

**PSEUDOMONAS SAVASTANOİ (E.F. Smith) Stevens'e
KARŞI BAZI ANTİBİYOTİKLERLE YAPILAN *in vitro*
DENEMELER**

Zehra TÜRKMENÖĞLU

Bitki hastalıklarına karşı muhtelif mikro-organizmaların ve antibiotik maddelerin antagonistik hassaları üzerinde yapılan mücadele denemelerinin tarihi oldukça yenidir. (3). Bilhassa son yıllarda bu sahada kaydedilen ilerlemelerin bir sonucu olarak bakterisid tesiri haiz müteaddit antibiotikler, muhtelif firmalar tarafından piyasaya çıkarılmış ve bu konuda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir.

Pseudomonas savastanoi (E. F. Smith) Stevens'e karşı antibiotik maddeler kullanarak *in vivo* şartlarda araştırmalar yapıldığı (1,2), diğer taraftan bazı bakteri hastalıklarına karşı antibiotiklerin mücadele denemelerine alındığı (9) literatürde kayıtlı olmakla beraber, *in vitro* şartlarda sadece *Corynebacterium sepe-donicum* (Spieck ve Kottth.) Skapt. ve Burk. a karşı hem antibiotiklerin hem de diğer bazı kimyasal maddelerin denemeye alındığı (5) yapılan incelemeler sonunda anlaşılmış fakat *in vitro* şartlarda *P. savastanoi*'ye karşı araştırmaları ihtiva eden bir çalışmanın mevcudiyetine delâlet eden herhangi bir kayda tesadüf edilmiştir. Bu sebepten, antibiotiklerin *in vitro* şartlarda *P. savastanoi*'ye karşı antagonistik bir hassayı haiz olup olmadığının tesbiti üzerinde önemle durulmuştur.

MATERYAL VE METOD :

Yapılacak denemelerde kullanılmak üzere her şeyden önce stok bakteri kültürüne (6), ihtiyaç vardı. Bu maksatla uygun bir gıda vasatı (7) içerisinde, izole edilen bakteri üretildi. Aynı zamanda, izole edilen bakterinin, zeytinlerde hastalık meydana getiren zeytin dal kanseri amili *P. savastanoi* olup olmadığı Koch mütearifesi (4 ve 8) yardımı ile araştırıldı. Şöyle ki:

1 — Yapılan mikroskopik muayenede, hasta kısmında (tümörde) bakterinin mevcut olduğu görülmüştür.

2 — Bakterinin hasta olan kısımdan izole edilmesi ve sun'i gıda vasatında üretilmesi mümkün olmuştur.

3 — İzole edilen bakteri, sıhhatli bir zeytin ağacının dalına enfekte edilmiş ve üç ay zarfında tümörlerin meydana geldiği görülmüştür.

4 — Sun'i olarak meydana getirilen tümörlerden alınarak tekrar izole edilen bakterinin, bütün vasıflarıyla ilk izole edilen bakterinin aynı olduğu tesbit edilmiştir.

Çalışmaların birinci kısmı böylece nihayete ermiş ve P. s a v a s - t a n o i olduğu şüphesiz bulunan bakteri sun'i gıda vasatında üretilerek stok bakteri kültürü elde edilmiştir.

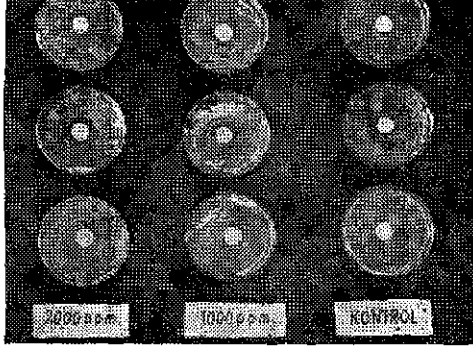
Çalışmaların ikinci kısmında ise, streptomycin ve streptomycin - terramycin ihtiva eden antibiotiklerle cıva klorür ve bakır sulfat in vitro denemelere alınmıştır. Kullanılan materyellerin ticari adı ile aktif madde adı ve nisbeti Tablo: I de gösterilmiştir:

Tablo : I

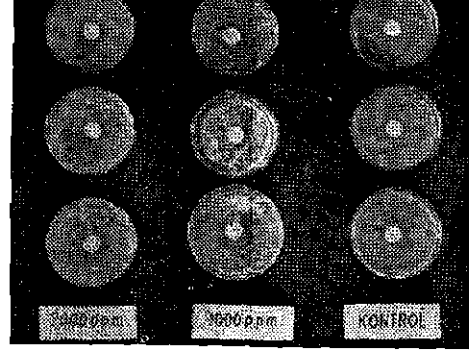
<u>Materyalin Ticari Adı</u>	<u>Aktif Maddesi</u>	<u>Aktif Madde % si</u>
Agri-mycin 100	Streptomycin ve Terramycin	15.0 1.5
Phytomycin	Streptomycin nitrat	20.0
Mercury chloride	Cıva klorür	100.0
Göztaşı	Bakır sulfat	96.0

İlaç mahlülleri genel olarak ppm hesabıyla (2) ve iki doz üzerinden hazırlanmış ve deneme tesadüfi blok metoduna göre 3 tekerrürlü olarak tertiplenmiştir. Bu maksatla, 24 saat önce steril petri kaplarına dökülerek thermostatta muayyen hararete terkedilmiş bulunan etsuyu-pepton agarı üzerine (9); yine 24 saat önce sulu pepton içersinde üretilmiş olan bakteri, Pasteur pipeti yardımıyla damlatılarak yayılmıştır. Diğer taraftan, değişik dozlarda hazırlanmış bulunan ilaç mahlülleri içersine daire şeklinde kesilmiş steril süzgeç kâğıtları batırılmış, burada beş dakika bırakıldıktan ve üzerindeki mahlul fazlası iyice giderildikten sonra bakterili petri kabının ortasına yerleştirilmiştir. Şahit petrilere konacak süzgeç kâğıtları da aynı müddet zarfında saf su içinde bırakılmıştır. İlaç tatbikatı bu suretle tamamlandıktan sonra petri kapları yine muayyen sıcaklıktaki thermostatta 24 saat bekletilmiş ve müşahedeleri yapılmıştır.

Kullanılan ilaçların bakterisid tesirleri, süzgeç kâğıdı etrafında teşekkül eden bakterisiz sahanın çevre uzunluğu esas alınarak tesbit edilmiş ve kıymetlendirme, bu varyantlar yardımı ile istatistik metodlara göre yapılmıştır. Her tekerrür, değişik istikametlerde üç defa ölçülmüş, ortalaması alınmış ve bundan, süzgeç kâğıdının kutru olan 18 mm. çıkarılarak elde edilen kutur yardımı ile bakterisiz sahanın çevre uzunluğu tesbit edilmiştir (5).



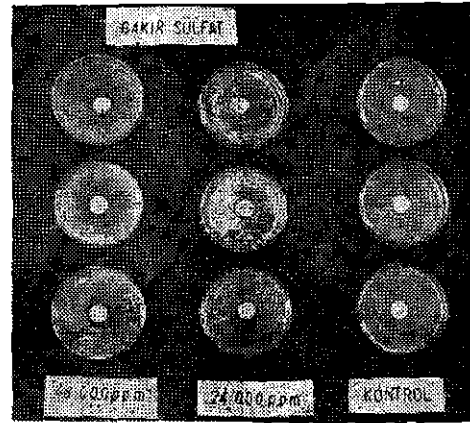
Resim : 1 — Phytomycin kullanılan petrilerde teşekkül eden bakterisiz saha ve şahit petriler.



Resim : 2 — Agri-mycin kullanılan petrilerde teşekkül eden bakterisiz saha ve şahit petriler.



Resim : 3 — Mercury chloride kullanılan petrilerde teşekkül eden bakterisiz saha ve şahit petriler.



Resim : 4 — Göztaşı kullanılan petrilerde teşekkül eden bakterisiz saha ve şahit petriler.

ELDE EDİLEN NETİCELER :

15 Mart 1961 tarihinde yapılan denemelerden 24 saat sonra elde edilen ölçmelere ait neticeler Tablo: II de gösterilmiştir.

Tablo : II

İlâcın Adı	Doz ppm olarak	24 saat sonra teşekkül eden bakterisiz sahanın çevresi (mm.)			
		I.	II.	III.	Ortalama
Phytomycin	2000	59	62	62	61
	1000	43	53	21	39
Agri-mycin 100	2000	69	56	50	58
	1000	40	43	53	45
Mercury chloride	2000	47	47	50	48
	1000	43	44	43	43
Göztaşı	5 Kg/100 lit.	31	25	21	25
	2.5 Kg/100 lit.	21	18	15	18
Şahit	—	0	0	0	0

Yukardaki tablo yardımı ile her ilâcın iki dozu arasında, iki karakter mukayesesine göre fark olmadığı bulunmuştur. Her ilâcın iki dozu arasında fark olmadığının anlaşılması üzerine düşük dozlar nazarı itibara alınarak varyans analizi işlenmiştir. Neticede, ilâçların % 5 ihtimaline göre birbirinden farksız ve % 1 ihtimaline göre de farklı olduğu görülmüştür. Bununla ilgili varyans tablosu aşağıdadır :

Tablo : III

Menbaı	SS	n-1	Varyans	F	Cetvel F	
					% 1	% 5
Umumi	2067	11				
İlâçlar	1419	3	473	5,03	9.78	4.76
Bloklar	85	2	42,5	0,45	10.92	5.14
Hata	563	6	94			

Daha sonra t kıymeti aranmış ve güven sınırlarına göre :

Agri-mycin 100	= 45 ± 13,4 = 58,4 ... 31,6
Mercury chloride	= 43 ± 13,4 = 56,4 ... 29,6
Phytomycin	= 39 ± 13,4 = 52,4 ... 25,6
Göztaşı	= 18 ± 13,4 = 31,4 ... 4,6

Agri-mycin 100, Mercury chloride ve Phytomycin arasında significant bir fark yoktur. Buna mukabil, Göztaşı ve Agri-mycin 100 arasında signi-

ficant bir fark vardır. Diğer taraftan, bakterisiz saha çevresi ölçmelerine göre, denemeye alınan materyeller içersinde Agri-mycin 100 diğerlerinden üstündür.

DENEMENİN KRİTİĞİ:

Tatbik edilen metod yardımı ile in vitro şartlarda muhtelif bakterisidlerin *P. savastanoi*'ye karşı antagonistik hassalarını araştırmak kabildir. Fakat resimlerin bazısında bakterisiz saha tam daire şeklinde görülmektedir. Çünkü, mahlûlden çıkarılan süzgeç kâğıdının üzerinde bulunan ilâcın fazlası alınmakla beraber, alt uçta kâğıdın meşbu vaziyette olması sebebiyle bakterili sahaya yerleştirilirken pek az bir fazlalık yüzünden bu durum meydana gelmekte ve kıymetlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Bununla beraber, ölçme yapılırken taşan sahalar dikkate alınmamıştır.

GELECEK ÇALIŞMALAR HAKKINDA BİRKAÇ SÖZ :

1960 yılında laboratuvarında ve aynı zamanda tarlada yapılan ön çalışmalarını müteakip 1961 yılında yukarıda bildirilen denemelere geçilmiş ve böylece bu sahada önemli bazı sonuçlar elde edilmiştir. Nitekim, 1960 yılında tarlada yapılan ön denemelerde Phytomycin kanser tümörleri üzerine pülverize edilmiş ve tümörlerde bir canlılık kalmadığı müşahade edilmiştir. (Resim : 5). Ancak pülverizasyon usulünde antibiotiğin sağlam doku üzerinde bir durgunluk meydana getirmesi sebebiyle metodun değiştirilmesi ve tümörlerin üzerine ilâç sürülmesi düşünülmüştü. Bu mevzuda yapılan bir çalışmada (2), antibiotik içersine bazı kimyasal maddeler ilâve ederek in vivo şartlarda fakat serada müsbet sonuç alındığı bildirildiğinden, antibiotik içersine aynı maddeleri ilâve ederek tarlada bu metodun denenmesi uygun görülmüştür.



Resim : 5 — Phytomycin'in tümörlerde tesiri. (Solda şahit)

Ö Z E T

Zeytin dal kanseri amili olan *Pseudomonas savastanoi* (E. F. Smith) Stevens'e karşı bazı antibiotiklerin ve kimyasal maddelerin antagonistik hassalarını tesbit etmek maksadiyle in vitro şartlarda denemeler yapılmıştır.

Önce zeytin dal kanseri tümörlerinden bakteri izole edilmiş ve izole edilen bakterinin esas hastalık amili bakteri olup olmadığını tesbit için Koch mütearifesi tatbik edilmiştir.

Daha sonra antibiotik ve kimyasal maddeler tesadüfi blok metoduna göre denemeye alınmıştır. Elde edilen neticeler aşağıdadır :

1 — Denemeye alınan materyeller içersinde Agri-mycin 100, bakterisiz saha çevresi ölçülerine göre diğerlerinden üstündür.

2 — Agri-mycin 100, Mercury chloride ve Phytomycin arasında bâriz bir fark yoktur.

3 — Agri-mycin 100 ve Bakır sulfat arasında bâriz bir fark vardır.

S U M M A R Y

İN VİTRO EXPERİMENTS ON THE APPLICATION OF THE ANTAGONİSTİC PROPERTİES OF SOME ANTİBİOTİCS AND CHEMİCAL SUBSTANCES AGAINST PSEUDOMONAS SAVASTANOİ (E.F. Smith) Stevens.

First of all the bacteria have been isolated from the galls of olive knot and Koch's postulates applied in order to be sure that the disease is caused by the given bacterium.

Later on the antibiotics and chemical substances were tested in vitro condition according to the randomized block design. The results are as following :

1 — Agri-mycin 100 was superior to the other materials according to the measurements of zone of inhibition.

2 — There was no significant difference between Agri-mycin 100, Mercury chloride and Phytomycin.

3 — There was significant difference between copper sulphate and Agri-mycin 100.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — **Arı, O. — S. Bilgir**, 1961. Zeytin Dal Kanserine karşı ilâçla Mücadele denemeleri. Bitki Koruma Bülteni **2**, (8), 3—18, Tarım Bakanlığı Ziraât Mücadele ve Ziraât Karantina Genel Müdürlüğü, Ankara.
- 2 — **Ark, P.A. — J.P. Thompson**, 1960. Experimental greenhouse control of Crown gall and olive knot with antibiotic drenches, P.D.R. 44:3.
- 3 — **Darpoux, H. ve Faivre — Amiot, A**, 1950. Experiments on the application of the antagonistic properties of various micro - organisms and antibiotic substances in the control of plant diseases, C.R. Acad. Agric. 36:4.
- 4 — **Dowson, W.J.** 1957. Plant disease due to bacteria, Cambridge.
- 5 — **Maclahlan, D.S.**, 1960. Disinfectants and potato ring rot control, Reprint from American potato Journal **37**, (10).
- 6 — **Mc Even, W.W.W.**, 1950. Bacteriological technigve, London.
- 7 — **Meyer, A.**, 1903. Practicum der botanishcen Bacterienkunde, jena.
- 8 — **Riker, A.J., — A.C. Hildebrant**, 1953. Bacteria, smaal and mighty, the yearbook of agriculture, plant Disease.
- 9 — **Sorauer, P.**, 1956. Hondbuch der pflanzenkrankheiten Bond II, 2. Liferung.