

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

***Penicilium expansum* FUNGUSUNUN FARKLI NaCl ORTAMLARINDA  
FİZYOLOJİK ve BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ**

**Nagihan KILIÇ**

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2017**



**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

***Penicilium expansum* FUNGUSUNUN FARKLI NaCl ORTAMLARINDA  
FİZYOLOJİK ve BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ**

**Nagihan KILIÇ**

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2017**

Yrd. Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ danışmanlığında, Nagihan KILIÇ'ın hazırladığı "***Penicillium expansum* Fungusunun Farklı NaCl Ortamlarında Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerinin İncelenmesi**" konulu bu çalışma 08/03/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ

.....

Üye: Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR

.....

Üye: Prof. Dr. Sibel DERVİŞ

.....

**Bu Tezin Bitki Koruma Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.**

**Prof. Dr. Halil Murat ALGIN**  
Enstitü Müdürü

**Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.**  
**Proje no: 15024**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	v
SİMGELER DİZİNİ .....	vi
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	13
3.1. Materyal .....	13
3.1.1. Çalışmada kullanılan fungal materyal .....	13
3.2.1. Fungal gelişim ve sporulasyon .....	14
3.2.2. Slope (eğik) agar .....	14
3.2.3. Misel ağırlığı .....	15
3.2.4. Spor sayımı ve probit analizi .....	16
3.2.5. Fungusların canlılık testi .....	16
3.2.5. Fungusların pH ve EC ölçümü .....	17
3.2.6. Fungusun Triphenyltetrazolium Chloride (TTC) ile metabolik aktivitesinin ölçümü .....	17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	19
4.1. Araştırma Bulguları .....	19
4.1.1. Uygun dozun ayarlanması .....	19
4.1.2. Hastalık etmeninin fizyolojik parametreleri .....	20
4.2. Tartışma .....	26
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	30
5.1. Sonuçlar .....	31
5.2. Öneriler .....	32
KAYNAKLAR .....	34
ÖZGEÇMİŞ .....	38

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

#### ***Penicillium expansum* FUNGUSUNUN FARKLI NaCl ORTAMLARINDA FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ**

**Nagihan KILIÇ**

**Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ  
Yıl: 2017, Sayfa:38**

Bu çalışma ile *Penicillium expansum* fungusunun tuza karşı tolerans sınırları belirlenmiş, fungusun gösterdiği fizyolojik ve biyokimyasal tepkiler ölçülerek fungusun abiyotik stres unsuruna karşı dayanım durumu belirlenmiştir. Patojen, beş farklı tuz (0.25-, 0.50-, 0.75-, 1,0-, 1.25 M) konsantrasyonlarında *in vitro* koşullarda PDA (Patates dekstroz agar) ve PDB (Patates dekstroz broth) ortamında gelişime bırakılmıştır. Patojenin, *in vitro* koşullarda miselyal gelişimi ve sporulasyonu artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azalmış ancak kırılma noktası olarak 1000 mM tespit edilmiştir. Miselyal gelişim için IC<sub>50</sub> değeri 741 mM olarak belirlenen fungal etmenin tuzlu koşullarda agresif bir gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra fungusun misel yaş ağırlığı 250 mM'da % 30 kayba, 1000 – 1250 mM da ise sırası ile % 60 ve 65 kayba uğramıştır. Artan tuz konsantrasyonu elektriksel iletkenlik (EC) ve pH değerleri ile doğrusal bulunmuş, bu durum fungusun tuzu metabolize ettiği şeklinde değerlendirilmeyip tuzlu koşullarda yaşadığı şeklinde yorumlamıştır. Fungal etmenin ortamda bulunan tuzu metabolizmaya uğratarak ortamda bulunan tuz konsantrasyonunu azaltmadığı görülmüştür. Bu durum elektiriksel iletkenlik (EC) ile teyit edilmiştir. Ayrıca, fungusun tripenyl tetrazolium chloride (TTC) testi ile canlılığını koruduğu belirlenmiştir. Artan tuz konsantrasyonuna rağmen fungal etmenin adaptasyon kabiliyetinin çok yüksek olduğu görülmüş hasat sonrası ürünlerin muhafazasında önerilen tuz uygulamasının sakıncalı olduğu tartışılmıştır.

**ANAHTAR KELİMELER:** NaCl, *Penicillium expansum* ,TTC, pH ve EC

## ABSTRACT

MSc Thesis

### EVALUATION OF PHYSIOLOGICAL and BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *Penicillium expansum* FUNGUS IN VARIOUS NaCl CONDITIONS.

Nagihan KILIÇ

Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Plant Protection

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Murat DIKİLİTAŞ  
Year: 2017, Page:38

This study was carried out to determine the physiological and biochemical tolerance responses of *Penicillium expansum* against NaCl salinity. The pathogen was grown at 5 different salinity levels (0.25-, 0.50-, 0.75-, 1,0-, 1.25 M NaCl) in PDA (Potato dextrose agar) and PDB (Potato dextrose broth) conditions. The growth pathogen in terms of mycelial development and sporulation decreased with the increase of NaCl level, however, the breaking point was determined as 1000 mM NaCl. IC<sub>50</sub> value was determined as 741 mM NaCl for mycelial development. Mycelium fresh weight also decrease with the increase of salinity, at 250 mM NaCl level, the decrease was 30% while at 1000 and 1250 mM NaCl levles, it was 60 and 65% loss, respectively. Increases in NaCl concentrations poositively correlated with the increase of EC and pH values. Increases in those values were intrepredted as the fungus surived in salt conditions rather than metabolizing the salt. Because, it was observed that the fungus did not reduce the level of EC in substrata as determined with the measurement of EC. In addition, viability of the fungus in salt conditions was confirmed with tripenyl tetrazolium chloride (TTC) test. We evaluated that the adaptation of the pathogen was quite high to saline conditions as this could result in potential danger when postharvest crops were tried to be controlled with the application of salt.

**KEY WORDS:** NaCl, *Penicillium expansum* ,TTC, pH and EC

## TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında değerli zamanını ayırıp ilgisini esirgemeyen danışman hocam Saygıdeğer Yrd. Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ'a; laboratuvar çalıŐmalarımnda engin bilgilerinden faydalandığım Diyarbakır Zirai M¼cadele Araştırma İstasyonu M¼d¼rl¼ę¼nden Őahimerdan T¼RK¼LMEZ' e her zaman maddi ve manevi yanımnda olup destek olan aileme teŐekk¼r¼ borç bilirim.

Ayrıca tezimin maddi olanaklarla gelişmesini saęlayan H¼BAK'a teŐekk¼r ederim.



## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1.1. <i>Penicillium</i> Fungusunun Üreme Döngüsü (Madigan ve ark., 1997).....	1
Şekil 1.2. a) PDA ortamında <i>P. expansum</i> kolonisi, b) <i>P. expansum</i> sporları.....	4
Şekil 3.2. <i>Penicillium expansum</i> fungusunun yaş misel ağırlığının elde edilmesi .....	15
Şekil 3.3. <i>Penicillium expansum</i> fungusunun PDB ortamında pH ve EC ölçümü .....	16
Şekil 4.1. <i>Penicillium expansum</i> fungusunun farklı tuz (NaCl) konsantrasyonlarındaki Gelişimi .....	18
Şekil 4.2. Farklı tuz konsantrasyonlarında A (0 mM), B (250 mM), C (500 mM), D (750 mM), E (1000 mM), F (1250 mM) mikroskop altında sporulasyon Görüntüleri .....	20
Şekil 4.3. <i>Penicillium expansum</i> fungusunun misel ağırlık grafiği .....	23
Şekil 4.4. Farklı NaCl konsantrasyonlarındaki sporulasyonların EC değerleri.....	24
Şekil 4.5. Farklı NaCl konsantrasyonlarındaki sporulasyonların pH değerleri .....	25
Şekil 4.6. <i>Penicillium expansum</i> fungusunun TTC konsantrasyon değerleri .....	26

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa No

Çizelge 1.1. <i>Penicillium expansum</i> fungusunun sınıflandırması.....	4
Çizelge 3.1. Patates Dekstroz Agar (PDA) .....	12
Çizelge 4.1. <i>Penicillium expansum</i> fungusunun farklı NaCl konsantrasyonlarında 1 cm <sup>2</sup> deki spor yoğunluğu (kontrol grubu 100 kabul edilmiştir, sporulasyon 1/100 oranında seyreltilerek yapılmıştır).....	19
Çizelge 4.2. <i>Penicillium expansum</i> fungusunun farklı NaCl konsantrasyonlarında miselyal gelişimi ve % miselyal inhibisyonu .....	21



## SİMGELER DİZİNİ

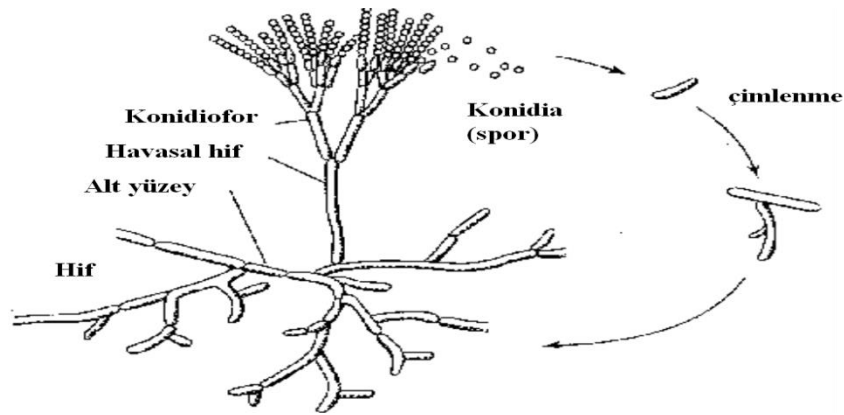
<b>EC</b>	Elektrolit sızıntısı
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization-Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>IC<sub>50</sub></b>	İnhibe Konsantrasyonu
<b>MGI</b>	Miselyal Gelişim İnhibisyonu
<b>NaCl</b>	Tuz
<b>PDA</b>	Patates Dekstroz Agar
<b>PDB</b>	Patates Dekstroz Broth
<b>RGR</b>	Orantılı Büyüme Oranı
<b>TTC</b>	2, 3, 5-Triphenyltetrazolium chloride



## 1.GİRİŞ

Funguslar; ipliksi yapıda, dayanıklı hücre duvarına sahip yaklaşık 80.000 türü bulunan ve içlerinde birçok hastalık etmeni taşıyan organizmalardır. Hücreleri etrafında, gelişmiş bir hücre çeperi yer alır. Funguslar ökaryotik mikroorganizmalar olduğu için sitoplazmada dağılmış olan ribozomlar, kofullar ve bazılarında ise golgi aygıtı bulunur. Bakteri hücrelerinden farklı olarak çekirdek zarına sahip bir veya birden fazla çekirdek içerebilirler (Lahlali ve ark., 2004).

Funguslar, heterotrof canlılar olduğu için kendi besin maddelerini kendileri üretemezler, Aerobik gelişim gösterdikleri için enerjiyi organik maddelerin oksidasyonundan temin ederler. Fungusların yaşam alanları çok fazladır. Örneğin bir kısmı sucul olup tatlı sularda yaşar. Bir kısmı ise denizlerde yaşamaktadır. Ancak büyük bir çoğunluğu toprakta ve bitkisel atıklarda yaşar. Bunun yanı sıra insan, hayvan ve bitkilerde parazit olanları da mevcuttur. Funguslarda vejetatif yapı olan tallus yaklaşık 5 mm çapındaki iplikçiklerin dallanarak çoğalmasından oluşur. İplikçiklerin her birine ise hif denir. Hifi oluşturan uzun, silindirik hücreler vardır. Bu hücreler genellikle septum denen bölmelerle birbirinden ayrılır. Bir türe ait hifler topluluğuna ise misel denir. Eşeyli ve eşeysiz olmak üzere iki şekilde ürerler. Üreme biçimlerine göre sınıflandırılır. Sporlar aracılığı ile çoğalan funguslar aynı anda hem eşeyli hem de eşeysiz konidiyumlar oluşturabilirler (Mutlu ve ark., 1999).



Şekil 1.1. *Penicillium* Fungusunun Üreme Döngüsü (Madigan ve ark., 1997)

Taze meyvelerin ve sebzelerin hasat sonrasında depo ömrünü kısaltan önemli sorunların başında fungal hastalıklar gelmektedir. Hasat sonrasında görülen hastalık ve bozulmaların sebepleri arasında en önemli olan sorunların başında biyolojik ve abiyotik kaynaklı faktörler gelmektedir. Biyolojik kaynaklı faktörlerin önemli bölümünü funguslar ve bakteriler oluşturmaktadır. Bu hastalık faktörlerine depolarda sıklıkla rastlanmakta olup, büyük kayıplara neden olurlar. Abiyotik faktörler ise hasat sonrasında ürünlerin bozulmasına sebep olan metabolitlerin eksikliği veya fazlalığı, ürünün bulunduğu ortamın nem ve sıcaklık durumu ile kimyasal ve fiziksel yaralanmalardır (Temur, 2012).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'ne göre üretilmekte olan gıdaların, %25'i hasat sonrasında kaybolmaktadır. Gıdalarda rastlanılan en büyük ekonomik kayıplar ise böceklerin zarar vermesi ve fungal hastalıklar ile olmaktadır. Hasat sonrası yaşanan hastalıklar, ayrıca depolama süresi ve meyvenin pazarlama ömrünü de etkilemektedir. Kayıplar hasat sonrasında fungusit kullanıldığında %5-10 arasında değişirken; fungusit kullanılmadığı takdirde ise %50 ya da daha yüksek oranlarda zararlara aynı yıl içerisinde rastlanılmaktadır. Ancak sentetik fungusitlerin hasat edilen ürünlerde kullanımını sınırlandıran önemli bazı etmenler vardır. Bu etmenlerden biri patojenlerin fungusitlere karşı geliştirdikleri dayanıklılık mekanizması sonucu yaygın olarak kullanılan fungusitlerin etkilerini kaybetmeleridir. (Temur, 2012).

Bazı fungus türleri, domates, turunçgil, elma vb. ürünler üzerinde olumsuz etkilere yol açmakta, *Penicillium expansum*, *Alternaria alternata*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* yaygın olarak bulunmaktadır. Özellikle, *Penicillium* türü fungal etmenler, elma, turunçgiller, domates bitkileri üzerinde önemli derecede kayıplara neden olmaktadır (Houbraken ve Samson, 2011).

Depolanmış ürünlerde yüksek oranlarda kayıplara sebep olan *P. expansum* çok geniş bir konukçu kitlesine sahip olan önemli bir küf hastalığı etmenidir. Birçok saprofit *Penicillium* türleri yara dokularından içeri girerek depolanmış ürünler üzerinde çürüklüğe sebep olmaktadır (Miedes ve Lorences, 2006). Meyvelerde

bulunan hücre duvarları önemli bir fiziksel engel oluşturmalarına rağmen *P. expansum* hücre duvarında bulunan pektin ve hemiselüloz gibi yapı öğelerini parçalayarak hücre derinliklerine kadar ilerleme yeteneğine sahiptir. Özellikle hastalık etmeni tarafından üretilen çoklu enzimler sayesinde bu yapıların parçalanması hızlanmaktadır (Lahlali ve ark., 2005; Boubaker ve ark., 2009).

Hasat öncesi ya da sonrasında uygulanan fungusitlerin etkinliği belirlenmiş olmasına rağmen, fungal etmen türlerinin genetiğine ve çeşidine göre değişiklik göstermektedir. Hasat sonrası uygulamalar ürünün toplanmasından sonra, depolamadan önce, ürünün paketlenmesinden önce, son depo aşamasında veya satış aşamasında gerçekleştirilir (Janisiewicz ve Korsten, 2002).

Hasat öncesinde fungusit uygulanmasının *P. expansum* popülasyonunu azalttığı ve gelişmesini engellediği yapılan çalışmalar sonucunda değerlendirilmiştir. Hasat öncesi uygulama ile ürün üzerinde kalan ilaç kalıntıları olası enfeksiyonları kontrol altına almaktadır (Xiao ve ark., 2011).

*Penicillium* türünden ilk olarak 1809 yılında mantar bilimci ve botanikçi John H.F. Link tarafından bahsedilmiştir. Link, çalışmalarında *Penicillium* cinsinin üç farklı türünden bahsetmiştir. Bunlar; *Penicillium*, *P. candidum* (Link), *P. expansum* (Link) ve *P. glaucum* (Link) türleridir. Bu türlerin ortak özellikleri ise fırça tipinde konidiofor üreten türler olmalarıdır (Link, 1809).

Link tarafından 1809 yılında *Penicillium* türü ortaya atıldıktan sonra birçok araştırmacı bu tür ile ilgili araştırmalar yapmıştır. *Penicillium* türüne ait funguslar; morfolojik karakteristiklerine ve konidiofor kollarının yapısına göre sınıflandırılmıştır. Konidioforlar, yoğun fırça gibi konidiofor taşıyan yapılardır. Konidioforlar tekil yapılı veya kollara ayrılmıştır ve şişe biçimli fiyalidler demeti tarafından sınırlanırlar.

Konidya, fiyalidlerin uç kısımlarında zincirin genç kökenlerinde neredeyse tamamen yeşil olarak üretilir. Spor taşıma sistemine göre *P. expansum* halkalı yapılı

diğer bir deyişle ikincil derece kollar taşıyan bir fiyalid kümesidir. Ekoloji, büyüme türü, morfolojik yapı ve  $\beta$ -tübülün dizilerine dayanan çok fazlı sınıflandırmada *P. expansum*, *P. marinum*, *P. sclerotigenum*; *Penicillium* dizisinde *expansa* türünde yer alırlar (Samson ve Pitt, 2000; Frisvard ve Samson, 2004).

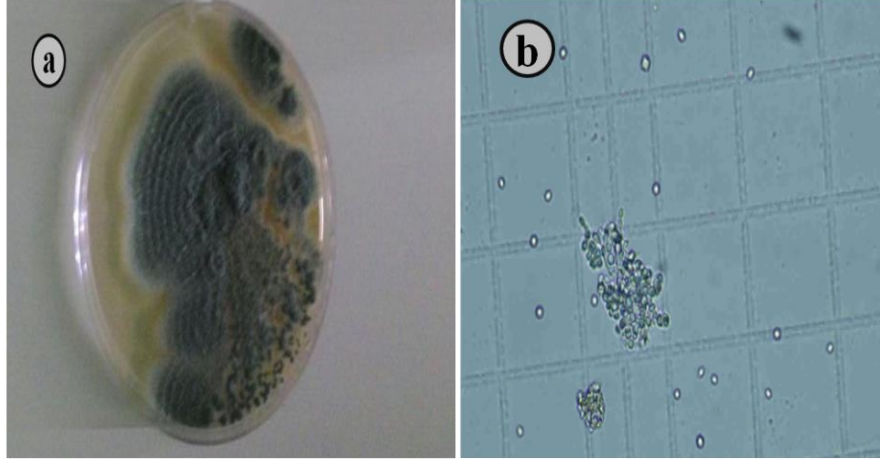
Son sınıflandırma yöntemine göre, *Penicillium* sınıflandırması Çizelge 1.1. de verilmiştir.

Çizelge 1.1. *Penicillium expansum* fungusunun sınıflandırması

<b>Alem</b>	<i>Mantar</i>
<b>Şube</b>	<i>Ascomycota</i>
<b>Dizi</b>	<i>Eurotiales</i>
<b>Sınıf</b>	<i>Eurotiomycetes</i>
<b>Aile</b>	<i>Trichocomaeate</i>
<b>Cins</b>	<i>Penicillium</i>
<b>Alt cins</b>	<i>Penicillium</i>
<b>Grup</b>	<i>expansa</i>
<b>Tür</b>	<i>expansum</i>

İki yüzden fazla *Penicillium* türü belirlenmiş olup bu tür altında 1000' e yakın isim verilmiştir. Bu isimlerin çoğu son yapılan modern sınıflandırmaya uymadığı için kabul edilmemiştir. Son sınıflandırma (Pitt ark., 2000) tarafından yapılmış olup 225 tür tescillenmiştir.

PDA ortamında *P. expansum* kolonisi, *P. expansum* sporları (Şekil 1.2. a, Şekil 1.2. b)' de sırasıyla gösterilmiştir.



Şekil 1.2. a) PDA ortamında *P. expansum* kolonisi, b) *P. expansum* sporları

Bitkiler en iyi gelişimi kendileri için uygun olan koşullarda gösterirler. Normal metabolizmanın değişkenliğine bağlı olarak, günlük ve mevsimsel değişimlere rağmen büyümelerini devam ettirebilirler. Bazen maruz kaldıkları strese göre bitki bünyelerinde değişiklikler meydana gelebilir (Shao ve ark., 2008).

Tarımsal üretimi etkileyen en önemli faktörlerden biri de toprak pH ve tuzluluğudur. Bu faktörler bitki beslenmesinde önemli olduğu kadar toprakta mikrobiyal aktivite için de önemlidir. Bu nedenle hem toprak kaynaklı hastalıkların çıkışında hem de biyolojik mücadelede kullanılan etmenlerin aktivitesinde tuzluluk ve pH önemli sınırlayıcı faktördür. Deniz kıyısına yakın sera alanlarında önemli sorunlardan biri toprak tuzluluğudur. Dikkat edildiği üzere bu bölgede bulunan patojenlerin gelişimini de etkilemektedir.

Günümüzde hatalı tarımsal uygulama ve işlemler mevcut tarım arazilerinin verimliliğinde düşüslere sebep olmakta, sonuç olarak önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Toprak tuzluluğu da doğal veya hatalı uygulamalarla oluşan, tarımda verimliliği sınırlandıran önemli stres unsurlarının başında gelmektedir.

Toprak tuzluluğu; çözünebilir tuzların kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde yıkanmasıyla yeraltı suyuna karışarak kılcal yollarla toprak yüzeyine çıkması ve

buharlaşıma sonucu suyun topraktan ayrılarak tuzun toprak yüzeyinde ve yüzeye yakın bölümünde birikmesi olayıdır (Ergene, 1982; Kwiatozsky, 1998, Kara, 2002).

Çözünebilir tuzlar, bitkiler tarafından kolayca alınabilirler. Bitki bünyesine alınan tuz belli bir seviyeyi geçince bitkiye zarar vermektedir. Bitkide toksik etkiye sebep olmaktadır. Ayrıca toprakta tuz miktarının artmasıyla, bitkinin topraktan su alımı zorlaşmakta ve toprağın yapısı bozularak bitki gelişimi yavaşlamakta, hatta durmaktadır (Kanber ve ark., 1992; Güngör ve Erözel, 1994). Toprakta yeterli miktarda su bulunmasına rağmen bazı durumlarda bitkilerin solmaya başladıkları görülmüştür. Bunun sebebi genellikle toprakta yüksek miktarda tuzluluğun yarattığı ‘‘fizyolojik kuraklık’’ durumundan kaynaklanmaktadır. Fizyolojik kuraklık durumunda ozmotik basınç yükselir ve bitki ihtiyacı olan suyu topraktan alamamaktadır (Ayyıldız, 1990). Bu nedenlerden ötürü bitkide solgunluk, kuruma, bodurluk, kısa gövde, çiçeklenmenin gecikmesi, ya da çiçek açmama ve tohumların daha küçük olması, dayanıklı yabancı otların gelişmesi gibi sorunlar oluşur.

Artan nüfus ve çevre kirliliği, tarım alanlarının şehirleşmeye yenik düşmesi sonucu farklı alanlarda yapılan tarımsal faaliyetler sonucu abiyotik stres faktörlerine maruz kalan çok çeşitli bitki ve varyetelerin yetiştirilmesi zorunlu hale gelmiştir. Bu koşullar altında yetiştirilen bitkiler, abiyotik stres faktörleri yanında biyotik stres etmenlerine (funguslar, bakteriler gibi) de maruz kalabilmekte, dolayısı ile ürün gelişimi ve kalitesi önemli ölçüde düşmektedir.

Tuz stresi altında yetiştirilen bitkiler ya da o stres altında yetişen bitkilerden elde edilen ürünler normal koşullarda yetiştirilen ürünlere göre verim açısından düşük olduğu gibi içerdikleri tuz iyonları açısından da farklılıklar göstermektedirler. Örneğin, tuz stresini tolere edebilen ya da yüksek EC değerlerine sahip meyveleri enfekte edebilen fungal hastalıklar yeni ürünlerin elde edilmesinde ve pazarlanmasında önemli bir faktör olabilirler. Tuz tıpkı bitkilerde olduğu gibi mikroorganizmalar üzerinde de etki etmiş olup artan tuz konsantrasyonunda mikroorganizmaların bünyelerinde değişikliklere neden olmuştur.

Hasat edilmiş ürünlerde koruyucu etki bırakan kimyasal, biyolojik ve fiziksel yöntemler, hastalık etmeninin gelişiminin yavaşlaması için önemli bir engel teşkil ederken, ürün kalitesinin artırılması için de bu yöntemler kullanılmaktadır. Hatta organik ürün yetiştiriciliğinde pestisit kullanımına alternatif olması açısından kullanılan bazı fiziksel yöntemler (hasat edilmiş ürünler üzerinde sıcak su uygulaması, bitki ekstraktı kullanımı veya tuz bileşiklerinin uygulanması) ön sürülmektedir. Ancak, bu yöntemler kimi zaman patojen gelişimini durduramadığı gibi çok düşük dozlarda kullanıldığında ise patojen gelişimini teşvik edebilmektedirler. Örneğin, yüksek vitamin veya çözünebilir katı madde içeriğine sahip meyveler, kalite özelliği açısından önem taşıırken aynı zamanda hastalık etmenleri için de potansiyel enfeksiyon kaynağı olabilirler. Son yıllarda yüksek EC değerine sahip domates yetiştiriciliği önemli bir trend haline gelmiş, damak tadı, çözünebilir madde ve aroma bakımından daha zengin bir içeriğe sahip hale gelmişlerdir. Dolayısı ile bu tür meyveler patojenler için zengin bir inokulum kaynağı haline de gelmişlerdir (Dikilitaş ve Karakaş, 2014).

*Penicillium* fungusu genellikle yaralardan giren patojenlerden olmasına rağmen her yerde bulunabilme özelliği ve yüksek miktarda aseksüel konidi üretme yeteneğinden dolayı hassas dokular üzerinde de etkili olabilmektedir. Bundan dolayı depolama ve pazarlama aşamasında sağlam dokularda da enfeksiyon yapma yeteneğine sahiptir. Bu hastalık etmeni oda sıcaklığında etkili olmasına rağmen birçok fungus için stres ortamı sayılabilecek soğuk, kuraklık, tuzluluk gibi koşullarda da enfeksiyon kabiliyetini sürdürdüğü görülmüştür. Fungusun pestisitlerle kontrol edilebilmesi de bundan dolayı zorluklar içermektedir. Ayrıca, organik tarım ürünlerinin teşvik edilmesi, pestisit uygulamasının hasat sonrası ürünlerde tatbikatının azaltılması veya yasaklanması, bu fungal etmen ile mücadeleyi daha da zorlaştırmıştır.

Uçucu yağlar (Barrera ve ark., 2009) veya gıda katkı maddeleri (Kazemi ve ark., 2011) birçok hastalık etmeni için önerildiği gibi, *Penicillium* çürüklüğünün kontrolü için de önerilmiştir. Gıda katkı maddeleri çevre ve insan sağlığına minimum yan etkisi olup geniş spektrumlu antifungal etkiye sahip kimyasal bileşiklerdir

(Arslan ve ark., 2009). Bu alternatif önlemler, hasat sonrası ürünlerin depolama ömrünü uzatmak ve fungusitlerin yerine kullanılmak için önerilmiştir. Tuz ve tuz bileşikleri ile hasat sonrası ürünleri kontrol etmek için çeşitli tuz uygulamaları yapılmış, özellikle karbonat ve bikarbonat ile muamele edilen hasat sonrası meyvelerin *Penicillium digitatum*, *P. italicum* fungusları üzerinde inhibe edici özelliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (Smilanick ve ark., 2008; Arslan ve ark., 2009).

Yukarda bahsedilen sebeplerden dolayı hasat sonrası ürünlerde oluşacak çürüklüğün önüne geçebilmek için çeşitli alternatif yöntemler önerilmesine rağmen, bu yöntemlerin fungal etmenlerin biyolojisi üzerindeki etkileri de tartışılmak durumundadır.

Bu çalışma ile fungusun tuza tolerans sınırları belirlenerek, fungusun gösterdiği fizyolojik ve biyokimyasal tepkiler ölçülmüş ve oda sıcaklığında ya da soğuk koşullarda depolanmak için ayrılan hasat sonrası sebze ve meyvelerin muhafazasında karşılaşılabilecek potansiyel patolojik sorunlar ortaya konulmuştur. Yine fungusun düşük ve yüksek tuz konsantrasyonlarında tepkileri belirlenerek hasat sonrası ürünlerin muhafazasında ortaya konacak stratejiler için önemli bir veritabanı elde edilmiştir. Fungal etmenin tuz bileşikleri ile kontrol edilme mekanizması son yıllarda öne çıkan kontrol stratejileri arasına girmesine rağmen, tuzun ortamda bıraktığı kalıntı ve tıpkı pestisit kullanımında olduğu gibi fungal etmenlerin tuza karşı tolerans geliştirmesi ve kullanılan tuz konsantrasyonunun hasat öncesi ve hasat sonrası ürünlerde kontak etki ile bile patojeni kontrol edebilme yöntemi ürünlerde kalite ve aroma kantite kaybına neden olup olmayacağı iyi araştırılmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kis-Papo ve ark. (2001), Ölü Deniz’de yüksek tuz koşullarında mevsimsel olarak fungusların değişimini incelemişler, izolatları bilindik yöntemlerle tanımlamışlardır ve *Aspergillus* sp.’de, *Eurotium herbarium*, *Penicillium westlingii*. türlerinin stabil olduğunu bulmuşlardır.

Ökaryotik mikroorganizmaların tuz tolerans yapıları, çoğunlukla tuza duyarlı *Aspergillus nidulans* gibi filamentli halotolerant funguslar, *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida versatilis* (Silva- Graça ve Lucas, 2003), *Rhodotorula mucilaginosa* ve *Pichia guillermondii* gibi funguslar üzerinde çalışmışlardır. Bu funguslar üzerindeki çalışmalarda, yüksek tuzlulukta turgor basıncın devam ettiği göstermiştir. Tuzlu çevrelerde; gliserol, trehaloz ve diğer organik eriyebilen maddelerin birikimi ve üretimi artmakta olup bu koşullarda canlılık ve üreme yetenekleri sürdürülebilmektedirler. *D. hansenii* gibi birkaç fungus çeşidinin, tuz stresi altında geliştikleri zaman hücre içinde oldukça yüksek miktarda sodyum bulundurduğu rapor edilmiştir. Bu funguslar sodyum içeren organizmalar olarak tanımlanmışlardır (Kogej ve ark., 2005).

İsrail’ de yapılan bir çalışmada ise (Grishkan ve ark., 2003); bilindik yöntemler kullanılarak tuzcul ortamlardan elde edilen funguslar tanımlanmış, *Aspergillus* türlerinin baskın olduğu görülmüş. *Fusarium* türlerinin *Aspergillus* türlerine göre daha az olduğu *penicillium* türlerinin ise *Aspergillus* türleri kadar baskın olduğu tespit edilmiştir.

Tuzcul fungusların ağır metal gideriminde kullanılması ile ilgili Nazareth ve Marbniang (2007) çalışmalarında; tuzcul bölgelerde yetişen bitkilerden ve tuzlardan izole ettikleri *Penicillium* türlerinde ağır metal dirençliliğini araştırmışlardır. Pb, Cu ve Cd metallerinin çözeltilerinde farklı konsantrasyonlarını çalışmışlar, 7.5 mM Pb konsantrasyonunda izole ettikleri tüm *Penicillium* türlerinin dirençli olduğunu, Cu ve

Cd' un sülfat ve nitrat tuzlarına da fungal izolatların dirençli olduğunu göstermişlerdir.

Türkkan 2013, yaptığı çalışmada soğan dip çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*'nin kontrolü için sentetik fungusitlere alternatif olabilecek çeşitli tuzların etkinliğini değerlendirmiştir. Kontrole kıyasla potasyum asetat, potasyum nitrat, potasyum fosfat dibazik, sodyum klorit, sodyum sülfat fungusun gelişimini artırdığını; diamonyum fosfatın etkilemediğini; diğer kalan tuzların ise misel gelişimini bir seviye azaltmış olduğunu ve amonyum bikarbonat, amonyum karbonat gibi tuzlarında misel gelişimini tamamen engellemiş olduğunu tespit etmiş.

Biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan *Trichoderma harzianum* (T22)'un farklı tuz konsantrasyonlarına karşı reaksiyonunu belirlemek amacıyla, farklı oranlarda sodyum klorür içeren ortamda T22 geliştirilmiştir (Yiğit, 2013). Daha sonra T22'nin domateste kök ve kök boğazı çürüklüğüne sebep olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis*'e karşı misel gelişimini engelleyici etkisi iki farklı pH seviyesinde ve beş farklı NaCl konsantrasyonunda test edilen çalışmalar sonucunda *in vitro* koşullarda yürütülen fungusun miselyal gelişimi ve sporulasyonu artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak kısmende olsa engellendiği tespit edilmiştir. Sürekli artan tuz konsantrasyonlarında gelişmeye bırakılan fungusun NaCl'a karşı düşük de olsa bir adaptasyon sağladığı belirlenmiştir.

Marjetka ve ark. (2010), NaCl stresinin *Wallemia* spp. üzerinde yaptığı çalışmada farklı, NaCl tuz konsantrasyonlarında *Wallemia* spp. fungusunun büyüdüğünü tespit etmiş fungusun hücre morfolojisi üzerinde bir etkisi olduğunu göstermiş. Yüksek tuzlulukta hem *W. muriae* hem de *W. sebi*'deki hifal bölmeler, düşük tuzluluğa kıyasla daha kalın ve daha kısa olduğunu tespit etmiş.

Alkali ile muamele edilmiş *A. niger*' in,  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  ve  $Co^{+2}$  metallerinin ayrı ayrı uygulanarak yapılan çalışmasında; biyomas ağırlığının metal bağlamada %10 kadar etkili olduğunu ve metal bağlama kapasitesi açısından *Neurospora*,

*Fusarium* ve *Penicillium* türleri ile karşılaştırılması ortaya konmuştur (Akthar ve ark., 1996).

Samapundo ve ark. (2007), amonyum/sodyumbikarbonat tuzları ile düşük su aktivitesini *Fusarium* ve *Aspergillus* türleri üzerinde gelişim ve toksin üretimi açısından incelemişler, düşük tuz konsantrasyonlarında *Fusarium* türlerinin uyarıldığını rapor etmişlerdir.

Tuz ile ilgili çalışmalar sadece hasat sonrası dönemi kapsamamış olup bitkilerin vejetatif gelişme sürecinde de uygulanmıştır. Örneğin (Weneker ve Kanne, 2010) Potasyum bikarbonat uygulamasının "Bektaşi üzümü" (*Ribes uva - Crispa*) bitkilerinde Külleme (*Erysiphe* spp.) hastalığına karşı denemiler. Bitkiler su damlayıncaya kadar Potasyum bikarbonat solüsyonu ile yıkanmışlardır. İnfekteli meyve, hastalıklı sürgün gelişimi ve hastalık şiddetinin tuz uygulanan bitkilerde ciddi oranda düştüğünün ancak muamele edilmeyen kontrol bitkilerinde yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bu yöntemle mücadele başarılı bulunmasına rağmen uygulama sıklığı çok yüksek olarak kayda geçmiştir. Tuz uygulaması bio kontrol ajanları (*Trichoderma* spp.) üzerinde de denenmiş özellikle tuzlu koşullarda hastalık yapma kabiliyetine sahip olan *Verticillium* türlerini kontrol etmek için bu ortamlarda kullanılacak *Trichoderma* funguslarını tuza karşı tepkileri belirlenmiştir. 6 gr/l NaCl konsantrasyonunun *Trichoderma harzianum* fungusunun antagonistik etkisinin azalttığı belirlenmiştir (Lahlahi ve Regrahi, 2005)

*Fusarium* ve *Aspergillus* türleri %1 lik Amonyum bikarbonat ile tamamen inhibe edilmesine rağmen %4 lük Sodyum bikarbonatın ise tam inhibe edici özelliklerini görmediğini belirtmişlerdir. Bundan dolayı Amonyum bikarbonat uygulamasının mısır tohumlarının korunmasında daha uygun olduğunun *Fusarium* ve *Aspergillus* izolatları tarafından üretilen mikotoksinlerin azaltılmasında önemli bir yeri olduğu belirtmişlerdir. Bundan dolayı Amonyum bikarbonatın gelişen ülkelerde ucuz ve kolayca tatbik edilebileceğini ifade etmişlerdir. Ancak ürünlerin tüketilmeden önce bikarbonat tuzlarının kalıntı seviyesinin ve bu seviyenin insan sağlığına yan etkisinin ne derece olacağı belirlenmelidir. Ayrıca mısır üzerinde bu

kalıntı değerinin ürün kalite parametrelerini etkilemesi söz konusu olacağından bu alan ile daha fazla çalışma yapılmalıdır (Samapundo ve ark., 2007).



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak farklı konsantrasyonlara sahip NaCl solusyonları fungal çimlenme, sporulasyon ve miselyal gelişim için kullanılmıştır. Fungal gelişim sınırlarını belirlemek için ilk olarak;

0-, 25-, 50-, 100-, 150-, 200-, 250-, 300-, 350-, 400-, 450-, 500 mM NaCl solusyonları 250 ml lik flasklarda % 10 luk sıvı PDA içerecek şekilde 100 ml hazırlanmıştır. Daha sonra, yukarıda belirlenen konsantrasyonlarda fungal gelişim ve sporulasyonun devam ettiği ve bu belirlenen düzeylerin çok yukarısında inhibisyon konsantrasyonlarına ihtiyaç duyulduğu belirlendiğinden, fungal etmen daha geniş tuz sınırlarını içine alacak şekilde 0-, 250-, 500-, 750-, 1000- ve 1250 mM NaCl konsantrasyonlarında yukarıda belirlenen koşullarda 3 tekerrürlü olacak şekilde oda sıcaklığında inkubasyona bırakılmıştır.

Bu tez çalışmasına ait deneyler Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

##### 3.1.1. Çalışmada kullanılan fungal materyal

Fungal materyal olarak daha önceki çalışmalarda kullanılan ve slope agarlar üzerinde 4 °C'de saklanan *Penicillium expansum* kolonileri kullanılmıştır (Akbulut, 2015; Karadaşlı, 2015).

Çizelge 3.1. Patates Dekstroz Agar (PDA)

İçerik	Konsantrasyon (g/l)
Kabuğu soyulmuş, doğranmış patates	200
Glukoz	20
OxoidAgar No:3	25

200 g soyulmuş patates küçük parçalara ayrılarak 1000 ml'lik saf su ile 30 dakika kaynatıldıktan sonra püre haline getirilmiştir. Elde edilen püre mira bezinden (Calbiochem) süzülüp 20 g glukoz süzüğe eklenmiştir. Hazırlanan ortam 250 ml hacime sahip 6.25 g agar içeren (%2.5 w/v) 4 adet 500 ml'lik konik flasklara aktarılmıştır. Bu aşamada PDA içeren flasklara uygun konsantrasyonlarda NaCl ilavesi sağlanmış ve ortam 121°C'de 20 dakika (2.68 kg/cm<sup>2</sup> basınçta) otoklavlanıp 12 Petri kabına aktarılmıştır. Funguslar, ayrıca PDB ortamında, yani yukarıda belirlenen ortamın agar içermeyen sıvı içeriğinde de gelişime bırakılmışlardır.

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Fungal gelişim ve sporulasyon

Çalışmada kullanılan fungal etmen (Çizelge 3.1.)' de belirtilen Patates Dekstroz Agar (PDA) katı besi ortamında ve PDB (Patates Dekstroz Broth) sıvı besi ortamında yetiştirilerek inokulasyon için hazır hale getirilmiştir.

PDA ortamında farklı NaCl koşullarında fungal gelişimi ve sporulasyonu belirlemek için, 3 mm çapında kontrol koşullarında geliştirilmiş olan *P. expansum*'a ait fungal diskler 9 cm çapındaki Petri kaplarının tam ortasına aseptik koşullarda yerleştirilerek oda sıcaklığında gelişime bırakılmışlardır. Daha sonra, fungal gelişim bir cetvel yardımı ile Petri kaplarının iki tarafından ölçülerek ortalama değerleri fungal miselyal gelişim olarak kaydedilmiştir.

Miselyal gelişim değerleri % miselyal inhibisyona çevrilmiştir. Aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$MGI (\%) = \left[ \frac{dc - dt}{dc} \right] \times 100 \quad (3.1)$$

dc ve dt kontrol ve muamele gruptakileri sırasıyla miselyal çaplarını ifade etmektedir. Her bir muamele 3 tekrardan oluşmuştur.

Ayrıca, fungal gelişimin sağlandığı ortamdan 1 cm<sup>2</sup> lik bir parça alınarak birim alanda gelişen konidi sayısı heamocytometer ile belirlenerek, elde edilen spor sayısı, konidi/cm<sup>2</sup> spor yoğunluğu olarak ifade edilmiştir. Daha sonra, katı ortamüzerinde gelişen fungal miselyal yapı bir spatula ile kazınarak misel yaş ağırlığı belirlenmiştir

Sıvı ortamda fungal gelişimi ve sporulasyonu belirlemek için 3 mm çapında bir fungal disk, 100 ml hacminde farklı NaCl konsantrasyonları ihtiva eden PDB ortamında gelişime bırakılmışlardır. Fungal solusyondan alınan 1ml'lik hacimde spor sayımı heamocytometer ile belirlenmiş ve miselyal gelişim filtre kağıtlarından süzülerek misel yaş ağırlığı belirlenmiştir.

### 3.2.2. Slope (eğik) agar

Stok kültür olarak fungusları uzun süre muhafaza etmek için, Eğik agar kullanılmıştır. Oda sıcaklığında Petri kapları içinde geliştirilen fungal etmen (23 °C ±1 °C), cam bir tüp içinde eğik olarak hazırlanan PDA ortamlarına yerleştirilmiştir. Bu amaçla, 15 ml'lik eğimli PDA steril ortamları kullanılmıştır. Eğik agarlara aktarılan fungal etmen, birkaç gün kontaminasyon olup olmadığı gözlemlendikten sonra 4°C ± 1°C'de muhafaza edilmek üzere saklanmıştır.

### 3.2.3. Misel ağırlığı

Çalışma sonunda sıvı kültürden elde edilen misellerin ağırlığı belirlenerek, fungusun orantılı büyüme oranı (RGR) aşağıdaki formüle göre tespit edilmiştir.

$$\text{RGR (Gün}^{-1}\text{)} = \frac{[\ln(\text{Misel yaş ağırlığı}_{\text{final}}) - \ln(\text{Misel Yaş ağırlığı}_{\text{ilk}})]}{\text{GÜN}} \quad (3.2)$$

Misel yaş ağırlığı<sub>final</sub>: En son belirlenen yaş ağırlık,

Misel yaş ağırlığı<sub>ilk</sub>: İlk belirlenen yaş ağırlık



Şekil 3.2. *Penicillium expansum* fungusunun yaş misel ağırlığının elde edilmesi

#### 3.2.4. Spor sayımı ve probit analizi

Probit analizi bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanılan bir tür regresyon analizi olup, biyolojik çalışmalarda regresyon analizi her zaman linear olmayacağından bu analiz yöntemi tercih edilmiştir. bu yöntemle sigmoit görünümde olan doz - tepki grafiği programda doğrusal olarak ifade edilecek şekilde hesaplama yapılmış ve populasyonun gelişiminin %50 sini inhibe eden konsantrasyon  $IC_{50}$  olarak ifade edilmiştir. Bu şekilde fungus gelişimini engelleyen konsantrasyon bulunmuştur.

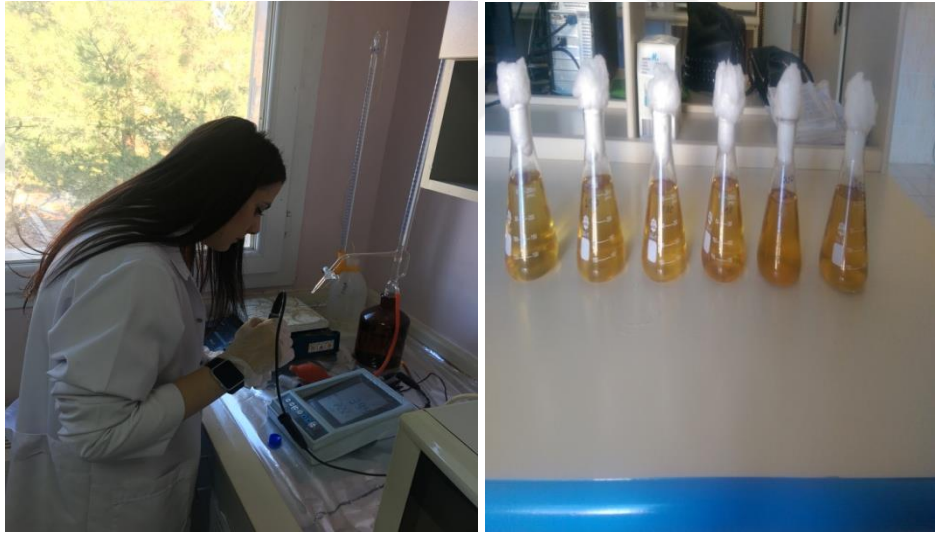
Çimlenme tüpü gelişim gösteren sporlar çimlenmiş kabul edilerek, her bir tekerrürden 100 adet spor sayımı gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar % spor çimlenmesi olarak ifade edilmiştir. NaCl stresi altında çimlenen sporların  $IC_{50}$  (inhibe konsantre) değerleri probit analizi (IBM SPSS Statistics 22) ile belirlenerek fungusun tuza verdiği kırılma noktası tespit edilmiştir. Muameleler 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır.

### 3.2.5. Fungusların canlılık testi

Fungusların canlılığını test etmek için ise, yukarıdaki denemelerden elde edilen solusyonlardan 100 µl'lik bir hacim, daha önceden hazırlanmış olan PDA ortamına aktarılarak 3 gün süre ile oda sıcaklığında inkubasyona bırakılmış ve çimlenen sporelerden oluşan fungal koloniler sayılmıştır.

### 3.2.5. Fungusların pH ve EC ölçümü

Sıvı ortamda farklı NaCl koşullarında gelişime bırakılan fungusun geliştiği ortamın pH (Hanna) ve EC (Hanna) (elektriksel iletkenlik) değerleri ölçülerek, fungusun NaCl muamelesi öncesi ve sonrası (1 hafta) gösterdiği fiziko-kimyasal değişiklikler belirlenmiştir.



Şekil 3.3. *Penicillium expansum* fungusunun PDB ortamında pH ve EC ölçümü

### 3.2.6. Fungusun Triphenyltetrazolium Chloride (TTC) ile metabolik aktivitenin ölçümü

NaCl stresi altında gelişim gösteren fungusların canlılık ve metabolik aktivite testi Hura ve ark. (2015)'dan uyarlanan ve modifiye edilen yöntemle göre 2, 3, 5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) ile ölçülerek belirlenmiştir. Bunun için; bir

hafta süre ile oda sıcaklığında 100 rpm/dak devirde farklı NaCl konsantrasyonları içeren PDB ortamında geliştirilen funguslardan alınan ve filtreden geçirilmiş yaklaşık 50 mg misel, 15 ml hacmindeki tüplere konarak, üzerine 300 µl TTC solusyonu (0.05 M Tris-HCl, pH 7.5 içinde hazırlanan %2 lik TTC) ve 1.2 ml Tris-HCl (0.05 M, pH 7.5) solusyonu ilave edildikten sonra 24 saat karanlıkta oda sıcaklığında inkube edilmiştir. Karışım, 2000 g'da 5 dakika santrifüj edildikten sonra supernatant kısmı uzaklaştırılarak, geriye kalan misel, 3 ml ethanol içinde 1 gece oda sıcaklığında inkube edilerek ve tekrar santrifuj edilmiş elde edilen 2 ml miselden ari solusyon temiz tüplere alınıp 490 nm de ethanole karşı okunmuştur.

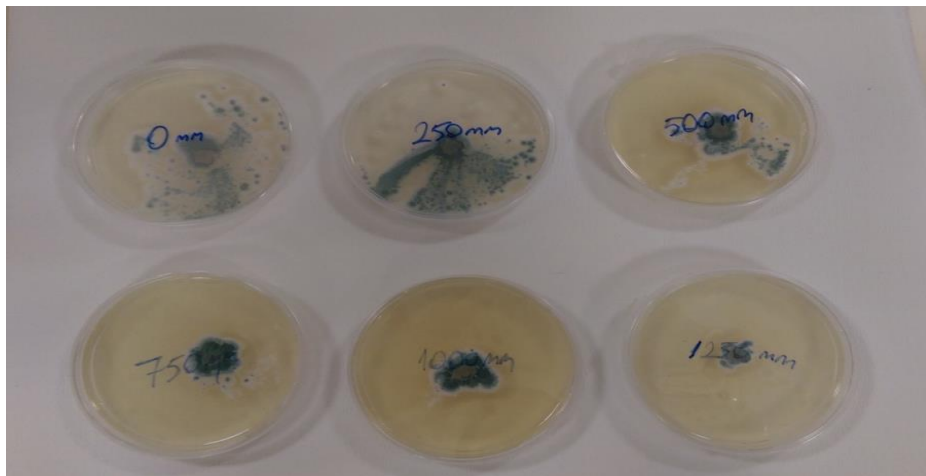
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Araştırma Bulguları

#### 4.1.1. Uygun dozun ayarlanması

Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma laboratuvarında farklı NaCl konsantrasyonları içeren katı ve sıvı besin ortamları, fungal çimlenme, sporulasyon ve miselyal gelişim için kullanılmıştır. Yapılan ön çalışmada, 0-, 25-, 50-, 100-, 150-, 200-, 250-, 300-, 350-, 400-, 450-, 500 mM NaCl solusyonlarında hastalık etmeni kontrol grubu ile aynı gelişimi göstermiştir, tuza hem sporulasyon hem de miselyal gelişim bakımından dayanıklılık gösteren *P. expansum* için daha yüksek düzeylerde NaCl içeren ortam hazırlama zorunluluğu doğmuştur. Fungal etmenin hızlı gelişimi ve yüksek spor üretme kapasitesi NaCl a karşı önemli bir dayanıklılık mekanizması olarak ortaya çıkmıştır.

Fungal etmenin sporulasyon ve miselyal gelişim bakımından kırılma noktası yukarıda belirlenen solusyonlarda tespit edilemediği için, solusyon konsantrasyonları sıvı ve katı ortamlarda 0-, 250-, 500-, 750-, 1000-, 1250 mM NaCl olarak belirlenmiştir. Buna göre etmenin gelişimi (Şekil 4.1.)'de verilmiştir.



Şekil 4.1. *Penicillium expansum* fungusunun farklı tuz (NaCl) konsantrasyonlarındaki gelişimi

#### 4.1.2. Hastalık etmeninin fizyolojik parametreleri

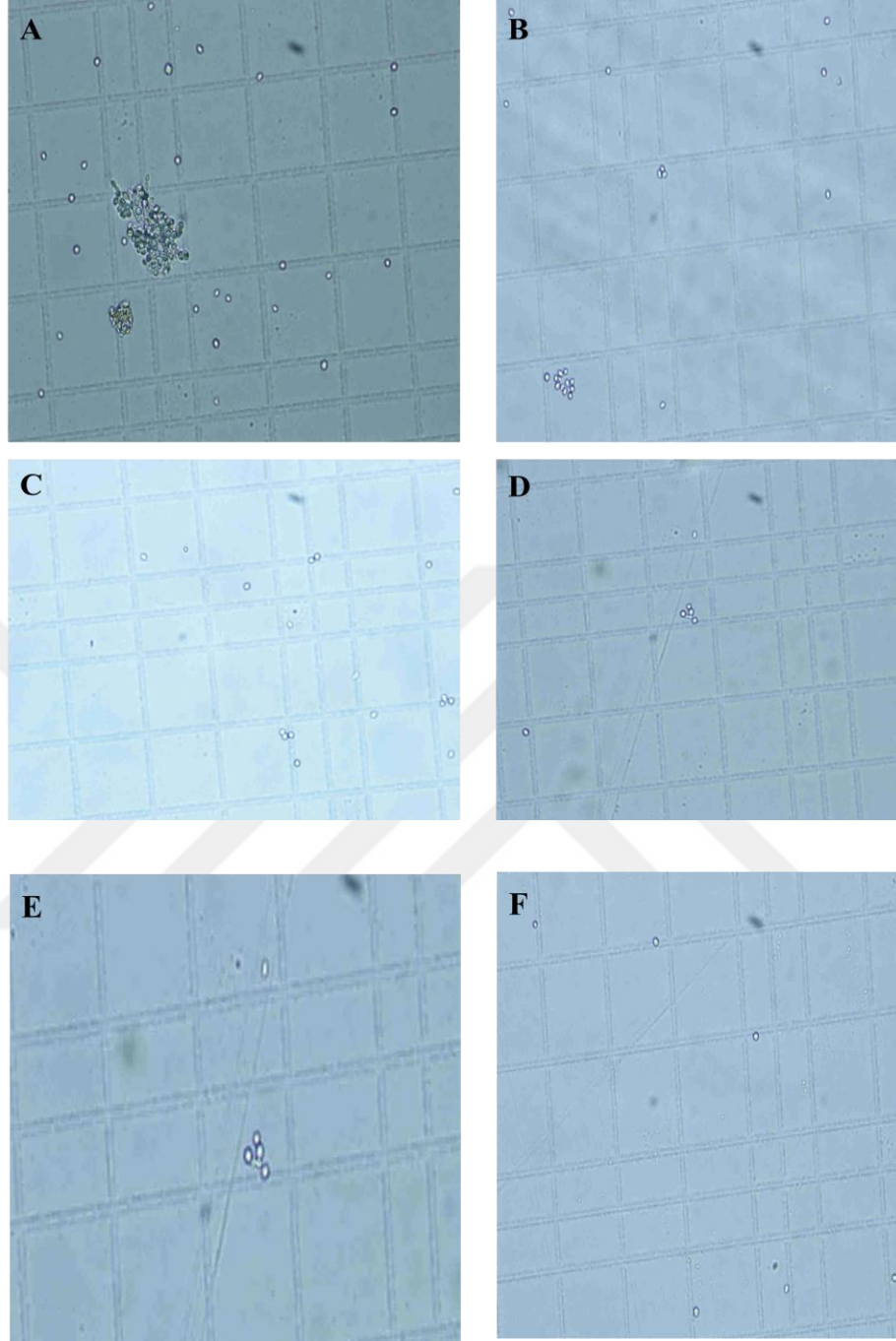
*P. expansum* fungusunun farklı NaCl konsantrasyonlarına karşı reaksiyonlarını belirlemek amacıyla inkübasyonun üçüncü günü yapılan ölçümler sonucunda mikroskop altında birim alandan (1 cm<sup>2</sup>) alınan kesitin sulandırılmasıyla elde edilen konidi sayımı ve yoğunluğu (Çizelge 4.1.)’de ve bunlara ilişkin temsili mikroskop görüntüleri (Şekil 4.2.)’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Penicillium expansum* fungusunun farklı NaCl konsantrasyonlarında 1 cm<sup>2</sup> deki spor yoğunluğu (kontrol grubu 100 kabul edilmiştir, sporulasyon 1/100 oranında seyreltilerek yapılmıştır)

Doz (NaCl, mM)	Konidi yoğunluğu (%)	Sporulasyon (1/100)
0	100	1.5x10 <sup>6</sup>
250	97	0.5x10 <sup>6</sup>
500	80	0.45x10 <sup>6</sup>
750	75	0.15x10 <sup>6</sup>
1000	44	0.10x10 <sup>6</sup>
1250	37	0.07x10 <sup>6</sup>

Sporulasyon için kırılma noktası 1000 mM olarak görülmüş. Bu değer üstündeki konsantrasyonlarda da sporulasyon devam etmesine rağmen sporulasyon artan tuz miktarıyla kayba uğramıştır. Buna göre, artan NaCl konsantrasyonu *P. expansum* spor yoğunluğunda azalmaya neden olmuştur.

Probit analizi ile yapılan değerlendirme sonucu IC<sub>50</sub> değeri 1016 mM NaCl olarak hesaplanmıştır (IBM SPSS Statistics 22). Sporulasyon için kırılma noktası olarak kabul edilen 750 - 1000 mM, IC<sub>50</sub> değeri olarak kabul edilen 1016 mM ile de uyumlu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre fungal sporulasyonun yüksek tuz konsantrasyonunda devam ettiği belirlenmiştir.



Şekil 4.2. Farklı tuz konsantrasyonlarında A (0 mM), B (250 mM), C (500 mM), D (750 mM), E (1000 mM), F (1250 mM) mikroskop altında sporulasyon görüntüleri

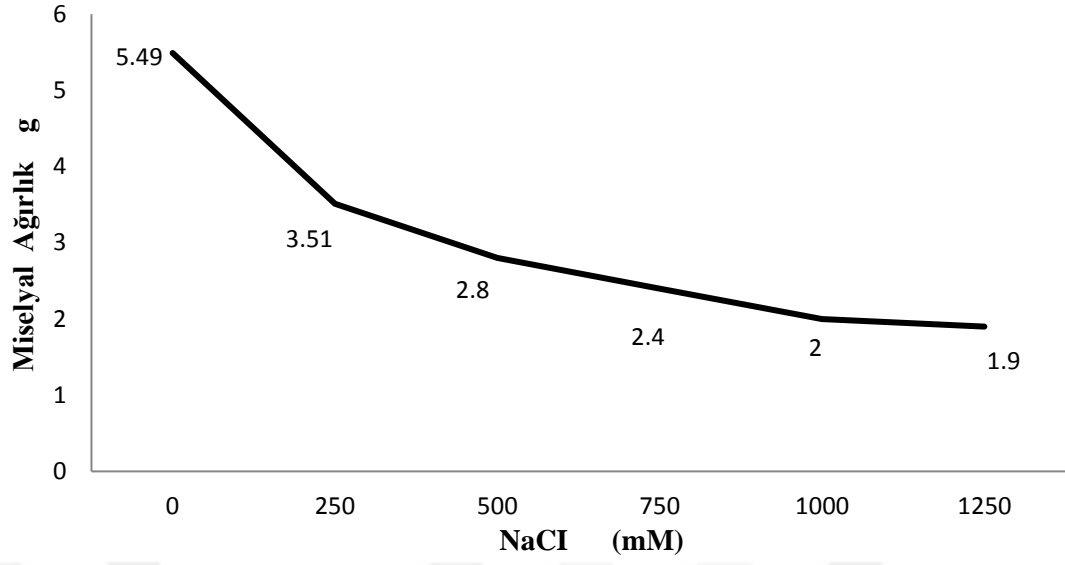
Fungal gelişim inkubasyondan 6 gün sonra bir cetvel yardımı ile Petri kaplarının iki tarafından ölçülerek ortalama değerleri fungal miselyal gelişim olarak kaydedilmiştir. Miselyal gelişim değerleri % miselyal inhibisyona çevrilmiş olup, değerler (Çizelge 4.2.)’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *Penicillium expansum* fungusunun farklı NaCl konsantrasyonlarında miselyal gelişim ve % miselyal inhibisyonu

Doz (NaCl, mM)	Misel Gelişimi (cm)	MGI (%) Miselyal Gelişim İnhibisyonu
0	7.25	-
250	5.10	29.65
500	4.25	41.37
750	3.25	55.17
1000	2.75	62.06
1250	1.70	76.55

Miselyal gelişim için hesaplanan  $IC_{50}$  değeri 741 mM olarak hesaplanmış, misel gelişimi için bulunan değer sporulasyon için bulunan değerden düşük olmasına rağmen yine de fungal gelişimin yüksek tuz konsantrasyonunda devam ettiği görülmüştür.

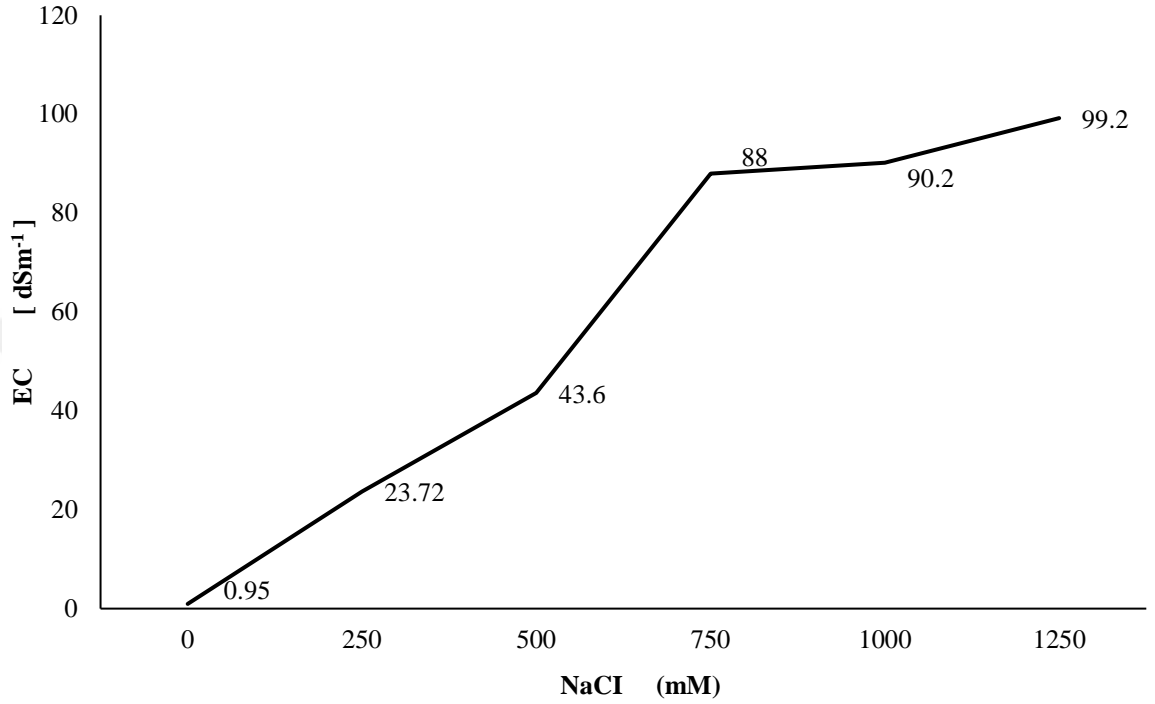
Farklı NaCl konsantrasyonlarında geliştirilen fungal etmen, sıvı kültür ortamı içinde de denenmiş olup, sıvı kültürden filtrasyon sonucu elde edilen misel yumağı yıkandıktan sonra misel yaş ağırlığı kurutma kağıtlarında fazla su drene edildikten sonra belli bir süre bekletilip hassas terazide tartılarak belirlenmiştir. Sonuçlar (Şekil 4.3.)'de verilmiştir.



Şekil 4.3. *Penicillium expansum* fungusunun misel ağırlık grafiği

*Elektrolit sızıntısı (EC (%))*

Sıvı PDB ortamında yetiştirilen fungusun farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirildiği koşullarda ölçülen EC değerleri (Şekil 4.4.)'de verilmiştir.

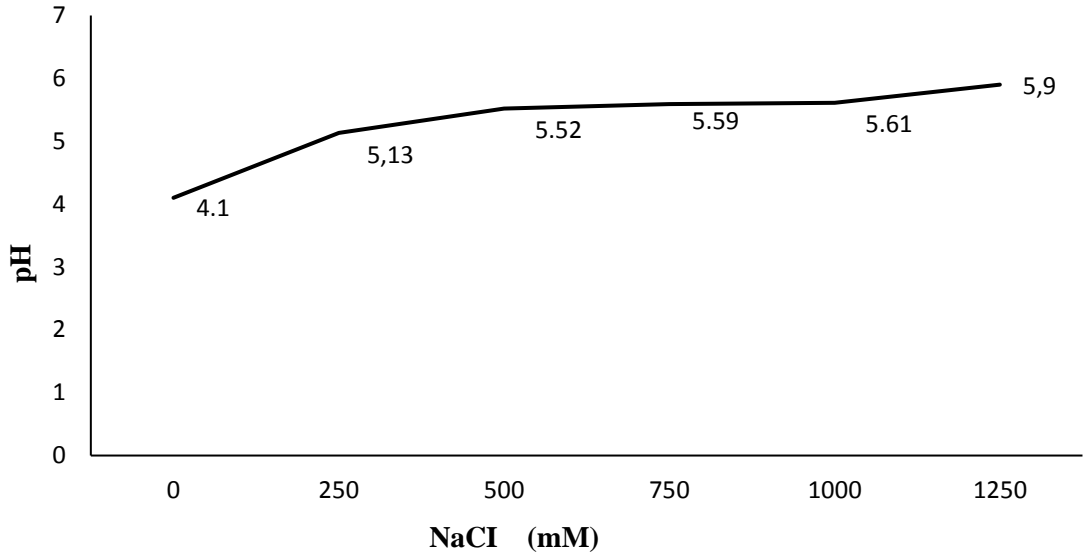


Şekil 4.4. Farklı NaCl konsantrasyonlarındaki sporulasyonların EC değerleri

Artan NaCl konsantrasyonlarının ortamın EC değerini artırdığı belirlenmiş, fungusun geliştiği ortamın tuzlu koşullar olduğu EC ile de teyit edilmiştir.

*pH ölçümü*

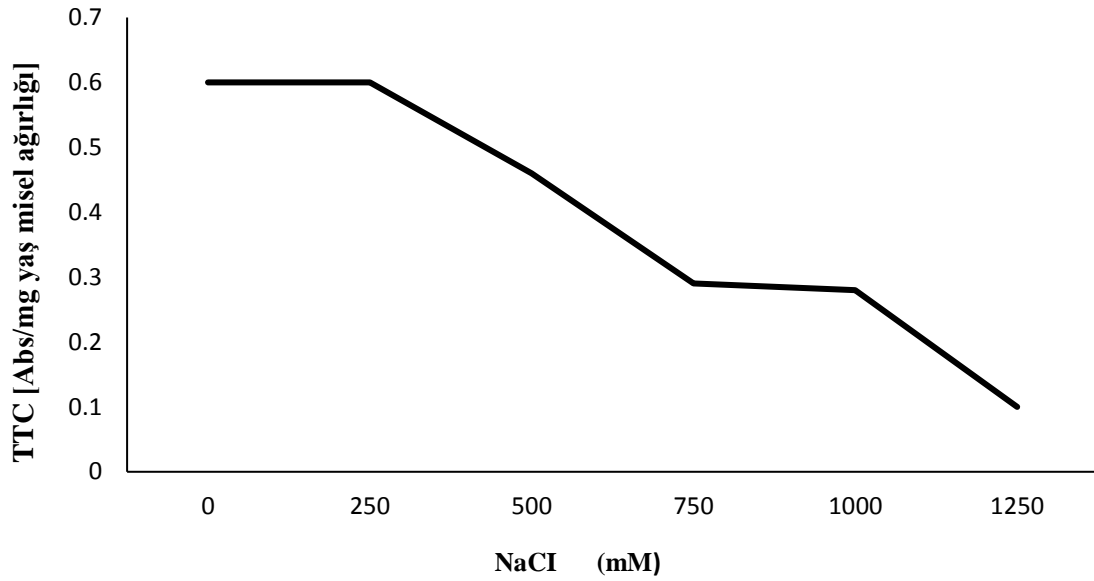
Sıvı PDB ortamında yetiştirilen fungusun farklı tuz konsantrasyonlarında ölçülen pH değerleri (Şekil 4.5.)'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Farklı NaCl konsantrasyonlarındaki sporulasyonların pH değerleri

Buna göre, artan tuz konsantrasyonları ortamın dereceli olarak pH değerlerini artırmış olmasına rağmen, *P. expansum*'un gelişme koşullarından biri olan hafif asidik koşul değişmemiş, dolayısı ile artan tuz konsantrasyonu pH değerleri açısından fungal gelişime engel teşkil etmeyecek şekilde artmıştır.

Fungal etmenlerin canlılık testi yapıldığında tuzlu koşullardan alınarak kontrol grubunda (NaCl içermeyen ortamda) gelişime bırakılan fungal etmenin gelişim gösterdiği görülmüş, dolayısı ile bu çalışmada kullanılan bütün NaCl koşullarının hiçbirinin fungal etmenin canlılığını yok etmeyecek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca TTC testi ile ortaya konan sonuç da bu durumu teyit etmiştir, (Şekil 4.5.) de artan tuz konsantrasyonu fungal yapılarda nekroza neden olmasına rağmen canlılığın devam ettiği görülmüştür. Sonuçlar, fungal etmenin sporulasyon ve miselyal gelişimi ile uyumlu bulunmuştur.



Şekil 4.6. *Penicillium expansum* fungusunun TTC konsantrasyon değerleri

## 4.2. Tartışma

*P. expansum* fungusunun farklı NaCl konsantrasyonları içeren PDA ve PDB besi ortamları, fungal çimlenme, sporulasyon ve miselyal gelişim için yapılan ön çalışmada, 0-, 25-, 50-, 100-, 150-, 200-, 250-, 300-, 350-, 400-, 450-, 500 mM NaCl solusyonlarında hastalık etmeni kontrol grubu ile aynı gelişimi göstermiştir. Tuza hem sporulasyon hem de miselyal gelişim bakımından dayanıklılık gösteren *P. expansum* için daha yüksek düzeylerde 0-, 250-, 500-, 750-, 1000-, 1250 mM NaCl içeren besi ortamı kullanılmış, bu ikinci çalışmada elde edilen fungal gelişim grafiği (Şekil 4.1.)'de sunulmuştur. Tuz konsantrasyonunun artışı ile miselyal gelişimin engellenmesi arasında doğrusal bir ilişki bulunmasına rağmen fungal inhibisyon düşük düzeyde gerçekleşmiştir. Bu sonuçlara göre fungus 1.25 M sodyum klorür içeren bir ortamda az da olsa gelişebilme yeteneğine sahip olduğu anlaşılmıştır. *P. expansum*'un miselyal gelişim için IC<sub>50</sub> değeri 741 mM NaCl olarak belirlendiğinden, fungal etmenin tuzlu koşullarda oldukça agresif bir gelişim sergilediği değerlendirilmiştir. Bu ölçümler, belirli bir sürede ve kontrol Petri kutusundaki gelişmeye göre yapılmıştır.

Tamie (2016), çalışmasında yüksek tuz konsantrasyonunda *Emericill anidulans*, *Penicillium canescens*, *Syncephalastrum racemosum*, *Aspergillus parasiticus* ve *Mucor racemosus* funguslarının gelişiminin %15 (2.58 M NaCl) tuz konsantrasyonunda devam ettiğini belirlemiştir. Tuz konsantrasyonunun %20'ye çıktığı durumlarda ise fungal gelişimin durduğunu rapor etmiştir. Yine aynı şekilde, 0.1 M NaCl, CaCl<sub>2</sub> ve KCl tuz konsantrasyonlarında *P. citrinum*'un gelişimine bakan Yadav ve ark. (2011), %1 lik tuz konsantrasyonlarında fungusun NaCl ve KCl'da gelişimin devam ettiğini CaCl<sub>2</sub> da ise gelişimin azaldığını beyan etmiştir. Fungal etmen *P. expansum*'un yüksek tuz koşullarında miselyal gelişim yanında sporulasyon kabiliyeti de ölçülmüş, benzer trend sporulasyonda da görülmüştür. *P. expansum* fungusunun farklı NaCl konsantrasyonlarına karşı reaksiyonlarını belirlemek amacıyla inkübasyon periyodunun sonunda mikroskop altında birim alandan (1 cm<sup>2</sup>) elde edilen konidi sayımı ve yoğunluğu (Çizelge 4.1.)'de verilmiştir. Bu çizelgeye göre sporulasyon için IC<sub>50</sub> değeri 1016 M NaCl olup kırılma noktası 1000 mM olarak ölçülmüş, bu değer üstündeki konsantrasyonlarda ise sporulasyonun devam etmesine rağmen artan tuz miktarıyla azaldığı görülmüştür. Yiğit (2011), yaptığı çalışmada artan tuz konsantrasyonunun (0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25 M) *F. oxysporum* fungusunun spor yoğunluğunda azalmaya neden olduğunu, fungusun miselyal gelişimi ve sporulasyonun artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak sırasıyla %12.94-54.12 ve %85.07-95.14 arasında engellendiği tespit etmiştir.

Probit analizi ile yapılan değerlendirme sonucuna göre IC<sub>50</sub> değeri 1016 mM NaCl olarak hesaplanan *P. expansum* fungusunun kırılma noktası 750 - 1000 mM arasında değişmekte olup, IC<sub>50</sub> değeri olarak kabul edilen 1016 mM ile uyumlu bulunmuştur. Bu verilere göre fungal etmen deniz suyu seviyesinin üstünde kabul edilen bir tuz konsantrasyonunda gelişebildiğini ve oldukça yüksek tuz konsantrasyonu olarak sayılabilecek bir değerde (1016 mM NaCl) büyüme ve sporulasyonuna devam ettiğini göstermiştir. Fungusun miselyal gelişimi, artan tuz konsantrasyonuyla azalmış, 1250 mM da gelişimin yavaşlamasına rağmen 1.7 cm ile fungal çap gelişimi gözlenmiştir. Türkkan (2013), 26 farklı tuz çeşidinin % 2 lik konsantrasyonlarında soğan dip çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*'nin miselyal gelişimine bakmış, potasyum asetat, potasyum klorit, potasyum

nitrat, potasyum fosfat dibazik, sodyum klorit, trisodyum fosfat ve sodyum sülfat kimyasalları fungusun gelişimini arttırırken amonyum klorit, amonyum nitrat, amonyum sülfat, diamonyum fosfat, kalsiyum asetat, kalsiyum klorit, sodyum bikarbonat, sodyum karbonat tuzları misel gelişimi bir derece azaltmış (% 16.61-83.44) amonyum bikarbonat, amonyum karbonat ve sodyum metabisülfid misel gelişimini tamamen engellemiştir.

*P. expansum*'un miselyal yaş ağırlığı (organik madde+su) artan tuz konsantrasyonu ile kayba uğramasına rağmen (250 mM NaCl konsantrasyonunda misel ağırlığı yaklaşık %30 kayba uğrarken 1000 ve 1250 mM NaCl konsantrasyonlarında % 60 ve 65 kayba uğramıştır, fungal etmenin yüksek tuz konsantrasyonlarında yeteri kadar organik madde üretebildiği görülmüş, bu durumun fungal etmenin yüksek tuz konsantrasyonlarında enfeksiyon yapabileceği kanaatini oluşturmuştur. Bu sonuçlara göre fungal etmen 500 mM ve üzeri konsantrasyonlarda ciddi metabolit kaybına uğramasına rağmen, fungal gelişimin tuzlu koşullarda enfeksiyon için yeteri kadar organik madde ürettiği tespit edilmiştir.

Sıvı PDB ortamında yetiştirilen fungusun farklı tuz konsantrasyonlarında ölçülen EC değerleri (Şekil 4.4.)'de verilmiştir. Artan tuz konsantrasyonu EC değerleri ile doğrusal bulunmuş, bu durum fungusun tuzu metabolize ettiği şeklinde değerlendirilmeyip tuzlu koşullarda yaşadığı şeklinde yorumlamıştır. Fungal etmenin ortamda bulunan tuzu metabolizmaya uğratarak ortamda bulunan tuz konsantrasyonunu azaltmadığı görülmüştür. Tuzu metabolize edip etmediğinin belirlenmesi için ortamda bulunan ve canlılığını kaybeden fungusların bulunduğu kabul edildiğinde, ortamın tuz konsantrasyonunun düşmemesi doğal sonuç olarak görülebilir. Ancak, ortamın pH değerinin dereceli olarak artış göstermesi ve hala asidik durumda bulunması fungal etmen için iyi bir gelişim ortamı oluşturması fungal etmenin gelişiminde önemli faktör olarak bulunmuştur. Ayrıca, yapılan canlılık testi ile (TTC) fungal etmenin canlılığını koruduğu belirlenmiştir. Örneğin, Yiğit (2011) *F. oxysporum* ile yaptığı çalışmada ortamın pH sını yükselterek fungusunun miselyal gelişiminde %2.35 lik bir azalma tespit etmiştir. Türkkan (2013) *F. oxysporum* f.sp. *cepaie*'nin hem asidik hem de bazik çevrede

gelişebildiğini, fungusun pH 6 ile 9 arası değerlerde gelişim gösterdiğini ancak daha yüksek ve daha düşük pH değerlerinde fungal gelişimin önemli bir şekilde azaldığını ( $P \leq 0.05$ ), pH 12 seviyesinde ise gelişimin tamamen durduğunu belirtmiştir. Yadav ve ark. (2011) *P.citrinum* fungusunu 3 farklı tuz (NaCl, CaCl<sub>2</sub> ve KCl) çeşidiyle pH (6.0, 7.0 ve 8.0) de *in vitro* koşullarda test etmiş, % 1 lik tuz konsantrasyonlarında fungal etmenin gelişebildiğini rapor etmişlerdir.

Genel olarak, yüksek tuz konsantrasyonunda yaşayan organizmalar spesifik toksik iyonların hücre duvarlarına yaptığı baskı ve reaktif oksijen türleriyle ozmotik strese girerler. Bu aşamada oluşan reaktif oksijen türleri metabolizmanın bozulmasında ve DNA hasarında oldukça etkilidirler. Ancak, dayanıklı organizmalar ürettikleri metabolitler ve hücre duvarlarında oluşan yapısal değişiklikler ile strese karşı koyabilirler. Bunu yapamayan organizmalar çoğalma ve yayılma kabiliyetini kayb ettikleri gibi uzun süre strese maruz kaldıklarında nekroza uğrayarak hayatlarını tamamlarlar. Fungal hücre duvarı hücrelere şeklini veren mekanik hasarlardan koruyan moleküler bir yapıdır. Fungal hücre duvarı çevresel strese karşı ilk savunma hattı olup stres adaptasyonunda çok önemli metabolitler içerir (Yadav ve ark., 2016). Aslında, yüksek tuzluluğa karşı adaptasyon mekanizmaları hakkında çok az şey bilinmektedir. Hücrelerin sporulasyonunda miselyal gelişimindeki azalmalar tuz stresine karşı hem direnç hemde adaptasyon kabiliyeti olarak yorumlanmıştır (Dikilitaş ve Karakaş, 2014).

Marjetka ve ark., (2010), NaCl stresinin *Wallemia* spp. üzerinde test etmiş fungusun hücre çeperlerinin kalınlaştığını ve hücrelerinin küçüldüğünü göstermiştir. Bu durumun fungal etmenin tuz stresine karşı göstermiş olduğu bir dayanıklılık mekanizması olarak izah etmiştir.

Yüksek tuz konsantrasyonlarında organizmalar yüksek enerjiye ihtiyaç duyduklarında üreme, yayılma ve diğer metabolik faaliyetlerini minimum düzeyde tutarak enerji açığını kapatma yoluna giderler (Dikilitaş ve Karakaş, 2014).

Adaptasyon kabiliyetleri saprofit patojenlerde obligat patojenlere göre daha yüksek olup hasat sonrası ürünlerin muhafazasında çok dikkat edilmesi gereken önemli bir husustur. Örneğin *Aspergillus repens* %12 (2,05 M) NaCl konsantrasyonunda rahatlıkla gelişebilmekte ve enfeksiyon oluşturabilmektedir. Zalar ve ark (1999); Marjetka ve ark., (2010). Özellikle *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerine ait fungusların yüksek tuz ve aşırı soğuklarda antifiriz proteini sentezleyerek canlılıklarını devam ettirdikleri görülmüştür (Dhakar ve ark., 2014). Bu fungusların oldukça geniş bir pH aralığında (1,5-14.0) tolerans gösterdiği bilindiğinden ve özellikle enfeksiyonlarını ve gelişimlerini 4,5-6,5 pH aralığında yaptığı belirlendiğinden fungusun bulunduğu koşulları pH ile değiştirerek fungusu ortamdaki uzaklaştırmanın ya da inaktif hale getirmenin mümkün olmayacağı anlaşılmıştır (Leitao ve ark., 2012).

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Bu çalışma ile fungusun canlılık sınırı belirlenmiş olup yapılan çalışmalarda önerilen tuzların en çok toksik etkiye sahip olan tuz bileşiği NaCl kullanılmıştır.

*P. expansum* fungusunun farklı NaCl konsantrasyonları için yapılan bir ön çalışmada 0-, 25-, 50-, 100-, 150-, 200-, 250-, 300-, 350-, 400-, 450-, 500 mM NaCl içeren PDA ve PDB besi ortamları, fungal çimlenme, miselyal gelişim ve sporulasyon aynı gelişimi göstermiştir. Bu yüzden tuz konsantrasyonları arttırılmıştır. Arttırılan tuz konsantrasyonlarına göre fungusun miselyal gelişiminde bir gerileme görülmemiş olup aksine belli bir konsantrasyondan sonra dayanıklılık tespit edilmiştir. Yüksek tuz konsantrasyonuna gösterilen dayanıklılığın bu etmenin kontrolünü pestisite karşı gösterilen direnç mekanizmasının tuza karşıda gösterileceği ortaya çıkmış olup bu alanda son yıllarda yapılan çalışmalar bunun göstergesi olmuştur. Dolayısı ile hasat sonu sebze ve meyve gibi ürünleri kontrol altına almak için uygulanan ve çevre sağlığı açısından emniyetli kimyasallar olarak kullanılan tuzların uygulamasının potansiyel olarak daha tehlikeli fungal ırklar yaratacağı göz ardı edilmemelidir.

Artan tuz konsantrasyonlarında sporulasyon sayılarına bakıldığında da bir azalma olduğu görülmekte ancak gelişimin devam ettiği bu da bitkide önemli derecede kalite ve kantite kaybına neden olacağını göstermektedir. Tuz konsantrasyonunun yüksek olması ayrıca meyve ve sebze gibi ürünlerin de görsel ve duyuşal değerlerini azaltacağı unutulmamalıdır.

Diğer bir aşama olarak misel ağırlığındaki sonuçlara göre de tuz miktarının artması misel yaş ağırlığında bir azalmaya neden olmuş ama gelişimin durmadığını yalnızca gelişim hızını düşürdüğünü göstermiştir.

EC ve pH değerleri sporulasyon sayısı misel gelişimi ile uyumlu olup fungusun yüksek tuz konsantrasyonunda gelişimi yavaşlattığını ve gözle görülür bir azalma olmadığını göstermiştir.

Özet olarak bu çalışma sonucunda artan tuz konsantrasyonuna rağmen gelişiminin durmaması sadece belli bir süre yavaşlatması ve daha sonrasında hemen adaptasyon sağlamasından dolayı yüksek tuz konsantrasyonunun insan sağlığına zarar verme düşüncesini akla getirmektedir. Yapılan çalışmalarda yüksek tuz konsantrasyonunun fungal etmenlerin gelişiminde bir azalma ya da gelişim hızında bir yavaşlama olduğu görülmekte bunun yanında bir pestisit gibi hasat sonrasında kalıntı sorununu ortaya çıkarmaktadır. Bu da insan sağlığı üzerine olumsuz etki oluşturmaktadır.

## 5.2. Öneriler

Bu çalışmada *P. expansum* fungusu farklı konsantrasyondaki tuzlarla muamele edildikten sonra gelişim durumu incelenmiş fungusun gelişimini devam ettirdiği görülmüştür. Tuz uygulaması hasat sonrası meyve ve sebzelerde uygulandığında fungal gelişimi yavaşlatacak olmasına rağmen tuz bileşiklerinin yüksek konsantrasyonda kullanımı hem kalıntı sorununu ortaya çıkaracak hem de ürünün kalitesini ve kantitesini doğrudan etkileyecektir.

Yüksek tuz konsantrasyonunda fungusların metabolit ve toksin üretiminin, bu çalışmanın konusu olmamasına rağmen, devam edeceği öngörülmekte olup hatta daha agresif fungal ırkların ortaya çıkmasına zemin hazırlayacaktır. Bundan dolayı fungusların hasat sonrası meyvelerin depo edildiği koşullarının fungal gelişime uygun olmayacak şekilde ayarlanması gerekmektedir.

*P. expansum* gibi fungusların hasat sonrası hızlı yayıldığı göz önüne alındığında meyve ve sebzelerin fiziksel zarara uğramaması kalite açısından oldukça önemlidir. Hasat sonrası oluşan fiziksel bir zarar inokule kaynağı oluşturmaktadır. Hasat

sırasında, paketleme esnasında veya taşıma sırasında ürünlere fiziksel zarar gelmesi engellenmelidir.



## KAYNAKLAR

- AKBULUT, A., 2015. Farklı Salisilik Asit Dozlarının Hasat Sonrası Domates Meyvelerinde *Penicillium expansum*'un Gelişimi Üzerine Etkisi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 53s.
- AKTHAR, M., SASTRY, K., MOHAN, P., 1996, Mechanism of Metal Ion Biosorption By Fungal Biomass. Biometals Vol. 9, pp. 21-28
- ANONİM, 2011. [www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr). (Erişim Tarihi: 15.02.2017).
- ARSLAN, U., ILHAN, K., VARDAR C. and KARABULUT, O.A., 2009. Evaluation of antifungal activity of food additives against soilborne phytopathogenic fungi. World J. Microbiol. Biotechnol., 25: 537-543.
- AYYILDIZ, M., 1990. Sulama Suyu Kalitesi ve Tuzluluk Problemleri. Ankara Üniv, Ziraat Fakültesi, Kültürteknik Bölümü, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 1196, Ders Kitabı: 344, Ankara, 282s.
- BARRERA-NECHA, L.L., GARDUNO-PIZANA, C. and GARCIA-BARRERA, L.J., 2009. In vitro antifungal activity of essential oils and their compounds on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. gladioli (Massey) snyder and hansen. Pak J. N., 8: 17-21.
- BOUBAKER, H., SAADI, B., BOUDYACH, E.H. and AIT BENAOU MAR, A., 2009. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to Imazalil and Thianbendazole in Morocco. Plant Pathol. J., 8: 152–158.
- BOTELLA, M.A., ROSADO, A., BRESSAN, R.A. and HASEGAWA, P.M., 2005. Plant Adaptive Responses to Salinity Stress Plant Abiotic Stress. Blackwell Publishing Ltd., 270p.
- DHAKAR, K., SHARMA and PANDEY, A., 2014. Cold, pH and salt tolerant *Penicillium* spp. inhabit the high altitude soils in Himalaya, India. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 36s.
- DİKİLİTAŞ, M. and KARAKAŞ, S., 2012. Behaviour of Plant Pathogens for Crops Under Stress During the of Physiological, Biochemical and Molecular Approaches for Salt Stress Tolerance Chapter 16. Crop Production for Agricultural Improvement (Eds. Muhammad Ashraf), Springer Publ., pp. 417-441.
- DİKİLİTAŞ, M., and KARAKAŞ, S., 2014. Crop Plants Under Saline Adapted Fungal Pathogens: An Overview. Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance, Chapter 8, Volume II A sustainable Approach, London, Sydney, San Francisco, Elsevier Academic Press. pp. 173-185.
- ERGENE, A., 1982. Toprak Bilgisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:267, Ders Kitapları Serisi No:42, Erzurum.
- FRISVAD JC., SAMSON RA., 2004. Polyphasic taxonomy of *Penicillium subgenus Penicillia*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. Studies In Mycology, 49: 1-173.
- GIRARD C., MICHAUD D., 2002. Direct monitoring of extracellular protease activities in microbial cultures. Analytical Biochemistry, 38: 388-391.
- GRISHKAN, I., NEVO, E., WASSER, P.S., 2003. Soil Micromycete Diversity in the Hypersaline Dead Sea Coastal Area, Israel, Mycological Progress, 2(1): 19-28.
- GÜNGÖR, Y., ERÖZEL, Z., 1994. Drenaj ve Arazi Islahı, Ankara Üniv., Ziraat Fak. Yayınları No: 1341, Ders Kitabı: 389, Ankara, 232s.

- HOUBRAKEN J., SAMSON R.A., 2011. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families. *Stud. Mycol.*, 70: 1-51.
- HURA, K., RAPAEZ, M., HURA, T., ZUR, I., GRZESIAK, M., PŁAZEK, A., 2015. The Effect of Cold On the Response of Brassica Napus Callus Tissue to the Econdary Metabolites of *Leptosphaeria maculans*. *Physiol Mol Plant Pathol.*, 37: 13-46.
- JANISIEWICZ, W. J., and KORSTEN, L., 2002. Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 40: 411-441.
- KANBER, R., KIRDA, C., TEKİNEL, O., 1992. Sulama Suyu Niteliği ve Sulamada Tuzluluk Sorunları. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Genel Yayın No:21, Ders Kitapları Yayın No: 6.
- KARA, T., 2002. Irrigation Scheduling to Present Soil Salinization from a Shallow Water Table, *Acta Horticulture*, 573: 139-151.
- KARABULUT, Ö. A., ve DEĞİRMENCİOĞLU, T., 2002. Hayvan Yemi Olarak Kullanılan Buğday Danelerinde Toksin Oluşumuna Neden Olan Fungusların Sodyum Hidroksit Uygulamasıyla Engellenmesi. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 16: 129-138.
- KARADAŞLI, A., 2015, Hasat Sonrası Domates Meyvelerinde *Penicillium expansum* Fungusunun Yol Açtığı Fizyolojik ve Biyokimyasal Değişikliklerin İncelenmesi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 53s.
- KAZEMI, M., ARAN, M. and ZAMANI, S., 2011. Effect of Calcium Chloride and Salicylic Acid Treatments on Quality Characteristics of Kiwifruit (*Actinidia Deliciosa* cv. Hayward) During Storage. *Am J. Plant Physiol.*, 6: 183-189.
- KIS-PAPO, T., GRISHKAN, I., ORAN, A., WASSER, S.P. and NEVO, E., 2001. Sapatiotemporal Diversity of Filamentous Fungi in the Hypersaline Dead Sea. *Mycol. Res.*, 105(6): 749-756.
- KOGEJ, T., RAMOS, J., PLEMENITAS, A. and GUNDE CIMERMAN, N., 2005. The Halophilic Fungus *Hortaea werneckii* and the Halotolerant Fungus *Aureobasidium pullulans* Maintain Low Intracellular Cation Concentrations in Hypersaline Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 6600-6605.
- KWIATOWSKY, J., 1998. Salinity Classification, Mapping and Managment in Alberta. <http://www.agric.gov.ab.ca/sustain/soil/salinity>.
- LAHLALI, R., SERRHINI, M. N., and JIJAKLI, M.H., 2004. Efficacy assessment of *Candida oleophila* (strain O) and *Pichia anomala* (strain K) against major postharvest diseases of citrus fruits in Morocco. *Comm Agr Appl Biol Sci.*, 69(4): 601-609.
- LAHLALI, R., SERRHINI, M.N., and JIJAKLI, M.H., 2005. Studying and modelling the combined effect of water activity and temperature on growth rate of *P. expansum*. *Int. J. Food Microbiol.*, 102: 315-322.
- LAHLALI, R., SERRHINI, M.N., and JIJAKLI, M.H., 2005. Studying and modelling the combined effect of water activity and temperature on growth rate of *P. expansum*. *Int. J. Food Microbiol.*, 103: 315-322.
- LEITAO-GONCALVES, R., ERMANOSKA, B., JACOBS, A., DE VRIENDT, E., TIMMERMAN, V., LUPSKI, J.R., CALLAERTS, P., JORDANOVA, A., 2012. *Drosophila* as a platform to predict the pathogenicity of novel aminoacyl-tRNA synthetase mutations in CMT. *Gynecol Oncol.*, 42(5): 1661-1668.

- LINK, J. H. F., 1809. Observation in ordines plantarum naturales. Berlim Magazin. Naturkunde, 3: 3-42.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J., 1997. Antibiotics: isolation and characterization. In: Brock Biology of Microorganisms. Prentice-Hall International Inc. New Jersey, 440-442.
- MARJETKA, K., TINAKOGEJ, D., D. and GUNDE - CIMERMAN, N., 2010. Morphological Response of the Halophilic Fungal Genus *Walleimia* to High Salinity. Appl. Environ. Microbiol., 76(1): 329-337.
- MARJETKA, K., TINAKOGEJ, D., D., and GUNDE - CIMERMAN, N., 2010. Morphological Response of the Halophilic Fungal Genus *Walleimia* to High Salinity. Appl. Environ. Microbiol., 74(1): 329-337.
- MIEDES, E. and LORENCES E.P., 2006. Changes in cell wall pectin and pectinase activity in apple and tomato fruits during *Penicillium expansum* infection. J. Sci. Food Agric., 86: 1359–1364.
- MOSSINI, SAG., DE., OLIVERIA, KP. and KEMMELMEIER, C., 2004. Inhibition of patulin production by *Penicillium expansum* cultured with neem (*Azadirachta indica*) leaf extracts. J. Basic Microbiol. 44 (2): 106-113.
- MUNNS, R. and TESTER, M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. Annual Review of Plant Biology, 59: 651-681.
- MUTLU, G., İMİR, T., CENGİZ, T.A., USTAÇELEBİ, Ş., TÜMBAY, E., METE, Ö., 1999. Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflandırılması (Ş.USTAÇELEBİ editör). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1. baskı, Güneş Kitabevi, Ankara, 1015-1021.
- NAZARETH, S., MARBANIANG, T., 2007. Effect of heavy metals on cultural and morphological growth characteristics of halotolerant *Penicillium* morphotypes. J Basic Microbiol., 48: 363–9.
- PITT, J.I., and HOCKING, A.D., 2000. Fungi and Food Spoilage Vol. II, ed. Pitt, J. I. and Hocking, A.D. London. Blackie Academic and Professional, 15-45.
- SAMAPUNDO S.B.DE., MEULENAER, D., OSEINIMOH, Y.B., LAMBONI, J. M., DEBEVERE and DEVLIEGHERE, F., 2007. Can phenolic compounds be used for the protection of corn from fungal invasion and mycotoxin contamination during storage. Food Microbiology, 24: 465–473.
- SAMSON, R. A., and PITT, J. I., 2000. Genetic analysis of organoleptic quality in fresh market tomato. 1. List of accepted species and synonyms in the family richocomaceae. Harwood Academic Publishers, 9-49.
- SHAO, H-B., CHU, L-Y., JALEEL, C.A. and ZHAO, C-X., 2008. Water-deficit Stress-induced Anatomical Changes in Higher Plants. Comptes Rendus Biologies, 331(3): 215-225.
- SHETTY, K. K., CURTIS, O. F., LEVIN, R. E., WITHOWSKY, R. and ANG, W., 1995. Prevention of vitrification associated with in vitro shoot cultures of oregano (*Origanum vulgare*) by *Pseudomonas* spp. J. Plant Physiol., 147: 447-451.
- SILVA, MM., POLIZEL, MLT., JORGE JA. and TERENCEZ, HF., 1994. Cell wall deficiency in “slime” strains of *Neurosporacrassa*: osmotic inhibition of cell wall synthesis and  $\beta$ -D-glucan synthase activity. Braz J. Med Biol Res., 27: 2843-2857.
- SILVA-GRAC, A., M. and C., LUCAS., 2003. Physiological studies on longterm adaptation to salt stress in the extremely halotolerant yeast *Candida versatilis* CBS 4019 (syn. *C. halophila*). Fems Yeast Res., 3: 247–260.

- SMILANICK, J.L., MANSOUR, M.F., GABLER, F.M. and SORENSON, D., 2008. Control of citrus postharvest green mold and sour rot by potassium sorbate combined with heat and fungicides. *Postharvest Biol Technol.*, 47: 226-238.
- TAMIE, A.L. and MONA, S., 2016. Sodium Chloride Stress Induced Morphological Changes in Some Halotolerant Fungi. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 62: 109-146.
- TEMUR, C., 2012. Elmalarda Hasat Sonu Çürüklüğü Oluşturan *Penicillium expansum*'un Işınlama ve Işınlama+Sodyum Karbonat Kombine Uygulamasıyla Engellenmesi Üzerine Araştırmalar. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 85s..
- TEKİNEL, O. ve ÇEVİK, B., 1983. Kültürteknik (Sulama ve Drenaj). Çukurova Üniv. Zir. Fak. Ders Notları. Yayın No: 166.
- TUNAIL, N., 2000. Mikrobiyal Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları. Ank. Üniv. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Genişletilmiş 2. Baskı. Sim Matbaası, Ankara, 522s.
- TÜRKMEN, Ö., ŞENSOY, S., ERDAL, İ., KABAY, T., 2002. Kalsiyum uygulamalarının tuzlu fide yetiştirme ortamlarında domateste çıkış ve fide gelişimi üzerine etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(2): 53-57.
- TÜRKKAN, M., 2013. Antifungal Effect of Various Salts Against *Fusarium oxysporum* f.sp. cepae, the Causal Agent of Fusarium Basal Rot of Onion. *Journal Of Agricultural Sciences*, 19: 178-187.
- WENNEKER, M., KANNE, J., 2010. Controlling powdery mildew (*Sphaerotheca mors uvae*) of gooseberry (*Ribes uva-crispa*) with potassium bicarbonate and risk of phytotoxicity. *Commun Agric Appl Biol Science*, 75(4): 8-568.
- XIAO, J.F., DAVIS, K.J., URBAN, N.M., KELLER, K., SALIENDRA, N.Z., 2011. Upscaling carbon fluxes from towers to the regional scale influence of parameter variability and land cover representation on regional flux estimates. *Agricultural and Forest Meteorology*, 197: 142-157.
- YADAV, V., SHITIZ, K., PANDEY, R., YADAV J., 2011. Chlorophenol stress affects aromatic amino acid biosynthesis-a genome-wide study. *Yeast*, 28(1): 81-91.
- YİĞİT, F., 2011. *Trichoderma harzianum* T22 Irkının Farklı pH ve Tuz Konsantrasyonlarına Adaptasyonu ve Domateste *Fusarium oxysporum* f.sp. *Radiciis lycopersici* 'in Biyolojik Kontrolünde Kullanılması. Selçuk Üniversitesi, Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 25(4): 6-10.
- YİĞİT, F., 2011. *Trichoderma harzianum* T22 Irkının Farklı pH ve Tuz Konsantrasyonlarına Adaptasyonu ve Domateste *Fusarium oxysporum* f.sp. *Radiciis lycopersici* 'in Biyolojik Kontrolünde Kullanılması. Selçuk Üniversitesi, Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 25(4): 6-10.
- ZALAR. P. G., DE., HOOG, S. and GUNDE, CIMERMAN, N., 1999. Ecology of halotolerant dothideaceous black yeasts. *Stud. Mycol.*, 43: 38-48.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Nagihan KILIÇ  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Diyarbakır- 28.03.1989  
**Telefon** : 05349181264  
**e-mail** : [nagihannkilic@gmail.com](mailto:nagihannkilic@gmail.com)

### EĞİTİM

Derece	Ad, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Şeyhmus Sultan Tatlıcı lisesi, Merkez-Diyarbakır	2006
Üniversite	: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Merkez-Diyarbakır	2012
Yüksek Lisans	: Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Merkez-Şanlıurfa	2017

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2012 - 2017	Fırat Tekstil ve Tarım San. Tic.Ltd.Şti.	Ziraat mühendisi

### YABANCI DİL

İngilizce

### UZMANLIK ALANI

Bitki Koruma Fitopatoloji