



Available at: <https://dergipark.org.tr/tjws>

Turkish Journal of Weed Science

© Turkish Weed Science Society



Araştırma Makalesi / Research Article

Bazı Bitki Ekstraktlarının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Üzerine Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi

Sabriye BELGÜZAR¹*, Yusuf YANAR¹, Merve ÇETİN¹, Çiğdem ÖZYİĞİT¹

¹ Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Tokat

* Sorumlu yazar: sabriye.yazici@gop.edu.tr

ÖZET

Bu çalışma, *Grindelia robusta* Nutt. (Grindelya), *Rhus coriaria* L. (Sumak), *Alchemilla vulgaris* L. (Aslan pençesi), *Juglans regia* L. (Ceviz), *Malva sylvestris* L. (Yabani ebeğümesi), *Saponaria officinalis* L. (Adi sabun otu), *Prunella vulgaris* L. (Yara otu) ve *Tanacetum vulgare* L. (Acı çiçekli margrit) bitkilerinden elde edilen ekstraktların domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalık etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) ve domates bakteriyel benek hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) üzerindeki antibakteriyel etkilerini belirlemek amacı ile yürütülmüştür. Bitki ekstraktları son konsantrasyon %0.06, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2 olacak şekilde otoklav edilmeden önce King B besi yerine eklenmiştir. Katılaştıran King B besi yerine, 1×10^6 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan *Cmm* ve *Pst* bakteri süspansiyonlarının ekimi yapılmış ve 27 °C'de iki gün inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol grubu olarak bitki ekstraktlarının olmadığı King B besi yerlerine patojenlerin ekimi yapılmıştır. Çalışma 5 tekerrürlü olarak kurulmuş olup, 2 kez tekrarlanmıştır. İnkübasyon periyodu sonunda, besi yerlerindeki bakteri kolonileri toplanarak spektrofotometrede yoğunlukları ölçülmüştür. Elde edilen verilere göre, tüm bitki ekstraktlarının %1.5 ve %2'lik konsantrasyonları testlenen her iki bakteri üzerinde etkili olmuştur. Özellikle *G. robusta* ve *R. coriaria* ekstraktları *Cmm* ve *Pst* üzerinde en yüksek etkiye sahip olmuştur. Aynı zamanda *A. vulgaris*'in %0.25'lik düşük dozu *Pst* ve *Cmm* üzerinde sırasıyla %76 ve %96 oranında etki göstermiştir. Diğer bitki ekstraktlarında ise doz artışına bağlı olarak patojenler üzerindeki engelleme oranı da artmıştır. Sonuç olarak, çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının *Cmm* ve *Pst* etmenleri üzerinde antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiş olup, hastalıkların mücadelesinde ümit vaat edici olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bitki ekstraktı, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, antibakteriyel etki

Determination of Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the antibacterial effects of extracts of *Grindelia robusta* Nutt. (Grindelia), *Rhus coriaria* L. (Sumac), *Alchemilla vulgaris* L. (Lady's mantle), *Juglans regia* L. (Walnut), *Malva sylvestris* L. (Common mallow), *Saponaria officinalis* L. (Soapwort), *Prunella vulgaris* L. (Self-heal) and *Tanacetum vulgare* L. (Tansy) against causal agent of tomato bacterial cancer and wilt disease *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) and causal agent of bacterial speck of tomato *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*). The plant extracts were added to the King B medium before being autoclaved to reach concentrations of 0.06, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2%. The solidified King B medium was inoculated with the 100 µl of inoculums (1×10^6 cells/ml) and incubated at 27 °C for two days. Control was maintained in pure King B. The experiment was repeated twice with five replication. At the end of incubation periods, the bacterial concentrations were measured in the spectrophotometer. The obtained results indicated that 1.5% and 2% of all plants extracts were inhibited both of the test bacteria. Especially *G. robusta* and *R. coriaria* extracts caused the highest inhibitory effect on *Cmm* and *Pst*. Also, 0.25% extract of *A. vulgaris* displayed 76% and 96% growth inhibition on *Cmm* and *Pst*, respectively. Also, inhibition rates of other plant extracts increased with increase in consantration. As a result, it was determined that plant extracts used in the study had an antibacterial effect on *Cmm* and *Pst* and these plants extracts were found as promising in control of these disease.

Key Words: Plant extract, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, antibacterial effect

**Bu çalışma, Ecology 2017 Uluslararası Sempozyumunda (11-13 Mayıs 2017) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Smith) Davis ve ark.'in (*Cmm*) neden olduğu domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı domates üretimini engelleyen en önemli bakteriyel hastalıklardan birisidir. Ekonomik anlamda domates bitkisinde önemli ürün kayıplarına sebep olan hastalık biber ve patlıcanda da enfeksiyon yapabilmektedir. Sistemik enfeksiyona sebep olan etmenin ilk inokulum kaynağı infekteli tohumlardır ve özellikle düşük bir tohum bulaşma oranı (%0.1-0.5) bile hastalığın epidemik boyutlara ulaşması için yeterlidir (Chang ve ark., 1991). Aynı zamanda etmen hastalıklı bitki artıkları ve bulaşık topraklarla gelecek üretim sezonuna aktararak büyük ürün kayıpları meydana getirebilmektedir (Çetinkaya-Yıldız ve ark., 2019). Çevre koşulları ile değişmekle birlikte %63-93 arasında değişen oranlarda ürün kaybı gerçekleşebilmektedir (Ricker ve Riedel, 1993). Ülkemizde, hastalığın varlığı çeşitli araştırmacılar tarafından belirlenmiş olup (Karaca ve Saygılı, 1977; Basım ve ark., 2004; Sahin ve ark., 2002; Ozdemir, 2005), bazı bölgelerde %80'lere varan hastalık yaygınlığı tespit edilmiştir (Çetinkaya- Yıldız, 2007; Belgüzar ve ark., 2016a).

Domates üretiminde önemli sorunlardan bir diğeri olan domates bakteriyel benek hastalığına sebep olan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young Dye and Wilkie (*Pst*) ise tohum kökenli önemli bir patojendir. Lokal enfeksiyona sebep olan etmen enfekteli tohum ve fide ile yayılmakta ve özellikle fideliklerde ciddi kayıplara neden olabilmektedir. Tohuma yerleşen etmen domates bitkisinin tüm toprak üstü aksamalarında belirti yapabilmektedir. Yüksek nem ve 13-28 °C sıcaklıklarda hastalık çok hızlı bir şekilde yayılmakta ve domates seralarında %12-23 oranlarında bir ürün azalışına neden olabilmektedir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalar ile hastalığın varlığı tespit edilmiş olup (Aysan ve Saygılı, 2019), özellikle diğer ülkelerde de olduğu gibi yayılma nedeninin tohumlar olduğu belirtilmiştir (Geylani, 2004). Tohum kabuğunda bulunan etmen 20 yıl kadar domates tohumlarında canlı kalabilmektedir. Ayrıca patojen bulaşık toprak ve bitki artıklarında, epifitik olarak yabancı otlar üzerinde de yaşamını sürdürebilmektedir (Aysan ve Saygılı, 2019).

Her iki bitki patojeni bakteri tarımsal üretimi kısıtlayan önemli hastalık etmenlerindedir. Diğer bitki bakteri hastalıklarında olduğu gibi, domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına ve bakteriyel benek hastalığına karşı etkili bir kimyasal mücadele yöntemi

olmadığından ve kültürel tedbirler yetersiz kaldığından çok sayıda ülkede ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Kültür bitkilerinin hastalık etmenlerinden korunması ve böylece kaliteli ürün elde edilmesi amacıyla patojenlere karşı çeşitli mücadele yöntemleri geliştirilmektedir. Özellikle kimyasal mücadeleye alternatif, kültürel önlemlere ek olarak çeşitli uygulamalar yapılmaktadır. Bitkilerden elde edilen ekstraktların kullanımı da bu uygulamalardan birisidir. Bitki bakteri hastalıklarının kontrolünde bitki ekstraktlarının kullanımı ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar arasında domates bakteriyel solgunluk hastalığı ve bakteriyel benek hastalığına karşı yapılan uygulamalar da mevcuttur. Çeşitli çalışmalar ile domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına, *Thymus vulgaris* L. (Kekik), *Calendula officinalis* L. (Tıbbi nergis), *T. fallax* Fisch. and CA Mey (Kekik), *Satureja spicigera* (C. Koch) Boiss. (Kekik), *Origanum onites* L. (İzmir kekiği) ve *Achillea millefolium* L. (Civanperçemi) bitkilerinden elde edilen ekstraktların etkili olduğu ve alternatif mücadele olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir (Kizil ve Uyar, 2006; Kotan ve ark., 2010; Kotan ve ark., 2014; Larçin ve ark., 2015; Belgüzar ve ark., 2016b). Bakteriyel benek hastalığı için ise *J. regia* L. (Ceviz), *Lavandula officinalis* L. (Lavanta), *Eucalyptus globulus* Labill. (Ökalyptus), *Rosmarinus officinalis* L. (Biberiye), *Olea europaea* L. (Zeytin), *Tilia tomentosa* Moench. (Ihlamur), *Jatropha curcas* L. (Hint fıstığı), *Humulus lupulus* L. (Şerbetçi otu), *Nigella sativa* L. (Çörek otu), *Trigonella foenum-graecum* L. (Çemen), *Cuminum cyminum* L. (Kimyon), *R. coriaria* L. (Sumak), *Daucus carota* L. (Havuç), *Rosa canina* L. (Kuşburnu), *Moringa oleifera* Lam. (Yaban turpu), *Allium sativum* L. (Sarımsak), *Coriandrum sativum* L. (Kişniş), *Eucalyptus camaldulensis* Dehh. (Ökalyptus), *Ziniber officinale* L. (Zencefil), *O. onites* L. (İzmir kekiği) bitki türlerinden elde edilen ekstraktların etmen üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir (Jayalakshmi ve ark., 2011; Kotan ve ark., 2014; Baştaş, 2015; Karabüyük ve Aysan, 2019).

Yapılan literatür taramalarında *G. robusta*, *R. coriaria*, *A. vulgaris*, *J. regia*, *M. sylvestris*, *S. officinalis*, *T. vulgare* ve *P. vulgaris* bitki ekstraktlarının özellikle *Bacillus* ve *Candida* türleri, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinomyces viscosus*, *Shigella* ve *Listeria* cinslerine ait bakteriler üzerinde yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve çeşitli

alanlarda kullanılabilceği bildirilmiştir (Iauk ve ark., 1998; Nasar-Abbas ve Halkman, 2004; Sharafati-Chaleshtori ve ark., 2011; Awwad ve ark., 2015; Edrah, 2017; Komal ve ark., 2018; Tuna ve ark., 2019). Buna ilaveten bu bitki ekstraktlarının bitki patojeni bakterilere karşı antibakteriyel etkisine yönelik çok az sayıda çalışmaya rastlanılmıştır (Nassar-Abbas ve Halkman, 2004; Baştaş, 2015; Rashid ve ark., 2016; Bhat ve ark., 2017).

Bu çalışma ile, *Grindelia robusta* Nutt., *Rhus coriaria* L., *Alchemilla vulgaris* L., *Juglans regia* L., *Malva sylvestris* L., *Saponaria officinalis* L., *Prunella vulgaris* L. ve *Tanacetum vulgare* L. bitkilerinden elde edilen ekstraktların *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* üzerindeki antibakteriyel etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan bitki türleri

Türkçe adı	Bilimsel adı	Familyası	Kullanılan bitki aksamı
Acı çiçekli margrit	<i>Tanacetum vulgare</i> L.	Asteraceae	Çiçek
Adi sabun otu	<i>Saponaria officinalis</i> L.	Caryophyllaceae	Çiçek
Aslan pençesi	<i>Alchemilla vulgaris</i> L.	Rosaceae	Çiçek
Ceviz	<i>Juglans regia</i> L.	Juglandaceae	Yaprak
Grindelya	<i>Grindelia robusta</i> Nutt.	Asteraceae	Çiçek
Sumak	<i>Rhus coriaria</i> L.	Anacardiaceae	Yaprak
Yabani ebegümece	<i>Malva sylvestris</i> L.	Malvaceae	Çiçek
Yara otu	<i>Prunella vulgaris</i> L.	Lamiaceae	Çiçek

Çalışmada kullanılan *Cmm* ve *Pst* hastalık etmenleri Tokat ili domates üretim alanlarından elde edilmiş olup, çeşitli biyokimyasal testler ve moleküler (Polimeraz Zincir Reaksiyonu-PCR) analiz ile tanılanmıştır. Hastalık etmenleri Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fitopatoloji laboratuvarında Nutrient Broth ve Gliserol içerisinde stok kültür olarak -20 °C'de buzdolabında muhafaza edilmektedir.

Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Çalışmada kullanılan bitki materyalleri öğütülmüş ve 100'er gr tartılarak balon jojeler içerisine konulmuştur. Grindelya ve yara otu bitki materyallerinin üzerine 250 ml etil asetat, diğer bitki materyalleri üzerine ise 250 ml metanol-kloroform (3:1) ilave edilerek orbital çalkalayıcıda 120 rpm'de 48 saat çalkalanmıştır. Filtre kâğıdı ile maddeler süzülerek çözücüler evaporatörde uzaklaştırılmıştır (Gökçe ve ark., 2006). Elde edilen bitki ekstraktları kullanıma kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel Etkisinin Saptanması

Çalışmada King B (King ve ark., 1954) besi yeri kullanılmıştır. Bitkilerden elde edilen ekstraktlar son

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmada grindelya (*Grindelia robusta* Nutt.), sumak (*Rhus coriaria* L.), aslan pençesi (*Alchemilla vulgaris* L.), ceviz (*Juglans regia* L.), yabani ebegümece (*Malva sylvestris* L.), adi sabun otu (*Saponaria officinalis* L.), yara otu (*Prunella vulgaris* L.) ve acı çiçekli margrit (*Tanacetum vulgare* L.) bitkileri kullanılmıştır. Kullanılan bitki materyallerinden grindelya, yara otu, acı çiçekli margrit, aslan pençesi, yabani ebegümece, adi sabun otu Kütahya Belediyesi Hekim Sinan Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Botanik Bahçesinden kurutulmuş halde temin edilmiştir. Tokat ili Taşlıçiftlik yerleşkesinden temin edilen ceviz etüvde (55 °C) kurutulmuş kullanılmıştır. Sumak bitkisi ise Tokat ili Bozatalan Köyünden temin edilmiştir (Tablo 1).

konsantrasyon %0.06, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2 olacak şekilde otoklav edilmeden önce besi yerine eklenmiştir. Hazırlanan ekstrakt katkılı besi yerleri otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilize edilen besi yerleri 90 mm çapındaki petri kaplarına 15 ml olacak şekilde dökülmüştür. King B besi yerinde geliştirilen 48 saatlik *Cmm* ve *Pst* kültürlerinden spektrofotometrede 600 nm'de 0,2 absorbans değerinde (1×10^6 hücre/ml yoğunluğunda) bakteri solüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan bakteri solüsyonlarından 100 µl alınarak ekstrakt katkılı besi yerlerine konulmuş ve steril bir cam baget yardımı ile yama ekim yapılmıştır. Kontrol grubu olarak bitki ekstraktlarının olmadığı King B besi yerlerine patojen bakterilerin ekimi yapılmıştır. Uygulama yapılan petripler 27 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Çalışma 5 tekerrürlü olarak kurulmuş olup, 2 kez tekrarlanmıştır. Inkübasyon süresi sonunda besi yerlerindeki bakteri kolonileri toplanarak spektrofotometrede bakteri yoğunlukları ölçülmüştür (Pandey ve ark., 1982; Belgüzar ve ark., 2016b).

Verilerin Değerlendirilmesi ve Analizi

Uygulama yapılan petriplerdeki bakteri yoğunluğu ile kontrol petriplerindeki yoğunluk kıyaslanarak % engelleme

oranları belirlenmiştir. Engelleme oranı, Deans ve Soboda (1990)'nın belirttiği formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{MGI (\%)} = [(dc - dt) / dc] \times 100$$

MGI = Engelleme (%)

dc= Kontrol petrisindeki bakteri yoğunluğu

dt= Uygulama yapılan petrideki bakteri yoğunluğu

Elde edilen veriler SPSS (SPSS, Inc., 2007) paket program ile varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamaların karşılaştırılmasında çoklu karşılaştırma testi TUKEY kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bazı bitki ekstraktlarının *Cmm* ve *Pst* üzerinde antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, kullanılan bitki ekstraktlarının kontrol uygulaması ile karşılaştırıldığında etmenler üzerinde farklı düzeylerde engelleyici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Kullanılan tüm bitkilerin %1.5 ve %2'lik ekstrakt konsantrasyonlarında patojen bakteriler %100 oranında engellenmiştir (Tablo 2 ve Tablo 3).

Tablo 2. Bazı bitki ekstraktlarının *Cmm*'ye olan antibakteriyel etkisi

Uygulama dozları (%)	Engelleme oranları (%)							
	0	0.06	0.125	0.25	0.5	1	1.5	2
Bitki türleri								
<i>Alchemilla vulgaris</i> L.	0 a*	0 a	0 a	76 b	92 c	100 c	100 c	100 c
<i>Grindelia robusta</i> Nutt.	0 a	0 a	0 a	100 b	100 b	100 b	100 b	100 b
<i>Juglans regia</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	100 b	100 b
<i>Malva sylvestris</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	100 b	100 b	100 b
<i>Prunella vulgaris</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	100 b	100 b	100 b
<i>Rhus coriaria</i> L.	0 a	24 b	33 c	100 d	100 d	100 d	100 d	100 d
<i>Saponaria officinalis</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	100 b	100 b
<i>Tanacetum vulgare</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	12 b	45 c	100 d	100 d

*Aynı satır içinde bulunan aynı harfler arasında istatistiksel olarak fark yoktur (P<0.05 Tukey testi).

Tablo 3. Bazı bitki ekstraktlarının *Pst*'ye olan antibakteriyel etkisi

Uygulama dozları (%)	Engelleme oranları (%)							
	0	0.06	0.125	0.25	0.5	1	1.5	2
Bitki Türleri								
<i>Alchemilla vulgaris</i> L.	0 a*	34 b	63 c	96 d	100 d	100 d	100 d	100 d
<i>Grindelia robusta</i> Nutt.	0 a	0 a	100 b	100 b	100 b	100 b	100 b	100 b
<i>Juglans regia</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	100 b	100 b	100 b
<i>Malva sylvestris</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	100 b	100 b	100 b
<i>Prunella vulgaris</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	100 b	100 b
<i>Rhus coriaria</i> L.	0 a	0 a	100 b	100 b	100 b	100 b	100 b	100 b
<i>Saponaria officinalis</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	100 b
<i>Tanacetum vulgare</i> L.	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	100 b	100 b

*Aynı satır içinde bulunan aynı harfler arasında istatistiksel olarak fark yoktur (P<0.05 Tukey testi).

Tablo 2'de görüldüğü üzere, grindelya, aslan pençesi ve sumak bitkilerinden elde edilen ekstraktların %0,25'lik konsantrasyonundan itibaren üst konsantrasyonlarının hepsinde *Cmm* yüksek oranda engellenmiştir. Ceviz, yabani ebegümece, adi sabun otu, acı çiçekli margrit ve yara otu bitki ekstraktlarının sadece %1, 1.5 ve 2'lik konsantrasyonları patojen üzerinde etkili olmuştur. Diğer konsantrasyonlarda patojen gelişimi kontrol ile aynı yoğunlukta olmuştur.

Cmm'de olduğu gibi, ceviz, yabani ebegümece, adi sabun otu, acı çiçekli margrit ve yara otu bitkilerinden elde edilen ekstraktların %1, 1.5 ve 2'lik konsantrasyonları *Pst* etmeni üzerinde %100 etki

göstermiş olup, bitkilerin diğer konsantrasyonları etmen üzerinde etkili olmamıştır. Aynı şekilde aslan pençesi %0.25'lik konsantrasyonda %96 ve diğer üst konsantrasyonlarda %100 engelleme göstermiştir. Grindelya ve sumak bitki ekstraktlarının %0.125 gibi düşük konsantrasyonlarında bile patojen gelişimi %100 engellenmiştir (Tablo 3).

Farklı çalışmalar incelendiğinde, Baştaş (2015) tarafından yapılan çalışmada elde edilen bulgularla bu çalışma sonuçları paralellik göstermektedir. Baştaş (2015) *in vitro* ve *in vivo* denemeler şeklinde yürüttüğü çalışmada 15 farklı bitki ekstraktını *Pst*'ye karşı denemiş olup, *Rhus coriaria* L.'nin *Pst* üzerinde yüksek bir antibakteriyel

etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Yürütülen *in vitro* çalışmalarda *R. coriaria*'nın yaprak, sap, tohum ve meyvelerinden elde edilen ekstraktların %20'lik konsantrasyonu kontrol ile kıyaslandığında *Pst* üzerinde 22,0 mm oranında bir engelleme zonu oluşturmuştur. Aynı şekilde yürütülen sera denemesinde de *R. coriaria* ekstraktı *Pst* üzerinde %59.73 oranında bir etki göstermiştir. *Pst* üzerinde *Juglans regia* L. ekstraktının antibakteriyel etkisinin de araştırıldığı aynı çalışmada, *J. regia*'nın *Pst* üzerinde yüksek bir etki göstermediği, kontrol (34,00 mm) ile kıyaslandığında 11,00 mm boyutunda bir engelleme zonu oluşturduğu görülmüştür.

Aynı şekilde Rashid ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada elde edilen veriler de bu çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Rashid ve ark. (2016) *R. coriaria* meyvelerinden elde edilen ekstraktların *Pseudomonas syringae* ve *Ralstonia solanacearum*'a antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmiştir. Disk difüzyon metodu ile yapılan çalışmada *R. coriaria*'nın metanol, etanol, aseton ve su ekstraktları kullanılmıştır. *P. syringae* üzerinde *R. coriaria*'nın su ekstraktının 100 µg/ml'lik konsantrasyonunda kontrolle kıyaslandığında daha yüksek bir engelleme bölgesi oluşturduğu ve sumağa karşı oldukça hassas olduğu belirlenmiştir. Çeşitli insan ve bitki patojeni bakteri türleri üzerinde yüksek antibakteriyel etki gösteren *R. coriaria*'nın etkisi, içerisinde yüksek oranda 2.5 furandione, malik asit ve kumarik asit bileşenlerini ihtiva etmesinden kaynaklanmaktadır (Rashid ve ark., 2016). Aynı şekilde *G. robusta* bitkisinin yaprak ve çiçekleri 11 farklı fenolik asit içermekte ve bu asitler sayesinde yüksek antimikrobiyal etki görülmektedir (Nowak ve Rychlinska, 2012). Yapılan bu çalışmada da sumak ve grindelya bitki ekstraktlarının her iki patojen üzerinde yüksek antibakteriyel etki (%100) gösterdiği görülmüştür.

Cmm ve *Pst* gibi tohum kaynaklı patojenlerin yok edilmesinde en etkili yöntemlerden birisi de tohum uygulamalarıdır. Sıcak su gibi fiziksel uygulamalar, antibiyotikler ve çeşitli kimyasallar patojenleri tam olarak yok edememekte ve tohum çimlenmesi üzerinde de olumsuz etki yapabilmektedir (Cantore ve ark., 2009). Bitki ekstraktlarının kullanımı ile yapılan tohum uygulamaları başarılı sonuçlar vermektedir. Yürütülen bu çalışmada özellikle grindelya ve sumak bitki ekstraktları düşük dozlarda bile *Cmm* ve *Pst* üzerinde yüksek etkiye sahip ekstraktlar olarak belirlenmiştir. Baştaş (2015) tarafından yapılan tohum çalışmalarında da sumak ekstraktının domates tohumunda *Pst* etmenini yüksek oranda engellediği ve tohum çimlenmesi üzerinde olumsuz bir etki yapmadığı belirtilmiştir.

Methanol, etanol, kloroform, etil asetat gibi çok sayıda çözücü kullanımı ile gerçekleştirilen farklı ekstraksiyon yöntemleri ekstraktların içeriğinde değişikliklere neden olabilmektedir (Mirik ve Aysan, 2005; Stanojevic ve Solujic, 2009; Umarusman ve ark., 2019). Ayrıca bitki ekstraktların içeriği üzerinde sıcaklık da önemli faktörlerden birisidir. Yapılan antibakteriyel çalışmada bitki ekstraktları besi yeri içerisine otoklav edilmeden önce eklenmiş ve daha sonra besi yerleri 121 °C'de steril edilmiştir. Bu işlemten sonra bazı ekstraktların düşük konsantrasyonlarında antibakteriyel etkinin görülmemesi sebebi sıcaklık olabilir. Benzer şekilde Mirik ve Aysan (2005), otoklav edilen *Allium sativum* L. ekstraktının sıcaklık ve basınçtan kaynaklı olarak biyokimyasal yapısının değiştiğini ve otoklav edilen sarımsak ekstraktının biberlerde sorun olan *Xanthomonas axonodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı antibakteriyel etki göstermediğini bildirmişlerdir. Bundan dolayı ileride yapılacak çalışmalar ile farklı çözücü ve yöntemler deneyerek yüksek antibakteriyel etki göstermeyen bitki ekstraktları ile olumlu sonuçlar alınabilir.

SONUÇ

Son yıllarda organik tarıma artan ilgiden dolayı özellikle insan sağlığına ve doğaya zararlı olan kimyasalların kullanımı da azalmaktadır. Bitki hastalıklarına karşı yeni mücadele tekniklerinin geliştirilmesine, biyolojik preparatların oluşturulmasına veya çeşitli bileşiklerden mücadelede yararlanılmasına yönelik çalışmalar da gün geçtikçe artmaktadır. Bitki bakteri hastalıklarının kontrolünde çoğunlukla antibiyotik ve bakırlı preparatlar kullanılmaktadır. Ancak antibiyotik kullanımı çoğu ülkede olduğu gibi ülkemizde de yasaktır. Hastalıklara karşı kullanılan kimyasallar da direnç problemi, toksik etki, insan ve çevreye olan olumsuz etki gibi bir çok dezavataja sahiptir. Çevre dostu olan, çeşitli bitkilerden elde edilen ekstraktlar tarımda yeni kimyasalların etken maddesinin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Bu bileşikler bitki hastalıklarının mücadelesinde alternatif olarak değerlendirilmektedir.

Grindelya, aslan pençesi, ceviz, yabani ebeğümeci, sumak, adi sabun otu, acı çiçekli margrit ve yara otu bitkilerinden elde edilen ekstraktların domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalık etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve domates bakteriyel benek hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* üzerindeki etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, etmene ve dozlara bağlı olarak değişmekle birlikte özellikle grindelya ve sumak bitki ekstraktlarının etmenler üzerinde yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Laboratuvar denemesi şeklinde yürütülen bu çalışmada

yüksek antibakteriyel etkiye sahip bitki ekstraktlarının tohum uygulamaları, sera ve arazi çalışmaları ile hastalıklar üzerindeki etkisinin, buna ilaveten tohum çimlenmesi ve bitki gelişimine olan etkisinin belirlenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışmada kullanılan bitki materyallerinin temini için Prof. Dr. Yakup BUDAK ve ekibine (Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü) teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Aysan Y., Saygılı H. (2019). Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığı, Domates Bakteriyel Benek Hastalığı, Bitki Bakteri Hastalıkları, Editörler: Saygılı H., Şahin F., Aysan Y., Soylu S. ve Mirik M., Toprak Ofset Matbaacılık, Tekirdağ, 159-166.
- Awwad AM., Albiss BA, Salem NM. (2015). Antibacterial activity of synthesized copper oxide nanoparticles using *Malva sylvestris* leaf extract. SMU Medical Journal, 2 (1): 91-101.
- Basım E, Basım H., Dickstein ER., Jones JB. (2004). Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse tomato in the Western Mediterranean Region of Turkey. Plant Disease, 88:1048.
- Baştaş KK. (2015). Determination of antibacterial efficacies of plant extracts on tomato bacterial speck disease. Journal Turkish Phytopathology, 44 (1-3): 1-10.
- Bhat KA., Viswanath HS., Bhat NA., Wani TA. (2017). Bioactivity of various ethanolic plant extracts against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft rot of potato tubers. Indian Phytopathology, 70 (4): 463-470.
- Belgüzar S., Yanar Y., Aysan Y. (2016a). Tokat ilinde domates bakteriyel solgunluk hastalığının yaygınlığı ve etmenin (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) tanılanması. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33 (2): 34-40.
- Belgüzar S., Yılar M., Yanar Y., Kadioğlu İ., Doğar G. (2016b). *Thymus vulgaris* L. (Kekik) ekstrakt ve uçucu yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerine antibakteriyel etkisi. Turkish Journal of Weed Science, 19 (2): 20-27.
- Cantore P., Shanmugaiah V., Iacobellis S. (2009). Antibacterial activity of essential oil components and their potential use in seed disinfection. Agricultural and Food Chemistry, 57:9454-9461.
- Chang RJ., Ries SM., Pataky JK. (1991). Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato transplants. Phytopathology, 81: 1276-1281.
- Çetinkaya-Yıldız R. (2007). Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.]'nin tanılanması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, (Doktora Tezi), Adana.
- Çetinkaya-Yıldız R., Belgüzar S., Aysan Y. (2019). Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı. Bitki Bakteri Hastalıkları, Editörler: Saygılı H., Şahin F., Aysan Y., Soylu S. ve Mirik M., Toprak Ofset Matbaacılık, Tekirdağ, 37-47.
- Deans SG., Sobada KP. (1990). Antimicrobial properties of marjoram (*Origanum marjorana* L.) volatile oil. Flavour Fragrance Journal, 187-190.
- Edrah SM. (2017). Evaluation of antimicrobial activities of *Alchemilla vulgaris* and *Portulaca oleracea* ethanolic extracts and correlation with their phytochemical profiles. Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry, 15 (2): 96-99.
- Geylani E. (2004). Domateste tohumla taşınan bakterilerin tanılanması üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), 93 sayfa.
- Gokce A., Whalon ME., Cam H., Yanar Y., Demirtas I., Goren N. (2006). Contact and residual toxicities of thirty plant extracts to Colorado potato beetle larvae. Archives Phytopathology and Plant Protection, 40: 441-450.
- Iauk L., Caccamo F., Speciale AM., Tempera G., Ragusa S., Pante G. (1998). Antimicrobial activity of *Rhus coriaria* L. leaf extract. Phytotherapy Research, 12: S152-S153.
- Jayalakshmi B., Raveesha KA., Amruthesh KN. (2011). Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Euphorbia cotinifolia* Linn. leaf extracts against phytopathogenic bacteria. Journal of Pharmacy Research, 4 (10): 3759-3762.
- Karabüyük F., Aysan Y. (2019). Bazı bitki ekstraktlarının *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu domates bakteriyel benek hastalığına antibakteriyel etkisi. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty, 16 (2): 231-243.
- Karaca İ., Saygılı H. (1977). Batı Anadolu'nun bazı illerinde domates ve biberde görülen bakteriyel hastalıkların oranı, etmenleri ve konukçu çeşitlerinin duyarlılığı üzerine araştırmalar. III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 12-15 Ekim Adana, 182-192.
- King EO., Ward MK., Raney DE. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 44: 301-307.

- Kizil F., Uyar F. (2006). Antimicrobial activities of some thyme (*Thymus*, *Satureja*, *Origanum* and *Tymbra*) species against important plant pathogens. Asian Journal of Chemistry, 18: 1455-1461.
- Komal S., Kazmi SAJ., Khan JA., Gilani MM. (2018). Antimicrobial activity of *Prunella vulgaris* extracts against multi-drug resistant *Escherichia coli* from patients of urinary tract infection. Pakistan Journal of Medical Sciences, 34 (3): 616-620.
- Kotan R., Cakir A., Dadasoglu F., Aydın T., Cakmakci R., Ozer H., Kordali S., Mete E., Dikbaş N. (2010). Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. Journal Science Food Agriculture, 90:145-160.
- Kotan R., Cakir A., Ozer H., Kordali S., Cakmakci R., Dadasoglu F., Dikbas N., Aydın T., Kazaz C. (2014). Antibacterial effects of *Origanum onites* against phytopathogenic bacteria: Possible use of the extracts from protection of disease caused by some phytopathogenic bacteria. Scientia Horticultuare, 172, 210-220.
- Larçin O., Körpe Aksoy D., Iseri Darcansoy O., Sahin Fİ. (2015). Phenolic composition and antibacterial activity of crude methanolic *Calendula officinalis* flower extract against plant pathogenic bacteria. IUFS Journal of Biology Research Article IUFS J Biol, 74 (1): 25-33.
- Mirik M., Aysan Y. (2005). Effect of some plant extracts as seed treatment on bacterial spot disease of tomato and pepper. The Journal of Turkish Phytopathology, 34 (1-3): 9-16.
- Nassar-Abbas SM., Halkman K. (2004). Antimicrobial effect of water extract of sumac (*Rhus coriaria* L.) on the growth of some food borne bacteria including pathogens. International journal of food microbiology, 97 (1): 63-69.
- Nowak S., Rychlinska I. (2012). Phenolic acids in the flowers and leaves of *Grindelia robusta* Nutt. and *Grindelia squarrosa* Dun. (Acteraceae). Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research, 69: 693-698.
- Ozdemir Z. (2005). First report of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on processing tomato in Turkey. Plant pathology Journal, 4:143-145.
- Pandey DK., Tripathi NN., Tripathi RO., Dixit SN. (1982). Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of *Phyllissauvolensis*. Pfkkrankh Pfschuz, 89: 334-346.
- Rashid TS., Sijam K., Kadir J., Saud HM., Avla HK., Zulperi D., Hata EM. (2016). Screening for active compounds in *Rhus coriaria* L. crude extract that inhibit the growth of *Pseudomonas syringae* and *Ralstonia solanacearum*. Indian Journal Agricultural Research, 50 (1): 15-21.
- Ricker MD., Riedel RM. (1993). Effect of secondary spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on yield of northern processing tomatoes. Plant Diseases, 77:364-366.
- Sahin F., Uslu H., Kotan R., Donmez MF. (2002). Acterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* on tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey. Plant pathology, 51:399.
- Sharafati-Chaleshtori R., Sharafati-Chaleshtori F., Rafieian M. (2011). Biological characterization of Irania walnut (*Juglans regia*) leaves. Turkish Journal of Biology, 35: 635-639.
- SPSS (2007). SPSS Statistical Software CD-ROM Version 16.0 for Windows ChicagoIL, SPSS, Inc. USA. Stefanovic O., Comic L.,
- Stanojevic D., Solujic S. (2009). Antibacterial activity of *Aegopodium podagraria* L. extracts and interaction between extracts and antibiotics. Turkish Journal of Biology, 33 (2): 145-150.
- Tuna GS., Şafak E., Kara B., Mülayim G., Sert C., Ulu N., Eken KG., Sertel SC. (2019). Use of various plant extracts to provide hygiene in mattress and antibacterial film production. International Advanced Researches and Engineering Journal, 03 (01): 026-031.
- Umarusman MF., Aysan Y., Özgüven M. (2019). Farklı bitki ekstraktlarının bezelye bakteriyel yaprak yanıklığına (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) Antibakteriyel etkisinin belirlenmesi. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty, 16 (3): 297-314

©Türkiye Herboloji Derneği, 2019

Geliş Tarihi/ Received: Kasım/November, 2019
Kabul Tarihi/ Accepted: Aralık/December, 2019

To Cite : Belgüzar S., Yanar Y., Çetin M. and Özyiğit Ç. (2019). Determination of Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. (In Turkish with English Abstract). Turk J Weed Sci, 22(2): 203-209.

Alıntı için : Belgüzar S., Yanar Y., Çetin M. and Özyiğit Ç. (2019). Bazı Bitki Ekstraktlarının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Üzerine Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi. Turk J Weed Sci, 22(2):203-209.