

Küçük Tohumlu Yonca Küskütü (*Cuscuta approximata* Bab.)'nün Antifungal Etkilerinin Belirlenmesi

Small Seeds of Alfalfa Dodder (*Cuscuta approximata* Bab.) the Determination of Antifungal Activity

Ömer YILMAZ¹ and Reyyan YERGIN ÖZKAN^{1*}

¹Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Van, Turkey
*Sorumlu yazar / Corresponding Author: reyyanergin@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received Date: 20 December 2016
Kabul Tarihi / Accepted Date: 18 March 2017

Öz: Bu çalışmada tarımsal üretimde önemli verim kaybına sebep olan küçük tohumlu yonca küskütü (*Cuscuta approximata* Bab.)'nün fitokimyasal etkisinin araştırılarak, bitki hastalıklarının kontrolü için bitkisel kaynaklı formülasyonların geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada *Cuscuta approximata*'nın farklı konsantrasyonlardaki (%10, 20, 30) metanol ekstraktı, fungal bitki patojenlerinden olan *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* ve *Rhizoctonia solani*'ye karşı kullanılmıştır. Bütün fungus türleri için en iyi sonuç %30'luk konsantrasyondan elde edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre üç farklı fungus türünde ekstrakt yoğunluğu arttıkça fungusun misel gelişimini olumsuz yönde etkilediği, en iyi misel gelişmesinin kontrol petrilerinde olduğu görülmüştür. Deneme sonuçları, yonca küskütünün metanol ekstraktının bazı bitki patojeni funguslara karşı kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler — *Cuscuta approximata*, antifungal etki, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*.

Abstract: In this study, the phytochemicals effects of smoothseed alfalfa dodder (*Cuscuta approximata* Bab.) which causes significant yield loss in agricultural production were determined to develop plant-derived formulations for controlling plant diseases. For this purpose, the methanol extract of *Cuscuta approximata* was used in different concentrations (10, 20, 30 %) against the important fungal plant pathogens as follows: *Alternaria alternate*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. The best result was obtained at 30% concentration for all fungus species. Findings show that, increasing concentration of extract has negative impact on the development of micelle in three different fungal species while the best micelle development was observed in control petries. In conclusion the phytochemicals effects of smoothseed alfalfa dodder could be used against some of the plant pathogenic fungus.

Keywords — *Cuscuta approximata*, antifungal effect, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*.

GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusunun beslenmesi, tarımsal üretimin sürdürülebilir bir şekilde artarak devam etmesine, bu da çeşit seçimi, gübreleme, sulama gibi kültürel işlemler yanında elde edilecek ürünün hastalık, zararlı ve yabancı otlardan korunmasına bağlıdır. Günümüzde tarım sistemlerinde

bu etmenlerin zararlarından korunmak için kimyasal savaş (pestisit kullanımı) vazgeçilmez bir hal almıştır. Ancak, pestisit kullanımındaki aşırı ve bilinçsiz artış beraberinde bazı çevre ve sağlık sorunlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu da beraberinde tarımsal ekosistemlerde yabancı otlar dâhil olmak üzere bitki koruma etmenlerinin kontrolü için insan ve çevre sağlığını tehdit etmeyen alternatif doğal bileşikler için arayışları hızlandırmıştır. Günümüzde bitki ekstraktlarının mikroorganizmalara karşı koruyucu olarak antimikrobiyal özellikleri hala dikkati çekmekte ve de araştırılmaktadır. Bitkiler ve bitkilerden elde edilen ekstraktların toksik özelliklerinin ve yan etkilerinin sentetik maddelere nazaran daha az olması günümüzde insanları doğal maddelere karşı yönlendirmiş olup her geçen gün bu ilgi artmaya devam etmektedir (Rice, 1984; Dudai ve ark., 1999; Duke ve ark., 2000; Kordali ve ark., 2005; Özcan ve ark., 2013).

Küskütler tüm dünyaya yayılmış olup 200 civarında türü mevcuttur (Kadioğlu, 1992). Yoncada küskütün birçok türünün parazitlik yaptığı bilinmektedir. Ülkemizde 16 türü bulunmakla beraber yonca üzerinde en çok rastlanan *Cuscuta approximata* Bab. (küçük tohumlu yonca küskütü) türüdür (Nemli, 1986). Van ve çevresinde yonca yetiştiriciliğinin yaygın olması küsküt ve özellikle *C. approximata* sorununu da beraberinde getirmiştir (Yıldırım, 2011). Bu türün tohumları yoncanın ilk biçiminden önce olgunlaşır ve kapsül içinde 1–4 tohum bulundurur, renkleri sarıdan yeşilimsi-kahverengiye kadar değişir. Ortalama 1 mm boyunda 0.7 mm eninde olan tohumların bir tarafı belirgin olarak köşelidir. (Kadioğlu, 1992). Bir küsküt bitkisi genellikle 3000 den fazla tohum verir ve tohumlar toprakta 4–5 yıl çimlenmeden kalabilir. Uygun ortamı bulan tohumlar çimlenir, önce basit bir kök salar ve toprak üzerinde ince bir filiz oluşturur; bu filiz herhangi bir bitkiye temas ettiğinde bitki ile kaynaşır, emeçler meydana getirerek bitkiyi emmeye başlar, daha sonra kök kaybolur ve küsküt gelişmesine devam eder. Sarıldığı bitkinin bünyesine Diastaz enzimi salgılayarak oradaki nişastanın parçalanmasına sebep olarak tutunduğu kültür bitkisini zayıf ve güçsüz kalmasına, verim ve kalitenin önemli ölçüde düşmesine neden olur (Uygun, 1991; Kadioğlu, 1992).

Familya üyelerinin sadece zararı değil tıbbi açıdan ekonomik önemi de bulunmaktadır. *Cuscuta epithimum* ve *Cuscuta chinensis* türlerinin tohum ve gövde ekstraktlarının tıbbi özellikleri bulunduğundan dolayı ekonomik olarak da önemlidir. Genel olarak cinsel hastalıklar, böbrek rahatsızlıkları, eklem ağrıları, kuru gözlülük, görme bozuklukları, işitme kaybı, kulak çınlaması, bunların yanı sıra özellikle kemoterapi ve radyoterapi tedavisinde destek amaçlı kullanılmakta ve ticari olarak da satılmaktadır. Bunun yanı sıra *Cuscuta reflexa*'dan elde edilen ekstraktların güçlü antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Ayrıca bu türünde anti-kanser, antidiyabetik, antiviral ve anti-inflamatuar olarak tedavi edici özellikleri de bilinmektedir. Küsküt türlerinde konukçu bitki ve lokasyona bakmazsın stabil fitokimyasalların var olduğu saptanmıştır (Loffler ve ark., 1997). Bu çalışma ile küçük tohumlu yonca küskütünün metanol ekstraktlarının

farklı konsantrasyonlarının önemli bazı fungal bitki patojenlerinin misel gelişmesi üzerine etkisi belirlenerek daha sonraki çalışmalara temel oluşturması ve veri sağlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada küçük tohumlu yonca küskütü (*Cuscuta approximata* Bab.)'nün gövde parçacıkları kullanılmıştır.

Test patojenleri

Fungal patojen olarak, YYÜ Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji kültür stoğunda mevcut *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporium* ve *Rhizoctonia solani* izolatları kullanılmıştır.

Yöntem

Yonca ekiliş alanlarından toplanan küçük tohumlu yonca küskütüne ait örnekler gölgede kurutulmuştur. Kurutulan materyaller öğütüldükten sonra kullanılmak üzere laboratuvar koşullarında cam kavanozlar içinde saklanmıştır. Bu örneklerden hazırlanan %10, 20, 30 yoğunluktaki metanol ekstraktları, 90 mm çaplı petri kaplarına (20 ml PDA içeren) 1'er ml olmak üzere dökülmüştür. 24 saat sonra her petrinin ortasına bir adet olmak üzere 10 günlük patojen kültürlerinden 5mm'lik mantar delici ile alınan diskler kondu. Kontrol olarak bitki ekstraktı katılmamış besi yeri kullanılmıştır. Değerlendirmelere 24 saat sonra başlandı ve 10 gün boyunca her gün koloni çapları ölçülerek ortamlardaki fungal gelişme izlendi Deneme sonunda kontrol ve uygulamaların zon çapları ölçülerek inhibisyonları koloni çapı olarak değerlendirilmiştir (Parvez ve ark., 2003; Mukhtar ve ark., 2012).

Miselyal büyümenin inhibisyon oranının antifungal aktivitesi şu formül ile ölçülmüştür (Sharma ve Chandel 2003).

Yüzde inhibisyon: (I): $(C-T/C) \times 100$

C: (kontrol petrideki miselyal büyüme çapı (cm))

T: (uygulama yapılan petrideki miselyal büyüme çapı (cm))

Verilerin Analizi

Denemelerde dozlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde DUNCAN çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

BULGULAR

In vitro koşullarda küçük tohumlu yonca küskütünün üç farklı konsantrasyonda *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporium* ve *Rhizoctonia solani* funguslarının misel gelişimine etkileri Tablo 1'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre üç fungus türünde de koloni gelişimi kontrole göre

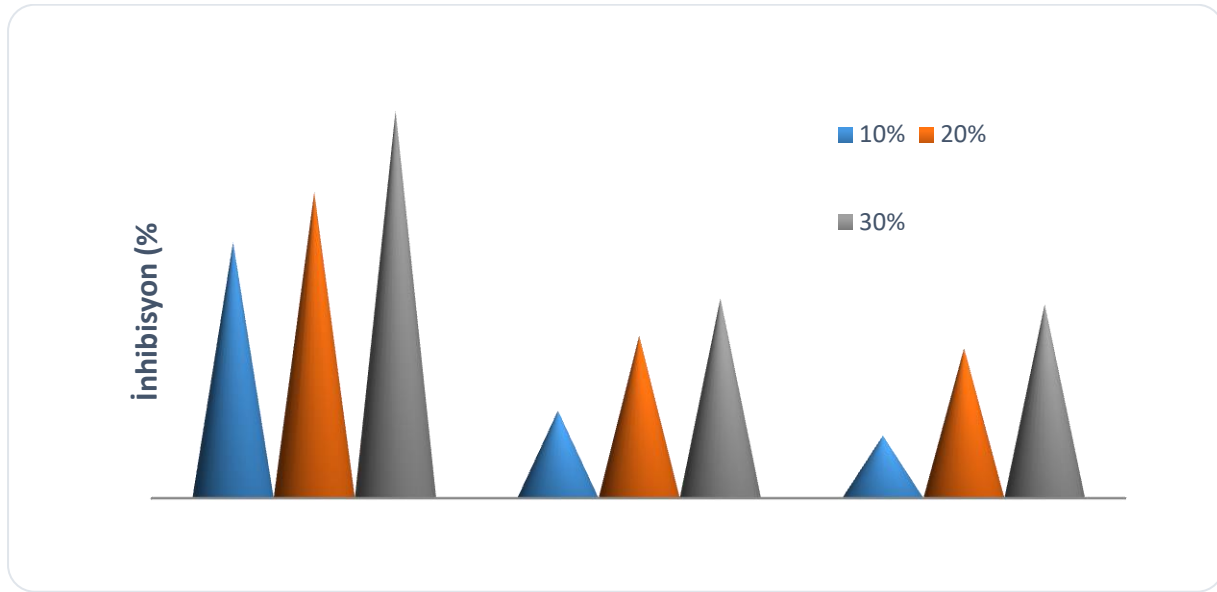
istatistiki olarak engellenmiştir. Sadece *A. alternata* türünde %10'luk dozun kontrol uygulamasıyla arasındaki fark önemsiz çıkmıştır. Ekstrakt uygulamasından en az etkilenen tür *R. solani* olarak belirlenmiştir. Bunun sebebi türün sklerot oluşturmasından kaynaklandığı şeklinde açıklanabilir (Şekil 1).

Tablo 1. *C. approximata*'nın farklı dozlardaki ekstraktlarının *A. alternata*, *F. oxysporium* ve *R. solani*'nin misel gelişimine etkisi

Doz (%)	<i>Alternaria alternata</i>		<i>Fusarium oxysporium</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>	
	Koloni çapı (cm) ^{1,2} ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$) ²	İnhibisyon (%)	Koloni çapı (cm) ^{1,2} ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$) ²	İnhibisyon (%)	Koloni çapı (cm) ^{1,2} ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$) ²	İnhibisyon (%)
10	1.7±0.06 a	10	2.6±0.08 b	14	3.3±0.05 b	41
20	1.2±0.04b	24	2.3± 0.05c	26	2.5±0.09 c	49
30	1.1±0.1b	31	1.9±0.08 d	32	2.0± 0.11d	62
Kontrol	2.0±0.1a	0	2.9±0.09 a	0	5.3±0.07 a	0

¹ a, b, c, d: Aynı sütunda farklı harflere sahip ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

² Mean ± Standart Error of Mean (Ortalama ± Standart Hata)



Şekil 1: *C. approximata*'nın antifungal aktivitesinin % inhibisyonu

Bu sonuçlara göre en yüksek konsantrasyon olan %30'da en düşük koloni gelişimi gözlenmiş olup, üç fungus türünde de ekstrakt yoğunluğu arttıkça üç fungus türünde de koloni gelişiminin azaldığı gözlenmiştir.

TARTIŞMA

Küsküt bitkisinin antifungal ve anti mikrobiyal etkisi ile ilgili çalışmalar çoğunlukla *Cuscuta reflexa* türü ile yapılmıştır. Türler arasında farklılık olmasına rağmen çalışma ile elde edilen sonuçlar daha önce yapılmış olan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. *C. reflexa* türünde yapılan bir çalışmada bitkinin üç farklı konsantrasyonunda (%10, 20, 30) su ekstraktları hazırlanmış, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* ve *Macrophomina phaseolina* karşı etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada yüksek konsantrasyonun etkili olduğu belirlenmiş, en yüksek etki *F. solani*, *F. oxysporum* ve *M. phaseolina*'da görülürken en az etki ise *A. niger*'de saptanmıştır (Mukhtar ve ark., 2012). Aynı türde yapılan bir başka antimikrobiyal çalışmada ise gram negatif ve bazı fungus türlerinin gram pozitif bakterilere kıyasla daha fazla etkilendiği belirlenmiştir (Inamdar ve ark., 2011). Manore ver ark., (2012), tarafından yürütülen çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş olup *C. reflexa*'nın etil asetat ekstraktları *Mycobacterium tuberculosis* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı etkili bulunmuştur. Rafiq ve ark. (1984) tarafından yapılan çalışmada ise *C. reflexa*'nın taze materyalinden elde edilen su ekstraktının *Helminthosporium turcicum* gelişimini önemli ölçüde inhibe ettiği tespit edilmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak yürütülen çalışma ile tarımsal üretimde önemli verim kaybına sebep olan küçük tohumlu yonca küskütü (*Cuscuta approximata* Bab.)'nün gövde ekstraktlarının *invitro* şartlarında, önemli fungal bitki patojenlerinden olan *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* ve *Rhizoctonia solani*'ye karşı antifungal etkisi olduğunu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçların pratiğe aktarılabilmesi için iklim odası ve arazi denemeleriyle araştırmaların devam ettirilmesi ve etken madde tespiti gibi daha ileri araştırmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Dudai, N., Pojakof-Mayber, A., Mayer, A. M., Putievsky, E., Ner, H.R., (1999). Essential oils as allelochemicals their potential use as bioherbicides. *Journal of Chemical Ecology* 25 (5):1079-1089
- Duke, S. O., Dayan, F. E., Romagni, J.G., Rimando, A.M., (2000). Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. *Weed Research* 40, 99-111.
- Inamdar, F. B., Oswal, R. J., Chorge, T. V., Kapil, G., (2011). *Invitro* antimicrobial activity of *Cuscuta reflexa* ROXB. *International Research Journal of Pharmacy* 2 (4): 214-216
- Kadioğlu, İ., (1992). Küsküt (*Cuscuta* spp.) ve mücadelesi. ÇÜ, Ziraat Fak., Bitki Koruma Bölümü Herboloji Haberleri 3 (5): 1-11.
- Kordali Ş., İ., Çoruh, H. Zengin, (2005). Bazı yabancı otların antifungal aktiviteleri. *Türkiye Herboloji Der.*, 8 (1): 1-6.
- Löffler, C., Czygan, F. C., Proksch, P., (1997). Phenolic constituents as taxonomic markers in the genus *Cuscuta* (Cuscutaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 25 (4), 297-303.
- Manore, D., Pillai, S., Joshi, A., Punashiya, R., (2012). Preliminary phytochemical screening and antibacterial activity of ethyl acetate extract of *Cuscuta reflexa* ROXB. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 5: (1), 79-82.
- Mukhtar, I., Atiq, M., Hanan, A., Iqbal, Z., (2012). Antifungal activity of *Cuscuta reflexa* ROXB. *Pak. J. Phytopathol.*, Vol. 24(2):163-166.

- Nemli, Y., (1986). Anadolu'da kültür alanlarında bulunan küsküt türleri (*Cuscuta* spp.yayıllıkları ve konukçuları üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi,23 (3): 11-21.
- Özcan, S., Yılar, M., Belgüzar, S., Önen, H., (2013). *Teucrium polium* L. uçucu yağının herbisidal ve antifungal etkileri ile kimyasal içeriğinin belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi 5: 94-103.
- Parvez S.S., Parvez M.M., Nishihara E., Gemma H., Fujii Y. (2003). *Tamarindus indica* L. leaf function as a source of allelopathic substance. *Plant Growth Regul.* 40, 107–115.
- Rafiq, M., Nasir, M., A., Bhatt, M. A. R., (1984). Anti fungal properties of certain common wild plants against different fungi. *Pakistan Journal Agricultural Research* 5 (4).
- Rice,E.L., (1984). Allelopathy. Second Editions. Acedemy pres Inc. Ltd., London.
- Sharma SN., Chandel SS. (2003). Screening of biocontrol agents in vitro against *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* and their mass multiplication on different organic substrates. *Plant Disease Res.* 18(2):35–38.
- Uygur, F.N., (1991). Yoncada *Cuscuta* spp. (Küsküt, Verem otu) kontrolü. *Herboloji Haberleri, ÇÜ, Ziraat Fak., Bitki Koruma Bölümü.* 2 (3): 1–5.