

T.C.
MUNZURÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**ZAHTER, DEFNE VE KARABAŞ BİTKİ UÇUCU YAĞLARININ BAZI
PATOJENLER ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİ**

Hayrettin ATA

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Azime KÜÇÜKGÜL

TUNCELİ-2022

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ZAHTER, DEFNE VE KARABAŞ BİTKİ UÇUCU YAĞLARININ BAZI
PATOJENLER ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİ**

Hayrettin ATA
(190060005)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Azime KÜÇÜKGÜL

TUNCELİ-2022

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ZAHTER, DEFNE VE KARABAŞ BİTKİ UÇUCU YAĞLARININ BAZI
PATOJENLER ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİ**

**Hayrettin ATA
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 07/01/2022 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza	İmza	İmza
Prof. Dr. Azime KÜÇÜKGÜL (Munzur Üniversitesi)	Doç. Dr. Başar ALTINTERİM (Malatya Turgut Özal Üniversitesi)	Doç. Dr. Önder AKSU (Munzur Üniversitesi)
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

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

Doç. Dr. Murat KORUNUR
Enstitü Müdürü

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”daki hükümlere tabidir.

07/01/2022

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza
Hayrettin ATA

Danışman
Prof. Dr. Azime KÜÇÜKGÜL

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda bilgi, destek ve yönlendirmesiyle her daim yanımda olan Sayın Prof. Dr. Azime KÜÇÜKGÜL'e teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Çalışmama yaptığı değerli katkılarından dolayı sayın Doç. Dr. Altuğ KÜÇÜKGÜL'e, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Mustafa İŞGÖR'e, bununla birlikte laboratuvar çalışmalarında destek ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pınar ERECEVİT SÖNMEZ'e, uçucu yağların temini ve analizlerinde bilgi ve yardımlarını gördüğüm Sayın Dr. Öğretim Üyesi Süleyman Ercüment ÖNEL'e teşekkürü bir borç biliyorum. Ayrıca manevi desteğiyle hayattaki en büyük şansım olan aileme sonsuz teşekkür ediyorum.



İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
TABLOLAR LİSTESİ	IV
RESİMLER LİSTESİ	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Literatür Bilgisi	3
2. MATERYAL VE YÖNTEM	14
2.1. Materyal.....	14
2.1.1. Bitki örnekleri.....	14
2.1.2. Bitki uçucu yağlarının elde edilmesi	14
2.1.3. Bitkilerin analize hazırlanması	15
2.1.4. Test mikroorganizmaları.....	15
2.1.5. Mikroorganizma kültürlerinin hazırlanması ve ekim	16
2.2. Yöntem	16
2.2.1. Uçucu yağların gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) analizi	16
2.2.2. Disk difüzyon metodu	17
2.2.4. Mikrodilüsyon broth yöntemi (MİK)	17
2.2.4. İstatistiki analiz.....	18
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	19
3.1. GC-MS Analiz Sonuçları	19
3.2. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	20
3.2.1. Disk difüzyon metodu	20
3.2.2. Mikrodilüsyon broth yöntemi (MİK)	21
4. TARTIŞMA.....	25
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	31
6. KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Uçucu yağların kimyasal kompozisyonu.....	19
Tablo 3.2. Disk diffüzyon yöntemi kullanılarak 200 Mikrolitre konsantrasyonda Defne, Zahter, Karabaş uçucu yağları emdirilmiş disklerin mikroorganizmalar üzerindeki etkileri..	21
Tablo 3.3. Minimum inhibisyon konsantrasyonu ile (MİK:100µL) 4: Defne, 5: Zahter ve 9: Karabaş esansiyel yağlarının en düşük dozajdaki antibakteriyel etkileri.....	22



RESİMLER LİSTESİ

Resim 1.1. <i>P. aeruginosa</i> ile enfekte balıklarda [a) Tilapia b) kedibalı] klinik inceleme: Vücut yüzeyinde gözlenen düzensiz hemorajiler	4
Resim 1.2. <i>P. aeruginosa</i> ile enfekte balıklarda [a) Tilapia b) kedibalı] post-mortem inceleme: Solgun karaciğer, negrotik solungaç, tıkalı böbrek.....	4
Resim 1.3. <i>S. aureus</i> ile enfekte olmuş tilapianın vücut üzerinde görülen doku erozyonu. .	5
Resim 1.4. Enterokok enfeksiyonu: A) Göz ve operkulumda izlenen hemorajiler; B) Kafatasındaki kanama; C) Karaciğer hemorajisi; D) Beyinde görülen hemorajik izler	6
Resim 1.5. Hatay İli zahter (<i>Thymbra spicata</i> L.) tarlası.....	7
Resim 1.6. Karabaş (<i>Lavandula stoechas</i> L.)	10
Resim 1.7. Defne (<i>Lauris nobilis</i> L.)	12
Resim 2.1. Uçucu yağın elde edilmesi	15
Resim 2.2. Munzur Üniversitesi Pertek Sakine Genç Meslek Yüksek Okulu Laboratuvarı.....	16
Resim 3.1. Disk Diffüzyon Metodu ile 4: <i>Defne</i> , 5: <i>Zahter</i> , 9: <i>Karabaş</i> esansiyal yağları'nın (250 µL disk ⁻¹) antimikrobiyal özelliğinin petri kutularındaki görüntüsü ampisilin sulbaktam: 20µg disk ⁻¹	23
Resim 3.2. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK:100 µL) ile 4: <i>Defne</i> , 5: <i>Zahter</i> , 9: <i>Karabaş</i> esansiyal yağları'nın antimikrobiyal özelliğinin mikroplakdaki görüntüsü.....	24

ÖZET

Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal aktivitesi, alternatif tıp açısından oldukça büyük bir öneme sahiptir. Bu bitkilerin kedine has kokuları, aromaları uzun yıllardır hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu tezde, infeksiyöz etkenlerin başında gelen bakteriyel kökenli hastalıklara karşı yeni tedavi stratejisi olarak değerlendirilebilme potansiyeli yüksek bitkisel uçucu yağların antibakteriyel etkinliği üzerinde durulmuştur. Bu amaçla, zahter (*Thymbra spicata* L.), karabaş (*Lavandula stoechas* L.) ve defne (*Lauris nobilis* L.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların gram negatif (*P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*) ve gram pozitif (*Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus*) bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinliği disk difüzyon ve mikrodilüsyon broth yöntemleri ile araştırılmıştır.

Bu çalışmada, defne uçucu yağı *K. pneumoniae* hariç *P. aureginosa*, *E. faecalis* üzerinde 10.3 ± 0.3 mm, *S. aureus*'da 8.6 ± 0.3 mm inhibisyon zon çapı ile dar etki spektrumu gösterdi. *S. aureus*, *P. aureginosa* ve *E. faecalis*, *K. pneumoniae* üzerinde zahter uçucu yağı elde edilen zon çapları sırasıyla 12,3 mm; 10,3 mm; 10,3 mm ve 8,6 mm olarak saptanmıştır. Karabaş uçucu yağının *K. pneumonie* dışındaki bakterilerin üremesini durduran inhibisyon zon çapı ile antibakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiş, zon çap aralıkları 10,3-8,6 mm inhibisyonzon çapı⁻¹ olarak incelenmiştir. Standart antibiyotik ile kıyaslandığında *P. aureginosa* üzerinde defne uçucu yağı inhibitör etki açısından ampisilinsulbaktama benzer dar bir etki spektrumu göstermiş, *E. faecalis* ve *S. aureus* üzerinde ise düşük ($p < 0.01$) yâda etkisiz ($p > 0.05$) olduğu incelenmiştir. Zahter ve karabaş uçucu yağları ise *P. aureginosa* üzerinde aynı etkiyi göstermiş; diğerlerinde ise daha düşük etki incelenmiştir. Mikrodilüsyon broth yöntemi sonuçlarına göstermiştir ki defne uçucu yağının *P. aureginosa* üzerinde 100 µL, *E. faecalis* ve *S. aureus* da 50 µL konsantrasyonunda bakteri üremesinin gerçekleştiği fakat etkili olmadığı tespit edilmiştir. Zahter uçucu yağının MİK değerleri *P. aureginosa* (üreme engellenmedi) hariç *K. pneumoniae*, *E. faecalis* için 50 µL; *S. aureus* için 25 µL olarak izlenmiştir. Karabaş bitkisi ise *K. pneumonie* dışındaki mikroorganizmaların büyümesini 25-50 µL de inhibe ettiği saptanmıştır.

Çalışmamızda defne ve karabaş uçucu yağları *K. pneumoniae* için antimikrobiyal etki göstermemişken; diğerleri (*P. aureginosae*, *E. faecalis* ve *S. aureus*) üzerinde bakteriyostatik etki göstermiştir. Zahter uçucu yağı *P. aureginosa* ve *E. faecalis*, *K. pneumoniae* üzerinde inhibitör, *S. aureus*'da ise bakterisid etki belirlenmiştir. Çalışma bulgularımız gösteriyor ki bitki uçucu yağları patojen bakterilerin üremelerini durduracak inhibitör konsantrasyonlarda, hastalıklar üzerinde etkili bir tedavi şekli oluşturabilecek profil özelliği taşımaktaysa da konu üzerinde daha kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Defne uçucu yağı, zahter uçucu yağı, karabaş uçucu yağı, antibakteriyel aktivite, bakteri

ABSTRACT

Antimicrobial Activity of Essential Oils of Zahter, Laurel and Blackbase on Some Pathogens

The antimicrobial activity of medicinal and aromatic plants is of great importance in terms of alternative medicine. The scents and aromas of these plants have been used in the treatment of diseases for many years. In this thesis, the antibacterial activity of herbal essential oils with a high potential to be evaluated as a new treatment strategy against bacterial diseases, which is one of the leading infectious agents, is emphasized. For this purpose, gram negative (*P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*) and gram positive (*Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus*) essential oils obtained from thyme (*Thymbra spicata* L.), black head (*Lavandula stoechas* L.) and laurel (*Lauris nobilis* L.) plants. *aureus*) bacteria were investigated by disc diffusion and microdilution broth methods.

In this study, laurel essential oil showed a narrow spectrum of action with an inhibition zone diameter of 10.3 ± 0.3 mm on *P. aureginosa*, *E. faecalis*, and 8.6 ± 0.3 mm on *S. aureus*, except for *K. pneumoniae*. Zone diameters of zahter essential oil on *S. aureus*, *P. aureginosa* and *E. faecalis*, *K. pneumoniae* were 12.3 mm, respectively; 10.3mm; It was determined as 10.3 mm and 8.6 mm. It has been determined that black head essential oil has an antibacterial effect with its inhibition zone diameter that stops the growth of bacteria other than *K. pneumoniae*, and the zone diameter ranges are examined as 10.3-8.6 mm inhibition zone diameter-1. When compared to the standard antibiotic, laurel essential oil showed a narrow spectrum of inhibitory effect similar to ampicillinsulbactam on *P. aureginosa*, but low ($p < 0.01$) or ineffective ($p > 0.05$) on *E. faecalis* and *S. aureus*. Zahter and blackhead essential oils showed the same effect on *P. aureginosa*; in others, a lower effect was studied. The results of the microdilution broth method showed that laurel essential oil was grown at a concentration of 100 μ L on *P. aureginosa*, and 50 μ L on *E. faecalis* and *S. aureus*, but it was not effective. MIC values of zahter essential oil were 50 μ L for *K. pneumoniae*, *E. faecalis* except *P. aureginosa* (growth not inhibited); It was traced to 25 μ L for *S. aureus*. It was determined that black head plant inhibited the growth of microorganisms except *K. pneumoniae* at 25-50 μ L.

In our study, laurel and blackhead essential oils did not show an antimicrobial effect for *K. pneumoniae*; showed a bacteriostatic effect on others (*P. aureginosae*, *E. faecalis* and *S. aureus*). Zahter essential oil has an *inhibitory effect on P. aureginosa and E. faecalis, K. pneumoniae, and a bactericidal effect on S. aureus*. Our study findings show that although plant essential oils have inhibitory concentrations to stop the growth of pathogenic bacteria, they have a profile feature that can create an effective treatment method on diseases, but it needs to be supported by more comprehensive studies on the subject.

Keywords: Laurel essential oil, thyme essential oil, blackhead essential oil, antibacterial activity, bacteria

1. GİRİŞ

Değerli bir besin olan balık eti, insan tüketiminde önemli bir paya sahip hayvansal protein kaynaklarından bir tanesi olup doymuş yağlar, karbonhidratlar ve kolesterol açısından düşük besin içeriğine sahiptir. Bunun yanında çeşitli vitaminler, mineraller ve çoklu doymamış yağ asitleri gibi önemli besin maddelerini içermekle birlikte yüksek oranlarda kaliteli bir protein kaynağıdır (Fao, 2012). Su ürünleri üretimi 2017 yılı için 172,7 milyon ton olarak bildirilmiştir. Bu üretimin ise 92,5 milyon tonu (%53,6) avcılık yoluyla, 80,1 milyon tonu (%46,4) ise yetiştiricilikten temin edilmiştir (OECD, 2016). Uzun yıllardır avcılık ile yapılan balıkçılık, balık popülasyonlarının yıldan yıla değişimiyle sürdürülebilirlik açısından süreklilik gösterememiş; bu duruma akuakültür üretiminin hızla artmasına olanak sağlamıştır. TÜİK verilerine göre, su ürünleri yetiştiriciliği yıllık ortalama %8 (%1-%13 arasında) büyümektedir (TÜİK, 2015). Ülkemizde en fazla yetiştiriciliği yapılan tür %56 ile gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'dır. Bunu %29 ile levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve %15 ile çipura (*Sparus aurata*) izlemektedir (Akova, 2015).

Akuatik ortamda meydana gelen kirlilik, yüksek yoğunlukta yetiştirme, su kalitesinde azalma, dengesiz besleme gibi nedenler hastalık problemlerini yoğun olarak ortaya çıkarmaktadır. 1970'li yıllarda iç sularda üretimi başlayan akuakültür üretiminin birçok işletmede intensif üretime ulaşmasından sonra bu işletmelerde bakteriyel, viral, paraziter epizootikler görülmeye başlamıştır (Arda ve ark., 2005; Jacobs ve ark., 2009; Gomez-Casado ve ark., 2011; Frans ve ark., 2011; Oidtmann ve Stentiford, 2011; Vega-Heredia ve ark., 2012). Bu hastalıklar ile paralel seyreden ekonomik kayıplar ise işletmeler için en önemli sorunların başında gelmektedir.

Akuatik çevre açısından ise ciddiyele üzerinde durulması gereken etkenlerin başında, canlı dışında da uzun süre canlı kalabilme yetenekleriyle büyük risk oluşturan bakteriler gelmektedir (Klesius ve Pridgeon, 2011). Bilindiği üzere Türkiye'de bakteriyel balık hastalıkları yaygın olarak görülmektedir. Yüksek mortalitelere sahip olan bakteriler özellikle ülkemizde yetiştiriciliği sıklıkla yapılan gökkuşağı alabalıklarında araştırılmış, *Aeromonas* spp., *Edwardsiella* spp., *Flavobacterium* spp., *Flexibacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Yersinia* spp., *Renibacterium* spp. türlerinin önemli kayıplara neden olduğu bildirilmiştir (Klesius ve Pridgeon, 2011; Kum ve ark., 2004; Schmidt ve ark., 2000).

Birçok durumda ortaya çıkan balık hastalıklarının tedavisinde uzun yıllardır kullanılan antibiyotik uygulamaları zamanla bakteriyel patojenlerin antibakteriyellere karşı direnç göstermesi, rezidü sorunu gibi birçok problemi de beraberinde getirmiş böylelikle yeni tedavi stratejileri ile koruyucu önlemlere balık üreticilerini teşvik etmiştir (Kum ve ark., 2004).

Tıbbi ve aromatik bitkilerin antibakteriyel etkisi, alternatif tıp açısından oldukça büyük bir öneme sahiptir. Bu bitkilerin kedine has kokuları, aromaları uzun yıllardır hastalıkların tedavisinde kullanılmakta, tedavi edici etkileri ise içerdikleri flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanen, berberin, kinin ve emetinler gibi kimyasallarla olmaktadır ki günümüzde kullanılan ilaçların hammaddesini ise zaten bu içerikler oluşturmaktadır (Hussain ve ark., 2011; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011; Gül, 2015; Jamshidi-Kia, 2018).

Tüm bu veriler ışığında, balık yetiştiriciliğinde işletme için büyük problem olan hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için koruyucu amaçlı aşı uygulananımı, kemoterapi gibi uygulamaların olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak ve daha doğal olması ile bitkisel tedavi stratejileri geliştirilmiş ve uygulanabilirliği birçok çalışmayla ortaya konmuştur (Logambal ve ark., 2000; Peddie ve Secombes, 2003; Küçükgül ve ark., 2019a-b).

Bu tezde, infeksiyöz etkenlerin başında gelen bakteriyel kökenli hastalıklara karşı yeni tedavi stratejisi olarak değerlendirilen bitkisel tedavi üzerinde durulmuştur. Bu amaçla, zahter (*Thymbra spicata* L.), karabaş (*Lavandula stoechas* L.) ve defne (*Lauris nobilis* L.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların gram negatif (*P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*) ve gram pozitif (*Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus*) bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinliği disk difüzyon ve mikrodilüsyon broth yöntemleri ile araştırılmıştır.

1.1. Literatür Bilgisi

Maliyet artışı, ürün kalitesi, olası bir hastalık durumunda gözlenen balık ölümleri gibi birçok problemden dolayı balık hastalıklarını araştırmak, teşhis etmek ve tedavi yöntemleri geliştirmek balık üretim tesislerinde oldukça önemlidir. Gerek doğal ortamda gerekse yetiştiricilik koşullarında balıkları hasta edebilecek birçok etmen bulunmaktadır. Doğal şartlarda olası hastalık durumları tolere edilebilirken, yetiştiricilik koşullarında yoğun stoklama, su parametrelerinde ani değişimler, olası stres faktörleri vb. birçok faktör hastalıkların oluşmasına ve kontrolsüz yayılmasına neden olabilir (Scholz, 1999).

Balıklarda enfeksiyona yol açan pek çok bakteri türü bulunmaktadır. Patojenik karakterleri araştırılan bu bakteriler virulans yetenekleri, balığın cinsi, yaşı, beslenme durumu ve çevre şartlarına bağlı olarak değişik tarzda hastalık tabloları sergileyebilmektedirler (Evelyn, 1996). Patojenik mikroorganizma kaynaklı infeksiyöz hastalıklardan bakteriyel hastalıklar gram negatif yâda gram pozitif bakteriler tarafından oluşturulmaktadır. Her iki grup içinde bulunan bakteriler morfolojik (çomak, yuvarlak, spiral vb.), fizyolojik (aerobik, anaerobik, mikroaerofilik vb.), biyokimyasal ve patojenik özellikler taşımaktadırlar (Arda ve ark., 2005).

Ülkemizde balık üretim çiftliklerinde en sık rastlanan patojen bakteriyel etkenler arasında *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Flexibacter* spp., *Vibrio* spp., *Yersinia* spp., *Streptococcus* spp. sayılabilir (Kum ve ark., 2004).

Pseudomonas enfeksiyonları balıklar için patojen olabildiği gibi vücut yüzeyinde normal olarak bulunması ile patojen karakter göstermeyebilir. Daha ziyade balıklar üzerinde deri, solungaç, yumurta ve bağırsaklarda kolonize olup hastalıklara sebep olabilmektedirler. Balıklardan izole edilen birçok tür (*Pseudomonas anguilliseptica*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. aeruginosa* vb.) bulunmaktadır (Algammal ve ark., 2020; Timur ve Timur, 2003). *Pseudomonas*lar balıklarda genellikle spontan enfeksiyonlara yol açar. Genellikle gram negatif, hareketli, sporsuz, kapsülsüz tek tek çomaklar yâda kısa filamentler halinde üreme gösterebilirler. Enfeksiyonlar genellikle yılan balığı, sazan, kadife balığı, morina balığı, gökkuşağı alabalığı gibi birçok balık türünü etkileyebilmektedir (Algammal ve ark., 2020; Austin, 2010). Su ve toprakta yaygın olarak bulunan *Pseudomonas* cinsi bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar balıklarda hemorajik septisemilere neden olurlar (Resim 1.1. ve 1.2.). Özellikler çevresel koşullarda görülen herhangi bir uygunsuzluk, stres faktörlerinden ileri gelen durumlar hastalığın çıkış ve yayılışında önemli rol oynar. Özellikle,

          ksijen seviyelerinde azalmalar, su sıcaklık parametrelerinde yükselmeler, yetersiz beslenme ve diğer faktörler hastalığa zemin hazırlayıcı faktörlerdir (Post, 1987). *Pseudomonas* spp. hastalık ile enfekte durumlarda g     virülans faktörlere sahip olup pili, flagella, lipopolisakkarit (LPS) bakteri kolonizasyonu ve motilitesinde, aktif proteinlerin konakçı hücrelere verilmesinde ve kalıcı enfeksiyonların oluşumunda yaygın olarak rol oynar. Aynı şekilde salgılanan virülans faktörleri, inflamatuvar süreçleri güçlendirir, ciddi doku hasarlarına neden olur, bakteri istilasını ve yayılmasını kolaylaştırır ve hastalıkların ilerlemesini hızlandırır (Zeng, 2004).



Resim 1.1. *P. Aeruginosa* ile enfekte balıklarda [a) Tilapia b) kedibalı ı] klinik inceleme: Vücut yüzeyinde güçlenen düzensiz hemorajiler (Algammal ve ark., 2020)



Resim 1.2. *P. aeruginosa* ile enfekte balıklarda [a) Tilapia b) kedibalı ı] post-mortem inceleme: Solgun karaciğer, negrotik solungaç, tıklı böbrek (Algammal ve ark., 2020)

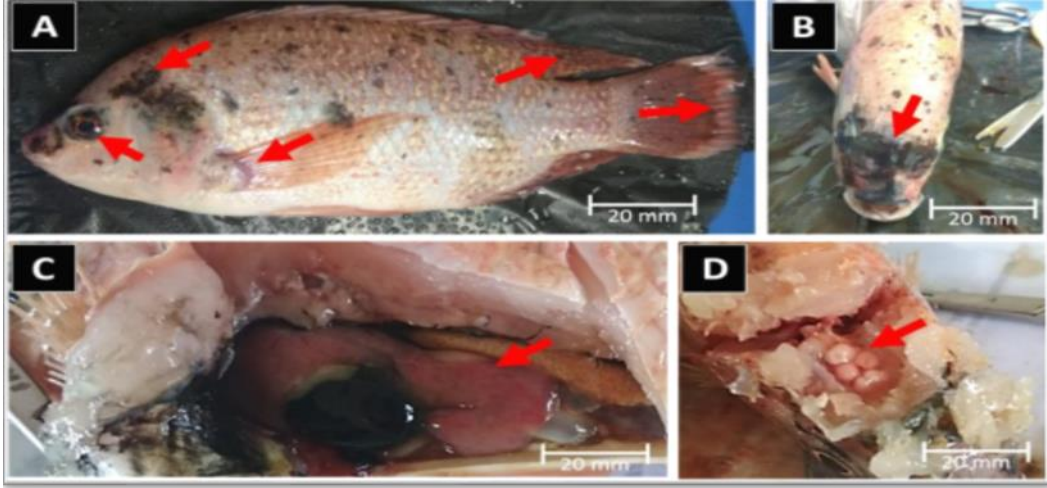
Gram pozitif mikroorganizmalardan ileri gelen hastalıklar gram negatif olanlara göre daha az olsa da yine de balıklarda görülebilmektedir. Bu etkenler balıklarda daha çok

spontan ve kronik seyir izleyebilmektedir. Özellikle stafilocoklardan ileri gelen enfeksiyonlar gözlenebilmektedir (Arda ve ark., 2005). Genellikle hastalık olgularından *Stafilococcus aureus* izole ve identifiye edilmiştir (Resim 1.3). Stafilocoklar oval ya da yuvarlak tarzda kümeler oluşturmuş bir görünüme sahiptirler. Gram pozitif, kapsülsüz, hareketsiz olan etken katı besi yerinde sarı pigmentli koloniler oluşturmaktadır. Genellikle balıklarda alabalıkları etkilemekte balık yüzeyinde grimsi lezyonlar, iç organlarda ise dalakta büyüme, bağırsakta yangısal reaksiyonlar ile karakterize edilmektedir (Arda ve ark., 2005).



Resim 1.3. *S. aureus* ile enfekte olmuş tilapianın vücut üzerinde görülen doku erozyonu (Gaafar ve ark., 2014)

Su ürünleri sektöründe kültür balıkçılığındaki gelişmeler ile bakteriyel enfeksiyonlarından ileri gelen problemler önemini arttırmakta, bunlar arasında son zamanlarda enterokokkal enfeksiyonlarda bu nedenle dikkat çekmektedir. Özellikle geniş bir konak dağılımı göstermeleri, antibiyotik direnç mekanizmalarının yüksek olması ve yoğun mortalite gibi sebepler enterokoklar üzerinde araştırmacıların odaklanmasına sebep olmuştur. Enterokoklar birçok hayvan ve insanda özellikle gastrointestinal kanal, ağız ve deri üzerinde bulunabilen ve hastalıklara neden olabilen enfeksiyonlardır (Quednau ve ark., 1998). Enterokok enfeksiyonlarında klinik semptom hemorajik septisemidir (Resim 1.4.). Bilateral eksoftalmi, operkulumda ve kaudal yüzgeç kan damarlarında görülen peteşiler en fazla gözlenen belirtilerdendir (Actis ve ark., 1999).



Resim 1.4. Enterokok enfeksiyonu: A) Göz ve operkulumda izlenen hemorajiler; B) Kafatasındaki kanama; C) Karaciğer hemorajisi; D) Beyinde görülen hemorajik izler (Rizkiantino ve ark., 2020)

Balık hastalıklarında tedavide başarı yüzdesi genellikle azdır. Bu nedenle yetiştiricilik koşullarında her daim profilaktik önlemler önemli yer kaplamaktadır (Le Breton, 2009). Fakat hastalıkların önlenmesinde yalnızca bu tedbirler yeterli olmayıp birçok tedavi yönteminin araştırılması ve uygulanması önem kazanmıştır.

Balık çiftliklerinde birincil sırada yer alan bakteriyel enfeksiyonlarda suyun kalitesinin iyileştirilmesi, stok yoğunluğunun azaltılması ile stres oluşturabilecek durumların düzeltilmesi enfeksiyonların yayılışını önleyebilmektedir. Bunun yanında her önleme rağmen ortaya çıkmış enfeksiyonlarda ise çeşitli antibiyotik (eritromisin, oksitetrasiklin, kanamisin vb.) uygulamalarından yararlanılmaktadır (Timur ve Timur, 2003). Ancak, bakteriyel patojenlerin ciddi boyutlarda enfeksiyonlara yol açmaları, mortalite oranlarının yüksek olması dikkat çekmiş ve buna neden olarak antibiyotik dirençlilikleri gösterilmiştir (Schouten ve ark., 1999; Endtzve ark., 1999). Enterokoklar klinik mikrobiyolojide antibiyotik dirençliliğinin en çok izlendiği mikroorganizmaların başında gelmektedir. Peterson ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, *Enterococcus faecalis*'in streptomisine direnç gösterdiği bildirilmiştir (Peterson ve ark., 2002). Bir diğer çalışmada ise, birçok hayvandan izole ettikleri enterokokların, ampisilin, streptomisin ve direnç gösterdikleri raporlanmıştır (Thal ve ark., 1995).

Bunun yanında sıklıkla kullanılan profilaktif yöntemlerden bir diğeri aşı uygulamalarıdır (Kamelia ve ark., 2009). Aşılamada birçok avantaj olduğu gibi dezavantajlarda mevcuttur. Aşıların önemli sıkıntılarından biri pahalılık bir diğeridespefisik

olmasıdır (Sakai, 1999; Robertson, 1999). Ticari olarak üretilen aşılar pahalı oldukları için üreticiler tarafından handikap olarak değerlendirilebilir, ayrıca önemli hastalıklara karşı (bakteriyel, viral vb.) birçok ticari aşı etkisiz kalabilmektedir (Raa, 1992).

Balık yetiştiriciliğinde hastalıklarda korunmada aşı uygulananımı, kemoterapi gibi uygulamaların olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak ve daha doğal olması ile bitkisel tedavi stratejileri geliştirilmiş ve uygulanabilirliği birçok çalışmayla ortaya konmuştur (Logambal ve ark., 2000; Peddie ve Secombes, 2003; Küçükgül ve ark., 2019 a-b). Geçmiş yıllardan bu güne dek süregelen bitkisel tedavi, hastalıkların önlenmesi ve tedavi edilmesi gibi amaçlara hizmet eden doğal ürünler ve tıbbi bitkiler olarak bilinmektedir (Abdul-Ghani ve ark., 1987; Küçükgül Güleç ve ark., 2014).

Türkiye gerek coğrafik özellikleri gerekse iklim çeşitliliği ile zengin bir bitki florasına sahiptir. Endemik türler açısından ise üstün potansiyel göstermektedir (Asil ve Taşkın 2018; Urhanve ark., 2016). Türkiye'nin florası oldukça zengin olup (1000'den fazla bitki) bölgesel farklılık ve çeşitlilik sergilemektedir. Bu zengin floranın önemli bir kısmını (1/3'ü) tıbbi kökenli aromatik bitkiler sağlamaktadır. Üç bin den fazlası ise endemik tür özelliği taşımaktadır. Türkiye de yetiştiriciliği yapılan önemli bitkiler çay, gül, nane, rezene, defne, karabaş, kekik vb. bitkilerdir.

Önemli bir ticaret ürünü olup zahter (*Thymbra spicata* L.) Lamiaceae (Labiatae) familyasında yer almaktadır. Türkiye de özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Kilis, Hatay ve Gaziantep yörelerinde uzun yıllardır gıda ve tıbbi kökenli ilaç olarak kullanılan bitkinin günümüzde de ticari olarak birçok kullanım alanı (Bitkisel çay, kekik uçucu yağı, kekik suyu, kahvaltılık vb.) olduğu bilinmektedir (Resim 1.5).



Resim 1.5. Hatay ili zahter (*Thymbra spicata* L.) tarlası (Ulusoy, 2018)

İlkbahar döneminde toplanan zahterin taze sürgünleri ve kurutulmuş yaprak ve çiçek kısımları baharat olarak tüketilmektedir (Baytop, 1999; Şekeroğlu, 2008). Kurutulan bu ürünlerin su buharı distilasyonu ile elde edilen keskin kokulu uçucu yağı ve yağın altına kekik suyu olarak bilinen kısmı daha ziyade halk arasında soğuk algınlığı, astım, bronşit, öksürük, kolik ve ishal gibi rahatsızlıkların tedavinde kullanılmaktadır (Dirican ve ark., 2012; Kaya ve ark., 2013; Baytop, 1999; Şekeroğlu, 2008, 2010). Zahter uçucu yağ bileşenleri içinde en fazla karvakrol, γ -terpinen ve p-simen olduğu bildirilmektedir. Diğer bileşenlerden bazıları ise mirsen, α -terpinen, β -karyofillen, α -pinen, timoldür (Baydar ve ark., 2004; Kılıç, 2006; Kızıl, 2010; Markovic ve ark., 2011; Kaya ve ark., 2013).

Koparal ve Zeytinoğlu (2003) tarafından yapılan çalışmada *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra*, *Thymus* ve *Corydorthymus* cinslerine ait bitkilerin uçucu yağ bileşenleri değerlendirilmiştir. Ana bileşenin karvakrol olduğu ve antibakteriyel, antifungal, antihelmintik, insectisidal, analjezik ve antioksidan etkinliğin ise kavrakrolden kaynaklandığı bildirilmiştir. Isparta yöresinden toplanan *Coridothymus capitatus* (L.) Reichb., *Thymbra spicata* L., *Salvia triloba* L. ve *S. fruticosa* Mill. türlerinde ait uçucu yağ verim ve kompozisyonu araştırıldığı bir diğer çalışmada, *O. minutiflorum* ortalama %1.45, *C. capitatus* %2.46 ve *T. spicata*'nın ise %2.03 uçucu yağ içerdiği, her üç türün uçucu yağında da en önemli komponentin karvakrol olduğu (sırasıyla %89.17, %69.00 ve %76.01) saptanmıştır (Baydar ve ark., 1999). İrtəm (2003), Lamiaceae familyası *Thymus* cinsi birkaç bitkinin toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyonu sonucu uçucu yağlarının ana bileşenlerini saptadı ve antibakteriyel aktiviteleri değerlendirdi. Timolün (%56.6, %42.8, %36.9) sırasıyla *Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii* (kemotip I ve II), *Thymus sygioides* var. *Lycaonicus*'un ana bileşenleri olduğunu rapor etti. Bunun yanında *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* var. *sibisophyllus* (%60) da karvakrol, *Thymus pulvinatus* ise ana bileşen olarak borneol (%27.9) içerdiği bildirdi.

Bitkilerin farklı bir kullanım alanı olan uçucu yağ eldesi bitki özütleri olarak kabul edildiği için önem arz eder. Ayrıca uçucu yağlar içerdikleri kimyasal bileşenler sayesinde antibakteriyel, antiinflamatuvar, antioksidan vb. özellik kazanıp fitoterapötik olarak kullanımları mümkün olur. Alternatif tıpta değerlendirilen güçlü bir antimikrobiyal etki gösteren zahter bitkisi uzun yıllardır kullanılmaktadır. Son yapılan çalışmalar göstermektedir ki zahter antibiyotiklere karşı alternatif bir tedavi olarak değerlendirilebilir. Fitoterapik özelliği bulunan bitki (nane, çördük otu, zahter, yabani kekik, İzmir kekiği) uçucu yağlarının bazı mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkinliği ve etkin bazı

antibiyotiklerle karşılaştırılmasının amaçlandığı bir araştırmada, antimikrobiyal aktivite için disk difüzyon metodu uygulanmıştır. İnkübasyon süreleri sonunda 5, 10 ve 15 µl uçucu yağ emdirilmiş disklerin inhibisyonzon çapları ölçülmüştür. Sonuçlar değerlendirildiğinde inhibisyonzon çapı ile konsantrasyon artışının paralel olduğu gözlenmiştir. Zon çaplarının ise 8-50 mm arasında değişim gösterdiği ve en güçlü bakterilerin *Streptococcus pyogenes* ve *S. aureus* olduğu bildirilmiştir (Akcan ve ark., 2007). Bir diğer araştırmada, zahter ekstresietanol ve kloroform çözeltileri ile 4 farklı konsantrasyonda (25 mg/ml-50 mg/ml-75 mg/ml ve 100 mg/ml) çalışılmış, *Escherichia coli*, *Pseudomona saeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterileri üzerinde antimikrobiyal etkinliği saptanmıştır. 25 mg/ml konsantrasyonda *K. pneumoniae*'ya karşı 15 mm zon, 50mg/ml konsantrasyonda 26mm zonçapı olduğu gözlenmiştir. Diğer bakteriler üzerinde herhangi bir etkinlik saptanamamıştır (Dalkılıç ve ark., 2020).Türkmen ve ark. (2016), zahterin metanol ve etanol ekstrelerinin 100µl hacminde oyuk agar yöntemiyle *K. pneumoniae* (19 mm-14 mm), *S. aureus* 'a (20 mm-18 mm) etki ettiği tespit etmişlerdir.

Akuakültürde balık patojenleri ile mücadelede bitkisel ürünlerin kullanımı alternatif ve güncel uygulamaların başında gelmektedir. Uzun yıllardır halk ilacı olarak kullanılan zahter bitkisinin özellikle yapraklarından elde edilen uçucu yağlarında bulunan karvakrol ve timol gibi bileşenlerin güçlü antimikrobiyal, antifungal, antioksidan etkileri nedeniyle balık hastalıklarında özellikle kemoterapötiklere altrenatif olabilmesi düşüncesiyle Ballıgiller familyası üyeleri ile birçok çalışma (Birinci Yıldırım ve Türker, 2018; Mousavive ark., 2011; Baydar ve ark., 2004). Gökkuşığı alabalığı kuluçkahanelerinde ekonomik kayıplara sebebiyet veren Saprolegniasis hastalığının etkeni olan *Saprolegnia parasitica* etkenine karşı Lamiaceae familyasından üç önemli kekik türünün (*Thymbra spicata* L., *Origanum onites* L., *Satureja tymbra* L.) antifungal etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, her üç kekik türünün uçucu yağ bileşenlerinde karvakrolün majör komponent olduğu, karvakrol içeriği yüksek olan *T. spicata* (%82,68) ve *O. onites* (%82,2)'in antifungal etkisinin *S. tymbra* (%53,38)'ya göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir (Görmez, 2012). Görmez ve Diler (2014) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise, *T. spicata* ve *O. onites* uçucu yağlarının *S. parasitica* mantarına karşı timol ve karvakrolün tek kullanımlarından daha biyoaktif olduğunu ve bunun bitki biyoaktif kompanenlerin sinerjistik etkisinde kaynaklandığını bildirilmişlerdir.

Halk arasında Karabaş otu, karabaş lavanta, gargan veya keşiş otu olarak bilinen Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasına ait bir diğer aromatik bitki *Lavandula stoechas*

L.'dir. Kendiliğinden doğal olarak yetişebilen bu bitki uzun yıllardır güçlü bir antiseptik ve yara tedavi edici özelliği ile alternatif tıpta kullanılmaktadır (Ayrar, 1997; Öztürk ve ark., 2005). Bunun yanı sıra yatıştırıcı, iltihap giderici, balgam söktürücü, idrar yolları iltihaplarını giderici vb. birçok özelliğiyle epey geniş bir kullanım alanı edinmiştir (Baytop, 1999). Bunun yanında, uçucu yağ özellikleri nedeniyle dünyada yaygın olarak yetiştirilen bitkilerden de birisidir. Özellikle Avrupa, Orta Doğu, Asya ve Kuzey Afrika'da yetiştiriciliği yapılmakta ve yaklaşık 40 farklı türü bulunmaktadır (Aprotosoie ve ark., 2017). En yaygın yetiştirilen üç tür; *L. angustifolia* Mill., *L. stoechas*, *L. latifolia* ve bunların melezleridir.

Lavandula stoechas L. 45–50 cm yükseklikte, güzel görünüşlü, tüylü, kuvvetli kokulu, çalı formunda ve çok yıllık bir bitkidir (Resim 1.6.). Ülkemizde özellikle İzmir, Muğla, Datça, Antalya Tekirova, İçel-Anamur, Hatay-Samandağı, Yayladağı yörelerinde yetişebilmektedir (Ayrar, 1997; Yenici, 1999). Kuru ve asiditesi az olan topraklarda yetişen karabaş otunun tohumu Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında olgunlaşmakta; Mayıs, Haziran, Temmuz aylarında ise çiçeklenmektedir (Yenici, 1999).



Resim 1.6. Karabaş (*Lavandula stoechas* L.) (URL-1, 2020)

Karabaş otu bitkisinin toprak üstü kısımlarından (bitkinin taze ve kurutulmuş uç kısımları) su buharı distilasyonu ile elde edilen karabaş uçucu yağı, karakteristik bir kokuya sahip renksiz veya soluk sarı bir sıvıdır. Kimyasal kompozisyonu ise iyi bilinmektedir. Ana bileşenler, linalool (%20-45) ve linalil asetatın (%25-46) R enantiyomerleridir. Bu bileşenlerin yüksek içeriği yağın kalitesini belirlemektedir. Yapılan çalışmalarda diğer bileşenler ise limonen (>%1.0), okaliptol (<%2.5), kafur (>%1.2), terpin-4-ol (%0.1-6.0)),

lavandulol (<0.1 %), lavandulil asetat (<%0.2) ve a-terpineol (>%2.0) olarak raporlanmıştır (Góra ve Lis, 2012; Lis, 2013).

Alternatif tıpta sıklıkla kullanılan karabaş otu bitkisinin antiseptik ve yaralarda kullanımı uzun yıllardır bilinmektedir. Yapılan bir araştırmada, İzmir yöresine ait yabani *L. stoechas* L. subsp. *Stoechas* taksonundan elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal ve antifungal etkisi incelenmiş, % 1,1 oranında uçucu yağ içerdiği tespit edilmiştir. Kimyasal bileşenleri içerisinde 26 bileşik saptanmış ana bileşen olarak % 43,47 ile kafur tespit edilmiştir (Öztürk ve ark., 2005). Ballıgiller familyasından bir başka tür olan *L. Angustifolia* Mill'in uçucu yağının *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus* spp. türlerine karşı antibakteriyel etkisi araştırılmış güçlü bir antiseptik etki gözlenmiştir (Roller ve ark., 2009). Yapılan araştırmalar göstermiştir ki, karabaş otu uçucu yağının antibakteriyel özelliğinin içerisinde barındırdığı minör ve majör komponentlerin sinerjistik etkisinden kaynaklanmaktadır (Krasniewska ve ark., 2017; Jianu ve ark., 2013).

Ülkemizde gelişmekte olan sektörlerden birisi haline gelen akuakültürde balık hastalıklarının tedavisinde bilinçsiz kullanılan antimikrobiyal maddelerin olumsuzluklarını ortadan kaldırmak için daha ucuz, güvenilir ve uygulaması daha kolay aynı zamanda doğal olmaları yönüyle bitkilerden yararlanma özellikle bitkilerden elde edilen doğal maddelerin kullanımı dikkat çekmektedir. Karabaş otu uçucu yağının güçlü terapötik etkileri birçok çalışma ile ortaya konduğu için akuakültürde de bu bitki antibakteriyel, büyüme performansı, antifungal vb. etkileri yönüyle değerlendirilmiştir. Yılmaz (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, karabaş otu (*Lavandula stoechas*) yağının sazan (*Cyprinus carpio*) balığı yemlerine ilavesinin büyüme performansı, hematolojik ve serum biyokimyasal parametreleri üzerine olan etkileri incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, karabaş otu yağı içeren diyetin (5 g/kg) kontrol diyetine göre hemoglobin seviyelerinin olumlu yönde etkilendiği, ancak serum glikoz seviyelerinde düşüşler izlendiği bildirilmiştir. Ticari olarak temin edilen kekik (*Origanum vulgare*), melisa (*Melissa oleum*), karabaş (*Lavandula eromanaeoleum*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), zencefil (*Zingiber officinale*) uçucu yağlarının *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio alginolyticus*, *Flavobacterium psychrophilum* ve *Lactococcus garvieae* türleri üzerine olan antibakteriyel etkinliğinin ortaya konduğu bir diğer çalışmada, tüm uçucu yağların etkin olduğu ancak kekik ve melisa uçucu yağlarının diğerlerine oranla daha güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Ekici ve ark., 2011).

Yaprak ve meyvelerinin içerdği değişik yapıdaki uçucu ve sabit yağlara sahip olan defne (*Lauris nobilis* L.), fitoterapötik ürün olarak değerlendirilen ekonomik değere sahip bir diğer önemli bitkidir (Resim 1.7.). Uzun yıllardır yapraklarından yararlanılan bitkinin kurutulmuş yaprakları yemeklerde koku ve tat verici olarak değerlendirilmektedir. Hatay ve Mersin yörelerinde de üretilen defne ağacı ülkemiz ihracatında da önemli paya sahiptir.



Resim 1.7. Defne (*Lauris nobilis* L.) (URL-2, 2018)

Lauraceae familyası Laurus cinsine ait olan defne yaklaşık 40 cins 2500 tür içermektedir. Tropikal Asya, Amerika, Afrika ve Akdeniz ülkelerinde yayılış göstermekte olup ülkemizde tek türü bulunmaktadır (Seçmen ve ark., 1995). Akdeniz bitki örtüsünün karakteristik bitkilerinden olan defne tüm kıyı şeridi boyunca yayılış göstermekte ve 600-800 m yüksekliklerde rastlanmaktadır (Parlak, 2006). Defne yapı itibarıyla maki bitkisidir, her dem yeşil olup kökleriyle güçlü bir donanımına sahiptir. Çok miktarda kök ve gövde sürgünü verir, aynı zamanda gövde kabuğu koyu gri, siyaha yakın renkte ve pürüzsüzdür. Taze sürgünleri yeşil, sonraları kırmızımsı siyah renkte ve tüysüzdür (Zeybek ve Zeybek, 1994; Baytop, 1999; Yazıcı, 2002). Yapraklarının hasadı Temmuz ve Ekim ayları arasında olup, meyveleri Eylül ve Ekim arasındadır. Defne yaprağı hasat sonrası kurutulması, içerdği etkili kimyasal bileşimin daha uzun süre dayanması için yapılmaktadır (Erden, 2005).

Defne bitkisi birçok kullanım alanına sahiptir. Kurutulmuş yaprakları gıda endüstrisi için önemli olup, yapraklarından temin edilen uçucu yağ tat ve çeşni verici olarak değerlendirilmektedir. Meyvelerinden elde edilen sabit yağ ise gıda ve kimya endüstrisinde, ilaç, kozmetik alanlarında kullanılır. Özellikle prina yağı ile karıştırılıp imal edilen defne sabunu saç dökülmesi, cilt hastalıkları için kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Defne yapraklarının güçlü bir antibakteriyel etki gösterdiği birçok çalışma ile ortaya konmuştur (Sangun ve ark., 2007; Karadeniz, 2001). Bunun yanında ağrı kesici, antiseptik ve mide rahatsızlıklarında da önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu etkilerin ise yapraklarından temin edilen uçucu yağ bileşenlerinden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Bitkinin yaprağında bulunan uçucu yağ oranı %0,5-4,69 arasında değişim göstermektedir. En önemli kimyasal bileşeni 1,8 sineol (ökaliptol) (%35-70) olup diğerleri α -terpinenilacetate, α -pinen (%4-8), β -pinen (%3-5), limonen (% 1-4), terpinen-4-ol (% 2-3), metil öjenol (% 1-3), para-simen (% 0,04-3), linalool ve sabinene'dir. Sangun ve ark. (2007), Hatay'da farklı bölgelerde defne yaprak uçucu yağın kimyasal içeriğini belirlediği çalışmada ana bileşen olarak 1,8- cineole (% 46,61-59,94), α -terpinylacetate (% 11,94-25,70), α -pinene (% 3,66-2,61) sabinene (% 14,05-7,83) ve terpinen-4-ol (% 1,82-2,20) olarak tespit etmişlerdir. Hatay yöresinde yapılan bir diğer çalışmada ise en önemli bileşen 1,8-cineole (% 43,37- 59,94) olarak gözlenmiştir (Karadeniz, 2001).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriyel balık hastalıklarına karşı antimikrobiyal ajanların yerine alternatif olarak değerlendirilebilmesi hususu, defne gibi uçucu yağ içeriği zengin ve güçlü bir antiseptik özellik taşıması ile balık hastalıkları alanında birçok araştırmacı tarafından incelenmesine olanak sağlamıştır. Tural ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, kekik (*Thymus vulgaris* L.), defne (*Laurus nobilis* L.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve maydanoz (*Petroselinum crispum* L.) uçucu yağlarının balık patojenleri üzerindeki antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, test edilen tüm uçucu yağlar balık patojen bakterilerine karşı inhibitör etki göstermiş ve inhibisyon zonları 6,00 ile 36,00 mm arasında değişmiştir. En duyarlı bakterilerden birisinin defne olduğu bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada, *Aeromonas hydrophila*'nın da dâhil olduğu 7 bakteri türüne karşı *L. nobilis* uçucu yağı test edilmiş ve en güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Snuossi ve ark., 2016). Birinci Yıldırım ve Türker (2018), birçok bitkiye ait hidrodistilasyon yöntemi ile elde ettikleri uçucu yağları, yedi balık patojeni üzerinde denemeler ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Yedi uçucu yağın [zahter, (*T. spicata*), kekik (*T. vulgaris*), defne (*L. nobilis*), tarçın (*Cinnamomum verum*), altın otu (*Helichry sumplicatum*) ve yalancı melisa (*Aloysiadi triodora* Paláu)] iyi bir antibakteriyel aktivite sergilediklerini raporlamışlardır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Bitki örnekleri

Hatay yöresinden sonbahar döneminde bitki örnekleri çiçeklenme başlangıcı zamanında toplanmıştır (Ekim-Kasım- Aralık). Bitki örneklerine (*Thymbra spicata* L., *Lavandula stoechas* L., *Lauris nobilis* L.) ait yapraklar 35 °C’de kurutularak muhafaza edilmiştir. Antimikrobiyal etki analizi için bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ise hidrodistilasyon yöntemi ile ekstrakte edilmiştir.

2.1.2. Bitki uçucu yağlarının elde edilmesi

Bitki örneklerinden uçucu yağ temini Hidrodistilasyon metoduyla gerçekleştirilmiştir. Distilasyon işlemi Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bu metotta, bitki örnekleri Clavenger aparatının balon içerisine tartılarak konulmuştur. Isıtma işlemine geçmeden evvel denge haznesine kadarpiset yardımıyla su eklenmiştir. Isıtılan materyalin kaynamasıyla oluşmuş su buharı ile uçucu yağ soğuk su sisteminin geçtiği yere ulaşmış, buharlaşan su ve gaz haldeki uçucu yağ yoğunlaşmış ve yağ toplama kabında birikmeye başlamıştır. 2-3 saat sonra kaynama sonlandırılmış soğuma gerçekleşmiştir. Ölçümden sonra çeşme yardımı ile uçucu yağ alınmış ve işlem tamamlanmıştır (Resim 2.1) (Şarer ve ark. 1996, Rasooli ve Mirmostafa 2003). Elde edilen uçucu yağlar koyu renkli kapaklı cam şişelere alınarak, denemelerde kullanılmak üzere +4 °C’de tutulmuştur.



Resim 2.1. Uçucu yağın elde edilmesi

2.1.3. Bitkilerin analize hazırlanması

Bitki uçucu yağlarının (defne: *Laurus nobilis*, karabaş: *Lavandula stoechas*, zahter: *Thymbra spicata*) üzerilerine 4 ml hekzan ilave edilmiştir. Sonra bu yağların antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir.

2.1.4. Test mikroorganizmaları

Bu çalışmada 2 gram pozitif ve 2 gram negatif mikroorganizma kullanılmıştır. Gram negatif bakteri olarak; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* klinik izolatusu, Gram pozitif olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 kullanılmıştır. Bakteri suşları İstanbul Medical Park Göztepe Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir. Bu mikroorganizmalar, önemli patojenler olmalarıyla beraber çok sayıda araştırmacı tarafından çalışma konusu olan antibakteriyel kapasiteleri nedeniyle seçilmiştir. Mikrobiyolojik analizler Munzur Üniversitesi Pertek Sakine Genç Meslek Yüksek Okulu Laboratuvarında yapılmıştır (Resim 2.1).



Resim 2.2. Munzur üniversitesi Pertek Sakine Genç meslek yüksekokulu laboratuvarı

2.1.5. Mikroorganizma kültürlerinin hazırlanması ve ekim

Bakteri suşları; Nutrient Buyyon'a aşılacak $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat süre ile inkübe edilecektir. Sıvı besiyerinde gelişen kültürler, McFarland (0.5) standart tüpüne göre bulanıklık ayarı yapıldıktan sonra buyyon tüplerine aktarılmıştır. Erlenmayerde steril edilen ve $45-50^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulan Müller Hinton Agar, yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanarak bakterilerin buyyonda ki kültürü ile %1 oranında aşılaraq (10^6 bakteri/ml) iyice çalkalandıktan sonra 9 cm çapındaki sterilpetri kutularına 15'er ml konularak ve besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Uçucu yağların gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) analizi

Uçucu yağ kimyasal kompozisyonları, Gaz Kromatografi Kütle Spektrofotometresi (GC-MS) kullanılarak saptandı. Analizi yapılacak uçucu yağa hekzan ilave edilerek 1:100 oranında seyreltilmesi sağlanmış, örnekler bu konsantrasyonda cihaza verilmiştir. Uçucu yağların bileşenleri, Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Analiz Laboratuvarında gaz-kromatografi yöntemi ile saptanmıştır.

Uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi ThermoScientific ISQ SingleQuadrupole model gaz kromatografi cihazı ile aşağıdaki şartlar altında gerçekleştirilmiştir. TG-Wax MS-A model, 5% PhenylPolysilphenylene-siloxane, 0.25 mm iç çap x 30 m uzunlukla, 0.25 µm film kalınlığına sahip kolon kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/dak akış hızında helyum (%99,9) kullanılmıştır. İyonizasyon enerjisi 70 eV, kütle aralığı m/z 1,2-1200 amu olarak ayarlanmıştır. Veri toplamada tarama modu (ScanMode) kullanılmıştır. MS transfer line sıcaklığı 250°C, MS iyonizasyon sıcaklığı 220 °C, enjeksiyon port sıcaklığı 220 °C, kolon sıcaklığı başlangıçta 50°C olup 3°C/dak ısı artış oranı ile 220°C ye kadar yükseltilmiştir. Her bileşiğin yapısı Xcalibur programı ile kütle spektrumları kullanılarak tanımlanmıştır.

2.2.2. Disk difüzyon metodu

Antimikrobiyal duyarlılık testlerinin yapılmasında ve sonuçların belirlenmesinde etkin olarak Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) Standartları uygulanmaktadır. Duyarlılık analizlerinde (antimikrobiyal) dilüsyon ve difüzyon olarak iki metottan faydalanılır (NCCLS, 2000). Çalışmamızda disk difüzyon metodu uygulanmıştır.

Katılaştıran agar üzerine daha önceden 200 µL bitki uçucu yağ örnekleri emdirilen diskler bırakılmıştır. Petri kutuları bekleme periyodu sonunda (4°C'de 1.5-2 saat) bakteri aşıl原因 olarak plaklar inkübasyona bırakılmıştır (37±1°C'de 24 saat). Çalışma 3 paralel olarak yürütülerek ve sonuçlar ortalama değer olarak inhibisyon zonu (mm) şeklinde değerlendirilmiştir (Collins ve Lyne, 1987; Özçelik, 1992). Kontrol için standart antibiyotik disk olarak ampicilin sulbaktam kullanılmıştır. Tüm test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite 3 kez tekrarlanmıştır.

2.2.4. Mikrodilüsyon broth yöntemi (MİK)

Bitki esansiyel yağlarının mikroorganizmalara karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu'nu (MİK) belirlemek amacıyla mikrodilüsyon broth yöntemi kullanılmıştır (NCCLS, 2000). Bakteriler için Mueller Hinton Broth (Accumix® AM1072) besiyeri kullanılmıştır. Mikroorganizmaların pasajları 37±1°C'de 18-24 saatlik broth kültürlerinde 25±0.1°C'de hazırlanmıştır ve bulanıklık 0.5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Bu esansiyel yağlar önce maksimum 100µL konsantrasyonda incelenmiştir ve ardından 100 µL

den 6.25 µL ye kadar 5 sefer seri 2 katlı dilüsyonlar broth içeren aseptik mikrotitre plakaları üzerinde yapılmıştır. Seyreltmeler optik yoğunluk ölçerde okunmuş, buyyon kültürlerde kontrol edilmiştir. Daha sonra üreme açısından mikropalaklar değerdendirilebilmesi için bakteriler inkübe edilmiştir (37±1°C'de 18-24 saat).Her kuyucuğa 50 µL mikroorganizma süspansiyonu 5x10⁵ CFU / mL bakteri olacak şekilde ilave edilmiştir. Mikroorganizmaların çoğalmasını önlemek için kullanılan bitkilerin nominal değeri için o numunenin en küçük değeri olarak tanımlanmıştır. Kuyucuklarda renk değışiminin olmadığı yani mikrobiyal büyüme olmayan son tüp kullanılan bitki örneklerinin MİK değeri olarak kabul edilmiştir (mg mL⁻¹). Testler üç tekerrürlü yapılmıştır.

2.2.4. İstatistiki analiz

İstatistiksel analizler SPSS 20 (Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu ShapiroWilk testi ile değerdendirildi. Gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde OneWay ANOVA ve çoklu karşılaştırmalarda Tukey testi kullanıldı. Nicel veriler ortalama ± standart hata (Ort.±SH) olarak ifade edildi ve p<0.05 değerliğı anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. GC-MS Analiz Sonuçları

Su distilasyonu sonucu elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonu Tablo 3.1 de verilmiştir. Analiz sonucunda uçucu yağlardaki ana bileşenlerin oransal büyüklükleri göz önünde tutulduğunda Zahter uçucu yağının ana bileşeninin Gamma-Terpinene (%35.27), defnenin Eucalyptol (%43.82), karabaş otunun ise Fenchone (%46.12) olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.1. Uçucu yağların kimyasal kompozisyonu (%)

Bileşenler	<i>Thymbraspicata</i> (Zahter)	<i>Laurisnobilis</i> (De fne)	<i>Lavandulastoechas</i> (K arabaş otu)
α -Pinene	1,34	6,18	3,99
α -Thujene	3,45	1,47	
Camphene		14,02	3,09
Myrcene	3,27		1,29
α -Terpinene	6,46	1,99	
D-Limonene	0,84		
Eucalyptol		43,82	16,13
Chamazulene			0,37
γ -Terpinene	35,27	0,66	
P-Cymene	13,30	2,34	0,63
Terpinolene		0,22	
Fenchone			46,12
Geranylacetate			
Linalool			11,32
LinalylAcetate		3,18	2,25
Caryophyllene			0,84
3-Cyclohexen-1-ol	2,06	1,55	2,28
Terpineol			1,40
Borneol	0,18	0,33	0,30
β -Bisabolene	0,30		1,54
Carvone			0,82
Benzaldehyde			
Geraniol			
1-Phenylaziridine			
β -Caryophylleneoxide			2,24
Spathulenol			
Thymol	5,25		
Carvacrol	25,04		
Sabinene		12,57	
Trans-Sabinenehydrate	0,34	1,01	
β - Pinene	0,70	3,33	
4-carvomenthenol		2,71	
Norbornan			2,74
Eugenol		2,84	
Terpinen-4-ol	0,73		
Total	98,53	98,22	97,35

3.2. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Defne, karabaş ve zahter bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal etkileri, diğer bir deyişle mevcut çalışmada incelenen bakterilerin sebep olduğu hastalıklara karşı gösterdikleri iyileştirme potansiyelleri, agar disk difüzyon metoduna göre inhibisyon zon çapı (mm inhibisyon zon çapı⁻¹), Mikrodilüsyon broth yöntemine göre mikroorganizma üremesinin olmadığı minimal inhibisyon konsantrasyonu (µL) niteliksel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 3.2-3, Şekil 3.1-2).

3.2.1. Disk difüzyon metodu

Uygulanan antimikrobiyal duyarlılık testlerine göre; Defne uçucu yağı *P. aureginosa*, *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterilerinin gelişimini statik hale dönüştürerek (durdurarak) 10.3±0.3 mm inhibisyon zon çapı⁻¹ ve 8.6 ±0.3 mm inhibisyonzon çapı⁻¹ ile dar etki spektrumuna sahip bir antimikrobiyal özellik göstermiştir (Tablo 3.2., Şekil 3.1.) (p<0.01). Standart antibiyotik ampisilin sulbaktam ile kıyaslandığında *P. aureginosa* üzerinde aynı spekturum da (10.3 mm inhibisyon zon çapı⁻¹), *K. pneumoniae*, *E. faecalis* ve *S. aureus* üzerinde ampisilin'nin gösterdiği 29.3-29.6 mm inhibisyon zon çapı⁻¹ ile daha düşük (p<0.01) ya da olmayan (p>0.05) bir etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu veriler defne esansiyel yağının; denenen miktarlarda *K. pneumoniae* üzerinde antimikrobiyal etki spekturumunun olmadığı, *P. aureginosae*, *E. faecalis* ve *S. aureus* üzerindeki etkisi ise, bakteriyostatik ilaçların etkileşimi ile aynı grupta olduğunu kanıtlamaktadır.

Zahter uçucu yağı 250 µL'lik konsantrasyonunun bakteriler üzerinde gösterdiği inhibisyon zon çapı⁻¹ sırasıyla; *P. Aureginosa* ve *E. faecalis*'de 10,3 mm, *K. pneumoniae*'de 8,6 mm ve *S. aureus* üzerinde 12,3 mm olarak saptanmıştır. Standart antibiyotik ampisilin sulbaktam' a göre; *P. aureginosa* üzerinde aynı etkiye sahip diğerlerinde ise daha düşük etkiye sahip inhibisyon zonu görülmüştür (Tablo 3.2.). Elde edilen veriler zahter uçucu yağının *P. aureginosa* ve *E. faecalis*, *K. pneumoniae* bakterilerinin üremelerini durduracak inhibitör etkiye (p<0.01), *S. aureu* sbakterisini ise tamamen yok eden bakterisid etkiye (p<0.01, p<0.001) sahip olduğu ispatlanmıştır.

Karabaş bitkisinden elde edilen esansiyel yağın antimikrobiyal duyarlılığı incelendiğinde; *K. pneumonie* dışındaki tüm test edilen bakterilerin üremesini durduran

inhibisyon zon çapı⁻¹ ile antibakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (10,3-8,6 mm inhibisyon zon çapı⁻¹).

Tablo 3.2. Disk diffüzyon yöntemi kullanılarak 200 Mikrolitre konsantrasyonda Defne, Zahter, Karabaş uçucu yağları emdirilmiş disklerin mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkileri

Balık Patojeni Mikroorganizmalar	İnhibisyon zon Çapı (mm inhibisyon zon çapı ⁻¹)			
	Bitki esansiyel yağları			Pozitif Kontrol
Bakteriler	Defne esansiyel yağı (4)	Zahter esansiyel yağı (5)	Karabaş esansiyel yağı (9)	Standart Antibiyotik
<i>P. aeruginosa</i>	10.33±0.3 ^c	10.33±0.3	10.33±0.3 ^c	10.33±0.3 ^c
<i>K. pneumoniae</i>	-	8.66±0.3 ^c	-	29.66±0.3 ^{cd}
<i>E. faecalis</i>	10.33±0.3 ^c	10.33±0.3	8.66±0.3 ^c	29.33±0.33 ^{cd}
<i>S. aureus</i>	8.66±0.3 ^c	12.33±0.3 ^d	10.33±0.3 ^c	29.33±0.33 ^c

Pozitif Kontrol: ampisilinsulbaktam 20 µg disk⁻¹. Negatif kontrol kullanılmadı. Zon çaplarının yorumlanması (mm); zon çapı >11 mm (bakterisid; p<0,0001; cd, p<0.001; d), bakteriyostatik= 8-10 c: p<0.01, duyarlı değil (-) (a: p>0.05)

3.2.2. Mikrodilüsyon broth yöntemi (MİK)

Defne uçucu yağının gösterdiği bakteriyostatik etkiyi doğrulamak ve en düşük konsantrasyondaki değerini öğrenmek için MİK değerine bakıldığında *P. aeruginosa* üzerinde 100 µL, *E. faecalis* ve *S. aureus*' un gelişimleri üzerinde Mik: 50 µL olduğu ve daha düşük konsantrasyonlarda ise bakteri üremesinin gerçekleştiği fakat etkili olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 3.3., Resim 3.2.). Bu uçucu yağ'ın 250 µL' den başlayıp 6.25 µL' ye kadar olan tüm konsantrasyonlarında *K. pneumoniae* üzerindeki antimikrobiyal etkisi her iki metot ile incelendiğinde: herhangi bir antibakteriyel etkinin olmadığı görülmüştür (Tablo 3.2, 3.3. ve Resim 3.1., 3.2.) (p>0.05).

Zahter uçucu yağı için MİK Değeri değerlendirildiğinde bu esansiyel yağın 100, 50, 25, 12.5, 6.25 µL'lik konsantrasyonlarının *P.aeruginosa*'nın üremesini engelleyemediği, *K.*

pneumoniae, *E. faecalis* bakterilerinin gelişimini engelleyen en düşük konsantrasyonun (MİK) 50 µL, *S. aureus*' un ise 25 µL olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.3., Resim 3.3.).

Karabaş uçucu yağının MİK değerine bakıldığında bu esansiyel yağın *K. pneumonie* dışındaki bakterilerde en düşük konsantrasyonun 25-50 µL olduğu saptanmıştır (Tablo 3.3, Resim 3.3).

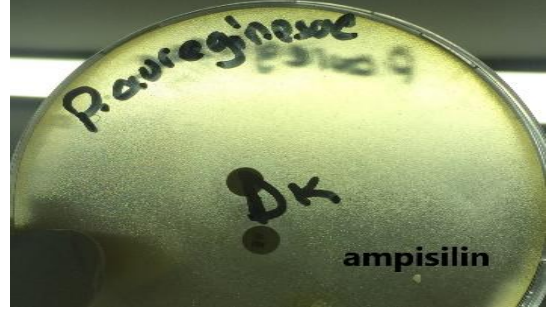
Etkili bir tedavi için infeksiyon yerinde antibiyotiğin, mikroorganizmanın en azından üremesini durduracak (inhibitör) konsantrasyonlarda bulunması gerekir. Bu nedenle antibiyotik uygulamasında, antibiyotik dozunun ve doz aralıklarının, antibiyotik konsantrasyonu, minimal inhibitör konsantrasyon (MİK)'un altına düşmeyecek şekilde ayarlanması düşünülmektedir (Kaygusuz ve Töreci, 1998). Bu yüzden çalışmamızda kullanılan doğal bileşiklerin daha önceki literatür çalışmalarında ifade edildiği gibi en az toksik etkiye sahip oluşları ve elde ettiğimiz sonuçların patojen bakterilerin üremelerini durduracak inhibitör konsantrasyonlarda olması bu uçucu yağların belirli dozlarının kullanılan patojen mikroorganizmaların sebep olduğu hastalıklar üzerinde etkili bir tedavi şeklini oluşturacak profil özelliği taşıdığını kanıtlamıştır.

Tablo 3.2. Minimum inhibisyon konsantrasyonu ile (MİK:100 µL) 4: Defne, 5: Zahter ve 9: Karabaş esansiyel yağlarının en düşük dozajdaki antibakteriyel etkileri

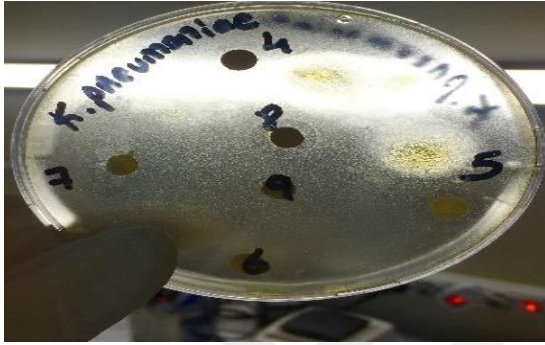
Balık Patojeni Mikroorganizmalar	İnhibisyon Bölgesi (µL)		
	MİK Değerleri		
Bakteriler	4: Defne esansiyel yağı	5: Zahter esansiyel yağı	9: Karabaş esansiyel yağı
<i>P. aeruginosa</i>	100	-	50
<i>K. pneumoniae</i>	-	50	-
<i>E. faecalis</i>	50	50	25
<i>S. aureus</i>	50	25	50



P. aeruginosa



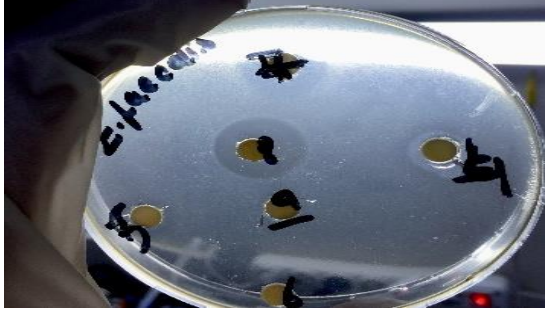
P. aeruginosa



K. pneumoniae



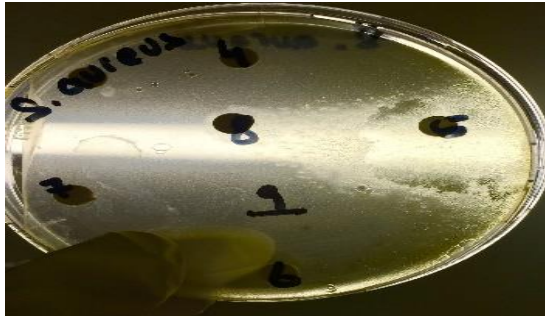
K. pneumoniae



E. faecalis



E. faecalis

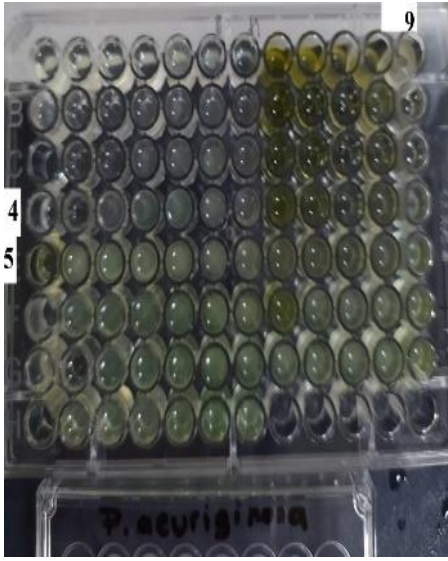


S. aureus

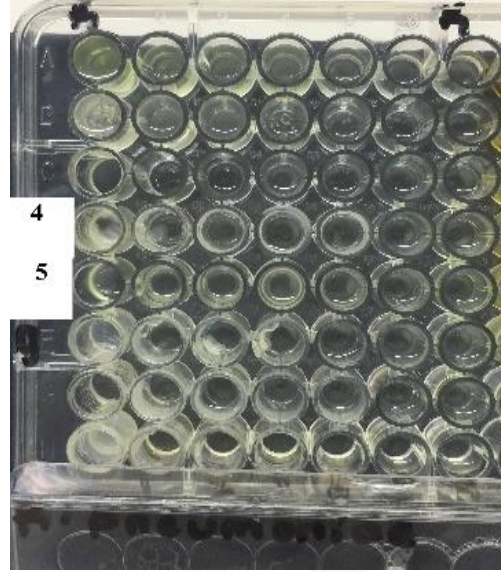


S. aureus

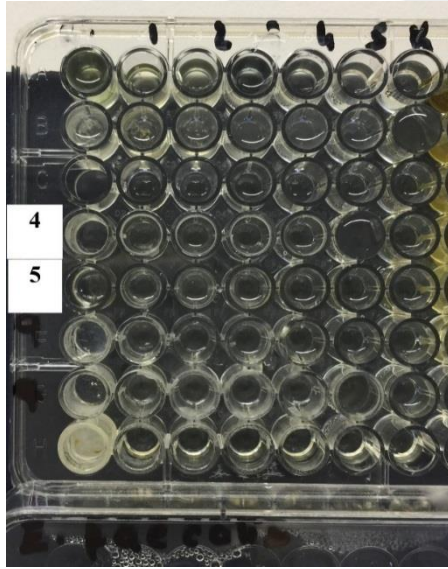
Resim 3.1. Disk Diffüzyon Metodu ile 4: *Defne*, 5: *Zahter*, 9: *Karabaş* esansiyalyağları'nın ($250 \mu\text{L disk}^{-1}$) antimikrobiyal özelliğinin petri kutularındaki görüntüsü ampisilinsulbaktam: $20\mu\text{g disk}^{-1}$



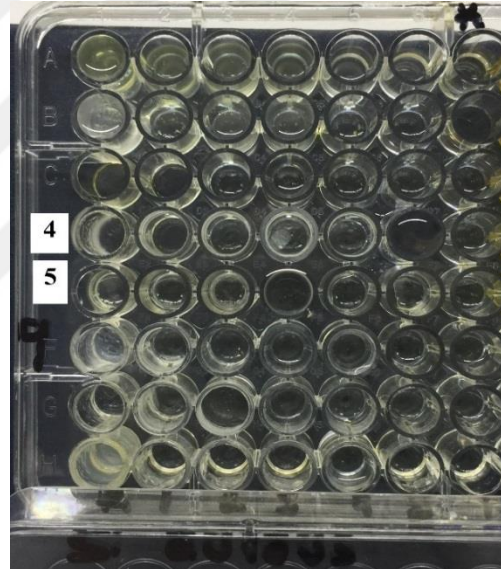
P. aeruginosa



K. pneumoniae



E. faecalis



S. aureus

Resim 3.2. Minimum inhibisyonkonsantrasyonu (MİK:100 µL) ile 4: Defne, 5:Zahter, 9: Karabaş esensiyalyağları'nınantimikrobiyal özelliğinin mikroplaktaki görüntüsü

Mikrotiter da 5 kuyu vardır. 1. kuyucuk; esensiyal yağın üzerine eklenmiş mikroorganizma kültürleri. Seyreltmeler mikroplak içindeki 2.3.4.5.6. kuyucuklarda yapılmıştır. 2. ile 6. Kuyucuklardan broth besiyeri ortamı (100, 50, 25, 12.5, 6.25 µL esensiyal yağ ilavesi + 50 µL mikroorganizma kültürleri). 4, 5, 9 ile işaretlenmiş kuyucuklar esensiyal yağların 100µL den 6.25 µL'ye kadar olarak adlandırılan konsantrasyonlarıdır.

4. TARTIŞMA

Su ürünleri yetiştiriciliği ülkemizde dahil birçok ülkede önemli geçim kaynakları arasında sayılmaktadır. Bu önem son yıllarda giderek artmakta ve bilinçli üretici-tüketici dengesi ile ülke ekonominde yer almaktadır. Bunun yanında her sektörde olduğu gibi bu sektör içinde birtakım olumsuzluklar üretimi dolayısıyla tüketimi etkilemektedir. Bu olumsuzlukların başında gelen balık hastalıkları ilk sırada bulunmaktadır. Özellikle Yetiştiricilik faaliyetlerinde önemli olan optimal koşullarda gözlenen değişimler ile balıklarda stres oluşmakta ve strese bağlı hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Bu hastalıklardan infeksiyöz kaynaklı olanların başında bakteriyel enfeksiyonlar ciddi sorunları da beraberinde getirmektedir. Bakteriyel balık hastalıkları içinde *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Yersinia* ve *Streptokokal* enfeksiyonlar birçok araştırmacı tarafından araştırılmış ve literatüre önemli katkılar sağlanmıştır(Actis ve ark., 1999; Zeng, 2004; Arda ve ark., 2005; Algamal ve ark., 2020).

Balık hastalıkları ile mücadelede su kalitesinde gerekli düzenlemeler alınabilecek en yararlı önlemlerin başında gelse de bir hastalık ortaya çıktığında yetiştiricilerin önemli bir kısmı çeşitli antibiyotik uygulamaları ile problemin ortadan kaldırılması yoluna gitmektedir (Timur ve Timur, 2003). Fakat bu uygulamalar antibiyotik dirençliliği sonucu çoğu zaman yarardan çok zarar sebep olmaktadır. Birçok çalışma ile bu durum vurgulanmış ve hastalıkların önlenmesi ve tedavi edilmesi için alternatif yöntem arayışına girilmiştir (Peterson ve ark., 2002; Schouten ve ark., 1999; Thal ve ark., 1995).

Türkiye'nin zengin bir bitki florasına sahip olması, özellikle antik çağlardan bu yana tıbbi ve aromatik bitkilerin farkındalığı ve tedavi edici etkinliklerinin bilinmesi gibi daha sayılabilecek birçok avantaj bilim insanları bu konu üzerinde çalışmaya odaklanmış ve kimyasal ilaçların ayrıca kemoterapi gibi uygulamaların olumsuzluklarını ortadan kaldırmak için alternatif olarak uygulanabileceği sonucuna götürmüştür. Bu bağlamda su ürünleri sektörü içinde yeni bir tedavi stratejisi olarak son yıllarda önemi kavranmaya başlamıştır.

Lauraceae familyası meyve ve yaprakları yağca zengin olup en önemli türü olan defne (*Lauru snobilis* L.) Akdeniz'in karakteristik bitkilerinden birisidir(Seçmen ve ark., 1995). Birçok kullanım alanı olduğu gibi antibakteriyel etkinliği ile ön plana çıkmaktadır (Sangun ve ark., 2007). Antibakteriyel etkinliğin kaynağını oluşturan bitkinin yaprağında bulunan uçucu yağ oranı %0,5-4,69 arasında değişim göstermektedir ki yapılan birçok çalışmada yağ içerikleri incelenmiş major ve minör kimyasal bileşikler belirlenmiştir.

Sangun ve ark. (2007) Hatay İli'nde defne yaprağının kimyasal bileşenleri üzerinde bir araştırma yürütmüşler ve major bileşen olarak 1,8- sineol (% 46,61-59,94) tespit etmişlerdir. Yine yapılan bir diğer çalışmada ana bileşen olarak yine aynı etken belirlenmiş ancak yağ oranının % 43,37- 59,94 arasında değiştiği diğer önemli bileşenlerin α -terpinenilacetate, α -pinene, linalool, sabinene, terpinen-4-ol, β -caryophyllene ve α -terpineol olduğu gözlenmiştir (Karadeniz, 2001). Karık ve ark. (2015) Karadeniz, Marmara, Ege ve Akdeniz olmak üzere dört bölgeden defne örnekleri temin etmişler uçucu yağ oranlarının %0,4-4,5 arasında değişim gösterdiğini raporlamışlardır. Uçucu yağ bileşenlerinin ise 1,8-sineol (%31,87-67,56), α -terpinil asetat (%4,09-22,22), α -terpineol (%0,94-16,08), linalool (%0,40 – 13,04), terpinen-4-ol (%2,31- 9,22) ve sabinene (%0,56-9,08) olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda defne yaprağına uçucu oranlarına ait veriler eucalyptol (1,8-sineol) (%43.82), camphene (%14,02), α -pinen (%6,18), linellilasetet (%3,18), p-cymene (%2,34), α -terpinen (%1,99)'dir. Verilerimiz ana bileşen olarak diğer araştırmalarla uyumlu bulunmuştur, ancak uçucu yağ miktarlarında gözlenen değişimler hasat, bitkinin toplandığı dönem, ilkim koşulları, yöre farkı vb. durumların etkisi ile oluştuğu tahmin edilmektedir.

Su ürünleri yetiştiricileri için defne yaprağının güçlü bir antiseptik olması balık hastalıklarının tedavisinde kullanımı için iyi bir alternatif olarak değerlendirilmiş birçok araştırmacı bu konu üzerinde çalışmalar yürütmüştür (Snuossi ve ark., 2016; Yıldırım ve Türker 2018). Balık patojenleri (*Yersinia ruckeri* two strains (a ve b), *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas salmonicida* and *Aeromonas veronii*) üzerindeki antibakteriyel etkinliği belirlenmesi için defne yaprağı uçucu yağının da kullanıldığı bir çalışmada inhibisyon zon çapları 6,00-36,00 mm arasında değişmekle beraber balık patojenleri üzerinde inhibitör etki sağlandığı rapor edilmiş ayrıca kekik, defne ve biberiyeden elde edilen uçucu yağların bakteriyel balık patojenlerine karşı doğal antibakteriyel ajan olarak kullanılabileceğini ortaya konmuştur (Tural ve ark., 2019). Tural ve Turhan (2017), kekik, biberiye ve defne uçucu yağlarının ayrı ve miks olarak antibakteriyel aktivitesini araştırmış, *S. aureus*, *E. coli* ve *L. monocytogenes*'e karşı en yüksek aktivitenin 39.33 mm, 28.00 mm ve 30.67 mm zon çapı ile kekik uçucu yağının gösterdiğini raporlamışlardır. Benzer sonuçlar Sarıcaoğlu ve Turhan (2018) tarafından da bildirilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz *L. nobilis* uçucu yağına ait sonuçlar diğer çalışma bulgularıyla *K. pneumoniae* hariç denenen tüm bakteriler üzerinde nispeten daha dar bir etki spektrumu (*P. aureginosa*, *E. faecalis* için 10.3±0.3 mm, *S. aureus* için 8.6±0.3 mm inhibisyon zon

çapı⁻¹) göstermiştir. İnhibisyon zon çapında izlenen farklılıklar, uçucu yağların bakteri hücre zarının lipid yapısına nüfuz etmesi, yapısını bozup tahribatına yol açması ile muhtemeldir.

Santoyo ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada *L. nobilis* yapraklarının antimikrobiyal etkinliğini *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* türleri üzerinde minimum inhibisyon konsantrasyonları ve disk difüzyon zon çap ölçümleri ile belirlemiş ve tüm suşların oldukça yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirmişlerdir. En yüksek inhibisyon zonu (25 mm) ve en düşük MBC (minimum bactericidal concentration) (1,25mg/ml) değerine sahip *S. aureus*' un en duyarlı mikroorganizma olduğunu tespit etmişlerdir. Bir diğer araştırmada, bitkisel yağların % 1, 10 ve 15'lik konsantrasyonlarda birkaç mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi çalışılmış ve *L. nobilis* uçucu yağı %1'lik konsantrasyonunda dahi *B. cereus*, *E. faecalis* üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiği raporlanmıştır. %15 ise *Salmonella yphimurium*, *S. aureus*, *E. coli* ve *Yersinia enterocolitica* üzerinde de antimikrobiyal etkinlik saptanmıştır (Özcan ve Erkmen, 2001). Dadaloğlu ve ark. (2004) *S. aureus*'a karşı inhibitör etkinliğini en yüksek kekik daha sonra ise sırasıyla lavanta ve defne olarak bildirmişlerdir. Defne uçucu yağının bakteriyostatik etkisi elde ettiğimiz bulgulara göre *P. aeruginosa*'nın büyümesini 100 µL, *E. faecalis* ve *S. aureus* büyümesini ise 50 µL de inhibe ettiği görülmüştür. *K. pneumoniae* üzerinde ise herhangi bir antimikrobiyal etki gözlenmemiştir. Nakahara ve Alzoreky (2003), defne (*Laurus nobilis*) uçucu yağının *L. monocytogenes* ve diğer patojenlere karşı bakterisidal aktivitesinin olduğunu, Çenet vd (2006), defne uçucu yağının *S. aureus*, *E. coli* ve diğer patojenlere antibakteriyal etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bulgular çalışmamızda *L. nobilis* yağının *S. aureus* üzerinde etkinlik (bakteriostatik etki) göstermesi ile uyumlu olsada etki mekanizmalarındaki farklılıklar göze çarpmaktadır. Farklı sonuçlar hem aynı cinsin farklı türlerinden hem de içerdikleri etken bileşiklerin miktarından kaynaklanabilmektedir. Bunun yanında genotip, kemotip, coğrafi köken, çevre ve toprak koşulları etkin olan diğer parametreler arasında sayılabilmektedir (Hacıoğlu, 2005).

Çalışmamızda test mikroorganizmaları üzerinde denediğimiz bir diğer bitki olan zahter (*Thymbra spicata*) Lamiaceae familyasında yer alan önemli bir ticaret ürünüdür. Birçok kullanım alanına (baharat, bitkisel çay, bitkisel yağ vb.) da sahip olması ile uzun yıllardır halk arasında kullanılmaktadır. Bunun yanında güçlü bir antiseptik olması özellikle içeriğinde yer alan karvakrol ve timol gibi etken maddelere sahip olması birçok araştırmacının bu bitki üzerinde yoğunlaşmasına sebep olmuştur (Baydar ve ark., 2004; Kılıç, 2006; Dirican ve ark., 2012; Kaya ve ark., 2013).

Zahter uçucu yağına ait bileşenler diğer çalışmalarda ana bileşen olarak karvakrol, γ -terpinen ve p-simen, düşük miktarlarda ise α -terpinen, β -karyofillen, α -pinen, timol gibi bileşenlerden oluşmaktadır (Bayan ve ark., 2017; Kızıl, 2010; Markovic ve ark., 2011). Yapılan bir çalışmada, zahter (*T. spicata* L.) bitkisinden elde edilen uçucu yağın major bileşenleri cymene (%7.17), c-terpinene (%12.30), ocymene (%10.05), ve carvacrol (%65.15) olarak tespit edilmiştir (Koçer, 2021). Maral ve Kırıcı (2019) tarafından yapılan araştırmada ise zahter uçucu yağına ait kimyasal bileşenlerin içerisinde en yüksek oranda (%29,08) karvakrol, onu ise sırayla γ -terpinene (%18,11), P-cymene (%11.22) ve α -Terpinene (%4.14) izlediği bildirilmiştir. Bayan ve ark. (2017), *Thymbra spicata* uçucu yağında ana bileşenlerin % 78.53 ile carvacrol, % 10.42 ile γ -Terpinene ve % 5.49 oranında p-cymene olduğunu raporlamışlardır. Maral ve ark. (2017) tarafından zahter bitkisinin kimyasal bileşimi ve antioksidan aktivitesi belirlenmiş %27,40 ile karvakrol, %27,0 ile α -terpinen, %14,50 ile P-simen ve %13,10 ile timolün ana bileşen olduğu bildirilmiştir. Kızıl (2010), Orta Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde florada doğal olarak büyüyen *Thymbra spicata* L. uçucu yağ varyasyonlarını belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada, ana bileşenlerin carvacrol, p-cymene ve γ -terpinene olduğunu, carvacrol oranının % 34.50 ve % 94.20 arasında değiştiğini, γ -terpinene içeriğinin % 3.04 ile % 52.98, p-cymene içeriğinin % 0.90 ile %15.97 arasında değiştiğini bildirmiştir. Çalışmamızda zahter uçucu yağının major bileşenleri γ -terpinene (%35,22), karvakrol (%25,04), p-cymene (%13,30), α -terpinene (%6,46), timol (%5,25) olarak bulunmuştur. *Thymbra spicata* uçucu yağ verimi ve uçucu yağ bileşenleri üzerinde bizim elde ettiğimiz sonuçlar önceki çalışmalarla uyumlu olduğu, Maral ve ark. (2017) ve Maral ve Kırıcı (2019) tarafından yapılan çalışmalarla ise benzer olduğu belirlenmiştir.

Akcan ve ark. (2007) tarafından yapılmış çalışmada aralarında zahterin (*Thymbra spicata* var *spicata*) yer aldığı birçok bitki uçucu yağı bazı mikroorganizmalara karşı denenmiş, antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Üç farklı doz aralığında (5, 10 ve 15 μ l) uçucu yağ emdirilmiş disklerin inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar göstermiştir ki zon çapları 8-50 mm arasında değişmiş ve en dayanıklı mikroorganizmalar *S. pyogenes* ve *S. aureus* olarak raporlanmıştır. Bir diğer araştırmada, *T. spicata* uçucu yağının (0.5 μ l) *E. coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakterisidal etkinliği incelenmiş farklı değerlerde inhibisyon zon çapı belirlenmiştir. Uygulama dozu arttırıldığında (1 μ l) *E. coli* için 28 mm, *S. aureus* için 36 mm çap inhibisyon zonu ölçümleri saptanmıştır (Dığrak ve ark., 2005).

Thymbra spicata uçucu yağının bazı bakterilere (*E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes*) karşı antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği bir çalışmada MIC değerleri sırasıyla 0.30, 0.30, 0.60 ve 1.25, µg/mL olarak bildirilmiştir (Marcovic ve ark., 2011). Ünlü ve ark. (2009) yaptıkları araştırmada *T. spicata* uçucu yağını, yirmi bir bakteri ve yedi mantar üzerinde denemiş ve geniş spektrumlu güçlü antimikrobiyal etkinlik saptamışlardır. 10-50 mm aralığında inhibisyon zon ölçümü, MİK değerleri aralığını ise 0,60–4,5 mg/ml olarak bildirmişlerdir. *T. spicata* uçucu yağının mikroorganizma üzerindeki etkinliği üzerine yapılan başka bir araştırmada (Oyardı, 2015), *M. tuberculosis* (MİK: 128 µg/ml) dışındaki tüm mikroorganizmalara (*M. tuberculosis*, *M. avium*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *T. rubrum*, *E. floccosum*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermitis*, *E. faecalis*) karşı söz konusu uçucu yağın yüksek antimikrobiyal aktiviteye (MİK: 16–64 µg/ml) sahip olduğu bildirilmiştir. Bizim bulgulamazda MİK değerleri tüm konsantrasyonlarda (100, 50, 25, 12.5, 6.25 µL) *P. aureginosa* için üremenin engellenmediği; *K. pneumoniae* ve *E. faecalis*'in 50 µL, *S. aureus*'un 25 µL ile gelişimin engellediği tespit edilmiştir. Yapılan çalışma ile elde ettiğimiz MIC değerleri antimikrobiyal olarak uyum sergilese de diğer çalışmalarla MIC değerleri arasındaki farklar uçucu yağın kimyasal yapısına etki eden mevsimsel veya coğrafi farklılıklar ile olabileceği tahmin edilmektedir (Sağdıç ve Özcan, 2003).

Karabaş, karabaş otu, karabaş lavanta olarak halk arasında eskiden beri bilinen bir diğer değerli aromatik bitki Ballıbabagiller familyasına ait *Lavandula stoechas* L.'dir. Yara tedavi edici, iltihap giderici, balgam söktürücü vb. birçok özelliği ile güçlü bir antiseptik olan karabaş bitkisi geniş bir kullanım alanına sahiptir (Öztürk ve ark., 2005; Baytop 1999).

Anavatanı Akdeniz Bölgesi olan karabaş bitkisinin çiçek kısımlarından elde edilen flavanoidler bakterioistatik ve spazmolitik aktivite göstermektedir (Nakipoğlu ve Otan, 1994). Bunun yanında uçucu yağın içermiş olduğu β-pinen, linalool, campher, terpineol, linalyl asetat, kafur, borneol, fenkan vb. kimyasal bileşikler karabaş bitkisinin uzun yıllardır tıbbi kullanımı açısından önem teşkil etmektedir (Baytop, 1984; Ceylan, 1987).

Karabaş uçucu yağının GC-MS analizi sonucu kimyasal bileşiklerinin incelendiği bir çalışmada ana komponentler olarak linalool (20–45%) ve linalil asetat (25 to 46%) belirlenmiş; minör bileşenler ise limonen, ökaliptol, terpin-4-ol ve lavandulol olarak raporlanmıştır (Góra ve ark., 2012). *L. stoechas* uçucu yağının elde edildiği bir diğer araştırmada majör bileşen kâfur (% 23,29), fenkon (% 10,87), daha düşük oranlarda ise

ökaliptol (% 4,07) ve linalol ve linalil asetat (% 1,5) bildirilmiştir (Şarer ve ark., 1993). Yapılan birçok çalışmada karabaş bitkisine ait uçucu yağ kimyasal bileşenleri yönünden incelenmiş ve majör bileşen olarak fenkon ve kafur içerdiği tespit edilmiştir (Giray ve ark., 2008; Hassiotis, 2010). Bizim yaptığımız çalışmada karabaş bitkisine ait uçucu yağ analizinde majör komponent olarak fenkon (%46,12) tespit edilmiş olup diğer çalışmalarla paralellik gösterdiği görülmüştür.

Dadalioglu ve Evrendilek (2004) tarafından yapılan bir araştırmada, karabaş bitkisine ait uçucu yağın bazı bakteriler *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* ve *S. aureus*'a için inhibitör etkisi çalışılmış ve güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada, *L. angustifolia* M. uçucu yağı Enterobacteriaceae familyasından gram negatif ve gram pozitif bakteri üzerindeki antibakteriyel etkinliği denemiş gram negatif bakterinin daha hassas olduğu raporlanmıştır (Kra'sniewska ve ark., 2017). Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) veya Enterococcus sp'nin vankomisine dirençli suşları gibi antibiyotiğe dirençli suşlara karşı *L. angustifolia*'nın güçlü bir antiseptik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Roller ve ark., 2009). Öztürk ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada karabaş uçucu yağının antibakteriyel ve antifungal aktivitesi çalışılmış *Proteus vulgaris*'e karşı kontrol antibiyotiğinden daha güçlü bir etki belirlenmiştir. Antimikrobiyal bir başka çalışmada, *L. stoechas* ekstraktının *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı antibakteriyel aktivitesi saptanmıştır (Dülger ve Uğurlu, 1999). *L. angustifolia* uçucu yağının *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel etkinliği oldukça yüksek bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada, karabaş uçucu yağının disk difüzyon yöntemine göre değerlendirilmiş, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde 10.33 mm inhibisyon zon çapı göstererek antibakteriyel etkinlik göstermiştir. *K. pneumoniae* 'nin üremesi üzerinde bir etki sağlanamamıştır. Karabaş uçucu yağının MİK değerine bakıldığında ise bu uçucu yağın *K. pneumoniae* dışındaki bakterilerde en düşük konsantrasyonun 25-50 µL olduğu saptanmıştır. Diğer alışmalarla önemli bir paralellik gösteren çalışmamızda, MİK ve disk difüzyon sonuçları arasındaki görülen farklar muhtemelen tür farklılıkları, uygulama dozları, uçucu yağın kimyasal yapısına etki eden mevsimsel farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Patojenik etkenler uzun yıllardır insanoğlunu etkilemiş ve teknolojinin ilerlemesiyle de çeşitli tedavi yöntemleri geliştirilmiş ve hastalıklar büyük ölçüde tedavi edilebilmiştir. Tedavi stratejileri sadece insanlar için değil her türlü canlı içinde kendi konularında uzman bilim insanları tarafından denenmiş ve tatmin edici sonuçlar alınmıştır. Bu sektörlerden birisi olan su ürünleri yetiştiriciliğinde de özellikle bakteriyel kökenli enfeksiyonlar oldukça yaygın olup işletme açısından önemli problemler oluşturmuş ve tedavide kemoterapötik uygulamalar yapılmıştır. Bunların başında gelen antibiyotik uygulamaları daha sonraları direnç geliştirmeleri nedeniyle yerini daha doğal, daha zararsız ve halk arasında da geçmişten bu güne kullanılan bitkilere tedavi yöntemlerine bırakmıştır.

Coğrafik açıdan uygun iklim çeşitliliği ile zengin bir bitki florasına sahip olan ülkemiz tıbbi kökenli aromatik bitkiler açısından da önemli bir konuma sahiptir. Bu bitkilerin yetiştiriciliği yapılabildiği gibi doğada kendiliğinden de yetişebilmektedir. Bitkisel ürünler daha ucuz, güvenilir ve uygulaması daha kolay aynı zamanda doğal olmaları yönüyle günden güne önem kazanmış son yıllarda fitoterapi (bitkisel tedavi) terimi literatüre girmiştir. Bitkilerle tedavi uygulamaları bitkilerin çeşitli kısımlarının kullanımı ile mümkün olup bunların başında gelen bitki uçucu yağları içerdikleri kimyasal bileşenlerle ile antimikrobiyal, antioksidan, antiparaziter, antiseptik vb. özellikler sağlamaktadır.

Bu tezde önemli ticaret bitkileri arasında sayılan zahter, defne ve karabaş bitki uçucu yağlarının gram negatif olarak *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*; gram pozitif olarak *Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerinde antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Kullanılan doğal bileşiklerin daha önceki literatür çalışmalarında ifade edildiği gibi en az toksik etkiye sahip oluşları ve elde ettiğimiz sonuçların patojen bakterilerin üremelerini durduracak inhibitör konsantrasyonlarda olması bu uçucu yağların belirli dozlarının kullanılan patojen mikroorganizmaların sebep olduğu hastalıklar üzerinde etkili bir tedavi şeklini oluşturacak profil özelliği taşıdığını göstermiştir. Yaptığımız çalışma ilerde konuyla ilgili çalışmalara literatür teşkil etmesi yönüyle de faydalı olacağı düşünülmektedir. Ancak, *in vitro* yaptığımız bu çalışma *in vivo* çalışmalarla da desteklenmeli, uygulanabilirliği paralel olarak değerlendirilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- Actis, L.A., Tolmasky, M.E., Crosa, J.H., 1999.** Enterococcus seriolicida and streptococcus iniae in: Fish diseases and disorders. CAB International, Oxfordshire, 304-305s.
- Adalioglu, I., Evrendilek, G.A., 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):8255-60.
- Akcan, N., Kızıl, S., Uyar, S., 2007.** Bazı uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar. *Türkiye 7. Tarla Bitkileri Kongre Dergisi*, 2:618-622.
- Algammal, A.M., Mabrok, M., Sivaramasamy, E., Youssef, F.M., Atwa, M.H., El-kholy, A.W., Hetta, H.F., Hozzein, W.N., 2020.** Emerging MDR-pseudomonasaeruginosa in fish commonlyharboropr landtox avirulence genesand blate m, blactx-m, andtet aantibiotic-resistance genes. *Scientific Reports*, 10:15961.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M., 2005.** Balık hastalıkları. Medisan Yayınları, Ankara, 61-105s.
- Austin, B., 2010.** Vibrios as causalagents of zoonoses. *Vet Microbiol*, 140:310-317.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008.** Biological effects of essentialoils: A review. *Food Chem Toxicol*; 46(2):446-475.
- Bayan, Y., Genç, N., Küsek, M., Gül, F., İmecik, Z., 2017.** Determination of chemical compositions, antifungal, antibacterial and antioxidant activity of thym braspicata L. from Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26 (12) 7595-7599.
- Baydar, H., Marquard, R.A., Karadoğan, T., 1999.** Isparta yöresinden toplanarak ihracat edilen bazı önemli origanum, coridothymus, thymbra ve salvia türlerinin uçucu yağ verim ve kompozisyonu. *Türkiye 3. Tarla Bitkileri Kongresi*, 15–18 Kasım, Adana, (Sunulu Bildiri) Cilt II, Endüstri Bitkileri, 416–420.
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., Karadoğan, T., 2004.** Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thym braand Satureja species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15(3):169-172.
- Baytop, T., 1999.** Türkiye’de bitkiler ile tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 194-195s.
- Birinci Yıldırım, A., Türker, H., 2018.** Antibacterial activity of some aromatic plantessential oils against fish pathogenic bacteria. *Limnofish-Journal of Limnology and Fresh water Fisheries Research*, 4(2):67-74.

- Burt, S.,** 2004. Essential oils: the iranti bacterial properties and potential applications in food: A review. *Food Microbiol*, 94: 223-253.
- Calo, J.R., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Ricke, S.C.,** 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems: A review. *Food Control*, 54:111-119.
- Dadalioglu, I., Evrendilek, G.A.,** 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurusnobilis*), Spanish lavender (*Lavandulastoechas* L.) and fennel (*Foeniculumvulgare*) on common food borne pathogens. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 52(26):8255-8260.
- Dığrak, M., ToroĖlu, S., Kocabař, Y.Z.,** 2005. ay ve baharat olarak tüketlenen *teucriumpolium* l., *thymbraspicata* l. var. *spicata*, *ocimumbasilicum* l. ve *foeniculumvulgare* miller' in uçucu yağlarının vitro antimikrobiyal aktivitesi ve bazı antibiyotiklerle etkileşimleri. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(2):36- 42.
- Dülger, B., UĞurlu, E.,** 1998. *Lavandula stoechas* L.(Karabaş)'ın antimikrobiyal aktivitesi. *C.Ü. Tıp Fakóltesi Dergisi*, 20(2):99-105.
- Ekici, S., Diler, Ö., Didinen, B.I., Kubilay, A.,** 2011. Balıklardan izole edilen bakteriyel patojenlere karşı bazı bitkisel uçucu yağlarının antibakteriyal aktivitesi. *Kafkas Univ. Vet. Fak Dergisi*, 17:47-54.
- Endtz, H.P., Van Den Braak, N., Verbrugh, H.A., Van Belkum, A.,** 1999. Vancomycin resistance: status quo and quo vadis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 18:683-690.
- Erden, Ü.,** 2005. Akdeniz defnesinde (*Laurusnobilis* L.) mevsimsel varyabilite ve optimal kurutma yöntemlerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*. ukurova Üniversitesi, Adana, 57s.
- Gaafar, A., Soliman, M.K., Ellakany, H., Elbially, A., Zaki, M.S., Younes, A.M.,** 2014. Epidemiology and antimicrobial activity of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during an outbreak in Egypt. *Life Science Journal*, 11(10):1245.
- Giray, E.S, Kırıcı, S., Kaya, D.A., Türk, M., Sönmez, Ö., İnan, M.,** 2008. Comparing the effect of subcritical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*, 74(4):930-935.
- Góra, J., Lis, A.,** 2012. Najcenniejsze Olejki Eteryeczne Czł e's'c 1; Monografie Politechniki Łódzkiej, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej. Lodz, Poland, 43s.
- Goren, A.C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydogmus, Z., Pezzuto, J.M.,** 2002. The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* sp. *stoechas*. *Zeitschrift fur Naturforschung C. Journal of Biosciences*, 57(9-10):797-800.

- Gormez, O., Diler, O., 2014.** Invitro antifungalactivity of essentialoils from *Tymbra*, *Origanum*, *Satureja* species and some püre compounds on the fish pathogenic fungus, *Saprolegnia parasitica*. *Aquacult. Res.*, 45:1196-1201.
- Görmez, Ö., 2012.** Saprolegnia türlerine karşı bazı tıbbi bitkilerin esansiyel yağlarının antifungal aktivitesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 93s.
- Hacıoğlu, Ö., 2005.** Essential oil compositions and antimicrobial activity properties of seven species belongingto *Achillea* (anthemideae) genus filipendulinae and santolinoideasections. *Master Thesis*, Balıkesir University, Balıkesir, 67s.
- Hassiotis, C.N., 2010.** Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from *Lavandula stoechas* in Mediterranean region. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(4):493-501.
- İrtem, H.A., 2003.** Composition and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of thymus species in Balıkesir. *Yüksek Lisans Tezi*, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, 63s.
- Jayasena, D.D., Jo, C., 2013.** Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends Food Sci Technol*, 34(2):96-108.
- Jianu, C., Pop, G., Gruia, A.T., Horhat, F.G., 2013.** Chemical composition and antimicrobia lactivity of essentialoils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania. *Int. J. Agric. Biol.*, 15:772-776.
- Kadıoğlu Dalkılıç, L., Dalkılıç, S., Korkmaz, İ., 2020.** Geleneksel kahvaltılık zahterin antimikrobiyal etkisi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(1):128-133.
- Kamelia, M.O., Laila, A.M., Eman, H.A.R., Soliman, W.S., 2009.** Trials for vaccination of tilapia fish against aeromonas and pseudomonas infections using monovalent, bivalent and polyvalent vaccines. *World Journal of Fishand Marine Sciences*, 1(4):297-304.
- Karadeniz, H., 2001.** Hatay bölgesi defne yaprağı ve meyvesi uçucu yağının özelliklerinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Mustafa Kemal Üniversitesi, Antakya, 98s.
- Karık, Ü., Çiçek, F., Tutar, M., Ayas, F., 2015.** Türkiye defne (*Laurusnobilis* L.) populasyonlarının uçucu yağ bileşenleri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(1):1-16.
- Kaya, D.A., Arslan, M., İnan, M., Başkaya, S., 2013.** Diurnal changes on content and composition of thymbra spicata l. essential oil. *Research Journal of Biological Sciences*, 8(1):6-10.

- Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T., 2009.** HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchem J.*, 91(2):187-192.
- Kılıç, T., 2006.** Analysis of essential oil composition of *thymbra spicata* var *spicata*: Antifungal, antibacterial and antimycobacterial activities. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 61:324-328.
- Kızıl, S., 2010.** Determination of essential oil variations of *thymbra spicata* var *spicata* L. naturally growing in the wild flora of East Mediterranean and South eastern Anatolia regions of Turkey. *Industrial Crops and Products*, 32(2010):593-600.
- Koçer, O., 2021.** Hatay yöresinde yetişen *thymbra spicata* L. (Zahter/Karabaş kekiği) bitkisinin uçucu yağ oran ve bileşenlerinin belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 27:446-449.
- Koparal, A.T., Zeytinoğlu, M., 2003.** Effects of carvacrol on a human non small cell lung cancer (NSCLC) cellline, A549. *Cyto technology*, 43:149-15.
- Kraśniewska, K., Gniewosz, M., Kosakowska, O., Pobiega, K., 2017.** Chemical composition and anti microbial properties of essential oil from lavender (*Lavandula angustifolia* L.) in commercial available preparation. *Postępy Fitoter.* 18:113-118.
- Kum, C., Gökbulut, C., Akar, F., Kırcan, S., Sekkin, S., 2004.** Gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) enterococcus seriolicida izolasyonu ve etkili antibakteriyel sağaltım seçeneğinin belirlenmesi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 75(3):47-53.
- Küçükgül Güleç, A., Erecevit, P., Yüce, E., Arslan, A., Bağcı, E., Kırbağ, S., 2014.** Antimicrobial activity of the methanol extracts and essential oil with the composition of endemic *Origanum acutidens* (Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17:353-358.
- Küçükgül, A., Küçükgül, A., Gülsafak, I., 2019.** Bio-functions of carvacrol supplemented feeds on lipopolysaccharide-induced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(2):205-214.
- Lis, A. 2013.** Najcenniejsze olejki eteryczne cz. 2; Monografie politechniki łódzkiej, wydawnictwo politechniki łódzkiej: Lodz, Poland, 81s.
- Maral, H., Kirici, S., 2019.** Changes with in the daytime of essential Oil content and composition of zahter (*Thymbraspicata* L.) grown in Ermenek conditions. *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology*, 7:13-16.
- Maral, H., Türk, M., Çalışkan, T., Kafkas, N.E., Kırıcı, S., 2017.** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of six labiates growing in Southern Turkey. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 4(4):62-68.

- Markovic, T., Chatzopoulou, P., Siljegovic, J., Nikolic, M., Glamočljja, J., Ciric, A., Soković, M., 2011.** Chemical analysis and antimicrobial activities of the essential oils of *Satureja thymbra* L. and *Thymbra spicata* L. and their main components. *Archives of Biological Sciences*, 63(2):457-464.
- Mousavi, S.M., Wilson, G., Raftos, D., Mirzargar, S.S., Omidbaigi, R., 2011.** Antibacterial activities of a new combination of essential oils against marine bacteria. *Aqua cult Int.*, 19(1):205-214.
- NCCLS. 2000.** Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 5th ed. NCCLS document M7-A5. NCCLS, Wayne, PA, USA.
- Oyardı, Ö., 2015.** Tıbbi Bitkilerde Biyoaktivitenin Değerlendirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi, Ankara, 128s.
- Özcan, M., Erkmen, O., 2001.** Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. *European Food Research and Technology*, 212(6):658-660.
- Öztürk, B., Konyalıoğlu, S., 2005.** İzmir yöresindeki yabani lavandula *stoechas* l. subsp. *stoechas* taksonundan elde edilen uçucu yağın bileşimi, antibakteriyel antifungal ve antioksidan kapasitesi. *Anadolu J. of AARI*, 15(1):61-72.
- Öztürk, B., Konyalıoğlu, S., Kantarcı, G., Çetinkol, D., 2005.** İzmir yöresindeki yabani lavandula *stoechas* L. subsp. *Stoechas* taksonundan elde edilen uçucu yağın bileşimi, antibakteriyel, antifungal ve antioksidan kapasitesi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1(7):61-72.
- Peterson, A, Andersen, J.S, Kaewmak, T., Somsiri, T., Dalsgaard, A., 2002.** Impact of integrated fish farming on antimicrobial resistance in a pond environment. *Appl Environ Microbiol*, 68:6036-6042.
- Post, G., 1987.** Text book of fish health. T.F.H. Publications, Inc., Neptune City, USA. 388s.
- Quednau, M., Ahrne, S., Petersson, A.C., Molin, G., 1998.** Antibiotic resistant strains of enterococcus isolated from Swedish and Danish retailed chicken and pork. *J Appl Microbiol*, 84:1163-1170.
- Rasooli, I., Mirmostafa, S.A., 2003.** Bacterial susceptibility and chemical composition of essential oils from *tymus kotschyanus* and *tymus persicus*. *J. Agric. Food Chem* 51:2200-2205.
- Rizkiantino, R., Wibawan, I.W.T., Pasaribu, F.H., Soejoedono, R.D., Arnafia, W., Ulyama, V., Wibowo, D.B., 2020.** Isolation and characterisation of the Enterococcus faecalis strain isolated from red tilapia (*Oreochromis hybrid*) in Indonesia: A preliminary report. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 7(1):27-42.
- Roller, S., Ernest, N., Buckle, J., 2009.** The antimicrobial activity of high necrodane and other lavender oils on methicillin sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* (MSSA and MRSA). *J. Altern. Complement. Med.* 15:275-279.

- Sağdıç, O., Özcan, M.,** 2003. Antibacterial activity of Turkish spicehydrosols. *Food Control*, 14(3):141-143.
- Sangun, M.K.E., Aydın, M., Karadeniz, T.H., Çalışkan. M.,** 2007. Comparison of chemical composition of the essential oil of laurusnobilis L. leaves and fruits from different regions of Hatay. *Journal of Environmental Biology*, 28(4):731-733.
- Santoyo, S., Lloria, R., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J., Reglero, G.,** 2006 Super critical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from Laurusnobilis 60 L. Chemical and functional characterization. *European Food Research and Technology*, 222(5-6):565-571.
- Schouten, M.A., Voss, A., Hoogkamp-Korstanje, J.A.A.,** 1999. The European VRE study group antimicrobial susceptibility patterns of enterococcicausingin fections in Europe. *Antimicrob Agent Chemother*, 43:2542–2546.
- Snuossi, M., Trabelsi, N., Ben Taleb, S., Dehmeni, A., Flamini, G., De Feo, V.,** 2016. Laurusnobilis, Zingiber officinale and Anethum grave olens essential oils: composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shell fish. *Molecules*, 21:1-20.
- Şarer E, Pançalı S, Yıldız S.**1996 Origanum Minutiflorum uçucu yağının bileşimi ve antimikrobiyel aktivitesi. *Ankara Eczacılık Fak. Dergisi*, 25:30-38.
- Thal, L.A., Chow, J.W., Mahayni, R., Bonilla, H.B., Perri, M.B., Donabedian, S.A., Silverman, J., Taber, S., Zervos, M.J.,** 1995. Characterization of antimicrobial resistance in enterococci of animalorigin. *Antimicrob Agent Chemother*, 39, 2112–2115.
- Timur, G., Timur, M.,** 2003. Balık hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, İstanbul, 538s.
- Tural, S., Durmaz, Y., Urçar, E., Turhan, S.,** 2019. Antibacterial Activity of Thyme, Laurel, Rosemary and Parsley Essential Oils Against Some Bacterial Fish Pathogen. *Acta Aquatica Turcica*, 15(4):440-447.
- Turkmen, F.U., Mercimek, Takcı, H.A., Sekeroğlu, N.,** 2016. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of home made and industrial samples of breakfast zahter. *Herbal Mixture Akademik Gıda*, 14(3):242-246.
- Ulusoy, M.,** 2018. Hatay ili zahter (Thymbraspicata L.) üretim alanlarındaki fitoplazmaların ve olası vektörlerinin saptanması. *Yüksek Lisans tezi*, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 68s.
- URL-1,** 2020. <https://www.gardenia.net/plant/lavandula-stoechas-anouk-lavender>. Karabaş otu. 20 Ağustos 2021.
- URL-2,** 2018. file:///C:/Users/AZME/Desktop/bb-75Defne.pdf. Defne otu. 13 Eylül 2021.

- Ünlü, M., Vardar Ünlü, G., Vural, N., Dönmez, E., Özbağ, Z.Y.,** 2009. Chemical composition, antibacterial and antifungal activity of the essential oil of *Thymbra spicata* L. from Turkey. *Natural Product Research*, 23(6):572–579.
- Yazıcı, H.,** 2002. Batı Karadeniz bölgesinde yetişen defne (*Laurusnobilis* L.) yaprak ve meyvelerinden faydalanma imkanlarının araştırılması. *Doktora Tezi*, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak, 309s.
- Yılmaz, S.,** 2019. Karabaş otu (*Lavandulastoechas*) yağının sazan balığı (*Cyprinus carpio*) Yemlerine ilavesinin büyüme performansı ve bazı kan parametreleri üzerine etkileri. *ÇOMÜ Zir. Fak. Derg. (COMU J. Agric. Fac.)*, 7(1):187-193.
- Zeybek, N., Zeybek, U.,** 1994. Farmasötik botanik. Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, İzmir, 82-87s.

