

T. C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL MUTAJENLERİN *Botrytis cinerea* (PERS.)'NİN BİYOLOJİSİNE VE DOMATESTEKİ PATOJENİTESİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Berrin ÖZGEN

ÇANAKKALE-2006

T. C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL MUTAJENLERİN *Botrytis cinerea* (PERS.)’NİN BİYOLOJİSİNE VE DOMATESTEKİ PATOJENİTESİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan : Berrin ÖZGEN
Danışman : Yrd. Doç. Dr. İsmet YILDIRIM

ÇANAKKALE-2006

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu araştırma, aşağıda belirtilen jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Yrd. Doç. Dr. İsmet YILDIRIM

Üye : Yrd.Doç. Dr. Figen MERT TÜRK

Üye : Doç Dr. Murat ŞEKER

Kod No:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet Emin ÖZEL
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	III
ÇİZELGELER.....	IV
ŞEKİLLER.....	V
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
3. MATERYAL VE METOD.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Metod.....	15
3.2.1. Patojenite testi.....	15
3.2.2. Fungusun reizolasyonu.....	16
3.2.3. Tek spor kültürünün elde edilmesi.....	16
3.2.4. Kimyasal mutajenlerin <i>Botrytis cinerea</i> üzerine etkilerinin saptanması.....	17
3.2.4.1. Kafein ve kolhisin uygulamalarının koloni gelişimine etkisi.....	17
3.2.4.2. Kafein ve kolhisin uygulamalarının <i>Botrytis cinerea</i> konidisi üzerine etkileri.....	17
3.2.5. Fiziksel mutajenlerin <i>Botrytis cinerea</i> üzerindeki etkileri.....	18
3.2.5.1. UV radyasyonun koloni gelişimine etkisi.....	18
3.2.5.2. UV radyasyonun <i>Botrytis cinerea</i> konidisi üzerine etkileri.....	18
3.2.5.3. EMA uygulamalarının koloni gelişimine etkisi.....	18
3.2.5.4. EMA'nın <i>Botrytis cinerea</i> konidisi üzerine etkileri.....	19
3.2.6. Fiziksel ve kimyasal mutajenlerin <i>Botrytis cinerea</i> patojenitesi üzerine etkisinin belirlenmesi.....	19
3.2.7. Fiziksel ve kimyasal mutajenlerin <i>Botrytis cinerea</i> 'nın spor verimine etkisinin belirlenmesi.....	19
3.2.8. İstatistiksel analizler.....	20

4. BULGULAR.....	21
4.1. Kimyasal Mutajenlerin <i>Botrytis cinerea</i> Üzerine Etkileri.....	21
4.1.1. Kafein mutajeninin etkisi.....	21
4.1.2. Kolhisin Mutajeninin Etkisi.....	25
4.2. Fiziksel Mutajenlerin <i>Botrytis cinerea</i> Üzerine Etkileri.....	29
4.2.1. UV radyasyon etkisi.....	29
4.2.2. Elektro Manyetik alan (EMA) Etkisi.....	32
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	35
5.1. Kimyasal Mutajenlerin <i>Botrytis cinerea</i> üzerine etkileri.....	35
5.1.1. Kafein mutajeninin etkisi.....	35
5.1.2. Kolhisin mutajeninin etkisi.....	37
5.2. Fiziksel Mutajenlerin <i>Botrytis cinerea</i> üzerine etkileri.....	38
5.2.1. UV radyasyonun etkisi.....	38
5.2.2. Elektro Manyetik Alan (EMA) etkisi.....	40
ÖZET.....	42
SUMMARY.....	43
KAYNAKLAR.....	44
TEŞEKKÜR.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	55

ÖZ

Botrytis cinerea Pers. (anamorf; *Botryotinia fuckeliana* (De Bary) Whetzel), tüm dünya yüzeyine yayılmış kapalı ve açık ortamda yetiştirilen süs bitkilerini, sebze ve meyveleri içine alan 235'ten fazla ekonomik öneme sahip bitkilerde büyük kayıplara yol açabilen, hasat öncesi ve sonrasında görülebilen bir bitki patojenidir. Hastalık domates bitkisinde hasat sonuna doğru infeksiyon oluşturarak ürünü hasat edilemez hale getirmektedir. *B. cinerea* ile savaşımında bir çok fungusit kullanılmış, ancak patojenin bu fungusitlere karşı dayanıklılık oluşturması hastalıkla savaşımı zorlaştırmaktadır. Alternatif mücadele yöntemlerinin denendiği patojene karşı mutasyona sebep olabileceği düşünülen bir takım fiziksel ve kimyasal mutajenlerin etkisi belirlenmemiştir.

Bu çalışmada amacı bazı fiziksel (Ultraviyole radyasyon ve Elektro Manyetik Alan) ve kimyasal (Kafein ve Kolhisin) mutajenlerin *B. cinerea*'nın biyolojisine ve patojenitesine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Kafein, kolhisin, Ultraviyole radyasyon ve Elektro Manyetik Alan mutajenlerinin denendiği çalışmada, kimyasal mutajenlerden kafeinin fungusun spor verimi, çimlenmesi ve çim borusu uzunluğu üzerine etkili olduğu, 1000 ve 3000 ppm dozlarından sonra ise koloni gelişiminde inhibisyon oluşturduğu saptanmıştır. Mutajenin patojenitesine etkisi ise 300 ppm ve üzeri dozlarda görülmüştür. Genel olarak doz serisi arttıkça fungusun koloni gelişimi, spor verimi, çim borusu uzunluğu ve patojenitesinde azalma olduğu saptanmıştır. Kolhisin, fungusun spor verimine etkili olmamış, koloni gelişimine, çim borusu uzunluğu ve patojenite üzerine etkili olmuştur. Fungusun hastalandırma yeteneği 100 ppm'den itibaren azalmış ve koloni gelişimi ise sadece 3000 ppm'de azalmıştır.

Fiziksel mutajenlerden olan 350-400 nm Ultraviyole (UV) radyasyon, *B. cinerea*'nın sadece spor çimlenmesini etkilemiş; koloni gelişimi ve patojenitesi üzerinde etkisi görülmemiştir. UV radyasyona maruz bırakılan (1 dk) sporların 24 saat sonraki çimlenme verilerinde, sayılan 400 spordan sadece 7 tanesi çimlenmiştir. Yüksek dozlarda ise hiç çimlenme görülmemiştir. Elektromanyetik alanın (EMA) *B. cinerea*'nın farklı fungal dönemler üzerine etkisi ise istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Araştırma sonuçlarına göre süs bitkisi, sebze ve meyvelerden oluşan birçok bitkide önemli kalite ve verim kayıplarına yol açan *B. cinerea*'nın farklı gelişim evrelerine ve fungusun patojenitesine olan etkileri saptanmıştır. Yapılan çalışmanın gelecekte dayanıklılık oluşturan, yüksek virlense sahip bireylerin ortaya ıkması gibi karşılaşılabilecek sorunlara ışık tutacağı dūřünölmektedir.

ABSTRACT

Botrytis cinerea Pers. (anamorf; *Botryotinia fuckeliana* (De Bary) Whetzel) is a cosmopolite plant pathogen causing disease in 235 hosts containing ornamental plants, vegetables and fruits cultivated in closed and open areas and can be seen pre- and post-harvest. Disease infections towards the harvest of tomato fruits can cause decay and decrease marketing value. Many fungicides were used to control the devastating pathogen, *B. cinerea*, but pathogen has developed resistance toward these fungicides causing difficulty in control of the disease. Alternative control methods employing some chemical and physical has not been studied previously, therefore, we aimed to investigate the effects of some physical and chemical mutagens on the biology and pathogenicity of *B. cinerea*. In this study 4 different mutagens were employed; chemical mutagen of caffeine is effected on fungus spore germination, spor yield and spore germ tube elongation, over 1000 and 3000 ppm dosage colony growth was inhibited. The effect of fungus pathogenicity was seen on 300 ppm and over dosages. When the dosage series were increased, fungus colony growth, spore yield, germ tube elongation and pathogenicity were decreased. Chemical mutagen of colchicine did not effect fungus spore yield although colchicine is effect on colony growth, germ tube elongation and pathogenicity. Fungus pathogenicity was decreased from 100 ppm and colony growth was decreased only 3000 ppm.

Physical mutagen, 350-400 nm Ultraviolet (UV) radiation effect was seen only spore germination. At 1 moment, the least UV dosage, only 7 number from counted 400 spore were germinated. At higher dosages any germination was not seen. UV radiation only effect on fungi spore although colony growth and pathogenicity were not. Electromagnetic Field (EMF) of *B. cinerea*'s different fungal stages is not important statistical dimension, was determined.

The effects of the mutagens on the biology and pathogenicity of *B. cinerea* were investigated with this study. The results obtained from this research may be used in future experiments on fungicide-resistant and high virulent strain.

ÇİZELGELER

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Kimyasal mutajenlerin formülasyonları ve uygulama dozları.	15
Çizelge 3.2. Fiziksel mutajenlerin uygulama dozları	15
Çizelge 4.1. Kafeinli ortamda <i>Botrytis cinerea</i> 'da ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları.....	21
Çizelge 4.2. Farklı uygulamalar sonucunda <i>Botrytis cinerea</i> 'da ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları	25
Çizelge 4.3. Farklı uygulamalar sonucunda <i>Botrytis cinerea</i> 'da ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları	29
Çizelge 4.4. Farklı uygulamalar sonucunda <i>Botrytis cinerea</i> 'da ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları.....	32

ŞEKİLLER

	Sayfa No
Şekil 4.1. Kafeine maruz kalan <i>Botrytis cinerea</i> 'nın koloni gelişimi.....	22
Şekil 4.2. Kafeinli ortamda <i>Botrytis cinerea</i> kültürlerinin spor verimleri...	23
Şekil 4.3. Kafeine maruz kalan <i>Botrytis cinerea</i> konidilerinin uygulamadan 24 saat sonraki çimlenme durumu.....	24
Şekil 4.4. Kafeinli PDA'da gelişen kültürlerin patojenitesinin belirlenmesi.....	25
Şekil 4.5. Kolhisinli PDA'da <i>Botrytis cinerea</i> 'nın koloni gelişimi.....	26
Şekil 4.6. Kolhisinli ortamda 10 günlük <i>Botrytis cinerea</i> kültürlerinin spor verimleri.....	27
Şekil 4.7. Kolhisinli ortamda <i>Botrytis cinerea</i> sporlarının 24 sa sonraki çimlenme durumları.....	27
Şekil 4.8. Kolhisinli ortamda gelişen <i>Botrytis cinerea</i> 'nın patojenitesi.....	28
Şekil 4.9. UV radyasyonun <i>Botrytis cinerea</i> koloni gelişimi üzerine etkisi.....	30
Şekil 4.10. UV radyasyona maruz kalan <i>Botrytis cinerea</i> kültürlerinin spor verimleri.....	30
Şekil 4.11. <i>B. cinerea</i> sporlarının kontrolde çimlenme durumları.....	31
Şekil 4.12. UV radyasyona maruz kalan (1 dk) <i>B. cinerea</i> sporları.....	31
Şekil 4.13. Farklı sürelerde 350-400 nm UV radyasyona maruz kalan <i>B. cinerea</i> kültürlerinden alınan disklerde patojenite testi.....	32
Şekil 4.14. Elektro Manyetik Alanın <i>Botrytis cinerea</i> koloni gelişimi üzerine etkisi.....	33
Şekil 4. 15. Farklı sürelerde Elektro Manyetik Alan'a maruz bırakılan <i>Botrytis cinerea</i> kültürlerinin spor verimleri	33
Şekil 4.16. Elektro Manyetik Alan'a (11 mT) maruz bırakılan kültürlerde patojenite testi.....	34

1. GİRİŞ

Domates (*Lycopersicum esculentum* L.), dünyada en çok üretilen, tüketilen ve ticarete konu olan tarım ürünlerinin başında gelmesi, insan beslenmesinde vazgeçilmez ürünlerden olması ve gıda sanayinde dondurulmuş, konserve, salça, ketçap, turşu gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle önemli sebzelerin başında gelmektedir. Domates dünyada bir çok ülkede yetiştirilmekle birlikte, Türkiye'nin uygun iklim koşulları nedeniyle üretiminde önemli ülkelerden biridir (Anonim, 2005a).

Domates, Türkiye'de hem tarla sebzeciliğinde hem de örtü altı üretimde en fazla üretilen sebzelerin başında gelmektedir. Domates üretiminde bölgesel yoğunlaşmaya bağlı olarak, domates işleme sanayii Marmara ve Ege Bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Akdeniz Bölgesi ise, daha çok taze tüketime yönelik sera tipi üretimde yoğunlaşmıştır (Keskin ve ark., 2003). Türkiye'de domates verimi dekara ortalama 4.000 kg civarındadır. Türkiye 2005 yılı ekim alanı 260.000 ha, üretimi ise 9.700.000 ton'a ulaşmıştır (FAO, 2005). Çanakkale'de de en çok üretilen sebzeler içinde birinci sırada bulunan domates 2005 yılı verilerine göre 11.927 ha ekim alanı ve 553.550 ton üretimi ile önemli bir ürünümüzdür (Anonim, 2005b).

Çanakkale ili ve çevresinde domates üretiminin bu kadar yoğun yapılması yetiştiricilikte hastalık ve zararlı problemlerini de beraberinde getirmiştir. Sebzelerde görülen hastalıklardan biri olan *Botrytis cinerea* ise domates yetiştiriciliğinde görülen önemli hastalıklardan biridir. Çanakkale yöresinde çok sık olmamakla birlikte dönem dönem hasat sonunda karşılaşılan *B. cinerea* uygun koşullar sağlandığında ürünü hasat edilemez hale getirebilmektedir. Özellikle seralarda yoğun sporulasyonu ve havai sporları sayesinde etrafa yayılarak bir bitkiden diğerine kolayca geçebilir ve enfeksiyon oluşturabilir. Etmen tüm bitki dokusunda enfeksiyon oluşturabildiği gibi özellikle meyvelerde hasat sonu görülerek verim kayıplarına neden olur.

Hastalıkla savaşmada çoğunlukla kimyasal mücadele üzerinde durulmuştur. Koruyucu fungusitlerden dikarboksimide'ler ve sistemik fungusitlerden benzimidazole'ler en yaygın kullanılan kimyasallardır. Ancak *B. cinerea*'nın bu fungusitlere genetik karakterli dayanıklılık yeteneğinin olması, hastalıkla savaşımı güçleştirmektedir. Bu tür dayanıklılık ilk kez 1971 yılında saptanmış ve kimyasal

savaşıma alternatif mücadele yöntemleri geliştirme yoluna gidilmiştir (Bollen ve Scholten, 1971).

Bu tez konusu ile domates yetiştiriciliğinde kurşuni küf hastalığına neden olan *B. cinerea*'nin verim ve kalite kayıplarının azaltılması ve hastalıkla alternatif savaşıma yardımcı olabileceği düşünülen bir takım fiziksel ve kimyasal mutajenlerin patojene olan etkisi araştırılmıştır.

Bilindiği gibi mutajenler canlılarda mutasyona neden olan etkenlerdir. Fiziksel mutajenlerden elektromanyetik alan (EMA) ve ultraviyole (UV) radyasyon, kimyasal mutajenlerden ise kafein ve kolhisin kullanılmıştır. EMA elektrikle çalışan aletlerin ve enerji nakil hatlarının yaydığı enerji olarak bilinmektedir. UV radyasyon ise güneşten gelen farklı dalga boylu ışıklardan oluşmaktadır. Bu çalışmada kullanılan fiziksel mutajenler canlılarda iyonlaştırmaya sebep olamayacak kadar zayıf enerjili radyasyonlardır. Kimyasal mutajenlerden kafein, çay bitkisi çeşitlerinden elde edilirken, kolhisin ise çiğdem bitkisinde bulunmaktadır.

Çalışmada kullanılan mutajenlerin patojenin biyolojisine olan etkisini belirlemek amaçlı fungusun koloni gelişim hızı, koloni rengi, spor verimi, spor çimlenmesi ve spor çim borusu uzunluğu dikkate alınmıştır. Patojenite belirleme çalışmalarında ise mutajenlere tabi tutulan fungusun domates yapraklarındaki hastalandırma şiddeti dikkate alınmıştır. Böylelikle doğada kendiliğinden bulunan bir takım mutajenlerin funguslar üzerine olan etkisi belirlenmeye çalışılmış ve bu sonuçlara göre bu mutajenlerin alternatif savaşım olarak kullanılma etkinliği saptanmaya çalışılmıştır. Ayrıca bu çalışma sonucunda, günlük hayatta pek çok kez karşılaştığımız iyonize olmayan radyasyonun ökaryot olan funguslara etkisinin belirlenmesiyle insanlar üzerine olan etkilerinin ne derecede önemli olabileceği üzerine yorumlar yapmak mümkün olabilecektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Botrytis cinerea Pers. (anamorf; *Botryotinia fuckeliana* (De Bary) Whetzel), apothesyal ascomycetesler sınıfına dahil filamentli bir fungustur (Vallejo ve ark., 2001). Tüm dünya yüzeyine yayılmış, kapalı ve açık ortamda yetiştirilen süs bitkilerini, sebze ve meyveleri içine alan 235'ten fazla ekonomik öneme sahip bitkilerde büyük kayıplara yol açabilen hasat öncesi ve sonrasında görülebilen bir bitki patojenidir (Jarvis, 1977). Patojen için optimum koşullar sağlandığında domateslerde %30–35 oranında kayba neden olduğu bilinmektedir (Bourbos ve Skoudridakis, 1994).

Kurşuni küf olarak bilinen *B. cinerea* çiçek yanıklığı, meyve çürümesi, gövde kanseri ve yaprak lekesi gibi doku maserasyonuna sebep olan belirtiler gösterir. Etmen kış boyunca çürümüş bitki artıkları üzerinde, miselyum ya da sklerot olarak toprakta bir yıl canlı kalabilir (Yıldız, 1991). Eşeysiz üreme sonucu oluşan sporlar konidilerdir. Havai sporları sayesinde etrafa yayılarak uygun nem ve sıcaklıkta bitki üzerinde kolonize olabilmektedir. Kerssies ve ark. (1997), yaptıkları bir çalışmada özellikle sera içindeki havayı örnekleyerek *B. cinerea* konidilerinin yoğun olduğunu saptamışlardır. Rüzgarla taşınmasının yanı sıra meyve sineği (*Drosophila melanogaster*), çiçek tripsleri (*Thrips obscuratus*) ve salkım güvesi (*Lobesia botrana*) larvalarının canlı konidiyi taşıyabildikleri saptanmıştır. Çiçek sineği konidiyi kütikulası üzerinde dolaylı yoldan taşımasının yanında sineğin bağırsağında ve sindirim sisteminde de fungusun mikrosklerotları bulunmuştur (Prins ve ark., 2000).

Fungus konukçusunu mekanik ve kimyasal işlemlerin kombinasyonu ile direkt olarak penetre edebildiği gibi yaralardan veya ikincil bir parazit olarak bitkiye girebilmektedir (Canlıhoş ve Mansfield, 1995). Hava sıcaklığı, nem ve yaprak ıslaklığı spor çimlenmesi ve misel gelişimi için çok önemlidir (Yıldız, 2000). Patojen yaklaşık olarak %90 ve üzeri serbest nemde 18 saat sonunda domates bitkisinin petallerini infekte edebilir. Nemin %90 'ın altına düşmesiyle de enfeksiyon gerçekleşmez (Eden ve ark., 1996a). Eden ve ark. (1996b), sıcaklık, nem ve inokulum konsantrasyonunun *B. cinerea*'nın domateslerde oluşturduğu çiçek ve gövde enfeksiyonlarına olan etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucu çiçek

infeksiyonları inokulum konsantrasyonunun olduğu ve yüksek (%100) nemin olduğu dönemlerde arttığı, nemin %56'ya inmesi durumunda infeksiyonun az da olsa devam ettiği gözlenmiştir. Domatesin gövde infeksiyonlarında, inokulum konsantrasyonunun nemle ilişkisi daha zayıftır. Sıcaklığın artmasıyla (15°C'den, 25°C'ye) gövde infeksiyonları azalırken, çiçek infeksiyonlarında artış görülmüştür. Nemin azaltılmasıyla beraber çiçek infeksiyonları azalırken fungusun yok olmadığını tespit etmişlerdir.

Fungal etmen infeksiyon aşaması boyunca hücre duvarında zararlanmaya neden olan pektinin yapısını bozan enzimleri (örneğin pektin metil esteraz, pektin liyaz ve çok sayıda üretilen poligalakturonaz enzimleri gibi) üreterek konukçu dokuda hücre ölümlerine neden olur. Etmendeki pektolitik enzimlerin rolü ise bitki doku maserasyonu, hücre ölümü ve patojenitedir (Buzi ve ark., 2003). Patojen özellikle depolanmış meyvelerde, infekteli olandan sağlıklı olan meyveye çabucak geçerek etilen üretimini artırır ve meyvelerin kısa sürede olgunlaşarak yumuşamasını sağlar (Baraldi ve ark., 2002). Etilen bitkide yaprak yaşlanması ya da meyve olgunlaşması boyunca üretildiği için bitki yüzeyinde konidi çimlenmesi ve ilk infeksiyonların oluşumuna teşvik ettiği tahmin edilmektedir. Bu yüzden etilen fungusun hif gelişimi ve konidi çimlenmesini hızlandırıp konukçu dokusunu zayıflatmakta ve hastalık hızlı bir şekilde gelişmektedir (Prins ve ark., 2000).

Hastalıkla mücadele, çoğunlukla kimyasal savaşıma dayanmaktadır. Kimyasal savaşımında Benzimidazole ve Dikarboksimide'ler en yaygın kullanılan fungusitlerdir (Baraldi ve ark., 2002). Ülkemizde ise Dikarboksimitlerden iprodione, procymidone ve vinclozolin en çok kullanılan fungusitlerdendir (Erkan ve ark., 1997). Ancak, bu fungusitlere karşı duyarlılığı azalmış mutant ırkların ortaya çıkmasına bağlı olarak savaşımın başarısı belirlenir ve dayanıklılık durumunda hastalığa karşı hem savaşım güçleşir hem de ürün kayıpları artar (Elad ve Shtienberk, 1995). Ancak 1971 yılının başında fungusun Benzimidazole ve Dikarboksimide'lere olan dayanıklılığı saptanmıştır (Bollen ve Scholten, 1971). Sterol biyosentezi önleyici fungusitlerden Phenyl-Pyrroller ve Anilinopyrimidinler grubunun da fungusta dayanıklılık oluşturduğu tespit edilmiştir (Hänßler ve Pontzen, 1999).

Prins ve ark. (2000) yaptıkları bir çalışmada *B. cinerea*'nın infeksiyon stratejilerini nekrotrofik patojenlerle ilişkilendirmişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucu

B. cinerea'nın kompleks bir patojen olduğu ve basit kontrol önlemleriyle savaşının mümkün olamayacağı kanısına varmışlardır. Bu açıdan bakıldığında patojenin çok yönlü olduğu ve patogenesis boyunca birçok faktörün kombinasyonunu bir araya getirdiği gözlenmiştir.

Fungusun vejetatif hücrelerinde 120 çekirdek bulunması, heterokaryotik karakterde hücrelere sahip olması ve hızlı sporulasyon yeteneği sonucu oluşan mutasyonlar dayanıklı ırkların ortaya çıkmasında rol oynamaktadır (Menzinger, 1965). Ayrıca fitopatojen popülasyonlarının genetik yapılarının bilinmesi, hastalıkla savaşım stratejilerinin geliştirilmesinin temelini oluşturmaktadır (Baraldi ve ark., 2002). Bu nedenle, önemli karakterlerden biri olan dayanıklılığın önceden belirlenmesi, patojene karşı yeni fungusitlerin geliştirilmesinde ve savaşımın başarısı için gereklidir. Vallejo ve ark. (1996), fungusun genetiğini incelemek amaçlı farklı *Botrytis* ırkları üzerinde kromozomal polimorfizm ve ploidi seviyelerini araştırmış ve *Botrytis* ırkları arasında genetik açıdan önemli derecede farklılık olduğu sonucuna varmışlardır.

B. cinerea'da genetik çeşitliliğin ploidi seviyesindeki varyasyondan, anöploidi ve heterokaryosiden kaynaklandığı bilinmektedir (Vallejo ve ark., 2002). Laboratuvar koşullarında seksüel üreme göstermesine karşın tarla koşullarında aseksüel üreyen fungusun, nadiren seksüel üreme gösterdiği saptanmıştır. Seksüel üremenin nadiren görülmesi sonucu mutasyon oluşumu üzerinde seksüel üremenin fazla bir etkiye sahip olmadığı bildirilmektedir (Faretra ve ark., 1988).

Mutasyon tanımına baktığımızda Kent (1996), organizmaların gelişimini hızlandıran, yavaşlatan ya da hiçbir değişikliğe neden olmayan DNA'nın yapısında meydana gelen değişiklikler olarak tanımlamaktadır. Temizkan (1999), ise genotipteki kalıtsal değişmeleri mutasyon olarak tanımlamıştır. Genotipte meydana gelen bu olay, bir ya da daha fazla karakterdeki değişimle kendini belli etmektedir. Böyle bir değişikliğin ürünü ise mutant olarak adlandırılmaktadır. Mutant terimi bir gen, hücre veya bir birey için kullanılabilir. Mutasyona neden olan etmenler ise mutajenler olarak tanımlanmaktadır. Mutajenler, fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki grup altında toplanırlar. Bu mutajenler canlılarda, kromozomların yapı ve sayılarında ya da genlerin fiziksel ve kimyasal yapılarında ani olarak bir takım kalıtsal değişiklikler yaparak, onlara yeni özellikler kazandırabilirler. Günümüzde

radasyon ve kimyasal mutajenler uygun doz ve sürelerde uygulanarak özellikle kültür bitkilerinde verim, dayanıklılık, kalite, erkencilik ve uyum yeteneği konularında olumlu değişmeler sağlanabildiği için etkin bir şekilde kullanılmaktadırlar (Şehirali ve Özgen, 1988).

Doğrudan mutasyonların kendiliğinden meydana gelme olasılığı 10^{-5} - 10^{-10} oranında iken bu oran mutajenler tarafından yaklaşık 10^{-2} 'ye yükseltilebilir. Mutajenler genellikle genler üzerinde hiç fark gözetmeden etkili olurlar. Bu nedenle genlerin yapay mutasyona uğrama şansları eşittir (Temizkan, 1999).

Mutasyonlar spontan olabileceği gibi, fiziksel ve kimyasal etmenlerin uyarısı sonucu ortaya çıkan uyarılmış mutasyonlar olarak da karşımıza çıkabilir. Mutasyona sebep olan kimyasal mutajenlerden en çok kullanılanları etil metil sülfonat (EMS), dietil sülfat (DES), etilen imin (EI), etil nitroso üretan (ENM), metil nitroso üre (MNH) ve kolhisindir. Bunlar DNA replikasyonu esnasında bazların yerine geçerek kimyasal yanılmalara neden olurlar (Şehirali ve Özgen, 1988).

Fiziksel mutajenler, partiküler ve elektromanyetik radyasyonlar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Elektromanyetik radyasyonlar aynı hıza sahiptirler fakat frekansları ile doğru, dalga boyları ile ters orantılı olan enerji seviyelerine göre bir spektruma sahiptirler. Bu dizilimde dalga boyu en yüksekten en düşüğe, ya da enerji seviyesi en düşükten en yükseğe doğru elektrik dalgaları, radyo dalgaları, mikro dalgalar, kızıl ötesi, görülebilir ışık, mor ötesi (Ultraviyole), X ışınları ve gama ışınları yer almaktadır. Spektrum içinde X ve gama ışınları iyonlaştırıcı radyasyon oluştururken spektrumdaki diğer dalgalar iyonlaşma yeteneğinden yoksun zayıf enerjili radyasyon etkisi yaratırlar (Oyar, 1998). Fiziksel mutajenlerden olan ultraviyole (UV) radyasyon DNA molekülündeki primidin bazları arasında kovalent bağların oluşmasına yol açar (Yeşilbağ, 2002).

İyonlaştırıcı radyasyon; madde içerisinden geçerken enerjisini ortama aktarmak suretiyle, ortamdaki atomları doğrudan veya dolaylı yollarla iyonlaştıran radyasyon türüdür. Yeteri kadar enerjiye sahip olmadığı için ultraviyole ışık iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak isimlendirilir. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon nükleer radyasyon değildir ve enerji aktarımını elektromanyetik dalgalarla yapar (Özalphan, 2002).

Güneş ışığı içinde yer alan ve iyonlaştırıcı olmayan fiziksel mutajenlerden olan UV radyasyonu, kısa dalga boylu ve yüksek enerjili olması sebebiyle canlılar üzerinde zararlı etkilere neden olmaktadır. Güneşten gelen UV ışınlarının dalga boyları 200-400 nm (nanometre) arasında değişmektedir. Spektrumun bu aralığındaki UV radyasyonu dalga boylarına göre UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) ve UV-C (200-280 nm) olarak ayrılabilir (WHO, 1994).

Mutasyonda UV'nin en fazla etkili olan 250-260 nm dalga boyu yani UV-C, DNA'nın maksimum emme gösterdiği dalga boyudur. Ancak, bu radyasyonun önemli bir kısmı atmosferdeki ozon tabakası tarafından emildiği için canlılara kadar ulaşmamaktadır (Giese, 1969). Ozon tabakasının incelmesi ile yeryüzüne ulaşan UV radyasyonunun özellikle deri kanseri, katarakt ve bağışıklık yetmezliği gibi hastalıkları artıracığı tahmin edilmektedir (Yel ve Güven, 1990). Literatür taramasında, UV ışınlarının memelilerin deri, bağ dokusu, karaciğer, tiroit bezi ve kan hücreleri üzerindeki etkilerine ait çalışmalara rastlanmıştır (Türker, 2004). Canlılar üzerinde UV'nin etkisi iki biçimde olabilir. Ya bazlardaki tautomerik değişimler için gerekli enerjiyi verir ve elektron hareketi için uyarma yapar; bu şekilde mutasyon oluşumuna yol açar. Ya da pirimidin dimerleri oluşumuna neden olur; sonuçta DNA da kalıcı veya geçici değişmelere yol açar. UV ışınları DNA molekülünde en çok pirimidin (timin, sitozin) bazlarını etkiler. UV ışınlaması ile komşu timin (veya sitozin) bazları arasında kovalent bağlar oluşumuyla pirimidin dimerleri meydana gelir. Bunun sonucunda da DNA molekülünde gereksiz bükülmeler, şekil bozuklukları nedeniyle DNA replikasyonunda hatalar ortaya çıkar (Temizkan, 1999).

UV radyasyonu toprak üstünde yaşayan canlıları doğrudan etkileyen çevresel bir faktördür. 1985 yılında Güney Kutbunda Antartika'da atmosferik araştırmalar yapan bilim adamlarına göre, Dünya'nın Güney Kutbundaki ozon tabakasında meydana gelen incelleme yüzünden, canlılar muhtemelen gelecekte daha yoğun UV radyasyonuna maruz kalacakları bildirilmektedir (Stolarski, 1988). Bu durumda, yukarıda da belirtildiği gibi organizmaların organ ve sistemlerinin UV radyasyonundan etkilenmesi beklenen bir durumdur.

UV radyasyonunun funguslar üzerine etkisini belirlemek amaçlı yapılmış çok sayıda çalışma vardır. *B. cinerea*, daha öncede belirtildiği gibi hasat döneminin

sonlarına doğru infeksiyon gerçekleştirdiğinde hasadı yapılarak depolanan meyve ve sebzelerde depolama boyunca zararlanmalara neden olabilir. Hasat sonrası kimyasal uygulaması ürün üzerindeki pestisit kalıntısı riskinden dolayı birçok ülkede sınırlandırılmış olup depo koşullarında alternatif kontrol metodlarına gereksinim duyulmaktadır (Nigro ve ark., 1998). Depo koşullarında UV radyasyon uygulaması da alternatif kontrol metodlarından biri olarak denenmiştir. Düşük dozlarda UV uygulamasının farklı metodlarla kombine edilmesi depolanan ürünlerin yapısını bozmadığı gibi depo çürüklüklerini önlemede etkili bir yol olduğu bilinmektedir (Nigro ve ark., 1998; Marquenie ve ark., 2002).

Marquenie ve ark. (2002) yaptıkları bir çalışmada depo çürüklük etmenleri olan *B. cinerea* ve *Monilinia fructigena* konidilerini UV-C ($\lambda=254$ nm) ve sıcaklık uygulaması kullanarak inaktive etmeyi başarmışlardır. *B. cinerea* konidileri 15 dk 45°C sıcaklık uygulaması ve 1.00 J/cm² UV-C uygulaması ile inaktive olduğu gözlenmiştir. *M. fructigena* konidilerinin inaktivasyonu için, 3 dk 45 °C sıcaklık ve 0.50 J/cm² UV-C dozu yeterli bulunmuştur. *Botrytis*'e göre *Monilinia* daha duyarlı olduğu sonucu bu çalışmada tespit edilmiştir.

Çilek depolarında *B. cinerea* ile yapılan savaşımın bir diğerinde ise beyaz ışığın, UV-C ve sıcaklık uygulamasıyla kombinasyonu sonucu fungal gelişmede önemli bir farklılık görülmediği sonucuna varılmıştır (Marquenie ve ark., 2003b).

Body-Wilson ve ark. (1998), *B. cinerea* ve saprofitik antagonistler *Alternaria*, *Epicoccum* ve *Ulocladium* funguslarını laboratuvar koşullarında kısa dalga boylu UV radyasyona (254 nm) maruz bırakmışlardır. Fungusların sürekliliğini ve hayatta kalma şansını tespit etmeyi amaçlayan bu çalışmada radyasyona maruz bırakılan funguslar Motueka'da bulunan kivi ağaçlarının yapraklarının iki yüzeyine birden verilmişlerdir. 16 hafta boyunca yapılan gözlem sonucu, spor sayısı yaprağın her iki yüzünde de azalmış ve çimlenme önemli derecede azalmıştır. Sonuçta *B. cinerea* açık renkli pigmentasyonu ve hücre duvarının ince olmasından dolayı kısa dalga boylu UV radyasyona, koyu renkli ve kalın hücre duvarlı *Alternaria*, *Epicoccum* ve *Ulocladium* funguslarından daha fazla duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda fungusların UV radyasyona karşı dirençli olmaları onların melanin içerikleriyle bağlantılı olduğunu göstermektedir.

Melaninler, çeşitli fenolik bileşiklerin oksidatif polimerizasyonu sonucu oluşmuş koyu renkli pigmentlerdir (Doss ve ark., 2003). Mikroorganizmaların UV ışığına olan dayanıklılıkları ise onların UV absorbe eden pigmentleriyle alakalıdır. Bu koyu pigmentli konidilere sahip olan funguslar (*Aspergillus niger*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Ulocladium* ve *B. cinerea* gibi) diğerlerine göre UV ışığına daha dayanıklı oldukları bilinmektedir (Rowan ve ark., 1999). Birçok fungal patojenler içinde melanin biyosentezi; hücre duvarı altındaki pigment birikiminden kaynaklandığı bilinmektedir. Buradan melanin içeren koyu pigmentli sporların UV radyasyonuna daha dayanıklı olabileceği söylenebilir. Dimond ve Duggar (1941), *Rhizopus suinus*, *Mucor dispersus* ve *Aspergillus melleus* fungus sporlarına UV ışığının öldürücü etkisini saptamak amaçlı 2650 Å dalga boyunu kullanmışlardır. Üç fungusun da UV ışığına olan duyarlılıklarının farklı olduğu bu farklılığın ise fungus sporlarının pigmentasyonu, büyüklüğü ve sayısından kaynaklandığını belirtmişlerdir. *Rhizopus suinus* sporlarının diğerlerine göre pigmentasyonundan dolayı radyasyona daha dayanıklı olduğunu belirtmişlerdir. Diğer funguslarda ise üremede logaritmik bir azalma olduğu sonucuna varılmıştır.

Melaninin, fungusun infeksiyon mekanizmasındaki rolü bilinmemesine karşın, virülenslikle bağlantısı olduğu tahmin edilmektedir. Fungal melaninler, fenolik bileşiklerden sentezlenen biopolimerlerdir. Fungusların virülensliğini ve çevresel faktörlere olan dayanıklılığını arttırmaları (Suryanarayanan ve ark., 2004).

Melanize edilmiş ve melanize edilmemiş maya hücrelerinin farklı UV dozlarına tabi tutulan çalışmada melanize edilmiş hücrelerin UV ışığına daha az duyarlı oldukları kanıtlanmıştır. Wang ve Casadevall (1994a)'nin yaptıkları bu çalışmada da melaninin UV ışığına karşı organizmalarda bir koruma sağladığı doğrulanmaktadır.

Melaninlerin organik amin, metal ve polisiklik aromatik hidrokarbon içeren birçok ilaç ve kimyasalla kombine olabildiği saptanmıştır. Melanini bağlayan ilaçlar üretilerek melanin içeren ökaryotik hücrelerde toksik olabilecek kimyasallar geliştirme, gelecekteki çalışma konularından bir tanesi haline gelmiştir (Wang ve Casadevall, 1996b).

Gelecekte melanin oluşumunu engelleyici yeni antimikrobiyal ilaçlar geliştirilmesiyle melanizasyon, ilgi çekici bir hedef haline gelebilir (Morris-Jones ve ark., 2005).

UV radyasyon gibi fiziksel mutajenlerden biri olan EMA da yüksek enerjiye sahip olmadığından iyonlaştırma yeteneğine sahip olmayan zayıf enerjili mutajendir. EMA terimi; mikrodalgalar dahil olmak üzere 0 Hz ile 300 GHz arasında frekansa sahip statik alanları, dalga boyu çok uzun alanlar ve Radyo Frekansı alanlarını kapsar (Anonim, 2006a).

Son yıllarda elektriğin iletimi ve dağıtımına bağlı elektrik ve manyetik alanlara maruz kalmanın biyolojik etkileri hakkında kaygılar ortaya çıkmaya başlamıştır. 1989 yılında ABD, Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Enstitüsü tarafından yayınlanan bir durum raporunda; “güç frekansında oluşan alanlara maruz kalmanın sağlığa zarar verici olarak nitelendirilmesi için yeterli bilimsel kanıt olmadığı” ve “bu alanlara maruz kalmayla ilgili güvenilir limitler oluşturmak için daha fazla araştırmaya gerek olduğu yönünde bir fikir birliği olduğu” belirtilmektedir (Anonim, 2006b).

Elektro Manyetik Alan ışımasının insanlara ve diğer canlılara zararlı etkisi olduğu anlaşılmıştır. EMA ışıması etkisinde kalan canlılar, EMA enerjisini soğurmaktadır. Soğurulan EMA enerjisi vücutta ısınmaya yol açmakta ve bazı organlardaki elektrik akımlarının değişmesine neden olmaktadır. EMA ışıının ayrıca hücrelerin kimyasal yapısını da bozmaktadır. EMA ışıının kimyasal etkileri hücrelerdeki büyük moleküllerin bozulmasına, hücre zarlarının birbirine yapışmasına, hücre iyon dengesinin bozulmasına neden olabilir (Dinçer, 2000).

Elektrik sistemlerinden kaynaklanan EMA oldukça düşük frekanslıdır (50 Hz) ve sistemin gücüne ve yakınlığına bağlı olarak farklı şiddetlerde etkileyici olabilir. Biyolojik sistemlerin farklı frekans ve şiddetlerdeki EMA uygulamalarına farklı biyolojik yanıtlar verdiği bilinmektedir. Bu hücresel yanıtların temel mekanizması, EMA enerjisinin özellikle iyonik formdaki atom veya moleküllerin elektron dönüşlerinin etkilenmesine ve böylelikle iyon enerji düzeylerinin değişimine dayanmaktadır. EMA enerjisinin frekansı, şiddeti, biyolojik sistemin yapısı, hücresel düzeni, su içeriği, EMA kaynağına olan yakınlığı, maruz kalma süresi ve sıklığı gibi faktörlere bağlı olarak meydana gelen bu değişimler biyokimyasal tepkimeler, hücresel iletişim sistemleri, hücre döngüsü, gen transkripsiyonu ve protein sentezine değin uzanan birçok temel sistemin üzerinde etkileri vardır. EMA’nın birinci derecede etkilediği hücresel yapı hücre zarıdır. Özellikle iyon taşınım sistemlerinde

EMA enerjisi nedeniyle meydana gelebilecek değişimler, zar potansiyelini ve iyonlara bağlı olarak hücresel yanıt oluşumlarını etkiler ve birçok biyokimyasal sistemde normal işlevlerden sapmalara yol açabilir (Erol ve ark., 2003).

EMA ışıınımlı ile yapılan çalışmalar daha çok prokaryotlarla denenmiştir. Bazı mayaların kullanıldığı çalışmalar da olmasına karşın, fungal etmenlerle yapılmış çalışma oldukça azdır.

Ramstad ve ark. (2000), 50 Hz elektrik akımı ve manyetik alanın *Propionibacterium acnes*'e olan etkisini araştırmışlardır. Gram pozitif olan bu deri bakterisinin elektrik akımı ve manyetik alan uygulandıktan sonra hücreler arasındaki Ca^{++} iyonu ve pH değişimleri ile hücre canlılığı araştırılmıştır. Hücre süspansiyonları 30 dk boyunca Helmholtz düzeneği kullanılarak 50 Hz, 0,2 mT sünizoidal manyetik alana maruz bırakılmıştır. pH ve Ca^{++} iyonunda bir değişiklik gözlenmezken, hücrelerde ise bir inaktivasyon oluşumu saptanmamıştır.

Dasdag ve ark. (1999), iyonize edici olmayan radyasyonun *E. coli* hücrelerindeki plasmid DNA'ya olan etkisini araştırmışlardır. 9450 MHz ve 2450 MHz radyasyon radyofrekansının *E. coli* Puc9 plasmid DNA'sı üzerine etkisi olmadığı ve mikrodalga ve DNA arasındaki ilişkinin mekanizmasını netleştirmek için daha fazla çalışmaya gerek olduğu sonucuna varmışlardır. Uyguladıkları radyasyonun radyo frekansının DNA moleküllerinin kovalent bağlarında değişikliğe sebep olamayacak kadar düşük olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca radyasyonun meydana getirdiği değişikliklerin radyasyonun frekansı, uygulandığı hücre tipi ve radyasyon uygulama metodundaki farklılıklardan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Mikorizal funguslardan olan *Pisolithus tinctorius* 'a belli dozlarda uygulanan manyetik alanın fungusun miseloyal gelişmesinde oluşturduğu değişikliğe bakmışlardır. Sinuzoidal manyetik alan dalgalarını Helmholtz cihazı kullanarak uygulamışlardır. 7 günlük fungus kültürleri 0,01 mT, 46 Hz frekansta 14 gün boyunca manyetik alana maruz bırakılmış fakat gözlenebilir önemli bir etki görülmemiştir. 0,025 mT ve 0,1 mT, 50 Hz frekansındaki dozlarda ise kültürler 28 gün boyunca manyetik alana maruz bırakılmış ama yine istatistiki açıdan miseloyal gelişmede önemli bir etki görülmemiştir. Manyetik alanın etki mekanizmasının tam

olarak bilinmemesinden dolayı araştırmacılar bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (Ružič ve ark., 1997).

Erol ve ark. (2003), *E. coli* ve *Saccharomyces cerevisiae* türlerinin EMA'daki üreme davranışlarını araştırmışlardır. Günlük hayatta insanların karşılaşılabileceği doz olan 50 Hz frekanslı, 30 μ T EMA düzeyini Helmholtz çemberi aracılığı ile uygulamışlardır. EMA'ya maruz bırakılan ve maruz bırakılmayan prokaryotik ve ökaryotik hücrelerin üreme eğrilerinin karşılaştırılmasıyla belirlenmesini amaçlamışlardır. Elde ettikleri sonuçlar 50 Hz, 30 μ T EMA'a maruz bırakılan her iki hücre tipinin çoğalma hızlarında düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. *S. cerevisiae* hücrelerinde ise uyum evresinde uzamaya neden olduğunu saptamışlardır. Alipov ve ark. (1994) ise *E. coli* ile yaptığı çalışmada EMA'nın hücreye olan etkisinin, maruz kalma süresiyle bağlantılı olduğunu bildirilmektedir.

UV radyasyon ve EMA gibi fiziksel mutajenlerin dışında kimyasal mutajenler ile de yapılmış çalışmalar bulunmasına karşın kafein ve kolhisin gibi kimyasal mutajenlerin mikroorganizmalara, özellikle funguslara olan etkisi konulu yapılmış az sayıda çalışma vardır. Fungal hastalık etmenleriyle savaşmada kimyasal mutajenlerin kullanımı çalışılması gereken bir konudur.

Kimyasal mutajenlerden biri olan kafein (1,3,7-trimethylxanthine) 60'ın üzerinde bitki çeşidinde bulunan bir alkaloiddir (Bogo ve ark., 2003). Kafein, çay (*Camellia sinensis* L.), kahve (*Coffea arabica* L.), Paraguay çayı (*Ilex paraguariensis* St. H.), guaraná (*Paullinia cupana* Mart.) ve kola (*Cola acuminata* Schott & Endl.) gibi aromatik bitkilerde bulunduğu bildirilmiştir (Harborne ve ark., 1999). Yapılan çalışmalarda *Citrus* spp.'nin anterlerinde de kafeine rastlanmıştır (Kretschmar ve Baumann, 1999).

Friedman ve Waller (1983), kafeinin güçlü bir allelopatik etki yarattığını belirtmektedirler. Ayrıca kafein farklı bitki köklerinde mitozu engelleyerek, bu bitkilerin kökleriyle topraktan besin almalarını engellediği belirtilmiştir.

Yapılan çalışmalarda *Coffea arabica* bitkisinde bulunan kafeinin bitki yüzeyindeki birçok böcek ve fungusa toksik olduğunu gözlemlemişlerdir (Frischknecht ve ark. 1986). Bu bitkinin birincil savunma mekanizmasının kafein olduğu ve salgıladığı kafein sayesinde birçok patojenden korunduğu ileri sürülmektedir.

Kafein duyarlı bakterilerde ise RNA ve protein sentezinde tersinir inhibisyonlara sebep olduğu kanıtlanmıştır (Putrament ve ark., 1972). Bakteri çoğalmasını engelleme amaçlı yüksek dozlarda kafein kullanımına gereksinim vardır. Tüm bakteri gruplarında yapılan çalışmalarda dayanıklı ırklar yaygın olarak bulunmuştur. Ancak bu dayanıklılığın sebebi geniş anlamda çalışılmamıştır (Sundar-Raj ve Dhala, 1965). Tek sarmal nükleik asitlerde karmaşaya neden olduğundan dolayı çok sayıda hücrede toksik etkiler gösterebilir. Bu sayede bakterilerde çok sayıda mutant ırk ortaya çıkmaktadır (Bergmann ve ark., 1969). Diğer taraftan *Pseudomonas putida* bakterisi ile yapılan bir çalışmada, bakteri belli dozda verilen kafeini karbon ve azot kaynağı olarak kullandığı saptanmıştır (Woolfolk, 1975).

Kimyasal mutajenlerden bir diğeri ise kolhisindir. Kolhisin, çayır safranı (*Colchicum autumnale*) soğanından elde edilen bir alkaloiddir. 2000 yıl önce kullanılmaya başlanmış ve günümüze kadar gelmiştir. Fransız kimyacılar tarafından 1820 yılında bitkiden izole edilerek farmakolojik olarak kullanılmıştır. Metabolik etkisi bilinmemesine rağmen vücutta laktik asit üretimini düşürerek ürik asit kristallerinin birikimini önler. Böylece gut hastalığı tedavisinde aranan bir kimyasaldır. Kolhisin ve türevleri (örneğin demecolcine) mitozu önleyerek hücre çoğalmasını engeller. Hızlı hücre bölünmesi olarak tanımlanan kanser tedavisinde de kolhisin kullanılmaktadır. Nükleik asit sentezini engelleyen maddelerden biridir (Dowd, 1998).

In vitro koşullarda poliploid bitkilerin elde edilmesi için kullanılabilecek en pratik yöntemlerden birisi, besin ortamı içerisine kolhisin ilave edilmesi ve eksplantların bir süre için bu ortamda geliştirilmesidir. Kolhisin uygulamaları sonucunda bitkilerde değişik ploidi düzeyleri kaydedilmiştir (Tepe ve ark., 2002).

Kolhisinin genel olarak etkisi anafazda kromozomların kutuplara doğru çekilmesini sağlayan iplikçiklerin görevlerini yapmalarını engellemesidir. Böylece kolhisin etkilediği hücrenin kromozom sayısının iki katına çıkmasına neden olur. Fakat bazı durumlarda kolhisinin poliploidi oluşturmadığı, buna karşılık etkilendiği bireyde kromozomlarda bir kısım değişiklikler meydana getirdiği görülebilir. Burada kolhisin bir mutagen gibi etkili olabilir. Kolhisin ile yapılan araştırmalarda çok yıllık çavdarın (*Secale montanum* Guss.) kök uçlarını %0,1 kolhisin içinde üç saat muamele etmişler ve kök uçlarında kromozom sayımı yapmışlardır. Bazı bitkilerde

kromozom sayısının bozulduğu görülmüştür. Kolhisin etkisiyle kromozom sayısının iki katına yükselmesi yerine, diploit fakat mutasyona uğramış bireyler elde etmişlerdir (Elçi, 1994).

Kolhisin kullanımı sonucu poliploid bitkiler elde etmenin mümkün olduğu günümüzde yine kolhisin kullanımı sonucu birtakım hastalıkların tedavisi yöntemleri aranmaktadır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada *Aspergillus fumigatus* fungusunun insanlarda neden olduğu aspergillosis hastalığını önlemek için kolhisin gibi birtakım kimyasallar kullanılmıştır. Nefes yoluyla insan bünyesine giren fungus konidileri, alveoller içinde birikerek akciğerde çimlendiği tespit edilmiştir. Konidi çimlenmesini önlemek amaçlı fungusa 0.5 μ M cytochalasin D ve 5 μ M kolhisin uygulamışlardır. İki kimyasal beraber uygulandıklarında bir inhibisyon gözlenirken, kimyasallar tek başına uygulandıklarında konidi çimlenmesi ve gelişmesi üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır (Wasylnka ve Moore, 2002).

Kolhisinin hastalıkların tedavisinde kullanılmasının yanı sıra insanların kolhisine maruz kalmaları sonucu oluşabilecek birtakım düzensizlikler vardır. Bunlar kolhisinin nefes yoluyla vücuda zararlı dozda alınmasıyla ortaya çıkarak insanlarda mutasyonlara sebep olabilir. Göz, deri, burun ve boğazı tahriş ederek yanmalara sebep olur. Mide bulantısı, kusma, ishal, iştahsızlık ve mide ağrısı belirtileri ortaya çıkar. Bunların yanında karaciğer ve böbreklere de etki ederek insanlarda anemi hastalığı görülebilir. Aşırı dozlarda ise baş ağrısı, kas zayıflığı, koma ve hatta ölüme bile neden olduğu belirtilmiştir (Anonim, 1999).

Yukarıda da özetlendiği gibi, fiziksel mutajenlerden UV ve EMA ile ilgili yapılmış çalışma bulunurken kimyasal mutajenlerle ilgili yapılmış az sayıda araştırma bulunmaktadır.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Materyal

Çalışmanın fungal materyalini oluşturan 118-K *Botrytis cinerea* izolatu Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki koruma Bölümü’nden sağlanmıştır.

Fungusun patojenitesini belirleme çalışmalarında “Porsuk” domates (*Lycopersicon esculentum* L.) çeşidi kullanılmıştır.

In vitro çalışmalarda ise *B. cinerea* üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla fiziksel ve kimyasal mutajenler kullanılmıştır. Kimyasal mutajenlerden kolhisin (colchicine) ve kafein (caffeine) kullanılırken, fiziksel mutajenlerden ise Ultraviyole (UV) radyasyon ve Elektro Manyetik Alan (EMA) kullanılmıştır. Mutajenlerin formülasyonları ve kullanılan dozları Çizelge 3.1. ve 3.2.’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kimyasal mutajenlerin formülasyonları ve uygulama dozları.

Etkili Madde	Formülasyonu	Uygulama Dozu (ppm)	Firması
Kafein	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000, 3000	Fluka
Kolhisin	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆	1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000, 3000	Fluka

Çizelge 3.2. Fiziksel mutajenlerin uygulama dozları.

Adı	Şiddeti	Frekansı	Uygulama dozu (dk)
EMA	11 mT	50 Hz	1, 3, 10
UV	350-400 nm		1, 3, 10, 15, 20, 25

3.2. Metod

3.2.1. Patojenite testi

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü’nden sağlanan 118-K *B. cinerea* izolatının patojenitesini belirlemek amacıyla orta geççi bir çeşit olan “Porsuk” domates çeşidinde virülenslik çalışması yapılmıştır.

Viyollere ekilen domates tohumları, içinde bir kısım torf ve bir kısım toprak bulunan 16 cm çapında saksılara şaşırtılmıştır. Domateslerin kotiledon yaprakları sarardığında, bitkilerin gelişmesini tamamlamış alt yaprakları alınmıştır. Yapraklar saf suda yıkanmış ve havlu peçete ile kurulanmıştır, daha sonra içinde steril edilmiş ve nemlendirilmiş kurutma kağıdı bulunan petrilere yerleştirilmiştir. Denemede 5 petri kullanılmış ve her petriye 3 yaprak konulmuştur. Daha önceden Patates Dekstroz Agar (PDA) (200 g patates, 1000 ml saf su, 25 g dekstroz ve 85 g agar) ortamına ekilerek gelişimi sağlanan 7 günlük *B. cinerea* kültüründen mantar delici yardımıyla diskler alınarak her yaprağa bir disk gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Üç gün sonra, 0-4 skalası kullanılarak [0:enfeksiyon yok (Yaprakta lezyon yok), 1:zayıf enfeksiyon (Yaprak alanının %5'i enfekteli), 2:orta enfeksiyon (Yaprak alanının %25'i enfekteli), 3:önemli enfeksiyon (Yaprak alanının %50'si enfekteli), 4:çok önemli enfeksiyon (Yaprak alanının %75'i ve daha fazlası enfekteli)] değerlendirme yapılmıştır (Anonim, 1996).

3.2.2. Fungusun reizolasyonu

Patojenite testi sonucunda hastalanan domates yapraklarından fungus yeniden izole edilmiştir. Bu amaçlı PDA besi ortamı kullanılmıştır. En çok hangi domates yaprağı hastalanıyorsa, o bitkiden fungus sporu steril bir ortamda öze yardımıyla alınarak PDA ortamında tekrar geliştirilmiştir.

3.2.3. Tek spor kültürünün elde edilmesi

Tek spor kültürü elde etmede reizole edilmiş olan stok fungus kültürü kullanılmıştır. Stok izolattan PDA ortamı üzerinde 12 saat gün ışığı, 12 saat karanlıkta, 20±2 °C' deki inkübatörde geliştirilen 10 günlük kültüre 15 ml steril saf su ilave edilerek fırça yardımıyla sporların suya geçmesi sağlanmıştır.

Süspansiyon, sporları diğer fungal birimden arındırabilmek amacıyla steril bir whatman filtre kağıdı (125mm çap X 100 delik) yardımıyla steril bir beher içerisine süzölmüştür. Hemasitometrede spor yoğunluğu belirlendikten sonra süspansiyon 10³ spor/ml'ye seyreltilmiştir (Benlioğlu ve Kılıç, 1994). Süspansiyona Tween 20

(%0.05) ilave edildikten sonra, buradan 1 ml alınarak önceden hazırlanmış Su Agarı (SA) (14-15 g agar ve 1000 ml saf su) ortamına (%2) yayılmıştır. Mikroskop yardımıyla ortamla birlikte alınan tek sporlar, PDA içeren eğik agar ortamında stoka alınmıştır. Bu kültür tüm deneme boyunca kullanılacak olan ana kültürü oluşturmuştur.

3.2.4. Kimyasal mutajenlerin *Botrytis cinerea* üzerine etkilerinin saptanması

3.2.4.1. Kafein ve kolhisin uygulamalarının *B. cinerea*'nın koloni gelişimine etkisi

Daha önceden PDA ortamına ekilerek geliştirilmiş 7 günlük kültürden mantar delici yardımıyla diskler alınmış ve funguslu kısım mutajenli ortam üzerine gelecek şekilde ekim yapılmıştır. İnkübasyona bırakılan kültürler kontrol petrideki diskler birbirine değinceye kadar her gün gelişme çapı ölçülmüştür. Kolonilerin fiziksel özelliklerini (renk, misel gelişimi, sporlanma) saptamak amacıyla görsel olarak da bir değerlendirme yapılmıştır. Deneme 2 tekerrürlü ve her petride 3 fungus diski olacak şekilde sürdürülmüştür.

3.2.4.2. Kafein ve kolhisin uygulamalarının *Botrytis cinerea* konidi çimlenmesine etkileri

Mutajenlere cam tüpler içinde steril saf su eklenerek, materyal alt başlığında belirtilen dozlarda solüsyonlar elde edilmiştir. Daha önceden ekimi yapılarak spor oluşturan kültürlerden spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Süspansiyondan otomatik pipet yardımıyla 1000 µl ependorf tüplere alınarak 3000 devir/dk 'da 10 dk santrifüj edilmiştir. Pelet oluşturan sporlardan su uzaklaştırılmış ve daha önceden hazırlanan kimyasal solüsyon ependorf tüplere alınmıştır. Çalkalayıcı yardımıyla spor peletinin kimyasala maruz kalması sağlanmıştır. Daha sonra ependorf tüplerden içinde kimyasal solüsyon bulunan tüpün içine alınan spor süspansiyonu tekrar çalkalanmış ve buradan 1000 µl alınarak tekrar ependorf tüpler içine alınmıştır. Spor

süspansiyonu tekrar satrifüj edilerek mutajen sporlardan uzaklaştırılmıştır. Pelet oluşturan sporların içine steril saf su katılarak çalkalanmış ve spor süspansiyonu SA ortamına yayılmıştır. Sporların ortamda homojen dağılmasını sağlamak amacıyla drigalski spatülü kullanılmıştır. Sporlar 20 ± 2 °C' de 24 saat inkübe edilmiş ve bu sürenin sonunda çimlenme durumları belirlenmiştir (Çimlenen ve çimlenmeyen). Çimlenmemiş 10 sporda çim borusu uzunluğu ölçülmüştür.

3.2.5. Fiziksel mutajenlerin *Botrytis cinerea* üzerindeki etkileri

3.2.5.1. UV radyasyonun koloni gelişimine etkisi

Laboratuvarımızda bulunan 350-400 nm dalga boylu UV kaynağı kullanılarak fungus kültürleri 1, 3, 10, 15, 20 ve 25 dk sürelerle radyasyona maruz bırakılmışlardır. Daha önceden PDA ortamına ekilen 7 günlük kültürden diskler alınmış ve her petriye 3 disk gelecek şekilde ekim yapılmıştır. İki tekerrürlü olarak kurulan denemede fungus disklerinin üç gün boyunca her gün koloni çapı ölçülmüştür.

3.2.5.2. UV radyasyonun *Botrytis cinerea* konidisi üzerine etkileri

10 günlük kültürlerde bulunan sporlar, steril kabin içinde SA ortamı üzerine silkelenmiştir. Sporlar 1, 3 ve 10 dk aralıklarla UV'ye maruz bırakılmışlar ve inkibatöre alınmışlardır. Sporların 24 saat sonra çimlenme durumları saptanmış ve çimlenme olan sporlarda ise çim borusu uzunluğu belirlenmiştir.

3.2.5.3. Elektro Manyetik Alan (EMA) uygulamalarının koloni gelişimine etkisi

EMA uygulamalarında daha önceden disk ekimi yapılan kültürler Üniversitemiz Fizik Bölümünde, Elektrik ve Manyetizma laboratuvarında bulunan Helmholtz çemberi kullanılarak 1, 3 ve 10 dk aralıklarla 50 Hz frekanslı, 11 mT

şiddetinde EMA'ya maruz bırakılmıştır. Kontrol petrilere miseller birbirine değinceye kadar her gün koloni çapları ölçülmüştür.

3.2.5.4. Elektro Manyetik Alan'nın *Botrytis cinerea* konidi çimlenmesine etkileri

Belli spor yoğunluğundaki 10 günlük kültürler SA ortamına steril kabin içinde sporları ortam üzerine düşürmek için silkelenmiştir. Sporlar 1, 3 ve 10 dk aralıklarla EMA 'ya maruz bırakılmışlar ve inkubatöre alınmışlardır. 24 saat sonra çimlenme değerleri saptanmış ve çimlenme olan 10 sporda ise çim borusu uzunluğu belirlenmiştir.

3.2.6. Fiziksel ve kimyasal mutajenlerin *Botrytis cinerea* patojenitesi üzerine etkisinin belirlenmesi

Bu aşamada domates yapraklarına, *B. cinerea* diski ile inokulasyon yapılmıştır. Bitkiler yaklaşık 6 haftalık olduğunda alınan yapraklar, saf su ile iyice yıkanmış, havlu peçete ile kurulanmış ve içinde nemli kurutma kağıdı olan petrilere iki tekerrürlü olarak konulmuştur. Daha önceden mutajenlerin koloni gelişimine olan etkisi belirlendikten sonra buradan mantar delici yardımıyla alınan diskler domates yapraklarının tam ortasına miseliyal kısım yaprakla temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Daha sonra inkubatöre alınan petrilere üçüncü gün sonunda yaprak alanındaki miseliyal gelişim yüzdesi belirlenerek değerlendirilmiştir.

3.2.7. Fiziksel ve kimyasal mutajenlerin *Botrytis cinerea*'nın spor verimine etkisinin belirlenmesi

Koloni gelişimine etkisi belirlenen kültürlerin ayrı ayrı spor verimlerine bakılmıştır. Bunun için 10 günlük gelişmelerini tamamlayan kültürlerle belli miktarda saf su eklenmiş ve yumuşak uçlu bir fırça yardımıyla sporların suya geçmesi sağlanmıştır. Buradan hemasitometreye pipetlenen sporların mikroskop altında sayımı yapılmış ve 1 ml'deki spor verimleri hesaplanmıştır.

3.2.8. İstatistiksel analizler

Yapılan tüm denemelerde uygulamalar arasındaki farkı belirlemek amacıyla SPSS istatistik programında varyans analizi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Mutajenlerin *Botrytis cinerea* Üzerine Etkileri

4.1.1. Kafein mutajeninin etkisi

Kimyasal mutajenlerden olan kafeinin, fungusun farklı gelişim evreleri üzerine olan etkisi incelenmiştir. Mutajenin *B. cinerea* üzerine farklı karakterlere ait olan etkisinin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kafeinli ortamda *Botrytis cinerea*'da ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları

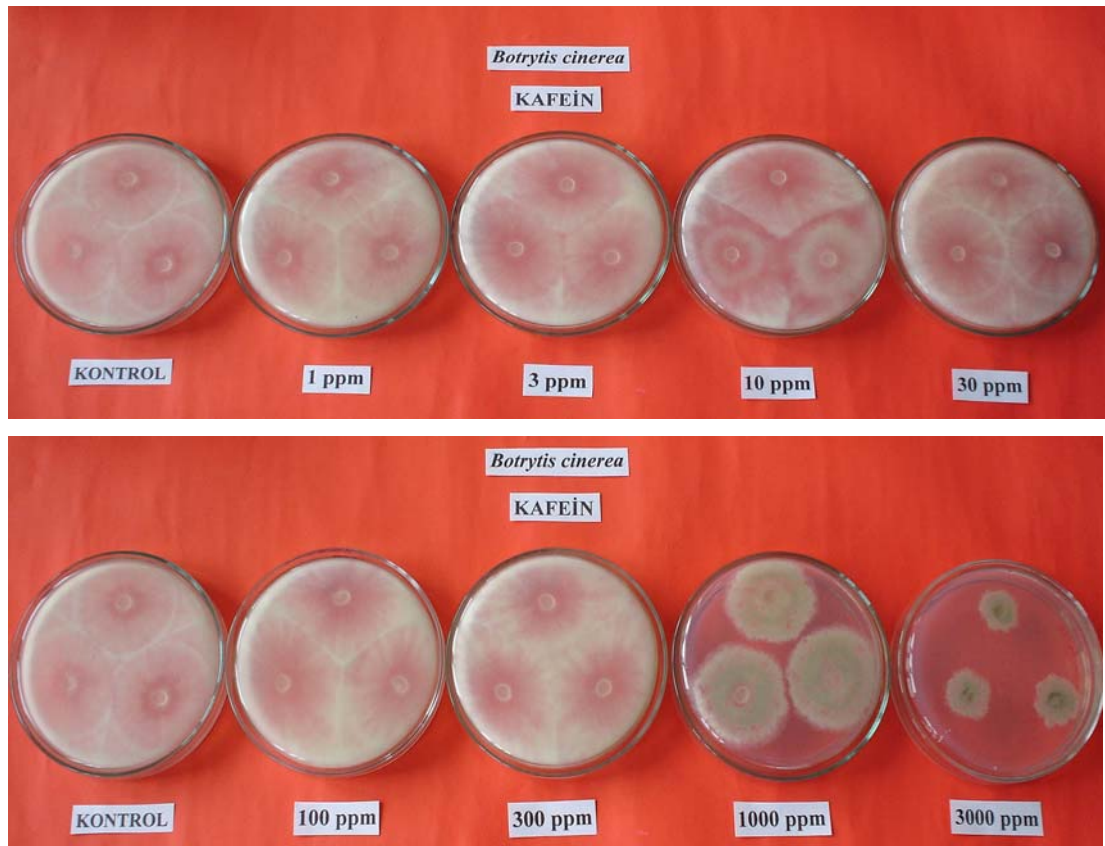
Dozlar (ppm)	Karakterler (Kareler ortalaması)		
	Koloni gelişimi (mm)	Çim Borusu uzunluğu (µm)	Patojenite (%)
Kontrol	46,16±1,01a	53,10±6,40a	27,00±2,30a
1	42,66±0,91b	49,40±2,98a	25,00±4,37a
3	41,83±0,65b	48,10±3,96a	22,25±2,17a
10	40,33±1,54b	42,10±2,31b	22,00±0,70a
30	42,33±0,61b	30,00±1,57c	22,75±1,54a
100	42,66±2,10b	29,30±2,19c	21,00±2,00a
300	33,66±0,42c	30,40±2,08c	19,50±1,19b
1000	13,16±0,47d	18,00±1,32d	19,25±1,49b
3000	7,50±0,34e	17,60±1,43d	15,25±0,94c

Bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiki bakımdan fark yoktur (P<0.05).

PDA ortamına karıştırılan kafeinin fungusda koloni gelişiminin belirlenmesi bakımından yapılan tekrarlanan ölçümlü deneme düzeninde varyans analizi sonucunda dozlar arasındaki fark önemli bulunmuştur. En yüksek inhibisyon dozu 3000 ppm olarak saptanırken, 1, 3, 10, 30 ve 100 ppm dozları kendi aralarında önemsiz bulunmuştur. Spor çimlenmesi belirlendikten sonra ise çim borusu uzunluğu ölçülmüştür. Çizelge 4.1.'de kafeinin spor çim borusu uzunluğuna olan etkisi görülmektedir. 1 ve 3 ppm dozları kontrolle aynı gelişme göstermiş, diğer dozlar ise istatistiki olarak farklı bulunmuştur. En önemli farklılık ise en yüksek doz olan 3000 ppm dozunda görülmüştür.

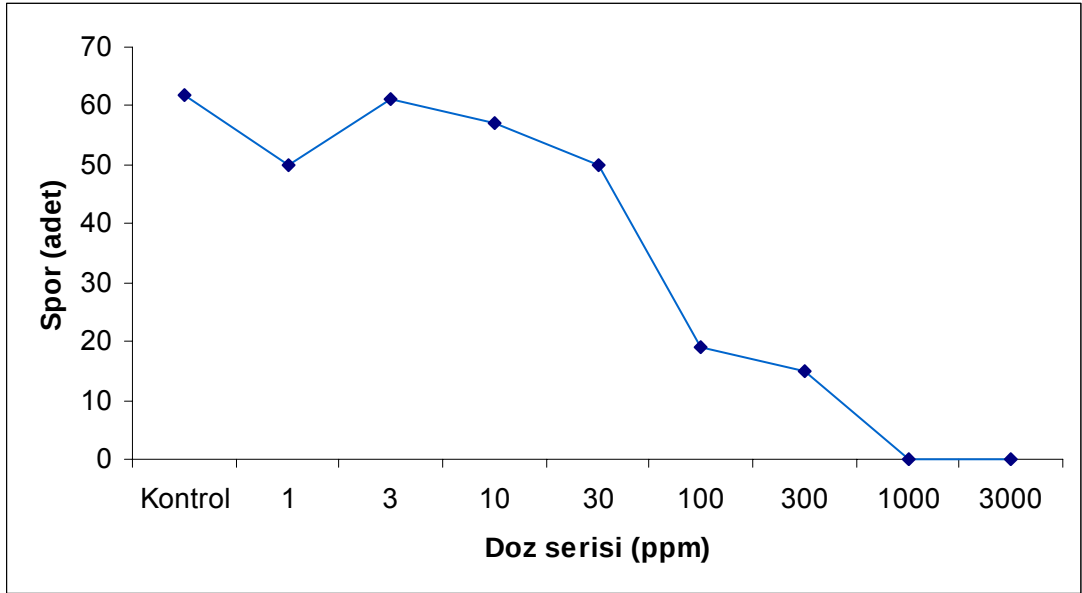
Çizelge 4.1.'de kafeinin patojenite üzerine olan etkisi 1-100 ppm arası dozlar önemli bulunmamış 300, 1000 ve 3000 ppm dozlarının etkili olduğu saptanmıştır. Hastalandırma oranı 300 ppm ve üzeri dozlarda önemli ölçüde azalmıştır.

Şekil 4.1.'de inhibisyon saptanan dozların oluşturduğu koloni gelişimi görülmektedir. 1000 ve 3000 ppm dozlarında koloni petriyi kaplamamış ve aralarında temas olmamakla birlikte diğer dozlara göre koloni rengi daha koyu hatta kahverengiye yakın olduğu saptanmıştır. Bu yüksek dozlarda spor oluşumu ve misel gelişiminin yüzeysel olduğu görülmüştür. 100 ve 300 ppm dozlarında spor oluşumunun petri kenarlarında yoğunlaştığı misellerin havai geliştiği ve heterojen bir spor dağılımının olduğu saptanmıştır. Gri kurşuni küf renginin kontrole göre daha koyu olduğu belirlenmiştir. 1, 3, 10 ve 30 ppm dozlarında ise havai miselyum gelişimi, çoğunlukla homojen spor dağılımı ve yer yer beyaz miselyum rengi bulunmakla birlikte çoğunlukla kurşuni küf renginin hakim olduğu gözlenmiştir. Yüksek dozlar olan 1000 ve 3000 ppm dışındaki bütün dozlarda koloni petriyi kaplamıştır. Şekil 4.1.'de kafein doz serisinde *B. cinerea* koloni gelişimi ve yüksek dozlardaki renk farkı açık bir şekilde görülmektedir.



Şekil 4.1. Kafeine maruz kalan *Botrytis cinerea*'nın koloni gelişimi.

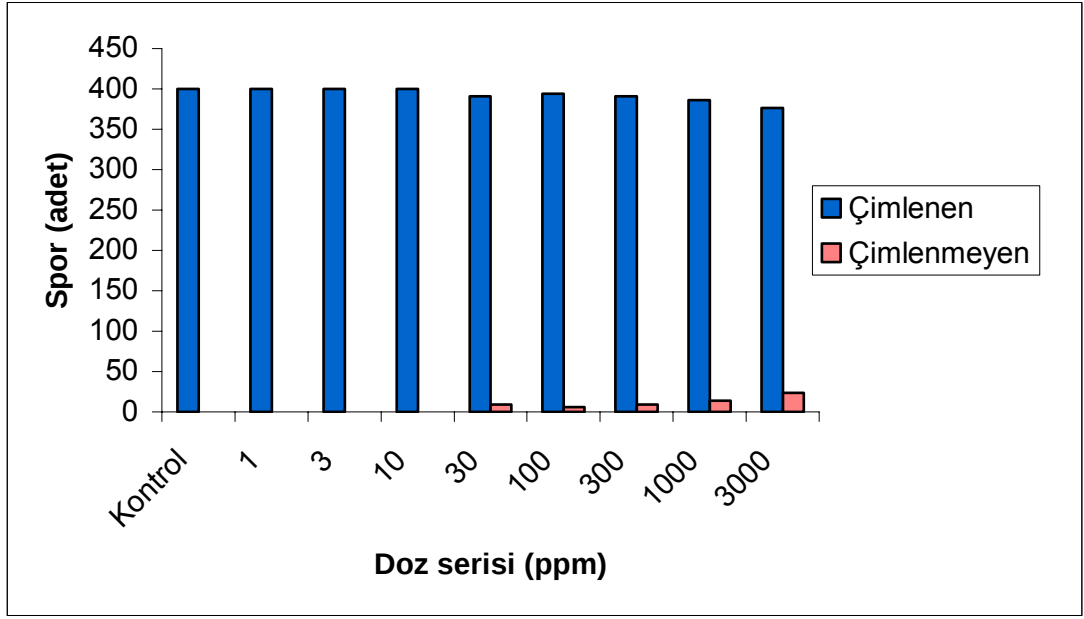
Farklı dozların *B. cinerea*'da oluşan spor verimine etkisi ise Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Kafeinli ortamda *Botrytis cinerea* kültürlerinin spor verimleri.

Spor veriminin kafein dozunun artışıyla ters orantılı olduğu, doz yoğunluğu arttıkça spor veriminde azalma görüldüğü hatta 1000 ve 3000 ppm dozlarında fungusun spor oluşturmadığı saptanmıştır (Şekil 4.2.). Spor veriminde etkili doz 100 ppm ve üzeri dozlar olarak saptanmıştır.

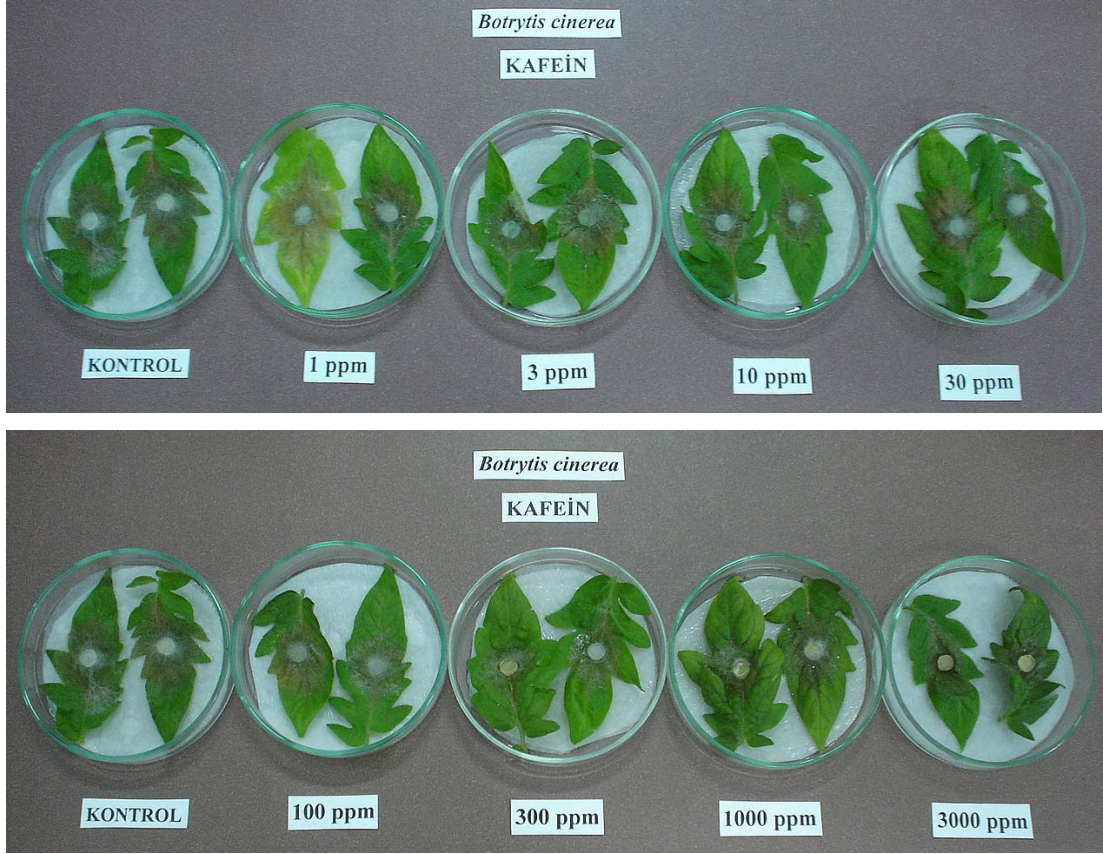
Aynı dozlarda kafeine maruz bırakılan sporların çimlenme verileri ise Şekil 4.3.'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Kafeine maruz kalan *Botrytis cinerea* konidilerinin uygulamaldan 24 saat sonraki çimlenme durumu.

Şekil 4.3.'ten de izlenebileceği gibi 10 ppm dozuna kadar çimlenmeyen spor bulunmamakta, 30 ppm ve üzeri dozlarda ise çimlenmede azalmalar görülmektedir. Çimlenmeyen spor sayısı (24) en fazla 3000 ppm dozunda görülmektedir.

Şekil 4.4.'de Kafeinin hastalandırma yeteneğine olan etkisi görülmektedir.



Şekil 4.4. Kafeinli PDA’da gelişen kültürlerin patojenitesinin belirlenmesi.

4.1.2. Kolhisin Mutajeninin Etkisi

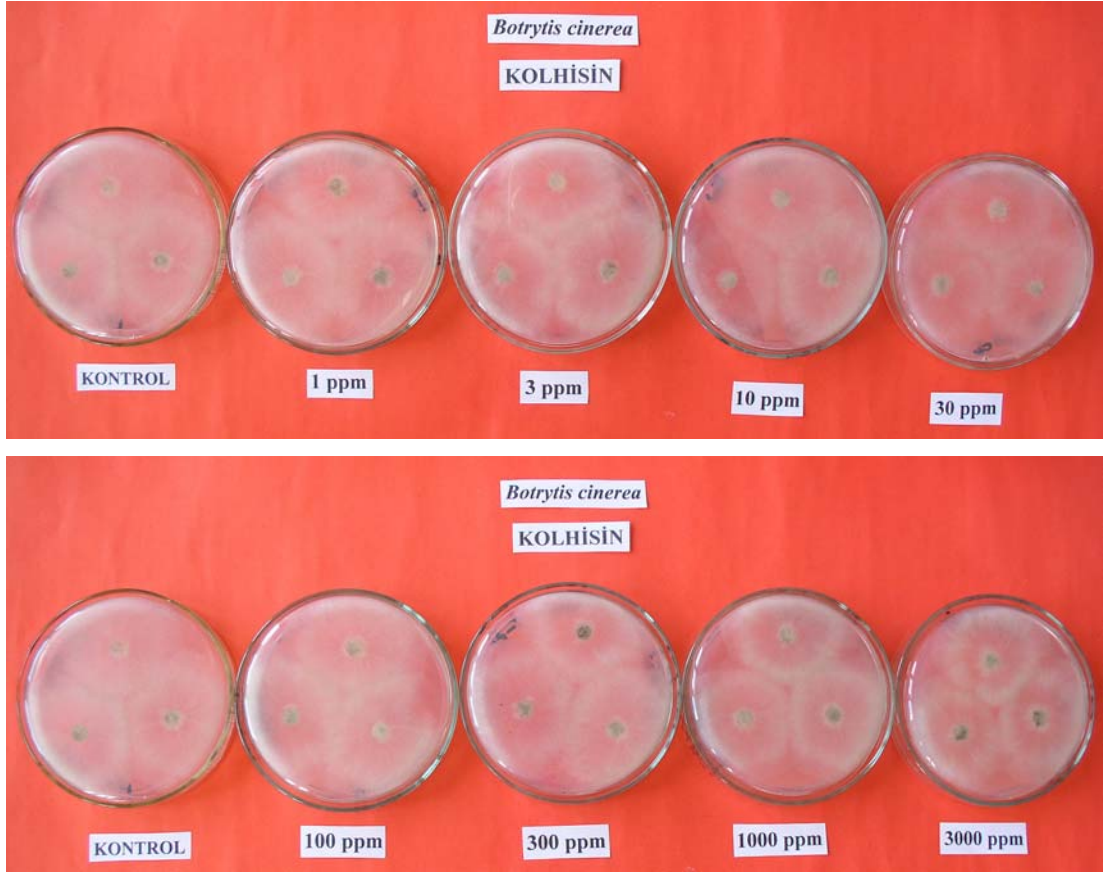
B. cinerea üzerine kolhisin etkisinin araştırıldığı bu çalışmada fugusda koloni gelişimi, çimlenen sporların çim borusu uzunlukları ve patojenite açısından değerlendirme yapılmıştır. Bulunan sonuçlar Çizelge 4.2.’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı uygulamalar sonucunda *Botrytis cinerea*’da ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları.

Dozlar (ppm)	Karakterler (Kareler ortalaması)		
	Koloni gelişimi (mm)	Çim Borusu uzunluğu (µm)	Patojenite (%)
Kontrol	54,83±1,19a	69,10±5,36a	42,75±1,65a
1	56,00±0,51a	61,40±5,16a	38,75±5,39a
3	55,83±2,25a	64,80±5,34a	36,50±2,90a
10	56,00±0,96a	49,30±3,58b	29,25±1,10b
30	56,00±0,85a	49,90±4,42b	36,00±3,10a
100	56,16±0,79a	47,60±3,86c	28,75±1,10b
300	50,80±2,47a	32,60±3,85d	28,00±2,88b
1000	52,50±2,10a	26,70±2,68d	26,25±1,31c
3000	48,33±1,65b	20,40±1,38d	26,00±1,29c

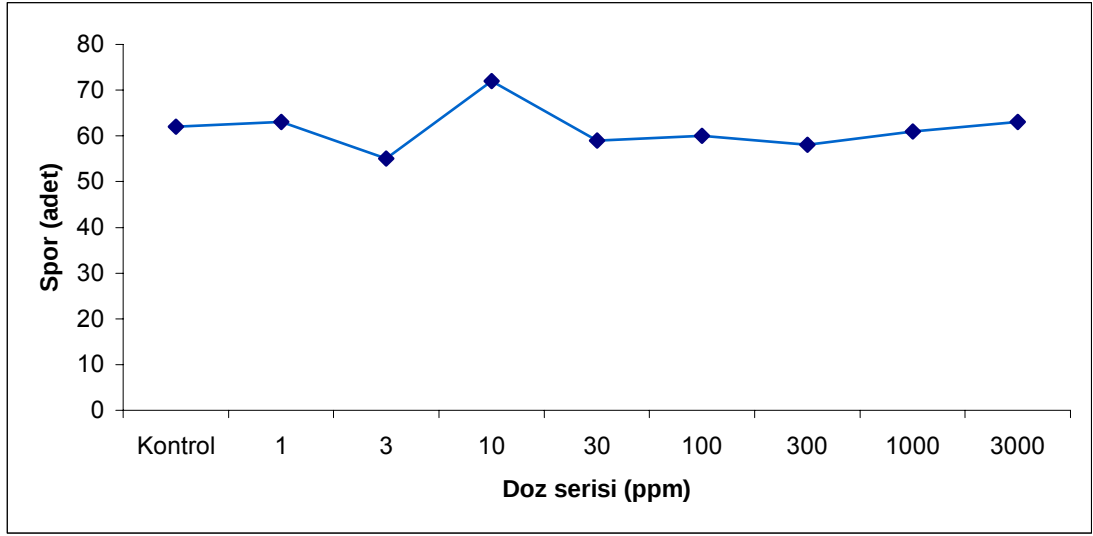
Bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiki bakımdan fark yoktur (P<0.05).

B. cinerea'da koloni gelişimine etkisi açısından yapılan tekrarlanan ölçümlü deneme düzeninde varyans analizi sonucuna göre kolhisinin etkisine baktığımızda kontrol dozundan 3000 ppm'e kadar olan dozlarda farklılık görülmemiş sadece en yüksek doz olan 3000 ppm dozunda kontrole göre istatistiki olarak bir farklılık görülmüştür. Renk değerlendirmesi yapılan petrilerde koyu kurşuni renk ve yer yer beyaz miselyum gelişimi görülmüştür. Şekil 4.5.'de kolhisinli PDA'da *B. cinerea*'nın koloni gelişimi görülmektedir. Misel gelişiminin tüm petrilerde havai olduğu ve 1000 ve 3000 ppm hariç diğer dozlarda koloni gelişiminin tüm petriyi kapladığı görülmüştür. Petrilerdeki spor dağılımı ise kontrole yakın ve heterojen olduğu gözlenmiştir.



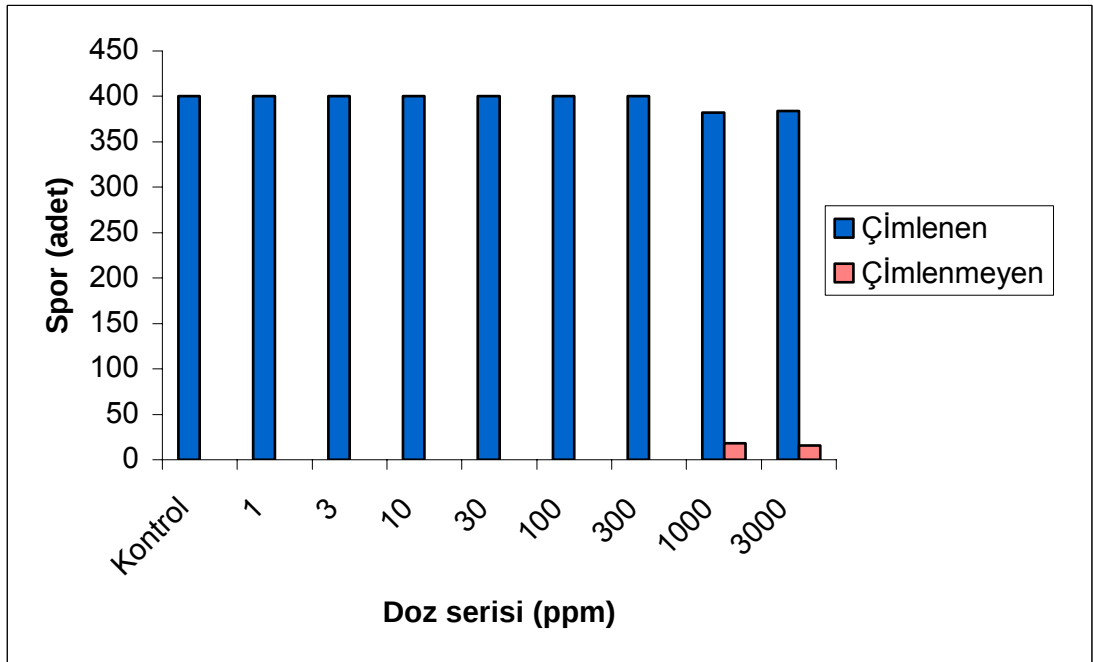
Şekil 4.5. Kolhisinli PDA'da *Botrytis cinerea*'nın koloni gelişimi.

Spor verimi açısından dozlar arasındaki fark önemsiz bulunmuş ve en yüksek dozda bile spor veriminin kontrole yakın olduğu saptanmıştır (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Kolhisinli ortamda 10 günlük *Botrytis cinerea* kültürlerinin spor verimleri.

B. cinerea sporlarının kolhisine maruz kaldıktan sonraki çimlenme verileri ise şekil 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Kolhisinli ortamda *Botrytis cinerea* sporlarının 24 sa sonraki çimlenme durumları.

Kolhisine maruz kalan sporların çimlenme verilerinden çıkan sonuçlara göre 1000 ppm dozunda sayılan 400 sporun içinde 18 adet, 3000 ppm dozunda ise 16 adet sporun çimlenmediği saptanmıştır. Diğer dozlarda hiç çimlenmeyen spor

gözlenmezken farkın, en yüksek dozlar olan 1000 ve 3000 ppm dozlarında olduğu görülmüştür.

Çimlenen sporların çim borusu uzunlukları Çizelge 4.2.'de görülmektedir. Spor çimlenmesinden farklı olarak 10 ppm ve üzeri dozlar istatistiki olarak önemli bulunmuş 10 ve 30 ppm dozlarında ise kendi aralarında fark olmaksızın diğer dozlardan önemli bulunmuştur. En kısa çim borusu uzunluğu ise 3000 ppm olarak belirlenmiştir.

Kolhisinli PDA ortamında geliştirilen fungusun koloni gelişimi ölçüldükten sonraki alınan disklerin yapraklara verilmesi sonucu alınan veriler Çizelge 4.2'de verilmiştir. 100 ppm ve üzerindeki dozların hastalık gelişimini engellediği, altındaki dozların ise hastalık gelişiminde etkisi olmadığı istatistik analizi sonucu belirlenmiştir. Hastalık gelişiminin en fazla engellendiği dozlar ise 1000 ve 3000 ppm olarak bulunmuştur. Şekil 4.8.'de kolhisin mutajenine maruz kalan fungusun hastalandırma yeteneği görülmektedir.



Şekil 4.8. Kolhisinli ortamda gelişen *Botrytis cinerea*'nın patojenitesi.

Kolhisin mutajeninin *B. cinerea* üzerine en etkili olduğu fungal dönem çim borusu uzunluğu ve patojenitedir. Koloni gelişiminde sadece 3000 ppm’de fark önemli bulunurken spor çimlenmesinde 1000 ve 3000 ppm dozları önemli bulunmuştur. Fungusun spor verimine ise hiçbir etkisi olmamıştır.

4.2. Fiziksel Mutajenlerin *Botrytis cinerea* Üzerine Etkileri

4.2.1. UV radyasyon etkisi

UV radyasyon etkisi kimyasal mutajenlerde olduğu gibi farklı karakterler açısından incelenmiştir.

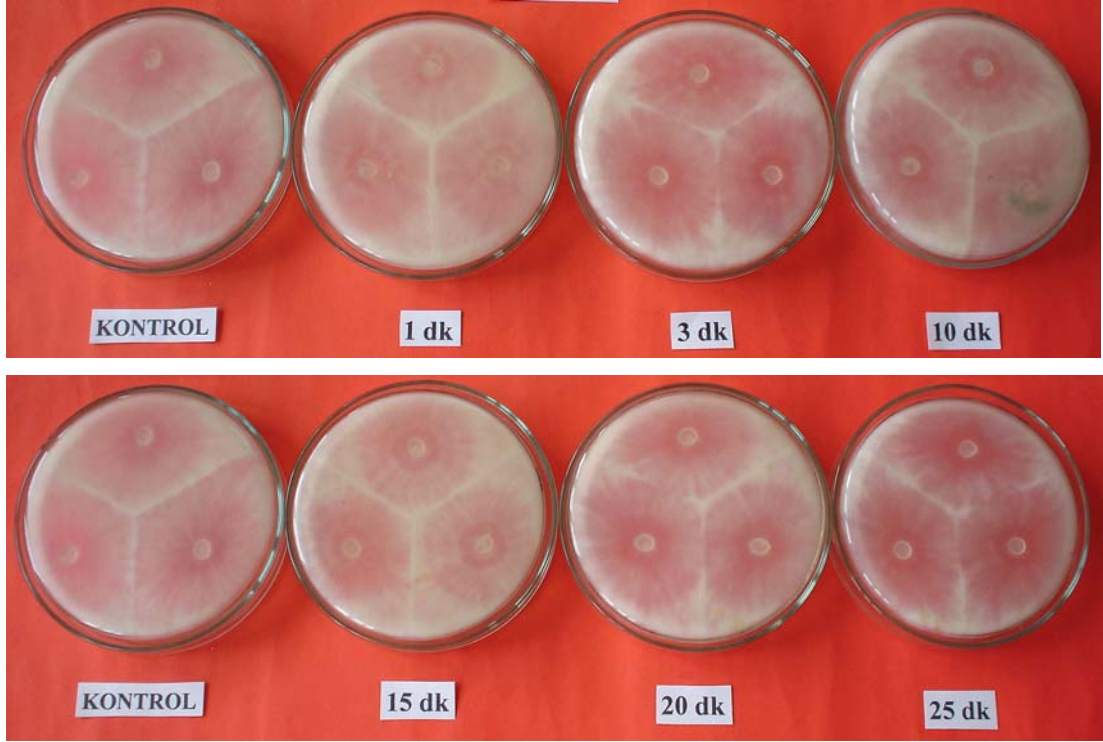
UV radyasyon etkisinin *B. cinerea* üzerinde farklı karakterler açısından etkisi Çizelge 4.3.’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı uygulamalar sonucunda *Botrytis cinerea*’da ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları.

Dozlar (dk)	Karakterler (Kareler ortalaması)		
	Koloni gelişimi (mm)	Çim Borusu uzunluğu (µm)	Patojenite (%)
Kontrol	27,66±2,18	105,30a±13,47	30,50±2,10
1	26,33±0,33	8,6b±2,31	26,75±3,19
3	27,33±0,33		27,25±2,01
10	23,33±0,88		30,00±1,29
15	25,33±4,25		28,25±3,47
20	23,33±2,18		26,75±4,21
25	19,00±0,57		27,25±3,03

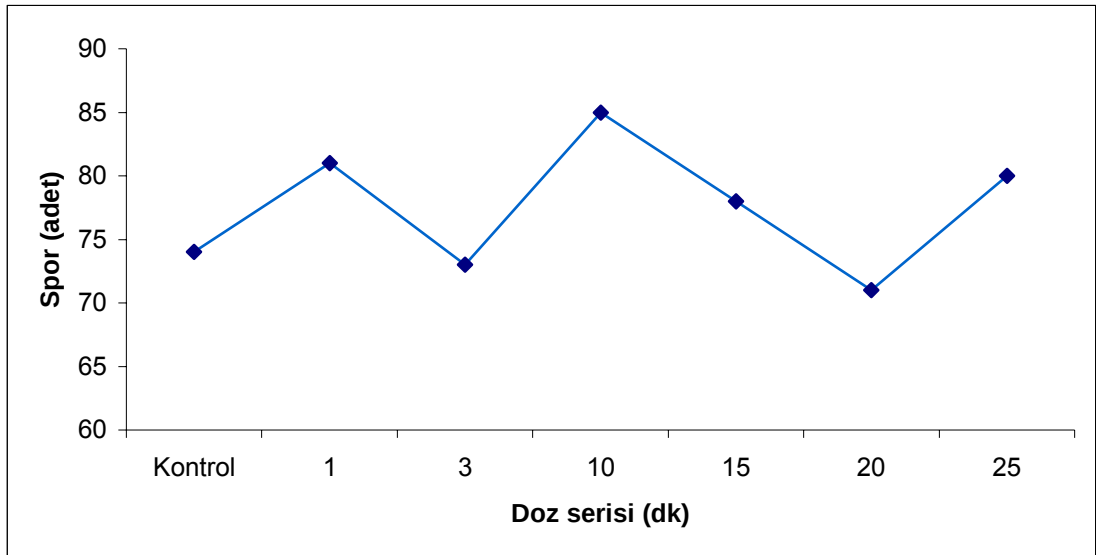
Bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiki bakımdan fark yoktur (P<0.05).

Yapılan istatistik analizi sonucu *B. cinerea*’da koloni gelişimi üzerine UV radyasyon etkisinin önemli olmadığı, kontrolde dahil 7 dozda renk dağılımının homojen olduğu görülmüştür. Şekil 4.9.’da 350-400 nm UV radyasyonun *B. cinerea*’nın koloni gelişimi üzerine etkisi görülmektedir.



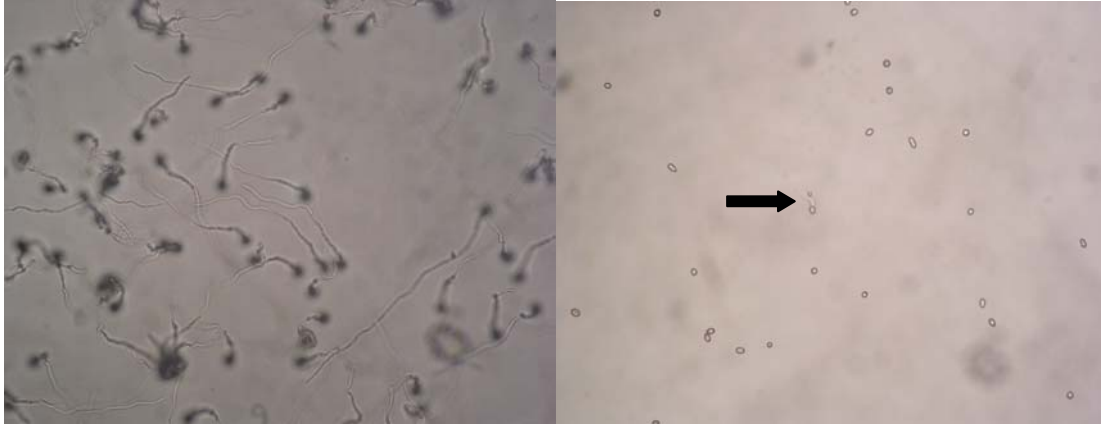
Şekil 4.9. UV radyasyonun *Botrytis cinerea* koloni gelişimi üzerine etkisi.

Koloni gelişimi ölçülen kültürlerin spor verimlerine bakılmış ve Şekil 4.10.'da farklı dozlara ait spor verimleri verilmiştir. Koloni gelişiminde olduğu gibi spor verimlerinde de istatistiki açıdan fark önemsiz bulunmuştur.



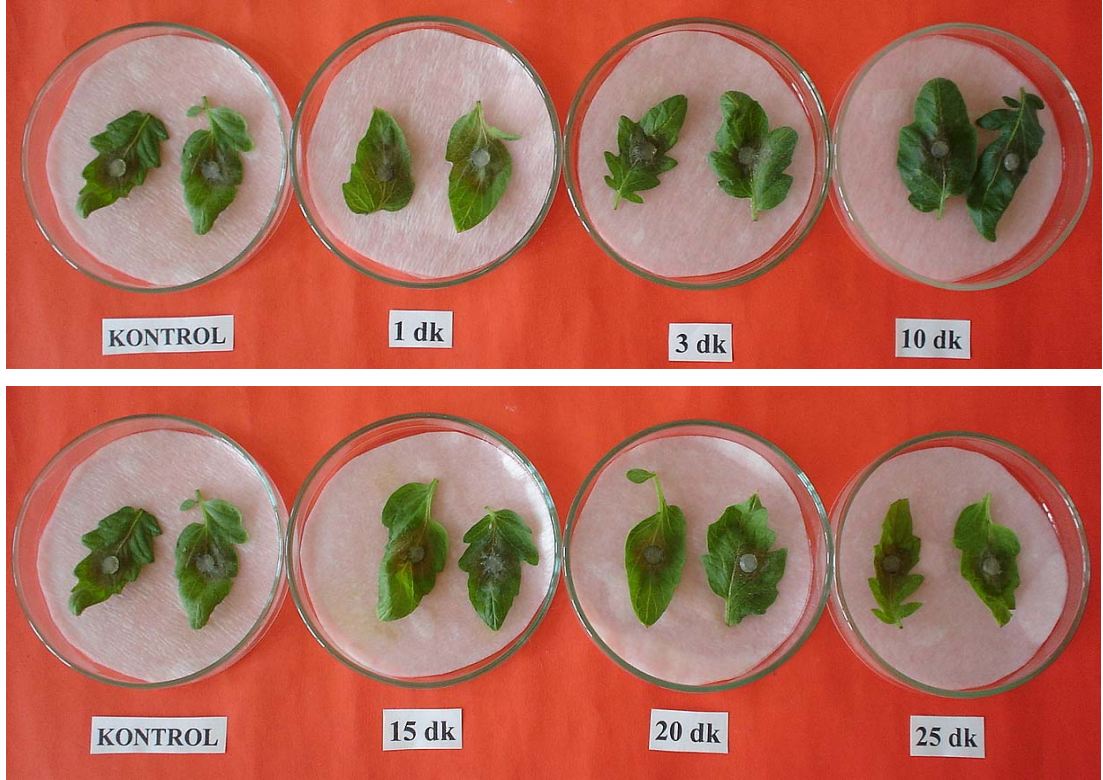
Şekil 4.10 UV radyasyona maruz kalan *Botrytis cinerea* kültürlerinin spor verimleri.

Spor çimlenmesi üzerine 350-400 nm UV radyasyon etkisinde sayılan 400 spordan sadece 7 tanesinin çimlendiği görülmüştür. Çizelge 4.3.'de 1 dk UV radyasyona maruz kalan sporların çim borusu uzunlukları verilmiştir. Sporlar 3 dk ve üzeri sürelerde UV radyasyona maruz bırakıldığında ise hiç çimlenme görülmemiştir. Kontrol ile çimlenen sporlar arasındaki fark varyans analizi sonucu önemli bulunmuştur. Kontrol sporları Şekil 4.11. ve UV radyasyona 1 dk maruz kalan sporlar Şekil 4.12.'de verilmiştir.



Şekil 4.11. *B. cinerea* sporlarının kontrolde **Şekil 4.12.** UV radyasyona maruz kalan çimlenme durumları. (1 dk) *B. cinerea* sporları

Varyans analizi sonuçlarına göre, UV radyasyonun fungusun patojenitesi üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur. UV radyasyona bırakılmış olan *B. cinerea* 'nın yapraklar üzerinde oluşturduğu belirtiler Şekil 4.13.'de verilmiştir.



Şekil 4.13. Farklı sürelerde 350-400 nm UV radyasyona maruz kalan *B. cinerea* kültürlerinden alınan disklerde patojenite testi.

4.2.2. EMA Etkisi

EMA etkisinin belirlenen karakterler açısından önemi Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

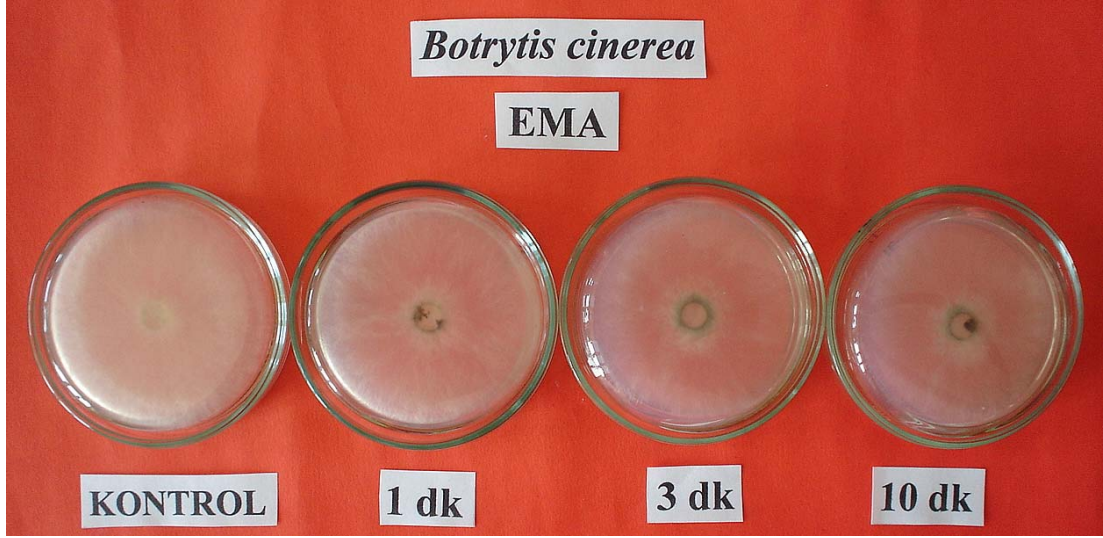
Çizelge 4.4. Farklı uygulamalar sonucunda *Botrytis cinerea*'da ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları.

Dozlar (dk)	Karakterler (Kareler ortalaması)		
	Koloni gelişimi (mm)	Çim Borusu uzunluğu (µm)	Patojenite (%)
Kontrol	57,66±0,66	46,50±3,33	39,80±3,33
1	54,66±4,05	43,60±2,42	38,60±2,42
3	59,66±1,20	42,50±3,73	40,50±3,73
10	56,66±3,17	44,80±2,54	39,50±2,54

(P<0.05) İstatistiksel olarak dozlar arasındaki fark önemsiz bulunmuştur.

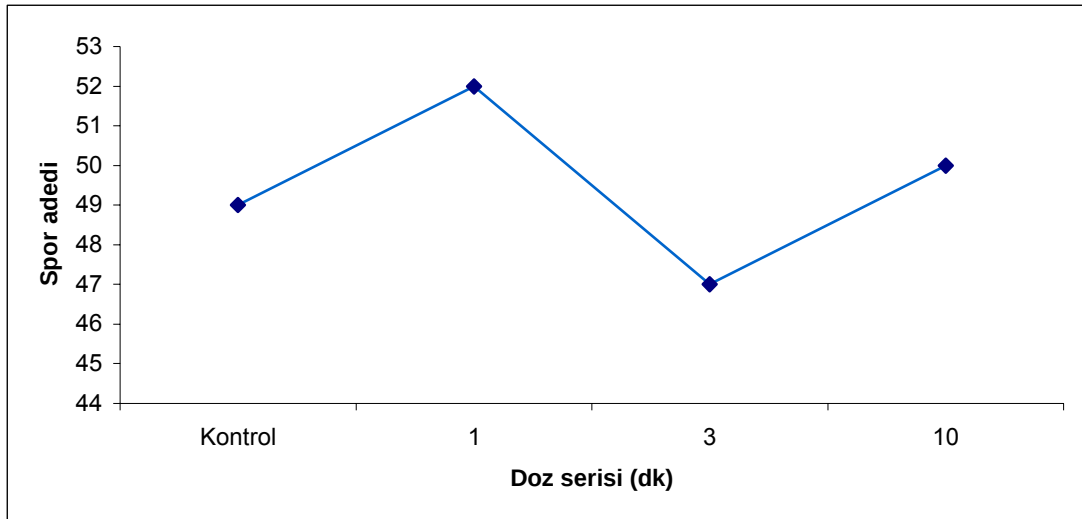
Yapılan istatistik analizi sonucu *B. cinerea*'da koloni gelişimi üzerine 11 mT şiddetindeki EMA'nın etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir. Koloni morfolojisi

değerlendirmesinde de dozlar arasında farklılık görülmemiştir. Koloni rengi, açık gri ve yer yer beyaz miselyum kümelerinden oluştuğu görülmüştür. Miselyum gelişimi tüm dozlarda havai ve sporlanmanın çoğunlukla disklerin etrafında yoğunlaştığı saptanmıştır. Şekil 4.14.'de fungus disklerinin EMA'ya tabi tutulduktan sonraki gelişmeleri görülmektedir.



Şekil 4.14. EMA'nın *Botrytis cinerea* koloni gelişimi üzerine etkisi.

EMA'ya maruz bırakılan kültürlerin 10 gün gelişme gösterdikten sonraki spor verimleri Şekil 4.15.'de verilmiştir.



Şekil 4. 15. Farklı sürelerde EMA'ya maruz bırakılan *Botrytis cinerea* kültürlerinin spor verimleri.

B. cinerea üzerine 11 mT EMA etkisinin koloni gelişimine, konidi çim borusu uzunluğu ve patojenite açısından istatistiki olarak önemli olmadığı, ayrıca spor çimlenmesinde de farklı dozlarda EMA'ya maruz bırakılarak 24 sa sonra sayımı yapılan 400 spordan hepsinin çimlenme gösterdiği saptanmıştır. Şekil 4.16'da EMA'ya maruz bırakılmış kültürlerin patojenite testi sonuçları verilmiştir.



Şekil 4.16. 11 mT EMA'ya maruz bırakılan kültürlerde patojenite testi.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada kafein ve kolhisin gibi kimyasal mutajenler ile UV radyasyon ve EMA gibi fiziksel mutajenlerin domatesin en önemli hastalıklarından biri olan kurşuni küf hastalığının koloni gelişimine, spor verimi ve çimlenmesine, spor çim borusu uzunluğuna ve fungusun domates yapraklarında hastalık oluşturabilme yeteneği üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Fiziksel ve kimyasal mutajenlerin *B. cinerea*'nın farklı gelişim evreleri üzerine etkilerini saptamak amaçlanmıştır. Daha öncede belirtildiği gibi fungusun genetik çeşitliliğinin ploidi seviyesindeki varyasyondan, anöplidi ve heterokaryosiden kaynaklandığı bildirilmiştir (Vallejo ve ark., 2002). Fungusun vejetatif hücrelerinin çok çekirdekli ve heterokaryotik karaktere sahip olması sonucu mutasyona uğrama şansının arttığı belirtilmiştir (Menzinger, 1965).

Etmen, yaşam döngüsü içinde konidi çimlenmesi, çim borusu oluşumu, penetrasyon, yüzeysel misel oluşumu, sporulasyon ve sklerot oluşumu evrelerine sahiptir (Holz, 2004). Tarla koşullarında konidi canlılığı konidinin sıcaklık, nem ve güneş ışığına maruz kalma süresiyle ilgili olduğu ve bunlar arasında en önemli etkenin ise güneş ışığının UV spektrumunu olduğu bildirilmektedir (Seyb, 2003).

Bu çalışmada ele alınan bazı fiziksel ve kimyasal mutajenlerin laboratuvar koşullarında besi ortamı üzerinde fungusun bazı gelişme evrelerine olan etkileri saptanmaya çalışılmıştır.

Kimyasal mutajenlerden olan kafeinin, fungusun farklı gelişim evreleri olan koloni gelişimi, spor verimi, çimlenen sporların çim borusu uzunlukları ve patojenite üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre mutajenden etkilenmenin en yüksek olduğu fungal yapı olan sporların 30 ppm ve üzeri dozlarda çimlenmelerinin azaldığı ve hatta buna bağlı olarak çim borusu gelişiminin ise 10 ppm ve üzeri dozlarda azaldığı saptanmıştır. Spordan sonra etkilenen 100 ppm ve üzeri dozlarda fungusun spor oluşturma yeteneği ve sonrasında ise 300 ppm ve üzeri dozlarda hastalandırma yeteneğinde bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Fungusda, en az etkilenen yapı ise koloni gelişimi olduğu saptanmıştır. 1000 ppm ve üzeri dozlarda koloni gelişiminde azalma olduğu belirlenmiştir. Morfolojik olarak incelendiğinde, 1000 ve 3000 ppm dozlarında koloni renginin

kurşuni olduğu diğer petrilere göre koyu kahve, yüzeysel misel gelişimi ve sporlanmanın olmadığı gözlenmiştir. Yüksek dozlarda fungusun gelişmede zorlandığı saptanmıştır.

Sadece çay, kahve ve kola gibi aromatik bitkilerde bulunan kafein mutajeninin funguslar üzerine olan etkisi konulu çalışmaya rastlanmamakla birlikte Frischknecht ve ark. (1986), *Coffea arabica* bitkisinde bulunan kafeinin bitki yüzeyindeki birçok böcek ve fungusa toksik olduğunu gözlemleyerek inhibisyon oluşturduğunu doğrulamaktadırlar. Bu tür bitkiler için kafeinin, bir tür savunma mekanizması olduğunu belirtmişlerdir.

Sundar-Raj ve Dhala (1965), kafeini bakteri çoğalmasını engelleme amaçlı kullanmışlardır. Kafein, bakterilerde tek sarmal nükleik asitlerde karmaşaya neden olduğundan dolayı hücrelerde toksik etki gösterdiği bildirilmektedir (Bergmann ve ark., 1969).

Putrament ve ark. (1972), kafeinin bazı duyarlı bakterilerde RNA ve protein sentezinde tersinir inhibisyonlara sebep olduğunu kanıtlamışlardır. Diğer taraftan *Pseudomonas putida* bakterisinin ise kafeini, karbon ve azot kaynağı olarak kullandığı Woolfolk (1975) tarafından saptanmıştır.

Günümüzde kafeinin fungusların farklı gelişim evrelerine olan etkisini belirleme amaçlı çalışmaların yapılması gerekmektedir. *B. cinerea*'da özellikle spor çimlenmesi, çim borusu gelişimi ve spor veriminde azalmaya neden olduğu saptanan kafeinin bitki koruma açısından pratikte kullanım imkanı olmamasına karşın bundan sonraki çalışmalarda funguslar üzerine etkisi belirlenirken moleküler düzeyde araştırma yapılması gerekmektedir.

Sadece çayır safranından elde edilebilen kolhisin mutajeninin *B. cinerea*'nın farklı gelişim evrelerinde en etkili olduğu dönem, 10 ppm ve üzeri dozlarda sporlar çimlendikten sonraki çim borusu uzunluğu ve 100 ppm ve üzeri dozlarda ise patojenite olmuştur. Spor çimlenmesi ve spor verimi üzerine etkisi önemsiz bulunurken, koloni gelişiminde ise en yüksek doz olan 3000 ppm'deki fark önemli bulunmuştur. En yüksek dozlar olan 1000 ve 3000 ppm dozlarında koloni gelişiminin petriyi kaplamadığı gözlenmiştir. Farklı dozlardaki spor dağılımının ise heterojen olduğu saptanmıştır.

Yaptığımız çalışmaya paralel olarak *Aspergillus fumigatus* fungusu insanlarda neden olduğu aspergillosis hastalığını önleme amaçlı cytochalasin ve kolhisin kimyasal mutajenleri kullanılmış ve iki kimyasal beraber uygulandıklarında hastalık gelişiminde bir inhibisyon gözlenirken, kimyasal mutajenler tek başlarına uygulandıklarında etkili olmadıkları belirtilmiştir (Wasylnka ve Moore, 2002).

Kolhisinin mitozu önleyerek hücre çoğalmasını engellediği bildirilmektedir (Dowd, 1998). Daha çok bazı hastalıkların tedavisinde farmakolojik olarak kullanıldığı bildirilen kolhisinin poliploid bitkiler elde etmede kullanıldığı da belirtilmektedir (Tepe ve ark., 2002).

Bitki hastalıklarını önlemedeki etkisi üzerine çalışmaya rastlanmadığından dolayı bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Kolhisin mutajeni kullanılarak, hastalıklarla savaşmada pratikte kullanım alanı olmamasına karşın fungusun gelişme evrelerine olan etkisinin belirlendiği bu çalışmada, patojenite üzerine olan etkisi dikkat çekicidir. Fungusun bitkiyi hastalandırma yeteneği kazandıran bazı enzim ve genler üzerine etkisini saptamak için ise genetik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Elde edilen sonuçların gelecekte bu konuda yapılacak olan çalışmalara yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Güneş ışığı içinde yer alan UV radyasyon kullanılarak alternatif kontrol metodları geliştirme yönünde yapılmış çalışmalar mevcuttur. Yapılan çalışmalarda UV radyasyonun fungal sporlar üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Marquenie ve ark. 2002). *B. cinerea*'nın yoğun sporulasyon yeteneği göz önüne alındığında, sporulasyonu engelleme ya da spor çimlenmesini inhibe etme anlamında UV radyasyon etkisinin belirlenmesinin önemi büyüktür.

Yaptığımız çalışmada UV radyasyon etkisinin *B. cinerea*'nın koloni gelişimi, spor verimi ve patojenite üzerine etkisinin istatistiki açıdan önemli olmadığı, sadece spor çimlenmesi üzerinde en küçük dozun (1 dk) etkisinin önemli olduğu saptanmıştır. Yaptığımız çalışmaya paralel olarak Epton ve Richmond (1980), 300-400 nm dalga boylu UV radyasyonun etkisinin misel gelişimi üzerine etkisini önemsiz fakat sporulasyona olan etkisini önemli bulmuştur. Schwartz ve Stauffer (1996), yaptıkları çalışmada *Emericellopsis glabra* fungusunu UV radyasyona tabi tutmuşlar ve fungusun koloni morfolojisinde ve büyüme hızında gözle görülür bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Bu sonuç yaptığımız çalışmayı destekler

niteliktedir. Spor çimlenmesindeki azalmanın ise radyasyonun dozu arttıkça azaldığını saptamışlardır.

Braga ve arkadaşları (2002), *Verticillium lecanii* ve *Aphanocladium album* entomopatojenlerini UV-B (300 nm) ışığına maruz bırakarak konidilerin gelişimini gözlemişlerdir. UV-B radyasyonunun önemli derecede bu iki türün konidi çimlenmesini engellediği sonucu, bulduğumuz değerleri doğrulamaktadır.

Body-Wilson ve arkadaşları (1998) yaptıkları bir çalışmada ise *B. cinerea* ve saprofitik antagonistler *Alternaria*, *Epicoccum* ve *Ulocladium* funguslarını laboratuvar koşullarında kısa dalga boylu UV radyasyona (254 nm) maruz bırakmışlardır. Fungusların sürekliliğini ve hayatta kalma şansını tespit etmeyi amaçlayan bu çalışmalarında radyasyona maruz bırakılan funguslardan *B. cinerea*, açık renkli pigmentasyonu ve hücre duvarının ince olmasından dolayı kısa dalga boylu UV radyasyona, koyu renkli ve kalın hücre duvarlı *Alternaria*, *Epicoccum* ve *Ulocladium* funguslarından daha fazla duyarlı olduğu sonucuna varmışlardır.

Günümüze kadar yapılan araştırma sonuçlarına göre fungusların UV radyasyona karşı dirençli olmaları onların melanin içerikleriyle bağlantılı olduğu Wang ve Casadevall (1994a) tarafından doğrulanmıştır. Melaninin fungusun infeksiyon mekanizmasındaki rolü bilinmemesine karşın, virülenslikle bağlantısı olduğu bildirilmektedir. Fungusların virülensliğini ve çevresel faktörlere olan dayanıklılığını, melanin sayesinde arttırdığı vurgulanmaktadır (Henson ve ark., 1999).

Markert (1953), yaptığı bir çalışmada spor çimlenmesinde UV sonucu meydana gelen farklılıkların nokta mutasyonlarından kaynaklandığını ve melanin pigmenti içeren sporların ise UV radyasyonunun mutajenik ve letal etkilerine karşı daha dayanıklı olduklarını doğrulamıştır. Chernobil'de 1986 tarihinde meydana gelen patlamadan yaklaşık 10 yıl sonra bölgedeki fungal çeşitliliği belirlemek amaçlı yapılan çalışmada, tespit edilen fungal birimlerin melanin içeriklerinin yüksek olduğu bulunan sonuçları doğrulamaktadır (Zhdanova ve ark., 2000).

UV radyasyonun depo koşullarında alternatif kontrol metodu olarak kullanılabileceği konusunda yapılmış çalışmalar mevcut olup özellikle *B. cinerea* gibi spor oluşturan funguslar için etkili olabileceği belirtilmektedir (Nigro ve ark., 1998). Marquenie ve ark. (2003a), depo hastalık etmenlerinden olan *B. cinerea* ve *M.*

fructigena'ya UV-C (254 nm) uygulaması sonucu konidilerde, inaktivasyon gözlemlenmiştir.

Özer ve Akbudak (2003), müşküle üzüm çeşidinin muhafazasında kurşuni küften kaynaklanan bozulma ve çürümelerin önlenmesi amacıyla 5, 10 ve 20 dk sürelerde UV-C uygulaması yapmışlardır. 90. gün sonunda düşük sürelerde uygulanan UV-C radyasyonda enfeksiyonun daha etkili olduğu fakat yüksek dozlarda ise enfeksiyon görülmediğini saptamışlardır.

Akbudak ve Karabulut'un (2002) üzüm muhafazasında kurşuni küfü önleme amaçlı yaptıkları diğer bir çalışmada ise üzüm tanelerine 4 dk süre ile farklı mesafelerden UV-C uygulaması yapmışlardır. 84. gün sonunda UV dozunun kalite kaybı ve çürümleri engelleyemediğini tespit etmişlerdir.

Sadece depo koşullarında değil, seralarda da *B. cinerea*'nın sporulasyonunu önleme amaçlı UV radyasyon çeken polietilen örtülerin kullanıldığı da bildirilmiştir. Elad'ın (1997) yaptığı bir çalışmada seralarda yeşil renkli polietilen örtülerin kullanılmasıyla *B. cinerea* konidi üretiminin %35-75 oranında azaldığını saptamıştır.

Daha önceden yapılan çalışmalarla, araştırma bulguları karşılaştırıldığında benzer sonuçlar içermekte ve birbirlerini desteklemektedir. Yapılan çalışmalar sonucu, kontrollü mekanlarda, özellikle depolanan ürünlerde ve sera koşullarında UV radyasyon kullanılarak fungus sporlarının hastalıklı meyveden sağlıklı olana geçişini önlemek ve seralarda spor çimlenmesi engellenerek hastalık oluşumunu azaltmak mümkündür. Hasat sonrası kimyasal uygulaması, ürün üzerindeki pestisit kalıntısı riskinden dolayı birçok ülkede sınırlandırılmış olup depo koşullarında alternatif kontrol metodlarından birinin UV radyasyon olabileceği düşünülmektedir.

Zayıf enerjili fiziksel mutajenlerden olan 50 Hz frekanslı, 11 mT şiddetinde EMA'nın, *B. cinerea*'nın farklı gelişim evreleri üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada istatistiki olarak fark önemsiz bulunmuştur. Mutajene maruz bırakılan kültürler morfolojik olarak incelendiğinde ise kontrol petri ile arada bir farkın olmadığı gözlenmiştir.

Ružič ve ark. (1997), yaptıkları bir çalışmada mikorrizal funguslardan olan *Pisolithus tinctorius*'a belli dozlarda uygulanan manyetik alanın fungusun koloni gelişmesinde oluşturduğu değişikliği araştırmışlardır. Sinuzoidal manyetik alan dalgalarını Helmholtz cihazı kullanılarak uygulamışlardır. 7 günlük fungus kültürleri,

0,01 mT, 46 Hz frekansta 14 gün boyunca manyetik alana maruz bırakılmış fakat gözlemlenebilir önemli bir etki görülmemiştir. 0,025 mT ve 0,1 mT, 50 Hz frekansındaki dozlarda ise kültürler 28 gün boyunca manyetik alana maruz bırakılmış ama yine istatistiki açıdan koloni gelişiminde önemli bir etki görülmemiştir. Manyetik alanın etki mekanizmasının tam olarak bilinmemesinden dolayı araştırmacılar bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiğini vurgulamışlardır. Yapılan bu çalışma, bulduğumuz sonuçları destekler niteliktedir.

EMA ışıınımlı ile yapılan çalışmalar daha çok prokaryotlarla denenmiştir. Bazı mayaların kullanıldığı çalışmalar olmasına karşın, fungal etmenlerle yapılmış çalışma oldukça azdır.

Saccharomyces cerevisiae mayasının üremesi üzerine manyetik alanın etkisi konulu yapılan bir çalışmada 60 Hz'lik EMA kullanılmıştır. EMA'nın maya hücre üremesinin uyum döneminde uzamaya neden olduğunu kanıtlamışlardır (Ager ve Radul, 1992).

Erol ve ark. (2003) ise *E. coli* ve *Saccharomyces cerevisiae* türlerinin elektromanyetik alandaki üreme davranışlarını araştırmışlardır. Günlük hayatta insanların karşılaşabileceği doz olan 50 Hz frekanslı, 30 μ T EMA düzeyini Helmholtz çemberi aracılığı ile uygulamışlardır. EMA'ya maruz bırakılan ve maruz bırakılmayan prokaryotik ve ökaryotik hücrelerin üreme eğrilerinin karşılaştırılmasıyla belirlenmesini amaçlamışlardır. Elde ettikleri sonuçlar 50 Hz frekanslı, 30 μ T şiddetinde EMA'ya maruz bırakılan her iki hücre tipinin çoğalma hızlarında düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. *S. cerevisiae* hücrelerinde ise uyum evresinde uzamaya neden olduğunu saptamışlardır. Alipov ve ark. (1994) ise *E. coli* ile yaptıkları bir çalışmada EMA'nın hücreye olan etkisinin, maruz kalma süresiyle bağlantılı olduğunu bildirmektedirler.

Prokaryotların ve mayaların, funguslara göre EMA'dan etkilenmelerinin, funguslardan daha basit canlılar olduğundan kaynaklandığını söylemek mümkündür. Araştırma bulgularına göre 50 Hz frekansında EMA şiddetinin ve fungusun maruz kalma süresinin artmasıyla etkisinin artacağı düşünülmektedir. Yapılan araştırmalar neticesinde, EMA'nın hücreleri etkilediği ve kansere yol açıcı bir faktör olduğu saptanmıştır. Ayrıca moleküler ve kimyasal bağları bozacak kadar kuvvetli olmadığı anlaşılan EMA'nın hücrelerin büyüme ve normal olarak çoğalmalarına etki edip

etmediği araştırıldığı bildirilmektedir (Örnek ve akır, 2001). Yapılan bu çalışmanın canlılar üzerine EMA etkisini belirlemede kaynak teşkil edeceği dūřünölmektedir.

Araştırma sonucunda doğada *B. cinerea*'nın çeşitli şekillerde maruz kalabileceği kimyasal ve fiziksel mutajenler (UV) fungusun virölensliğinde artışa neden olmamakla birlikte çeşitli gelişme evrelerini inhibe ettiği saptanmıştır. Ürünlerde hasat sonrası fungusla savaşımda UV radyasyonun kullanılmasıyla pratikte yararlanılabileceği sınıucuna varılmıştır. Elde edilen sonuçların bundan sonraki çalışmalara kaynak teşkil edebileceği dūřünölmektedir.

**BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL MUTAJENLERİN *Botrytis cinerea*
(PERS.)’NİN BİYOLOJİSİNE VE DOMATESTEKİ PATOJENİTESİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışmada bazı fiziksel ve kimyasal mutajenlerin, domateslerde hastalık oluşturan Kurşuni küf patojeninin biyolojisine ve patojenitesi üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Kullanılan mutajenlerin fungusun koloni gelişimi, spor çimlenmesi, spor çim borusu uzunluğu ve hastalandırma yeteneği üzerine olan etkileri birbirinden farklılık göstermiştir. Kimyasal mutajenlerden kafein etkisi daha çok fungusun spor çimlenmesi, çim borusu uzunluğu ve spor veriminde azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Kimyasal mutajenlerden bir diğeri olan kolhisinin, fungus patojenitesi üzerindeki etkisi dikkat çekicidir. Kimyasal mutajenlerin funguslar üzerinde oluşturduğu değişiklikleri saptamak için daha fazla araştırmaya gereksinim duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Fiziksel mutajen olarak *Botrytis cinerea*’nın farklı gelişim evreleri üzerine olan etkisini belirlemek amaçlı kullanılan UV radyasyonun sadece spor çimlenmesi üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Hatta bu etkililikten faydalanmak amaçlı sera ve soğuk hava depoları gibi kapalı alanlarda UV radyasyon kullanılarak bir takım fungal kökenli hastalıklarla mücadele edilebileceği düşünülmektedir. *B. cinerea* üzerinde EMA etkisinin ise istatistiki açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir. EMA’nın etki mekanizmasının bilinmediği ve hemen hemen her yerde bu etkinin var olduğu günümüzde, yapılan bu çalışmanın EMA’nın canlı dokular üzerine etkisinin belirlenmesi çalışmalarına ışık tutacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Botrytis cinerea*, fiziksel ve kimyasal mutajen, domates.

INVESTIGATIONS ON THE EFFECTS OF SOME PHYSICAL AND CHEMICAL MUTAGENS ON *Botrytis cinerea* (PERS.) BIOLOGY AND PATHOGENICITY ON TOMATO

SUMMARY

In this study, the effect of some chemical and physical mutagens on Gray mold pathogen which causes diseases on tomatoes, biology and pathogenicity were investigated.

The effects of used mutagens on colony growth, spore germination, spore germ tube elongation and pathogenicity ability of the fungi showed differences in each other. The effects of caffeine which causes less on the spore germination, spore germ tube elongation and spore yield were determined. Also caffeine can use to prevent from fungal borne diseases evolution on medicine field, the transporeting of caffeine in plant structure can reduce the fungi pathogenicity was concluded. The effect on the fungi pathogenicity of the colchicine, another chemical muthagen is attention. Needed more investigation to determine of the mutations cause by chemical mutagens on the fungus was concluded.

UV radiation as a physical mutagen which is using to determine the effects of different growth evolution of the *Botrytis cinerea*, only effect on the spore germination was determined. Also to take advantage of effect UV radiation usage in closed area like greenhouse and cold air store, can be control of some fungal borne diseases is thinking. The effect of Electro Magnetic Field (EMF) of *B. cinerea* is not important statistical dimention, was determined. Not known EMF's mode of action and nowadays this effect is almost everywhere, the study was made is thinking shed light on the effects of EMF on live tissue determination studies.

Keywords: *Botrytis cinerea*, physical and chemical mutagens, tomato.

KAYNAKLAR

- Ager, D. D. ve Radul, J. A. 1992. Effects of 60-Hz Magnetic Fields on Ultraviolet Light-Induced Mutation and Mitotic Recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research*. 283: 279-286.
- Akbudak, B. ve Karabulut, Ö. A. 2002. Üzüm Muhafazasında Gri Küf'den (*Botrytis cinerea* Pers:Fr.) Kaynaklanan Kalite Kaybı Ve Çürümelerin Ultraviolet-C (UV-C) Işık Uygulamaları İle Önlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 16 (2): 35-46.
- Alipov, Ye. D., Balyaev, I., Ya. ve Aizenberg, O. A. 1994. Systemic Reaction of *Escherichia coli* Cells to Weak Electromagnetic Fields of Extremely Low Frequency. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 34: 5-12.
- Anonim, 1996. Zirai Mücadele Standart İlaç Deneme Metodları, Bitki Hastalıkları, Cilt 2.
- Anonim, 1999. Hazardous Substance Fact Sheet: Colchicine. New Jersey Department of Health and Senior Services. RTK Substance number: 2263. <http://www.state.nj.us/health/eoh/rtkweb/2263.pdf>. İnternet web sayfaları.
- Anonim, 2005a. <http://www.tomatonews.com/> İnternet web sayfaları.
- Anonim, 2005b. Çanakkale Tarım İl Müdürlüğü, Proje ve İstatistik Şubesi. Çanakkale ili domates üretim verileri.
- Anonim, 2006a. http://www.hkmo.org.tr/resimler/ekler/98923c8190045e9_ek.pdf. İnternet web sayfaları.
- Anonim, 2006b. http://www.cevreorman.gov.tr/belgeler/e_radyasyon.pdf. İnternet web sayfaları.

- Baraldi, E., Bertolini, P., Chierici, E., Trufelli, B. ve Luiselli D. 2002. Genetic Diversity Between *B. cinerea* Isolates From Unstored And Cold Stored Kiwi Fruit. *J. Phytopatology*, 150: 629-635.
- Benlioğlu, S. ve Kılıç, B. 1994. Sensitivity of *Venturia inaequalis* to Benomyl and Dodine. 9. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası, Aydın. S. 401-403.
- Bergmann, F., Mahler, A., Berger-Rachamnov, H. ve Diller, D. 1969. Mechanism of Uptake of Purines by *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemistry* 8: 457-465.
- Body-Wilson, K. S. H., Perry, J. H. ve Walter, M. 1998. Persistence and Survival of Saprophytic Fungi Antagonistic to *B. cinerea* on Kiwifruit Leaves. Proc. 51st N.Z. Plant Protection Conf., 96-101.
- Bogo, A., Mantle, P. G., Boff, M. I. C. ve Do Amarante, C. V. 2003. Production of Caffeine Alkaloid by *Claviceps sorghi*. *Fitopatologia Brasileira* 28: 446-448.
- Bollen, G. J. ve Scholten, G. 1971. Acquired resistance to benomyl and some other fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen. *Neth. J. Pl. Path.*, 77: 83-90.
- Bourbos, V. A. ve Skoudridakis, M. T. 1994. Integrated Control of *Botrytis cinerea* in Non-Heated Greenhouse Tomatoes. 9. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası, Aydın. S:327-328.
- Braga, G. U. L., Rangel, D. E. N, Flint, S. D., Miller, C. D., Anderson, A. J. ve Roberts, D. W. 2002. Damage and Recovery From UV-B Exposura in Conidia of the Entomopathogens *Verticillium lecanii* and *Aphanocladium album*. *Mycologia*, 94 (6): 912-920.

- Buzi, A., Chilosi, G. Timperio, A. M., Zolla, L., Rossall, S. ve Magro P. 2003. Polygalacturonase Produced By *Botrytis fabae* As Elicitor of Two Furanoacetylenic Phytoalexins In *Vicia Faba* Pods. *Journal of Plant Pathology*, 85 (2): 111-116.
- Canıhoş (Dede), Y. ve Mansfield, J. 1995. Bakteriyel Bir Kitinaz Geni Transfer Edilen Marul Bitkisinde Kurşuni Küf Patojeni *B. cinerea*'nın gelişimi. 7. *Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, Bildiriler, 26-29 Eylül. Adana. S. 429-434.
- Dasdag, S., Çelik, M. S., Uyar, F., Akdağ, M. Z., Sert, C. ve Ensari Y. 1999. Effects of Nonionize Radiation on Plasmid DNA of *E.coli* Puc9. *Biochemical Archives* 15: 317-322.
- Dimond, A. ve Duggar, B. M. 1941. Some Lethal Effects of Ultra-Violet Radiation on Fungus Spores. *Botany*, 27: 459-468.
- Dinçer, H. 2000. Elektromagnetik Işınlamalar ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Elektrik, Elektronik ve Bilgisayar Mühendisliği Sempozyumu* 8-12 Kasım 2000 – Bursa.
- Doss, R. P., Deisenhofer, J., Krug von Nida, H. A., Soeldner, A. H. ve McGuire, R. P. 2003. Melanin in the Extracellular Matrix of Germlings of *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry*, 63: 687-691.
- Dowd, M. J. 1998. Colchicine. Virginia Commonwealth University. <http://www.phc.vcu.edu/Feature/oldfeature/colchicine/colchicine.html>
- Eden, M. A., Hill, R. A. ve Stewart A. 1996a. Biological Control of *Botrytis* Stem Infection of Greenhouse Tomatoes. *Plant Pathology*, 45: 276-284.
- Eden, M. A., Hill, R. A., Beresford, R. ve Stewart, A. 1996b. The Influence of Inoculum Concentration, Relative Humidity, and Temperature on Infection of Greenhouse Tomatoes by *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology*, 45: 795-806.

- Elad, Y. ve Shitienberg, D. 1995. *B. cinerea* in Greenhouse Vegetables: Chemical, Cultural Physiological and Biological Control and Their İntegration. Integrated Pest Management review 1: 15-29.
- Elad, Y. 1997. Effect of Filtration of Solar Light on The Production of Conidia by Field Isolates of *Botrytis Cinerea* and on Several Diseases of Greenhouse-Grown Vegetables. *Crop Protection*, 16 (7): 635-642.
- Elçi, Ş. 1994, Sitogenetikte Araştırma Yöntemleri ve Gözlemler. 100. Yıl Üni. Yayınları No: 18. Fen-Edebiyat Fak. Yayın No: 16: 223-224.
- Epton, H. A. S. ve Richmond, D. V. 1980. Formation, Structure and Germination of Conidia. *The Biology of Botrytis*. S. 41-83.
- Erkan (Arı), M., Demir T., Öz, S. ve Delen N. 1997. Investigations on the Sensitivity of Gray Mold (*Botrytis cinerea*) Isolates on Grapes Against Soe Fungicides. *J. Turk. Phytopath.*, 26(2-3): 87-96.
- Erol, Ö., Oldacay, S. ve Erdem, G. 2003. *Escherichia coli* ve *Saccharomyces cerevisiae* Suşlarının Elektromanyetik Alandaki Üreme Davranışları. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 33: 191-196.
- FAO, 2005. FAO Primary Crops Production Databases. <http://apps.fao.org>. İnternet web sayfaları.
- Faretra, F., Antonacci, E. ve Pollastro, S. 1988. Sexual Behavior and Mating System of *Botryotinia fuckeliana*, Teleomorph of *Botrytis cinerea*. *J. Gen. Microbiol.*, 134: 2543-2550.
- Friedman, J. ve Waller, G.R. 1983. Caffeine Hazards and Their Prevention in Germinating Seeds of Coffee (*Coffea arabica* L.). *J. Chem. Ecol.*, 9: 1099-1106.

- Frischknecht, P.M., Ulmer-Dufek, J. ve Baumann, T. W. 1986. Purine alkaloid formation in buds and developing leaflets of *Coffea arabica*: expression of an optimal defense strategy? *Phytochemistry*, 3:613-616.
- Giese, A.C. 1969. Living With Our Sun's Ultraviolet Rays, *Plenum Press*, New York and London, 1-256.
- Hänßler, G. ve Pontzen, R. 1999. Effect of Fenhexamid on the Development of *Botrytis cinerea*. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 52: 158-176.
- Harborne, J.B., Baxter, H. ve Moss, G.P. 1999. *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds From Plants*. 2ed. London. Taylor and Francis.
- Henson, J. M., Butler, M. J. ve Day, A. W. 1999. The Dark Side of the Mycelium: Melanins of Phytopathogenic Fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 37: 447–471.
- Holz, G., Coertze, S. ve Williamson, B. 2004. The Ecology of *Botrytis* on Plant Surfaces. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, 9-27.
- Jarvis, W. R. 1977. *Botryotinia* and *Botrytis* Species: Taxonomy, Physiology and Pathogenicity: A Guide to the Literature. Canada Department of Agriculture, Ottawa, Ontario, Canada.
- Kent, C. 1996. Preserving the Legacy. *Basics of Toxicology*, 255-286.
- Kerssies, A., Bosker-van Zessen, A. I., Wagemakers, C. A. M., ve Van Kan, J. A. L. 1997. Variation in Pathogenicity and DNA Polymorphism Among *Botrytis cinerea* Isolates Sampled Inside and Outside a Glasshouse. *Plant Dis.*, 81: 781-786.
- Keskin, G., Pezikoğlu, F. ve Gül, U. 2003. Sebze Durum ve Tahmin: Domates Durum 2002, TEAE Yayın No: 108, Temmuz 2003, Ankara.

- Kretschmar, J. A. ve Baumann, T. W. 1999. Caffeine in *Citrus* Flowers. *Phytochemistry*, 52: 19-23.
- Markert, C. L. 1953. Lethal and Mutagenic Effects of Ultraviolet Radiation on *Glomerella* conidia. *Exptl. Cell Res.*, 427-435.
- Marquenie, D., Lammertyn, J., Geeraerd, A. H., Soontjens, C., Van Impe, J. F., Nicolaï, B. M. ve Michiels, C. W. 2002. Inactivation of Conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructigena* using UV-C and Heat Treatment. *Int. J. Food Microbiol.*, 74: 27-35.
- Marquenie, D., Geeraerd, A. H., Lammertyn, J., Soontjens, C., Van Impe, J. F., Michiels, C. W. ve Nicolaï, B. M. 2003a. Combinations of Pulsed White Light and UV-C Or Mild Heat Treatment to Inactivate Conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilia fructigena*. *International Journal of Food Microbiology*, 85, pp. 185-196.
- Marquenie, D., Michiels, C. W., Van Impe, J. F., Schrevers, E. ve Nicolaï, B. N. 2003b. Pulsed White Light in Combination With UV-C And Heat to Reduce Storage Rot of Strawberry. *Postharvest Biology and Technology.*, 28: 455-461.
- Menzinger, W. 1965. Karyologische Untersuchungen an Arten und Formender Gattung *Botrytis* Mich. *Arch. Microbial*, 52: 178-196.
- Morris-Jones, R., Gomez, B. L., Diez, S. Uran, M., Morris-Jones, S. D., Casadevall, A., Nosanchuk, J. D. ve Hamilton, A. J. 2005. Synthesis of Melanin Pigment by *Candida albicans* *In Vitro* and During Infection. *Infection And Immunity*, 73: 6147-6150.
- Nigro, F., Ippolito, A. ve Lima, G. 1998. Use of UV-C Light to Reduce *Botrytis* Storage Rot of Table Grape. *Postharvest Biol. Technol.*, 13: 171-181.
- Oyar, O. 1998. Radyolojide Temel Fizik Kavramlar. *Nobel Tıp Kitapevleri*, S: 3-13.

- Örnek, O. ve Çakır, A. 2001. Elektromagnetik Alanların Biyolojik Dokulara Etkisi. *S.D.Ü.F.B.E. Dergisi*, 5 (1): 176-185.
- Özalphan, A. 2002. Temel Radyobioloji. *Haliç Üniv. Fen. Edebiyat Fak. Yayınları*.
- Özer, M. H. ve Akbudak, B. 2003. Doğal ve Yapay Gri Küf (*Botrytis cinerea* Pers:Fr.) Bulaşık Olan Üzümlerin Muhafazası Üzerine Ultraviole-C (UV-C) Işık Uygulamalarının Etkisi. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 17 (2): 23-32.
- Prins, T. W., Tudzynski, P., von Tiedemann, A., Tuddzynski, B., ten have, A., Hansen, M. E., Tenberge, K. ve van Kan, J. A. L. 2000. Infection Strategies of *Botrytis cinerea* and Related Necrotrophic Pathogens. *In: Fungal Pathology* (Kronstad J. ed.), Kluwer Academic Publishers, Dordecht, The Netherlands. Pp 32-64.
- Putrament, A., H. Rabanowska, T. Bilinski ve Prazmo, W. 1972. Specificity of Caffeine Effects. Inhibition by Caffeine of RNA and Protein Synthesis in Yeast and *Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genet.*, 118: 373-379.
- Ramstad, S., Futsaether, M. C. ve Johnson A. 2000. Effects of 50 Hz Electric Current and Magnetic Fields on The Prokaryote Propionibacterium Acnes. *Bioelectromagnetics*, 21: 302-311.
- Rowan, N. J., MacGregor, S. N., Anderson, J. G., Fouracre, R. A., McIlvaney, L. ve Farish, O. 1999. Pulsed-Light Inactivation of Food-Related Microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 3: 1312–1315.
- Ružič, R., Gogala, N. ve Jerman, I. 1997. Sinusoidal Magnetic Fields: Effects on The Growth and Ergosterol Content in Mycorrhizal Fungi. *Electro-Magnetobiology*, 16 (2): 129-142.

- Schwartz, L. J. ve Stauffer, J. F. 1996. Three Methods of Assessing the Mutagenic Action of Ultraviolet Radiation on the Fungus *Emericellopsis glabra*. *Applied Microbiology*, Vol. 14, No. 1
- Seyb, A. M. 2003. *Botrytis cinerea* Inoculum Sources in The Vineyard System. PhD *Dissertation*, Lincoln University, Lincoln, New Zealand.
- Stolarski, E. 1988. The Antartic Ozone Hole. *Sci. American.*, 258 (1): 20-27.
- Sundar-Raj, C. V. ve S. Dhala. 1965. Effect of Naturally Occurring Xanthines on Bacteria. I. Antimicrobial Action and Potentiating Effect on Antibiotic Spectra. *Appl. Microbiol.*, 13: 432-436.
- Suryanarayanan, T. S., Ravishankar, J. P., Venkatesan, G. ve Murali, T. S. 2004. Characterization of the melanin pigment of a cosmopolitan fungal endophyte. *Mycol Res.*, 108 (8): 974-8.
- Şehirali, S. ve Özgen, M. 1988. Bitki Islahı. *Ankara Üniv. Zir. Fak. Yayınları*: 1059, Ders kitabı: 310. s: 150-159.
- Temizkan, G. 1999. Genetik. II. Moleküler Genetik. *İ. Ü. Fen Fak. Basımevi* No: 245. Sayı: 40067. s.359-384.
- Tepe, Ş., Ellialtıoğlu, Ş., Yenice, N. ve Tıpırdamaz, R. 2002. *In Vitro* Kolhisin Uygulaması ile Poliploid Nane (*Mentha longifolia* L.) Bitkilerinin Elde Edilmesi. *Akdeniz Üni. Zir. Fak. Derg.*, 15 (2): 63-69.
- Türker, H. 2004. Effect of Ultraviolet Radiation on Total Plasma T3, Total Plasma T4 and Tsh Hormones in Molerat (*Spalax leucodon*). *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 17 (2): 1-8.
- Vallejo, I. M., Santos, J. M., Cantoral, I. G. ve Collado, L. R. 1996. Chromosomal Polymorphysm in *Botrytis cinerea* Strains. *Hereditas* 124: 31-38.

- Vallejo, I., Rebordinos, L., Collado, I. G. and Fernández Cantoral, J. M. 2001. Differential Behaviour of Mycelial Growth of Several *Botrytis cinerea* Strains on Either Patchoulol-or Globulol-Amended Media. *J. Phytopathology*, 149: 113-118.
- Vallejo, I., Carbu, M., Munoz, F., Rebordinos, L. ve Cantoral, J. M. 2002. Inheritance of Chromosome-Length Polymorphisms in the Phytopathogenic Ascomycete *Botryotinia fuckeliana* (anam. *Botrytis cinerea*). *Mycol. Res.*, 106: 1075-1085.
- Wang, Y. ve Casadevall, A. 1994a. Decreased Susceptibility of Melanized *Cryptococcus neoformans* to UV Light. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 3864-3866.
- Wang, Y. ve Casadevall, A. 1994b. Susceptibility of Melanized and Nonmelanized *Cryptococcus neoformans* to the Melanin-Binding Compounds Trifluoperazine and Chloroquine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40: 541-545.
- Wasylnka, J. A. ve Moore, M. M. 2002. Uptake of *Aspergillus fumigatus* Conidia by Phagocytic and Nonphagocytic Cells In Vitro: Quantitation Using Strains Expressing Green Fluorescent Protein. *Infection and Immunity*, 70 (6): 3156-3163.
- WHO, 1994. Environmental Health Criteria 160: Ultraviolet Radiation, Geneva.
- Woolfolk, C. A. 1975. Metabolism of N-Methylpurines by a *Pseudomonas putida* Strain Isolated by Enrichment on Caffeine as the Sole Source of Carbon and Nitrogen. *Journal of Bacteriology*, 123 (3): 1088-1106.
- Yel, M. ve Güven, T. 1990. Ultraviyole Işığının *Spalax leucodon* Epidermisi Üzerindeki Etkileri. *X.Ulusal Biyoloji Kongresi*, Genel Biyoloji Bildirileri, Erzurum.
- Yeşilbağ, K. 2002. Mutasyonel Değişimler ve Veteriner Virolojideki Önemi. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 21: 125-131.

- Yıldız, F. 1991. In Vitro Investigations on the Antagonistic Effects of Several Isolates Against *Botrytis cinerea*. *Turk.Phytopath.*, 20 (1): 11-22.
- Yıldız, F. 2000. Studies on the Biological Control of Gray Mold Disease (*Botrytis cinerea* Pers.) of the Greenhouse Grown Tomatoes. *J.Turk.Phytopath.*, 29 (2-3): 95-103.
- Zhdanova, N. N., Zakharchenko, A., Vember, V. V. ve Nakonechnaya, L. 2000. Fungi from Chernobyl: Mycobiota of the Inner Regions of the Containment Structures of the Damaged Nuclear Reactor. *Mycol. Res.*, 104 (12): 1421-1426.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesinde bana yardımcı olan tez danışman hocam Yrd. Doç. Dr. İsmet YILDIRIM'a, tezimin yazım aşamasında bana rehberlik eden ve yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Figen TÜRK'e, tez çalışmamda kullanılmak üzere bana kimyasalları sağlayan Doç. Dr. Savaş KORKMAZ ve Doç Dr. Murat ŞEKER'e, tezimin istatistik analizlerini yapmamda yardımcı olan Doç. Dr. Mehmet MENDEŞ'e ve her zaman arkamda olan bilgilerinden ve desteğinden yararlandığım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Sevil YALÇIN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu tezin yürütülmesinde bana her türlü manevi desteği sağlayan laboratuvar arkadaşım Arş. Gör. Duygu MERMER'e, fizik bölümü laboratuvarında bulunan aletleri kullanmama izin veren hocam Doç. Dr. İsmail TARHAN'a, fizik bölümü laboratuvarında yaptığım deneylerde bana yardımcı olan arkadaşım Arş. Gör. Emre COŞKUN'a, bölümümüzdeki diğer araştırma görevlisi arkadaşlarım ve hocalarıma ve beni bu günlere getiren aileme teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

ÖZGEÇMİŞ

5 Eylül 1981 yılında Çanakkale’de doğdu. Çanakkale İbrahim Bodur Lisesini bitirdikten sonra 1999 yılında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitkisel Üretim Bölümüne girmeyi hak kazandı. 2003 yılında Bitki Koruma bölümünden Ziraat Mühendisi unvanıyla mezun olduktan sonra aynı yıl Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesinde, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. 2003 aralık ayından beri Araştırma Görevlisi olarak yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.