

Toprak Solucanlarından Elde Edilen Vermikompostun Bazı Bitki Patojenleri Üzerindeki Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması

Uğur TUTAR*

Zara Ahmet Çuhadaroğlu M.Y.O., Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Cumhuriyet University, Sivas, TURKEY

Received: 10.12.2012; Accepted: 11.02.2013

Özet. Toprak solucanlarının, organik atıkları biyolojik olarak parçalayarak ayrıştırılmaları ile oluşturdukları “vermikompost” un, bazı patojen bakteri ve funguslara karşı etkili oldukları, yapılan çeşitli araştırmalarla saptanmıştır. Bu çalışmada, *Eisenia fetida* türü toprak solucanlarından elde edilen vermikompostun; etanol ve kloroform solventleri kullanılarak elde edilen ekstraktlarının, bitkilerde hastalıklara neden olan toprak kaynaklı patojen 9 adet bakteri ve 9 adet fungusu karşı etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla “disk difüzyon” ve “MIC” testleri uygulanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, toprak solucanlarından elde edilen vermikompostun kloroform ile elde edilen ekstraktlarının *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas carotae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus humicola* ve *Aspergillus fumigatus*’ a karşı etkileri güçlü olurken; *Erwinia chrysanthemi*, *Pseudomonas fluorescens*, ve *Penicillium brevicompactum*’ a karşı etkilerinin daha zayıf olduğu görülmüştür. Vermikompostun, etanol ile elde edilen ekstraktlarının ise *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris* ve *Aspergillus fumigatus*’ a karşı etkilerinin güçlü olduğu, *Erwinia herbicola*, *Erwinia chrysanthemi* ve *Sclerotinia sclerotiorum*’ a karşı ise daha zayıf bir etki gösterdiği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Toprak solucanı, Vermikompost, Antimikrobiyal aktivite

Investigation of Antimicrobial Activity on Some Plant Pathogens of Obtained from the Earthworm’s Vermicompost

Abstract. It was determined that ‘vermicompost’ created by earthworms by breaking down and decomposing organic waste biologically was effective against some pathogenic bacteria and fungi. In this study, tests of “disc diffusion” and “MIC” tests were applied to identify effects against soil-borne pathogen nine species bacteria and nine species fungi that cause diseases in plants by using extracts obtained using chloroform and ethanol from *Eisenia fetida* type earthworm’s “vermicompost”. According to the results, It was determined that chloroform extracts obtained from the earthworm’s vermicompost has stronger inhibitory effects on *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas carotae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus humicola*, *Aspergillus fumigatus* and weak effects on *Erwinia chrysanthemi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Penicillium brevicompactum*. And also it was determined that ethanol extracts obtained from vermicompost has stronger inhibitory effects on *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Aspergillus fumigatus* and weak effects on *Erwinia herbicola*, *Erwinia chrysanthemi* and *Sclerotinia sclerotiorum*.

Key words: Earthworm, Vermicompost, Antimicrobial activity

* Corresponding author. Email address: ututar5@gmail.com

1. GİRİŞ

Vermikompost, çeşitli organik atıkların bazı toprak solucanları tarafından sindirilmeleri sırasında kompostlaştırıldığı; mikroorganizma, bitki besleme elementleri, çeşitli enzimler, organik madde, humik ve fulvik asitçe zengin, toprak düzenleyici ve bitki besleme gübresi olarak tanımlanmaktadır [1].

1970'lerden sonra bazı solucan türlerinin organik maddeleri parçalayarak kompostlaştırdıkları anlaşılmıştır [2]. Bu yıllarda hızla popüler olmaya başlayan, toprak solucanlarının kültür ortamında çoğaltılması olarak ifade edilen “vermikültür” ve “vermikompost” üretimi özellikle İngiltere, Japonya, Birleşik Devletler, Küba, Fransa ve Almanya’ da önemli bir iş kolu haline gelmiştir. Birkaç yıl içinde Amerika’ da vermikültür çiftliği sayısı 90.000 civarına ulaşmış ve yalnızca Kaliforniya’ da yılda 20.000 ton vermikompost üretilmeye başlanmıştır. Günümüzde vermikompostu en yaygın kullanan ülkelerin başında ise Küba gelmektedir [3].

Yeryüzündeki bütün toprak solucanları organik maddeleri kompostlaştırabilmektedir. Ancak *Eisenia fetida*, *Dendrobaena veneta*, *Lumbricucus rubellus*, *Eudrilus eugeniae*, *Perionyx excavatus* ve *Perionyx hawayana* türleri diğerlerine oranla çok daha hızlı besin tüketmesi, daha yüksek üreme ve popülasyon artış oranlarına sahip olması, çok farklı iklim ve çevre koşullarına kolay adapte olabilmeleri nedeniyle tercih edilmektedir [4]. Adı geçen altı türden ticari olarak en yaygın üretimi yapılanları *Eisenia fetida* ve *Lumbricucus rubellus*’tur [5].

Toprak solucanları hayvansal ve bitkisel kaynaklı organik maddelerle beslenmektedir. Buna bağlı olarak üretim çiftliklerinde; sığır, tavuk, at, ördek, hindi, domuz ve tavşan dışkıları ile bitkisel üretim artıkları (hasat sonrası tarlada kalan artıklar) evsel atıklar, kağıt, talaş, sebze ve meyve kabukları gibi organik maddeler solucanlara besin olarak verilmektedir [5].

Toprak solucanları kullanılarak kompost üretimi (vermicomposting), açık alanlarda basit yığınlarda (windrow), kasalarda (container) veya otomasyonlu kapalı kompleks sistemlerde (continuous flow reactor) yapılabilir [6]. Üretimden sorumlu toprak solucanlarının optimum koşullarda yaşatılması, vermikompostun kalite ve verimliliğini etkileyen en önemli unsurdur [7].

Solucanlar, toprağın yapısını, verimliliğini ve bitki üretimini önemli ölçüde etkilemektedirler. Beslenmeleri ve galeri açma aktiviteleri yoluyla toprağın dengesini olumlu yönde geliştirebilir, suyun toprağa nüfuzunu artırabilir, yüzeye uygulanan organik madde, kireç ve gübrelerin toprakla karışımını hızlandırabilir ve toprak gözenekliliğini artırabilirler. Bunun

Toprak Solucanlarından Elde Edilen Vermikompostun

yanında bitki kök gelişimini destekledikleri, kök hastalıkları oranını önemli ölçüde düşürdükleri, çayır ve ürün rekoltesi ile tahıl kalitesini artırdıkları yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır [8, 9].

Az miktarda kullanıldıklarında bile bitkilerin gelişmelerini önemli ölçüde artıran vermikompost gerek çiçekçilikte, gerekse meyve ve sebze yetiştiriciliğinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Vermikompost, toprağa kazandırdığı besin elementleriyle bitkilerin yalnız sağlıklı, kaliteli ve verimli olmalarını sağlamakla kalmaz, hümik asit ve büyüme hormonlarıyla gelişmelerini de düzenler. Daha da önemlisi mikrobiyal aktivite ve mikrobiyal biyomass düzeylerini artırarak toprak verim ve kalitesinin yükselmesini sağlamakla birlikte toprak kaynaklı hastalık ve zararlıların neden olduğu tahribatı da önemli ölçüde önlemektedir [10-12].

Yapılan araştırmalar, vermikompost uygulanan topraklarda yetiştirilen bitkilerin, hastalık ve zararlılara karşı daha dirençli olduğunu göstermektedir. Vermikompostun bitkiler üzerindeki antibakteriyel ve antifungal etkisi, özellikle solucanların çeşitli nedenlerle vücutlarından dışarı salgıladıkları sölom sıvısından kaynaklanmaktadır. Aylarca buldukları ortama, dolayısıyla vermikomposta karışan sölom sıvısının yapısında bulunan aglütinin, fetidin, lumbricidin ve kitinaz gibi enzimler ve proteinler bazı fungus, bakteri ve yapısında kitin maddesi bulunan zararlılara karşı etki göstermekte, böylece birçok hastalığın ve zararlının olumsuz etkisini zayıflatmaktadır [13].

Toprak solucanları tarafından kompostlaştırılan organik maddelere, çeşitli sıvılar, enzimler, vitaminler, proteinler, kokonlar, çeşitli nedenlerle ölen yaşlı ve yavru solucanların karışmasıyla vermikompost karakteristik yapısına kavuşmaktadır [14].

Bu yapının önemli özelliklerinden biri de solucanların bağırsaklarında yaşayan çok sayıda mikroorganizmanın vermikompostun yapısına katılmasıdır. Böylece vermikompost uygulanan toprakların kimyasal ve fiziksel özelliklerinde iyileşme ile birlikte toplam mikroorganizma, azot bağlayan bakteriler ile simbiyotik mikorizaların sayısında çoğalma meydana gelmektedir. Böylece toprak patojenlerinin popülasyonlarında baskılanma söz konusu olmaktadır [15].

Toprak solucanlarının antimikrobiyal özellikteki sekresyonlarının ve vermikompostun sahip olduğu fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin önemli bazı toprak kökenli hastalıklara karşı baskılayıcı etkisi, Edwards ve arkadaşlarının [16] yaptıkları birçok saksı denemelerinde de ortaya konmuştur.

Bu çalışmada, *Eisenia fetida* türü toprak solucanlarının çoğaltılmasıyla elde edilen vermikompostun, çeşitli patojen bakteri ve funguslar üzerindeki antimikrobiyal etki düzeyleri

araştırılmıştır. Böylece bitki besleme ve toprak düzenleyici olarak kullanılan vermikompostun özellikle bitki hastalıklarını baskılayıcı etkilerinin düzeyleri anlaşılmış olacaktır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Vermikompost Üretimi

Çalışmada kullanılacak olan solucanlar 1m x 2m boyutlarında ve 40 cm derinliğinde bir havuz içerisinde çoğaltılmıştır. Büyük baş hayvan gübresi ve mutfak atıklarının (patates kabuğu, marul, ekme, çay posası, elma kabuğu v.s) karıştırılması ile hazırlanmış 0.6 m³ yığına yaklaşık 2500 adet *E. fetida* türü toprak solucanları bırakılmıştır [6, 17].

E. fetida için ideal olan yaşam ve besin ortamı koşullarının; sıcaklığı 15-24 C°, nem düzeyi % 60-90, amonyak düzeyi 0.5 mg/g' dan düşük, tuz miktarı 0.5 mg/kg' dan az, pH'ı 5-9 arasında ve oksijence zengin olması gerektiği açıklanmıştır [6]. Bu bakımdan solucanlara besin olarak verilecek olan organik atık maddelerin pH, nem, sıcaklık ölçümleri yapılarak eksiklikler giderilmiştir. Günlük yapılan kontrollerde yatak yüzeyi kuruma meydana gelmemesi için hafif sulamalarla nemlendirilmiştir.

Birçok araştırmacı, organik maddelerin solucanlar tarafından kompostlaştırılması işleminin en az 90 gün olması gerektiğini bildirmişlerdir [3, 18]. Bu nedenle solucanların çoğaltılarak vermikompostun elde edilmesi işlemi için 120 günlük bir üretim zamanı öngörülmüştür.

Solucanların sindirim yolu ve ortamdaki mikroorganizmaların faaliyetiyle kompostlaşmış olan organik maddeler ve solucan dışkısı öngörülen sürenin tamamlanmasından sonra havuzdan alınarak açık havada 5 cm kalınlığında serilmek suretiyle nem düzeyi %70'lerden % 30 civarına düşürülmüştür [6]. Elde edilen vermikompost, 3 mm' lik elekten geçirilerek denemelerde kullanılmıştır.

Vermikompostun Solventlerle Ekstraksiyonu

Soxhlet düzeneğinde, sırasıyla kloroform ve etanol solventleri ile ekstraksiyona tabi tutulan vermikompost ekstraktları, şu basamaklarda elde edilmiştir [19].

1. % 30 civarında nem içeren vermikompost, kuru hava sterilizatöründe 40 C° de 48 saat tutularak tamamen kurutulmuştur.

Toprak Solucanlarından Elde Edilen Vermikompostun

2. Vermikompost waring blenderdan geçirilerek parçalandıktan sonra hassas terazide 40' ar gram tartılarak soxhlet kartuşlarına konmuştur.
3. Isıtıcılara yerleştirilecek balonlara, 400 ml ekstraksiyonda kullanılacak solvent konarak balonlar yuvalarına yerleştirilmiştir.
4. Temostatlı ısıtıcılar solventlerin kaynama dereceleri olan etanol için 78.4 C° ve kloroform için 61 C° altında bir sıcaklığa ayarlanarak ekstraksiyon işlemi başlatılmıştır.
5. Ekstraksiyon işleminin başarılı olması için her bir ısıtıcı düzeneğinin 7-8 kere sifon yapması sağlanmıştır [20].
6. Balonlarda toplanan solvent, rotary evaporatörde uzaklaştırılarak yeniden kazanılmış ve saf ekstraktlar elde edilmiştir.

Disk Difüzyon Yöntemi

Çalışmada ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.

Çalışmada kullanılacak olan bakteriler 0.5 McFarland standarda göre (10^8 CFU/ml) hazırlanmıştır. Bakteriler Mueller-Hinton agar (MHA) besiyerlerine; funguslar ise Potatodextrose- agar besiyerlerine (PDA) steril eküvyonlar kullanılarak ekilmiş ve predifüzyon sağlanması için bir süre beklenildikten sonra kloroform ve etanol ile çözdürülen (100 mg/ml) ekstreler 6 mm çaplı steril kağıt disklerle 20 µl emdirilmiştir. 24 ve 48 saatlik inkübasyondan sonra inhibisyon zon çapı oluşup oluşmadığı kontrol edilmiş ve oluşan zon çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Pozitif kontrol olarak bakteriler için 105µg cefeperozone-sulbactam (Oxoid); funguslar için ise 25 µg fluconazol (Oxoid) diskleri, negatif kontrol olarak 20 µl kloroform ve etanol emdirilmiş diskler kullanılmıştır. Disk difüzyon bütün ekstrakt ve solventler için üç tekrarlı yapılmıştır.

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) Belirlenmesi

Kloroform ve etanol ekstrelerinin disk difüzyon yönteminde aktivitesinin olduğu görülen suşlar üzerindeki minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri makrodilüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Üzerinde etkili olduğu görülen her bir bakteri ve ekstre için kapaklı tüplerden 10' ar adet seriler hazırlanarak her tüpe 2'şer ml sıvı besi yerinden dağıtılmıştır. Daha sonra ilgili ekstraktlardan 4'er mg tartılarak 4 ml ekstraksiyonda kullanılan solventde çözdürülerek, 1. tüplere 2' şer ml ilave edilmiştir. İlk tüpten başlayarak 9. tüpe kadar bir önceki tüpten 2 ml

çekilip sonrakine eklenerek seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir. 10. tüpe ise ekstre ilave edilmeyerek kontrol tüpü olması sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra her bir tüpe 0.5 McFarland standarda göre ayarlanmış ilgili bakteri süspansiyonundan 1' er ml eklenerek 36.5 C° 'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası bulanıklığın başladığı tüpten bir önceki tüp, etken maddenin MIC değeri olarak kaydedilmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak cefoperazone-sulbactam (1 mg/ml), negatif kontrol olarak kloroform ve etanol (1 ml/ml) kullanılmıştır. MIC değeri tespiti bütün ekstrakt ve solventler için üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

120 günlük bir üretim süresi sonunda 2500 adet solucan sayısının yaklaşık 12.000 civarına ulaştığı görülmüş ve toplam 100 kg vermikompost elde edilmiştir.

E. fetida'nın ifade edilen ideal ısı, ışık, nem ve besin ortamı sağlanarak [7] geçmişte yapılmış olan araştırmalarda açıklanan vermikültür ve vermikompost üretiminde elde edilen çoğaltma ve ürün elde etme oranları çalışmamızda da sağlanabilmiştir [17].

Soxhlet düzeneğinde, etanol ve kloroform solventleri kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir solvent ile 240' ar gram vermikompost ekstraksiyona tabi tutulmuş ve altı saat süreyle çalıştırılan düzenekte her bir solventin en az yedi kez sifon yapması sağlanmıştır. Solventler rotary evaporatör ile ekstraktlardan uzaklaştırılarak geri kazanılmış ve sonuçta, kloroform ile 1.17 g, etanol ile 1.08 g saf ekstre elde edilmiştir.

Antimikrobiyal Aktivite

Yapılan disk difüzyon çalışması sonucunda vermikompost ekstresinin bakterilere karşı oluşturduğu zon ölçümleri Çizelge 1' de, MIC değeri ölçümleri, Çizelge 2' de verilmiştir. Bulgulara göre kloroform ekstresinin, pozitif kontrol ile karşılaştırıldığında *Pseudomonas syringae* ve *Xhantomonas carotae* bakterilerine karşı etkileri güçlü iken, *Erwinia chrysanthemi* ve *Pseudomonas fluorescens* bakterilerine karşı etkilerinin daha zayıf olduğu görülmüştür. Etanol ile ekstrakte edilen ekstraktların ise *Pseudomonas syringae* ve *Xhantomonas campestris* bakterilerine karşı etkileri güçlü iken *Erwinia herbicola* ve *Erwinia chrysanthemi*' ye karşı etkilerinin daha zayıf olduğu saptanmıştır.

Çizelge 1. Vermikompost ekstraktlarının bakterilere karşı oluşturduğu zon ölçümleri

Toprak Solucanlarından Elde Edilen Vermikompostun

Diskler Bakteriler	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol 1	Negatif Kontrol 2	1. Disk	2. Disk
<i>Pseudomonas syringae</i>	42.6mm ± 0.57	–	–	20.3 mm± 1.52	24 mm± 1.73
<i>Xhantomonas carotae</i>	40 mm± 1.73	–	–	31.6 mm± 0.57	–
<i>Xhantomonas campestris</i>	38.6 mm± 0.57	–	–	–	32.3 mm± 1.52
<i>Erwinia herbicola</i>	43.6mm±1.52	–	–	–	14 mm± 1.00
<i>Erwinia chrysanthemi</i> ,	55.6 mm± 0.57	–	–	13 mm± 1.73	17.6 mm± 0.57
<i>Mycobacterium liquefaciens</i>	57.6 mm± 2.08	–	–	–	–
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	51 mm± 1.73	–	–	–	–
<i>Pseudomonas cepacia</i>	44.6 mm± 0.57	–	–	–	–
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	42.6 mm± 2.08	–	–	12.6 mm± 0.57	–

Pozitif Kontrol: 105µg cefeperozone-sulbactam (Oxoid)

Negatif Kontrol 1: 20 µl kloroform emdirilmiş 6mm çapında disk

Negatif Kontrol 2: 20 µl etanol emdirilmiş 6mm çapında disk

1. Disk: Kloroform ile ekstrakte edilmiş vermikompost ekstresi (100 µg/ µl) emdirilmiş disk

2. Disk: Etanol ile ekstrakte edilmiş vermikompost ekstresi (100 µg/ µl) emdirilmiş disk

± işaretini takip eden rakamlar ilgili ortalamaya ait standart sapma değerleridir

Çizelge 2. Disk difüzyonda zon oluşturan vermikompost ekstraktlarının bakterilere karşı oluşturduğu MIC değerleri

Tüpler Bakteriler	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol 1	Negatif Kontrol 2	1. Ekstre	2. Ekstre
<i>Pseudomonas syringae</i>	62.5µg/ml± 0.00	500µl/ml± 0.00	250µl/ml± 0.00	62.5µg/ml± 0.00	62.5µg/ml± 0.00
<i>Xhantomonas carotae</i>	125µg/ml± 0.00	500µl/ml± 0.00	250µl/ml± 0.00	125µg/ml± 0.00	–
<i>Xhantomonas campestris</i>	62.5µg/ml± 0.00	125µl/ml± 0.00	250µl/ml± 0.00	–	62.5µg/ml± 0.00
<i>Erwinia herbicola</i>	31.25µg/ml± 0.00	250µl/ml± 0.00	250µl/ml± 0.00	–	250µg/ml± 0.00
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	62.5µg/ml± 0.00	500µl/ml± 0.00	125µl/ml± 0.00	250µg/ml± 0.00	250µg/ml± 0.00
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	62.5µg/ml± 0.00	500µl/ml± 0.00	250µg/m± 0.00	250µg/ml± 0.00	–

Pozitif Kontrol: Cefeperozone-sulbactam (1mg/ml)

Negatif Kontrol 1: Kloroform (1 ml/ml)

Negatif Kontrol 2: Etanol (1 ml/ml)

1. Ekstre: Kloroform ile ekstrakte edilmiş vermikompost ekstresi (1mg/ml)

2. Disk: Etanol ile ekstrakte edilmiş vermikompost ekstresi (1 mg/ml)

± işaretini takip eden rakamlar ilgili ortalamaya ait standart sapma değerleridir

Yapılan disk difüzyon çalışması sonucunda vermikompost ekstraktının funguslara karşı oluşturduğu zon ölçümleri Çizelge 3’ de verilmiştir. Buna göre vermikompostun kloroform ile ekstrakte edilen ekstreleri pozitif kontrol ile karşılaştırıldığında *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus humicola* ve *Aspergillus fumigatus* funguslarına karşı üremelerini önleyici etkileri oldukça güçlü olurken, *Penicillium brevicompactum*’ a karşı etkisi nispeten daha zayıf olmuştur. Etanol ekstrelerinin ise *Sclerotinia sclerotiorum*’ a etkisi daha zayıf iken *Aspergillus fumigatus*’ a karşı etkisi daha güçlü bir şekilde gerçekleşmiştir.

Çizelge 3. Vermikompost ekstrelerinin funguslara karşı oluşturduğu zon ölçümleri

Diskler Funguslar	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol 1	Negatif Kontrol 2	1. Disk	2. Disk
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	35.3mm± 0.57	–	–	25.3mm± 2.08	12.3mm± 0.57
<i>Fusarium oxysporum</i>	20mm± 0.00	–	–	13.6mm± 0.57	–
<i>Aspergillus niger</i>	18.3mm± 0.57	–	–	–	–
<i>Aspergillus humicola</i>	32.3mm± 2.88	–	–	20mm± 1.73	–
<i>Tricotecium roseum</i>	18.3mm± 0.57	–	–	–	–
<i>Aspergillus fumigatus</i>	30.3mm± 1.52	–	–	24.6mm± 1.52	21mm± 1.00
<i>Alternaria alternata</i>	18mm± 1.00	–	–	–	–
<i>Penicillium brevicompactum</i>	48,3 mm± 0.57	–	–	18.3mm± 1.15	–
<i>Verticillium dahliae</i>	–	–	–	–	–

Pozitif Kontrol: 105µg cefeperozone-sulbactam (Oxoid)

Negatif Kontrol 1: 20 µl kloroform emdirilmiş 6mm çapında disk

Negatif Kontrol 2: 20 µl etanol emdirilmiş 6mm çapında disk

1. Disk: Kloroform ile ekstrakte edilmiş vermikompost ekstresi (100 µg/ µl) emdirilmiş disk

2. Disk: Etanol ile ekstrakte edilmiş vermikompost ekstresi (100 µg/ µl) emdirilmiş disk

± işaretini takip eden rakamlar ilgili ortalamaya ait standart sapma değerleridir

TARTIŞMA ve SONUÇ

Toprak solucanlarının gerek dokularında, gerek sölom ve mukus sıvılarında, gerekse sindirim sistemlerinde sahip olduğu antimikrobiyal maddelerin [21, 22] söz konusu canlıları patojen bakteri ve fungusların istilasından korumakta olduğu daha önce yapılan bazı çalışmalarda da açıklanmıştır.

Çalışmamızın sonuçları, Wang ve arkadaşlarının [13] yaptıkları çalışmada, solucanların biyolojik aktiviteleri nedeniyle vermikomposta kazandırdıkları aglütinin, fetidin, lumbricidin ve kitinaz gibi enzimler ve proteinlerin, birçok fungus, bakteri ve yapısında kitin maddesi bulunan zararlılara karşı etki göstermekte olduğu ve böylece birçok hastalığın ve zararlının olumsuz etkisini zayıflattığı yönündeki açıklamaları ile örtüşmektedir.

Edwards ve Arancon'un [16] yaptığı çeşitli saksı denemelerinde, toprak solucanlarının antimikrobiyal özellikteki sekresyonlarının ve vermikompostun fiziksel ve kimyasal özelliklerinin önemli bazı toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı baskılayıcı etkisini saptamışlardır.

Szczecz, [23], yaptığı çalışmada domates bitkisinde enfeksiyona neden olan *Fusarium oxysporum lycopersici* fungusuna karşı toprağa vermikompost uygulanmasının, hastalığın ilerlemesinde baskılayıcı etki gösterdiğini ifade etmiştir. Yaptığımız çalışmada vermikompostun kloroform ile elde edilen ekstralarının *Fusarium oxysporum* üzerindeki üremeyi engelleyici etkisinin oldukça güçlü olduğu görülmüştür. Bu bakımdan her iki çalışmanın birbiri ile uyum içinde olduğu belirlenmiştir.

Shobha ve arkadaşlarının [15] toprak solucanlarının bağırsak ekstraktı, vücut duvarı ekstraktı ve sölom sıvılarının, çeşitli bitki hastalık etmeni bakteri ve funguslar üzerindeki üremeyi önleyici etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, disk difüzyon sonuçlarına göre *Xanthomonas campestris*' e karşı elde ettikleri 15 mm' lik ve *Fusarium oxysporum* karşı elde ettikleri 10 mm' lik zon ölçümleri ile bu mikroorganizmalara karşı çalışmamızda elde edilen ölçümler arasında benzerlikler bulunmaktadır.

Yapılan disk difüzyon ve MIC çalışmaları, vermikompost ekstralarının araştırmada kullanılan patojen bakteri ve fungusların çoğalmalarını engelleyici potansiyellerinin olduğunu göstermiştir. Aynı materyalin değişik çözücülerle ekstrakte edilmesi sonucu elde edilen ekstraların içerdikleri etken maddeler de birbirinden farklı olmuştur. Bu nedenle farklı mikroorganizmalar üzerinde farklı düzeylerde etki göstermişlerdir.

Bu çalışmayla, toprak solucanlarının enfeksiyonlara karşı hayatta kalabilmelerini sağlayan immun sistem unsurlarının aynı zamanda yaşadıkları alanlarda birçok toprak kaynaklı bitki patojeni bakteri ve funguslara karşı da etkili olabildiği belirlenmiştir.

Gelecekte, gerek çalışmamızda kullandığımız *Eisenia fetida*' dan gerekse diğer toprak solucanı türlerinden elde edilecek izolat ve ekstrelerin saksı ve tarla denemeleri yapılarak, önemli verim ve kalite kayıplarına neden olan hastalıkların kontrol altına alınması ile ilgili çalışmalar genişletilmelidir.

Çalışmamızın sonuçlarının, farklı toprak solucanlarından ve bunların ürünlerinden elde edilecek olan maddelerin, alternatif tıp ve tarım endüstrisinde kullanılabilme olanaklarının araştırıldığı, ayrıca antimikrobiyal etkinliklerinin, yapılarının ve etki mekanizmalarının belirlendiği çalışmalara kaynak teşkil etmesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Edwards, C.A. and Bohlen, P.J. , 1996. Biology and Ecology of Earthworms, 3rd. ed., Chapman and Hall, New York, 39-40.

[2] Edwards, C.A., 1988. Breakdown of animal, vegetable and industrial organic wastes by earthworms, SPB Academic Publ.Co, 21-31.

[3] Cracas, P. Vermicomposting Cuban Style.

Adres:http://www.wormdigest.org/index.php?option=com_search&Itemid=5&searchword=Cuban&searchphrase=any&ordering=newest. Retrieved April 11, 2012.

[4] Campbell K.L., McIntyre I.W. and Macarthur R.A., 1999. Feeding metabolism and thermoregulatory competence of the star-nosed mole, *Condylura cristata*. Comp. Biochem. Physiol, 123A, 293-298.

[5] Dickerson, G.W. Vermicomposting. Cooperative Extension Service. College of Agriculture and Home Economics. New Mexico State University.

Adres:http://www.cahe.nmsu.edu/Pubs/_h/h_164.pdf. (28.07.2012). Retrieved June 19, 2012.

[6] Edwards, C.A., 2004. Earthworm Ecology, Second edition, CRC Press, Boca Raton, FL, London, New York, Washington, pp 448.

Toprak Solucanlarından Elde Edilen Vermikompostun

[7] Neuhauser, E.F., Loehr, R.C. and Malecki, M.R., 1998. The potential of earthworms for managing sewage sludge. In: Edwards C.A. and Neuhauser E.F., Earthworms in waste and environmental management, SPB Academic Publishing BV, The Hague, 9-20.

[8] Mısırlıoğlu, M., 2011. Toprak Solucanları Biyolojileri, Ekolojileri ve Türkiye Türleri. Ankara: Nobel Yayınları, No: 1636, s 20-92.

[9] Tomati, U., Gali, E., 1995. Earthworms, soil fertility and plant productivity. Acta Zoologica Fennica, 196: 11-14.

[10] Arancon, N. and Edwards C.A., Effects of vermicomposts on plant growth. International Symposium Workshop on Vermitechnology.

Adres:<http://www.slocountyworms.com/wp-content/uploads/2010/12/effects-of-vermicompost-on-plant-growth.pdf>. Retrieved June 12, 2012.

[11] Gouin, F.R., 1998. Using compost in ornamental horticulture industry. In: Beneficial co-utilization of agricultural municipal and industrial bioproduct. Brown S. Angle J.S. and Jacobs L., Kluwer Academic Publishers. Netherlands, pp. 131-138.

[12] Gallego, A.V. and Wollenhaupt N.C., 1997. Surface alfalfa residue removal by earthworms *L. terrestris*. Soil Biology and Biochemistry, 29, 419-471.

[13] Wang, C., Sun, Z-J. and Zheng D., 2006. Research advance in antibacterial immunity ecology of earthworm. The Journal of Applied Ecology, 17(3), 525.

[14] Prabha, M.L., Jayaraaj, I.A., Jeyaraaj, R. and Rao, S., 2007. Comparative studies on the digestive enzymes in the gut of earthworms, *E. eugeniae*, *E. fetida*. Indian Journal of Biotechnology, 6, 567-569.

[15] Shobha, S.V. and Kale, R.D. Invitro studies on control of soil- borne plant pathogens by earthworm *E. eugeniae* exudates.

Adres:<http://www.eco-web.com/edi/080106.html>. Retrieved July 08, 2012.

[16] Edwards, C.A. and Arancon, N.Q., 2004. The use of earthworms in the breakdown of organic wastes to produce vermicomposts and animal feed protein. In Earthworm Ecology, 2nd Edition, Editor C.A. Edwards. C.R.C. Press, Boca Raton, Fl., London, New York, Washington, 345-438.

- [17] Sun, Z.-J. and Liu, Q.-J., 1993. Studies on high-yielding feed factors of earthworm culture. *J. Laiyang Agri. College*, 10(2), 153-156.
- [18] Edwards, C.A., 1988. Breakdown of animal, vegetable and industrial organic wastes by earthworms. *SPB Academic Publ.Co.*, 21-31.
- [19] Castro M.D. and Ayuso L.E., 1998. Soxhlet extraction of solid materials:an outdated technique with a promising innovative future.*Analytica Chimica Acta*, 369,(1-2), 1-10.
- [20] Jensen, W.B., 2007. The Origin of the Soxhlet Extractor. *Journal of Chemical Education*, 84, (12).
- [21] Burke, J. M., 1974. An ultrastructural analysis of the cuticle, epiderm is and esophageal epithelium of *Eisenia foetida* (Oligochaeta) . *Journal of Morphology*, 142, 301-320.
- [22] Xiao, Y., Lu, Y. and Qiu J., 2002. An ultrastructural of integumentary system in *Pheretima Californica* (Oligochaeta: Megascolecidae). *Journal of Shanghai Teachers University (Natural Science)*, 31(2), 79-86.
- [23] Szczech, M.M., 1999. Suppressiveness of Vermicompost against Fusarium Wilt of Tomato. *Journal of Phytopathology*, 147 (3), 155-161.