



**T.C.
HİTİT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN FARKLI KEKİK TÜRLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN VE MOLEKÜLER
GENOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Sibel KEREM

Çorum 2021

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN FARKLI KEKİK TÜRLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN VE MOLEKÜLER
GENOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ**

Sibel KEREM

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

Yüksek Lisans Tezi

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Özlem ÖZBEK**

Çorum 2021

Sibel KEREM tarafından hazırlanan “Türkiye’de Yetişen Farklı Kekik Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin ve Moleküler Genotiplerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 06/01/2021 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

DOÇ. DR. BELGİN GÖÇMEN TAŞKIN

DOÇ. DR. ÖZLEM ÖZBEK

DR. ÖĞR. ÜYESİ ALİ SALUR

Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun
tarihli ve sayılı kararı ile’ın
..... Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Prof. Dr. Muhammed Asıf YOLDAŞ
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANI

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını beyan ederim.

İmza
Sibel KEREM

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN FARKLI KEKİK TÜRLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN VE MOLEKÜLER
GENOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ**

Sibel KEREM

HİTİT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
Ocak 2021

ÖZET

Bu çalışmada, *Labiatae* familyasının üyeleri olan ve Türkiye’de kekik adıyla bilinen *Thymbra*, *Thymus* ve *Origanum* cinslerine ait *Thymbra spicata* var. *spicata* L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus citriodorus* (Schreb), *Thymus cilicicus* Boiss. & Bal., *Origanum syriacum* L., *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis, *Origanum onites* L., *Origanum saccatum* P.H. Davis, *Origanum vulgare* L. ssp. *gracile* (C. Koch) Letswaart, *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Letswaart ve Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017) türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri ve genotipik özelliklerinin belirlenmesi hedeflendi. Soxhlet cihazıyla her bitkiden 3 farklı çözücü (hekzan, etanol ve kloroform) ile 24 saat süren ekstraksiyon işlemi sonucunda toplam 33 adet özüt elde edildi. Özütlerin *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas auriginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 bakterilerine karşı antimikrobiyal etkinliği disk difüzyon metodu kullanılarak belirlendi. Farklı kekik türlerinden üç farklı çözücü ile elde edilen özütler üç farklı konsantrasyonda dört farklı bakteri üzerine uygulandığında en yüksek düzeyde antimikrobiyal etkinin *S. aureus* bakterisinde gözlemlendiği, ikinci sırada ise *E. faecalis* bakterisinde gözlemlendiği belirlendi. Çözücü olarak kullanılan etanol ve kloroform ile elde edilen özütlerde antimikrobiyal etkili maddelerin hekzana göre daha etkili olarak elde edildiği tespit edildi. ANOVA sonuçlarında

sigma değerine göre antimikrobiyal aktivitelerinde etkinlik düzeyleri *Thymbra spicata* var. *spicata* L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus citriodorus* (Schreb), *Thymus cilicicus* Boiss. & Bal., *Origanum syriacum* L., *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Letswaart ve Kekik çeşit adayı (Tekin, 2017) türlerinde anlamlı bulunurken *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis,, *Origanum onites* L., *Origanum saccatum* P.H. Davis, *Origanum vulgare* L. ssp. *gracile* (C. Koch) Letswaart, türlerinde ise anlamlı olmadığı tespit edildi. Kekik türlerinin moleküler genotipleri 10 ISSR primeri ile karakterize edildi. Elde edilen özütlerin üç farklı konsantrasyonda dört farklı bakteri üzerindeki antimikrobiyal etkileri ile ISSR lokusları arasında *Pearson* korelasyon sonuçları oldukça güçlü pozitif korelasyonlar olduğunu gösterdi. ISSR işaretleyicileri dominant kalıtım göstermelerinden dolayı bu sonuçlar ileride yapılacak çalışmalar için n çalışma niteliğinde olup kodominant işaretleyiciler kullanılarak daha ileri düzeyde çalışmaların yapılması konusunda da teşvik edici nitelik göstermektedir. Ek olarak ISSR işaretleyicileri bu çalışmada analiz edilen kekik türlerini genel olarak cinslerine göre kümeleme konusunda da başarılı olmuştur. Sonuç olarak farklı kekik türlerinin anitmikrobiyal aktiviteleri bakımında oldukça etkili oldukları gözlendi.

Anahtar Kelimeler: ISSR, PCR, Antimikrobiyal aktivite, *Thymus*, *Origanum*, *Thymbra*, Soxhlet, Disk difüzyon metodu

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND MOLECULAR GENOTYPES OF DIFFERENT THYME SPECIES GROWN IN TURKEY

Sibel KEREM

HİTİT UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

January 2021

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the antimicrobial activities and genotypic characterization of the species *Thymbra spicata* var. *spicata* L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus citriodorus* (Schreb), *Thymus cilicicus* Boiss. & Bal., *Origanum syriacum* L., *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis, *Origanum onites* L., *Origanum saccatum* P.H. Davis, *Origanum vulgare* L. ssp. *gracile* (C. Koch) Letswaart, *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Letswaart ve Thyme variety candidate (Tekin, 2017) who are blong to the genera *Thymbra*, *Thymus* and *Origanum* respectively in the *Labiatae* family in Turkey. A total of 33 extracts were obtained as a result of the 24-hour extraction process with 3 different solvents (hexane, ethanol and chloroform) from each plant using the Soxhlet device. The antimicrobial activity of the extracts against to *Eshericia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas auriginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 bacteria was determined using the disk diffusion method. When extracts obtained from different thyme species with three different solvents were applied on four different bacteria at three different concentrations, it was determined that the highest antimicrobial effect was observed in *S. aureus* bacteria, and in the second place was observed in *E. faecalis* bacteria. It was found that antimicrobial active substances were obtained more effectively than hexane in extracts obtained with ethanol and chloroform used as solvents. Effectiveness levels in antimicrobial activities according to sigma value in ANOVA results indicated that the antimicrobial activities were significant in the species *Thymbra spicata* var. *spicata*

L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus citriodorus* (Schreb), *Thymus cilicicus* Boiss. & Bal., *Origanum syriacum* L., *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Letswaart ve Tyme Variety candidate (Tekin, 2017), while the antimicrobial activities were not significant in the species *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis, *Origanum onites* L., *Origanum saccatum* P. H. Davis ve *Origanum vulgare* L. ssp. *gracile* (C. Koch) Letswaart. Molecular genotypes of thyme species were characterized by using 10 ISSR primers. The Pearson's correlation results between the antimicrobial effects of the extracts on four different bacteria at three different concentrations and the ISSR loci showed very strong positive correlations. Since ISSR markers show dominant inheritance, these results are preliminary studies for future studies and also encourage further studies using more effective codominant markers. In addition, ISSR markers were successful in clustering the thyme species analyzed in this study according to their genus in general. As a result, it was observed that different thyme species are highly effective in maintaining their antimicrobial activities.

Keywords: ISSR, PCR, Antimicrobial activity, *Thymus*, *Origanum*, *Thymbra*, Soxhlet, Disc diffusion method

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenim hayatım boyunca bilgi ve tecrübesini esirgemedi, çalışmalarım sırasında karşılaştığım her zorlukta sabırla bana yol gösteren ve yardım eden, hayat tecrübeleri ile ışık olan, kıymetli danışmanım sayın Doç. Dr Özlem ÖZBEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunmaktan mutluluk duyarım.

PCR çalışmalarım sırasında tecrübelerinden ve bilgisinden çokça yararlandığım Funda KÜYÜK'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Antimikrobiyal kısmı ile ilgili çalışmalarımda bilgi ve tecrübelerinden fazlasıyla yararlandığım Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilimdalında Doç. Dr Öğr. üyesi Ayşe Semra GÜRESER'e, Doç. Dr Öğr. üyesi Djursun KARASARTOVA'a ve Araş. Gör. Dr Nezahat KOŞAR'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen aileme ve benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen dış ticaret ve tedarik zinciri yönetiminde yüksek lisans öğrencisi olan sevgili kardeşim İsmet KEREM'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına, FEF19002.19.001 numaralı proje kapsamında vermiş oldukları destekten dolayı, Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
RESİMLER DİZİNİ.....	xv
HARİTALAR DİZİNİ	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM	28
3.1. Materyal.....	28
3.1.1. Bitki türleri	28
3.1.2. Mikroorganizmalar.....	30
3.2.2. Soxhlet cihazıyla özütleme yöntemi	33
3.2.3. Disk difüzyon testi yapılışı.....	35
3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonları (PZR) (Polymerase Chain Reaction, PCR) hazırlanması	37
3.2.5. Verilerin istatistiksel analizi.....	38
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	40
4.1. Disk difüzyon test sonuçları	40

Sayfa

4.2. ANOVA sonuçları.....	66
4.3. ISSR PCR analiz sonuçları.....	68
4.4. Antimikrobiyal aktivite ve ISSR ile üretilen lokusları arasındaki Pearson korelasyon analizi sonuçları.....	72
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
KAYNAKLAR.....	61
EKLER.....	67
EK-1. Deneyler sırasında kullanılan laboratuvar cihazları.....	67
EK-2. Kullanılan kimyasallar ve çözeltilerin hazırlanışı.....	68
EK-3. Besi yerlerinin hazırlanışı ve bakterilerin kültüre alınması.....	71
EK-4. ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki.....	74
EK-5. ISSR PCR analizleri.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	86

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Kekik Üretim İstatistikleri TUIK verileri (Anonim, 2020a).....	3
Çizelge 1.2. <i>Labiatae</i> familyasının genel morfolojik özellikleri.....	5
Çizelge 1.3. <i>Origanum</i> cinsinin Davis (1982)'e göre taksonomik kategorileri.....	6
Çizelge 1.4. <i>Origanum</i> cinsinin genel morfolojik özellikleri.....	6
Çizelge 1.5. <i>Thymus</i> cinsinin Davis (1982)'e göre taksonomik kategorileri.....	7
Çizelge 1.6. <i>Thymus</i> cinsinin genel morfolojik özellikleri.....	7
Çizelge 1.7. <i>Thymbra</i> cinsinin yer aldığı taksonomik kategorileri.....	8
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bitki materyalinin Latince ve Türkçe adları ile örnek kod numaraları (ÖK: Örnek kodları).....	28
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar.....	30
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan UBC primerlerin adları ve dizi bilgileri.....	37
Çizelge 4.1. Etanolün çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütten 15 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları (K: Kontrol).....	40
Çizelge 4.2. Etanolün çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 20 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları(K: Kontrol)	41
Çizelge 4.3. Etanolün çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 25 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları (K: Kontrol).....	42
Çizelge 4.4. Hekzanın çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 15 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları (K: Kontrol).....	42
Çizelge 4.5. Hekzanın çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 20 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları.....	43
Çizelge 4.6. Hekzanın çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 25 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları.....	44

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.7. Kloroformun çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 15 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları.....	45
Çizelge 4.8. Kloroformun çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 20 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları.....	45
Çizelge 4.9. Kloroformun çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 25 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları.....	46
Çizelge 4.10. Farklı kekik türünden üç farklı çözücü ile elde edilen özütlerin üç farklı hacimde dört bakteri üzerine uygulanmaları sonucunda tespit edilen antimikrobiyal aktivitelerin ANOVA sonuçları (S^2 : Toplamların karesi, df: Serbestlik derecesi, M^2 : Ortalamanın karesi p : Sigma)....	51
Çizelge 4.11. Bu çalışmada analiz edilen kekik türleri arasında ISSR verilerine dayalı ve Nei'ye (1972) göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri.....	54
Çizelge E1.1. Deneyler sırasında kullanılan laboratuvar cihazları.....	69
Çizelge E2.1. A stok çözeltisinin hazırlanışı.....	69
Çizelge E2.2. B stok çözeltisinin hazırlanışı.....	69
Çizelge E2.3. C stok çözeltisinin hazırlanışı.....	69
Çizelge E2.4. DNA izolasyon çözeltisinin hazırlanışı.....	71
Çizelge E4.1. ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki.....	71
Çizelge E5.1. ISSR analizleri ile üretilen ISSR lokusları ve farklı kekik türlerinde hesaplanan alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}) ve genetik çeşitlilik (h) verileri.....	83

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Soxhlet özütör cihazı	12
Şekil 2.2. Kullanılan tekniğe göre moleküler markörler.....	17

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 1.1. Kekik bitkisi.....	1
Resim 3.1. Soxhlet özütör cihazı (3'lü balon)	34
Resim 3.2. Soxhlet özütleme işlemi sonrası çözücüsü belli bir seviyeye gelene kadar uzaklaştırılan ve balon jode kalan özüt	34
Resim 3.3. Standart boş antibiyotik disklere özütlerin emdirilmesi.....	36
Resim 3.4. Özüt emdirilmiş disklerin bakteri ekimi yapılan plakların üzerine yerleştirilmesi	36
Resim 4.1. Kekik türlerinden etanol ile elde edilen özütlerin 15 µl uygulamasının <i>E. coli</i> (A), <i>P. aeruginosa</i> (B), <i>E. faecalis</i> (C) ve <i>S. aureus</i> (D) bakteri suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivite sonuçlarından örnekler.....	47
Resim 4.2. Kekik türlerinden etanol ile elde edilen özütlerin 20 µl uygulamasının <i>E. coli</i> (A), <i>E. faecalis</i> (B), <i>P. aeruginosa</i> (C) bakteri suşları ve <i>S. aureus</i> (D) bakteri suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivite sonuçlarından örnekler.....	48
Resim 4.3. Kekik türlerinden etanol ile elde edilen özütlerin 25 µl uygulamasının <i>E. coli</i> (A), <i>E. faecalis</i> (B), <i>P. aeruginosa</i> (C) bakteri suşları ve kloroform ile elde edilen özütlerin <i>S. aureus</i> (D) bakteri suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivite sonuçlarından örnekler.....	48
Resim 4.4. UBC 818 ISSR primeri ile elde edilen bant paternlerinin örnek görüntüsü.....	52
Resim 4.5. UBC 817 ISSR primeri ile elde edilen bant paternlerinin örnek görüntüsü.....	52
Resim 4.6. UBC 808 ISSR primeri ile elde edilen bant paternlerinin örnek görüntüsü.....	53
Resim 4.10. Kekik türleri arasında filogenetik ilişkileri ISSR PCR verilerine göre gösteren dendrogram.....	55
Resim E3.1. Bakterilerin nutrient agar besi yerinde 24 saatlik inkübasyon sonucu üremesi.....	72

HARİTALAR DİZİNİ

Harita	Sayfa
Harita 1.1. Türkiye’de kekiğin yetişme alanları.....	3

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
≈	Yaklaşık
μl	Mikrolitre
bp	Baz çifti
dH ₂ O	Distile Su
dk.	Dakika
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
g	Gram
H ₂ O	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
kHz	Kilohertz
l	Litre
M	Molar
mA	Miliamper
Mg	Miligram
Mg ⁺	Magnezyum
MgCl ₂	Magnezyum klorür
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
ml	Mililitre
mm	Milimetre
NaCl	Sodyum Klorür
ng	Nanogram

Kısaltmalar

Ark.	Arkadaşları
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
ANOVA	Analysis of variance
ATCC	American Type Culture Collection
CTAB	Hexadecyl trimethylammonium Bromid
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
GC	Gaz kromatografisi
GC-MS	Gaz kromatografisi- kütle spektrometresi
ISSR	Basit Dizi Tekrarları Arası Bölgeler
LB	Luria Bertani
M.Ö	Milattan önce
MH	Muller Hinton
MHA	Muller Hinton agar
MH-F	Kanlı Muller Hinton
MIC	Minimal inhibitory concentrasyon
MİK	Minimal intibitör konsantrasyon
Mix	Karışım / karıştırmak
NB	Nutrient broth

1. GİRİŞ

Yunan mitolojisinde Troyalı Helen'in toprağa düşen gözyaşlarından kekik çıktığı anlatılmaktadır. Eski Yunan'da kekik (Resim 1.1) asaleti ve cesareti temsil etmektedir (Keykubat, 2016). Kekik bitkisinin kullanımı çok eski tarihlere dayanmaktadır (Baydar, 2006; Keykubat, 2016). *Thymus*'un Yunanca tütsülemek veya cesaret anlamına gelen 'thymon' kelimesinden türediği düşünülmektedir. Kekik, Boğazköy metinlerinde 'hasül' adıyla geçmektedir (Baydar, 2006).



Resim 1.1. Kekik bitkisi

5000 yıl önce Sümerler, kekiği hastalıkların tedavisi amacı ile kullandılar. Mezopotamya'da kekik, mumyalama işleminde kullanımının yanı sıra ilaç olarak kullanıldı. Kekik çok eski tarihlerden beri baharat ve tıbbi ilaç olarak kullanıldı ve günümüzde de halen kullanılmaktadır. Bulaşıcı hastalıklara karşı direnç oluşturmak için insanlara verildi ve bu sayede antiseptik özelliğinden yararlandı. Avrupa'da kekiğin insanları veba hastalığından koruduğuna inanıldı. Kekik, ev içlerinde tütsü gibi yakıldı, hastaların bedenlerine şifa olsun diye kekik suyu sürüldü. Selerno Tıp Okulu'nda ise Dr. Trotula tarafından şaraplı kekiği öksüren çocuklara verdiği söylenmektedir. 16. yy'da Avrupa'da kurutulmuş kekik yastıklara doldurulur ve

melankoliğe iyi geldiğine inanılırdı. Başka bir efsaneye göre de, Eski Yunan'da yaşlıların zihinsel sağlıklarını korumak için kekik çayı içtiği söylenmektedir. Romalı askerlerin kekik banyosu yaparak enerji ve dayanıklılık kazandığı söylenmekteydi. Osmanlı Devleti, kekiği çeşitli hastalıklara şifa bulmak için kullandı. Avrupa'da kekik bugün cenazelerin yanına koyulmakta ve mezarlarına ekilmektedir. Ancak batıl bir inanışa göre evin bahçesinde kekik bulundurmanın cinleri eve getirdiğine inanılmaktadır. Lübnan'da büyücü kadınlar deneylerinde kekik türlerini kullanmaktadır. Karıncaların yuvalarında bakterilere karşı etkili olması için kekik bulundurduğu söylenmektedir. Çocukların okullarında başarılı olması için kekik ve zeytinyağı ile hazırlanan sosların yedirildiği bilinmektedir (Baydar, 2006).

Mutfaklarda, çorbalarda ve yemeklerde sos olarak kekik kullanılmaktadır. Özellikle et yemeklerinde baharat olarak kullanılır. Kozmetik sanayisinde ve farmakolojide kullanılır. Süs bitkisi olarak bahçe süslemelerinde kullanıldığı bilinmektedir (Seçmen ve ark., 2004; Akman ve ark., 2007; Yıldız ve ark., 2010).

Kekik, birçok hastalığın tedavisinde alternatif olarak kullanılmaktadır. Sağlık açısından faydaları şu şekildedir: Antibakteriyel ve antiseptik etkiye sahiptir. Kurt düşürücüdür. Sinir sistemi bozukluğunda iyileştiricidir. Migren ağrılarında etkilidir. Balgam söktürücüdür. Karın ağrılarında etkilidir. Hazımsızlığı giderir. Kronik gastritte etkilidir. Astımı iyileştirir. Bulantıyı ve mide ağrılarını keser. Soğuk algınlığı, grip ve nezlede iyileştiricidir. Öksürük kesici özelliği vardır. Kansızlığı giderir. Böbreklerdeki ve mesanedeki mikropları öldürür. Ruhi bunalımlarda yatıştırıcıdır. Baş dönmesini azaltır. İştahsızlığı giderir. Akut ve kronik bronşiti iyileştirir. Cilt yaralarında ve yanıklarında mikrop öldürücüdür. Diş ağrılarını azaltır. Cildin güzelleşmesini sağlar (Baydar, 2006; Kolafatçılar ve Kolafatçılar, 2010). Mantarlara karşı bakterisit etkilidir. Uyuz ve bit için kekik suyu vücuda sürülerek kullanılır. Hayvanlardaki şap hastalığında, insanlarda diş eti iltihabında etkilidir (Baydar, 2006).

Sentetik ilaçlara ulaşım zorluğu ve yan etkilerinin fazla olması insanları bitkisel ilaçlara yöneltmiştir. Bitkilerde bulunan sekonder maddeler sayesinde, bitkiler ilaç özelliği gösterirler (Kolafatçılar ve Kolafatçılar, 2010). Bitkilerin bu özelliği birçok

araştırmacının (Benli ve Yiğit, 2005; Zengin ve Kırbağ, 2006; Altundağ, 2007; Nalbanttaşı ve Gölçü, 2009; Milad, 2018; Çelik, 2019) dikkatini çekti ve yaptıkları çalışmalarda bitkilerin mikroorganizmalar (bakteriler ve mayalar) üzerindeki etkilerini incelediler.

Kekik ülkemiz için ticarete konu olan önemli bitkilerden biridir. Metin ve ark. (2012) tıbbi bitkilerin ithalat ve ihracatına yönelik yaptıkları incelemeler sonucunda kekiğin dahil olduğu tıbbi ve aromatik bitkiler arasında en fazla ihracatı yapılan bitkinin kekik olduğunu, ihracat gelirinin yaklaşık değerinin 225 216 000 dolar olduğunu ve ihracat yapılan ülkelerin başında Almanya, ABD ve İtalya geldiğini belirttiler. 5.982 ton ithal edilen kekiğin karşılığında 11 204 000 dolar ödendiği ve kekik ithal edilen ülkelerin başında Fas, Çin ve Arnavutluk geldiğini belirttiler.

Çizelge 1.1. Kekik Üretim İstatistikleri TÜİK verileri (Anonim, 2020a)

Yıllar	Kekik	
	Alan	Üretim
2003	-	-
2004	52 500	7 000
2005	47 000	6 400
2006	58 853	7 979
2007	60 751	5 350
2008	84 133	10 082
2009	84 957	12 329
2010	85 351	11 190
2011	77 707	10 953
2012	94 283	11 598
2013	89 137	13 658
2014	92 959	11 752
2015	104 863	12 992
2016	121 127	14 724
2017	121 472	14 477
2018	139 061	15 895
2019	157 074	17 965

Türkiye’de yetiştirilen kekik türlerine ait 2003 yılı sonrası yıllık üretim (ton) ve alan (dekar) miktarları Türkiye İstatistik Kurumundan alınan veriler (Çizelge 1.1) kekik üretiminin ve yetiştirilen alanların artma eğiliminde olduğunu göstermektedir.

Türkiye’de kekiğin yetişme alanları arasında başta İzmir, Aydın ve Isparta olmak üzere Harita 1.1’de de gösterilen illerimizi (Bozdemir, 2019) sayabiliriz.



Harita 1.1. Türkiye’de kekiğın yetişme alanları

Kekik türlerinin botanik özellikleri

Familya: Labiatae – Lamiaceae – Ballıbabagiller – Dudaklılar

Labiatae familyası üyeleri geniş alanda yayılış gösterir. En çok yayılış gösterdiği alan Akdeniz bölgesidir. Bu familyanın dünyada 200 cinsi vardır. Ülkemizde ise 45 cinsinin olduğu belirtilmektedir. Familya üyeleri tek ya da çok yıllık otsu ve çalimsı, nadiren ağaç ve stolon bitki formlarından oluşmaktadır. Rakımı yüksek yerlerde ve karasal habitatlarda yetişebilmektedir.

Ticari açıdan öneme sahip türleri içermektedir. Bu türler içeriğindeki aromatik yağlar nedeniyle parfümeri sanayisinde, farmakolojide ve baharat olarak mutfaklarda kullanılmaktadır. Ayrıca süs bitkisi olarak kullanıldığı görülmektedir (Seçmen ve ark., 2004; Akman ve ark., 2007; Yıldız ve ark., 2010).

Labiatae famiyasına ait bitkiler sistematik yönden (morfolojik olarak) yapı ve özelliklerine göre (Seçmen ve ark., 2004; Akman ve ark., 2007; Yıldız ve ark., 2010) Çizelge 1.2’de özetlendi.

Çizelge 1.2. *Labiatae* familyasının genel morfolojik özellikleri

YAPI	ÖZELLİK
<i>Gövde:</i>	4 köşelidir.
<i>Yaprak:</i>	Basittir. Stipulsuzdur. Karşılıklı veya dairesel dizilişlidir.
<i>Çiçek:</i>	Çoğunlukla zigomorftur. İki eşeyli ve iki dudaklıdır.
<i>Kaliks:</i>	Gamosepaldır. Yukarıda 5 diş bölünmüştür.
<i>Korolla:</i>	Gamopetaldır.
<i>Meyve:</i>	Bir tohumlu genel olarak açılmayan nutlettir.
<i>Stamen:</i>	Genellikle didinamdır. 2 veya 4 korollaya bağlıdır. Epipetaldır.
<i>Stillus:</i>	Ginobaziktir.
<i>Ginekeum:</i>	İki karpelden oluşur. Birleşiktir. 4 lokulusludur (Seçmen ve ark., 2004; Akman ve ark., 2007; Yıldız ve ark., 2010).

Labiatae familyasının üyeleri olan *Origanum*, *Thymus*, *Thymbra* ve *Satureja* cinslerinin ayrımının belirlenmesinde vertisillastrumların düzenlenişi en önemli belirleyicidir. Seksiyonlarda kaliks ve korolla şeklinin yanı sıra brakte boyutu önemlidir. Türlerde ise ayrım; kaliks dudak ve diş şekli, yapraklar, gövdedeki tüy durumu, korolla ve brakte şeklindedir (Taş, 2010).

Origanum cinsinin botanik özellikleri ve sistematigi

Origanum L. cinsinin 21 türü Türkiye’de olmak üzere 30 türü bulunmaktadır (Akman ve ark., 2007). *Origanum* türleri çok yıllıktır. Otsu bitki formundadır. Güzel kokulu olup uçucu yağ içerirler. Karvakrol uçucu yağında bulunan bir bileşiktir (Yıldız ve ark., 2010). *Origanum* cinsine ait taksonomik kategoriler Çizelge 1.3’de ve *Origanum* cinsinin genel morfolojik özellikleri Çizelge 1.4’te özetlenerek verildi.

Çizelge 1.3. *Origanum* cinsinin Davis (1982)'e göre taksonomik kategorileri (Fakılı, 2010)

<i>Divisio</i>	<i>Spermatophyta</i>
<i>Subdivisio</i>	<i>Angiospermae</i>
<i>Classis</i>	<i>Dicotyledonae</i>
<i>Subclassis</i>	<i>Dialypetalae</i>
<i>Ordo</i>	<i>Tubiflorae</i>
<i>Familia</i>	<i>Labiatae</i>
<i>Genus</i>	<i>Origanum</i>

Çizelge 1.4. *Origanum* cinsinin genel morfolojik özellikleri (L.)

YAPI	ÖZELLİK
<i>Gövde:</i>	4-köşelidir, genellikle tüylüdür ve yan dallar taşır. <i>O. vulgare</i> hariç tüm türlerin gövdeleri dik veya tırmanıcıdır. <i>O. vulgare</i> gövdesi toprağa paralel uzanır.
<i>Yapraklar:</i>	Bir kaç türde sapsız, diğerler türlerde saplıdır. Yaprak ayası boyut ve şekil olarak çeşitlidir. Donuk mavimsi ve yeşil renklidir.
<i>Çiçekler:</i>	Gövdeler ve dallar bir spika taşır. <i>O. onites</i> çiçekleri korimbozdur ama genel olarak <i>Origanum</i> 'larda çiçek durumu paniküldür.
<i>Korolla:</i>	Mor, beyaz veya pembe renklidir. 2-dudaklıdır, üst dudak emarginat veya kısa 2-loplu, alt dudak 3-lopludur. Korolla tüpü düz veya sakkat olabilir.
<i>Kaliks:</i>	Bu cinste kaliks çeşitlilik gösterir: Üçgensiz veya nadiren de akuminattır. Kaliksi 2-dudaklı olan zigomorf türlerde kaliks dışının biçimi farklı şekillerde olabilir. Damar sayısı 10-13'tür.
<i>Stamen:</i>	Hemen hemen eşit veya alt çift daha uzun ve 4 tanedir.
<i>Pistil:</i>	Stilus boy ve biçim bakımından büyük çeşitlilik gösterir.
<i>Meyve:</i>	Nutlet küçük, ovoid ve kahverengidir (Taş, 2010) .

Thymus cinsinin botanik özellikleri ve sistematigi

Tyhmus L. cinsine ait dünyada 70 tür bulunur. Bu türlerden 37 tanesinin Türkiye'de bulunduğu bilinmektedir. Çoğunluğu endemik olan bu türler Anadolu'da yayılış göstermektedir. Türler çok yıllık otsu veya küçük çalı formunda görülür. Dağlık alanlar ve kurak yerler habitatlarıdır. Baharat ve çay olarak tüketilir. Kekik yağı elde edilir. Uçucu yağlarının antioksidan ve antibakteriyel özellikleri bulunur. Bu yağlarda timol ve karvakrol bileşenleri bulunur (Seçmen ve ark., 2004; Akman ve

ark., 2007; Yıldız ve ark., 2010). *Thymus* cinsine ait taksonomik kategoriler Çizelge 1.5'te verildi. *Thymus* cinsinin genel morfolojik özellikleri ise özetlenerek Çizelge 1.6'da verildi.

Çizelge 1.5. *Thymus* cinsinin Davis (1982)'e göre taksonomik kategorileri (Fakılı, 2010)

<i>Divisio</i>	<i>Spermatophyta</i>
<i>Subdivisio</i>	<i>Angiospermae</i>
<i>Classis</i>	<i>Dicotyledonae</i>
<i>Subclassis</i>	<i>Dialypetalae</i>
<i>Ordo</i>	<i>Tubiflorae</i>
<i>Familia</i>	<i>Labiatae</i>
<i>Genus</i>	<i>Thymus</i>

Çizelge 1.6. *Thymus* cinsinin genel morfolojik özellikleri

YAPI	ÖZELLİK
<i>Çiçekler:</i>	Zigomorftur. 2 dudaklıdır.
<i>Stamen:</i>	Sayısı 4 ve uzun filamentlidir.
<i>Stilus:</i>	Uzundur.
<i>Stigma:</i>	2 lobludur.
<i>Gövde:</i>	4 köşe ve yuvarlak gövdelidir.
<i>Yapraklar:</i>	Tam, kenarlı, kirpiksi, tüylüdür.
<i>Kaliks:</i>	Silindirik veya çan şeklinde 2 dudaklıdır, 10-13 damarlıdır.
<i>Korolla:</i>	Mor, pembe, krem veya beyaz renkte olabilir.
<i>Ovaryum:</i>	2 karpelli ve 4 gözlüdür (Seçmen ve ark., 2004; Akman ve ark., 2007).

Thymbra cinsinin botanik özellikleri ve sistematığı

Baharat olarak kullanımının dışında salata malzemesi olarak taze yaprakları kullanılır. Çayı yapılarak tüketilir. Kültürü yapılmaktadır (Seçmen ve ark., 2004; Yıldız ve ark., 2010). *Thymbra* cinsine ait taksonomik kategoriler Çizelge 1.7'de verildi.

Çizelge 1.7. *Thymbra* cinsinin yer aldığı taksonomik kategoriler (Davis, 1982)

<i>Divisio</i>	<i>Spermatophyta</i>
<i>Subdivisio</i>	<i>Angiospermae</i>
<i>Classis</i>	<i>Dicotyledonae</i>
<i>Subclassis</i>	<i>Dialypetalae</i>
<i>Ordo</i>	<i>Tubiflorae</i>
<i>Familia</i>	<i>Labiatae</i>
<i>Genus</i>	<i>Thymbra</i>

Yapraklar: Tam kenarlı, küçük ve linear (şeritsi) dir. *Kaliks:* İki loplu, basık ve tüp şeklindedir. *Korolla:* Mor, pembe rengindedir (Seçmen ve ark., 2004; Yıldız ve ark., 2010).

Kekik bitkisinin kimyasal içeriği

- Uçucu yağ içeriği (0,75- 6,3 mg) (timol, timol metil eter, borneol, bornil asetat, sineol, karvakrol, linalool)
- Flavonoidler (luteotin, tiyamin, apigenin, naringenin)
- Tanenler
- Glikozitler
- Acı maddeler
- Reçine (Baydar, 2006).

Glikozitler

Glikozitler, şeker veya şekerlerin bağlı bulunduğu triterpen grubunda olan bileşiklerdir. İnsanlarda kalp kası üzerine etkili olup hayvanlar için toksiktir. Ateş düşürücü ve ağrı kesici özelliği vardır (Kırıcı, 2017).

Terpenler

Sekonder ürünlerin en geniş sınıfını oluşturan terpenler ya da terpenoitler genellikle suda çözünmez. Biyosentezleri Asetil-CoA ya da glikolitik ara ürünlerle gerçekleşir (Kırıcı, 2017).

Monoterpenler

Thujon, kamfor, mirsen, sitronellol, karvakrol, mentol ve sineol bilinen monoterpenlerdendir (Kırıcı, 2017).

Seskiterpenler

Helanalin, antikanserojen; famesol, patojen saldırılarına karşı sentezlenen bir tür seskiterpendir (Kırıcı, 2017).

Flavonoidler

Flavonoidler, bitkisel fenolik bileşiklerin en büyük grubudur. Hücreleri, antiradikallere karşı antioksidan olarak korurlar. Bakteri ve virüslerin üremesini inhibe ederler, kansere karşıdır, kalp krizi riskini azaltırlar (Kırıcı, 2017).

Tanenler

Tanenler, tıpta damarları ve mukozayı büzücü özelliği nedeniyle basur, bademcik, faranjit ve bazı deri hastalıkları için olan ilaçlarda kullanılır. Üzüm, bitkisel çaylar ve yenilen otlarda bulunan polifenolik antioksidanlar tümör oluşumunu ve gelişimini önlemenin yanında kalp hastalıklarını da önlemektedir. Yüksek tanen içeren bitkiler acıdır. Tanenler suda çözünbilme özelliğine sahiptir (Kırıcı, 2017).

Eterik (uçucu) yağlar

Bitkilerde salgı dokuları (tüy gibi) tarafından salgılanan maddeler kokunun merkezini oluşturur. Bu salgılanan maddeler eterik yağlardır. Kaynama noktalarının düşük olması sebebiyle kolaylıkla buharlaşırlar. Bu özelliği sebebiyle uçucu yağ adı

verilmiştir. Güzel kokulu olmaları nedeniyle ‘esansiyel yağlar’ olarak adlandırılırlar. Gül, lavanta, kekik gibi bitkiler bu özellikleri yönünden kozmetikte, ilaç sanayinde ve gıdalarda kullanılır. Uçucu yağın sekonder metabolit olmadığı sekonder metabolit gruplarını içeren homojen bir çözelti olduğu bilinmektedir. Uçucu yağlar; monoterpenler, seskiterpenler ve siyanojenik heterozigotlar gibi azot veya kükürt içeren bileşikleri bünyelerinde taşır. Bitkilerin uçucu yağ içerenlerine aromatik bitkiler denir. Bazı bitki grupları çok sayıda aromatik bitki içerir. *Lamiaceae* familyası bu gruba örnektir. Aromatik bitkiler ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu özelliği uçucu yağlarında buldukları etken maddeler sayesinde. İlaç sanayisi uçucu yağı saflaştırarak kullanmayı tercih eder. İlacın daha etkili olmasını sağlamak ve herhangi bir yan etkiye neden olması ihtimaline karşı önlem almak için etken maddeleri saflaştırırlar (Ocakverdi ve ark., 2010).

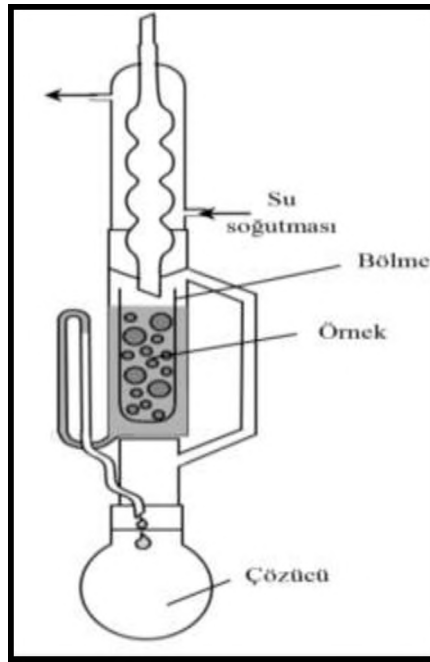
Ekstraksiyon Teknikleri

1. Soxhlet Ekstraksiyonu
2. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu
3. Mikrodalga-Destekli Sıvı Ekstraksiyonu
4. Ses Dalgaları- Destekli Sıvı Ekstraksiyonu
5. Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu (Büyüktünel, 2012).

Soxhlet Ekstraksiyonu

Soxhlet cihazı, katı veya yarı katı maddelerin solventler aracılığıyla ekstraksiyonunu sağlar. Cihaz kısımları Şekil 1.1’de gösterildi. İşlem yapılacak örnek ekstraktör borusuna yerleştirilir. Hemen altında bulunan solvent şişesine uygun solvent koyulur. Isıtma işlemi solventin kaynama sıcaklığı dikkate alınarak biraz üzerinde olacak şekilde ısıtılır. Solvent kaynamaya başladığında çıkan buharlar kondansöre doğru hareket edecektir. Soğutma görevi yapan kondansörden buharlar yoğunlaşarak özütör borusunda örnek üzerine damlayacaktır. İşlemin bu şekilde (solvent, sifonlama borusu hizasına gelene kadar) sürmesi beklenir. Sifonlama seviyesine gelen solvent

sifonlama borusu ile solvent şişesine çözünen maddelerle birlikte dökülür. Bu işlem solventin tekrar buharlaşmasıyla döngüler halinde devam eder. Ekstraksiyon süresi 6 ila 24 saat arasında değişebilir. Solvent hacimleri 100 -500 ml arasında değişkenlik gösterebilir. Genellikle organik çözücüler veya karışımlar tercih edilir. Soxhlet cihazı eş zamanlı olarak ekstraksiyon imkânı verir. Cihazla ilgili karşılaşılan problemler genellikle cihaz borularının temizliği ile alakalı olmaktadır (Kellner, 2004; Büyüktünel, 2012).



Şekil 1.1. Soxhlet özütör cihazı (Büyüktünel, 2012)

Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu

Katı ya da yarı katı maddeleri, yüksek basınç altında su veya düşük miktardaki organik çözücülerle özüte etme yöntemidir. Bu yöntem basınç sayesinde çözücülerin yüksek sıcaklıkta sıvı olarak kalmasını sağlayacak şekilde işlem yapmayı amaçlayarak geliştirilmiştir. Çözücülerini yüksek sıcaklıklara çıkararak maddenin içindeki yapının daha hızlı çözünmesi sağlanırken maddelerin sıcaklığın etkisiyle kimyasal bağlarının kırılarak ekstraksiyon verimi artırılır. Ancak yüksek sıcaklık her zaman verim artırıcı özellikte olmayabilir bazı maddelerin yapısının bozulmasına neden olur. Yüksek maliyet gerektiren bir tekniktir (Büyüktünel, 2012).

Mikrodalga-Destekli Solvent Ekstraksiyonu

Bu teknikte, iyonların iletimi ve dipol rotasyonu ile mikrodalğanın molekül üzerine etkisi temel alınarak ısıtma yapılır ve bu işlem tekniğin temel prensibidir. Yüksek frekanslı elektromanyetik dalga olma özelliği gösteren mikrodalgalar, çözücülerini ve dolayısıyla örnekleri ısıtır. Bu teknikte çözücünün mikrodalga ışınımını absorblaması, maddeyi çözebilmesi gibi özellikler yönünden değerlendirilerek, uygun çözücü seçiminin yapılması önemlidir. İşlem sonrası temizleme basamağı gerekir bunun nedeni örneğin içindeki tüm maddelerin özüte olmasıdır. Düşük miktarda solvent kullanabilme imkânı veren, zaman açısından avantajlı (hızlı) bir tekniktir (Büyüktünel, 2012).

Ses Dalgaları-Destekli Sıvı Ekstraksiyonu

Bu teknikte, 20 kHz üstündeki frekanslarla örneklere akustik titreşimler uygulanması yöntemin temelidir. Titreşimler sayesinde sıvıda boşluklar (ufak kabarcıklar) oluşur. Bu kabarcıklar katı maddelerin sarsılarak partiküllerinin kopmasını sağlar. Katı ve sıvı ekstraksiyonu için kullanılır. Ultrasonik ekstraksiyon olarak da tanımlanan bu teknik filtrasyon gerektirir. Zaman açısından hızlı bir tekniktir (Büyüktünel, 2012).

Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Süperkritik akışkan, maddenin gaz veya sıvı hallerinin ara formunu temsil eder ve maddenin gaz ve sıvı özelliklerini bir arada bulundurur. Akışkan sürekli olarak örneğin içinden geçirilerek verimli bir ekstraksiyon sağlanır. Karbondioksit genelde süperkritik akışkan olarak kullanılır. Yüksek maliyet gerektiren bir tekniktir. Zaman açısından avantajlı bir tekniktir (Büyüktünel, 2012).

Antibiyotik duyarlılık testleri

Kâğıt Disk Agar Difüzyon Yöntemi – Disk Difüzyon Metodu

Kâğıt disk agar difüzyon yönteminde, kullanılacak olan test mikroorganizmaları, yöntemi uygulamadan önce sıvı kültüre alınmalıdır (Temiz, 2008). Seçici olmayan katı bir besi yerine ekimi yapılan bakteriler 14-16 saatlik inkübasyon sonucu %85'lik

serum fizyolojik çözeltilisine alınarak bakteri süspansiyonu hazırlanır. Bakterinin kolay veya zor üremesine göre MHA veya MH-F besi yerleri kullanılır (Gür, 2016). Dökme plak yöntemi ya da yüzeye yayma yöntemi tercih edilmelidir. Yüzeye yayma yönteminde steril agar bulunan bir besi yerine önceden hazırlanan sıvı kültürden iki yöntemle yayma yapılabilir. Steril olan bir pipetle agar üzerine 0,1 ml örnek koyulur ve drigalski özesi yardımıyla agar üzerine yayılabilir ya da steril eküvyon çubuk sıvı kültüre batırılır ve agar üzerine yayılır. Ekim yapılan besi yeri oda sıcaklığında 5-10 dk. beklemeye bırakılır. Çalışmada kullanılacak steril kâğıt diskler antimikrobiyal madde içeren çözelti içine batırılıp bir süre maddeyi emmesi beklenir. Daha sonra diskler çözeltiliden çıkarılır ve disklerden çözeltinin fazlası alınır. Bir pens yardımıyla diskler, mikroorganizma ekimi yapılan besi yeri üzerine yerleştirilir. Yerleştirilen disklerin üzerine hafifçe bastırılır ve agar ile disk arası tam temas sağlanmış olur. Kontrol diskleri de besi yerine yerleştirilir. Diskler arası mesafenin uygunluğuna dikkat edilmelidir. Mikroorganizmaların inkübasyon koşulları dikkate alınarak petri kutusu etüve kaldırılır. İnkübasyon süresi sonunda petri kutusunda oluşan inhibisyon zonları incelenir. İnkübasyon zonu oluşan bölgede hiçbir koloni olmamalıdır. Zon içinde koloni görülmesi inkübasyon süresiyle de alakalı olabilir. Bu yüzden 24 saat ve 48 saat inkübasyon süreleri sonunda ayrı ayrı değerlendirme yapılmalıdır. Zon çapıyla çözelti arasında doğrusal bir ilişki olmayabilir. Çözeltinin agar üzerinde yayılması da etkindir (Temiz, 2008). *Pseudomonas* sp. *Staphylococcus* sp. ve *Enterococcus* sp. 35 ± 1 °C'de 16-20 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonucu oluşan zon çapları ölçüldükten sonra elde edilen veriler, EUCAST disk difüzyon sınır değer tablolarıyla karşılaştırılarak bakteri, özgül bir antibiyotik için duyarlı, dirençli veya orta duyarlı olmak üzere kategorilere ayrılarak değerlendirilir (Gür, 2016).

Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Saptama Yöntemleri: Sıvı Dilüsyon ve Agar Dilüsyon

Mikroorganizmanın üremesini gözle görülebilen şekilde engelleyen en küçük konsantrasyona 'minimum inhibitör konsantrasyon' denir. MİK testi tedavi için kantitatif sonuç almak, rutin testlerle test edilemeyecek mikroorganizmaları test etmek ve yeni ilaçları kıyaslamak amacı ile uygulanır. Dilüsyon yöntemleri

antibiyotiklerin MİK ve duyarlılıklarını belirlemek için kullanılır. Dilüsyon testleri, farklı konsantrasyonlarla seri sulandırmalar şeklinde agar plakta veya buyyonda (sıvı) gerçekleştirilir (Gür, 2016).

Sıvı dilüsyon yönteminde öncelikle inokülüm hazırlanır. İnokülüm, taze kültürden tek düşen bakteri kolonilerinin alınarak buyyon veya serum fizyolojik çözeltisi içine homojen dağıtılmasıyla hazırlanır. Bakteri yoğunluğu McFarland bulanıklığına göre ayarlanır. Eğer inokülüm hazırlamak için taze kültür yoksa ya da koloniler doğrudan süspanse edilemeyecek ise buyyon kültür yöntemi uygulanır. Kültür plağındaki kolonilerden alınır ve 'Triptik soy buyyon' (4-5 ml kadar) bulunan tüp içine ekilir. Tüpler McFarland standardına ulaşıncaya kadar 2-6 saat inkübasyona bırakılır. Steril serum fizyolojik çözeltisi ya da sıvı besi yeri eklenerek kültür istenilen McFarland bulanıklığına göre ayarlanır. Dilüsyon yönteminde MH-sıvı besi yeri kullanılır. Kullanılmak istenilen antibiyotiklerin buyyonda yada steril suda çift katlar şeklinde sulandırmaları yapılır. Makrodilüsyon işleminde cam tüpler, mikrodilüsyon işleminde ise 96 kuyucuklu mikropalaklar kullanılır. Tüplerin ve plakların inkübasyonu etüvde sağlanır. Sonuçlar üremenin varlığına ya da yokluğuna bakılarak belirlenir (Gür, 2016).

Agar Dilüsyon Yönteminde farklı antibiyotik konsantrasyonları (seri sulandırmalar şeklinde) besi yerine karıştırılarak besi yeri ile birlikte hazırlanır. MHA kullanılan bu yöntemde besi yeri plaklara dökülerek katılaşması beklenir. İnokülümler hazırlanır ve McFarland bulanıklığı ayarlanır. Replikatorlar aracılığıyla 32 ila 36 inokülüm plaklara aktarılır. Plaklar inkübasyona bırakılır (35 ± 2 °C'ta 16-20 saat). Üremenin olmadığı en düşük konsantrasyona sahip antibiyotik değeri MİK değeri olarak kaydedilir (Gür, 2016).

Moleküler İşaretleyiciler (Moleküler Markörler)

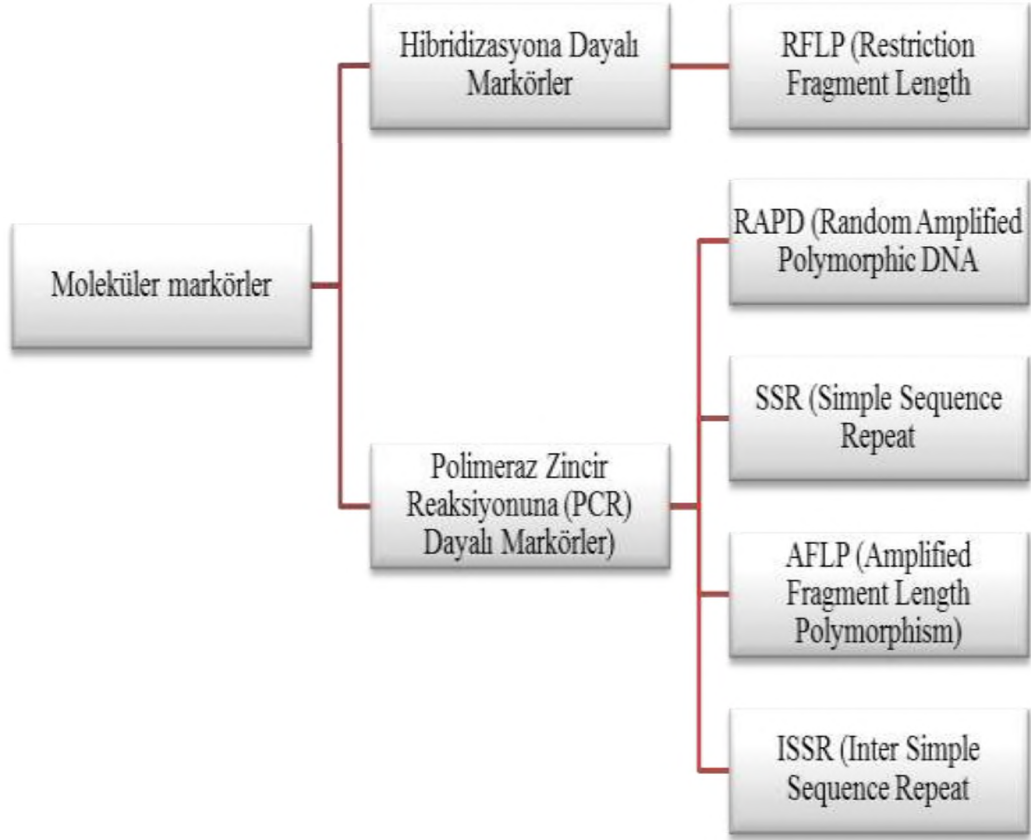
Markör, bir DNA parçası ya da bir gen bölgesidir. Moleküler markör teknikleri polimorfik bölgelerin saptanmasını sağlar. Moleküler markörler, DNA'da meydana gelen hatalardan (nokta mutasyonları, insersiyon, delesyon ve replikasyon hataları) oluşur ve nötraldirler. DNA'nın kodlanmayan bölgelerinden oluşup bitki

gelişiminden ve çevresel etmenlerden etkilenmezler (Yorgancılar ve ark., 2015). Bitkilerde genotip ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi, istenilen özellikteki bitkilerden oluşturulan melez bireylerin tanısı, belirteç yardımıyla seleksiyonla istenilen özellikte birey oluşturma, genomu özgü-spesifik bölgelerdeki belirteçlerin belirlenmesi, tohum ıslahıyla herbisit ve hastalık direnci oluşturulması, ürün ve yağ miktarı artışı sağlama, besin değerini artırma, strese dayanıklılığı artırma, büyüme oranını artırma gibi özellikler kazandırmak amacıyla moleküler markörler bitki ıslah çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır (Kanlıtepe ve ark., 2010).

Moleküler markörler genetik markerların DNA tabanlı tipine örnektir (Yorgancılar ve ark., 2015). Analiz metotlarına göre (Filiz ve Koç, 2011) temeli hibridizasyon tekniğine dayanan ilk markör sistemi RFLP'dir (Yorgancılar ve ark., 2015). AFLP, SSR (tekrar dizileri, mikrosatellit), RAPD ve ISSR PCR temeline dayanan moleküler markörlerdir (şekil 2.2) (Yorgancılar ve ark., 2015). Bunun dışında moleküler markörler gen aksiyonuna bağlı olarak kodominant ve dominant markörler olarak ayrılır (Filiz ve Koç, 2011).

ISSR

İki mikrosatellit arasında kalan bölgelerin ikili, üçlü, dördü ve beşli tekrarlanan nükleotitlere sahip primerlerle çoğaltılması, tekniğin temelini oluşturur. PCR ile üretilen ürünler etidyum bromür ile boyanarak agaroz jelde görüntülenir. Primer tasarımı için dizi bilgisi gerektirmez. Genetik haritalama, taksonomi ve genetik benzerlik gibi çalışmalarda kullanılan bir yöntemdir (Filiz ve Koç, 2011; Yorgancılar ve ark., 2015). ISSR markörleri dominant markörlerdir ancak kodominant markör olarak homozigotluk ve heterozigotluğu anlamak için de kullanılabilir. Teknik kolay uygulanması ve hızlı olması nedeniyle oldukça avantajlıdır. (Yorgancılar ve ark., 2015). ISSR tekniği genetik çeşitlilik çalışmalarında tekrarlanabilirliği yüksek ve ekonomik açıdan uygun olması nedeniyle diğer markörlere göre daha iyi bir belirteçtir (Ng ve Tan, 2015).



Şekil 2.2. Kullanılan tekniğe göre moleküler markörler

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Benli ve Yiğit (2005) çalışmalarında *T. vulgaris* bitkisinin antimikrobiyal etkisini araştırdılar. Sekiz farklı çözücü: Metanol, aseton, etil asetat, dimetilsülfoksit (DMSO), kloroform, etanol, distile su ve %5'lik tween karışımı ve distile su ile hazırlanan özütleri kullandılar. Ekstratları elde etmek için toz haldeki bitkiden ikişer g tarttılar, ayrı erlenler içinde 20 ml çözücü içine alarak 12 saat oda sıcaklığında beklettiler. Disk difüzyon yöntemi ve damlatma yöntemi olmak üzere iki ayrı metod kullandılar. Bu özütleri on dört mikroorganizma üzerinde denediler. *E. faecalis* ATCC 29212, *E. gallinarum* CDC-NJ-4, *E. coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* bakteri suşları (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan), *Saccharomyces cerevisiae*, *Shigella*, *Candida albicans* 845981, *E. coli*, *C. crusei* ATCC 6258, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *S. aureus* ATCC 29213, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *P. aeruginosa* ATCC 27853 *C. albicans* 90028 suşları üzerinde denediler. Sekiz farklı çözgen ile hazırladıkları özütlerin içine diskleri atarak otoklavda 15 dk. 121 °C'ta sterilliğini sağladıktan sonra petri kutusuna, dört farklı özüt emdirilen disklerden yerleştirdiler ve 37 °C'ta bir gün inkübe ettiler ve sonuç olarak özütlerin on dört mikroorganizmadan sadece *B. subtilis* üzerinde etkili olduğunu saptadılar. Disk difüzyon ve damlatma metodunda birbirine paralel sonuçlar elde ettiler.

Kürşat ve ark. (2009) *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) *Achillea teretifolia* Wild., *Stachys lavandifolia* Vahl, var. *lavandifolia*, *Nepataitalica* L., *Mentha spicata* L. subsp. *spicata*'nın antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için çalıştılar. Metanol ile hazırladıkları bitki özütlerini *C. albicans* FMC 17, *C. glabrata* ATCC 66032, *P. aeruginosa* DMS 50071 SCOTTA, *S. aureus* COWAN 1, *Klebsiella pneumoniae* FMC 5, *B. megaterium* DSM 32, *Epidermophyton* sp. ve *Trichophyton* sp.'ye karşı disk difüzyon metodu ile incelediler. Bitki özütlerinin mikroorganizmaların gelişmelerini farklı oranlarda engellediği ve bazı mikroorganizmalar üzerinde ise etki etmediği sonucuna vardılar.

Nalbanttaş ve Gölcü (2009) araştırmalarında Kahramanmaraş yöresine ait iki farklı kekik türünün aralarında bulunduğu 18 farklı bitkinin antimikrobiyal etkinliğini

incelediler. *Thymus serpyllum* L., *Origanum bargylii* L., *Salvia officinalis* L., *Hypericum perforatum* L., *Citrus limonum* L., *Juglans regia* L., *Sideritis syriaca* L., *Laurus nobilis laure* L., *Ocimum basilicum* L., *Linum usitatissimum* L., *Lavandula* L., *Viyola odorata* L., *Myrtus communis* L., *Allium sativum* L., *Mentha piperita* L., *Anthemis nobilis* L., *A. cepa* L., *Rhus coriaria* L. türlerini kullandılar. Bitkilerden kuru olarak 5 g bitki örneğini 100 ml saf su ile çözdürdüler ve oda sıcaklığında 30 dk., 60 dk., 90 dk. ve 120 dk. bekleme sürelerinde beklettiler ve çözeltinin sıvısından 1 ml alıp etüvde suyunu uçurarak bu sıcaklıklarda su ortamına verdiği madde miktarlarını belirlediler. Aynı işlemleri 25 °C'ta etanol, 80 °C'ta etanol ve 100 °C'ta su, çözücü ortamlarında ve sıcaklıklarında üçer kez tekrarladılar. Mikroorganizma olarak *E. gallinarum* CDC-NJ-4, *B. subtilis*, *E. coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. cerevisiae*, *C. crusei* ATCC 6258, *C. albicans* 84598, *E. coli* suşlarını kullandılar. Antimikrobiyal etkiyi belirlemek için disk difüzyon yöntemini kullandılar. *E. coli* üzerinde tüm özütlerin etkili olduğu ve disk difüzyon metodunda en fazla inhibisyon zonu veren özütlerin *H. perforatum* özütü (19 mm), *A. sativum* özütü (15 mm), *Origanum bargylii* özütü (13 mm) ve *A. cepa* özütü (10 mm) olduğu sonucuna ulaştılar.

Zengin ve Kırbağ (2006) Elâzığ halkının tıbbi amaçlarla kullandıkları bitkilerin antimikrobiyal özelliklerini tespit etmek amacıyla çalışma yaptılar. Çalışmalarında *Thymus kotschyanus* Boiss & Hohen var. *glabrescens* Boiss., *Bunium paucifolium* DC. var. *paucifolium*, *Linum nodiflorum* L., *Centauria kurdica* Reichart., *Echium italicum* L., *Rheum ribes* L. *Taraxacum revertens* G. Hagl., *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Frey & Barnma) Barnm, *Verbascum varians* Freyn & Sind. *Ranunculus constantinopolitanus* (DC), bitkilerinden 20 g (toz halde) tartarak 150 ml kloroform ile rutin yöntemlerle, özütler elde ettiler. Kuruyana kadar çözücüsünü uçurdukları özütleri sonrasında DMSO'da çözdürdüler. Araştırmada *B. megaterium* DSM 32, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* DSM 50071, *B. subtilis* IMG 22, *K. pneumonia* FMC 5, *L. monocytogenes* SCOTTA, *Proteus vulgaris* FMC 1, *S. aureus* COWAN 1 bakteri türleri ile *C. albicans* FMC 17 maya türünü kullandılar. Disk difüzyon yöntemini kullanarak özütlerin antibakteriyel etkinliklerini saptamaya çalıştılar. Bitki özütlerinin kullanılan bakteri ve maya türleri üzerinde farklı oranlarda

antimikrobiyal etkiye sahip olduklarını gördüler. Ayrıca *T. kotschyamus* var. *glabrescens* özütü *B. subtilis* dışındaki mikroorganizmaların gelişmeleri farklı oranlarda etkilediğini (12-20 mm arası) belirttiler. Bu bitki özütünü en fazla *K. pneumonia* 'ya karşı etkili buldular.

Ökmen ve ark. (2017) baharat olarak kullanılan bitkilerin antimikrobiyal ve antioksidan etkisini araştırdılar. Çalışmada 4 adet baharat kullandılar. Bunlar *Origanum majorana*, *Thymus serpyllum*, *Coriandrum sativum*, *Crocus sativus*'dur. Bitkilerden metanol ve etanol ile soxhlet aparatını kullanarak özüt elde ettiler. Özütleri clevenger aparatına alarak uçucu yağlarını elde ettiler. Mikroorganizmalar *Salmonella typhimurium* RSKK 19, *E. coli* ATCC 11229 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 ve *C. albicans* RSKK 02029'dur. Disk difüzyon metodunu ve MİK yöntemini kullandılar. Çalışma sonuçları arasında kekik türüyle ilgili *T. serpyllum* baharatlarının metanol ve etanol özütleri *C. albicans* RSKK 02029'a karşı antibakteriyel etki gösterirken, *O. majorana* 'nın (7 mm) *L. monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği sonucuna vardılar.

Ertürk ve ark. (2010) kekik ve nane uçucu yağlarının, klinik olarak önemli olan bakteriler ve mayalar üzerindeki antimikrobiyal etkilerini karşılaştırmalı olarak araştırmayı amaçladılar. 12 Gram + bakteri, 8 Gram - bakteri, 1 mikobakteri ve 7 maya suşuyla çalıştılar. Kekik ve nane uçucu yağlarını ticari olarak temin ettiler. Antimikrobiyal etkiyi saptamak için disk difüzyon yöntemini kullandılar. Tüm deneyleri iki kez tekrarladılar. Sonuçlara göre ticari kekik ve nane uçucu yağlarının birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğunu gördüler. Özellikle kekik uçucu yağının *P. aeruginosa* dışındaki test edilen diğer mikroorganizmaların tamamında güçlü antimikrobiyal etki gösterdiğini söylediler. Bu yağlara karşı *Candida* türlerini en hassas mikroorganizmalar olarak belirlediler.

Cantaş (2014) "K.K.T.C.'de Doğal Olarak Yetişen *Thymus* ve *Origanum* Cinslerinin Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri" adlı yüksek lisans tez çalışmasında *Thymus capitatus*, *Origanum syriacum* ve *Origanum majorana* türlerinin clevenger aparatı ile 100 g örnek + 1 l distile su ile (3 saat boyunca) hidrodistilasyon yöntemini kullanarak uçucu yağlarını elde etti. *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 17666, *S.*

aureus ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *B. cereus* ATCC 10876, *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri ve maya formunda *C. albicans* ATCC 90028 mikroorganizmaları üzerinde, elde edilen uçucu yağları denedi. Disk difüzyon metodu ve mikrodilüsyon yöntemini kullanarak antimikrobiyal aktiviteyi belirledi. Bakterilerin en düşük ve en yüksek inhibisyon zonları ve minimum inhibisyon konsantrasyonu değerlerinin sırasıyla 6,33-81,66 mm ile 0,03-0,0009 µl/ml arasında değiştiğini gördü. Farklı lokalitelerden toplanan bitki örneklerine ait uçucu yağların, test edilen mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları antimikrobiyal etkilerinde farklılıklar gördü. Çalışma sonuçlarına göre uçucu yağların *P. aeruginosa*'ya karşı en az, *C. albicans*'a karşı en fazla etkili olduğunu gözlemledi. Bitki uçucu yağları arasında en fazla antimikrobiyal aktiviteyi *T. capitatus* ve *Origanum syriacum*'da, en az antimikrobiyal aktiviteyi ise *O. majorana*'da gördü.

Çelik (2019) “Vankomisin Dirençli Enterokoklara (VRE) Karşı Bazı Uçucu Yağların Antibakteriyel Aktiviteleri” isimli yüksek lisans tez çalışmasında kekik, defne yaprağı, iğde, adaçayı, tarçın, biberiye, çörekotu, nane, maydanoz ve ıhlamur bitkilerini kullandı. Bitkilerden 30 ml özüt elde etmek için soxhlet cihazında 10 g bitki + 200 ml çözücü ile 8 saat boyunca işlemi sürdürdü. İşlemden önce etanolü ve hekzanı çözücü olarak kullandı. Elde ettiği çözücüsü içinde olan özütlerden rotary evaporatörde çözücülerin kaynama noktasına göre buharlaştırarak kuru özütler elde etti. Özütleri daha sonra DMSO'da çözdürerek kullanıma hazırladı. Ahi Evran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından *L. monocytogenes* ATCC 19111, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. aerogenes* ATCC 13048, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 29213, *B. subtilis* ATCC 23857, *B. cereus* ATCC 14579, *E. coli* ATCC 25922, *Shigella dysenteriae* ATCC 11835, *P. mirabilis* ATCC 29906, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 suşlarını temin ederken Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından VRE *E. faecium*, VRE1, VRE2, VRE3, *E. faecalis* VRE ATCC 51299 suşlarını temin ederek çalışmasında kullandı. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için çalışmasında agar kuyu yöntemini ve disk difüzyon yöntemini kullandı. İlave olarak MİK belirledi. Kekik özütünün 5 VRE'nin dördü üzerinde orta dereceli antibakteriyel etki gösterdiğini belirledi. GC-MS analizleri yapılan

ekstraktların DMSO’da çözdürülerek seyreltilmesiyle, bileşenleri baskıladığı ve daha az bileşen ortaya çıkmasına neden olduğu sonucuna vardı.

Milad (2018) “Kastamonu’da Kültüre Edilen Bilyalı Kekik (*Origanum onites* L.) ve Tıbbi Adaçayı’nın (*Salvia officinalis* L.) Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi” isimli yüksek lisans tez çalışmasında *O. onites* L. ve *Salvia officinalis* L. bitkilerinin antimikrobiyal aktivitesini, Gram + (*B. subtilis*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* ve *S. epidermidis*) ve Gram - (*E. aerogenes*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. infantis*, *S. kentucky*, *S. typhimurium*, *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens*) patojen bakteri suşları ile bir adet patojen mantar (*C. albicans*) suşuna karşı clevenger cihazı kullanarak su buharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ elde etti ve MİK testi ile antimikrobiyal aktivitelerini belirledi. Çalışmanın sonuçlarına göre bilyalı kekik uçucu yağının en düşük miktarı olan 0,195 µl/ml dozu uygulanan tüm mikroorganizmalar üzerinde durdurucu etki gösterdiğini ortaya çıkardı. Bilyalı kekik uçucu yağının 0,195 µl/ml’nin hem bakterisidal hem fungusidal etkili olduğunu söyledi. Ayrıca çalışmada uçucu yağların fitokimyasal içeriğini GC-MS analizi ile belirledi.

Koç (2012) “Bazı Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Sitotoksik Etkileriyle, Kanserli Dokularda Adenozin Deaminaz Enzimi Üzerine Etkisi” isimli doktora tez çalışmasında kekik türünde arasında bulunduğu farklı bitkilerle çalıştı. Bu bitkiler: *L. albus*, *P. kurdica*, *C. sativum*, *T. spicata* var. *spicata* ve *H. calycinum*’dur. Antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik aktiviteleri belirlemek amacıyla bitkilerden etanol ve metanol özütleri elde etti. 50 g bitki + 500 ml çözücüyü oda sıcaklığında ve karanlıkta 7 gün bekletti. Özütleri Wattman NO:1 filtre kâğıdından süzerek evaporatörde 50 °C’de kuruttu. Özütleri kullanacağı zaman beş farklı konsantrasyon olacak şekilde dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözdürdü. Sterilizasyon için milipor filtreden geçirdi. Özütlerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için *B. subtilis* ATCC 29213, *B. cereus* NRLL B-3008, *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 35218, *E. coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 29212, *P. vulgaris* NRRL B-123 ve *P. aureginosa* ATCC 27853 adlı patojen standart bakteri suşları ile *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* ATCC 13803 adlı mayalar

kullandı. 50, 100, 150, 200 ve 250 mg/ml'lik *T. spicata* var. *spicata* bitkisinin etanol ve metanol özütlerini hazırladı. Farklı konsantrasyonların her bir mikroorganizmaya karşı farklı etkiler gösterdiği sonucuna ulaştı.

Altundağ (2007) “*Labiatae* Familyasına Ait Bazı Endemik Türlerin Önemli Bitki Patojeni Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması” isimli yüksek lisans tez çalışmasında *Labiatae* familyasının endemik türleri arasında olan *Sideritis erytrantha* Boiss. & Heldr. apud Benth. subsp. *erytrantha*, *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P. H. Davis, *Salvia tchihatcheffii* (Fisch. & Mey.) Boiss., *Satureja wiedemanniana* (Lalem.) Velen. ve *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *sipyleus* bitkilerinin uçucu yağlarının antimikrobiyal etkisini bitki patojeni yirmi bakteriye karşı denedi. Yöntem olarak uçucu yağ elde etmede hidrodistilasyon yolunu, antimikrobiyal aktivite belirlemede kuyu agar yöntemini kullandı. Denemelerini *in vitro* koşullarda besi ortamı kullanarak yaptı. Uçucu yağların oluşturdukları inhibisyon zon çapları 0-54 mm arasında değişti. Uçucu yağların MİK değerlerini en düşük 125 µg/ml, en yüksek ise >500 µg/ml buldu. *O. minutiflorum* bitkisi uçucu yağının bitki patojeni bakteriler üzerinde en iyi antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu sonucuna ulaştı.

Çelen (2006) çalışmasında *T. cilicicus*, *T. Canoviridis* (tüylü ve tüysüz), *T. comptus* ve *T. revolutus* türlerinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyonla elde ettiği uçucu yağların, *E. aerogenes* NRRL 3567, *E. coli* ATCC 25292, *P. vulgaris* NRRL 123, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Serratia marcescens*, *C. albicans*, *Alternaria brassicola*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium expansum*'a karşı antibakteriyel ve antifungal aktivite etkinliklerini belirledi. Bu uçucu yağların kimyasal bileşenlerini GC ve GC/MS ile belirledi. Antimikrobiyal aktivite için agar disk difüzyon ve broth dilüsyon yöntemini kullandı. Bütün uçucu yağların test bakterileri ve *C. albicans* üzerinde üremeyi durdurucu etkisinin olduğunu ancak mikrofungalara karşı zayıf antifungal etki gösterdiğini belirledi.

Althunibat ve ark. (2016) çalışmalarında *T. capitatus*'un bileşenlerinden timol ve karvakrolün antibakteriyel aktivitesini değerlendirdiler. Kurutulmuş yapraklardan soxhlet aparatıyla 15 g bitkiden etanol kullanarak 24 saat özüte ettiler. Timol ve karvakrol maddelerini normal faz kolon kromatografisi kullanarak izole ettiler. Yaprak ekstresindeki timol ve karvakrolün antibakteriyel aktivitesini dört bakteri suşuna karşı test etmek için agar disk difüzyonu ve MİK yöntemini kullandılar. Yaprak özütünün test edilen tüm bakteri suşlarına karşı geniş bir spektrumda antibakteriyel aktivite gösterdiğini buldular. *P. aeruginosa*'nın en duyarlı bakteri olduğu sonucuna vardılar. Saflaştırılan bileşiklerin özütten nispeten daha güçlü antibakteriyel aktivite sergilediğini söylediler. Timol fraksiyonu karvakrolden daha güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiğini ve timol fraksiyonunun 0,005-0,008 mg/ml arasında değişen MİK değerleri sergilerken, karvakrol fraksiyonunun 0,007-0,008 mg/ml arasında değişen MİK değerleri sergilediğini belirttiler.

Joma (2018) “*Thymbra spicata* L. var. *spicata* (Zahter) Bitki Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitelerinin ve *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Etkilerinin Araştırılması” isimli yüksek lisans tez çalışmasında basınçlı solvent ekstraksiyon yöntemini kullanarak çıkardığı özütlerin *S. maltophilia* bakterisine karşı antimikrobiyal etkilerini ve DNA koruyucu potansiyelini çalıştı. 10 g zahter üzerine 150 ml solvent ekleyerek özüt elde etti. Farklı solventlerle ayrı ayrı özütler elde etti. Antimikrobiyal aktivite tespiti için disk difüzyon yöntemini kullandı. Zahter özütlerinin DNA'yı UV ve oksidatif stres etkilerinden koruma potansiyellerini belirlemek için pBR322 plazmid DNA'sı (vivantis) kullandı. Plazmid DNA'sına H₂O₂ ve UV uygulayarak özütlerin varlığında DNA'yı hasara uğrattı. %1,5'lik agaroz jelde yürüterek jel görüntüleme cihazında görüntüledi. Araştırma sonucunda su ve metanol özütlerinin bakteri üzerinde etkili olduğunu saptadı ve DNA koruyucu aktivite yönünden iyi sonuçlar verdiğini açıkladı.

Althunibat ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada *T. capitatus* L. bitkisinin yaprak ve saplarından ayrı olarak su, etanol, hekzan ve diklorometan çözücülerini kullanarak üç farklı yöntemle ekstraksiyon yaptılar. Birinci yöntem olarak bitki örneklerinin (15 g), distile su ile 15 dakika ısıtılması ve süzülmesiyle (0,2- 0,45 µm por çaplı şırınga filtreden geçirdiler.) sulu ekstraksiyon, ikinci yöntemde 15 g bitki örneğini etanol,

diklorometan ve hekzan çözücülerıyla ayrı olarak 24 saat soxhlette özüte ettiler ve evaporatörde kuruttular, üçüncü yöntemde clevenger aparatı kullanarak 3 saat buhar damıtma yoluyla ekstraksiyon yaptılar. Filtrasyondan sonra susuz sodyum sülfat üzerinde kurutulan yağ dolapta sakladılar. Test bakteri suşları olarak *E. coli*, *E. aerogenes* ve *S. aureus*'u kullandılar. Antimikrobiyal aktiviteyi disk difüzyon metodu kullanarak belirlediler. Sonuç olarak yaprak özütünün sapların özütünden daha güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiğini, etanol özütünün en yüksek etkiye sahip olduğunu, en hassas bakterinin *P. aeruginosa* olduğunu ve yapraklardan elde edilen uçucu yağ özütünün, yapraklardan etanol özütünden daha iyi sonuç verdiğini yaptıkları çalışma sonucunda buldular. Tek yönlü ANOVA ve *post hoc* çoklu karşılaştırma testleriyle (Scheffe) gruplar arasındaki farkları incelediler.

Demirkol ve Ertürk (2019) yaptıkları çalışmada kekik bitkisinin aralarında bulunduğu 50 adet baharat bitkisinden elde ettikleri özütlerin antimikrobiyal aktivitelerini test ettiler. Ayrıca antioksidan aktivitelerini çalıştılar. Özütleri elde ederken örnekleri, etanol çözücüsü ile oda sıcaklığında 5 gün, sonrasında ise +4 °C'ta beklettiler. Özütleri 0,45 µm çaplı membran filtreden süzerek steril ettiler. Özütlerin çözücüsünü buharlaştırdılar. Özütlerin antimikrobiyal etkinliğini *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* ve *A. niger* türlerine karşı disk difüzyon ve agar seyreltme metodu ile test ettiler. Sonuç olarak bu bitkilerin antimikrobiyal aktivite açısından belirgin farklar taşıdığını ve Gram + bakterilerin Gram - bakterilerden daha toleranslı olduğunu belirttiler. *S. typhimurium* en hassas bakteri, *B. cereus*'un ise en dirençli bakteri olduğu sonucuna ulaştılar.

Özcan ve ark. (2015) çalışmalarında *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) L. ve *Thymbra spicata* L. var. *spicata* türlerinin antimikrobiyal etkilerini araştırdılar. Test mikroorganizmaları olarak *A. hydrophila* ATCC 7965, *B. cereus* FMC 19, *B. subtilis*, *E. coli* DM, *E. coli* O157: H7 VT (N), *K. pneumoniae* FMC 5, *Mycobacterium smegmatis* RUT, *P. mirabilis* BC 3624, *S. aureus* Cowan 1 ve *Yersinia enterocolitica* türlerini kullandılar. Ekstraksiyon yöntemi olarak soxhlet ve ultrasonik su banyosu metotlarını kullandılar. 10 g bitki örneğini farklı çözücülerin belirli

oranlarında oluşturulan karışımları ile 5 saat boyunca soxhlet ile ekstrakte ettiler. Yine bitki örneklerini, farklı oranlarda farklı çözücülerden oluşturdukları karışımlarla ultrasonik su banyosunda 2 saat boyunca işleme tabi tuttular. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için agar difüzyon yöntemini kullandılar. İstanbul kekiği özütlerine karşı en hassas bakteriler *B. cereus* FMC 19, *B. subtilis* ve *M. smegmatis* RUT en dirençli bakteri ise *E. coli* O157:H7'dir. Karabaş kekik özütlerine karşı *M. smegmatis*'i en hassas bakteri olarak, *Y. enterocolitica*'yı en dirençli bakteri olarak gözlediler. İstanbul kekiği ekstraktlarının karabaş kekiği özütlerine oranla daha güçlü etki gösterdiğini belirttiler.

Tunç ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada farklı bitki türlerinin özütlerinin antimikrobiyal etkilerini araştırdılar. *Muscari neglectum*, *Punica granatum*, *Tussilago farfara*, *Taraxacum officinale*, *Wisteria sinensis*, *Syringa vulgaris*, *Cyclamen coum*, *Chaenomeles speciosa*, *Ornithogalum umbellatum*, *Allium siculum*, *Viburnum tinus* ve *Eryngium bithynicum* türlerinden özütler elde ettiler. 10 g bitki 150 ml metanol çözücüsü ile 8 saat ekstraksiyon yaptılar. Evaporatörde özütlerin çözücülerini uçurdular. Özütlerin antimikrobiyal aktivite tayini için disk difüzyon metodunu kullandılar. 0,5 McFarland bakteri yoğunluğunda, steril disklere (6 mm) 10 µl özüt uyguladılar. MHA'da bu diskleri denediler.

Tanhaş (2019) " Farklı Endemik *Origanum* Taksonlarının SSR ve SRAP Markörleri ile Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi ve Bazı Gıdalardaki Enzim Aktiviteleri Üzerinde Etkilerinin Araştırılması" isimli yüksek lisans tez çalışmasında *Origanum* cinsine ait bitki türlerinde moleküler markörleri kullanarak bitkiler arasındaki genetik çeşitliliği belirledi. *Origanum* cinsi için geliştirilmiş olan SSR (simple sequence repeat) ve SRAP (sequence-related amplified polymorphism) markörlerini kullandı. İşaret lokuslarında ortalama polimorfik bilgi içeriği değerini (PIC) 0,2785, NJ (Neighbor Joining) ile kümeleme analizi minimum değerini 0,127 ve maksimum değerini 0,882 olarak buldu. *O. syriacum* L. subsp. *bevanii* ve *O. majorana* L.'nın birbirine en uzak iki tür olarak bulunurken, *O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link.) (L.) ve *O. onites* L. türlerini birbirine en yakın türler olarak tespit etti.

Çetin (2018) çalışmasında *O. majorana* L. bitkisinin genetik karakterlerini belirlemek amacıyla RAPD yöntemini kullandı. Kütahya Hekim Sinan Şifalı Otlar Araştırma Merkezinden temin ettiği tohumları *in vitro* koşullarda çimlendirdi. Mikro çoğaltım yoluyla çoğalttı. 14 haftalık bitkilerden elde ettiği genomik DNA'yı 10 bazlık 8 RAPD primeri ile analiz etti. 8 primerden 6'sında bantlar görüldüğünü ifade etti. RAPD analizlerinin sonucunda monomorfik bantlar elde etti ve mikro çoğaltım yoluyla üretilen bitkilerde polimorfizm saptanmadığını belirtti.

Küyük (2018) "Türkiye'de Yetişen *Carthamus* L. Cinsine Ait Türlerde Genetik Çeşitliliğin Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu" isimli yüksek lisans tez çalışmasında farklı lokasyonlardan toplanan *Carthamus* L. türlerine ait 10 popülasyonda toplam 100 bitki örneğinde genetik çeşitliliği 20 UBC ISSR primeri kullanarak belirledi. Bu primerlerden 12'sinin skorlanabilir ve polimorfik sonuçlar verdiğini ifade etti. ISSR işaretleyicilerin 287 lokus ürettiğini ve lokus düzeyinde ise genetik çeşitliliğin $H_T=0,216$ düzeyinde olduğunu tespit etti. *Carthamus* popülasyonları arasında genetik çeşitlilik oranının yüksek olduğunu belirtti. Cluster analizleri için UPGMA yöntemini kullandı ve popülasyonların yabani türler ve kültür formlarının ayrı ayrı gruplandıklarını tespit etti.

Yasak (2017) "Bazı Fasulye Genotipleri Arasındaki Genetik Çeşitliliğin SSR ve ISSR Markırlarıyla Belirlenmesi" adlı yüksek lisans tez çalışmasında fasulye türleri arasındaki genetik ilişkiyi araştırdı. 5 SSR primerinden 53 ve 8 ISSR primerinden 28 adet polimorfik bant elde etti. Polimorfik bant sayısı ortalama SSR tekniğinde 6,63, ISSR tekniğinde 5,6 olarak saptarken polimorfizm oranı ortalamasını SSR tekniğinde %95,00, ISSR tekniğinde %81,20 olduğunu saptadı. ISSR tekniğinde ortalama PIC değeri 0,70, SSR tekniğinde 0,86 olarak tespit etti.

Mancak (2013) "Altınbaş Grubu Kavunların Diğer Kavunlarla Akrabalık İlişkilerinin Morfolojik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması" adlı doktora tezi çalışmasında 83 kavun genotipinde akrabalık ilişkisini belirlemeye çalıştı. Morfolojik ve moleküler karakterizasyon araştırması yaptı. Morfolojik açıdan 70 özellik yönünden inceledi. 76 adet ISSR primeriyle 4 genotipte ön tarama çalışması yaptı ve sonuç veren 21 ISSR primeri seçti. Kümeleme ve diğer analizleri NTSYS

(Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0) adlı paket program ile yaptı.

Najaphy ve ark. (2015) çalışmalarında *Thymus spp.* olan *T. daenensis*, *T. kotschyanus* ve *T. vulgaris* türlerine ait 13 ekotipin moleküler karakterizasyonunu 20 ISSR primeri kullanarak yaptılar. Çalışmalarında tohumlardan *in vitro* koşullarda bitkileri ürettiler. 20 ISSR primerinin 334 fragment ürettiğini ve bunlardan 325'inin polimorfik olduğu sonucuna ulaştılar.

Jedrzejczyk (2018) çalışmasında *Origanum L.*'nin farklı dört türü ile farklı üç alttürünü temsil eden 10 bitki örneğinin moleküler karakterizasyonunu 33 ISSR primeri ile çalıştı. Bunlardan 17 ISSR primerinin sonuç verdiğini belirtti.

Rahimmalek ve ark. (2009) çalışmasında İran'da yetişen *T. daenensis*'in farklı bölgelerinden toplanan 17 popülasyon için 20 ISSR primeri kullanarak genetik polimorfizmi belirlemeyi amaçladılar. Sonuç olarak 256 bant oluştuğunu ve bunların 228'inin polimorfik bantlar olduğunu belirttiler.

Bu tez çalışmasında;

1. Türkiye'de yetişen farklı kekik türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi
2. Farklı çözücülerin (etanol, hekzan ve kloroform) antimikrobiyal etkin maddelerin özütlenmesinde etkileri arasında farklılık var mıdır?
3. Elde edilen özütlerin çalışmada kullanılan mikroorganizmalar üzerinde etkileri arasında farklılık var mıdır?
4. Elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktivitelerinin Gram + ve Gram - bakteriler üzerinde etkileri arasında farklılık var mıdır?
5. Antimikrobiyal aktivitelerde gözlenen farklılıklarda çözücüye, mikroorganizma veya bitki türüne göre anlamlı varyasyon var mıdır?
6. ISSR analizleriyle elde edilen lokuslar ile özütlenen özütlerin antimikrobiyal aktiviteleri arasında bir korelasyon var mıdır? İstatistiksel olarak önemli midir? hedeflerinin gerçekleştirilmesi planlandı.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki türleri

Çalışmada kullanılan bitki türleri Diyarbakır'da bulunan T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Gap Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü'nde çalışan Ziraat Mühendisi Dr. Fethullah Tekin tarafından temin edildi. Çalışmada kullanılan 11 numaralı örnek Dr. Fethullah Tekin'in *Origanum onites* L. ve *Origanum syriacum* türlerini çaprazlayarak geliştirdiği bir kekik çeşit adaydır. Çalışmada kullanılan bitki materyali ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1'de verildi. Metin içerisinde bitki örneklerinin sadece tür adlarının kısaltmaları kullanılacaktır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bitki materyalinin Latince ve Türkçe adları ile örnek kod numaraları (ÖK: Örnek kodları)

ÖK	Latince tür adları	Türkçe adları
1.	<i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	Karabaş kekik, zahter
2.	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Adi Kekik
3.	<i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	Limon kekiği
4.	<i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	Kılçık kekiği
5.	<i>Origanum syriacum</i> L.	Hababa
6.	<i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	Yayla kekiği, Sütçüler kekiği veya Toka kekiği
7.	<i>Origanum onites</i> L.	Bilyalı kekik, İzmir kekiği
8.	<i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	Tahtacı kekiği
9.	<i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letswaart	Kuş zemulu
10.	<i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letswaart	İstanbul kekiği, kara kekik
11.	Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017)	

Thymbra spicata var. *spicata* L.: Mor veya pembe renkli çiçekli ve küçük çalı formundadır. 40 cm'ye kadar boylanabilir. Ülkemizde Orta ve Doğu Anadolu dışında

kalan bölgelerde görülür. Kayalık, kireçli topraklarda yetişir (Seçmen ve ark., 2004; Yıldız ve ark., 2010).

Thymus vulgaris L: Çiçekleri pembe veya mor renktedir. 25-30 cm'ye kadar boylanabilir ve kahverengi gövdedir. Çanakkale florasında doğal olarak bulunur (Anonim, 2020b).

Thymus citriodorus (Schreb): Genellikle çiçekleri pembe renklidir. 20-40 cm arasında boylanabilir ancak kültüre alındığı için yetiştiği bölgeye göre farklılıklar görülebilir (Katar ve ark., 2019). Yarı çalimsı ve çok yıllıktır. *Thymus pulegioides* ve *Thymus vulgaris* türlerinin melezi olan bir türdür. Güney Avrupa'da doğal yayılış gösterirken Akdeniz havzasında kültürü yapılır (Katar ve ark., 2019).

Thymus cilicicus Boiss. & Bal.: Çok yıllık küçük çalılardır. Yüksekliği 70-2000 arasındaki kayalık veya çakıllı arazilerde yetişir. Ülkemizde Adana, Antalya, Hatay, İçel, Muğla ve Karaman illerinde rastlanır (Anonim, 2019).

Origanum minutiflorum O. Schwarz & P.H. Davis: Beyaz çiçeklidir. Temmuz-Ağustos ayları arası çiçeklenir. 35 cm'ye kadar boylanabilen çalimsı formdadır. Yüksekliği 1500-1800 m olan kayalık ve kireçli yamaçlar habitatlarıdır. Güneybatı Anadolu, nadiren de Doğu Akdeniz bölgesinde yayılış gösterir. Endemik bir türdür (Taş, 2010).

Origanum onites L.: Çiçekleri beyaz renklidir. Mart-Ağustos ayları arası çiçeklenme dönemidir. 65 cm'ye kadar boylanabilir. Yüksekliği deniz seviyesinden 1400 m kadar olan genellikle kireçli yerler, taşlı tepeler ve kayalık yamaçlar, bazen de kısmı gölgede yetişir. Batı ve Güney Anadolu dahil olmak üzere Doğu Akdeniz'de yayılış gösterir (Taş, 2010).

Origanum saccatum P.H. Davis: Pembe çiçeklidir. Temmuz-Ağustos ayları arasında çiçeklenir. 80 cm'ye kadar boylanabilen çalimsı bir türdür. Yetiştirme yüksekliği 1000 m'ye kadardır. Kalkerli kayalar ve yamaçlar, bazen *Pinus* korulukları habitatlarıdır. Güney Anadolu'da nadiren de Doğu Akdeniz bölgesinde yayılış gösterir. Endemik bir türdür (Taş, 2010).

Origanum syriacum L.: 90 cm'ye kadar boylanabilir. Mayıs-Ekim ayları arasında çiçeklenir. Yüksekliği 200-2700 m olan kalkerli kayalar ve yamaçların kısmen gölge yerlerinde yetişebilir. Güney Anadolu, Doğu Akdeniz bölgesinde yayılış gösterir (Taş, 2010).

Origanum vulgare L. ssp. *gracile* (C. Koch) Letswaart: Doğu Anadolu bölgesinde yetişir (Taş, 2010). Mor, pembe veya beyaz çiçeklidir. 10 cm'ye kadar boylanabilir. Çok yıllık otsu formdadır. Mayıs-Ekim ayları arası çiçeklenme dönemidir. Kayalık yamaçlar ve kuru tepeler, kalkerli ve kalkersiz topraklar, kozalaklı ya da karışık koruluklar, makiliklerin kısmi gölgesi genellikle habitatlarıdır. Yetiştirme yüksekliği 0-2500 m arasında değişir (Taş, 2010).

Origanum vulgare L. ssp. *hirtum* (Link) Letswaart: Grek oregano ya da Yunan kekiği olarak bilinir. Akdeniz bölgesinde endemiktir hemen hemen dünyanın her yerinde yetiştirilmektedir ve en değerli kekik olarak kabul edilmektedir. Türkiye'de Batı ve Güney Anadolu bölgesinde yetişir (Taş, 2010).

3.1.2. Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan bakteri suşlarının adları Çizelge 3.2'de verildi. Metin içerisinde mikroorganizmaların sadece tür adlarının kısaltmaları kullanılacaktır.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar

SN	Mikroorganizmalar
1.	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
2.	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2753
4.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213

Escherichia, 2–6 µm uzunluğunda ve 1,1–1,5 µm genişliğinde, küçük kamçılı, Gram - fakültatif veya anaerobik, çubuk şeklindedir. *Escherichia* genellikle hücre yüzeyinin her tarafında kamçıları vardır, hareketlidir ve karbohidratlardan fermentasyonla gaz üretir. Doğada yaygın olarak bulunur. *E. coli* türü temel araştırmalarda ve biyoteknolojide model organizma olarak yaygın olarak kullanılan bakteri türüdür. *E. coli* ayrıca insan bağırsak sisteminin normal florasının en yaygın üyesidir (Leung ve Gallant, 2014). Bazı türler patojeniktir ve gastroenterit, menenjit ve yara enfeksiyonlarına neden olabilir. Bazı *E. coli* serotipleri, kanlı ishal veya hemolitik-üremik sendromla sonuçlanan toksinler üretebilir. Vankomisine dirençli *E. coli* (VRE), hastane enfeksiyonunun en yaygın nedenlerinden biridir ve tüm enfeksiyonların % 20'sini oluşturur (Buckle, 2015).

E. faecalis fakültatif anaerofilik bakteridir. En iyi üreme sıcaklığı 35 °C dir. Laktik asit bakterileridir ve fermente ürünlerde bulunur. Gram + bakterilerdir (Diken, 2016). *E. faecalis*, normalde bir bağırsak kommensali olmasına rağmen, idrar yolu enfeksiyonları, endokardit, bakteremi ve yara enfeksiyonları dâhil olmak üzere birçok ciddi insan enfeksiyonunun sık görülen bir nedenidir. *E. faecalis*'in neden olduğu hastalıklar arasında en yaygın olanı idrar yolu enfeksiyonlarıdır ve her yıl yaklaşık 110.000 vakadan sorumludur ve bunların çoğu hastane kaynaklı hastalıklardır. *E. faecalis* enfeksiyonları, birçok Gram + enfeksiyon için son çare olan vankomisin de dahil olmak üzere birçok antibiyotiğe sık direnç göstermeleri nedeniyle tedavisi özellikle zahmetli olabilir (Kau ve ark., 2005).

P. aeruginosa, *Gammaproteobacteria*'nın bir üyesi olan *Pseudomonadaceae* ailesine bağlı bir türdür. Gram -, çubuk şeklinde, sporsuz ve tek flagellumlu bir bakteridir. Sedefli bir görünüme ve üzüm veya tortillaya benzer bir kokuya sahiptir. *P. aeruginosa* 25 ° C ile 37 ° C arasında iyi büyür ve 42 ° C'ta büyüebilme yeteneği onu diğer birçok *Pseudomonas* türünden ayırmaya yardımcı olur. *P. aeruginosa*, çeşitli çevresel koşullar altında yaşama yeteneğine sahip bir mikroorganizmadır (Weihui ve ark., 2015). Sadece bitkilerde ve hayvanlarda değil, aynı zamanda insanlarda da hastalığa neden olur. *P. aeruginosa*, için konakçı organizmanın savunmasındaki zayıflıklardan yararlanarak bir enfeksiyona neden olabilir. Aslında,

P. aeruginosa, fırsatçı bir insan patojenidir. Bakteri, zarar görmemiş dokulara neredeyse hiç bulaşmaz, ancak bağışıklık yetmezliği durumunda herhangi bir dokuyu istila edebilir. *P. aeruginosa*, özellikle şiddetli yanık, tüberküloz, kanser ve AIDS hastalarında idrar yolu, solunum sistemi, dermis, yumuşak doku, bakteremi, kemik ve eklem, mide bağırsak ve kanda enfeksiyona neden olur (Min ve Xuefeng, 2015).

S. aureus, kok şeklinde olan ve "üzüm salkımı" benzeri olarak tanımlanan kümeler halinde düzenlenme eğiliminde olan Gram + bakterilerdir (Gram boyama ile mor renkte boyanır). Bu organizmalar aerobik veya anaerobik olarak (fakültatif) ve 18 °C ile 40 °C arasındaki sıcaklıklarda büyüebilir. *S. aureus*, çok çeşitli klinik belirtilere neden olan önemli bir bakteriyel insan patojenidir (Lowy 1998). Enfeksiyonlar hem toplumdaki edinilen hem de hastaneden edinilen ortamlarda yaygındır ve MRSA (Metisiline Dirençli *S. aureus*) gibi çoklu ilaca dirençli suşların ortaya çıkması nedeniyle tedavi yönetimi zor olmaya devam etmektedir (Centers for Disease Control and Prevention, 2003; Boucher and Corey, 2008). *S. aureus* çevrede bulunur ve aynı zamanda çoğu sağlıklı bireyin deri, mukoza zarlarında (çoğunlukla burun bölgesi) ve normal insan florasında da bulunur (Lowy, 1998). *S. aureus* normalde sağlıklı ciltte enfeksiyona neden olmaz; ancak kan dolaşımına veya iç dokulara girmesine izin verilirse, bu bakteriler potansiyel olarak çeşitli ciddi enfeksiyonlara neden olabilir (Lowy, 1998). İletim tipik olarak doğrudan temastan yapılır (Taylor, 2020).

3.2. Yöntem

Deneyle sırasında kullanılan cihazlar ve hangi amaçlarla kullanıldıkları EK 1’de verildi.

3.2.1. DNA izolasyonu yapılışı

DNA izolasyonu Doç. Dr. Özlem Özbek tarafından modifiye edilen Kidwell ve Osborn (1992) protokolüne göre yapıldı. DNA izolasyonu için kuru bitki yaprakları kullanıldı. Örneklere ait kuru yapraklar havan yardımıyla toz haline gelinceye kadar öğütülerek hazırlandı. Öğütülen bitki tozları eşit miktarlarda 2 ml’lik Eppendorf tüplerine numaralandırılarak konuldu. Diğer taraftan önceden hazırlanan 65 °C

sıcaklığında DNA izolasyon çözeltisi (A, B, C çözeltilerinden oluşan karışım EK 2) ezilmiş yaprak tozlarının bulunduğu Epenndorf tüplerine 1 ml eklendi. Tüp dibinde topaklanma olmaması için tüplere vorteksleme işlemi yapıldıktan sonra tüpler iki tüplük arasında sıkıca paketlenerek yan yatık şekilde çalkalamalı inkübatöre yerleştirildi ve 65 °C'ta, 70 rpm'de, 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra, tüplere 1000 µl kloroform izoamil alkol (24:1) eklenerek tamamlandıktan sonra 15 dakika nazikçe elde ters-yüz edildi. Bu işlemden sonra 4 °C'ta 12000 rpm'de 15 dk. santrifüjleme işlemi yapıldı. Santrifüj sonrası süpernatant steril temiz tüplere konuldu. Tüplere 1000 µl kloroform izoamil alkol (24:1) eklendikten sonra 15 dk. elde ters-yüz edildi ve 4 °C'ta 12000 rpm'de 15 dk. santrifüjleme işlemi yapıldı. Tekrar süpernatant içinde hacminin iki katı kadar -20 °C'ta bekletilen %100'lük etil alkol ve 225 µl 1 M'lık NaCl çözeltisi bulunan steril temiz tüplere alındı ve tüpler hafifçe ters-yüz edildi. Tüpler -20 °C'ta 30 dk. bekletildikten sonra, 4 °C'ta 12000 rpm'de 15 dk. santrifüjleme işlemi yapıldı. Bu aşamadan sonra süpernatant atıldı. Pelletlerin üzerine -20 °C'ta bekletilen %70'lik etanolden 200 µl eklendi ve -20 °C'ta 30 dk. bekletildi. Bu işlemin ardından 4 °C'ta 12000 rpm'de 3 dk. santrifüjleme işlemi yapıldı, süpernatant atıldı ve alkol kalıntılarının uzaklaşması için oda sıcaklığında, 5-10 dk. kuruması için bekletildi. Pelletlerin üzerine büyüklüklerine göre 50-100 µl 1XTE çözeltisi eklendi ve oda sıcaklığında bırakıldı. Tamamen çözünen DNA'lar daha sonra kullanılmak üzere +4 °C'ta saklandı.

3.2.2. Soxhlet cihazıyla özütleme yöntemi

Soxhlet yöntemiyle özüt elde etmek için 3'lü Soxhlet cihazı kullanıldı. İlk olarak bitki örnekleri havanda öğütüldü. Öğütülen bitki yapraklarından her bir tür için üç farklı çözücü ile özütleme işlemi için 30'ar g tartıldı ve filtre kâğıtlarına konularak özütör borularına yerleştirildi (Resim 3.1). Analizlerde kullanılan hekzan, kloroform ve etanol çözücülerinin her birinden ayrı ayrı 300 ml ölçüldü. Çözücüler ayrı bir şekilde balon jodelere konuldu. Soxhlet cihazı aparatları yerlerine takıldı ve cihazın ısı ayarı çözücülerin kaynama sıcaklığı dikkate alınarak ayarlandı. Özütör borusuna geri damıtmayla biriken çözücünün sifonlama yapıp yapmadığı kontrol edilerek 20-

30 dakikada bir sifonlama yapacak şekilde ayarlandı. Ekstraksiyon işlemi 24 saat sürede gerçekleştirildi ve bu sürenin sonunda cihaz manuel olarak kapatıldı.



Resim 3.1. Soxhlet özütör cihazı (3'lü balon)



Resim 3.2. Soxhlet özütleme işlemi sonrası çözücüsü belli bir seviyeye gelene kadar uzaklaştırılan ve balon jode kalan özüt

Çıkan özütlerin çözücüleri, özüt yaklaşık 30 ml kalana kadar yine Soxhlet cihazında en düşük sıcaklıkta uzaklaştırıldı (Resim 3.2) ve balonda kalan özütler falkon tüplerine alınıp kullanılıncaya kadar +4 °C'ta bekletildi. Aynı işlem tüm bitki türleri ve çözücüler için gerçekleştirildi. Falkon tüplerdeki özütler 2000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi ve özütteki tortular dibeye çöktürüldü. Santrifüj sonrası özütlerin temiz ve sıvı olan kısmı siyah şişelere alındı ve kalan çözücü ısıtıcı yardımıyla tamamen uzaklaştırıldı. Şişelerin dibinde kalan tortular kullanılıncaya kadar +4 °C'ta saklandı. Antimikrobiyal analizler için özüt tortularını içeren şişelerin içine hangi çözücü (etanol, hekzan ve kloroform) ile özütlendi ise aynı çözücüden 5 ml çözücü eklendi ve homojen hale gelince steril kabin içinde steril olan 0,22 µm çapındaki mikrofiltreden süzüldü. Bazı durumlarda 5 ml çözünme için yeterli olmadığında 5 ml daha ekleme yapılarak, homojenliği sağlamak ve katı partikülleri dibeye çöktürmek için 2500 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Süpernatant temiz tüplere alındı ve 3000 rpm'de 15 dk. daha santrifüj işlemine tabi tutuldu. Süpernatant 0,22 µm çapındaki mikrofiltreden süzülebilir hale getirildi. Sterilliği sağlanan örnekler kapaklı cam şişelerde (steril) ve +4 °C'ta saklandı. Çalışmada 11 farklı kekik türü için 3 farklı çözücü (hekzan, kloroform, etanol) kullanılarak toplamda 33 adet özüt elde edildi.

3.2.3. Disk difüzyon testi yapılışı

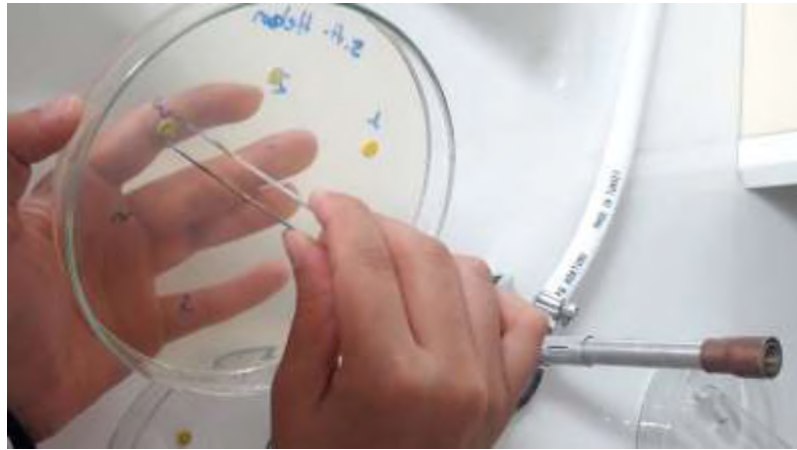
Bauer-Kirby yöntemini temel alarak EUCAST tarafından geliştirilen standart disk difüzyon yöntemi ve Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisindeki anlatımı referans alınarak uygulandı. Disk difüzyon işlemi;

- Bakteri süspansiyonu hazırlanması,
- Bakterilerin MHA'ya ekimi,
- Özütlerin disklere emdirilmesi,
- Disklerin plaklara yerleştirilmesi
- Etüve yerleştirme aşamalarından oluşur.

Çalışmanın her aşaması sterilliği sağlamak amacıyla alevin yanında gerçekleştirildi. Bakteri ekim süspansiyonu hazırlanması için laboratuvarında daha önceden hazırlanan ve sterilize edilen fizyolojik tuz çözeltisi (0,9 M NaCl–saf su karışımı) (EK 2) steril cam tüplere \approx 5 ml kadar konuldu. Bir gün önceden hazırlanan katı besi yerinde (nutrient agar) (EK 3) bulunan bakteri kolonilerinden steril öze yardımıyla alındı. Tüp kenarında alınan bakteri kolonileri ezildi ve karışımın homojen olması için vortekslenerek süspansiyon hazırlandı. Yoğunluğu, McFarland ayarı 0,5 olacak şekilde ayarlandı. Steril eküvyon ile süspansiyona batırılıp bakteri alındı ve daha önceden hazırlanan MHA plağına (EK 3) homojen bir şekilde, yayma tekniğiyle ekildi. Disklere emdirilmesi planlanan özütler için steril standart boş antibiyotik diskler kullanıldı. Temiz ve boş steril bir plak üzerine steril standart boş diskler yerleştirildi. Disklerin üzerine özütlerden 15, 20 ve 25 μ l dozları damlatıldı ve emdirildi (Resim 3.3). Disklerin kuruması için 5-10 dk. süreyle beklendi ve ekim yapılan plaklara bitki türlerine ait kod numaraları, çözücü adı, uygulanan doz miktarı ve bakteri isimleri yazıldı. Yayma yöntemi ile ekimler yapıldıktan sonra, bir pens yardımı ile diskler besi yerine numaralarına göre yerleştirildi (Resim 3.4). Disklere, pens ile hafifçe bastırılarak besi yere tutunması sağlandı ve düşmeleri önlendi.



Resim 3.3. Standart boş antibiyotik disklere özütlerin emdirilmesi



Resim 3.4. Özüt emdirilmiş disklerin bakteri ekimi yapılan plakların üzerine yerleştirilmesi

Mikroorganizmalar üzerinde özütlerin antimikrobiyal aktivitelerini gözlemlemek ve çözücülerin de antimikrobiyal aktiviteye etkilerinin olup olmadığını anlamak için negatif kontrol olarak aynı petrilere kontrol grubu kullanıldı. Kontrol için kullanılan disklere sadece aynı dozda çözücü emdirilip kurduklarında aynı petrilere yerleştirildi. Bu işlemden sonra inkübasyon için petrilere 24 saat süreyle etüvde 37 °C'ta bekletildi. Oluşan zonlar cetvel yardımıyla ölçülerek sonuçlar kaydedildi. Zon çapları ölçülemeyecek kadar büyük ya da birbirine kaynaşmış olan zonlar ölçülmeden deneyler tekrar edildi. Optimizasyon çalışmalarına göre zon çapları tahmin edilerek disk yerleştirme işlemi buna göre yapıldı. Tüm uygulamalar iki kopya halinde tekrarlandı.

3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonları (PZR) (Polymerase Chain Reaction, PCR) hazırlanması

ISSR için Wolfe ve ark. (1998)'nin protokolü uygulandı. Moleküler karakterizasyon için örnekler 30 UBC (University of British Columbia) ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) primeri ile tarandı ve skorlanabilir sonuçlar üreten 10 primer analizler için kullanıldı. Bu primerlerin adları ve dizi bilgileri Çizelge 3.3'te verildi.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan UBC primerlerin adları ve dizi bilgileri

SN	PN	PRİMER DİZİSİ (5'→3')
1	UBC 808	AGA GAG AGA GAG AGA GC
2	UBC 810	GAG AGA GAG AGA GAG AT
3	UBC 817	CAC ACA CAC ACA CAC AA
4	UBC 818	CAC ACA CAC ACA CAC AG
5	UBC-825	ACA CAC ACA CAC ACA C
6	UBC 826	ACA CAC ACA CAC ACA CC
7	UBC 827	ACA CAC ACA CAC ACA CG
8	UBC 829	TGT GTG TGT GTG TGT GC
9	UBC 853	TCT CTC TCT CTC TCT CRT
10	UBC-865	CCG CCG CCG CCG CCG CCG

Bir PCR reaksiyonu (20 µl) için PCR bileşenleri son hacimde; 10x *Taq* DNA polimeraz tampondan 1x, 25 mM MgCl₂'den (Fermantas) 3 mM, 10 mM dNTP'den 0,2 mM, 10 mM primer'den (UBC) 0,2 µM, *Taq* DNA polimerazdan (500U/ µl) 0,15 U olacak şekilde ve dH₂O ile hacim 19 µl'ye ulaşana kadar eklendi. Her bir PCR reaksiyonuna 1 µl DNA (10-50 nm) eklenerek reaksiyon hacimleri 20 µl'ye tamamlandı. PCR reaksiyonları Thermo marka bir thermalcycler cihazla gerçekleştirildi.

PCR termal programı 94°C'ta 1,5 dk. 1 döngü başlangıç denatürasyonu, 35 döngü 94°C'ta 1 dk. denatürasyon, 55°C'ta 30 s primer bağlanma (annealing) ve 72°C'ta 2 dk. sentez (extention) ve 1 döngü 72°C'ta 5dk. son uzama (final extention) olacak

şekilde programlandı. Primer bağlanma sıcaklığı farklı olan primerler için programda ayarlamalar yapıldı.

Çoğaltılan PCR ürünleri %1,3'lük agaroz jelde (EK 2) DNA ladder (GeneDirex, 100 bp ile birlikte 80 V 60 mA akım uygulanan elektroforez cihazında 1-1,30 saat arası DNA ladder bantları tam olarak açılana kadar yürütüldü. Elektroforez işleminden jellerin görüntüleri jel görüntüleme cihazıyla (GEN-BOX SDR Bio-İmaging System) görüntülendi ve ışık kaynağı olarak UV kullanılarak fotoğrafları çekildi. Değerlendirmeler Image Quant (Total Lab) yazılım programı ve fotoğraflar üzerinden yapılarak skorlama işlemi yapıldı.

3.2.5. Verilerin istatistiksel analizi

Bu çalışmada 11 farklı kekik türünden üç farklı çözücü (etanol, hekzan ve kloroform) ile antimikrobiyal madde içeren özüt izolasyonu yapıldı ve dört farklı bakteri üzerinde disk difüzyon yöntemiyle iki kopya şeklinde uygulandı. Antimikrobiyal maddenin inhibisyon zon çapları cetvel ile ölçüldü ve ortalamaları alındı. Elde edilen bu ham verileri değerlendirebilmek için çeşitli istatistiksel analizler yapıldı. Farklı bitki türlerinden farklı çözücülerle elde edilen özütlerin bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri arasında varyasyon olup olmadığı ANOVA yöntemiyle SPSS (ver. 21) yazılım programıyla analiz edildi. Analizler için iki alternatif hipotez kuruldu, bunlar; H_0 = Farklı kekik türlerinden üç farklı çözücü ile elde edilen özütlerin antimikrobiyal inhibisyon zonları çapları arasında farklılık yoktur. H_1 = Farklı kekik türlerinden üç farklı çözücü ile elde edilen özütlerin antimikrobiyal inhibisyon zonları çapları arasında farklılık vardır.

Çalışmada kullanılan 11 farklı kekik türünün genotipleri ISSR işaretleme sistemiyle analiz edildi. PCR analizleri için kullanılan 10 primerle üretilen ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki *Pearson* korelasyon testi ile analiz edildi.

ISSR skorları ile elde edilen ham veriler PopGen (ver. 3.2) ile analiz edilmek üzere binary veri formatına dönüştürüldü. Binary veri formatına göre eğer bant var ise (1) yok ise (0) olarak kabul edilir. PopGen (ver. 3.2) popülasyon genetiği analiz

programı ile kekik türlerinde gözlenen alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}) ve genetik çeşitlilik (h) düzeyi Nei'ye (1972) göre analiz edildi. Bitki türleri arasında hesaplanan genetik uzaklık değerlerine göre bir dendrogram oluşturuldu.

Bu çalışmadaki tüm istatistiksel analizler Doç. Dr. Özlem ÖZBEK tarafından yapıldı.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Disk difüzyon test sonuçları

Kekik türlerinden üç farklı çözücü (etanol, hekzan ve kloroform) ile elde edilen özütlerin bakteriler üzerindeki disk difüzyon yöntemi uygulamalarının antimikrobiyal etkinlik sonuçları Çizelge 4.1-4.9’da verildi. Etanolün çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütlerden antibiyogram disklerine 15 µl hacimde örnek uygulandığında ortalama inhibisyon zon çapları 3,5–47,5 mm arasında değişmektedir. En yüksek zon çapı *T. vulgaris*’ten elde edilen özüt ile *S. aureus* bakterisinde gözlemlendi. En düşük zon çapı *T. citriodorus*, *O. minutiflorum* ve *O. saccatum* ile *E. coli*’de, *O. vulgare* ile *P. auriginosa*’da ve Kekik çeşit adayı (Tekin, 2017) ile *E. faecalis*’te tespit edildi (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Etanolün çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütten 15 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları (K: Kontrol)

Örneklerin Latince adı	Etanol (15 µl)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auriginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. <i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	40	19,5	8,5	10,5
2. <i>Thymus vulgaris</i> L.	47,5	21	8,5	9
3. <i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	45	18	9	3,5
4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	22	0	0	0
5. <i>Origanum syriacum</i> L.	30	15	0	10
6. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	29	15	0	3,5
7. <i>Origanum onites</i> L.	35	17,5	7	7
8. <i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	28	11,5	7	3,5
9. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letswaart	26,5	15,5	3,5	7,5
10. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letswaart	24,5	11,5	0	11
11. Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017)	20	3,5	0	0
K	0	0	0	0

*Kırmızı renkle gösterilen değerler en yüksek ve en düşük değerleri ifade ediyor

Etanolün çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütlerden antibiyogram disklerine 20 µl hacimde özüt uygulandığında ortalama inhibisyon zon

çapları 4–50 mm arasında değişmektedir. En yüksek zon çapı *T. vulgaris*'ten elde edilen özüt ile *S. aureus* bakterisinde gözlemlendi. En düşük zon çapı *T. citriodorus* ve *O. minutiflorum* ile *E. coli*'de gözlemlendi (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Etanolün çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 20 µl hacimde disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları

Örneklerin Latince adı	Etanol (20 µl)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auriginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. <i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	35	20	14,5	12
2. <i>Thymus vulgaris</i> L.	50	26,5	12	10,5
3. <i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	43	22	11,5	4
4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	20	0	16	0
5. <i>Origanum syriacum</i> L.	32	16,5	11	10
6. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	29	15,5	11	4
7. <i>Origanum onites</i> L.	37	18,5	11	4,5
8. <i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	32	10,5	11	8,5
9. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letswaart	30,5	15	11	9,5
10. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letswaart	32,5	13,5	9,5	10,5
11. Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017) K	26,5	0	0	0

*Kırmızı renkle gösterilen değerler en yüksek ve en düşük değerleri ifade ediyor

Etanolün çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütlerden antibiyogram disklerine 25 µl hacimde özüt uygulandığında ortalama inhibisyon zon çapları 4–35,5 mm arasında değişmektedir. En yüksek zon çapı *T. vulgaris*'ten elde edilen özüt ile *S. aureus* bakterisinde gözlemlendi. en düşük zon çapı *T. cilicicus* ile *P. auriginosa* ve *E. coli*'de belirlendi (Çizelge 4.3).

Hekzanın çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütlerden disklerle 15 µl hacimde özüt uygulandığında ortalama inhibisyon zon çapları 24 – 3,5 mm arasında değişmektedir. En yüksek zon çapı *O. onites*'ten elde edilen özüt ile *S. aureus* bakterisinde gözlemlendi. En düşük zon çapı *T. spicata* ile *E. faecalis*'te tespit edildi (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.3. Etanolün çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 25 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları

Örneklerin Latince adı	Etanol (25 µl)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auriginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. <i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	30	17,5	13	12
2. <i>Thymus vulgaris</i> L.	35,5	17,5	9,5	6
3. <i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	32,5	14,5	9	9
4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	14,5	9	4	4
5. <i>Origanum syriacum</i> L.	25	14	9	10
6. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	25	15	6	5
7. <i>Origanum onites</i> L.	34,5	17,5	9,5	9
8. <i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	22	12	6,5	9
9. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letswaart	26,5	17,5	10	9,5
10. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letswaart	28,5	12	5	10,5
11. Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017)	18,5	8	9,5	0
K	0	0	0	0

*Kırmızı renkle gösterilen değerler en yüksek ve en düşük değerleri ifade ediyor

Çizelge 4.4. Hekzanın çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 15 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları

Örneklerin Latince adı	Hekzan (15 µl)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auriginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. <i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	13	3,5	0	0
2. <i>Thymus vulgaris</i> L.	6	0	0	0
3. <i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	5,5	0	0	0
4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	0	0	0	0
5. <i>Origanum syriacum</i> L.	4	0	0	9
6. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	3,5	0	0	0
7. <i>Origanum onites</i> L.	24	4,5	0	7
8. <i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	16	0	0	0
9. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letswaart	22	0	0	9
10. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letswaart	16,5	5	0	12
11. Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017)	11	0	0	0
K	0	0	0	0

*Kırmızı renkle gösterilen değerler en yüksek ve en düşük değerleri ifade ediyor

Hekzanın çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütlerden disklerle 20 µl hacimde örnek uygulandığında ortalama inhibisyon zon çapları 3,5–26,5 mm arasında değişmektedir. En yüksek zon çapı *O. vulgare* ssp. *hirtum*'dan elde edilen özüt ile *S. aureus* bakterisinde gözlemlendi. En düşük zon çapı *O. onites* ile *E. coli*'de belirlendi (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Hekzanın çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 20 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları

Örneklerin Latince adı	Hekzan (20 µl)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auriginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. <i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	13	10	0	0
2. <i>Thymus vulgaris</i> L.	10,5	0	0	0
3. <i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	17	0	0	0
4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	7	0	8	0
5. <i>Origanum syriacum</i> L.	15,5	0	0	4
6. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	15,5	0	0	0
7. <i>Origanum onites</i> L.	30	10	4,5	3,5
8. <i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	4	5	0	0
9. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letswaart	20,5	9,5	0	11,5
10. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letswaart	26,5	12	8,5	6,5
11. Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017)	9	0	0	0
K	0	0	0	0

*Kırmızı renkle gösterilen değerler en yüksek ve en düşük değerleri ifade ediyor

Hekzanın çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütlerden disklerle 25 µl hacimde örnek uygulandığında ortalama inhibisyon zon çapları 3,5–17,5 mm arasında değişmektedir. En yüksek zon çapı *O. vulgare* ssp. *hirtum*'dan elde edilen özüt ile *S. aureus* bakterisinde gözlemlendi. En düşük zon çapı kekik çeşit adayı'ndan elde edilen özüt ile (Tekin, 2017) ile *S. aureus*'ta gözlemlendi (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Hekzanın çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 25 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları

Örneklerin Latince adı	Hekzan (25 µl)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auriginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. <i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	9	7,5	4	8,5
2. <i>Thymus vulgaris</i> L.	9	0	0	0
3. <i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	8,5	0	0	0
4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	4	0	0	0
5. <i>Origanum syriacum</i> L.	8	4	0	4,5
6. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	7	0	0	0
7. <i>Origanum onites</i> L.	18	7	0	7,5
8. <i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	10,5	8,5	0	8
9. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letswaart	13	9	0	4,5
10. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letswaart	17,5	13,5	4	13
11. Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017) K	8,5	0	0	0
	3,5	5,5	0	0

*Kırmızı renkle gösterilen değerler en yüksek ve en düşük değerleri ifade ediyor

Kloroformun çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütlerden antibiyogram disklerine 15 µl hacimde örnek uygulandığında ortalama inhibisyon zon çapları 3,5–50 mm arasında değişmektedir. En yüksek zon çapı *T. vulgaris*'ten elde edilen özüt ile *S. aureus* bakterisinde gözlemlendi. En düşük zon çapı *O. onites* ve *O. saccatum* ile *E. coli*'de tespit edildi (Çizelge 4.7).

Kloroformun çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütlerden antibiyogram disklerine 20 µl hacimde örnek uygulandığında ortalama inhibisyon zon çapları 3,5–50 mm arasında değişmektedir. En yüksek zon çapı *T. vulgaris*'ten elde edilen özüt ile *S. aureus* bakterisinde gözlemlendi. En düşük zon çapı *O. vulgare* . ssp. *hirtum* ile *P. auriginosa*'da elde edildi (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.7. Kloroformun çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 15 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları

Örneklerin Latince adı	Kloroform (15 µl)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auriginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. <i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	32,5	21,5	0	10,5
2. <i>Thymus vulgaris</i> L.	50	27,5	0	0
3. <i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	30	17	0	0
4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	0	0	0	0
5. <i>Origanum syriacum</i> L.	14,5	9,5	7	4
6. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	14,5	12	0	8
7. <i>Origanum onites</i> L.	26	11,5	0	3,5
8. <i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	25	0	0	3,5
9. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letsvaart	25	11,5	8	8
10. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letsvaart	28,5	9,5	0	9
11. Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017)	11	0	0	0
K	0	0	0	0

*Kırmızı renkle gösterilen değerler en yüksek ve en düşük değerleri ifade ediyor

Çizelge 4.8. Kloroformun çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 20 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları

Örneklerin Latince adı	Kloroform (20 µl)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auriginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. <i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	29	16	11,5	12
2. <i>Thymus vulgaris</i> L.	50	34,5	4,5	0
3. <i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	50	19	4	0
4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	7	0	18	0
5. <i>Origanum syriacum</i> L.	18,5	14,5	4,5	9
6. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	20	16,5	5	8,5
7. <i>Origanum onites</i> L.	36,5	16	4,5	4
8. <i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	33	11,5	0	0
9. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letsvaart	26	15	8,5	9,5
10. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letsvaart	25,5	12,5	4	10,5
11. Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017)	26,5	0	0	0
K	0	0	0	0

*Kırmızı renkle gösterilen değerler en yüksek ve en düşük değerleri ifade ediyor

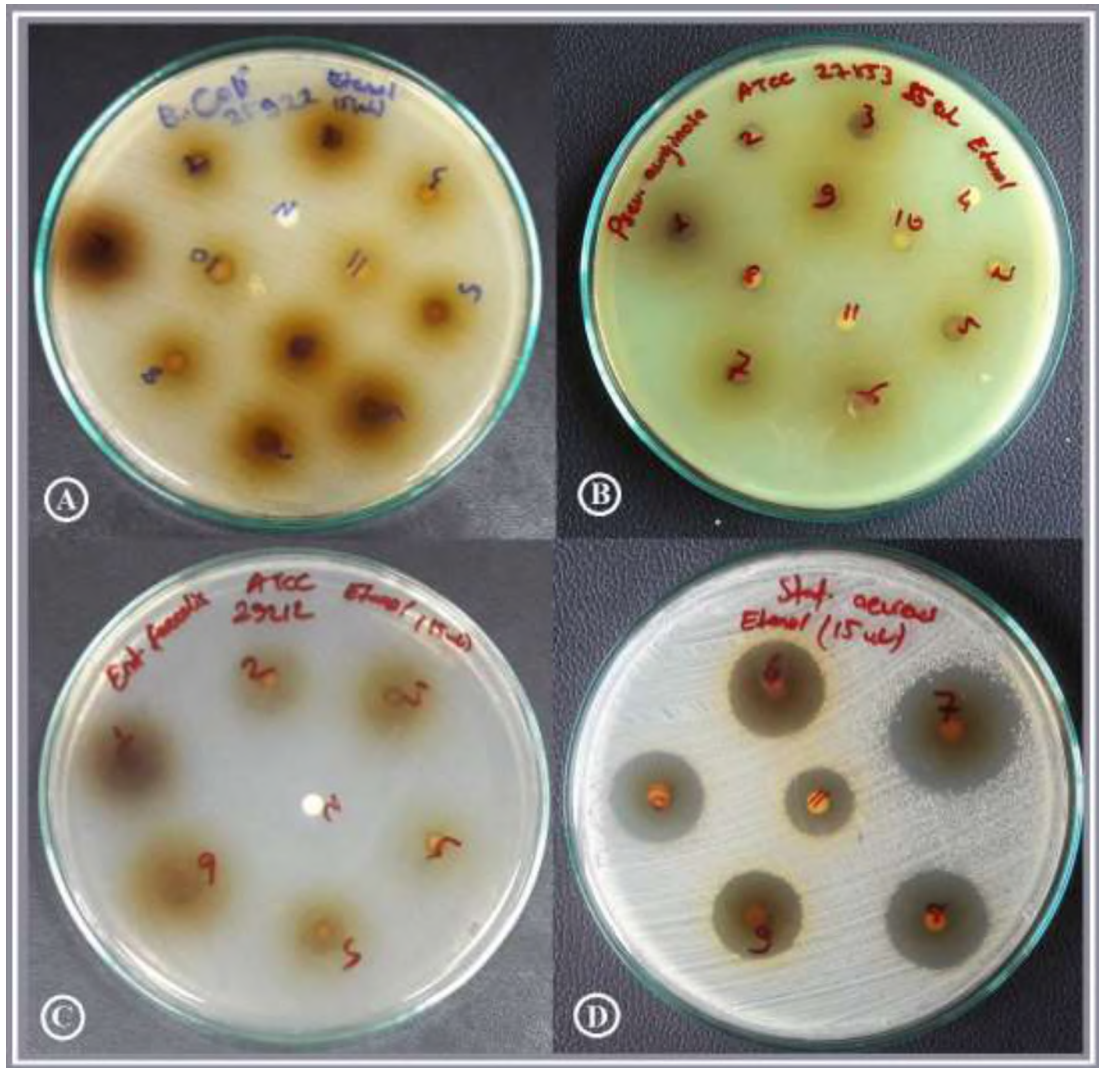
Kloroformun çözücü olarak kullanılıp farklı kekik türlerinden elde edilen özütlerden antibiyogram disklerine 25 µl hacimde örnek uygulandığında ortalama inhibisyon zon çapları 3,5–39,5 mm arasında değişmektedir. En yüksek zon çapı *T. vulgaris*'ten elde edilen özüt ile *E. faecalis* bakterisinde tespit edildi (Çizelge 4.9). En düşük zon çapı *T. spicata* var. *spicata*, *T. cilicicus*, *O. minutiflorum*, ve *O. onites* ile *P. auriginosa*'da gözlenirken *T. citriodorus* ile *E. coli*'de, *T. cilicicus* ile *S. aureus*'ta ve Kekik çeşit adayı (Tekin, 2017) ile *E. faecalis*'te gözlemlendi.

Çizelge 4.9. Kloroformun çözücü olarak kullanılıp kekik türlerinden elde edilen özütten 25 µl hacimin disk difüzyon uygulaması sonucu elde edilen ortalama antimikrobiyal inhibisyon zon çapları

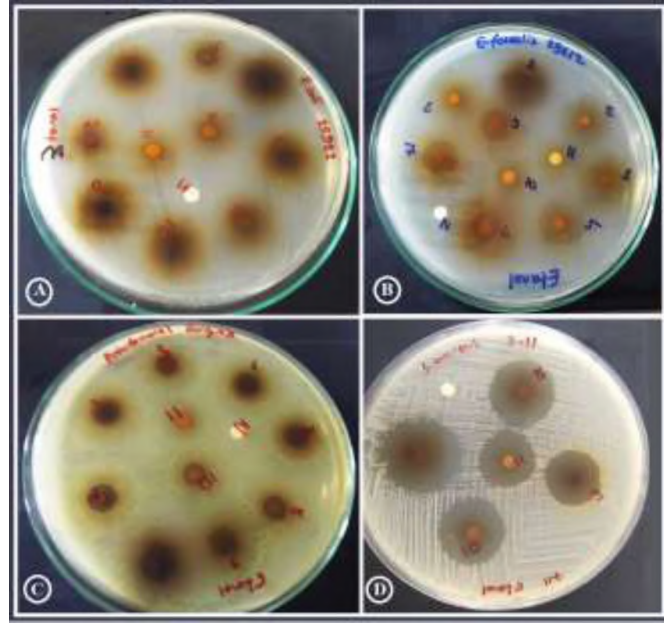
Örneklerin Latince adı	Kloroform (25 µl)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auriginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. <i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	15	17	3,5	13,5
2. <i>Thymus vulgaris</i> L.	25	39,5	0	10
3. <i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	16,5	20,5	0	3,5
4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	3,5	0	3,5	0
5. <i>Origanum syriacum</i> L.	7,5	11,5	0	11
6. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	9,5	12,5	3,5	10,5
7. <i>Origanum onites</i> L.	10	14,5	3,5	5
8. <i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	0	9,5	0	8
9. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letswaart	16	11	4	10
10. <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letswaart	16	11	0	11
11. Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017)	12	3,5	0	0
K	0	4,5	0	0

*Kırmızı renkle gösterilen değerler en yüksek ve en düşük değerleri ifade ediyor

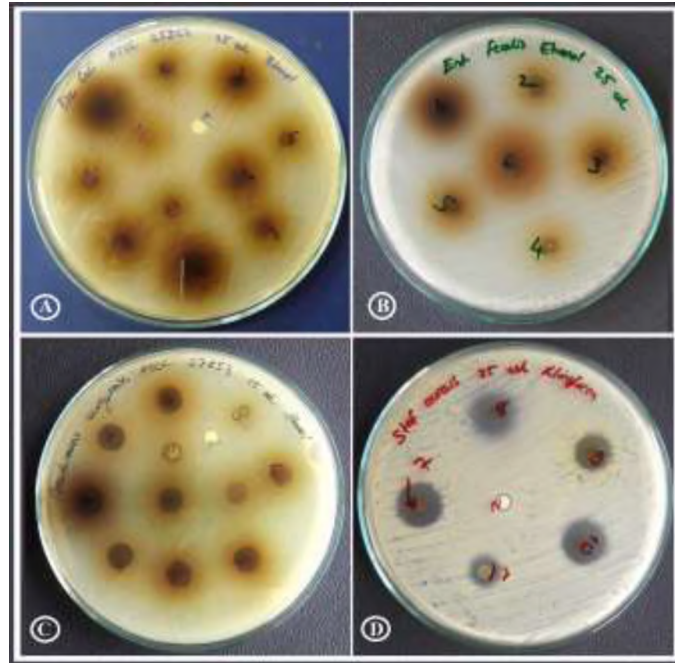
Kekik türlerinden üç farklı çözücü (etanol, hekzan ve kloroform) ile elde edilen özütlerin bakteriler üzerindeki disk difüzyon yöntemi uygulanmalarının antimikrobiyal aktivitelerinin sonuçlarını gösteren görseller Resim 4.1'de 15 µl, 4.2'de 20 µl ve Resim 4.3'te 25 µl için verildi.



Resim 4.1. Kekik türlerinden etanol ile elde edilen özütlerin 15 µl uygulamasının *E. coli* (A), *P. aeruginosa* (B), *E. faecalis* (C) ve *S. aureus* (D) bakteri suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivite sonuçlarından örnekler



Resim 4.2. Kekik türlerinden etanol ile elde edilen özütlerin 20 µl uygulamasının *E. coli* (A), *E. faecalis* (B), *P. aeruginosa* (C) bakteri suşları ve *S. aureus* (D) bakteri suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivite sonuçlarından örnekler



Resim 4.3. Kekik türlerinden etanol ile elde edilen özütlerin 25 µl uygulamasının *E. coli* (A), *E. faecalis* (B), *P. aeruginosa* (C) bakteri suşları ve kloroform ile elde edilen özütlerin *S. aureus* (D) bakteri suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivite sonuçlarından örnekler

Farklı kekik türlerinden üç farklı çözücü ile elde edilen özütler üç farklı konsantrasyonda dört farklı bakteri üzerinde disk difüzyon yöntemiyle uygulandı. Sonuçları her bir çözücünün antimikrobiyal etkisini kendi içinde değerlendirdiğimizde; etanol ile elde edilen özütlerin üç farklı konsantrasyonda (15 µl, 20 µl ve 25 µl) uygulanması sonuçlarını karşılaştırdığımızda en yüksek düzeyde antimikrobiyal etki *S. aureus* bakterisinde gözlenirken ikinci sırada yüksek antimikrobiyal aktivite *E. faecalis* bakterisinde gözlemlendi. Antimikrobiyal aktivitelerin uygulanan farklı hacimlere göre büyük bir farklılık göstermeden yaklaşık düzeylerde olduğu tespit edildi. Etanol ile elde edilen özütlerin üç farklı hacimde uygulanmasının *P. auriginosa* ve *E. coli* bakterilerinde önemli bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı gözlemlendi. Ayrıca *T. cilicicus* bitkisinden elde edilen özütün 15 µl hacimde uygulanmasında sadece *S. aureus* bakterisi üzerinde etki ettiği belirlendi.

Hekzan ile elde edilen özütlerin üç farklı konsantrasyonda (15 µl, 20 µl ve 25 µl) uygulanması sonuçlarını karşılaştırdığımızda en yüksek düzeyde antimikrobiyal etkinin *S. aureus* bakterisi üzerinde etkili olduğu ikinci sırada yüksek düzeyde etkiyi *E. faecalis* bakterisinde gösterdiği ancak bunun da düzeyleri *S. aureus*'taki etkileri ile karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu tespit edildi. *P. auriginosa* ve *E. coli* üzerinde antimikrobiyal etkilerinin neredeyse yok denecek kadar düşük düzeylerde olduğu gözlemlendi. Bunların yanı sıra, hekzanla elde edilen özütlerin uygulandıkları hacimlere göre 15 ve 20 µl hacimlerde yüksek antimikrobiyal etki gözlenirken 25 µl hacimde uygulandığında antimikrobiyal etkinin azaldığı tespit edildi.

Kloroform ile elde edilen özütlerin üç farklı konsantrasyonda (15 µl, 20 µl ve 25 µl) uygulanması sonuçlarını karşılaştırdığımızda en yüksek düzeyde antimikrobiyal etki *S. aureus* bakterisinde gözlenirken ikinci sırada yüksek antimikrobiyal aktivite *E. faecalis* bakterisinde gözlemlendi. Kloroformla elde edilen özütlerin *S. aureus* ve *E. faecalis* bakterisinde *E. faecalis* bakterilerinde uygulanan hacimleri arttıkça antimikrobiyal etkilerinin kademeli olarak azaldığı da belirlendi. Buna karşın *P. auriginosa* ve *E. coli* üzerinde antimikrobiyal etkilerinin uygulanan hacim arttıkça (20 µl ve 25 µl) arttığı gözlenirken, 15 µl hacimdeki uygulamada antimikrobiyal

etkinin oldukça minimal düzeyde ve birkaç örnekten elde edilen özütün uygulamalarında olduğu gözlemlendi.

Akın ve Saraçoğlu (2008) *T. spicata* L. var. *spicata* bitkisinin distilasyon yöntemiyle elde ettikleri uçucu yağını *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* RSKK 97008, *B. cereus* ATCC 17778, *E. coli* ATCC 29998, *Salmonella choleraesuis* ATCC 14028, *Streptococcus mutans* NCTC 10449 ve *Sarcina lutea* ATCC 9341 suşlarına, yaklaşık 25 µl dozunda ve disk difüzyon yöntemini kullanarak denediler ve sonuç olarak bakteriler sırasıyla '25 mm', 'etkisiz', '42 mm', '15 mm', '25 mm', 'üreme yok' ve 'üreme yok' şeklinde buldular.

Joma (2018), *T. spicata* L. var. *spicata* bitkisinin su, metanol ve hekzan ile çıkardığı özütleri, disk difüzyon metodu ile *S. maltophilia* suşu üzerinde, 20 µl olarak denedi ve sonuç olarak sırasıyla; 16 mm, 23 mm ve 10 mm zon çapı oluştuğunu çalışmasında belirtti. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Akın ve Saraçoğlu (2008) ve Joma (2018)'nin sonuçları ile karşılaştırıldığında elde edilen antimikrobiyal aktivitelerin oldukça yüksek olduğu ifade edilebilir.

Ertürk ve arkadaşları (2010) Akova ve Kardelen firmalarından satın aldıkları kekik uçucu yağını, 8 Gram - bakteri, 12 Gram + bakteri, 1 mikobakteri ve 7 maya suşundan oluşan mikroorganizmalar üzerinde 15 µl olarak, disk difüzyon metodu ile denediler ve sonuç olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu hariç tüm mikroorganizmalarda güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirttiler.

Benli ve Yiğit (2005) *T. vulgaris* bitkisinden hazırladıkları özütlerin içine boş diskleri attılar ve otoklavlayarak diskleri disk difüzyon yönteminde kullandılar. Test mikroorganizmaları arasında bu çalışmada da çalışılan *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşlarının dâhil olduğu 14 mikroorganizma ile çalıştılar. *B. subtilis* hariç mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal bir etkinin görülmediğini belirttiler.

4.2. ANOVA sonuçları

ANOVA sonuçlarına göre H_0 hipotezi red edilmiş ve H_1 hipotezi kabul edilmiştir. Çünkü ANOVA verilerine göre 11 farklı kekik türünden üç farklı çözücü ile elde edilen özütlerin üç farklı hacimde dört bakteri üzerine uygulanmaları sonucunda antimikrobiyal aktiviteler arasında farklılığın önemli ve anlamlı olduğu gözlemlendi. Sigma değerine göre antimikrobiyal aktivitelerinde etkinlik düzeyleri *T. spicata* L. var. *spicata*, *T. vulgaris*, *T. citriodorus*, *T. cilicicus*, *O. syriacum*, *O. vulgare* ssp. *hirtum* ve kekik çeşit adayı (Tekin, 2017) türlerinde anlamlı bulunurken *O. minutiflorum*, *O. onites*, *O. saccatum* ve *O. vulgare* ssp. *gracile* türlerinde ise anlamlı olmadığı tespit edildi (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Farklı kekik türünden üç farklı çözücü ile elde edilen özütlerin üç farklı hacimde dört bakteri üzerine uygulanmaları sonucunda tespit edilen antimikrobiyal aktivitelerin ANOVA sonuçları (S^2 : Toplamların karesi, df: Serbestlik derecesi, M^2 : Ortalamanın karesi, F: Kritik değer, p : Sigma)

SN	Örneklerin Latince adı	S^2	df	M^2	F	p
1	<i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i> L.	14,36	24,00	0,60	2,99	0,03
2	<i>Thymus vulgaris</i> L.	11,98	18,00	0,67	2,47	0,03
3	<i>Thymus citriodorus</i> (Schreb)	11,81	18,00	0,66	2,35	0,04
4	<i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Bal.	8,80	10,00	0,88	2,84	0,02
5	<i>Origanum syriacum</i> L.	12,21	19,00	0,64	2,37	0,04
6	<i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	8,16	19,00	0,43	0,82	0,66
7	<i>Origanum onites</i> L.	11,64	23,00	0,51	1,24	0,36
8	<i>Origanum saccatum</i> P.H. Davis	11,14	19,00	0,59	1,73	0,14
9	<i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>gracile</i> (C. Koch) Letsvaart	12,31	22,00	0,56	1,71	0,16
10	<i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> (Link) letsvaart	15,56	21,00	0,74	10,37	0,00
11	Kekik Çeşit adayı (Tekin, 2017)	9,34	10,00	0,93	3,23	0,01

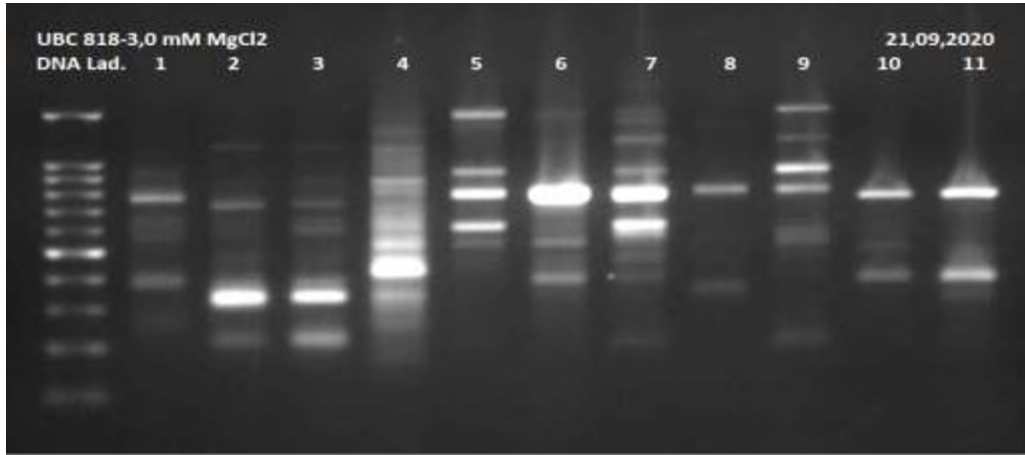
* $p < 0,05$ önemlilik derecesinde

4.3. ISSR PCR analiz sonuçları

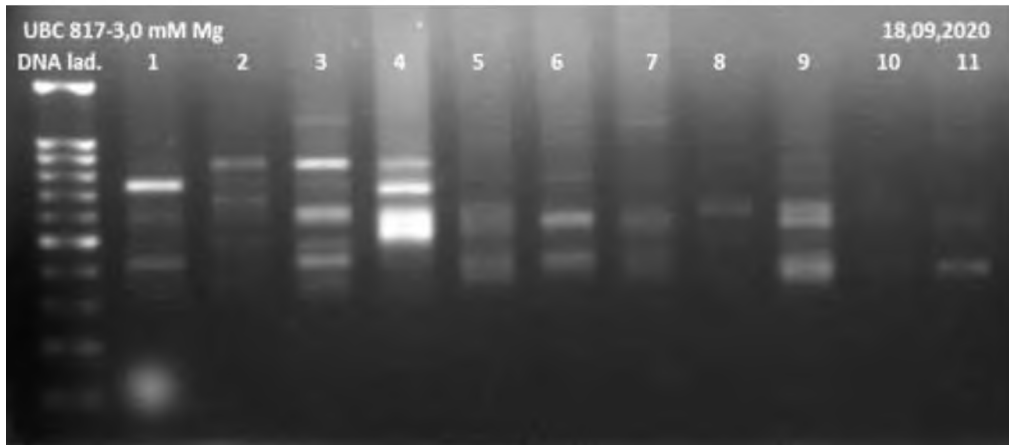
Çalışmada kullanılan 11 farklı kekik türünün moleküler karakterizasyonları için ISSR PCR yöntemi kullanıldı. PCR analizlerinde 10 ISSR primeri 170 lokus üretti, bunların 163 (%95,88) tanesi polimorfik 7 (%4,22) tanesi monomorfiktir. ISSR

yöntemiyle elde edilen ham veriler PopGen (ver. 3.2) populasyon genetiği analiz programı ile analiz edildiler. Kekik türlerinde gözlenen alel sayısı $n_a = 1,96$, etkili alel sayısı $n_{ea} = 1,46$ ve genetik çeşitlilik $h = 0,29$ olarak hesaplandı (EK-4). Kekik türlerinde ISSR analizlerinde farklı primerler ile elde edilen band paternlerinin agaroz jel elektroforez görüntülerine ait örnekler örnekler Resim 4.4-4.6'da verildi.

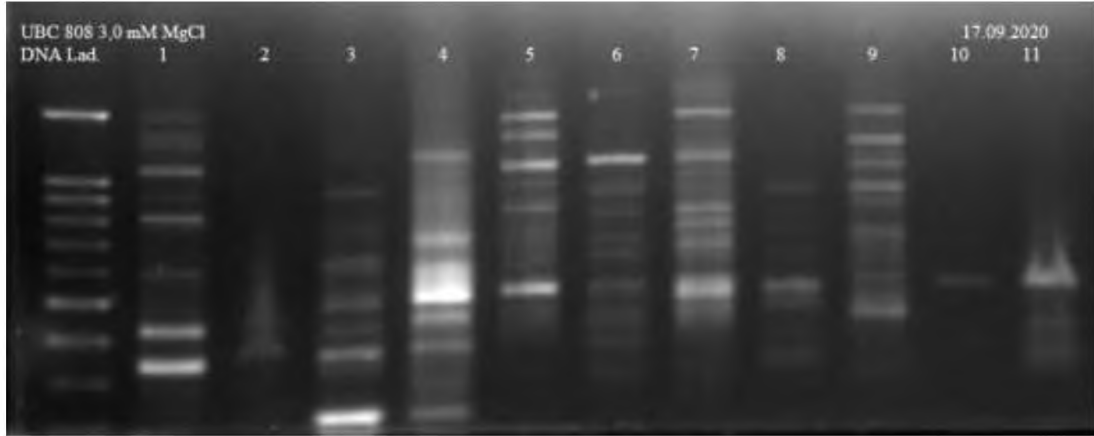
Lokus düzeyinde genetik çeşitlilik verilerine göre; en yüksek etkili alel sayısı UBC 808-7, UBC 808-20, UBC 810-18, UBC 818-1, UBC 818-10, UBC 818-15, UBC 825-6, UBC 826-1, UBC 826-14 ve UBC 810-10 lokuslarında gözlemlendi. En yüksek genetik çeşitlilik değeri en yüksek $h = 0,50$ olarak UBC 808-7, UBC 808-20, UBC 810-18, UBC 818-1, UBC 818-10, UBC 818-15, UBC 825-6, UBC 826-1, UBC 826-14 ve UBC 810-10 lokuslarında tespit edildi (EK-5).



Resim 4.4. UBC 818 ISSR primeri ile elde edilen bant paternlerinin örnek görüntüsü



Resim 4.5. UBC 817 ISSR primeri ile elde edilen bant paternlerinin örnek görüntüsü



Resim 4.6. UBC 808 ISSR primeri ile elde edilen bant paternlerinin örnek görüntüsü

György ve arkadaşları (2020) *T. vulgaris*'in kemotiplerini belirlemeye yönelik çalışmasında ISSR tekniğini kullandı. 17 ISSR primerinden 12'sinin başarılı olduğunu ve bu primerlerin toplam 124 bant oluşturduğunu, polimorfik bant sayısının 88 olduğunu belirtti. Polimorfik parçaların yüzdesini ise %71,43 olarak buldu.

Hadian ve arkadaşları (2014) *Thymus caramanicus*'in farklı lokaliteleri arasındaki kimyasal ve genetik değişkenliği değerlendirmek için yaptıkları çalışmada 12 ISSR primerinden üretilen bant sayısını toplamda 127 buldu. Polimorfik bant sayısını 105 bulunurken polimorfizm yüzdesini %82,68 olarak buldu.

Rahimmalek ve arkadaşları (2009) *Thymus daenensis* türleri arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla 15 ISSR primeri ile polimorfizm oranlarını belirlediler. Toplam 256 banttan 228'inin polimorfik olduğunu belirttiler. Polimorfizm oranı ise %88,9 olarak buldular.

Bu çalışmada ise 10 ISSR primeri ile 170 lokus üretildi ve bunların da 163 (%95,88) tanesinin polimorfik olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar daha önceki yapılan çalışmalarla (György ve ark., 2020; Hadian ve ark., 2014; Rahimmalek ve ark., 2009) karşılaştırıldığında bu çalışmada daha yüksek düzeyde polimorfizm gözlemlendiği belirlendi.

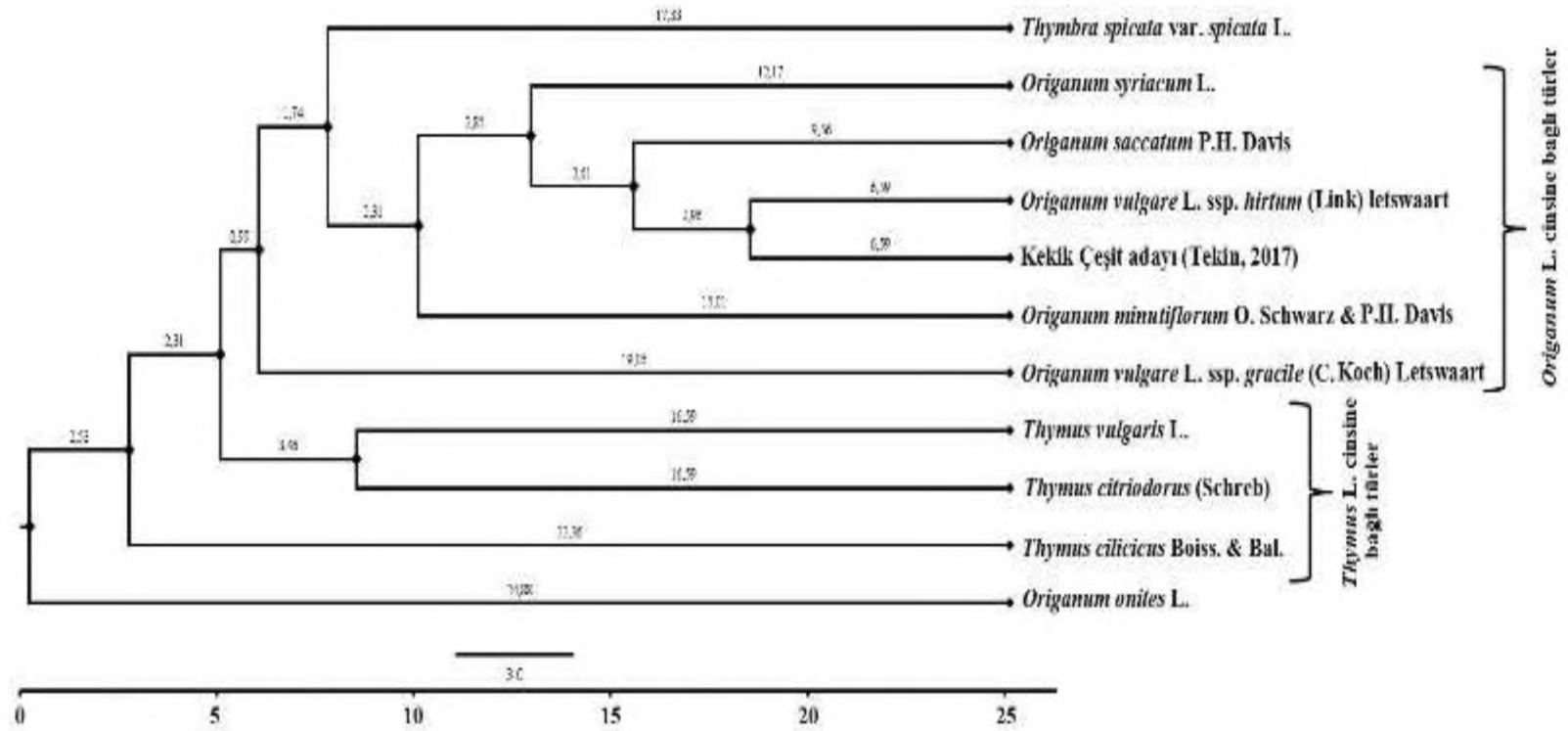
Genetik uzaklık ve filogenetik ilişkiler

Bu çalışmada kullanılan kekik türlerinden DNA'lar farklı bitkilerden toplanan yaprakların bulk hale getirilmesiyle oluşan karışımdan DNA izolasyonu yapıldı. Başka bir ifadeyle bir türe ait DNA içinde farklı bireylerin DNA'ları da bulunmaktadır. Normal koşullarda bir türü tek örnek ile temsil etmek mümkün değildir. Burada da amaç türler arasında genetik çeşitlilik ve genetik farklılıkların genel bir öngörü oluşturulması amacıyla yapıldı. Türler arasındaki genetik uzaklık Nei'nin (1972) genetik uzaklık formülüne göre hesaplandı (Çizelge 4.11) ve UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) yöntemine göre filogenetik ilişkilerini gösteren bir dendrogram oluşturuldu (Resim 4.7). Türler arasında en yüksek genetik uzaklık değeri ($D = 0,62$) ile *T. cilicicus* . ve *O. onites* türleri arasında gözlenirken en düşük genetik uzak değeri ise *O. vulgare* L. ssp. *hirtum* ve kekik çeşit adayı (Tekin, 2017) arasında gözlemlendi.

Çizelge 4.11. Bu çalışmada analiz edilen kekik türleri arasında ISSR analiz verilerine dayalı ve Nei'ye (1972) göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri

pop ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1											
2	0,44										
3	0,46	0,33									
4	0,49	0,41	0,50								
5	0,35	0,43	0,43	0,47							
6	0,45	0,43	0,50	0,51	0,32						
7	0,56	0,61	0,57	0,62	0,43	0,37					
8	0,32	0,28	0,35	0,39	0,28	0,31	0,45				
9	0,50	0,47	0,51	0,56	0,37	0,32	0,45	0,35			
10	0,30	0,29	0,36	0,35	0,21	0,24	0,44	0,16	0,32		
11	0,31	0,33	0,33	0,34	0,25	0,34	0,45	0,22	0,42	0,13	

Dendrograma göre *Thymus* ve *Origanum* cinslerine ait türler birlikte kümelenme eğilimi gösterdiler. Kültür formu olan *O. onites* L. dış grup olarak diğer türlerden ayrı şekilde kümelendi. *T. spicata* var. *spicata* türü de *Origanum* cinsine ait türlere yakın kümelenme gösterdi.



Resim 4.7. Kekik türleri arasında filogenetik ilişkileri ISSR analiz verilerine göre gösteren dendrogram

4.4. Antimikrobiyal aktivite ve ISSR ile üretilen lokusları arasındaki *Pearson* korelasyon analizi sonuçları

Farklı kekik türlerinden üç farklı çözücü ile elde edilen özütler üç farklı konsantrasyonda (15 µl, 20 µl ve 25 µl) dört farklı bakteri üzerindeki antimikrobiyal etkileri ile ISSR lokusları arasında *Pearson* korelasyon sonuçları değerlendirildiği zaman oldukça güçlü pozitif korelasyonlar gözlemlendi. Bunlardan bazı örnekler şu şekildedir;

Etanol 15 µl ve 20 µl hacimlerde uygulandığında elde edilen korelasyon sonuçlarına göre en yüksek düzeyde pozitif korelasyonlar *S. aureus* bakterisindeki sonuçlarda görüldü. Korelasyon değerleri $r_p = 0,88$ $p < 0,00$ ile $r_p = 0,60$ $p < 0,05$ arasında tespit edildi. Diğer bakterilerde elde edilen sonuçlarla ise güçlü negatif korelasyonlar gözlemlendi (Çizelge E 4.1). Etanol 25 µl hacimde uygulandığında elde edilen korelasyon sonuçlarına göre en yüksek düzeyde pozitif korelasyonlar *P. auriginosa* bakterisindeki sonuçlarda görüldü. Korelasyon değerleri $r_p = 0,64$ $p < 0,04$ ile $r_p = 0,60$ $p < 0,05$ arasında tespit edildi (Çizelge E 4.1).

Hekzan 15 µl ve 20 µl hacimlerde uygulandığında elde edilen korelasyon sonuçlarına göre en yüksek düzeyde pozitif korelasyonlar *S. aureus* bakterisinde $r_p = 0,74$ $p < 0,00$ olarak gözlenirken *E. coli*'de $r_p = 0,80$ $p < 0,00$ ile $r_p = 0,64$ $p < 0,03$ değerleri arasında değişen pozitif korelasyonlar görüldü (Çizelge E 4.1). Hekzan 25 µl hacimde uygulandığında *S. aureus* ve *P. auriginosa* bakterilerindeki sonuçlarda güçlü pozitif korelasyonlar belirlendi. En yüksek korelasyon değeri *S. aureus* bakterisinde $r_p = 0,83$ $p < 0,00$ olarak gözlenirken *P. auriginosa*'da $r_p = 0,67$ $p < 0,02$ değerlerinde pozitif korelasyonlar gözlemlendi (Çizelge E 4.1).

Kloroform 15 µl hacimde uygulandığında elde edilen korelasyon sonuçlarına göre en yüksek düzeyde *P. auriginosa* bakterisinde $r_p = 1$ $p < 0,00$ ile $r_p = 0,72$ $p < 0,02$ değerleri arasında değişen pozitif korelasyonlar olduğu görüldü (Çizelge E4.1). Kloroform 20 µl hacimde uygulandığında elde edilen korelasyon sonuçlarına göre en yüksek düzeyde *S. aureus*, *E. faecalis* ve *P. auriginosa* bakterilerinde $r_p = 0,85$ $p < 0,00$ ile $r_p = 0,60$ $p < 0,05$ değerleri arasında değişen pozitif korelasyonlar olduğu tespit edildi (Çizelge E4.1). Kloroform 25 µl hacimde uygulandığında elde edilen

korelasyon sonuçlarına göre en yüksek düzeyde *S. aureus* ve *E. faecalis* bakterilerinde $r_p = 0,83$ $p < 0,00$ ile $r_p = 0,59$ $p < 0,05$ değerleri arasında değişen pozitif korelasyonlar olduğu gözlemlendi (Çizelge E4.1).

Korelasyon sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde; 11 farklı kekik türünden üç farklı çözücü ile elde edilen ve dört bakteri üzerinde iki kopya şeklinde uygulanan özütlerle elde edilen antimikrobiyal aktiviteler ile ISSR analizleri sonucunda üretilen lokuslar arasında yapılan *Pearson* korelasyon analizlerine göre güçlü pozitif korelasyonlar olduğu tespit edildi. ISSR işaretleyicileri dominant kalıtım göstermelerinden dolayı bu sonuçlar ileride yapılacak çalışmalar için ön çalışma niteliğindedir. Kodominant işaretleyiciler kullanılarak daha ileri düzeyde çalışmaların yapılması konusunda da teşvik edici niteliktedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen farklı kekik türlerinden üç farklı çözücü ile elde edilen özütler üç farklı konsantrasyonda dört farklı bakteri üzerinde iki kopya şeklinde disk difüzyon yöntemiyle uygulandı ve antimikrobiyal etkileri araştırıldı. Bunlara ek olarak kekik türleri ISSR moleküler işaretleyicileri kullanılarak moleküler karakterizasyonları yapıldı.

Elde edilen sonuçlara göre *Labiatae* familyasına dahil olan 11 türün tamamının antimikrobiyal aktivite özelliğine sahip olduğu disk difüzyon testleri sonucunda görüldü. Tüm özütlere karşı en büyük inhibisyon çaplarını oluşturması nedeniyle en duyarlı bakteri *S. aureus* ATCC 25923 olarak gözlendi. Etanol ve kloroform özütlerinin tüm dozlarında (15 µl, 20 µl ve 25 µl) en yüksek zon çapı değerine sahip olan tür *T. vulgaris* oldu. Hekzan özütlerinin tüm dozlarında en yüksek zon çapı değerlerine ise *Origanum* L. cinsine bağlı türlerde rastlandı. *E. coli* ATCC 25922 ve *P. auriginosa* ATCC 27853 suşları genel olarak direnç gösterdiler. Bu bakterilerin plaklarında zon inhibisyon çapı değerleri çok düşük ya da sıfırdır. Sonuç olarak test edilen bakteri türüne göre özütlerin antimikrobiyal etkinliğinin farklı etki ettiği görüldü.

Mikroorganizmaların gelişimini durduran veya ölümüne neden olan, doğal ya da sentetik olarak üretilen maddelere antibiyotik diyebiliriz. Antibiyotikler mikroorganizmalarda hedef aldıkları bölgelere göre hücre duvarı, hücre zarı, sitoplazma ve nükleikasitlere etki ederler (Dökmeci ve Dökmeci, 2016). Bu çalışmada iki Gram + (*S. aureus* ve *E. faecalis*) ve iki Gram - bakteri (*E. coli* ve *P. auriginosa*) kullanıldı. Gram + ve Gram - bakteriler arasında bazı farklar vardır: Hücre duvar yapısı kalınlığı iki grup bakteri için farklıdır. Gram + bakterilerde kalın bir peptidoglikan tabaka ve hücre yüzeyinde bulunan teikoik asit bulunur. Gram – bakterilerde ise peptidoglikan tabakası incedir. Gram +’ler alkolden etkilenmezken Gram –’ler alkolden lipit tabakasının farklılığı nedeniyle etkilenirler (Akşit ve ark., 2006). Kekik özütlerinin Gram + bakterilerde Gram - bakterilerden daha güçlü

antimikrobiyal etki göstermesi, özütlerin Gram +'lerin hücre duvar yapısına etki edebileceği ihtimalinden dolayı olabilir.

Çalışmada özütler elde edilirken sadece özüt etkisini anlayabilmek için önce özütlerdeki çözücüler tamamen uçuruldu daha sonra kuru özütü çözebilecek kadar minimum düzeyde çözücü eklendi. Disk yerleştirme işlemi sırasında ise özüt içinde kalan çözücülerin uçması için diskler kurutulmuş olarak çalışma yapıldı. Negatif kontrol olarak boş çözücüler özüt miktarıyla aynı olacak şekilde disklere koyulup kurutuldu. Ancak bu miktar özüt içindeki çözücülerden çok daha fazla bir miktara karşılık gelmektedir. Bu yüksek doza rağmen boş çözücü koyulan disklerde zon oluşumu görülmedi. Bu da bize gösteriyor ki özütlerdeki minimum seviyedeki çözücülerin diskler kurutulduktan sonra herhangi bir etkisi yoktur. Oluşan zon çapları saf özütlerin antimikrobiyal etkinlik sonucudur.

Çalışmada gözlemlenmek istenilen diğer bir husus ise çözücülerin aynı şartlarda bitki örneklerinden elde edilen özütleri arasında antimikrobiyal yönden bir farklılığının olup olmadığını gözlemlemektir. Aynı süre, aynı miktar bitki örneği, aynı bitki türleri ve aynı miktarda çözücüler kullanıldı. Değişken olarak sadece farklı çözücüler kullanıldı. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin her bir çözücüyle elde edilen özütlerinin farklı sonuçlar vermesi çözücülerin bitki örneğinde farklı yapıları çözdüğünü ya da bitki içindeki maddeleri aynı oranda çözemediğini ya da çözücünün bazı maddeleri çözerken bozabileceği gibi varsayımlarının olma ihtimalinin de gözönünde bulundurulması gerekliliğini ortaya koydu.

Ceylan ve ark. (2017)'nin yaban mersini üzerine yaptıkları çalışmada farklı çözücülerle çalıştılar ve çözücülere bağlı olarak etken maddelerin değişebileceğini ifade ettiler. Bu nedenle kullanılan çözücülerin farklı etken maddelerin açığa çıkmasına sebep olduğu sonucu daha ağır basmaktadır. Ancak bu konu hakkında daha sağlıklı bilgilere ulaşmak için daha detaylı ve kapsamlı araştırma yapılması gerekmektedir.

Antimikrobiyal etkinlik tespiti için kullanılan disk difüzyon yöntemi çalışmaları sonucunda ölçülen farklı değerler, aynı deney tekrarları sonuçlarında farklılıkların

oluşabileceğini gösterdi. Bu farklılıklar bu çalışma için, McFarland ayarlamasında küçük miktarlardaki farklılıkları (bakteri yoğunluğu), besi yerlerine ekimlerin sıklığı, deneylerin farklı günlerde yapılması sonucu ortam sıcaklığının farklı olması, besi yeri plaklarındaki nem durumlarının farklılığı gibi önlemez hatalardan kaynaklanabilir.

Çalışmada 3 farklı cins (*Thymus*, *Thymbra* ve *Origanum*) kullanıldı. *Thymbra* cinsine ait 1 tür, *Thymus* cinsine ait 3 tür ve *Origanum* cinsine ait 7 türün birlikte ISSR işaretleyicileri ile genetik analizleri yapıldı. Elde edilen verilere göre filogenetik ilişkileri değerlendirildiğinde *O. onites* L. dış grup olarak kümelendi (Resim 4.10). Polimorfizm oranı %95,88, monomorfizm oranı %4,22 olarak belirlendi. Türler arasında en yüksek genetik uzaklık değeri hesaplandı ve $D = 0,62$ olarak bulundu. Genetik uzaklık *T. cilicicus* ve *O. onites* L. türleri arasında gözlenirken en düşük genetik uzak değeri ise *O. vulgare* ssp. *hirtum* ve kekik çeşit adayı (Tekin, 2017) arasında gözlendi.

Bugüne kadar yurtiçi ve yurt dışında yapılan çalışmalar incelendiğinde, kekik türleri ile ilgili olarak bu kadar kapsamlı bir çalışmaya rastlanmadı. Bitkilerdeki antimikrobiyal etkinlik ve genetik özellikleri arasında varyasyonu araştıran ve aralarında korelasyonlar kuran başka bir çalışmaya literatürde rastlanmadı. Kurumsal temeller ve kaynak taraması bölümünde de görüldüğü üzere bitkilerin antimikrobiyal etkinliğini ele alan bir çok çalışma yapıldı. Kekikte antimikrobiyal aktivite özelliği çalışılan popüler bitkilerdendir. Ülkemiz koşullarında verimli bir şekilde yetişen ve yetiştirilen bu türlerin etken madde sentezlerinin doğal yollardan elde edilebilmesi ve sentetik olarak üretiminin yerine tercih edilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Akman, Y., Güney K., Ketenoğlu, O., Hamzaoğlu, E., Kurt, L. ve Tuğ, N., 2007. Angiospermae (Kapalı Tohumlular). Palme Yayıncılık, Ankara, 526-527-537-539.
- Akşit, F., Akgün, Y. ve Kiraz, N., 2006. Genel Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Editör: Serter N. Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Yayınları, Eskişehir, 112-114.
- Althunibat, Y. O., Qaralleh, H., Abboud, M., Khleifat, K., and Tarawneh, K., 2009. Antibacterial Activity in Vitro of *Thymus capitatus* from Jordan. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 22, 3, 247-251.
- Althunibat, Y. O., Qaralleh, H., Al-Dalin, S. Y. A., Abboud, M., Khleifat, K., Majali, İ. S., Aldal'in, H. K. H., Rayyan, W. A., Jaafraa, A., 2016. Effect of Thymol and Carvacrol, the Major Components of *Thymus capitatus* on the Growth of *Pseudomonas aeruginosa*. Journal Of Pure And Applied Microbiology, 10, 367-374.
- Altundağ, Ş., 2007. *Labiatae* Familyasına Ait Bazı Endemik Türlerin Önemli Bitki Patojeni Bakteriler Üzerinde Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2019. Tubives. *Thymus cilicicus*, http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7951. (12.12.2019).
- Anonim, 2020a. Türkiye bitkisel üretim istatistikleri, Baharat bitkileri. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1>. (13.12.2020)
- Anonim, 2020b. Şifalı bitkiler kütüphanesi. *Thymus vulgaris*, <https://www.ebitki.com/index.php?hq=Thymus%20vulgaris%20L.&grLatince>. (30.05.2020).
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., and Turck, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, (45) 493-496.
- Baydar, S. N., 2006. Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi. Palme Yayıncılık, Ankara, 221-225.
- Benli, M., Yiğit, N., 2005. Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 03 (08), 1-8.
- Boucher, HW., Corey, GR., 2008. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clinical Infectious Diseases 01;46, 5, S344-9.
- Bozdemir, Ç., 2019. Türkiye'de Yetişen Kekik Türleri, Ekonomik Önemi ve Kullanım Alanları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 29, 3.

- Brooks, G. F., Carrol, C. K., Butel, S. J., Morse, A. S. ve Mietzner, A. T., 2014. Tıbbi Mikrobiyolojisi. Çeviri editörü: Yenen, O. Ş., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 199-203-213-216-218-222-229-245-247.
- Buckle, J., 2015. Chapter 7-Infection, Editor(s): Buckle, J. Clinical Aromatherapy, Churchill Livingstone, 130-167.
- Büyüktuncel, E., 2012. Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri. I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 32, 2, 209-242.
- Cantaş, A., 2014. K.K.T.C.'de Doğal Olarak Yetişen *Thymus* ve *Origanum* Cinslerinin Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Yakın Doğu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik, Lefkoşa.
- Ceylan, Ş., Saral, Ö., Özcan, M. ve Harşıt, B., 2017. Yaban mersininin (*Vaccinium myrtillus* L.) farklı çözücü özütlerindeki antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, (18), 1, 21-27.
- Çelen, S., 2006. Türkiye'de Yayılış Gösteren Dört *Thymus* Türünün Uçucu Yağ Bileşimleri, Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- Çelik, R., 2019. Vankomisin Dirençli Enterokoklara (Vre) Karşı Bazı Uçucu Yağların Antibakteriyel Aktiviteleri. Yüksek lisans tezi, Kırşehir Ahi Evran üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, Kırşehir.
- Çetin, B., 2018. Evaluation of the Genetic Fidelity of *in vitro* Raised Plants of *Origanum majorana* L. Using Random Amplified Polymorphic DNA. Celal Bayar University Journal of Science, 14, 2, 237-239.
- Davis, P.H., 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, 7. Edinburgh: University Press.
- Demirkol, G., Ertürk, Ö., 2019. Antimicrobial and Antioxidant Effects of Spice Extracts. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 6 (2): 305–313.
- Diken, K., 2016. Farklı Kaynaklardan *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* izolasyonu, Moleküler Tanısı ve Genotiplendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi, Kütahya.
- Dökmeci, İ. ve Dökmeci, H., 2016. Sağlık Yüksekokulları İçin Farmakoloji. Tıp Kitabevi, İstanbul, 82-83.
- Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R., Aydın, H., 2010. Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri. Cumhuriyet Tıp Dergisi, 32, 281-286.
- Fakılı, O., 2010. Türkiye'de Kekik Adı İle Anılan Bitkiler Konusunda Yapılan Çalışmaların Envanteri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

- Filiz, E., Koç, İ., 2011. Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 2011, 28(2), 207-214.
- Gür, D., 2016. Antibiyotik duyarlılık testleri EUCAST: Uygulama, yorum ve uzman kurallar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 46, 2-25.
- György, Z., Incze, N. ve Pluhar, Z., 2020. Differentiating *Thymus vulgaris* chemotypes with ISSR molecular markers. Biochemical Systematics and Ecology, 92, 104118.
- Hadian, J., Bigdelo, M., Nazeri, V. ve Khub-Khadivi, A., 2014. Assessment of genetic and chemical variability in *Thymus caramanicus*. Molecular Biology Reports, 41 (5), 3201-3210.
- Jedrejczyk, I., 2018. Study on genetic diversity between *Origanum* L. species based on genome size and ISSR markers. Industrial Crops & Products, 126, 201–207.
- Joma, M. H., 2018, *Thymbra Spicata* L. var. *spicata* Bitki Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitelerinin ve *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
- Kanlıtepe-Vardar, Ç., Aras, S. ve Duman-Cansaran D., 2010. Bitki ıslahında moleküler belirteçlerin kullanımı ve gen aktarımı. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 67 (1), 33-43.
- Katar, N., Katar, D., 2019. Eskişehir ekolojik koşullarında farklı hasat zamanlarının limon kekiğinin (*Thymus citriodorus* L.) verim ve kalitesi üzerine etkisi. Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 34 (1), 93-105.
- Kau, A.L., Martin, S.M., Lyon, W., Hayes, E., Caparon, M.G. and Hultgren, S.J., 2005. *Enterococcus faecalis* Tropism for the Kidneys in the Urinary Tract of C57BL/6J Mice. Infection And Immunity, 73 (4), 2461–2468.
- Kellner, R., Mermert, J-M., Otto, M., Valcarcel, M. and Widmer H.M., 2004. Sample Preparation, in Analytical Chemistry: Modern Approach to Analytical Science. Wiley: Weinheim, 506-508.
- Keykubat B., 2016. Tıbbi aromatik bitkiler ve iyi yaşam. İzmir Ticaret Odası Borsası.
- Kırbağ, S., Zengin, F., 2006. Elâzığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi, 16 (2), 77-80.
- Kırıcı, S., 2017. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler, 2016-2017 Güz dönemi Ders Notları. https://abs.cu.edu.tr/Dokumanlar/2017/ZFS303/44768013_gida_tibbi_ve_aromatik_bitkiler1_ocak_2017.pdf (31.11.2020).
- Kidwell, K. K., Osborn, T. C., 1992. Simple plant DNA isolation procedures, Plant Genomes: Methods for Genetic and Physical Mapping. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1–13.

- Koç, L. Y., 2012. Bazı Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Sitotoksik Etkileriyle, Kanserli Dokularda Adenozin Deaminaz Enzimi Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kolafatçılar, A. ve Kolafatçılar, İ., 2010. Bitkiler ve Sağlık. Sidas Yayıncılık, İzmir, 87- 88-89-442.
- Kürşat, M., Erecevit, P., Kırbağ, S., Civelek, Ş., 2009. Türkiye’de Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. E-Journal of New World Sciences Academy, 4 (2), Article Number: 5A0007.
- Küyük, F., 2018. Türkiye’de Yetişen *Carthamus* L. Cinsine Ait Türlerde Genetik Çeşitliliğin Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum.
- Leung, J.M., Gallant, C.V., 2014. Infections due to *Escherichia* and *Shigella*. In: Module in Biomedical Sciences, Elsevier.
- Lowy, FD., 1998. *Staphylococcus aureus* infections. The New England Journal of Medicine. 339 (8), 520-32.
- Madyan, T. M., Martnko, M. J., 2010. Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi. Editörler: Çökmüş, C., Palme yayıncılık, Ankara, 345-346-347-353-375-864.
- Mancak, İ., 2013. Altınbaş Grubu Kavunların Diğer Kavunlarla Akrabalık İlişkilerinin Morfolojik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Metin, İ., Güngör, H. ve Çolak, F.Ö., 2012, Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İhracatı ve İthalatı. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, Tokat.
- Milad, M. B. K., 2018. Kastamonu’da Kültüre Edilen Bilyalı Kekik (*Origanum onites* L.) ve Tıbbi Adaçayı’nın (*Salvia officinalis* L.) Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kastamonu.
- Min, W., Xuefeng, L., 2015. Chapter 87-*Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. Molecular Medical Microbiology, 3, 1547-1564.
- Murray, M. G. ve Thompson, W. F., 1980. Rapid İsolation of High Moleculer Weight Plant DNA. Nucleic Acids Research, 8, 19.
- Najaphy, A., Zebarjadi, A., Yousefi, V. ve Safari, H., 2015. Molecular Characterization of *Thymus* Species Using ISSR Markers. The Journal of Animal & Plant Sciences, 25 (4), 1087-1094, ISSN1018-7081.
- Nalbanttaş, Z., Gölcü, A., 2009. Kahramanmaraş Yöresine Ait Şifalı Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, (2), 12.

- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106, 283-292.
- Ng, WL., Tan, SG., 2015. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: are we doing it right?. *ASM Science Journal*, 9, 30-39.
- Ocakverdi, H., Güzel, Y. ve Oğur, E., 2010. *Deneysel Genel Botanik*. Palme Yayıncılık, Ankara, 104-116.
- Ökmen, G., Arslan, A., Vurkun, M., Mammadk.hanli, M., Ceylan, O., 2017. Farklı Baharatların Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 15 (1), 16-28.
- Özbek, Ö., 2006. Yabani Tetraploit Buğday *Triticum turgidum* var. *dicoccoides* (Körn. Schwein) Popülasyonlarında Genetik Çeşitliliğin Moleküler Markörler (AFLP, RFLP) ile Tespit Edilmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Özcan, M. M., Özkan, G., Sagdic, O., 2015. Antibacterial effects of Istanbul thyme (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Letsw.) and Karabaş, thyme (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*) extracts. *Journal of Food Safety and Food*, 157-184.
- Rahimmalek, M., Bahreininejad, B., Khorrami, M., Tabatabaei, B. E. S., 2009. Genetic Variability and Geographic Differentiation in *Thymus daenensis* subsp. *daenensis*, an Endangered Medicinal Plant, as Revealed by Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *Biochemical Genetics*, 47, 831-842.
- Rohlf, F. J., 1998. NTSYS-PC Numerical taxonomy and multivariate analysis system. version 2.00. Exeter Software, Setauket, New York.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E., 2004. Tohumlu Bitkiler Sistematigi. 7. Baskı, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:116 Ders Kitabı, İzmir, 276-278.
- Tanhaş, E., 2019, Farklı Endemik *Origanum* Taksonlarının SSR ve SRAP Markörleri ile Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi ve Bazı Gıdalardaki Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Taş A., 2010. Türkiye’de Yetişen *Origanum* L. (*Labiatae*) Cinsi Üzerinde Epidermal incelemeler. Yüksek Lisans Tezi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Malatya.
- Taylor, TA, Unakal, CG., 2020. *Staphylococcus aureus*. In: StatPearls. Treasure Island (FL): Jan-Available <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/> (07.01.2021).
- Temiz, A., 2008. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 224-226.

- Tunç, K., Semerci, B., Inceçayır, D., Sağıroğlu, M., 2019. Antimicrobial Activity of Different Flower Extracts. *Current prespectives on Medicinal & Aromatic Plants*, 2, 53-58.
- Weihui, W., Yongxin, J., Fang, B. and Shouguang, J., 2015. In: Chapter 41-*Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Medical Microbiology*, 2, 753-767.
- Wolfe, A. D., Xiang, Q. Y., Kephart, S. R., 1998. Diploid Hybrid Speciation in *Penstemon* (Scrophulariaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences journal*, 95, 5112-5115.
- Yasak, M. Ő., 2017. Bazı Fasulye Genotipleri Arasındaki Genetik Çeşitliliğin SSR ve ISSR Markırlarıyla Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncüyıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van*.
- Yıldız, B. ve Aktoklu, E., 2010. İlkın Karasal Bitkilerden Bir Çeneklılere. *Palme Yayıncılık, Ankara*, 307-309.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu, M.T., 2015. Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi* 4 (2), 1-12.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D., 1994. Genomic fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20, 176-183.

EKLER

EK-1. Deneyler sırasında kullanılan laboratuvar cihazları

Çizelge E1.1 Deneyler sırasında kullanılan laboratuvar cihazları

Cihazlar	Kullanılma amaçları
Buz makinesi:	PCR tekniğinde mix hazırlamada kullanıldı.
Çalkalamalı inkübatör:	DNA izolasyonunda kullanıldı.
Çok amaçlı masaüstü santrifüj:	DNA izolasyonunda ve özüt içindeki partiküllerin çöktürülmesinde kullanıldı.
Etüv:	Bakteri kültürlerinin çoğaltılmasında ve gerektiğinde sterilizasyon için kullanıldı.
Isıtmalı manyetik karıştırıcı:	Solüsyonların hazırlanmasında, DNA izolasyonunda ve özütleri kurutmak için kullanıldı.
Jel görüntüleme:	Jel elektroforezi sonucu elde edilen ISSR bantlarının görüntülenmesinde kullanıldı.
Mikro pipetler:	PCR deneylerinde, özütleri antibiyotik disklerine emdirme işleminde kullanıldı.
Otoklav:	Solüsyonların, cam eşyaların (erlen, beher, petri gibi) sterilizasyonunda kullanıldı.
PCR-Thermocyclers:	PCR' dayalı ISSR analizlerinde kullanıldı.
Soxhlet cihazı:	Bitki örneklerinden çözücüler yardımıyla özüt elde etmede kullanıldı.
Steril kabin:	Deneylere steril ortam sağlamak amacıyla PCR, besi yeri hazırlama ve bakteri ekimi işlemlerinde kullanıldı.
Yatay elektroforez ünitesi:	ISSR ampliconlarının jelde elektrik akımı uygulanarak varlıklarının tespit edilmesinde kullanıldı.

EK-2. Kullanılan kimyasallar ve çözeltilerin hazırlanışı

Etidyum Bromidin Hazırlanışı (Sigma) (10 mg/ml)

50 g etidyum bromür ile 50 ml dH₂O karıştırıldı. Küçük miktarlarda tüplere paylaştırıldı ve tüpler alüminyum folyo ile kaplandı. Saklamak üzere tüpler +4 °C'deki dolaba kaldırıldı. Etidyum bromür agaroz jel çözeltisi hazırlarken kullanıldı.

Agaroz jel hazırlanışı (%1,3 agaroz)

1X TAE'den 100 ml cam mezür ile ölçülüp temiz bir erlenmayere koyuldu. Üzerine 1,3 g tartılan agaroz (fermantas) eklendi. Agaroz ile 1X TAE karışımı 80 °C'deki mikrodalga fırında (Blueline) iyice homojen oluncaya kadar çözdürüldü ve oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Bu sırada jel tepsisi tarakları ve kenarlıkları takılarak hazırlandı. İstenilen ısıya geldiğinde jel içerisine 4 µL etidyum bromür (sigma) eklendi ve hafifçe sallanarak etidyum bromürün jel içine dağılması sağlandı. Ardından jel tepsisi düz bir zemine alınıp jelde kabarcık oluşmamasına dikkat edilerek döküldü.

DNA izolasyon çözeltisi hazırlanışı

Çizelge E2.1. A stok çözeltisinin hazırlanışı

SN	Kimyasal bileşenin adı	Miktarı
1	Sorbitol	12,75 g
2	1 M Tris HCl (Ph 7,5)	20 ml
3	0,5 EDTA	2 ml
4	Saf su	100 ml

Çizelge E2.1'de verilen maddeler beher içine koyuldu. Manyetik karıştırıcıda çözelti berraklaşınca kadar karıştırıldı ve çözeltinin son hacmi 200 ml oluncaya kadar saf su eklendi. Çözelti, kapaklı şişeye alınarak saklandı.

EK-2. (devam) Kullanılan kimyasallar ve çözeltilerin hazırlanışı**Çizelge E2.2 B stok çözeltisinin hazırlanışı**

SN	Kimyasal bileşenin adı	Miktarı
1	1 M Tris HCl (pH 7,5)	40 ml
2	0,5 EDTA	2 ml
3	5 M NaCl	80 ml
4	CTAB	4 g

Çizelge E2.2’de verilen maddeler beher içinde karıştırılarak ısıtmalı manyetik karıştırıcıda çözeltinin çözünmesi sağlandı. Tam çözünme için bir gece beklendi ve sonrasında son hacim saf su ile 200 ml’ye tamamlandı.

Çizelge E2.3 C stok çözeltisinin hazırlanışı

SN	Kimyasal bileşenin adı	Miktar
1	N-lauroly sarcosine	10 g
2	Distile su	100 ml

Çizelge E2.3’te verilen maddeler beher içinde ısıtmalı manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Çözeltideki köpükler hesaba katılmadan son hacim saf su ile 200 ml’ye tamamlandı. A, B ve C stok çözeltilerinden DNA izolasyon çözeltisi hazırlanışı aşağıda (Çizelge E2.4) verildi.

Çizelge E2.4. DNA izolasyon çözeltisinin hazırlanışı

SN	Kimyasal bileşenin adı	Miktar
1	PVP- B çözeltisi	2,4 g-100 ml
2	Natriumdisulfit troken- A çözeltisi	720 mg-100 ml
3	C çözeltisi	40 ml

EK-2. (devam) Kullanılan kimyasallar ve çözeltilerin hazırlanışı

A, B ve C stok çözeltilerinden sırasıyla 1:1:0,4 oranında hazırlandı. DNA İzolasyon çözeltilisinin toplam hacminin %1 ağırlığı kadar PVP tartıldı ve B çözeltilisine eklendi. 150 mg/50 ml oranında natriumdisulfit troken tartılıp A çözeltilisine eklendi. Oranlara uygun şekilde hesaplanan C çözeltisi karışıma eklenerek, karşım ısıtmalı manyetik karıştırıcıda (65 °C'a kadar) ısıtıldı.

Serum fizyolojik çözeltilisinin hazırlanışı

0,9 g NaCl (tuz) tartılarak bir cam bir şişe içine konuldu. Üzerine 100 ml distile su eklenerek karıştırıldı. 121 °C 'de 20 dk. otoklavda steril edildi. Serum fizyolojik çözeltisi steril cam tüplere koyularak kullanıldı.

EK-3. Besi yerlerinin hazırlanışı ve bakterilerin kültüre alınması*Mueller Hinton Agar hazırlanışı*

Merck KGaA marka Mueller Hinton agar besiyeri kullanıldı. 1 litre distile su için 34,0 g MHA tozundan kullanıldı. Isıtılan az bir miktar distile su ile erlen içerisinde MHA tozu çözdürüldü. Çözünme gerçekleşince kalan distile suyun hepsi erlene ilave edildi ve tozun iyice çözünmesi için çalkalandı. Erlenin ağzı kapatıldı. 15 dakika 121 °C’de otoklavda besiyeri ve cam plakların sterilizasyonu sağlandı. 45-50 °C’ye gelinceye kadar oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Steril plaklara dökmek için, uygun sıcaklığa gelince kabarcık yapmadan dikkatli bir şekilde, steril kabinde plaklara döküldü. Plaklar oda sıcaklığında 1 gün bekletildi. Kullanılma zamanına kadar +4 °C’de saklandı.

Nutrient Broth agar hazırlanışı

Merck KGaA marka Nutrient broth ve Conda Pronadisa American Bacteriological agar kullanıldı. 1 litre distile su için 8,0 g NB tozundan ve 8,0 g katılaştırıcı agar tozundan kullanıldı. Isıtılan az bir miktar distile su ile erlen içerisinde nutrient broth tozu ve agar tozu koyularak çözdürüldü. Çözünme gerçekleşince kalan distile suyun hepsi ilave edildi ve iyice çözünmesi için erlen çalkalanarak karışım hazırlandı. Erlenin ağzı kapatıldı. 15 dakika 121 °C’de otoklavda sterilizasyonu sağlandı. Oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ancak belli bir sıcaklığa gelince katılaşmadan petrilere döküldü. Ertesi gün petri içinde katılaşan besiyeri +4 °C’de saklandı.

Nutrient Broth hazırlanışı

Merck KGaA marka nutrient broth besiyeri kullanıldı. 1 litre distile su için 8,0 g NB tozundan kullanıldı. Isıtılan az bir miktar distile su ile erlen içerisinde nutrient broth tozu çözdürüldü. Çözünme gerçekleşince kalan distile suyun hepsi ilave edildi iyice çözünmesi için erlen çalkalanarak karışım hazırlandı. Erlenin ağzı kapatıldı. 15 dakika 121 °C’de otoklavda sterilizasyonu sağlandı. Steril cam tüplere 5 ml kadar NB koyuldu

EK-3. (devam) Besi yerlerinin hazırlanışı ve bakterilerin kültüre alınması*Liyofilize bakterilerin ekimi*

Liyofilize olarak satıcı firmadan teslim alınan bakterileri aktifleştirmek ve sonrasında tekrar kullanmak amacıyla saklamak üzere, bakteri ambalajları üzerinde tarif edilen şekilde sulandırılarak bakteriler kanlı agara ekildi. Bakteriler ekim yapılan plaklarda 1 gece 37 °C olarak ayarlanan etüvde çoğaltıldı. Kültürde tek düşen koloniler %15'lik gliserollü LB sıvı stok besiyerinde -20 °C'de saklandı.

Stok besiyerinden bakterilerin aktifleştirilmesi

Stok LB sıvı besiyerinde saklanan bakteri örneklerini kullanmak için NB besiyeri kullanıldı. 1 gün önceden hazırlanan NB besiyerinden steril cam tüplere \approx 5 ml kadar koyuldu. Bakteriler isimlerinin yazılı olduğu tüplere mikropipet yardımıyla 10 μ l hacminde eklendi. 37°C'a ayarlanan etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı.

Nutrient broth besiyerinden nutrient agar besiyerine ekim

NB besiyerine ekilen ve 1 gece inkübasyona bırakılan bakteriler NBA besiyerine steril tek kullanımlık öze yardımıyla tek koloni düşecek şekilde ekildi. 37 °C'a ayarlanan etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucu bakterilerde üreme Resim E3.1'deki gibi gözlemlendi



Resim E3.1. Bakterilerin nutrient agar besiyerinde 24 saatlik inkübasyon sonucu üremesi

EK-3. (devam) Besi yerlerinin hazırlanışı ve bakterilerin kültüre alınması

Nutrient broth besiyerinden nutrient agar besiyerine ekim

Nutrient broth besiyerine ekilen ve 1 gece inkübasyona bırakılan bakteriler nutrient agar besiyerine steril tek kullanımlık öze yardımıyla tek koloni düşecek şekilde ekildi. 37 °C'a ayarlanan etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı.

EK-4. ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile analiz edildi

Çizelge E4.1. ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki

	Etanol (15 µl)							
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>P. auriginosa</i>		<i>E. coli</i>	
	P_r	p	P_r	p	P_r	P	P_r	p
808-14			-0,71	0,02	-0,60	0,05		
810-8	0,79	0,00						
810-14	0,60	0,05			0,67	0,03		
810-20					0,67	0,03		
817-16			-0,68	0,02				
818-10					-0,60	0,05		
818-11	0,88	0,00	0,59	0,05	0,75	0,01		
818-15					-0,77	0,01		
818-17	-0,67	0,03			-0,78	0,01		
818-20	0,60	0,05			0,60	0,05		
825-4			-0,89	0,00			-0,73	0,01
825-6							0,65	0,03
826-6			-0,68	0,02				
827-6			-0,68	0,02				
827-14			-0,68	0,02				
853-8			-0,68	0,02				
853-11			-0,68	0,02				

EK-4 (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile analiz edildi

Çizelge E4.1. (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki

	Etanol (20 µl)							
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>P. auriginosa</i>		<i>E. coli</i>	
	P_r	p	P_r	p	P_r	P	P_r	P
808-14	-0,60	0,05						
810-8	0,81	0,00						
810-14	0,66	0,03						
817-13	0,69	0,02						
817-17	0,81	0,00						
818-11	0,74	0,01						
818-17			-0,68	0,02				
825-4			-0,86	0,00				
825-10							-0,63	0,04
826-2	0,69	0,02						
826-10	0,69	0,02						
826-17	0,69	0,02						
827-2	0,69	0,02						
853-10					-0,65	0,03		
865-5	0,70	0,02	0,62	0,04				

EK-4 (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile analiz edildi

Çizelge E4.1. (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki

	Etanol (25 µl)							
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>P. auriginosa</i>		<i>E. coli</i>	
	<i>r_p</i>	<i>P</i>	<i>r_p</i>	<i>P</i>	<i>r_p</i>	<i>P</i>	<i>r_p</i>	<i>P</i>
808-1					0,64	0,04		
808-3					0,60	0,05		
808-10					0,60	0,05		
808-21					0,60	0,05		
810-20	0,74	0,01						
817-18					0,61	0,04		
818-7					0,64	0,04		
818-17			-0,70	0,02	-0,65	0,03		
818-20	0,68	0,02	0,62	0,04				
825-4			-0,79	0,00			-0,79	0,00
825-7							-0,72	0,01
825-9							-0,72	0,01
826-1			0,65	0,03				
826-6	-0,61	0,05						
827-1					0,60	0,05		
827-4					0,61	0,05		
827-6	-0,61	0,05						
827-11					0,60	0,05		
827-13					0,60	0,05		
827-15					0,60	0,05		
829-2					0,60	0,05		
829-7					0,60	0,05		
853-1					0,60	0,05		
853-8	-0,61	0,05						
853-11	-0,61	0,05						
865-5	0,64	0,03						
865-8							-0,65	0,03
865-10			-0,61	0,05				

EK-4 (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile analiz edildi

Çizelge E4.1. (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki

	Hekzan (15 µl)					
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>E. coli</i>	
	r_p	p	r_p	p	r_p	p
808-20					-0,67	0,02
810-5					0,60	0,05
818-3	0,74	0,01				
865-9			0,62	0,04	0,60	0,05
865-11					0,60	0,05

EK-4 (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile analiz edildi

Çizelge E4.1. (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki

	Hekzan (20 µl)					
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>E. coli</i>	
	r_p	P	r_p	P	r_p	P
808-20			-0,60	0,05		
810-2					0,68	0,02
810-5					0,64	0,03
810-6			0,76	0,01	0,64	0,03
810-11	0,61	0,05				
817-1					0,80	0,00
817-2					0,80	0,00
817-3					0,80	0,00
817-4					0,80	0,00
817-5					0,80	0,00
817-7					0,80	0,00
825-6	0,70	0,02				
829-1	0,61	0,05				
865-3	0,61	0,05				

EK-4 (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile analiz edildi

Çizelge E4.1. (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki

	Hekzan (25 µl)							
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>P. auriginosa</i>		<i>E. coli</i>	
	<i>r_p</i>	<i>p</i>	<i>r_p</i>	<i>p</i>	<i>r_p</i>	<i>p</i>	<i>r_p</i>	<i>p</i>
808-20					-0,43	0,19		
808-21					0,67	0,02		
810-2	0,60	0,05						
810-3	0,60	0,05						
810-5	0,67	0,03						
810-6	0,83	0,00	0,82	0,00				
810-11	0,60	0,05						
817-9			-0,60	0,05				
827-11					0,67	0,02		
827-13					0,67	0,02		
827-15					0,67	0,02		
829-1	0,60	0,05						
829-2					0,67	0,02		
829-7					0,67	0,02		
853-1					0,67	0,02		
865-3	0,60	0,05						
865-8							-0,72	0,01
865-9			0,62	0,04	0,67	0,02	0,64	0,03

EK-4 (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile analiz edildi

Çizelge E4.1. (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki

	Kloroform (15 µl)							
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>P. auriginosa</i>		<i>E. coli</i>	
	<i>r_p</i>	<i>p</i>	<i>r_p</i>	<i>p</i>	<i>r_p</i>	<i>p</i>	<i>r_p</i>	<i>p</i>
808-5					1,00	0,00		
808-9					0,62	0,04		
808-20							-0,84	0,00
817-1					0,72	0,01		
817-2					0,72	0,01		
817-3					0,72	0,01		
817-4					0,72	0,01		
817-5					0,72	0,01		
817-7					0,72	0,01		
817-17	0,63	0,04	0,63	0,04				
818-11	0,69	0,02						
818-19							-0,67	0,02
826-4					0,62	0,04		
825-6							0,84	0,00
826-17	0,67	0,02						
827-4							0,62	0,04
827-2	0,67	0,02	0,62	0,04				
827-5			0,68	0,02				
827-7	0,67	0,02	0,62	0,04				
829-4					0,61	0,04		
853-4					0,61	0,04		
853-9			0,63	0,04				
865-2					0,61	0,04		
865-8							-0,83	0,00
865-10							-0,63	0,04

EK-4 (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile analiz edildi

Çizelge E4.1. (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki

	Kloroform (20 µl)							
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>P. auriginosa</i>		<i>E. coli</i>	
	<i>r_p</i>	<i>p</i>	<i>r_p</i>	<i>p</i>	<i>r_p</i>	<i>p</i>	<i>r_p</i>	<i>p</i>
808-2							0,68	0,02
810-8	0,80	0,00						
810-14	0,75	0,01					-0,62	0,04
810-18			0,63	0,04				
810-20	0,81	0,00	0,63	0,04				
817-9							-0,62	0,04
817-12					0,85	0,00		
817-13			0,73	0,01				
817-16					0,78	0,01		
817-17	0,80	0,00	0,67	0,02				
818-11	0,69	0,02						
818-15	-0,73	0,01						
818-20	0,70	0,02	0,60	0,05				
825-4			-0,75	0,01				
826-1			0,63	0,04				
826-2			0,73	0,01				
826-6					0,78	0,01	0,93	0,00
826-10			0,73	0,01				
826-11			-0,35	0,29	0,71	0,02		
826-15					0,78	0,01		
826-18					0,85	0,00		
826-17			0,73	0,01				
827-2			0,73	0,01				
827-6					0,78	0,01		
827-7			0,73	0,01				
827-14					0,78	0,01		
827-19					0,66	0,03		
829-10					0,71	0,02		
829-12					0,85	0,00		
853-9	0,80	0,00	0,67	0,02				
865-4			-0,61	0,05				
865-8							-0,77	0,01

EK-4 (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile analiz edildi

Çizelge E4.1. (Devam) ISSR lokusları ile antimikrobiyal inhibisyon zon çapları arasındaki ilişki

	Kloroform (25 µl)							
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>P. auriginosa</i>		<i>E. coli</i>	
	r_p	p	r_p	p	r_p	P	r_p	p
808-12					0,64	0,04		
808-20							-0,66	0,03
808-22							-0,61	0,05
810-8	0,63	0,04	0,79	0,00				
810-12					0,69	0,02		
810-14			0,59	0,05				
810-20			0,70	0,02				
817-13			0,83	0,00				
817-17	0,63	0,04	0,79	0,00				
818-1					0,64	0,03		
818-11	0,64	0,03	0,75	0,01				
825-6							0,66	0,03
826-2			0,83	0,00				
826-10	0,63	0,04	0,83	0,00				
826-14					0,64	0,03		
826-17	0,63	0,04						
827-2	0,63	0,04	0,83	0,00				
827-7	0,63	0,04	0,83	0,00				
853-9	0,63	0,04	0,79	0,00				
865-8							-0,70	0,02
865-10							-0,66	0,03
865-13					-0,69	0,02		
865-14							-0,64	0,03

EK-5. ISSR PCR analizleri

Çizelge E5.1. ISSR analizleri ile üretilen ISSR lokusları ve farklı kekik türlerinde hesaplanan alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}) ve genetik çeşitlilik (h) verileri

SN	Locus	N	n_a	n_{ea}	h	SN	Locus	N	n_a	n_{ea}	h
1.	808-1	11	2	1,86	0,46	36.	810-14	11	2	1,66	0,40
2.	808-2	11	2	1,66	0,40	37.	810-15	11	2	1,86	0,46
3.	808-3	11	2	1,20	0,17	38.	810-16	11	2	1,42	0,30
4.	808-4	11	2	1,66	0,40	39.	810-17	11	2	1,42	0,30
5.	808-5	11	2	1,42	0,30	40.	810-18	11	2	1,98	0,50
6.	808-6	11	2	1,42	0,30	41.	810-19	11	2	1,86	0,46
7.	808-7	11	2	1,98	0,50	42.	810-20	11	2	1,66	0,40
8.	808-8	11	2	1,20	0,17	43.	810-21	11	2	1,42	0,30
9.	808-9	11	2	1,86	0,46	44.	817-1	11	2	1,20	0,17
10.	808-10	11	2	1,20	0,17	45.	817-2	11	2	1,20	0,17
11.	808-11	11	2	1,86	0,46	46.	817-3	11	2	1,20	0,17
12.	808-12	11	2	1,66	0,40	47.	817-4	11	2	1,20	0,17
13.	808-13	11	2	1,42	0,30	48.	817-5	11	2	1,20	0,17
14.	808-14	11	2	1,86	0,46	49.	817-6	11	2	1,42	0,30
15.	808-15	11	2	1,66	0,40	50.	817-7	11	2	1,20	0,17
16.	808-16	11	2	1,42	0,30	51.	817-8	11	1	1,00	0,00
17.	808-17	11	2	1,66	0,40	52.	817-9	11	2	1,66	0,40
18.	808-18	11	2	1,86	0,46	53.	817-10	11	1	1,00	0,00
19.	808-19	11	2	1,42	0,30	54.	817-11	11	2	1,42	0,30
20.	808-20	11	2	1,98	0,50	55.	817-12	11	2	1,42	0,30
21.	808-21	11	2	1,20	0,17	56.	817-13	11	2	1,20	0,17
22.	808-22	11	2	1,42	0,30	57.	817-14	11	2	1,66	0,40
23.	810-1	11	2	1,42	0,30	58.	817-15	11	2	1,66	0,40
24.	810-2	11	2	1,42	0,30	59.	817-16	11	2	1,20	0,17
25.	810-3	11	2	1,20	0,17	60.	817-17	11	2	1,42	0,30
26.	810-4	11	2	1,42	0,30	61.	817-18	11	2	1,86	0,46
27.	810-5	11	2	1,86	0,46	62.	818-1	11	2	1,98	0,50
28.	810-6	11	2	1,86	0,46	63.	818-2	11	2	1,20	0,17
29.	810-7	11	2	1,20	0,17	64.	818-3	11	2	1,42	0,30
30.	810-8	11	2	1,42	0,30	65.	818-4	11	2	1,20	0,17
31.	810-9	11	2	1,66	0,40	66.	818-5	11	2	1,20	0,17
32.	810-10	11	2	1,42	0,30	67.	818-6	11	2	1,42	0,30
33.	810-11	11	2	1,20	0,17	68.	818-7	11	2	1,86	0,46
34.	810-12	11	2	1,66	0,40	69.	818-8	11	2	1,42	0,30
35.	810-13	11	1	1,00	0,00	70.	818-9	11	2	1,66	0,40

EK-5 (Devam) ISSR PCR analizleri

Çizelge E5.1. (Devam) ISSR analizleri ile üretilen ISSR lokusları ve farklı kekik türlerinde hesaplanan alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}) ve genetik çeşitlilik (h) verileri

SN	Locus	N	n_a	n_{ea}	h	SN	Locus	N	n_a	n_{ea}	h
71.	818-10	11	2	1,98	0,50	107.	826-17	11	2	1,20	0,17
72.	818-11	11	2	1,66	0,40	108.	826-18	11	2	1,42	0,30
73.	818-12	11	2	1,20	0,17	109.	827-1	11	2	1,20	0,17
74.	818-13	11	2	1,86	0,46	110.	827-2	11	2	1,20	0,17
75.	818-14	11	2	1,20	0,17	111.	827-3	11	2	1,42	0,30
76.	818-16	11	2	1,20	0,17	112.	827-4	11	2	1,42	0,30
77.	818-17	11	2	1,86	0,46	113.	827-5	11	2	1,66	0,40
78.	818-18	11	2	1,66	0,40	114.	827-6	11	2	1,20	0,17
79.	818-19	11	2	1,66	0,40	115.	827-7	11	2	1,20	0,17
80.	818-20	11	2	1,86	0,46	116.	827-8	11	1	1,00	0,00
81.	825-1	11	2	1,20	0,17	117.	827-9	11	1	1,00	0,00
82.	825-2	11	2	1,42	0,30	118.	827-10	11	1	1,00	0,00
83.	825-3	11	2	1,20	0,17	119.	827-11	11	2	1,20	0,17
84.	825-4	11	2	1,42	0,30	120.	827-12	11	2	1,20	0,17
85.	825-5	11	2	1,20	0,17	121.	827-13	11	2	1,20	0,17
86.	825-6	11	2	1,98	0,50	122.	827-14	11	2	1,20	0,17
87.	825-7	11	2	1,20	0,17	123.	827-15	11	2	1,20	0,17
88.	825-8	11	2	1,20	0,17	124.	827-16	11	2	1,86	0,46
89.	825-9	11	2	1,20	0,17	125.	827-17	11	2	1,42	0,30
90.	825-10	11	2	1,86	0,46	126.	827-18	11	2	1,86	0,46
91.	826-1	11	2	1,98	0,50	127.	827-19	11	2	1,66	0,40
92.	826-2	11	2	1,20	0,17	128.	829-1	11	2	1,20	0,17
93.	826-3	11	2	1,42	0,30	129.	829-2	11	2	1,20	0,17
94.	826-4	11	2	1,86	0,46	130.	829-3	11	2	1,42	0,30
95.	826-5	11	2	1,42	0,30	131.	829-4	11	2	1,20	0,17
96.	826-6	11	2	1,20	0,17	132.	829-5	11	2	1,66	0,40
97.	826-7	11	2	1,42	0,30	133.	829-6	11	2	1,42	0,30
98.	826-8	11	2	1,42	0,30	134.	829-7	11	2	1,20	0,17
99.	826-9	11	2	1,42	0,30	135.	829-8	11	2	1,66	0,40
100.	826-10	11	2	1,20	0,17	136.	829-9	11	2	1,66	0,40
101.	826-11	11	2	1,42	0,30	137.	829-10	11	2	1,42	0,30
102.	826-12	11	2	1,66	0,40	138.	829-11	11	1	1,00	0,00
103.	826-13	11	2	1,42	0,30	139.	829-12	11	2	1,42	0,30
104.	826-14	11	2	1,98	0,50	140.	829-13	11	2	1,66	0,40
105.	826-15	11	2	1,20	0,17	141.	829-14	11	2	1,42	0,30
106.	826-16	11	2	1,66	0,40	142.	829-15	11	2	1,42	0,30

EK-5 (Devam)ISSR PCR analizleri

Çizelge E5.1. (Devam) ISSR analizleri ile üretilen ISSR lokusları ve farklı kekik türlerinde hesaplanan alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}) ve genetik çeşitlilik (h) verileri

SN	Locus	N	n_a	n_{ea}	h	SN	Locus	N	n_a	n_{ea}	h
143.	829-16	11	2	1,20	0,17	157.	865-3	11	2	1,20	0,17
144.	853-1	11	2	1,20	0,17	158.	865-4	11	2	1,66	0,40
145.	853-2	11	2	1,20	0,17	159.	865-5	11	2	1,86	0,46
146.	853-3	11	2	1,42	0,30	160.	865-6	11	2	1,20	0,17
147.	853-4	11	2	1,20	0,17	161.	865-7	11	2	1,42	0,30
148.	853-5	11	2	1,42	0,30	162.	865-8	11	2	1,86	0,46
149.	853-6	11	2	1,42	0,30	163.	865-9	11	2	1,20	0,17
150.	853-7	11	2	1,20	0,17	164.	865-10	11	2	1,86	0,46
151.	853-8	11	2	1,20	0,17	165.	865-11	11	2	1,86	0,46
152.	853-9	11	2	1,42	0,30	166.	865-12	11	2	1,66	0,40
153.	853-10	11	2	1,42	0,30	167.	865-13	11	2	1,86	0,46
154.	853-11	11	2	1,20	0,17	168.	865-14	11	2	1,66	0,40
155.	853-12	11	2	1,20	0,17	169.	Mean	11	1,96	1,46	0,29
156.	865-2	11	2	1,20	0,17	170.	St, Dev		0,20	0,27	0,13

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

SOYADI, Adı : Sibel KEREM

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı (Ankara)	2017
	Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi İktisat Bölümü	2018
Önlisans	Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Bankacılık ve Sigortacılık bölümü	2014
Lise	Leyla Turgut lisesi	2012

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016	Gazi Üni. Hastanesi	Stajyer (biyolog)
2017	Karakusunlar İMKB Meslek Lisesi	Stajyer (öğretmen)
2018	Mustafa Kemal İÖÖ.	Ücretli Öğretmen
2019	Dodurga İmam Hatip lisesi	Ücretli Öğretmen
2019	Dodurga Çok Programlı lise	Ücretli Öğretmen
2019	Dodurga Halk Eğitim	Öğretici

Yabancı Dil

İngilizce

