

## PROPOLİS EKSTRAKTININ BİTKİ PATOJENİ FUNGUSLARA KARŞI ANTİFUNGAL AKTİVİTESİ

### Antifungal Activity of Propolis Extract Against Certain Phytopathogenic Fungi

<sup>1</sup>Şener KURT, <sup>2</sup>Nuray ŞAHINLER

<sup>1</sup>M. K. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Tayfur Ata SÖKMEN kampüsü, Antakya/Hatay, Turkey, [kurt@mku.edu.tr](mailto:kurt@mku.edu.tr)

<sup>2</sup>M. K. Ü. Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Tayfur Ata SÖKMEN kampüsü, Antakya/Hatay, Turkey, [nsahinler@mku.edu.tr](mailto:nsahinler@mku.edu.tr)

**Özet:** Propolis etanol ekstraktının (PEE) 7 farklı konsantrasyonunun (0.0, 0.03, 0.06, 0.25, 0.5, ve 1 ppm) *Verticillium dahliae* Kleb., *Fulvia fulva* (Cooke) Cif., ve *Penicillium digitatum* Sacc. 'a karşı antifungal etkileri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Propolis, farklı konsantrasyonlarda PDA besi ortamına karıştırılmış veya tekli olarak kullanılmıştır. Deneme sonucunda, PEE'nin artan konsantrasyonlarında, denemeye alınan fungusların miselyal gelişiminde azalma ortaya çıktığı belirlenmiştir. Propolisin *V. dahliae* üzerine etkinliği 1.0 ve 0.5 ppm konsantrasyonlarında sırasıyla % 84.8 ve % 83.3 olurken 0.06 ve 0.03 ppm'de % 2.1 ve % 33.9 olarak saptanmıştır. Propolis ekstraktı, en yüksek konsantrasyonda *Fulvia fulva*'ya karşı % 80.1 oranında etkili bulunmuştur. Propolisin en düşük konsantrasyonu (0.03 ppm), % 19.3 oranında etkisiz olmuştur. Propolisin etanol ekstraktının *P. digitatum* üzerine etkisi, 1.0 ppm ve 0.5 ppm konsantrasyonlarında sırasıyla % 86.2 ve % 79.3 olarak saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Propolis, *Verticillium dahliae*, *Fulvia fulva*, *Penicillium digitatum*.

**Abstract:** The antifungal effects of 7 concentrations (0.0, 0.03, 0.06, 0.125, 0.25, 0.5, and 1 ppm) of propolis ethanol extract (PEE) against *Verticillium dahliae* Kleb., *Fulvia fulva* (Cooke) Cif., and *Penicillium digitatum* Sacc. was investigated *in vitro*. Propolis was mixed alone or in combination with potato dextrose agar (PDA) medium at various concentrations. The results indicated that the mycelial growth of the tested fungi decreased with each increase in PEE concentrations. The effectiveness of the propolis on *V. dahliae* was 84.8 % and 83.3 % at 1.0 ppm and 0.5 ppm concentrations, while it was 52.1 % and 33.9 % at 0.06 ppm and 0.03 ppm, respectively. Propolis extract had an effect 80.1 % at the highest concentration against *Fulvia fulva*. The lowest concentration of propolis (0.03 ppm) was ineffective with 19.3 %. The effect of ethanol extract of propolis on *Penicillium digitatum* was 86.2 % and 79.3 % at 1.0 ppm and 0.5 ppm concentrations, respectively. The lowest concentration of propolis (0.03 ppm) had an effect 29.4 %.

**Key Words:** Propolis, *Verticillium dahliae*, *Fulvia fulva*, *Penicillium digitatum*.

### GİRİŞ

Propolis, bal arılarının taze bitkilerden toplayıp mum ile karıştırdıkları ve kovanların onarımında ve çevre koşullarına adaptasyonda kullandıkları reçinemsî, koyu renkli bir materyaldir. Bu madde, antibakteriyel, antifungal ve antiviral özelliklerinin yanı sıra diğer birçok yararlı biyolojik aktiviteye sahiptir (Bankova ve ark., 2000). Son yıllarda, propolisi içeren çalışmalar konusunda yoğun bir ilgi bulunmaktadır (Lindenfelser, 1967, Özcan, 99; Hassanein, 1997; Abdulsalam, 1995). Toprak kökenli patojen bir fungus olan *Verticillium dahliae*'nin neden olduğu pamuk *Verticillium* solgunluğu, Türkiye'de ve dünyada pamuk üretilen alanlarda görülen en önemli bitki hastalıklarından biridir (Esentepe ve ark., 1986; Biçici ve Kurt, 1998). Enfekte bitkiler, genel bir sararma, yaprakların aşağı doğru kıvrılması ve yaprakların dökülmesi gibi belirtiler gösterirken, bitkilerde bodurlaşmaya ve ölüme bile neden olabilir. Gövdeden enine kesit alınıp incelendiğinde odun dokusunda açık sarı-kahverengi bir

renk değişiminin olduğu gözlenir (Bell, 1992). Bu hastalık, dirençli türler kullanılarak, rotasyon ve entegre mücadele ile başarılı bir şekilde kontrol altına alınabilmektedir (Canhoş ve ark., 1997; Kurt ve Biçici, 1998). Serada yetiştirilen domateslerde görülen yaprak küfü hastalığının etmeni olan *Fulvia fulva* (Cooke) Cif., günümüzde tüm dünyada yaygın ciddi bir sorundur ve yaprak üst yüzeyinde soluk yeşil veya sarımsı lekelerle neden olur (Jones ve Jones, 1993). Turunçgillerde hasat sonrası görülen yeşil küf çürüklüğü etmeni *Penicillium digitatum* Sacc., turunçgil yetiştirilen tüm alanlarda ortaya çıkar ve verimde % 36.3 oranında bir azalmaya neden olur (Toker ve ark., 1995).

Bu çalışmanın amacı, *in vitro* koşullarda farklı konsantrasyonlardaki propolisin *V. dahliae*, *Fulvia fulva* ve *P. digitatum*'un miselyal gelişimi üzerine antifungal etkisini belirlemektir.

## MATERİYAL VE METOD

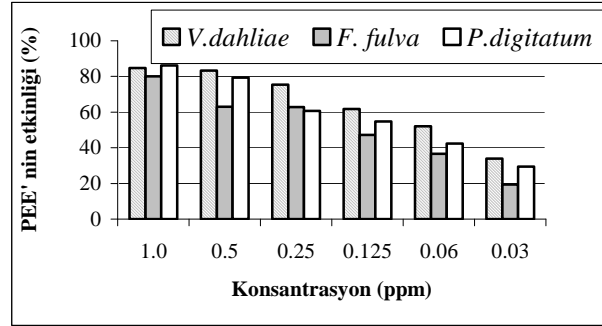
Propolis ekstratının (% 8) hazırlanması için öncelikle kolonilerin giriş deliklerinden alınan propolis kitlesi derin dondurucuda bekletildikten sonra öğütülmüştür. Öğütülmüş propolisten 80 g alınarak 920 g % 70'lik etanol ile karıştırılmıştır. Bu karışım karanlık bir odada bir hafta bekletilerek bu süre boyunca günde 3 defa karıştırılmıştır. Bu karışım bu sürenin sonunda filtre kağıdı ile süzülerek elde edilen karışım kullanılmaya kadar 4 °C de muhafaza edilmiştir (Krell1, 1996).

Fungal izolasyonlar için, hastalıklı bitki dokuları aseptik olarak küçük parçalara ayrıldıktan sonra % 0.525'lik NaOCl solüsyonunda 2 dakika yüzeyden dezenfekte edilmiş, steril distile suda 2 kez çalkalanmıştır. Saf kültür için dezenfekte edilen bitki dokuları, bakteriyel gelişimi önlemek için 100 µgml<sup>-1</sup> oranında streptomisin sülfat karıştırılmış patates dekstroz agar (PDA), Czapek-dox agar ve etanol agar besi ortamlarına yerleştirilmiş ve sonra karanlıkta 23°C'de 7-10 gün inkübe edilmiştir. İnkubasyondan sonra, her bir izolatan aktif olarak gelişen kolonilerinin hişsel gelişimleri, aynı konsantrasyonda antibiyotik karıştırılmış PDA besi ortamlarına aktarılmıştır. Hastalıklı bitki örnekleri, Hatay Amik ovasının pamuk ekim alanlarından, domates yetiştirilen seralardan ve turuncgil paketleme evlerinden sağlanmıştır. Seçilmiş olan bitki patojeni funguslara karşı propolis ekstratının etkinliğini belirlemek için PDA içeren petri kapları kullanılmıştır. Propolisin her bir fungus üzerine etkileri, *in vitro* koşullarda farklı konsantrasyonlarda (0.003, 0.06, 0.125, 0.25, 0.5 ve 1.0 ppm) propolis içeren PDA ortamlarındaki miselyal gelişme ölçülerek belirlenmiştir. Ortam petri kaplarına dökülmeden önce propolis, soğutulmuş, aşırı sıcak olmayan PDA besi ortamına karıştırılmıştır. Fungusların aktif olarak gelişen kolonilerinin kenarından alınan hişsel diskler, ters çevrilerek petri kaplarının merkezine yerleştirilmiştir. Petri kapları daha sonra karanlıkta 25°C'de 7-10 gün inkübe edilmiştir. Propolisin funguslara etkinliği, Abbott formülü ile hesaplanmıştır.

## SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, propolisin bitki patojeni funguslara karşı etkinliği, *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Propolisin *V. dahliae* üzerine etkinliği 0.1 ppm ve 0.5 ppm konsantrasyonlarında, sırasıyla % 84.8 ve % 83.3 olarak saptanırken 0.06 ve 0.03 ppm konsantrasyonlarında % 52.1 ve % 33.9 olarak belirlenmiştir (Şekil 1). Benzer bir çalışmada, propolis etanol ekstratının (PEE) 5 konsantrasyonunun toprak kökenli 10 fungusu karşı biyoetkinliği, denemeye alınan fungusların miselyal gelişim çapları, PEE'nin artan her bir konsantrasyonuna bağlı olarak azalma göstermiştir (Abdulsalam, 1995). Buna ek olarak, propolis alkol ekstratının, *in vitro*

koşullarda toprak kökenli patojen olan *Sclerotium cepivorum*'un oluşturduğu sklerot sayısını asgari düzeye indirdiği bildirilmiştir (Fahmy ve Omar, 1989).



Şekil 1. Farklı konsantrasyonlardaki PEE'nin bitki patojeni funguslara karşı etkileri

PEE'nin 0.06 ppm ve 0.03 ppm konsantrasyonları *F. fulva*'ya karşı %36.6 ve %19.3 düzeylerinde düşük etkiye sahip olmuştur. Aynı patojene karşı en yüksek konsantrasyonlarda (1 ppm) %80.1'lik bir etki saptanmıştır. *P. digitatum*'a karşı PEE'nin etkisi incelendiğinde 1.0 ve 0.5 ppm konsantrasyonlarında sırasıyla %86.2 ve %79.3 düzeyinde bir etki görülmüştür. Propolisin en düşük konsantrasyonu (0.03 ppm), %29.4 gibi düşük bir etkiye sahip olmuştur. Bu sonuçlar, propolisin antifungal özellikleri konusunda çalışan Ozcan (1999)'ın bildirdiği veriler ile uyum içerisindedir. Bununla birlikte Lindenfelser (1967), propolisin, üzerinde çalışan 39 fungus içerisinde 20 fungusu inhibe ettiği bildirilmiştir.

Sonuç olarak, propolisin kimyasal bileşiminde bulunan bazı bileşiklerin (fenolikler; flavonoid aglycone'lar, aromatik asitler ve esterleri) antifungal özellikleri nedeni ile (Bankova ve ark., 2000), PEE, seçilen bitki patojeni funguslara karşı engelleyici bir etki göstermiştir. Elde edilen bulgular ışığında bu çalışmalar, gelecekte hem sera hem de tarla koşullarında bitki hastalıklarının mücadelesi konusunda odaklanmalıdır.

## KAYNAKLAR

- Abdulsalam, K. S., 1995. Bioactivity of propolis extract against certain soilborne fungi. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 40: 3, 305-313.
- Bankova, V. S., S. L de Castro, M. C. Marcucci, 2000. Propolis: recent advantages in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31, 3-15.
- Bell, A. A., 1992. Verticillium wilt. *In: Compendium of Cotton Diseases*. G. M. Watkins, ed., APS, St. Paul, MN, Pp. 41-44.
- Bicici, M., Kurt, S., 1998. Etiology, incidence and prevalence of cotton wilt disease and strains of the wilt pathogen

## **ARİSTIRMA-Api-cultural Research**

- in Cukurova. *Proceedings of World Cotton Research Conference-2, "New Frontiers in Cotton Research"*, (Volume II), Athens, Greece, pp. 914-918.
- Canihos, Y., Kurt, S., Bicici, M., Erkalic, A., 1997. Induction of phytoalexin gossypol production of cotton plants treated with some herbicides and its antifungal activity. *4<sup>th</sup>. Balkan Conference on Operational Research*, Volume of Abstracts, 20- 23 October, Thessaloniki, Greece.
- Esentepe, M., Karcılıoglu, A., Sezgin, E., Onan, E., 1986. Investigations on relation between the severity of cotton wilt disease (*Verticillium dahliae* Kleb. ) and yield loss in Aegean region. *J. Turkish Phytopathology* 15 (1): 27-36.
- Fahmy, F. G., and Omar, M. O. M., 1989. Potential use of propolis to control white rot disease of onion. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 20 (1): 265-275.
- Hassanein, F. M., 1997. Evaluation of antimicrobial activity of some bee products against certain phytopathogenic bacteria and fungi. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 42; 3, 239-250.

## **Araştırma Makalesi-Research Article**

- Jones, J. B., and Jones, J. P., 1993. Leaf mold. In: *Compendium of Tomato Diseases*, eds., J. B. Jones, J. P. Jones, R. A. Stall, T. A. Zitter. APS Press, pp. 18.
- Krell, R., 1996. Value-added products from beekeeping. *FAO Agricultural Services Bulletin*, No. 124. Rome, Italy.
- Kurt, S., Bicici, M., 1998. Development of *Verticillium dahliae* in cotton plants grown in Cukurova and reaction of the some cultivars to the wilt. *World Cotton Research Conference-2 (New Frontiers in Cotton Research)*, Vol II, Athens, Greece, p. 919-922 .
- Lindenfelser, L. A., 1967. Antimicrobial activity of propolis. *Amer. Bee J.*, 107, 90-92, 130-131.
- Özcan, M. 1999. Antifungal properties of propolis. *Grasas y Aceites*, 50, 395-398.
- Toker, S., Kurt, S., Canihos, Y., Erkalic, A., Bicici, M. 1995. Limonlarda hasat sonrası mavi ve yeşil küf çürük- lüklerine karşı Imazalil ile daldırma uygulamalarının etkinliği (Effectiveness of Imazalil-dipping treatment against postharvest blue and green mould rots of lemon). *2nd National Horticultural Congress of Turkey (Volume I)*, p. 576-580.