

Kombucha'nın Bitki Patojeni *Fusarium* Türlerine Karşı Antifungal Etkileri-1

Nilay ERGÜN¹

Perihan GÜLER^{2*}

¹Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yahşihan-Kırıkkale

²Kırıkkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Yahşihan-Kırıkkale

*Sorumlu Yazar:

E-posta:perihanguler71@gmail.com

Geliş Tarihi: 18 Ocak 2016

Kabul Tarihi: 26 Şubat 2016

Özet

Kombucha, asetik asit bakterileri ile mantarların simbiyotik birlikteliğiyle şekerli çay fermentasyonu ile elde edilen, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri için tüketilen bir içecektir. Kombucha'nın antikanser, antiromatizmal, antiviral, antifungal, antiallerjen, immün sistemi destekleyen, kardiyovasküler hastalıklar ile sindirim sistemi sorunlarını giderici, şeker, kolesterol ve tansiyon düzenleyici etkileri bulunmaktadır. Çalışmamızda Kombu mantarının bitki patojenleri *Fusarium* türleri üzerine antifungal etkileri araştırılmıştır. Kombu ekstraktı hazırlanırken, kaynatılan 1 litre suya 60 gram şeker ve 2 adet siyah poşet çay ilave edildi ve 20 dakika demleme sonrasında soğutuldu. Kombu kültürü ilave edilerek karanlık ortamda ve 26±1°C' de fermentasyona bırakıldı ve 10 gün sonra kombu ekstraktları kullanıma hazır duruma geldi. Çalışmamızda test organizması olarak *Fusarium* türlerinden *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. dimerum*, *F. equiseti* seçilmiştir. Seçilen türler patates dekstroz agar (PDA) merkezine ayrı ayrı olacak şekilde inokule edildi. Karanlıkta, 26±1°C' de 4 gün inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonrasında kullanılan *Fusarium* türlerinden 5 pelet alındı ve 150cc' lik Nutrient Broth besi ortamına inokule edilerek 140 rpm, 26±1°C' de 72 saat inkübe edildi. Gelişen türlerden ayrı ayrı olacak şekilde 1 ml malt ekstrakt agar (MEA) besiyerinin üzerine örtecek şekilde inokule edildi. Whatman filtre kağıdı no 1'den oluşturulan 5mm' lik disklerle steril distile su ve Kombu ekstraktı emdirildi. Distile su emdirilmiş diskler kontrol grubu olarak kullanıldı. Petri kabına kontrol grubu diskler ile Kombu ekstraktı emdirilmiş diskler yaklaşık 3cm aralık olacak şekilde besiyeri merkezine inokule edildi. Karanlıkta, 26±1°C' de 4 gün inkübe edildi ve oluşan zon çapları ölçüldü.

Anahtar Kelimeler: Antifungal etki, *Fusarium*, Kombucha

The Antifungal Effects of Kombucha against the Plant Pathogens *Fusarium* Species-1

Abstract

Kombucha, obtained by fermentation of sweetened tea with a symbiotic association of fungi with acetic acid bacteria, is drink consumed for positive effects on human health. Kombucha anticancer, antirheumatic, antiviral, antifungal, antiallergenic, supports the immune system, cardiovascular diseases, digestive system, relieving the problems, diabetes, cholesterol and blood pressure are regulatory implications. In our study, the antifungal effects of Kombucha were investigated against plant pathogens *Fusarium* species. When Kombucha extract prepared, 60 grams of sugar and 2 black tea bags were added boiled in 1 liter of water and cooled 20 minutes after infusion. Kombucha culture was added and in the dark, and fermentation was allowed to 26 ± 1 ° C. After 10 days Kombu extracts were available for use. In this study, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. dimerum*, *F. equiseti* from *Fusarium* species were selected as test organisms. Selected species was inoculated to potato dextrose agar (PDA) center separately. In the dark, it was incubated at 26 ± 1 ° C for 4 days. After the incubation period, five pellets were taken from *Fusarium* species and at the Nutrient Broth (150cc) was inoculated and was incubated at 140 rpm, 26 ± 1 ° C for 72 hours. Then, developing species (1ml) was inoculated to malt extract agar (MEA) to cover for the agar medium. Sterile distilled water extracts and Kombu extracts were absorbed to Whatman filter paper No.1 discs (5mmØ). Distilled water impregnated discs were used as controls. Control group discs and Kombucha extract impregnated discs were inoculated into the center of medium to be approximately 3 cm intervals. In the dark, they were incubated at 26 ± 1 ° C for 4 days and were measured the formed zone diameters.

Keywords: Antifungal effect, *Fusarium*, Kombucha

GİRİŞ

Kombucha köken olarak Kuzeydoğu Çin-Mançurya bölgesinde tespit edildi [2] ve daha sonra Rusya, Almanya ve Orta Avrupa'ya ve oradan tüm dünyaya yayıldı [10].

Kombucha, bakteri (*Acetobacter xylinum* ve *Bacterium gluconicum*) ile mantar suşlarının (*Zygosaccharomyces kombuchensis*, *Pichia fluxum* ve *Saccharomyces* sp.) simbiyotik birlikteliğiyle [14], şekerli çay fermentasyonu ile elde edilen, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri için tüketilen bir içecektir [8, 10].

Kombucha'nın fermentasyonu çeşitli metabolik ürünler içermektedir. Asetik asit, askorbik asit, sitrik asit, malik asit, tartarik asit, süksinik asit, purivik asit, bütirik asit, glukronik asit, hyaluronik asit, laktik asit, usnik asit, sukroz, glikoz, ve fruktoz gibi şekerler; Vitamin B1, B6, B12 ve C; 14 amino-asit, lipitler, proteinler, gliserol, bazı hidrolitik enzimler, aktif antibiyotik maddeler, fenol, bazı çay polifenollerini ve miner-

aller bulunmaktadır [4, 5, 11, 12, 13, 16, 17, 19, 20]. Kombucha çayının içerisinde bulunan kateşinler güçlü bir antioksidan aktivitesi, anti-kanser, anti-inflamatuar, anti-diyabet özellikler göstermiştir [8]. Kardiyovasküler rahatsızlıklar, ateroskleroz ve gen mutasyonlarına karşı korucuyu etkisi gözlemlenmiştir. Kombucha'nın olası etkileri içerisinde bağışıklık sisteminin uyarılması, sindirim, karaciğer fonksiyonlarının veya genel metabolizmanın iyileştirilmesi, fermentasyonun çayda getirdiği değişikliklerle ilişkili olabilir [10].

Çalışmamızda, Kombucha mantarının bitki patojenleri *Fusarium* türleri üzerine antifungal etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kombucha ekstraktının hazırlanışı

Kombucha ekstraktı hazırlanırken, siyah çay ve şeker kullanıldı [18]. Kaynaktaki bu metod modifiye edilerek kaynamış 1 litre suya 60 gram glikoz ve 2 adet siyah poşet çay ilave edildi ve 20 dakika demleme sonrasında soğutuldu. Çay oda sıcaklığına kadar soğuduğunda, ekstrakt bir cam kabın içerisine aktarıldı [6]. +4°C’ de muhafaza edilen Kombucha kültürü [1] hazırlanan sıvı ortama ilave edildi. Kombu ekstraktı konulan kabın ağzı, meyve sineklerinin, tozun, bitki sporlarının ve diğer kirletici maddelerin giremeyeceği şekilde küçük gözenekli bir tülbentle kapatıldı [15]. Karanlık ortamda, 26±1°C’ de fermentasyona bırakıldı. 10 gün sonra kombucha ekstraktları kullanıma hazır duruma geldi.

Test Organizmaları

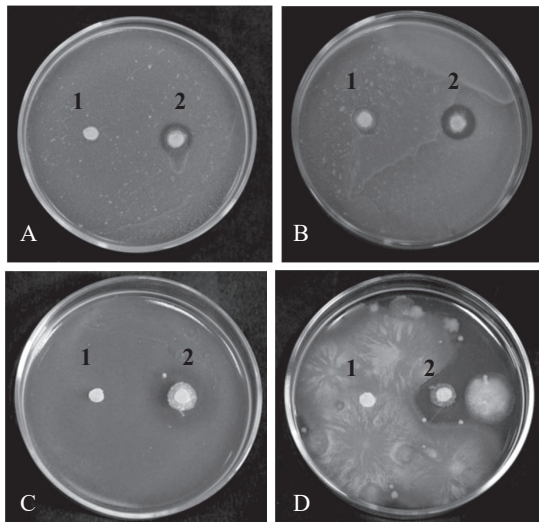
Çalışmamızda test organizması olarak *Fusarium* türlerinden, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. dimerum*, *F. equiseti* seçildi. Seçilen türler patates dekstroz agar (PDA) merkezine ayrı ayrı olacak şekilde inokule edildi [24]. Karanlıkta, 26±1°C’ de 4 gün inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonrasında kullanılan *Fusarium* türlerinden 5 pelet alındı ve 150cc’ lik Nutrient Broth besi ortamına inokule edilerek 140 rpm, 26±1°C’ de 72 saat inkübe edildi.

Tablo 1. Kombucha’nın antifungal etkileri

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zon çapları (mm)	
	Kontrol*	Kombucha ekstraktı
<i>Fusarium dimerum</i>	0	11,4
<i>Fusarium solani</i>	0	13
<i>Fusarium oxysporum</i>	0	19,1
<i>Fusarium equiseti</i>	0	24,3

*Distile su

Disk difüzyon yöntemi ile tespit edilen sonuçlar Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Kombucha’nın *Fusarium* türleri üzerine etkisi. A- *F. dimerum*, B- *F. solani*, C- *F. oxysporum*, D- *F. equiseti*. 1- Kontrol (distile su) 2- Kombucha

Yöntem

Antifungal aktiviteler Disk Difüzyon metodu ile ölçüldü [23]. Nutrient Broth besiyerinde geliştirilen *Fusarium* türlerinden ayrı ayrı olacak şekilde 1 ml malt ekstrakt agar (MEA) besiyerinin üzerine örtecek şekilde inokule edildi. Whatman filtre kağıdı no 1’den oluşturulan 5mm’ lik disklerle steril distile su ve Kombu ekstraktı ayrı ayrı emdirildi. Distile su emdirilmiş diskler kontrol grubu olarak kullanıldı. Petri kabındaki besiyeri merkezine kontrol grubu diskler ile Kombucha ekstraktı emdirilmiş diskler yaklaşık 3cm aralık olacak şekilde inokule edildi. Karanlıkta, 26±1°C’de 4 gün inkübe edildi.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmamızda Kombucha’nın bitki patojeni *Fusarium* türlerinden, *Fusarium dimerum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*’ye karşı antifungal etkileri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Tablo 1’de verilmiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, Kombucha çayı hazırlanırken ticari şeker kullanılmıştır. Kombucha çayının hazırlanışında, monosakkaritlerden; glikoz, fruktoz, dekstroz, dissakkaritlerden; laktoz, maltoz, sükröz kullanıldığı bildirilmiştir [15].

Kombucha ekstraktlarının farklı organizmalara karşı antiviral, antibakteriyel ve antifungal etkileri birçok araştırmannın konusunu oluşturmuştur. Kombucha, *Entamoeba cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus epidermis*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* ve *Helicobacter pylori* patojenlerinin gelişimini inhibe edebilir [22].

Shehata ve Lila [21]’nin yaptıkları çalışmada, Kombucha’nın bakterilerden *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Micrococcus roseus*, *M. luteus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Yersinia enterocolitica*, *Streptomyces* türlerine karşı antimikrobiyal, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Penicillium* türlerine karşı antifungal etkileri araştırılmıştır. Kombucha çayı, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* ve *Penicillium* türlerine karşı antifungal etki göstermemiştir. Bu araştırma Greenwalt ve arkadaşları’nın [9], *Salmonella enterica* Serotype typhimurium, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* türlerine karşı Kombucha’nın antimikrobiyal etkisi olan fakat

Candida albicans türüne karşı inhibe edici etkisi olmadığını gösteren çalışmayla yaklaşık olarak aynı doğrultuda sonuçlar vermiştir [21].

Kombucha, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Serovar typhimurium*, *Micrococcus luteus* ve *Staphylococcus epidermidis* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir [7].

Battikh ve arkadaşları [3], Kombucha'nın *Candida* türlerine karşı antifungal etkisini araştırmıştır. Bu çalışmaya göre *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* ve *C. albicans* türlerine karşı Kombucha antifungal etki gösterirken, *C. parapsilosis*, *C. sake* ve *C. krusei* türlerine karşı bir etki göstermemiştir.

KAYNAKLAR

[1] Aloulou, A., Hamden, K., Elloumi, D., Ali, M. B., Hargafi, K., Jaouadi, B. & Ammar, E. (2012). Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. BMC complementary and alternative medicine, 12(1), 63.

[2] Batista, R. A., Rodrigues, S. A., & Xavier Filho, L. (2011). Antimicrobial activity of broth fermented with kombucha colonies. Journal of Microbial & Biochemical Technology, 2009.

[3] Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A., & Ammar, E. (2013). Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. Journal of Food Biochemistry, 37(2), 231-236.

[4] Bauer-Petrovska, B., & Petrushevska-Tozi, L. (2000). Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha drink. International journal of food science & technology, 35(2), 201-205.

[5] Blanc, P. J. (1996). Characterization of the tea fungus metabolites. Biotechnology letters, 18(2), 139-142.

[6] Chu, S. C., & Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. Food Chemistry, 98(3), 502-507.

[7] Deghrigue, M., Chriaa, J., Battikh, H., Kawther, A. B. I. D., & Bakhrouf, A. (2013). Antiproliferative and antimicrobial activities of Kombucha tea. African Journal of Microbiology Research, 7(27), 3466-3470.

[8] Dufresne, C., & Farnworth, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: a review. Food research international, 33(6), 409-421.

[9] Greenwalt, C. J., Ledford, R. A., & Steinkraus, K. H. (1998). Determination and Characterization of the Antimicrobial Activity of the Fermented Tea Kombucha. LWT-Food Science and Technology, 31(3), 291-296.

[10] Greenwalt, C. J., Steinkraus, K. H., & Ledford, R. A. (2000). Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. Journal of Food Protection, 63(7), 976-981.

[11] Harbowy, M. E., Balentine, D. A., Davies, A. P., & Cai, Y. (1997). Tea chemistry. Critical reviews in plant sciences, 16(5), 415-480.

[12] Hesseltine, C. W. (1965). A millennium of fungi, food, and fermentation. Mycologia, 57(2), 149-197.

[13] Kappel, T., & Anken, R. H. (1992). An aquarium myxomycete: *Didymium nigripes*. Mycologist, 6(3), 106-107.

[14] Kurtzman, C.P., Robnett, C.J., Basehoar-Powers, E., (2001). *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, a new ascosporogenous yeast from 'Kombucha tea'. FEMS Yeast Res 1: 133-138.

[15] Kutluer, F., (2009). 'Kombucha Mantarının Kültürel Özellikleri ve Şeker Redüksiyonunun İncelenmesi', Yüksek Lisans Tezi (Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).

[16] Liu, C. H., Hsu, W. H., Lee, F. L., & Liao, C. C. (1996). The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation. Food Microbiology, 13(6), 407-415.

[17] Mayser, P., Fromme, S., Leitzmann, G., & Gründer, K. (1995). The yeast spectrum of the 'tea fungus Kombucha'. Mycoses, 38(7-8), 289-295.

[18] Murugesan, G. S., Sathishkumar, M., Jayabalan, R., Binupriya, A. R., Swaminathan, K., & Yun, S. E. (2009). Hepatoprotective and curative properties of Kombucha tea against carbon tetrachloride-induced toxicity. J Microbiol Biotechnol, 19(4), 397-402.

[19] Petrovic, S., & Loncar, E. (1996). Content of water-soluble vitamins in fermentative liquids of tea fungus. Mikrobiologija.

[20] Sievers, M., Lanini, C., Weber, A., Schuler-Schmid, U., & Teuber, M. (1995). Microbiology and fermentation balance in a kombucha beverage obtained from a tea fungus fermentation. Systematic and applied microbiology, 18(4), 590-594.

[21] Shehata, S. F., & Lila, A. A. (2005). Antimicrobial activity of the fermented tea kombucha. Annals of Agricultural Science (Cairo), 50(2), 467-477.

[22] Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(6), 2589-2594.

[23] Stoke, J. E., & Ridgway, G. L. (1980). Clinical Bacteriology, Edward, Arnold Ltd.

[24] Türkoğlu, A., Güler, P., Araz, A., Kutluer, F., & Kunduz, İ., (2011). Antifungal Effects of *Clitocybe odora* (Bull.: Fr.) Kumm. Against The Plant Pathogen *Fusarium culmorum* and *Fusarium moniliforme*.