R., Menge, B.A.,** 2008. Interhemispheric comparison of recruitment to rocky intertidal communities. *Pattern persistence and scales of variation. Ecology*, 89: 1308-1322.
- NCCLS,** 1993. (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 5th Edition, Approved Standard, M2-A5, Volume 13, No: 24, Villanova, PA.
- Nikaido, H.,** 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 67: 593–656.
- Noga, E.J.,** 2000. Fish disease diagnosis and treatment. Iowa State University Press, South State Avenue, Ames, Iowa, 367s.
- Oussalah, M., Caillet, S., Lacroix, M.,** 2006. Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.*, 69(5): 1046-1055.
- Oktaý, M., Gulcin, I., Ufreviöglu, O. I.,** 2003. Determination of *in vitro* antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Wiss. Technol.*, 36: 263-268.
- Ozcan, M.M., Chalchat, J.C., Arslan, D., Ates, A., Unver, A.,** 2006. Comparative essential oil composition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* ssp. piperitum) fruit oils obtained during different vegetation. *J. Med Food*. 9(4):552-561.
- Özbek, H.,** 2006. *Foeniculum vulgare* L. (Rezene), *Pimpinella anisum* L. (Anason), *Coriandrum sativum* L. (Kışniş) Uçucu yağ ekstraktlerinin karaciğeri koruyucu etkisinin araştırılması. [Ziyaret Tarihi: 27 Ağustos 2012].
- Pandit, V.A., Shelef, L.A.,** 1994. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Microbiol.*, 11: 57–63.
- Politeo, O., Jukić, M., Miloř, M.,** 2006. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants. *Croat. Chem. Acta.*, 79: 545–552.
- Rad, F.,** 1999. Türkiye’de gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinin teknik ve ekonomik analizi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Ross, A.J., Rucker, R.R., Ewing, W.,** 1966. Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can J Microbiol*, 12: 763-770.
- Rucker, R.,** 1966. Redmouth disease of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bull. Int. Epizoot.* 65: 825-830.
- Sankarikutty, B., Narayanan, C.S.,** 1993. Essential Oils/Isolation and production. Encyclopaedia of Food Science, *Food Technology and Nutrition* (Academic Press): 2185-2189.
- Sarıeyyüpoğlu, M.,** 1996. Balık Hastalıkları Ders Notları, *Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi*, Elazığ.
- Sartoratta, A., Machado, A.L., Delarmelina, C., Figueria, G.M., Duarte, M.C.T., Rehder, V.L.G.,** 2004. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants Used in Brazil, 35: 275-280.
- Skandamis, P., Nychas, G.J.E.,** 2000. Development and validation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 in home-made eggplant under various temperatures, pH and oregano essential oil concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 1646 – 1653.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M.,** 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (2): 1202–1205.
- Tanrikul, T.T., Çağırğan, H., Tokşen, E.,** 2004. Levrek' lerden (*Dicentrarchus labrax.*, 1758) izole edilen vibrio türlerinin API 20E yöntemiyle identifikasyonu. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 21: 243-247.
- Telci, I., Demirtas, I., Sahin, A.,** 2009. Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruits during stages of maturity. *Ind. Crops Prod.*, 30: 126–130.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M.,** 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*). *Food Cemistry.*, 90: 333-340.
- Timur, G., Timur, M.,** 1991. An outbreak of enteric redmouth disease in farmed rainbow trout (*O. mykiss*) in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 11: 182-183
- Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M.G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G., Bisignano, G.,** 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49: 2474–2478.

**Zeybek, N.**, 1960. Medical Plants of Turkey (I. The North-Eastern “Pontus” of Anatolia). First Edition, İzmir, Ege Üniversitesi Matbaası, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Neşriyatı No: 8.



## ÖZGEÇMİŞ

İlon Veysiye ERKİL 10.01.1990 tarihinde Mardin 'de doğdu. İlk, orta ve lise öğretimini Nusaybin'de tamamladı. Çukurova Üniversitesi Yumurtalık MYO Su Ürünleri Programı'ndan Haziran 2011'de mezun oldu. Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Mühendisliğinden 2014 yılında Su Ürünleri Mühendisi unvanı ile mezun oldu. Aynı yıl Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.

