



Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

Hypericum spp. Bitki Ekstraktlarının *Rhizoctonia Solani* Üzerine Antifungal Etkisi

 Cennet YAMAN ^{a,*},  Sevim ATMACA ^b

^a Tarla Bitkileri Bölümü, Ziraat Fakültesi, Yozgat Bozok Üniversitesi, Yozgat, TÜRKİYE

^b Bitki Koruma Bölümü, Ziraat Fakültesi, Yozgat Bozok Üniversitesi, Yozgat, TÜRKİYE

* Sorumlu yazarın e-posta adresi: cennet.yaman@bozok.edu.tr

DOI: 10.29130/dubited.768656

ÖZET

Bu çalışmada, önemli tıbbi ve aromatik bitki olan *Hypericum* türlerinin *Rhizoctonia solani* üzerine antifungal aktivitesi incelenmiştir. *Hypericum* türlerinin (*H. heterophyllum*, *H. scabrum* ve *H. perforatum*) çiçek, gövde ve yapraklarının bazı çözücülerdeki (metanol, etanol, aseton ve kloroform) ekstraktlarının %2'lik konsantrasyonu *Rhizoctonia solani*'ye karşı test edilmiştir. Ekstraktların antifungal aktiviteleri bu patojen ile mücadelede kullanılan ve sentetik fungusit olan Captan ile kıyaslanmıştır. Sonuçlara göre; *R. solani* patojeni üzerine en etkili ekstraktların her üç türünde kloroformda çözünen gövde ekstraktlarında gözlenmiş, tüm örnekler içerisinde ise en yüksek engelleme oranı %68.5 ve %68.1 ile *H. scabrum* türlerinin sırasıyla kloroformlu ve asetonlu gövde ekstraktlarında belirlenmiştir. Ayrıca, etkili bulunan bu ekstraktların *in vitro* şartlarda *R. solani* patojeni ile bulaştırılan patates yumrusunda etkisi araştırılmış, kontrol ve Captan fungusiti uygulamalarında misel oluşumu gözlenirken, ekstrakt uygulanan ortamlarda saptanmamıştır. Sonuç olarak, *Hypericum* bitkisinin gövde kısımlarında *R. solani* patojenine karşı etkili olan bileşik veya bileşiklerin olduğu, aseton ve kloroform tarafından daha etkili formda çözüldüğü tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antifungal, *Rhizoctonia solani*, *H. heterophyllum*, *H. scabrum*, *H. perforatum*

Effect of Solvent and Plant Part on *Rhizoctonia solani* Fungus of *Hypericum* Extracts

ABSTRACT

In this study, plant extracts (2% concentration) from different parts (flower, leaf and stem) of *Hypericum* species (*H. heterophyllum*, *H. scabrum* ve *H. perforatum*), obtained with various organic solvents (methanol, ethanol, acetone and chloroform) were tested against the fungus *Rhizoctonia solani*. The antifungal activities of the extracts were compared with Captan, a synthetic fungicide used to combat this pathogen. According to the results, the most effective extracts on the *R. solani* pathogen were found stem parts that dissolve in chloroform for all three *Hypericum* species. Of all the extracts, the stem extracts with chloroform and acetone of *H. scabrum* species had the highest inhibition value with 68.5% and 68.1%, respectively. In addition, the effects of these extracts, which were found to be effective, on potato tuber contaminated with the *R. solani* pathogen *in vitro* conditions were investigated. Although the micelle formation was observed on the control and Captan fungicide applications, it was not detected on extract application. As a result, it has been determined that the stem parts of the *Hypericum* species have compound or compounds that have high antifungal activity against *R. solani* pathogen, and are dissolved in more effective form by acetone and chloroform.

Keywords: Antifungal, *Rhizoctonia solani*, *H. heterophyllum*, *H. scabrum*, *H. Perforatum*

I. GİRİŞ

Rhizoctonia solani Kühn. (Basidiomycota: [Telemorf evresi, *Thanatephorus cucumeris* (Fr) Donk] toprak kökenli bir fungal hastalık etmeni olup, geniş bir konukçu listesine sahiptir. Çevresel koşullara uyumu oldukça yüksek olduğu için dünyada yaygınlığı fazladır [1, 2]. Bu patojen bitkilerde gövde ve taç kanseri, yaprak ve kın yanıklığı, cüceleşme gibi etkiler ile tohum, kök, sap ve meyve çürüklüğüne neden olmaktadır. Konukçuları arasında patates, şeker pancarı, domates gibi birçok kültür bitkisi yer almaktadır. Bu gibi ekonomik önemi yüksek bitkilerde görünmesi ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır. *R. solani*'nin zirai mücadelesi olarak kültürel mücadelede konukçusu olmayan kültür bitkileri ile rotasyonu önerilmektedir. Biyolojik mücadele olarak *Rhizoctonia solani*'ye karşı çoğunlukla *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., binükleat *Rhizoctonia* suşları, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. gibi antagonistlerle çalışılmaktadır [3]. Patojenin kimyasal mücadelesi zordur ve ancak sınırlı alanlarda kısmen başarılı olabilmektedir [4]. Thiram, Captan, Bakır oksiklorid, Azoxystrobin, Metalaxyl, Fludioxonil gibi etken maddeli fungusitler *Rhizoctonia* kök çürüklüğü ve fide çökerten kontrolünde kullanılmaktadır. Kimyasal mücadelenin ekosisteme verdiği zararlar dolayısıyla son yıllarda daha çevreci yöntemler araştırılmaya başlanmıştır. Bu kapsamda doğal ürün olarak bitki ekstraktları önem kazanmıştır. Birçok araştırmada çeşitli bitki ekstraktlarının ve sekonder metabolitlerinin yüksek antifungal aktivite sergilediği tespit edilmiştir [5, 6, 7, 8, 9, 10].

Bu çalışma kapsamında önemli tıbbi ve aromatik bitki olan *Hypericum* türlerinin *R. solani* üzerine antifungal aktivitesi incelenmiştir. *Hypericum* türleri arasında birçok biyolojik aktivitelerinden dolayı dünyaca yaygın ve popüler olan en önemli türü *Hypericum perforatum* L.'dir. Eski çağlardan beri bu tür geleneksel tıp dünyasında antimikrobiyal etkinliğinden dolayı aktif olarak kullanılmaktadır. *Hypericum* türlerinin yüksek antimikrobiyal aktivitelerinin bünyelerindeki naftodiantron (hiperisin, psödohiperisin, protohiperisin vb.), flavonoid (kamferol, rutin, kuersetin, kuersetin, luteolin, hiperin, hiperosid vb.), fenolik asit (klorojenik asit vb.), floroglusinol (hiperforin, furohiperforin vb.), ksanton ve türevleri ile uçucu yağlar gibi önemli sekonder metabolitlerin varlığından kaynaklanmaktadır [11, 12].

Yapılan birçok çalışmada *Hypericum* türlerinin güçlü antifungal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Örneğin, *H. japonicum* Thunb. türünün floroglusinol türevlerinin çeşitli fungustlara karşı yüksek aktivite sergilediği bildirilmiştir [8]. *H. hyssopifolium* Chaix ve *H. heterophyllum* türlerinin uçucu yağlarının antifungal aktiviteleri α -terpineol ve β -caryophyllene oxide bileşiklerinden çok düşük etki gösterdiğini hatta bazı fungusların gelişimine pozitif etki sergilediği rapor etmişlerdir [13]. Yapılan başka bir çalışmada, bazı *Hypericum* türlerinin birçok fungusu karşı fungusidal etki gösterdiği kaydedilmiştir [14].

Buna ek olarak, bitkiler çiçek, gövde ve sap kısımlarında farklı fitokimyasal içermeleri ve bu bileşenleri farklı konsantrasyonlarda biriktirmelerinden dolayı değişik oranda antifungal aktivite göstermektedir [15]. Türkiye endemiği olan *H. havvae* Güner türünde kök ve yaprakların bir aradaki antifungal aktivitesinin ayrı ayrı değerlendirilmesinden daha etkili olduğunu rapor edilmiştir [16]. Kök ve yapraklardaki bileşiklerden iki veya daha fazlasının bir araya gelmesi ile sinerjik etki oluşturduğu düşünülebilir. Ayrıca bitkilerin antifungal aktivitelerinin değişiminde etkili olan diğer bir parametre ise kullanılan çözücüdür. Her bileşik her çözücüde daha etkin bir şekilde çözünmemektedir. Bu yüzden ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan çözücüler de antifungal aktivitelerde farklı etkiler sergilemektedir [17, 18].

Bu zaman kadar ekstraktların ve kimyasalların antifungal taraması için genelde besin ortamına belirli oranlarda katılması ile elde edilen zehirli kültür ortamı tekniği kullanılmaktadır [19, 20]. Bu çalışmada ise arazi uygulamalarına benzer olarak belirli konsantrasyonlar besin ortamı üzerine yayılarak/püskürtülerek yapılmıştır. Buradaki amaç arazi uygulamalarına daha yakın bir uygulama yapmaktır. Deneyin sağlıklı olup olmadığını kıyaslamak için en etkili çıkan ekstrakt örneklerin *in vitro* şartlarda patates yumrusu üzerinde antifungal aktivitesi incelenmiştir. Sonuç olarak bu çalışma kapsamında, *Hypericum* ekstraktlarının *R. solani* patojeni üzerine bitki kısımlarının ve bazı çözücülerin etkileri araştırılmıştır. Üç farklı *Hypericum* (*H. heterophyllum*, *H. scabrum* ve *H. perforatum*) türlerinin

çiçek, yaprak ve gövde kısımları kullanılmış ve bu örneklerin metanol, etanol, aseton ve kloroform çözücülerinde ekstraktları elde edilmiştir. Kapsamlı bir çalışma olup, *R. solani* üzerine *Hypericum* türlerin ve kısımlarının bazı çözücülerdeki etkisi ilk kez bu çalışmada değerlendirilmiştir.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

A. MATERYAL

H. heterophyllum Vent., *H. scabrum* L. ve *H. perforatum* L. türlerinin toprak üstü kısımları doğal ortamlarından %100 çiçeklenme döneminde, her bir türden 30 adet olacak şekilde toplanmıştır (Tablo 1). Bitkilerin toplanması 11:00 ile 13:00 saatleri arasında yapılmıştır. Bitkilerin çiçek, yaprak ve sap kısımlarını ayırdıktan sonra 20 ± 2 °C'de gölgede kurutulmuştur. Bitki materyalleri Prof. Dr. Osman Tugay (Selçuk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Bölümü) tarafından teşhis edilmiş ve KNYA herbaryumunda (Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Konya, Türkiye) depolanmıştır.

Tablo 1. Hypericum türlerinin yaşam alanı ve toplama durumu.

Türler	Lokasyon	Toplama zamanı	Enlem (N)	Boylam (E)	Rakım (m)
<i>H. heterophyllum</i> ¹	Yozgat, Bozok Üniversitesi Kampüsü	04.07.2017	39°46'42	34°47'51	1332
<i>H. perforatum</i>	Çorum, Bayat	01.07.2017	40°41'16	34°7'51	1372
<i>H. scabrum</i>	Yozgat, Gelin Kayası	13.06.2017	39°50'20	34°45'44	1401

¹Türkiye için endemik.

B. YÖNTEM

B.1. Ekstraksiyon İşlemi

Ekstraksiyon için *Hypericum* türünün toprak üstü kısımları (çiçek, yaprak ve gövde) kullanılmıştır. Bu kısımlar gölgede kurutulmuş ve bir karıştırıcı ile mekanik olarak öğütülmüştür. Her öğütülmüş bitki materyalinden 4 g örnek tartılmış, 40 ml çözücü (% 100 metanol, etanol, aseton ve kloroform) içerisinde 40 °C'de 24 saat boyunca ayrı ayrı özümlemişdir. Nihai çözeltiler, whatman kâğıdı ile süzülerek çözücüler 40 °C'de evaporator yardımıyla uzaklaştırılmıştır [21]. Elde edilen ekstraktlardan metanollü ekstraktlar su, diğer çözücü ekstraktları ise aseton ile çözümlenerek stok solüsyonlar oluşturulmuştur.

B.2. *R. solani* Misellerin İzolasyonu ve Besi ortamı

Çalışmada patojen olarak kullanılan *R. solani* Adana Biyolojik Mücadele Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Bu fungusun izolatları, Adana ili ekim alanlarında hastalıklı patates bitkilerinin kök ve kök boğazlarından izole edilen koleksiyondan temin edilmiştir. İlk olarak *R. solani* izolatı Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamı üzerine aşılanmış ve 23 ± 1 °C'de 12 saat aydınlık (yakın ultraviyole ışık) / 12 saat karanlık fotoperiyot rejimi içeren inkübasyon odasında 7 gün süreyle geliştirilerek aktifleştirilmiştir. Daha sonra gelişen izolattan patojen diskleri alınarak çalışmalarda kullanılmıştır.

B.3. *R. solani* Miselleri Üzerine Organik Ekstraktların Uygulanması

Hypericum türlerinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraktlarının %2'lik konsantrasyonu *R. solani*'e karşı kullanılmıştır.

PDA besi ortamı otoklavda 121 °C'de 20 dakika sterilize edilmiştir. PDA besi ortamı her bir steril petriye (60 mm çap) yaklaşık 10 ml dökülmüştür. Önceki çalışmada yapılan metodoloji revize edilerek; başlangıçta dozları ayarlanan ekstrakt solüsyonundan 100 µl alınarak PDA besin ortamına yayılmıştır. Önceden PDA besi yerlerinde geliştirilen patojen kültürlerinden birer disk (4 mm) alınarak ortamın tam ortasına tabi tutulmuştur. İnokulasyondan sonra petrilerin etrafı parafilm ile kapatılıp, 24±1°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Negatif kontrol olarak su ve aseton çözücüleri ekstrakt yerine kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak Captan etkili maddeli ticari fungusit denemedeki dozda (%2) hazırlanarak aynı uygulama şekliyle patojenlere karşı denenmiştir.

B.4. Etkin Ekstraktların *In Vitro* Ortamda Antifungal Potansiyelinin Saptanması

Hypericum ekstraktlarından en yüksek antifungal aktivitesi sergileyen *H. scabrum* türünün gövdesinin kloroform ve aseton ekstraktlarının *in vitro* şartlarda *R. solani* patojenine karşı antagonistik etkileşimlerini ölçmek için taze patates (*Solanum tuberosum* L.) yumrusu üzerinde etkisi araştırılmıştır. Başlangıçta bu patates yumrularının kabuğu soyulmuş ve yaklaşık olarak 1.0-0.5 cm kalınlığında enine kesilmiştir. Steril petri kabının (120 mm çapındaki) içine steril kurutma kağıtları konularak 1 ml distile saf su ile nemlendirilmiştir. Kesilen patates diskleri petrilerin merkezine yerleştirilmiştir. Sonra, üzerine örnek solüsyonların %2.5'lik konsantrasyonları, steril kabin içerisinde, 10 cm mesafeden 1 ml çözücü içerecek şekilde sprey yoluyla patates disklerinin üzerine homojen bir şekilde püskürtülmüştür. Ekstraktların etkisinin kıyaslanabilmesi için negatif kontrol (sadece aseton çözücüsü) ve pozitif kontrol (Captan) kullanılmıştır. Daha sonra, PDA besi yerinde 7 gün süre ile geliştirilen patojen kültürlerinden birer disk (4 mm) alınarak patates diskinin tam ortasına bırakılmıştır. İnokulasyondan sonra petrilerin etrafı parafilm ile kapatılıp, 24±1°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Her gün kontrol edilerek kurutma kağıtlarının nemlendirilmesi sağlanmıştır. İnkübasyondan 5 gün sonra kontrol uygulamasında patojen gelişimi patates diskinin tüm yüzeyini kapladığında tüm uygulamanın misel ölçümleri yapılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur.

B.5. Deneme Deseni ve İstatistik Analiz

Deneme 3 tekerrürlü ve her bir tekerrür 2 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Günlük olarak patojenin gelişimi izlenerek kontrol örneklerinde koloni çapları petriyi kapladığı gün (5 gün), diğer kaplarda da fungal koloni çapları ölçülmüştür. Burada koloni çapının birbirine dik iki yönde ölçülen değerlerin ortalaması şeklinde yapılmıştır. Kontrole göre bitki ekstraktlarının engelleme oranları aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$E = 100 (K - M) / K \quad (1)$$

E = Engelleme oranı (%)

K = Kontrolde koloni çapı (mm)

M = Muamelede koloni çapı (mm)

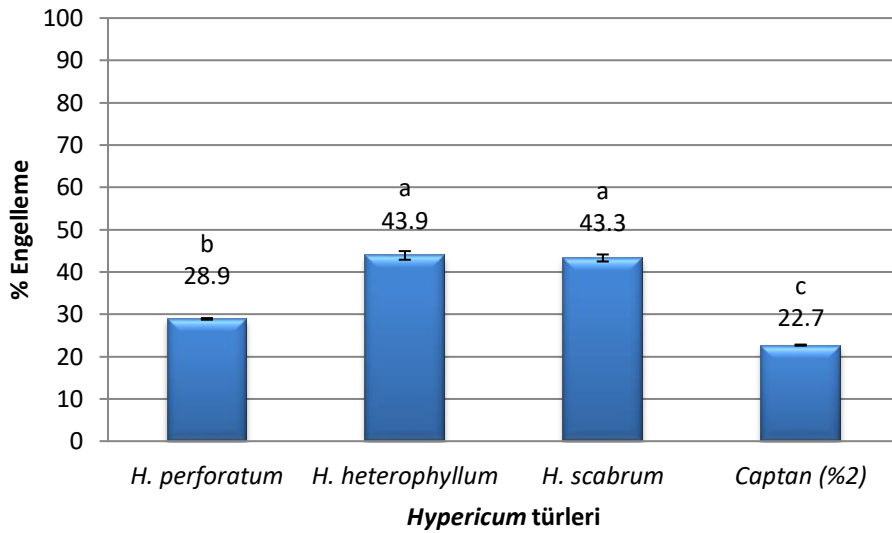
Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Denemelerde ortalamalar arasındaki farklılıkların önem dereceleri varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiş ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ile kıyaslanmıştır.

III. BULGULAR VE TARTIŞMA

Hypericum türlerinin farklı kısımlarından bazı çözücüler kullanılarak hazırlanan ekstraktların *R. solani* patojeni üzerine antifungal aktivitesi araştırılmış ve Captan etkili maddeli fungusit ile kıyaslanmıştır. Ekstraktların ve fungusit arasındaki etkinlik farkının belirlenebilmesi için tek doz (%2 konsantrasyonu) taraması yapılmış, funguslar üzerine etkileri misel çapı (mm) ve engelleme oranı (%) olarak

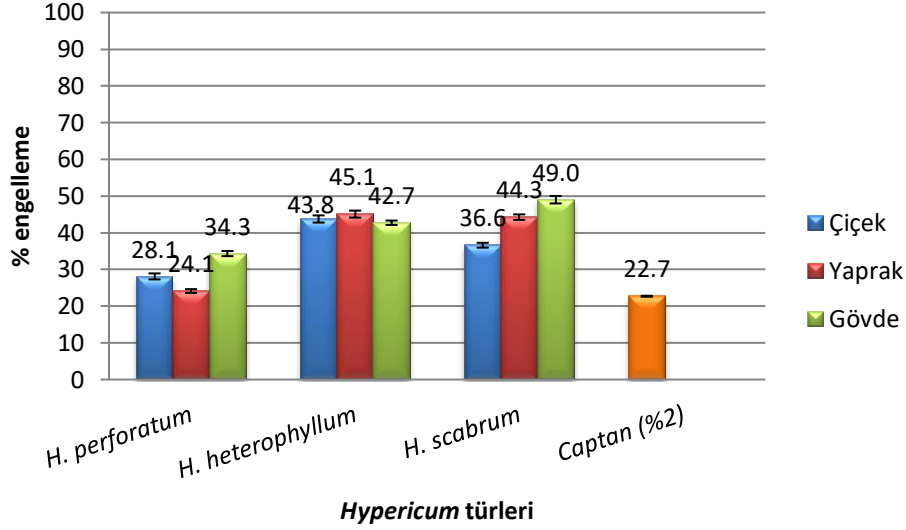
belirlenmiştir. Misel çapı ile engelleme aktivitesi (%) ters orantılı olup, yüksek engelleme düzeyine sahip ekstraktların patojenle mücadelede etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Hypericum türlerinin *R. solani* patojeni üzerine engelleme etkisi verileri Şekil 1’de sunulmuş ve Captan fungusitinden (%22.7) daha yüksek antifungal aktivite sergilediği tespit edilmiştir. Türler arasında en yüksek engelleme oranı %43.9 ile Türkiye endemiği olan *H. heterophyllum* türünde görüldüğü, bunu %43.3’le *H. scabrum* türünün takip ettiği gözlenmiş ve aralarında istatistiksel olarak fark olmadığı kaydedilmiştir. En düşük etki %28.9 ile *H. perforatum* türünde bulunmuştur. Benzer olarak, *Hypericum* türlerin bazı funguslara karşı etkileri arasında fark olduğu ve bu farkın türlerin sergilediği fitokimyasal çeşitliliğinden kaynaklandığı rapor edilmiştir [22]. Bazı bitki türlerinin *R. solani* patojeninin misel gelişimi üzerine yüksek engelleme aktivitesi sergilediğini, bunun da türlerin yüksek oranda sekonder metabolit içeriğine sahip olmalarına atfedilmiştir [19].



Şekil 1. Farklı *Hypericum* türlerine ait ekstraktlarının *Rhizoctonia solani* fungusuna etkisi.

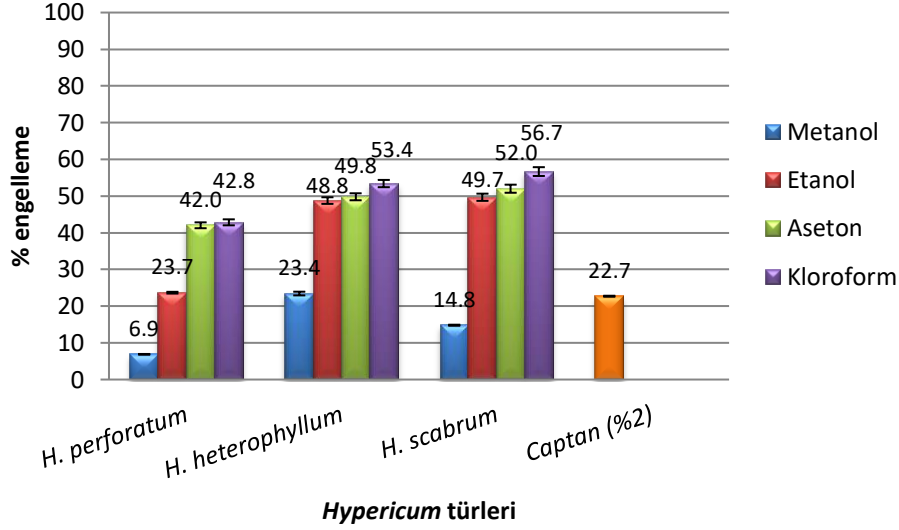
Hypericum türlerinin farklı bitki kısımlarının *R. solani* fungusuna karşı etkisi incelenmiş ve Şekil 2’de engelleme oranları sunulmuştur. Her türün çiçek, yaprak ve gövde kısımları kendi aralarında farklı etkilere sahip olmakla birlikte Captan fungusitinden daha yüksek aktivite göstermişlerdir. Her bir *Hypericum* türlerinin farklı kısımları arasında en yüksek engelleme değerine *H. perforatum* ve *H. scabrum* için gövde ekstraktları, Türkiye endemiği *H. heterophyllum* için ise yaprak ekstresi sahip olmuştur. Ayrıca, Şekil 2’deki gibi *R. solani* fungusu üzerine antifungal etkisi açısından bitki kısımları arasında en düşük varyasyona *H. heterophyllum* türü (%42.7-45.1) sahip olmuştur. Tüm *Hypericum* türlerinin bitki kısımları arasındaki en yüksek engelleme oranı %49.0 ile *H. scabrum* türünün gövde ekstraktında kaydedilmiş, sırasıyla *H. heterophyllum* ve *H. scabrum* türlerinin yaprak kısımları (%45.1 ve 44.3) takip etmiştir. Türlerin bitki kısımları arasında en düşük engelleme %24.1 ile *H. perforatum* türünün yaprak kısmında saptanmıştır.



Şekil 2. *Hypericum* türlerin farklı bitki kısımlarının *Rhizoctonia solani* fungusuna karşı etkisi.

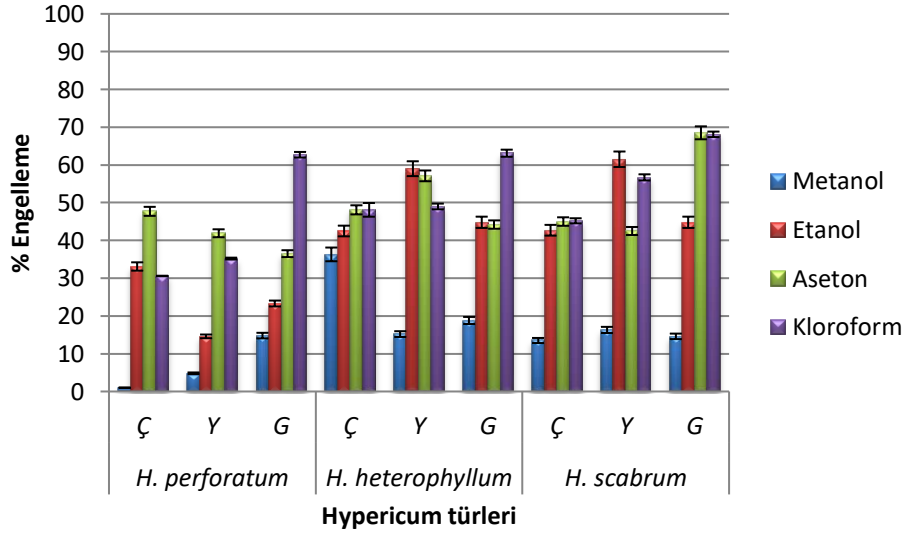
R. solani patojeni üzerine çözücü etkisinin engelleme oranları incelendiğinde, tüm *Hypericum* türleri içinde benzer olduğu ve en yüksekten aza doğru sırasıyla kloroform, aseton, etanol ve metanol olarak değiştiği tespit edilmiştir (Şekil 3). Çözücülerin sergilemiş olduğu engelleme oranları *H. perforatum* için %6.9-42.8, *H. scabrum* için %14.2-56.7 ve *H. heterophyllum* için ise %23.4-53.4 arasında değişmiştir. Bu çalışmaya benzer olarak, *H. linarioides* Boss. türünün bazı funguslar üzerine farklı çözücü ekstraktların farklı etkiler sergilediği rapor edilmiştir [5]. Bir bitkinin veya bir bitki kısmının bazı çözücülerde farklı etki sergilemesi, çözücülerin bitki bünyesindeki fitokimyasalları çözebilme kabiliyetiyle ilişkilendirilebilir. Çünkü funguslar üzerine etki gösteren ya bir bileşik ya da birkaç bileşimin sinerjik etkisine atfedilebilir [16].

Şekil 3’de görüldüğü gibi, *R. solani* patojeni üzerine *H. scabrum* ve *H. perforatum* türlerinin metanol ekstraktları hariç (sırasıyla %14.8 ve %6.9) diğer tüm ekstraktlar Captan fungusitinden daha yüksek % engelleme aktivitesi göstermiştir (Şekil 3). En yüksek aktivite sırasıyla %56.7 ile *H. scabrum* ve %53.4’le *H. heterophyllum* türlerinin kloroform ekstraktlarından sonra *H. scabrum* türünün aseton ekstraktlarında (%52.0) gözlenmiştir. En zayıf antifungal aktivite gösteren *H. perforatum* türünün en yüksek engelleme oranı kloroform çözücüsünde %42.8 olarak gözlenmiştir. Önceki bir literatürde, *H. perforatum* türünün *R. solani* üzerine artan etanol ekstrakt konsantrasyonlarının (1-20 ml/l) etkisi denenmiş, miselyumun ortalama büyüme oranı % 6.6’dan % 52.6’ya kadar yükseldiği kaydedilmiştir [6].



Şekil 3. *Hypericum* ekstraktlarının *Rhizoctonia solani* fungusuna karşı çözücü etkisi.

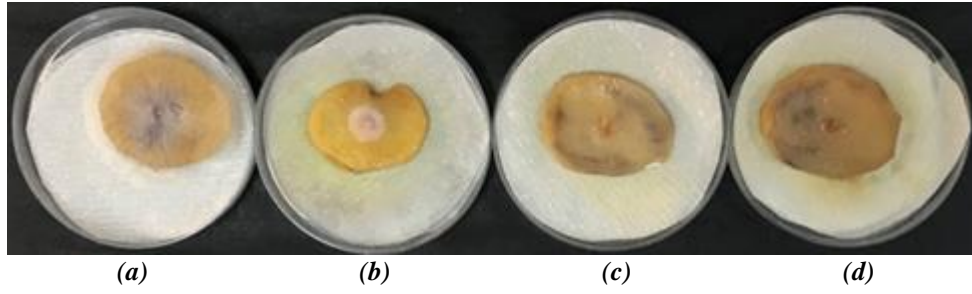
Bu çalışmadaki *Hypericum* türlerine ait tüm ekstraktların *R. solani* fungusiti üzerine engelleme değerleri Şekil 4'de sunulmuştur. Ekstraktların patojene karşı engelleme oranı %68.5 ile %1.0 arasında değişmiştir. En yüksek değere % 68.5 ve %68.1 ile *H. scabrum* türünün sırasıyla kloroform ve asetonlu gövde ekstraktlarında gözlenmiş, bunu sırasıyla %63.1 ile *H. heterophyllum* ve %62.7 ile *H. perforatum* türlerinin kloroformlu gövde ekstraktları takip etmiştir. Ayrıca, *H. heterophyllum* türünün yaprak kısmının etanol ve aseton ekstraktları (%59.0 ve 57.1) ile *H. scabrum* türünün yaprak kısmının etanol ve kloroform ekstraktları (%61.5 ve 56.7) %50 engelleme oranından yüksek bulunmuştur.



Şekil 4. *Rhizoctonia solani* üzerine *Hypericum* ekstaklarının engelleme etkisi (Bitki kısımları Ç: Çiçek; Y: Yaprak; G: Gövde).

R. solani üzerine engelleme oranı en yüksek bulunan *H. scabrum* türünün kloroform ve asetonlu gövde ekstraktlarının % 2.5 konsantrasyonları *in vitro* şartlarda bu patojene duyarlı sebze olan patates yumru kesitleri üzerinde denenmiş, pozitif (Captan) ve negatif kontrol (sadece aseton çözücüsü) grupları ile kıyaslanmıştır (Şekil 5). *R. solani* kontrol grubu patates kesitinin %100 tüm alanını kapladığında Captan fungusiti bulunan örnekte yaklaşık 10 mm misel oluşumu gözlenmiştir. Fakat *H. scabrum* türünün kloroform ve asetonlu gövde ekstraktları püskürtülen yumru kesitleri üzerinde misel oluşumunu engellediği tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre besin ortamı üzerine yayma/püskürtme

uygulamasına paralel olarak, *H. scabrum* türünün kloroform ve asetonlu gövde ekstraktları Captan fungusitine göre *R. solani* patojenine karşı daha etkili bulunmuştur.



Şekil 5. Patates yumrusu üzerinde *Rhizoctonia solani* patojenine karşı *Hypericum* ekstaklarının ve Captan fungusitinin etkisi (a) Negatif kontrol, (b) Pozitif kontrol, (c) *H. scabrum* türünün kloroformlu gövde ekstraktı, (d) *H. scabrum* türünün asetonlu gövde ekstraktı).

IV. SONUÇLAR

Bu çalışmada, *R. solani* patojenine karşı *Hypericum* türlerinin ve bazı bitki kısımlarının farklı çözücülerdeki etkileri incelenmiş, %2 konsantrasyonundaki *Hypericum* ekstraktlarının %68.5 etki oranı ile aynı konsantrasyondaki sentetik fungusit olan Captan'dan (%22.7) daha yüksek ve güçlü aktivite sergilediği tespit edilmiştir. Türler arasında *H. scabrum* en etkili tür olarak belirlenmiştir. *Hypericum* türlerinin bitki kısımlarının etkisi türlere göre farklılık göstermiş, *H. perforatum* ve *H. scabrum* için gövde kısmı en etkili iken *H. heterophyllum* türü için yaprak kısmı olarak kaydedilmiştir. En etkili çözücü olarak kloroform bulunmuştur.

Ayrıca, bu çalışmada besin ortamı üzerine yayma/püskürtme ile de antifungal çalışmaların yapılabileceği gözlenmiştir. Bu sayede daha az ekstrakt kullanımı sağlanmış ve arazi koşullarında fungusitlerin uygulama yöntemine daha yakın bir uygulama yapılmıştır.

Her üç *Hypericum* türününün *R. solani* üzerine en etkili ekstraktları kloroformda çözünen gövde kısımları olmuştur. Bu patojen üzerine *Hypericum* gövde kısımlarında bulunan ve kloroform tarafından daha etkili formda çözünen bileşik veya bileşikler grubu olabileceğini göstermektedir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda bu türlerin gövde kısımlarına ait kloroformlu ekstraktlarındaki bileşenlerin analizi yapılabilir ve elde edilen bileşenlerin farklı dozlarının etkisi bu patojen üzerine araştırılabilir.

Tüm ekstraktlar içerisinde, *H. scabrum* türünün asetonlu ve kloroformlu gövde ekstraktları *R. solani* patojeni üzerine en yüksek (% 68.1 ve % 68.5) ve güçlü antifungal aktivite sergilediği tespit edilmiştir. Bu ekstraktlar, *R. solani* ile mücadele için sentetik böcek ilacının yerini alabilecek önemli bir faktör olabilir.

TEŞEKKÜR: Bu çalışma Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 6602c-ZF/17-137).

V. KAYNAKLAR

[1] J. D. S. Clarkson and R. J. Cook, "Effect of sharp eyespot (*Rhizoctonia cereatis*) on yield loss in winter wheat," *Plant Pathology*, vol. 32, no. 4, pp. 421- 428, 2007.

[2] G.C. MacNish and S. M. Neate, "*Rhizoctonia* Bare Patch of Cereals: An Australian Perspective," *Plant Disease*, vol. 80, no. 9, pp. 965-971, 1996.

- [3] M. I. Trillas, E. Casanova, L. Cotxarrera, J. Ordovás, C. Borrero and M. Avilés, “Composts from agricultural waste and the *Trichoderma asperellum* Strain T-34 suppress *Rhizoctonia solani* in Cucumber seedlings,” *Biological Control*, vol. 39, no. 1, pp. 32–38, 2006.
- [4] M. Mohammadi, M. Banihashemi, G. A. Hedjaroude and H. Rahimian, “Genetic diversity among iranian isolates of *Rhizoctonia solani* Kühn anastomosis group 1 subgroups based on isozyme analysis and total soluble protein pattern,” *Journal of phytopathology*, vol. 15, pp. 162–170, 2003.
- [5] A. Cakir, S. Kordali, H. Kilic, E. Kaya, “Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse,” *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 33, no. 3, pp. 245–256, 2005.
- [6] K. Tanova and R. Petrova, “Influence of extracts from essential oil plants on the growth of *Rhizoctonia solani* Kuhn, agent of the sugar beet root rot,” *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, vol. 14, no. 3, pp. 309-312, 2008.
- [7] A. A. Al-Askar and Y. M. Rashad, “Efficacy of some plant extracts against *Rhizoctonia solani* on pea,” *Journal of Plant Protection Research*, vol. 50, no. 3, pp. 239-243, 2010.
- [8] Y. P. Li, K. Hu, X. W. Yang and G. Xu, “Antibacterial dimeric acylphloroglucinols from *Hypericum japonicum*,” *Journal of natural products*, vol. 81, no. 4, pp. 1098-1102, 2018.
- [9] A. Aftab, Y. Yousaf, A. Javaid, N. Riaz, A. Younas, M. Rashid, B. Shamsheer and A. Arif, “Antifungal activity of vegetative methanolic extracts of *Nigella sativa* L. against *Fusarium oxysporum* and *Macrophomina phaseolina* and its phytochemical profiling by GC-MS analysis,” *International Journal of Agriculture and Biology*, vol. 20, pp. 569-576, 2018.
- [10] K. Chakrapani, B. Sinha, W. T. Chanu, Tusi, Chakma and T. Siram, “Assessing *in vitro* antifungal activity of plant extracts against *Rhizoctonia solani* causing sheath blight of rice (*Oryza sativa* L),” *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 9, no. 1, pp. 1497-1501, 2020.
- [11] S. L. Crockett and N. K. Robson, “Taxonomy and chemotaxonomy of the genus *Hypericum*,” *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, vol. 5, no. Special Issue 1, pp. 1-13, 2011.
- [12] F. S. A. Tanemossu, K. Franke, G. Sanna, A. Porzel, E. Bullita, P. La Colla and L.A. Wessjohann, “Isolation and anticancer, anthelmintic, and antiviral (HIV) activity of acylphloroglucinols, and regioselective synthesis of empetrifranzinans from *Hypericum roeperianum*,” *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 23, no. 19, pp. 6327-6334, 2015.
- [13] A. Cakir, S. Kordali, H. Zengin, S. Izumi and T. Hirata, “Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*,” *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 19, no. 1, pp. 62–68, 2004.
- [14] F. M. C. Barros, B. Pippi, R. R. Dresch, B. Dauber, S. C. Luciano, M. A. Apel, A. M. Fuentefria and Von GL. Poser, “Antifungal and antichemotactic activities and quantification of phenolic compounds in lipophilic extracts of *Hypericum* spp. native to South Brazil,” *Industrial Crops and Products*, vol. 44, pp. 294–299, 2013.
- [15] N. Ashokkumar, A. Shanthi, M. Sivakumar and K. Rajamani, “Studies on Antifungal Activity of Different Plant Parts of Glory Lily (*Gloriosa superba* L.) against Fungal Wilt Pathogen, *Fusarium oxysporum*,” *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, vol. 6, no. 9, pp. 428-433, 2017.

- [16] G. Dülger and B. Dülger, “Antifungal activity of *Hypericum havvae* against some medical *Candida* yeast and *Cryptococcus* species,” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 13, no. 3, pp. 405-408, 2014.
- [17] M. M. Karimkhani, D. Salarbashi, S. Sanjari Sefidy and A. Mohammadzadeh, “Effect of extraction solvents on lipid peroxidation, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of *Berberis orthobotrys* Bienerat ex C.K. Schneider,” *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 13, pp. 357–367, 2018.
- [18] R. Akila and M.L. Mini, “Solvent extraction and antifungal assay of *Lawsonia inermis* Linn. against the brown spot fungus *Bipolaris oryzae*,” *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 9, no. 1, pp. 5-8, 2020.
- [19] F. Castillo, D. Hernandez, G. Gallegos, M. Mendez, R. Rodriguez, A. Reyes and C.N. Aguilar, “*In vitro* antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn,” *Industrial Crops and Products*, vol. 32, pp. 324-328, 2010.
- [20] L. Bocquet, C. Rivière, C. Dermont, J. Samaillie, J. L. Hilbert, P. Halama, A. Siah, and S. Sahpaz, “Antifungal activity of hop extracts and compounds against the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*,” *Industrial Crops and Products*, vol. 122, pp. 290–297, 2018.
- [21] C. Yaman, O. Tugay and D. Ulukuş, “Endemik *Haplophyllum* A. Juss. türlerinin antioksidan aktivitesi üzerine lokasyon ve tür farkının etkisi,” *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, c. 10, s. 1, ss. 648 – 657, 2020.
- [22] N. Tocci, T. Weil, D. Perenzoni, L. Narduzzi, S. Madriñán, S. Crockett, N.M. Nürk, D. Cavalieri and F. Mattivi, “Phenolic profile, chemical relationship and antifungal activity of Andean *Hypericum* species,” *Industrial Crops and Products*, vol. 112, pp. 32-37, 2018.