

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

ELMALARDA HASAT SONRASI BOZULMALARIN ANTAGONİSTİK
MİKROORGANİZMALARLA BİYOLOJİK KONTROLÜ

95649

Mehlika (BENLİ) SAY

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2000

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Her hakkı saklıdır

۲۰۳۲۹

Prof. Dr. Lutfu ÇAKMAKÇI danışmanlığında, Mehlika BENLİ tarafından hazırlanan bu çalışma 03 / 10 / 2000 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Lutfu ÇAKMAKÇI

Üye : Prof. Dr. Mehmet YILDIZ

Üye : Doç. Dr. Gönül DÖNMEZ

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Esmâ KILIÇ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

ELMALARDA HASAT SONRASI BOZULMALARIN ANTAGONİSTİK MİKROORGANİZMALARLA BİYOLOJİK KONTROLÜ

Mehlika (BENLİ) SAY

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Lütfü ÇAKMAKCI

Elmalarda hasat sonrası hastalıklara neden olan, *Botrytis cinerea* (*B. cinerea*) ve *Penicillium expansum* (*P. expansum*)'a karşı; yaprak, çiçek ve meyve yüzeylerinden izole edilmiş 123 maya izolatu kullanılmıştır. İn-vivo elma denemeleri 22°C ve +4°C'de yapılmış; patojen (10⁵ cfu/ml), ile maya (10⁸ cfu/ml) karşılaştırılarak meyve üzerinde denenmiştir. 22°C invivo denemeleri sonucunda; *P. expansum*'a etkili 7, *B. cinerea*'ya etkili 30 maya izolatu bulunmuştur. Her iki patojene birden etkili 4 maya izolatu ayırd edilmiştir. İn-vivo 22°C'de yapılan elma denemelerinde, etki yüzdesi yüksek bulunan 13 maya izolatu seçilerek +4°C'de soğuk hava depolarında etkileri belirlenmiştir. Bu izolatlardan 8 tanesi *P. expansum*, denemelerinde başarılı olurken, sadece 1 maya izolatu *B. cinerea* için etkili bulunmuştur.

Çalışmamızda, 123 maya izolatının in-vitro koşullarda antibiyosis denemeleri yapılmış, üç farklı etki saptanmıştır. Bunlardan birincisi inhibisyon zon oluşumu, ikincisi kırmızı pigment zonu oluşumu ve üçüncüsü de çököntü oluşumudur. Birinci ve ikinci etki her iki patojene karşı gözlenirken, üçüncü etki şekli olan çököntü oluşumu sadece *B. cinerea*'lara karşı gözlenmiştir.

Antagonizm mekanizmalarından biri olan, hiperparazitizm üzerinde önemle durduğumuz çalışmada bu mekanizma açıklanmaya çalışılmıştır. Bununla ilgili olarak Işık Mikroskobisi, Scaning Elektron mikroskobu (SEM) ve Transmission Elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları yapılmıştır.

Işık mikroskobisi çalışmalarında 44 maya izolatu kullanılarak *B. cinerea* ve *P. expansum* hifleri üzerine tutunma yetenekleri araştırılmıştır. *B. cinerea* hiflerine tutunma yeteneği olan 29 maya ve *P. expansum* hiflerine tutunma yeteneği olan 15 maya izolatu tespit edilmiştir.

SEM çalışmalarında en yüksek antagonistik aktivite gösteren 4 maya izolatu ile denemeler yapılmıştır. Bu mayaların *P. expansum* hiflerine tutunma yeteneğinin olmadığı, *B. cinerea*'larda ise hepsinin tutunma yeteneğinin olduğu saptanmıştır.

SEM mikrografları ile mayaların, hifler üzerindeki tutunmalarının ve bu bölgelerde oluşturdukları çukurlukların, hücre dejenerasyonuna neden olarak, patojen gelişimini engellediği saptanmıştır.

TEM çalışmalarında +4°C'deki soğuk hava denemelerinde, her iki patojene birden etkisi gözlenen 85 nolu maya izolatu ile çalışılmıştır.

Bu izolatu *P. expansum* hiflerine tutunmadığı, *B. cinerea*'larda ise mayaların, hiflere sıkıca tutunduğu ve maya-patojen interaksyonu, TEM mikrograflarıyla açıklanmıştır.

Farklı elma kısımlarından izole edilen ve +4°C'de denenen 13 maya izolatının tanımlanması yapılmış, *Candida*, *Rodosporidium*, *Hansenula*, *Debaryomyces*, *Rodotorula*, *Torulasporea* ve *Williopsis* genuslarına ait mayalar oldukları saptanmıştır.

2000, 120 sayfa

Anahtar Kelimeler: Mavi küf (*Penicillium expansum*), Gri küf (*Botrytis cinerea*), Hasat sonrası hastalıklar, Elmalar, Antagonistik mikroorganizmalar, Mayalar.

ABSTRACT

PhD Thesis

BIOLOGICAL CONTROL OF POSTHARVEST DISEASES OF APPLES BY USING ANTAGONISTIC MICROORGANISMS

Mehlika (BENLİ) SAY

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. M. Lütfü ÇAKMAKÇI

Against *B. cinerea* and *P. expansum* which cause postharvest diseases on apples, it has been used 123 yeast isolates, which were isolated from the surfaces of the leaf, flower and fruit. In-vivo apple experiments were conducted 22°C and +4°C degrees, and pathogen (10^5 cfu/ml) and yeast (10^9 cfu/ml) were tested on the fruit(s). As a result of this experiment, 7 yeast antagonist isolates to *P. expansum* and 30 yeast isolates were found effective against *B. cinerea*. 4 yeast isolates effective on both pathogens were choosed. 13 yeast isolates, whose percentages of effect were found to be high in the experiments conducted on in-vivo 22°C temperature were selected to determine their effects at +4°C cold storage temperature. Out of them, 8 of these isolates were found in the *P. expansum* experiments and only 1 yeast isolate was effective against *B. cinerea*.

In our study, antibiosis experiments on 123 yeast isolates under in-vitro conditions were made and three different effects were observed. The first was the formation of inhibition zone, the second was the formation of red pigment zone and the third was the precipitation. While the first and second effects were observed against both pathogens, degregation, the third effect, was observed only against *B. cinerea*.

We tried to explain this mechanism in this study where we strongly emphasized hyperparasitism, which is one of the antagonism mechanisms. We conducted light microscopy, SEM, TEM studies in this regard also.

In the light microscopy study, 44 yeast isolates were used to determine their capability on *B. cinerea* and *P. expansum* fibers. 29 yeast isolates, which could hold on the *B. cinerea* fibers and 15 yeast isolates which could hold on to *P. expansum* fibers, were observed.

4 yeast isolates which showed the highest antagonistic activity were used in the SEM experiments. As a result, it was observed that these yeast isolates could not attach to *P. expansum* hyphae and all of them could attached to *B. cinerea* mycelium.

With SEM micro-graph it was observed that pathogen development was hindered through cell degeneration with the attaching to the fibers by the yeast and causing holes in the region.

Yeast isolate number 85 was used in the TEM study which was observed to have effects on both pathogens in the experiments conducted at +4°C cold storage temperature.

These isolates did not attach to *P. expansum* mycelium and that in *B. cinerea* the yeast clung on very tightly, and the yeast-pathogen interaction was explained with TEM micrograph.

13 yeast isolates tested at +4°C and isolated from different sections of apples were identified and were determined to belong to *Candida*, *Rodosporidium*, *Hansenula*, *Debaryomyces*, *Rodotorula*, *Torulasporea* and *Williopsis* genus yeast .

2000, 120 pages

Key Words: *P. expansum*, *B. cinerea*, Postharvest diseases, Apple, Antagonistic microorganisms, Yeasts.

TEŞEKKÜR

Başta değerli hocam Sayın Prof. Dr. Lütü ÇAKMAKÇI (Süleyman Demirel Üniv. Rektörü) olmak üzere, Sayın Prof. Dr. Mehmet YILDIZ'a (Ege Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma ABD), A.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Müh. ABD Öğretim Üyelerinden, değerli hocalarım, Sayın Prof. Dr. Salih MADEN'e, Sayın Prof. Dr. Kadir HAKMAN'a, Sayın Prof. Dr. Nezihe TUNAL'e, Sayın Doç. Dr. Kamuran AYHAN'a ve değerli dostlarım Arş. Gör. Hilal DOĞAN'a, Arş. Gör. İbrahim ÇAKAR'a, Arş. Gör. Hakan KULEAŞAN'a ve Uzman Mustafa GAYRETLİ'ye, deneylerim boyunca dostluğunu ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Arş. Gör. Dr. Pelvin KINAY'a (Ege Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma ABD), Gazi Üniv. Fen Fak. Biyoloji ABD Öğretim Üyelerinden Sayın Doç. Dr. Yusuf KALENDER'e ve Yrd. Doç. Dr. Selami CANDAN'a, değerli arkadaşım Uzman Fizik Müh. Kadir TUNCER'e (A.Ü.F.F. Biyoloji ABD), arazi çalışmalarında yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen sevgili dostum Peyzaj Mimarı Sayın Esin ARI'ya (Isparta Eğr. Su Ürünleri Arş. Müd.) numunelerimi toplama yardımcı olan Sayın Muamer AKKANAT'a (Isp. Eğ. Arş. Müdürlüğü) ve arazi olanaklarını sağlayan, yardımlarını esirgemeyen Sayın Sedat SARA KOYUNLU'ya (Isp. Eğ. Su Ürünleri Arş. Müdürü), Elma bahçelerini ve soğuk hava depolarını kullanmama izin veren Sayın Mehmet KILIÇ'a (Isparta Eğirdir, Göldere Mevki), değerli dostum Arş. Gör. Dr. Suna KALENDER'e (A.Ü.F.F. Biyoloji ABD), ayrıca bana her konuda destek olan ve güç veren değerli eşim Sayın Kamil SAY'a ve beni bu günlere getiren hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan değerli annem Şükran BENLİ'ye ve değerli babam Ömer BENLİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE KURAMSAL TEMELLER	1
1.1. Abiyotik Kaynaklı Faktörler	1
1.2. Biyolojik Kaynaklı Faktörler	1
1.3. Patojenlerden İleri Gelen Kayıplar ve Azaltma Yolları	4
1.3.1. Patojenler ve bulaşma	4
1.3.1.1. Gizli (=latent) veya gerçek patojenler (doğrudan enfeksiyon)	5
1.3.1.2. Yara patojenleri	5
1.3.1.3. Bulaşma zamanları	6
1.4. Ürünlerin Depolanması	6
1.5. Hastalık Kayıplarını Azaltmada Kullanılan İlaçlar	8
2. MATERYAL ve YÖNTEM	26
2.1. Örneklerin Toplandığı Alanlar	26
2.1.1. Yaprak örnek analizleri	27
2.1.2. Çiçek örnekleri	27
2.1.3. Meyve örnekleri	27
2.3. Antibiyosis Denemeleri	27
2.4. Hiperparazitizm Denemeleri	29
2.5. İn-vivo Elma denemeleri	32
2.6. Mayaların Tanımlanması	34
2.6.1. İzolatların tanımlanmasında kullanılan morfolojik testler	35
2.6.1.1. Vejetatif hücrelerle çoğalma	35
2.6.1.2. Pseudomisel oluşumunun mikroskopik incelenmesi	35
2.6.1.3. Ballistospor oluşumunun incelenmesi	35
2.6.1.4. Askospor oluşumunun mikroskopik incelenmesi	36

2.6.2. Tanımlanmada kullanılan fizyolojik testler	37
2.6.2.1. Glukoz fermentasyonu	37
2.6.2.2. Üreaz testi	38
2.6.2.3. DBB testi = (Diazonyum blue B. testi).....	38
2.6.2.4. Nitrat testi	39
2.6.2.5. Karbon kaynakları testi	40
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	41
3.1. Antibiyosis denemeleri	41
3.2. İn vivo Elma Denemeleri	50
3.2.1. 22°C'de in vivo elma denemeleri	50
3.2.2. +4°C'de depo elma denemeleri	67
3.3. Hiperparazitizm, tutunma denemeleri (attechment).....	79
3.3.1. Işık mikroskobunda hiperparazitizm, tutunma denemeleri.....	84
3.3.2. SEM'de tutunma denemeleri.....	87
3.4. TEM'de Tutunma Denemeleri	92
3.5. Mayaların Tanımlanması	95
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	100
KAYNAKLAR	107
ÖZGEÇMİŞ.....	120

SİMGELER DİZİNİ

FTS	=	Fizyolojik tuzlu su
PDA	=	Potato dextros agar besiyeri
NYDA	=	Nutrient yeast dextros agar besiyeri
NYDB	=	Nutrient yeast dextros broth sıvı besiyeri
P.ex	=	<i>Penicillium expansum</i>
B.c.	=	<i>Botrytis cinerea</i>
SEM	=	Skening elektron mikroskobu
TEM	=	Transmişın elektron mikroskobu
EM	=	Elektron mikroskobu
W	=	Az gelişme
K	=	Kontrol
İnh	=	İnhibisyon zonu
Çök	=	Çöküntü oluşumu
Kh	=	Kırmızı pigment halka oluşumu.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	115 nolu maya izolatatının <i>B. cinerea</i> ve <i>P. expansum</i> gelişmesini engellemesi.....	46
Şekil 3.2.	88 nolu izolatatının <i>B. cinerea</i> ve <i>P. expansum</i> gelişmesini engellemesi.....	46
Şekil 3.3.	263 nolu maya izolatatının <i>B. cinerea</i> ve <i>P. expansum</i> 'a karşı oluşturduğu kırmızı pigmentli zonlar.....	47
Şekil 3.4.	223 nolu maya izolatatının <i>P. expansum</i> ile karşılaşması sonucu oluşan kırmızı pigmentli zonlar.....	48
Şekil 3.5.	261 nolu maya izolatatının <i>B. cinerea</i> ile karşılaştığı bölgede oluşan pigmentli zon ve zon içinde spor gelişiminin engellenmesi	48
Şekil 3.6.	121 nolu maya izolatatında sadece <i>B. cinerea</i> denemelerinde gözlenen çöküntü oluşumu	49
Şekil 3.7.	Bazı maya izolatatının <i>B. cinerea</i> 'larda oluşturduğu çöküntüler	50
Şekil 3.2.1.	Bazı maya izolatatlarının <i>P. expansum</i> çürümelerine karşı etkisi (22°C).....	51
Şekil 3.2.2.	Bazı maya izolatatlarının <i>B. cinerea</i> 'ya karşı kontrol etkisi (22°C)	52
Şekil 3.2.3.	Bazı maya izolatatlarının <i>B. cinerea</i> 'lara karşı antagonistik etkileri (22°C).....	53
Şekil 3.2.2.1a.	Bazı maya izolatatlarının depo koşullarında <i>P. expansum</i> 'a karşı etkileri	73
Şekil 3.2.2.1b.	Bazı maya izolatatlarının depo koşullarında <i>B. cinerea</i> 'ya karşı etkileri	74
Şekil 3.2.3.1a.	Bazı maya izolatatlarının soğuk hava koşullarında elmalarda <i>P. expansum</i> 'un neden olduğu hastalık üzerindeki etkileri	77

Şekil 3.2.3.1b. Bazı maya izolatlarının soğuk hava koşullarında elmalarda <i>P. expansum</i> 'un neden olduğu yara çapı (cm) üzerindeki etkileri	77
Şekil 3.2.3.2a. Bazı maya izolatlarının soğuk hava koşullarında elmalarda <i>B. cinerea</i> 'nın neden olduğu hastalık üzerindeki etkileri	78
Şekil 3.2.3.2b. Bazı maya izolatlarının soğuk hava koşullarında elmalarda <i>B. cinerea</i> 'nın neden olduğu çürüklük büyüklüğü üzerine etkileri	79
Şekil 3.3.1a. 279 nolu maya izolatının <i>B. cinerea</i> hiflerine tutunması (Işık mikroskobisi x 200)	85
Şekil 3.3.1b. 33 nolu maya izolatının <i>B. cinerea</i> hiflerine tutunması (Işık mikroskobisi x 200)	86
Şekil 3.3.1c. 93 nolu maya izolatının <i>B. cinerea</i> hiflerine tutunması (Işık mikroskobisi x 200)	86
Şekil 3.3.2. <i>P. expansum</i> hiflerine tutunmamış 33 nolu maya izolatlarının ışık mikroskobi görüntüsü x 200	87
Şekil 3.3.2.1a. 75 nolu izolatin <i>B. cinerea</i> hiflerine tutunması, (x 700) SEM mikrografi.....	88
Şekil 3.3.2.1b. 75 nolu izolatin <i>B. cinerea</i> hiflerine tutunmasını gösteren SEM mikrografi (x 1200)	88
Şekil 3.3.2.2. 75 nolu maya izolatlarının <i>B. cinerea</i> üzerine tutunması, tutunduğu yerler ve hif üzerindeki çukurcuklar x 2000	89
Şekil 3.3.2.3a. 85 nolu izolatin <i>B. cinerea</i> hiflerini sarması x850 büyütmede SEM mikrografi.....	89
Şekil 3.3.2.3b. 85 nolu izolatin <i>B. cinerea</i> hifleri üzerine tutunmasını ve çukurlar oluşturmalarını gösteren SEM mikrografi x 3500.....	90

Şekil 3.3.2.4. <i>B. cinerea</i> hiflerine tutunmuş 36 nolu maya izolatu SEM mikrografi x 800	90
Şekil 3.3.2.5. <i>B. cinerea</i> hiflerine tutunmuş 110 nolu maya izolatu SEM mikrografi x 1200	91
Şekil 3.3.2.6. <i>P. expansum</i> hiflerine uygulanmış 75 nolu maya izolatu preparatında, herhangi bir tutunmaya rastlanamamıştır x 800	91
Şekil 3.4.1. Maya ve küf interaksyonu başlangıcı ve her iki hücrenin protoplazmik yapısı, hücre duvarları ve etrafında bulunan çok yoğun ekstraselüler matriks TEM mikrografi (x 4.800).....	93
Şekil 3.4.2. Küf miseli ile maya arasındaki tam tutunma vema-yamisel arasındaki ekstraselüler matriksin ortak hal alarak azalması (x 3600).....	93
Şekil 3.4.3. Küf miseli ile maya interaksyonu ve misel ince yapısı (x 14.000).....	94
Şekil 3.4.4. Dejenere olmuş <i>B. cinerea</i> miseli TEM mikrografi (x 14.000).....	95
Şekil 3.5.1 105 nolu izolat'ın oluşturduğu pseudohifler x 250	97
Şekil 3.5.2. 277 nolu izolatin meydana getirdiği septalı hifler görülmektedir x 250	98

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Fizyolojik bozukluklar.....	2
Çizelge 1.2.	Pazarlarda ve depolardaki ürünlerde yaygın olarak görülen hastalıklar ve etmenleri.....	3
Çizelge 3.1.	<i>B. cinerea</i> ve <i>P. expansum</i> 'a etki mekanizmaları araştırılan 123 maya izolatının numarası, izolasyonunun yeri, antibiyosis etki şekli, antibiyosis zon çapları.....	41
Çizelge 3.2.1a.	Farklı mayaların, <i>P. expansum</i> üzerine etkileri.....	54
Çizelge 3.2.1b.	Farklı mayaların <i>B. cinerea</i> üzerine etkileri.....	55
Çizelge 3.2.2a.	Farklı mayaların, <i>P. expansum</i> üzerine etkileri.....	56
Çizelge 3.2.2b.	Farklı mayaların <i>B. cinerea</i> üzerine etkileri.....	57
Çizelge 3.2.3a.	Farklı mayaların, <i>P. expansum</i> üzerine etkileri.....	58
Çizelge 3.2.3b.	Farklı mayaların <i>B. cinerea</i> üzerine etkileri.....	59
Çizelge 3.2.4a.	Farklı mayaların, <i>P. expansum</i> üzerine etkileri.....	60
Çizelge 3.2.4b.	Farklı mayaların <i>B. cinerea</i> üzerine etkileri.....	61
Çizelge 3.2.5a.	Farklı mayaların, <i>P. expansum</i> üzerine etkileri.....	62
Çizelge 3.2.5b.	Farklı mayaların <i>B. cinerea</i> üzerine etkileri.....	63
Çizelge 3.2.6a.	Farklı mayaların, <i>P. expansum</i> üzerine etkileri.....	64
Çizelge 3.2.6b.	Farklı mayaların <i>B. cinerea</i> üzerine etkileri.....	65
Çizelge 3.2.7a.	Farklı mayaların, <i>P. expansum</i> üzerine etkileri.....	66
Çizelge 3.2.7b.	Farklı mayaların <i>B. cinerea</i> üzerine etkileri.....	67

Çizelge 3.2.2.1. <i>P. expansum</i> ve <i>B. cinerea</i> 'ya etkileri denenmiş maya izolatlarının 22°C ve +4°C'deki deneme sonuçları.....	68
Çizelge 3.2.2.2a. 13 farklı maya izolatının +4°C'de <i>B. cinerea</i> 'lara karşı etkileri.....	75
Çizelge 3.2.2.2b. 13 farklı maya izolatının, +4°C'de <i>P. expansum</i> 'a karşı etkileri	76
Çizelge 3.3.1. <i>B. cinerea</i> ve <i>P. expansum</i> a etki mekanizmaları araştırılan 123 maya izolatının numarası izolasyonunun nereden yapıldığı, antibiyosis etki şekli, antibiyosis zon çapı, Hiperparazitizmle ilgili tutunma sonuçları, in-vivo elma denemelerinde 22°C ve +4°C'de depo deneme sonuçları ve etki yüzdeleri	79
Çizelge 3.5.1. 13 farklı maya izolatının tanımlanmasında kullanılan morfolojik test sonuçları.....	96
Çizelge 3.5.2. İzolatların karbon kaynaklarını kullanma özellikleri.....	99

1. GİRİŞ VE KURAMSAL TEMELLER

Hasat sonrası, taze meyve ve sebzelerde meydana gelen bozulmalar, ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hasat sonrası fizyoloji ve bu husustaki bilgi eksikliği hasat sonu depo koşullarının uygun olmamaları gibi nedenler kayıpları artmaktadır.

Tarımsal ürünlerde hasat sonrası görülen hastalıklar, ürünlerin hasat edilmesi, paketlenmesi, pazara taşınması ve depolanması sırasında gelişen süreçlerde ortaya çıkmaktadır.

Hasattan sonra ürünlerde görülen hastalık ve bozulmaların nedenlerini iki grup altında toplamak mümkündür.

1.1. Abiyotik Kaynaklı Faktörler

Bunlar kısaca metabolitlerin eksikliği veya fazlalığı, su (nem) ve sıcaklığın etkisi, kimyasal ve fiziksel yaralanmalardır (Çizelge 1.1).

1.2. Biyolojik Kaynaklı Faktörler

Bu bölümün en büyük kısmını funguslar ve bakteriler oluşturmaktadır. Bunlar depolarda yaygın olarak görülürler ve büyük kayıplara neden olurlar. Virüsler, viroidler, böcekler ve nematodlar daha az öneme sahiptirler, fakat özel bazı ürünlerde önemli kayıplara sebep olabilirler (Çizelge 1.2) (Jones and Aldwinckle 1990).

Çizelge 1.1. Fizyolojik bozukluklar

Don Zararları	<ul style="list-style-type: none">❖ Domates, biber, kabak, patlıcan, tatlı patates, kavun, beyaz patates, muz ve turunçgillerde görülür.❖ Taş çekirdekli meyveler ve beyaz patatesten iç kısımlarda bozulmaya neden olur.
Sıcak Zararları	<ul style="list-style-type: none">❖ Elma, armut ve şeftalide iç bozulmalar❖ Elma ve armutlarda yüzey yaraları meydana gelir.
Uyumsuz Havalandırma	<ul style="list-style-type: none">❖ Bozulma❖ Toksik gazların üretimine neden olur.
Kontrollü Atmosfer	<ul style="list-style-type: none">❖ Düşük O₂ ve yüksek CO₂ seviyeleri elmalarda zarar yapar.
Mineral elementlerin eksikliği veya toksisitesi	<ul style="list-style-type: none">❖ Ca eksikliği veya fazla N, K → Kerevizde - blacheurt❖ Bor noksanlığı → Kerevizde - çatlama❖ Bakır fazlalığı → Kabaklarda - Siyah benek❖ Ca, Bor noksanlığı → Elmalarda - Acı çürük❖ İçte sulanmaya neden olur.
Su ve sıcaklık ilişkisi	<ul style="list-style-type: none">❖ Patateslerde - içte kahverengi lekelenme❖ Turunçgillerde - iç kısımda azalma❖ Elmalarda - içte sulanmaya neden olur.
Şiddetli basınç, yarananma ve yaralarla temas	<ul style="list-style-type: none">❖ Bütün meyve ve sebzelerde yarananma ve bozulmalar meydana gelir.

Çizelge 1.2. Pazarlarda ve depolardaki ürünlerde yaygın olarak görülen hastalıklar ve etmenleri.

Fungal Hastalıklar	Yumuşak Çekirdekli Meyveler	Mavi küf	<i>Penicillium expansum</i>
		Kurşuni küf (Gri küf)	<i>Botrytis cinerea</i>
		Kara çürüklük	<i>Physoctenaria obsuta</i>
		Acı çürüklük	<i>Glomerella cingulata</i>
		Beyaz çürüklük	<i>Botryosphaeria ribis</i> <i>Gloeosporium gloeosporioides</i>
	Turunçgiller	Alternaria çürüklüğü	<i>Alternaria alternata</i>
		Alternaria çürüklüğü	<i>Alternaria citri</i>
		Mavi küf	<i>Penicillium italicum</i>
		Yeşil küf	<i>P. digitatum</i>
		Ekşi çürüklük	<i>Geotrichum candidum</i>
		Sap çukuru çürüklüğü	<i>Phomopsis citri</i>
		Sap çukuru çürüklüğü	<i>Phomopsis candidum</i>
	Üzüm Meyveler	Sap çukuru çürüklüğü	<i>Diplodia natalensis</i>
		Mavi küf	<i>Penicillium sp.</i>
		Kurşuni küf	<i>Botrytis cinerea</i>
	Taş Çekirdekli Meyveler	Rhizopus çürüklüğü	<i>Rhizopus stolonifer</i>
		Cladosporium çürüklüğü	<i>Cladosporium herbarum</i>
		Kahverengi çürüklük	<i>Monilinia fructicola</i>
		Rhizopus çürüklüğü	<i>Rhizopus stolonifer</i>
		Gri küf	<i>Botrytis sp.</i>
		Mavi küf	<i>Penicillium sp.</i>
		Ekşi çürüklük	<i>Geotrichum candidum</i>
		Alternaria çürüklüğü	<i>Alternaria sp.</i> <i>Gloeosporium album G. perennans</i>
		Geç yanıklık	<i>Phytophthora infestans</i>
		Fusarium yumru çürüklüğü	<i>Fusarium sp.</i>
	Domates ve Biber	Fusarium solgunluğu	<i>Fusarium sp.</i>
		Alternaria çürüklüğü	<i>Alternaria alternata</i>
		Kurşuni küf	<i>Botrytis cinerea</i>
Geç yanıklık		<i>Phytophthora infestans</i>	
Rhizopus çürüklüğü		<i>Rhizopus stolonifer</i>	
Ekşi çürüklük		<i>Geotrichum candidum</i>	
Sebzeler (yapraklı sebzeler, yumrulular, soğan, kavun, fasulye)	Kurşuni küf	<i>Botrytis cinerea</i>	
	Sulu yumuşak çürüklük	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	
	Havaçlarda çürüklük	<i>Rhizoctonia carotae</i>	
	Rhizopus çürüklüğü	<i>Rhizopus sp.</i>	
	Fusarium çürüklüğü	<i>Fusarium sp.</i>	
	Soğan çürüklüğü	<i>Sclerotium cepivorum</i>	
Bakteriyel Hastalıklar	Patates	Bakteriyel yumuşak çürüklük	<i>Erwinia caratovora pv. atroseptica</i>
		Kahverengi çürüklük	<i>Pseudomonas solanacearum</i>
	Sebzeler (Salatalık, domates, soğan, fasulye, biber, kavun, yumrulular)	Halkalı çürüklük	<i>Corynebacterium sepedonicum</i>
		Kara çürüklük	<i>Xanthomonas campestris</i>
		Yumuşak çürüklük	<i>Erwinia caratovora pv. caratovora</i>
Viral Hastalıklar	Patates	Koyu-kahve-siyah çöküntüler	<i>Pseudomonas spp.</i>
		Potato Leaf Roll Virus	

(Karacalı 1993)

1.3. Patojenlerden İleri Gelen Kayıplar ve Azaltma Yolları

Patojenler meyve ve sebzelerde hasat sonrasında önemli zararlar yapan, kaliteyi düşüren ve genellikle raf ömrünü bitiren (Fungus ve bakteri gibi) hastalık etmenleridir. Ürün henüz gelişme dönemindeyken çeşitli patojenler kutikula ve epidermisi delerek; stoma, lentisel ve çeşitli yaralardan (Böcek, kuş, don, dolu, zedelenme vb.) girerek enfeksiyona neden olurlar. Bu dönemde görülen bulaşmalar ve hastalıklı ürünler işleme aşamasında ayıklanırlar. Ürünlerde hasattan sonra sorun olan hastalıklarda ise etmen hasattan önce ürün üzerine gelir, durgun enfeksiyon şeklinde veya gelişme aşamasında kalarak hasattan sonra gözle görülür halde ortaya çıkar.

Yaş meyve ve sebzeler bol miktarda su ve besin maddesi içerdikleri için patojenlerin hücumuna uğralar. Hasattan sonra, direnci azalan ürünlerde kayıplara neden olurlar. Hastalanan ürünler, sağlam olanları da etkiler. Patojenlerin gelişimi ile enfekte olan üründe etilen sentezi, solunum ve ısı üretimi, olgunlaşmayı hızlandırır. Sağlam ürünleri bulaştırır ve kayıpların artmasına neden olur.

Kayıpların azaltılması için önlemler alınmalıdır. Bu önlemlerin genel ilkeleri:

- a. Bulaşmanın önlenmesi
- b. Hastalık etmeninin yok edilmesi
- c. Etmenin gelişiminin yavaşlatılması
- d. Konukçu direncinin artırılmasıdır.

1.3.1. Patojenler ve bulaşma

Meyve ve sebzelerde hasattan önce zarar yapan patojenler kuvvetli patojenlerdir. Bunlar uygun sıcaklık ve nem koşullarında çimlenir, kabuğu deler, enzimleriyle konukçu hücrelerin çeperlerini parçalarken, karbonhidratlarını kullanır ve toksin salgılayarak hastalık yaparlar. Hasattan sonra zarar yapanlar ise genellikle zayıf patojenlerdir. Ürüne ancak yaralardan girebilirler. Doğrudan girseler bile ürün bu patojenlerin gelişmesini uzun süre durdurabilir. Doğal ortamda çürükçül olarak yaşayan patojenler oluşturdukları sporlarla bulaşırlar.

Hasattan sonra en fazla zarar veren ve hastalık oluşturan patojenler funguslardır. Bunlar asitce zengin olan ürünlerde ve nemli ortamda gelişirler, soğuğa karşı toleransları vardır. Bu patojenler ve hastalık yapma şekilleri şöyledir:

1.3.1.1. Gizli (=latent) veya gerçek patojenler (doğrudan enfeksiyon)

Hasattan sonra ürün üzerine temas, su, böcek veya hava yoluyla gelen bazı patojen sporları, uygun nem ve sıcaklık bulamadıkları sürece, kabuk üzerine tutunmuş olarak kalırlar. Uygun zemini bulduklarında su alarak şişer, appressoriumu oluştururlar. Çok dayanıklı olan bu yapılar yüzeye sıkıca tutunurlar. Bunun altında gelişen ince sivri hifler kütinaz enzimi salarak kütini hidrolize ederler. Böylece epidermis hücrelerinin canlı çeperlerine ulaşır ve normal hif halini alarak yayılırlar. Epidermis hücreleri yoğun kallosa ve fellogen benzeri maddeler oluşturarak içe doğru hif gelişimini durdururlar. Bir süre gelişimine devam eden patojen, subkutikular hif yığını oluşturur. Esas enfeksiyon öncesinde birkaç ay canlı olarak dinlenmede (=latent) beklerler. Bu latent (gizli) enfeksiyon dönemi ürün olgunlaşımına karşı direnci azalınca dek sürer. Olgunlaşma tamamlandıkça hifler epidermisi delerek alttaki dokulara ulaşır. Toksinler ve enzimler salarak kompleks yapıli bileşikleri parçalar, hücreleri tüketerek hastalık gözle görülür belirtilerini vermeye başlar. Latent patojenlerin bir kısmı da stoma ve lentisellerin içinde çimlenmiş ve uyur durumda bekler. Bu tip patojenler depolamanın ikinci yarısından sonra olgunlaşmaya paralel olarak zarar verebilirler. *Gloeosporium*, *Nectria galligena*, *Alternaria* latent patojenlere örnek verilebilir.

1.3.1.2. Yara patojenleri

Bazı patojenler kütinaz enzimi salgılayıp kutikulaı delemeyiz. Kutikula yüzeyi ise su barındırmaz bir yapıdadır, bu da patojen girişini zorlaştırır. Ancak kabuğun yaralanmasıyla ürün içine girebilen patojenler, ortam sıcaklığına bağılı olarak hızla gelişir ve hiç beklemeden hastalanmaya sebep olurlar. Yara patojenleri doku içi dirence karşı koyarak hızla gelişirler. En önemli yara parazitleri *Penicillium*, *Geotrichum* ve *Rhizopus*'tur. Bunlar kutikulaı delemeyiz. Birde, gelişim evresinde doğal açıklıklar olan stoma ve lentisellerden giren yara parazitleri vardır. *Phytophthora*, *Monilia* ve *Botrytis* bunlara örnek verilebilir.

1.3.1.3. Bulaşma zamanları

a. Hasattan önceki bulaşmalar

Bahçede kuru dal, yaprak ve çiçek kısımlarında yaşayan ve çoğalan sporlar, yağmur, rüzgar, böcek, kuşlar, insan yolu ile genç meyve ve çiçeğe ulaşırlar. Hastalık etmenlerinin kimileri ise toprakta çeşitli organik kalıntılarda saprofit olarak yaşarlar. Toz, yağmur damlları ile yere yakın meyvelere ulaşırlar.

b. Hasattan sonraki bulaşmalar

Bu dönemde ürünün temas ettiği hastalıklı örnekler, çeşitli alet, düzenler, depo ve paketleme evindeki duvarları, depo ve paketleme evinin havası enfeksiyon kaynağı durumundadır. Hasat, taşıma ve pazara hazırlama sırasında meydana gelen yaralar enfeksiyon etmenlerine ortam oluştururlar.

1.4. Ürünlerin Depolanması

Depolama; ürünün daha sonra pazarlanmak üzere kalitesini koruyacak koşullarda bekletilmesi işlemidir. Ürünün depolanması pazarlarda ürünün bol ve ucuz olarak bulunabildiği dönemler haricinde de ürünün bol fakat pahalı pazar bulmasını, tüketilen ve pazarlanan ürünün artmasını, pazarlarda uzun süre daha kaliteli ürün bulunmasını, ürünü değerlendirme endüstrisinin uzun süre çalışmasını, daha çok ürünü işleme ve o oranda da ekonomik gelir payını artırmaktadır.

Sağlıklı depolamada önemli olan ortam faktörleri:

a. Sıcaklık

b. Bağıl nem

c. Hava bileşimi

d. Hava hareketi

e. Havalandırma

f. Hava basıncı olarak sıralanabilir.

Bugün basit kiler gibi saklama yerleri dışında kalan ve yaygın şekilde kullanılan depolar üç grup altında toplanır:

1. Dış hava ile soğutulan depolar (adi depo)

Gecenin soğumuş havasının içeri alınmasıyla ürünün soğutulduğu depolardır.

2. Termomekanik yolla soğutulan depolar (Soğuk hava depoları)

Soğutucu maddenin hal değişimi ile sağlanan soğukluk, ürünün soğutulmasında kullanılır.

3. Kontrollü atmosferli depolar (KA)

Kontrollü olarak oksijenin azaltılıp, karbondioksitin artırılmasıyla sağlanan depolardır. Bu tür depolar gaz bileşimine göre 3 gruba ayrılır.

a. Tek yönlü

Depo havasındaki O₂ ve CO₂ oranı toplam 0,21 ve azot 0,79 oranındadır. Örn: %14 O₂ %7 CO₂ ve %79 Azot gibi.

b. İki yönlü

O₂ ve CO₂ oran toplamı 0,21'in altında ve azot oranı 0,79'un üzerindedir. Örn: %3 O₂, %4 CO₂ ve %93 Azot gibi.

c. Düşük O₂ ile depolama

Bu tür depolarda karbondioksitin birikmesi ve %1'in üzerine çıkmasına izin verilmez. Oksijen oranı havalandırma ile belirli bir değerde tutulur.

Özellikle elma, armut gibi 6-10 ay arasında değişen uzun süreli depolama gerektiren ürünler, hasat sonrası patojenlere son derece açıktırlar. Bu tarz ürünlerin saklanabilmesi ve kayıpların en aza indirilebilmesi için uygun depo şartları sağlanmalıdır. Bilindiği gibi pekçok çürüme etmeni soğuk hava depolarında (0-4°C) ya da atmosfer kontrollü depolarda (0-4°C, %3 O₂ ve %8'den az CO₂) spor üretemezler. Ancak ideal depo koşullarına sahip olunmaması hasat sonrası hastalıkların önüne geçilmesini ve kayıplar

önemli derecede artmaktadır. Hasat sonrası depo koşullarında en büyük kayıplar fungusların meydana getirdiği hastalıklarla olmaktadır.

1.5. Hastalık Kayıplarını Azaltmada Kullanılan İlaçlar

1. Dezenfekte edici maddeler

Depolar, paketlenme evleri çeşitli alet ve düzenleri dezenfekte etmekte kullanılan ilaçlardır. Formalin, Sodyum hipoklorit, dörtlü amonyum bileşenleri örnek olarak verilebilir.

2. Ürünü dıştan koruyucu maddeler

Bunlar sağlıklı ürün yüzeyinde bulunan mikroorganizmaları yok ederler. Örneğin Sodyum orto fenil fenat (SOPP), boraks, Sodyum karbonat, Difenil (DPA), bütülamın, Dikloronitroanilin (DCNA), Captan. Bu kimyasallar oldukça etkilidir ve halen yüksek dozda kullanılmaktadır.

3. Ürünü dıştan ve içten koruyucu maddeler

Bunlar kabuktan içeri nüfuz ederek koruma sağlayan fungusitlerdir. Bu şekilde stoma, lentisel ve yaralardan giren mikroorganizmaları da yok edebilirler. Kalıcı etkileriyle ilaçlamadan sonraki yaralanmalarda da etkili olurlar. Suda iyonize olmaz ve erimezler. Bu koruyucular iki grupta toplanır.

a. Benzimidazol grubu: Örn. benomyl, TBZ, Carbondizim, tioganat, thiophonile methyl.

b. İmidazol grubu: Örn. İmazalil, fenopronil, prokloraz (Karacalı 1993).

Hasat sonrası veya satışa sunulmak üzere paketlenen meyve ve sebzeler fungusitler veya kimyasallarla muamele edilmektedir. Bu yolla kayıplar asgari düzeye indirilmeye çalışılmaktadır (Mc Laughlin et al. 1990).

Kimyasallarla pek çok ürün üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

İsrail'de yapılan bir çalışmada, hasat sonrası meyve çürümelerinin kontrolünde Fenpromimorf adı verilen bir bileşik kullanılmıştır. Bu bileşik; acı çürük, yeşil küf ve

mavi küfe karşı yalnız başına etkili sonuçlar vermiştir. Bu çalışmada Benzimidazole ve İmidazole gibi küf önleyici maddeler de kullanılmış, özellikle *Penicillium* türlerinin kontrolünde zorlanılmıştır. Bu kimyasallara alternatif olarak morphaline ile birlikte balmumu kullanılmış, bu karışımın yanı sıra başka kimyasallar da denenmiştir. En etkili sonucu Fenpromimorf'un su ile hazırlanan formüllerinin kullanılması ile elde edilmiştir (Cohen and Shalom 1990).

1988-1990 yılları arasında Güney Batı Florida'da yetiştirilen yafa portakalı çiçek açma döngüsü boyunca ve meyve tutmayı azaltıcı etki yapan *Frankliniella bispinosa* ve *Colletotrichum gloeosporioides* zararlılarından korunmak için, çeşitli pestisitler ve fungusitler kullanılmıştır. *F. bispinosa* için en etkili sonucu Chlorpyripis, dimethoate, formatanate, hydrochloride gibi pestisitlerin kullanılması vermiştir. Bununla birlikte fungal patojen olan *G. gloeosporioides* iki ya da daha fazla benomyl muamelesi sonucunda meyve tutumunda önemli bir artış olmuştur (Childers 1992).

Turunçgil ağaçları üzerine yapılan bir başka çalışmada fungusitler kullanılarak *Phytophthora* türlerinin kontrolü amaçlanmıştır. 15 yıllık ağaçların gövdesine uygulanan metalaxyl, fosetyl-AI, Fosforik asit, oxadixyl, propamocarb, benalaxyl ve ethazol'ün sistemik etkisi sonucunda *P. gummosis*, *P. citrophhthora*, *P. parasitica* kontrolü üzerinde etkili sonuçlar alınmıştır (Matheron 1988).

1960'lı yıllardan bu yana süre gelen zararlılarla mücadelede, özellikle hasat sonrası büyük zararlara ve kayıplara neden olan fungal hastalıklarla mücadelede pek çok fungusit kullanılmıştır.

İtalya'da yapılan bir araştırmaya göre hasattan sonra turunçgil meyvelerinde *Penicillium* türlerinin kontrolü 1965-1966 yıllarında başlayarak benzimidazol türevlerinin kullanılmasıyla sağlanmaktadır. İtalya'da ve diğer ülkelerde Benzimidazol türevlerinin kullanımı ise thiabendazole ile başlamıştır. Bunu takiben 2-amino butane, benomyl ve methyl-tyophanate kullanılmıştır. Bu kullanılan kimyasallar 10 yıl boyunca çürümeleri kontrol altına almışlardır. Fakat 1975-1976'lı yıllara gelindiğinde daha dayanıklı *Penicillium* türlerinin ortaya çıkması ile turunçgil meyvelerinde *Penicillium* türleri ile mücadelede araştırmacıları başlangıç noktasına geri götürmüştür (Biondi et al. 1979).

1970'li yılların sonlarına doğru turunçgil meyvelerinde hasat sonrası hastalıklara neden olan *P. italicum* ve *P. digitatum*'a karşı imazalil kullanımı, etkili sonuçlar vermiştir (Kaplan ve Dave 1979).

Kaliforniya narenciyelerinde hasat sonrası hastalık yapan *P. digitatum* ve *P. italicum*'un kontrolünde Imazalil kullanılmış fakat 2 yıl gibi kısa bir süre sonra İmazazile karşı dayanıklı suşların ortaya çıkması ile kimyasallar etkisiz kalmıştır. 2 amino-butan (2AB), Sodium orthophenylphenate (SOPP), benzimidazoller (thiabendazole ve benomyl) fungusitlerine karşı tek tek tolerans gösteren *Penicillium digitatum* suşlarının varlığı hatta 2 ve 3 grup kimyasala birden tolerans gösteren suşlar tesbit edilmiştir. Bu toleranslı suşların İmazazil ve CGA-64251'e karşı hassas oldukları ayrıca kimyasalların 2'li ve 3'lü bileşiklerinin kullanılmasıyla daha dirençli olabileceği ileri sürülmüştür (Dave et al. 1980).

Californiya'da 1981'den bu yana, turunçgillerin hasat sonrası hastalıklarının kontrolünde İmazalil kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalar ortaya koymuştur ki, İmazalile karşı dirençli *P. digitatum* ve *P. italicum* suşları mevcuttur. Yüksek seviyelerdeki İmazalile dahi tolerans gösteren bu dayanıklı suşların varlığı, fungusitler ve kombine fungusitleri yetersiz kılmıştır. Bu yetersizlik ve fungusitlerin artık maddelerinin meyve yüzeyinde kalması insan ve çevre sağlığını tehdit eder hale gelmiştir. Bu da araştırmacıları alternatif metodlar aramaya itmiştir (Dave et al. 1989).

Üretim aşamasından başlayarak gelişme süresince, hasat ve hasat sonrası dönemleri kapsayan süreçte, sık periyotlarda pestisit ve fungusit kullanımı mevcuttur. Hatta çok sık ve bilinçsizce kullanılan bu kimyasal bileşikler suda erimeyen ve doğada nötrale edilemeyen bileşiklerdir. Bu zehirli bileşiklerin kompleks bileşikler halinde uygulanması zehir etkisinin daha çok artmasına neden olmaktadır. Özellikle hasat sonrası bozulmalara karşı kullanılan fungusitler doku içlerine kadar işlemektedir. Fakat bu fungusitlerin meyve yüzeyinde kalan kimyasal artıkları insan sağlığını ve çevre sağlığını tehdit etmekte, yararlı organizmaların yok olmasına da sebebiyet vererek doğa dengesinin bozulmasına neden olmaktadır.

Hasat öncesi pestisit kullanımının doğal mikroflorayı tahrip ettiğini ve bunun sonucu olarak ta hasat sonrası hastalıkların arttığını ileri sürmüşlerdir. Elma ve şeftali meyveleri üzerinde yapılan çalışmalarda, hasat öncesi kullanılan 3 fungusitin epifitik mikroflorayı

nasıl etkilediği araştırılmıştır. Doğal ortamlarda maya dominant floraya sahip olan meyvelerde, fungusit kullanımı ve sonrasında mayaların yok olduğu ve ilerleyen zamanda fungusların dominant hale geldiği gözlenmiştir (Calvente et al. 1999).

1987 Amerikan Ulusal Bilim Akademisi raporlarına göre satılan bütün fungusitlerin yaklaşık %90'ında 9 farklı kanserojen bileşik saptanmıştır. Aynı zamanda tüm pestisitler içinde kanser riskinin %60'ını fungusitler oluşturmaktadır.

Mavi küf Amerika'da önemli hasat sonrası çürümelere ve kayıplara neden olmaktadır. Bundan da önemlisi *P. expansum* sadece çürümeye neden olmakla kalmayıp, karsinojenik (kanser yapıcı) madde olan Patulin mikotoksinini üretmektedir. Patulinin yükselmesi veya bulunma derecesi kaliteyi düşürmekte ve insan sağlığını tehdit etmektedir (Janisiewicz 1999).

Bütün bu olumsuzluklar karşısında araştırmacılar biyolojik mücadeleye yönelmişler ve değişik biyolojik ajanlarla, fungusitlere alternatif bir koruma sistemi üzerinde durmuşlardır. Biyolojik ajanların, antagonistik etkileriyle biyokontrolün sağlanmasının avantajlarından biri de ajanların bitkilerin yetiştikleri ortamda ve bitki üzerinde bol miktarda bulunmasıdır. Bu nedenle antagonistik mikroorganizmaların temini kolay ve ucuzdur. Doğal ortamda bulunmaları ve insan sağlığını tehdit edici özelliklerinin olmaması, ayrıca su ile yıkanarak meyve ve sebze yüzeylerinden arındırılabilmesi nedeniyle oldukça elverişli bir yöntemdir (Wilson and Wisniewski 1994).

Biyolojik kontrol üzerinde çalışan bilim adamları meyve, sebze türlerine, yetişme bölgelerine ve çevre şartlarına bağlı olarak, hasat sonrası hastalıklarda etkili sonuç veren *bakteri* ve *maya* suşlarına dikkatleri çekmişlerdir. Bu mikroorganizmaların en az fungusitler kadar etkili olabileceklerini ileri sürmüşlerdir (Omoifo and I. Kotun 1987).

Antagonistik mikroorganizmalarla çalışan bir başka grup bilim adamı narenciyelerde hastalık yapan mavi ve yeşil küflerin biyokontrolleriyle ilgilenmişlerdir. Narenciye ağaçlarının yaprak ayalarından izole ettikleri 116 bakteri ve 61 mantar izolatu üzerinde invitro ikili kültür ve antibiyosis denemelerinde çimlenen sporlar üzerine 6 bakteri ve 22 mantar izolatının inhibitör etkisini gözlemişlerdir. Tatlı portakal (*citrus sinensis*) üzerine açılan suni yaralara spreyle aşılansın *P. italicum* ve *P. digitatum* patojenlerine karşı en

etkili sonuca B.101, B.41 Bacillus türleri A45NC, A47NC Pseudomonas türleri ve F25, T12, F30 Trichoderma türleri vermiştir (Liang and Liu 1989).

Yine turunçgillerde yapılan benzer çalışmada mavi-yeşil küf patojenlerine karşı iki maya izolatu, *Deboryomyces hansenii*, *Aureobasidium pullulans* ve iki bakteri izolatu *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas syringae* en iyi antagonistik etkiyi vermiştir (Wilson and Chalutz 1989).

Greyfrut yeşil küfleri üzerinde yapılan bir çalışmada da *D. hansenii* mayası kullanılmış ve maya-patojen konsantrasyonları üzerinde durulmuştur. *D. hansenii*'nin en iyi aktivite gösterdiği konsantrasyon 10^9 adet/ml olarak saptanmıştır. Bu yoğunluktaki antagonistler misel gelişimini ve spor çimlenmesini inhibe etmişler, ortama oksijen bileşiklerinin katılımı ile bu etki daha da artırılabilmiştir (Droby et al. 1989, Chalutz and Wilson 1990).

Yine bir başka çalışmada, *Hanseniaspora uvarum* ve *Debaryomyces hansenii* mayaları elma ve şeftalilerde hasat sonrası hastalıkların biyokontrolünde kullanılmıştır. *H. uvarum* şeftali *Rhizopus* küflerini kontrol altına alırken *D. hansenii*, Şeftali *Botrytis* küflerine ve Elma *Penicillium* küflerine karşı etkili olmuştur (McLaughlin et al. 1989).

Hasat sonrası narenciyeler üzerinde çürümeye yol açan *Penicillium digitatum*'un *Bacillus pumilus* ile yapılan mücadelesinde kimyasallarla yapılan mücadeleden daha iyi sonuç vermiştir. *P. digitatum* karşı güçlü antagonistik etki gösteren *Bacillus pumilus*, Valencia portakalı, Washington Novel portakalı, Lisbon limonu üzerinde denenerek biyolojik kontrolü sağlamıştır (Huang et al. 1992).

Valencia ve Washington portakalları üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, bakteriyel hücre süspansiyonları kullanılarak quazatine ve imazalil fungusitlerinin gösterdiği kontrolle kıyaslanmıştır. 10 hafta paketlenerek 12°C'de depolanan ürünler 5 hafta süresince fungusitler kadar iyi koruma sağlamıştır. 10 haftanın sonlarında fungusitlere nazaran kontrol nisbeten azalmıştır. *Alternaria* çürümelere ise ne fungusitler ne de biyokontrol ajanları önleyememişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre Washington Novel portakalına hasattan 1 ay önce *P. cepacia* hücre süspansiyonlarının spreylenmesi yeşil küf ve mavi küf kayıplarını önemli ölçüde azaltmıştır (Huang et al. 1993).

Sholberg et al. (1995), elmalarda hasat sonrası hastalıklara neden olan *P. expansum* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı 95 bakteri izolatını denemişlerdir. In vitro ve in vivo çalışmalarda, 3 izolat *P. expansum*'a 2 izolat ise *B. cinerea*'ya karşı etkili bulunmuştur. Yapılan identifikasyon testlerine göre bu izolatların *Bacillus* sp olduğu saptanmıştır.

Elmalarda hasat sonrası hastalıklara neden olan üç majör patojene karşı *Candida sake*'nin kontrol aktivitesi denenmiştir. *B. cinerea* ve *Rhizopus nigricans*'ın tamamen kontrolü sağlanırken, *P. expansum*'da % 80 başarı sağlanmıştır. Kontrollü atmosfer şartlarında *C. sake*, elma ve şeftali meyveleri üzerinde denenmiş ve daha etkili kontrol sağlamıştır (Usual et al. 1996).

Chand and Spotts (1996) elmalardaki mavi küf etmenlerine ve kiraz kahverengi küf etmenlerine karşı doğal saprofitik 6 maya izolatı kullanmışlardır. 2 *Cryptococcus* spp. ve 4 *Rhodotorula* spp. meyveler üzerine patojenlerle birlikte inoküle edilmiş 5-10-20°C'lerde ayrı ayrı depolanmışlardır. Bütün denemelerde tam kontrol sağlanmıştır.

Elma hasat sonrası hastalıklarına karşı doğal ortamda meyve yüzeylerine potansiyel biyokontrol ajanları mevcuttur. Şeftali meyve yüzeyinden izole edilen *Sporobolomyces roseus* mavi küflere karşı % 100, gri küflere ise % 78 oranında başarı göstermişlerdir. 1°C ve 18°C'de ayrı ayrı denenmiş ve aynı başarılı sonuç alınmıştır (Janisiewicz et al. 1994).

Sobiczewski et al. (1996) elma yapraklarından izole ettikleri 107 epifitik bakteri üzerinde çalışmışlardır. *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı denenen mikroorganizmalardan 13 tanesi *B. cinerea*'yı 13 tanesi de *P. expansum*'un zararlı etkisini kontrol altına almayı başarabilmiştir. Bu izolatlardan yalnızca 6 tanesi her iki patojene birden etkili bulunmuştur. İn vitro koşullarda alınan sonuçlar in vivo olarak denendiğinde aynı oranda başarı sağlanamamıştır. 20°C'lik depolarda denenen elmalarda başarı yükselirken +4°C depolarda başarı yüzdesi oldukça düşmüş ve yalnızca 8 izolat +4 derecede kontrol kapasitesini koruyabilmiştir.

İtalya'nın kuzeyinde sekiz ayrı bölgede yapılan elma denemelerinde, *Metschnikowia pulcherima* ve *Pseudomonas syringae* hasat sonrası hastalıklara karşı denenmişlerdir.

Her iki mikroorganizma *Monilia*, *Penicillium* ve *Botrytis*'in yüksek seviyede kontrolünü sağlarken *Gloeosporium* üzerinde aynı etkiyi gösterememişlerdir (Migheli et al. 1997).

Janisiewicz ve Bors (1995), hasat sonrası hastalıkların biyokontrolünde bakteri ve mayaların kombine kullanımıyla daha etkili olabileceklerini ileri sürmüşlerdir. Elmalar üzerinde yaptıkları denemelerde *Pseudomonas syringae* ve *Sporobolomyces roseus*'u birlikte kullanarak *P. expansum*'un zararlarını tamamen ortadan kaldırmayı başaramışlardır.

Biyokontrol amacı ile kullanılan *Candida saitoana*, elma çeşitleri ve narenciye çeşitleri üzerinde yapılan denemelerde, biyoaktif olarak % 2'lik Glycolchitosan kullanılmıştır. Biyokontrol etkinin yalnız başına kullanılan *C. Saitoana*'ya veya % 2'lik glycolchitosan'a nazaran daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu kombinasyon bilhassa erken sezon meyvelerinde daha başarılı olmuştur (El-Ghauth et al. 2000).

El-Ghauth et al. (2000)'a göre antagonistik etkisi bilinen mikroorganizmaların ikili kombinasyonları veya antagonizmi körükleyip kuvvetlendirecek bir takım katkı maddeleriyle kontrolü tam olarak sağlamak mümkündür.

Bu araştırmacıların elma, portakal ve limon çeşitlerinde yapmış oldukları denemelerde *P. expansum*, *P. digitatum* ve *B. cinerea* karşı *Candida saitoana* ile birlikte % 2-2deoxy-D-glucose kullanılmıştır. Bahsedilen patojenlerin kontrolü başarıyla sağlanmıştır. Araştırmacılar bir başka konuya da dikkatleri çekerek; enfeksiyondan 24 saat önce yapılan muamelelerde en iyi sonuç alındığını ortaya koymuşlardır.

Değişik bir çalışmada, toprağa nitrojen uygulanımı birçok bitki hastalığı üzerinde etkili olmuştur. Nitrojenin toprağa birkaç kez uygulanmasından sonra, *Phytophthora parasitica* (tütünde), *P. citrophthora* (narenciyelerde), *P. drechleri* (bezelyelerde) ve *P. cactorum* (elmalarda) başarılı sonuçlar vermiştir. Elma ağaçları üzerine yapılan kimyasal kombine denemelerde bakteri ve küf patojenlerine karşı nitrojen tek başına veya Phosphorus ile kombine olarak uygulanmış, elma fide boylarının arttığı, hastalık etmenlerinin yok olduğu gözlenmiştir. Yapılan bu araştırma sonuçlarına göre, kombine uygulama topraktaki antagonistik mikroorganizmaların gelişimini sağlamakta, bakteri ve küflerin sebep olduğu hastalıkları da ortadan kaldırmaktadır (Utkhede and Smith 1991).

Mercier ve Wilson (1995), *B. cinerea*'lara karşı *Candida oleophia*'nın antagonistik etkisini araştırdıkları çalışmalarda, yapay olarak oluşturulan elma yaralarına (18°C'de) inoküle ettikleri mayayı değişik zamanlarda denemişlerdir. Aldıkları sonuçlara göre: yaralanmadan hemen sonra, mümkün olan en kısa zamanda mayaların inoküle edilmesi ile kontrol başarısının buna bağlı olarak arttığına dikkat çekmişlerdir.

Falconi ve Mendgen (1994) Temmuz ayından başlayarak Ekim sonuna kadar her ay olmak üzere Golden elma yapraklarından örnekler toplamişlar ve 368 izolat elde etmişlerdir.

Monilinia fructigena, *B. cinerea*, *P. expansum* zerinde yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar sonucunda bu patojenlerin hepsine birden etki eden 3 izolat bulunmuştur. *Trichoderma polysporum*, *Epicoccum purpurascens* ve *Sordavia fimicola* olarak tanımlanan izolatlar patojenlerin hepsini kontrol altına almıştır.

Golden elmaları üzerinde yapılan bir başka çalışmada, hasat edilmiş, meyvelerden 2 maya izole edilmiş ve lezyon inhibitör etkisi bakımından incelenmiştir. *B. cinerea*'ya karşı denenen *Cryptococcus humicola* ve *Sporobolomyces roseus* tek tek elmalara uygulanmış, kağıtla sarılarak plastik torbalar içinde paketlenerek 20°C'de depolanmıştır. 1, 2, 3, 4 ve 7. günlerin sonunda yapılan ölçümlerde lezyon çaplarından bir fark görülememiş, 7. günün sonunda patojenin tam inhibisyonu sağlanmıştır. Çalışmada belirtilen diğer bir konu da, olgunlaşmaya paralel olarak artan etilen sentezi, yara çaplarında herhangi bir olumsuz etki yaratmamıştır (Anderson et al. 1977).

Elma ve şeftaliler üzerinde yapılan denemelerde, *B. cinerea* ve *P. expansum* patojenlerine bakteri ve maya izolatları uygulanmıştır. Bakteri *Erwinia* sp ile A-5 suşu kombine edilerek uygulandığında Elma *B. cinerea* kfne karşı etkili olurken, Maya *Rhodotorula* sp ile A-60 suşu kombine edilerek uygulandığında *P. expansum* kfne karşı yüksek sıcaklıktakine nazaran düşük sıcaklıkta daha etkili olmuşlardır. şeftali denemelerinde antagonistlerin daha yavaş iç yaptığı gözlenmiştir (Kampp and Sass 1994).

Bir başka çalışmada elma yüzeylerinden izole edilmiş 200 maya ve bakteri, *B. cinerea* ve *P. expansum* karşı in vitro olarak denenmiştir. Genel olarak bakıldığında mayalar 10⁶

cfu/ml de en yüksek aktiviteyi gösterirken bakteriler 10^8 cfu/ml de etkili olabilmislerdir. Bütün denemeler boyunca antagonistik aktivite başarısı *P. expansum*a kıyasla, *B. cinerea*'lara karşı daha iyi sonuç vermiştir. En etkili biyokontrolu sağlayan 2 maya ve 2 bakteri suşu in vivo olarak elmalar üzerinde denenmiştir. Maya suşları +4°C'de ve 25°C'de de aktivite gösterirken, bakteriler düşük derecelerde aynı etkiyi gösterememişlerdir (Gullino et al. 1991).

Basidiomycetes grubuna dahil edilen *Cryptococcus laurentii* mayası *B. cinerea*'lara karşı 5–10–15 ve 20°C larde elmalar üzerinde denenmiştir. *C. laurentii* doğal ortamda elma yaprak, tomurcuk, ve meyveleri üzerinde bulunan bir mayadır. Enfekte elmalar maya, benomyl ve fosfat tamponu ile ayrı ayrı aşılanmıştır. Bu üç etken sıcaklıkla birlikte kıyaslandığında en iyi kontrolü 5–10–15°C'lerde mayanın sağladığı ve popülasyon dinamiği incelendiğinde maya popülasyonunun kontrol başarısına paralel olarak arttığı gözlenmiştir (Roberts, 1990).

İki ozmotolerant maya suşu alan 87 ve 101 *Candida* sp türleri, Golden elmaları üzerinde lezyon azaltma yeteneği bakımından *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı denenmiştir. *P. expansum* en iyi kontrolünün yapıldığı popülasyon yoğunluğunun, patojen = $10^4 - 10^5$ cfu/ml, maya = 10^8 cfu/ml olduğu belirtilmiştir. *B. cinerea*'larda ise 10^5 cfu/ml patojen'e karşı 10^7 cfu/ml maya çok etkili sonuç vermiştir (McLaughlin et al. 1990).

Elma ve Armut meyvelerinde zararlı olan *B. cinerea* ve *P. expansum* türlerine karşı bazı maya ve bakteri suşları denenmiş, *Rhodotorula A-60* suşunda düşük sıcaklıklarda *P. expansum*a karşı etkili olduğu, yüksek sıcaklıklarda ise çürümeyi azaltıcı etki yaptığı gözlenmiştir. Armutta yapılan aynı denemeler elmadaki kadar iyi sonuç vermemiştir (Kampp 1994).

Elma yüzeyleri üzerinden izole edilen 200 maya yaralanmış elmalar üzerinde denenmiştir. Bu izolatlar içinden LS-11, *Rhodotorula glutinis* ve LS-28 *Cryptococcus laurentii*, en fazla etkiyi gösteren antagonistler olmuştur. Antagonistik etkiyi gözlenen LS-11 ve LS-28 şeftali, kivi, üzüm gibi bir çok meyve üzerinde de denenerek benzer sonuçlar elde edilmiştir. *B. cinerea*, *P. expansum*, *Rhizopus stolonifer* ve *Aspergillus niger* patojenleri üzerinde tam koruma sağlayabilmislerdir. *R. glutinis* ve *C. laurentii* 0 ila 35°C'ler

arasında antagonistik etki performansı bakımından kıyaslanmış ve 24°C de performansın en yüksek derecede olduğunu ortaya koymuşlardır (Lima et al. 1998)

Leibinger et al (1997), tarladan aldıkları elma yüzeyinde kolonize olmuş antagonistik mikroorganizmalardan, *Aureobasidium pullulans*, *Rhodotorula glutinis* ve *Bacillus subtilis*'i seçerek, elmalarda hasat sonrası patojenler olan *P. expansum*, *B. cinerea* ve *Pezizula malicorticis* üzerinde denemişlerdir. Biyokontrol aktiviteleri gözlenen bu mikroorganizmalar sezon boyunca elma ağaçları üzerindeyken tarlada uygulanmıştır. Tarlada elma üzerinde popülasyonları çoğalan mikroorganizmalardan mayalar, hasat sonrası depolarda da popülasyon dinamiğini devam ettirmişler ve diğer mikroorganizmalara nazaran daha etkili olmuşlardır.

Golden Delicious elmalarında, tomurcuklanma döneminden başlayarak hasat sonuna kadar her 15 günde bir alınan örneklerle mikrobiyal popülasyon dinamiği analiz edilmiştir. Mikrobiyal popülasyon iklimatik şartlara göre değişiklik göstermiştir. Funguslarda predominant mikroflora *Cladosporium* ve *Alternaria*, mayalarda ise beyaz ve pembe renkte olanlardır. İzole edilen diğer genuslar *Epicoccum*, *Fusarium* ve *Acremonium*'dur. Hasat sonrası önemli olan *P. expansum* ve *B. cinerea* nadiren gözlenen patojenlerdir. Beyaz mayalar ise pembe mayalara nazaran daha fazladır (Teixido et al. 1999).

Janisiewicz (1996) hasat sırasında 5 hafta boyunca aldığı elma örneklerinden izole ettiği mikroorganizmaları incelerken, etkili antagonistlerin karıştırılarak uygulanmasının yalnız başına antagonist uygulamalarından daha başarılı olacağını ileri sürmüştür. Araştırmacıya göre antagonistik etki gösteren mikroorganizmalardan mayalar dominanttır. Ve bu mayalar farklı meyvelerin yüzeylerinden izole edilmiştir. Her meyvede aynı başarıyı sağlamak ancak antagonist mayaların karıştırılarak uygulanmasıyla mümkün olacaktır.

Janisiewicz'in (1988) yaptığı çalışmalarda elma yüzeyinden izole edilen ve identifikasyonu yapılan iki antagonist *Pseudomonas*, (*P. expansum*'a karşı çok etkili olmuş) ve *Acremonium breve* (*B. cinerea*'ya karşı çok etkili olmuş) suşları karıştırılarak Golden Delicious elmaları üzerinde test edilmiştir, bu karışım antagonist, her iki patojene karşı meydan okumuş ve tam koruma sağlamıştır.

Bir başka çalışmada, tek antagonist yerine elmalarda çürümeye yol açan mavi küflere karşı karşık antagonist kültürü seçilmiştir. En iyi etki veren antagonistlerin ikili gruplar halinde kullanılması mavi küfleri kontrol altına almıştır. TS-D₃ ve TS-E₂ kombinasyonu ile yapılan deneme en etkili sonucu vermiştir. Bununla birlikte yaraya aynı anda verilen iki farklı suşun nasıl olupta geliştiği merak konusu olmuştur. Yapılan incelemeler mayaların farklı karbon mekanizmaları olduğunu ortaya koymuştur. Böylece aynı yarada kolayca gelişebilmekte ve mavi küflerin gelişmesine izin vermemektedir. Bu durum antagonistik etkiyi daha çok artırmıştır (Janisiewicz 1996).

Candida sake ile muamele görmüş elmalar hasattaki mikrobiyal popülasyonlara dayanıklılık göstermektedir. Soğuk hava depolarında pestisit ile muamele görmüş ve muamele görmemiş meyveler üzerinde yapılan çalışmada, meyvelerin patojenlere dayanıklılığı 7 ay sürmüştür. Pestisit uygulanan elmalarda da başarı aynı düzeydedir. Soğuk hava depolarında mayalar bakterilere nazaran dominanttır. Mayalar içinde ise pembe mayalara nazaran beyaz mayalar predominanttır. 7 ay boyunca incelenen elma yüzeylerinde maya popülasyonunda düşmeler olmakla birlikte etkilerini sürdürebilmişlerdir (Teixido et al. 1998).

Gelişme periyodu içinde elma ağaç kısımları ve meyveler üzerinden sezon boyunca alınan örneklerle 700'den fazla mikroorganizma izole edilmiştir. Bu izolatlar antagonistik aktiviteleri için *Pezicula malicorticis* ve *Nectria galligena*'ya karşı denenmiştir. İn vitro çalışmalarda 50 izolat patojenlerin 1 veya ikisine birden etkili bulunurken, elma üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda 4 bakteri ve 3 maya izolatu başarılı sonuç vermiştir (Schiewe and Mendgen 1992).

Yine hasat edilmiş elma yüzeylerinden izole edilen 2 maya *Botrytis* çürümelerine karşı denenmiştir. Yaralanan Golden delicious meyvelerine 10⁶ cfu/ml olarak uygulanan mayalar, *Botrytis* çürümelerini önleyici etki yapmışlardır (2-4°C ve 22°C'lerde). Antagonistik etkisi kanıtlanan mayaların identifikasyonu sonucu; *Trichosporon* sp ve *Candida* sp oldukları anlaşılmıştır (Gullino et al. 1992).

McLaughlin ve arkadaşları (1990)'nın yaptığı bir başka çalışmada, Elma ve Narenciye çürümelerine neden olan *Penicillium* ve *Botrytis* patojenlerine etkilerini açıkladıkları *Debaryomyces hansenii* (anamorf, *Candida formata*) veya *Candida* sp türlerini

fizyolojik, DNA reklasifikasyonu ve mannan karakterizasyonu ile test etmişlerdir. Yeni taksonomik klasifikasyona göre bu etkili maya suşunun *Candida guilliermondii* veya *Candida formata* olduğunu tür bazında açıklamışlardır (anahtar olarak Kreger–Van Rij 1984 kullanılmıştı).

Meyve ve sebzelerin hasat sonrası hastalıkların biyokontrolünde kullanılan mayalardan *D. hansenii* veya *Candida* sp. olarak tanımlanan suşların Mannon karakterizasyon testi ve DNA tekrar birlik oluşturma testi gibi testlere tabii tutularak taksonomik klasifikasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (McLaughlin et al. 1990).

Biyokontrol ajanları olarak kullanılan mikroorganizmaların patojen inhibisyon mekanizmaları tam olarak açıklanamamaktadır. Yapılan araştırmalar ışığında birçok bilim adamının birleştiği nokta, Biyoajanların yer ve besin rekabeti, konukçunun patojene karşı direncinin artırılması antibiyosis ve hiperparazitizm yollarından bir veya birkaçını kullanarak antagonistik etkiyi gösterdikleri yolundadır (Chalutz et al. 1988, Chalutz et al. 1988, Isaac 1992, Karaçalı 1993, Wilson et al. 1994, Bora 1998).

a– Konukçunun patojene karşı direncinin artırılması: Bazı tür ve çeşitler belirli hastalıklara karşı dayanıklı veya duyarlı olurlar. Konukçunun direnci, biyokimyasal yapı ve fizyolojik durumu ile belirlenir. Niteliği tam olarak bilinmeyen dokuda var olan veya sonradan sentezlenen maddelerin etkili olduğu sanılmaktadır. Saponinler, fenol ve fenol glikozitleri hidrolize olarak antifungal aktivite kazanırlar. Genellikle fazla miktarda fenolik madde ve fenol oksidaz içeren yapılar oksidasyon sonucu esmerleşerek patojenlere direnirler. Direnç sağlayan bu maddeler patojenin enzimlerini etkileyerek inaktive ederler. Bu bölgelerde hiflerin önu kallosa ile keserler, fenolik maddeler ve lignin sentezleyerek fitoaleksini oluştururlar. Fitoaleksinler: Patojenle karşılaşan dokunun sentezlediği fungitoksik maddelerdir.

Konukçunun birleşiminde bulunan dirençle ilgili olan başka maddeler de vardır; örneğin: asitler, özellikle askorbik asit, dokunun okside olabilen ve pH'ını düşürebilir maddelerdir. Düşük pH özellikle bakterial patojenlere etkilidir. Ayrıca ortamda mekanik direnç sağlayan pektik maddeler, selüloz ve hemiselüloz lignin ve mineral maddeler de önemlidir. Özellikle protopektin ve kalsiyum. Bunun yanı sıra bazı eterik yağlar da patojen spor çimlenmesini ve fungal gelişmeyi engellerler. Fakat bazı meyvelerde

özellikle turunçgillerde bulunan nonanol *Penicillium*, pas ve bazı mantarları gelişimini kolaylaştırır (Karaçalı 1993).

Sera salatalıkları üzerinde teşhis edilen *Penicillium oxalicum* patojeninin mikroskobik çalışmalarının yanı sıra Cyopek-Dox broth kültürlerinde yapılan kimyasal analizlerde Secalonic acid-D elde edilmiştir. Daha önce tanımlanmamış olan bileşik *Penoxin* olarak adlandırılmıştır. Oxalic asid ve kalsiyum oxalate, gaz kromatografisi ve ışık mikroskopisinde oluşturdukları kristaller incelenmiştir. Rapor edildiğine göre bu kimyasallar salatalık ve domateste çürümeye neden olmaktadır (Jarvis et al. 1990).

Penicillium digitatum gibi depo zararlılarının spor germinasyonu için pektic acid gibi bazı substratlara ihtiyaç vardır. Pektik asit ise yaralanmış meyve hücrelerinden salınan Pektin-metilesterazın aktivitesi ile pektinden oluşturulmaktadır. Yaralanan bölgede pektic asidin oluşumu ise fungal gelişmelere zemin hazırlayacaktır. Bu nedenle meyve yaralanmalarına izin verilmemelidir. Yaralanmış ve *P. digitatum* enfeksiyonlu meyveler üzerinde yapılan bu çalışmada antagonist olarak *Pseudomonas cepacia* (ID 2131) seçilmiştir. Antagonistin yoğun konsantrasyonlu süspansiyonları kullanılmıştır. Fenolik maddelerin sentezinden önce yaralı bitki hücrelerine yakın hücrelerin Phenylalanine ammonia lyase (PAL) aktivitesi artmaktadır. Yaralı bölgelere yoğun antagonist süspansiyonun uygulanmasıyla PAL aktivitesi baskılanmaktadır. Bu baskılama mekanizması bilinmemektedir. Muhtemelen turunçgil meyve metabolizmasına etkili olmakta lignin sentezine bağlı olarak antagonistler PAL inhibe etmektedir. Antagonist uygulanan yaralarda kahverengi pigmentasyon görülmektedir. Bu da fenolik maddelerin oksidasyonu ile açıklanabilir (Huang, et al. 1993).

Filonow (1999) Elmalarda, *Botrytis cinerea* zararlarına karşı, *Cryptococcus laurentii*, *Sporobolomyces roseus*, *Saccharomyces cerevisiae* mayalarını kullanırken ortama ethyl, butyl, hexyl acetatlar ilave etmiştir. Denemeler sonucunda mayaların antagonistik etkilerinin azaldığı saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre acetat esterleri spor germinasyonunu sitimüle edici etkiye sahiptir.

Hasat sonrası çilek, frenk üzümü, kivi ile asma ve kamelya yapraklarından izole edilen *Botrytis cinerea* laboratuvar şartlarında incelenmiş ve 48. saat sonunda en yüksek düzeyde ethilen ürettiği ortaya konulmuştur. *B. cinerea* özellikle kivi, üzüm gibi hassas

yapılı meyveler üzerinde etilen senteziyle patojenitelerini artırmaktadır (Quadir et al. 1997).

Afek ve Szejnberg (1988), narenciyeler üzerinde yaptıkları çalışmalarda *Phytophthora citrophthora*'ya duyarlı ve dayanıklı iki tür narenciye meyvelerini kullanmışlardır. İki tür meyve kabuğunda biriktirilen scoparone konsantrasyonları kıyaslanmıştır. Duyarlı narenciye kabuklarında scoparone konsantrasyonu az bulunmuş buna bağlı olarak da patojenlere direncin düşük olduğu ileri sürülmüştür.

Diplodia natalensis tarafından salgılanan Polygalakturonaz (PG) enzimini inhibe eden bir protein, Valencia portakal kabuğu ekstraktinden elde edilmiştir. Bu inhibitör protein enfekte olmuş veya olmamış bütün meyvelerde izlenmiştir. Jel filitasyonu ile elde edilen inhibitörün moleküler ağırlığı 54.000 daltona yakındır. Sıcaklık ve proteaz tarafından inaktive olabilen inhibitörün PG ile birleşmesiyle 95.000 dalton molekül ağırlığına sahip INH-PG kompleksi oluşturdukları ve asidik koşullarda bağlanabildiği PH:5'de optimum aktivite gösterdiği tesbit edilmiştir (Barmore and Nguyen 1985).

Yapılan bir başka çalışmada, *Penicillium italicum* ile enfekte olmuş Valencia portakal kabuğunda Polygalakturonaz'ın 3 formu tesbit edilmiştir (PGI, PGII, PGIII). Enfekte dokuda enzimin yüksek oranda bulunması mavi küf enfeksiyonu sırasında meydana gelen D-Galakturonik asidin dokuda fazlaca birikmesinden dolayı olabileceği ileri sürülmüştür (Hersherhorn et al. 1990).

Narenciye küfleriyle birlikte bulunan proteinleri çalışan bilim adamları, hastalıklı ve sağlıklı ağaç ekstraktelerini sodium dodecyl sülfate polyacrylamide jel elektroforezinde (SDS-PAGE) koşturmuşlar ve sonuçları kıyasladıklarında bantları bulunan birçok proteinin sağlıklı ağaçlarda hiç bulunmadığı ya da çok düşük konsantrasyonlarda rastlanmıştır. Hastalıklı ağaçlarda ek proteinlere rastlanmıştır (Derrick et al. 1990).

b- Yer ve besin rekabeti: Doğal ortamda patojen ve antagonist aynı ekolojik çevrede bulunurlar. Besin gereksinimleri ve optimal çevre koşulları bakımından benzerlik göstermeleri nedeniyle sınırlı bir bölgede sınırlı besin ortamında rekabet ederler. Bu konuda bakteri ve mayalar patojenlere kıyasla daha şanslıdır. Hızla besini tüketerek ortamı kaplarlar. Bu şekilde patojenlerin gelişmelerine engel olurlar. Biyolojik savaşta

hızla gelişen ve yara çevresini saran antagonistler seçilmelidir ki patojenlerin gelişmesi önlenebilsin.

Yara çevresinde antagonistik mikroorganizmanın iyi çalışabilmesi patojenle karşılaşacak antagonist popülasyonunun iyi tesbit edilmesine, uygun O₂ ve besinli zeminin hazırlanmasına bağlıdır (Wilson and Wisniewski 1994).

2 ayrı suşu kullanılan *Metschnikowia pulcherrima* mayalarının *B. cinerea*'ya karşı antagonistik etkisi araştırılırken, in-vitro koşullarda ortama litrede 100 gr. fruktoz ilavesi yapılmıştır. Ortama eklenen besin *B. cinerea*'lara karşı mayaların kontrol kapasitesini azaltıcı etki yapmıştır (Piano et al. 1997).

İki ozmotolerant maya suşu 87 ve 101 *Candida* sp.türleri Golden elmaları üzerinde lezyon azalma kapasiteleri bakımından kıyaslanmıştır. En etkili kontrol sonuçları patojende 10⁴ - 10³ cfu/ml, antagonistik mayalarda ise, *P. expansum*'la savaşta 10⁸ cfu/ml, *B. cinerea*'da 10⁷ cfu/ml en başarılı sonucu vermiştir. Maya suşları % 2'lik CaCl₂, KCl₂ ve CaCO₃ solusyonları içinde süspansedilerek yapılan denemelerde antagonistlerin daha başarılı olduğu ortaya konulmuştur. Özellikle ortama kalsiyum klorid tuzlarının ilavesi mükemmel sonuç vermiştir (McLaughlin et al. 1990).

Yine elmalarda yapılan bir çalışmada *B. cinerea* ve *P. expansum* türlerine epifitik maya ve bakteri suşları denenmiş, en etkili popülasyon yoğunluklarının mayalarda 10⁶ cfu/ml, bakterilerde ise 10⁸ cfu/ml olduğu ortaya konulmuştur. +4 ve 25°C llerde elma yaralarına uygulanan antagonistlerden mayalar daha başarılı sonuç verirken, bakterilerde +4°C de direnç düşmüş ve popülasyonda azalma gözlenmiştir. Başarılı bulunan maya suşlarına % 2 CaCl₂ ilavesiyle biyokontrol aktivitesi limit düzeyde gerçekleşmiştir (Gullino et al. 1991).

Paketleme evlerinde ve depolarda bulunan hava bileşimi antagonistler ve patojenler için çok önemlidir. Ortamda yüksek CO₂ konsantrasyonu meyvelerde toksik dozda süksinik asit birikmesine yol açar, özellikle elmada öz kararmasına ve patojenlerin zararına açık hale gelmesine yol açar. Ortamda O₂ azaldığı zaman meyve solunumu bozulur ve anaerob solunum devreye girer. Bu da dokularda asetaldehit ve etil alkol birikmesine o da meyve bozulmalarına neden olmaktadır. Yine ortam sıcaklığı meyve olgunlaşmasını

hızlandırır, buna bağılı olarak da direnç düşer ve patojenlere açık hale gelir (Karaçalı 1993).

Modifiye atmosferli paketleme evlerinde elmalar üzerinde bakteriyel antagonistlerin *B. cinerea*'ya karşı kontrol etkisi diğere paketleme evlerindeki kontrol ile kıyaslanmıştır. Patojen ve antagonisin inoküle edildiğı elmalar kağıtlara sarılarak polietilen torbalar içinde paketlenmiş ve 5°C de depolanmıştır. Ortamda 5 seviyede % 0–15 arasında O₂ ve CO₂ varlığında antagonistik etkiler ölçülmüştür. O₂'nin çok olduğı ortamlarda yara çaplarında azalma olmamış, bakteriler antagonistik etki gösterememişlerdir. Düşük O₂ ve yüksek CO₂ seviyelerinde patojenler gelişememiş tam antagonistik etki sağlanmıştır (Floras et al. 1998).

Ekstrem örnekler dışında pek çok çürüklük etmeni 0–4°C de ve kontrollü atmosferde (% 3 O₂ ve % 8>CO₂) spor üretmemektedir (Karaçalı 1993).

e- Antibiyosis: Bir organizmanın başka bir organizmanın metabolitleriyle engellemesi veya yıkıma uğratmasıdır. Antibiyosis en çok araştırılan biyolojik savaş mekanizmalarındandır. Bitki hastalıklarının baskılanmasını gösteren çok sayıda çalışma vardır. Fakat antibiyotiklere karşı patojenlerin kısa sürede dayanıklılık kazanabileceğı de düşünölmelidir (Bora ve Özaktan 1998).

Pusey ve Wilson (1984), hasat sonrası meyve ve sebzelerde bozulmalara neden olan kahverengi küflere karşı antagonistik etkisini saptadığı *Bacillus subtilis*'in (B-3) in vitro koşullarda bir inhibisyon zonu oluşturarak patojenin gelişimini engellediğini göstermiştir..

B-3 suşu alan *B. subtilis*'in hücreden arındırılarak filtratlarının hazırlanıp meyve ve sebzeler üzerine denemesiyle kontrolün sağlanabildiğı, identifikasyon sonucunda iturin peptidlerinin varlığı ve antagonistler tarafından üretildiğı ortaya konulmuştur (Guedner et al. 1988, McKeen et al. 1986).

Fitopatolojik mikroorganizmalara etkisi araştırılan 10 bileşik, *Alternaria mali*, *Cercospora kikuchii*, *Phytophthora infentans*, *Botrytis cinerea*, *Pyricularia oryzae*, *Cochliobolus miyabeanus*, *Fusarium oxysporum*'a karşı denenmiştir. Bu bileşiklerden 4

tanisinin inhibitör etkisi gözlenmiştir. Bileşiklerin analizleri sonucu bu bileşiklerin *B. subtilis* tarafından üretildiği ortaya çıkmıştır (Phae et al. 1990).

Yeni bulunan *Acremonium luzulae* suşu özellikle elma ve çileklerde hasat sonrası hastalıklara neden olan mavi ve gri küfe karşı denenmiştir. Biyokontrol aktivitesi gösteren *A. luzulae*'nin antibiyotik yapısında Cyclosporin C. üretimi, UV infrared ışığı altında spektral analizleri, hidrolize ettikleri amino asit ve diğer asit bileşikleri incelenerek ortaya konulmuştur. Bu antibiyotikin bakteri ve mayalara hiçbir etki göstermezken yalnızca filamentli funguslara yönelik antibiyotik aktivitesi gözlenmiştir. *A. luzulae* normal şartlarda bu antibiyotiği üretmemekte, funguslarla karşılaşması anında üretmektedir (Maussaif et al. 1997).

Nisin, *Streptococcus lactis*, tarafından üretilen bir polipeptid antibiyotiktir. Elmalarda hasat sonrası hastalık etmenleri olan *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı antagonistik *Candida oleophila* denemelerinde oda sıcaklığı ve +4°C deki elma inokülasyon denemelerinde başarılı antagonistik aktivitesi tanımlanmıştır. El-Neshway ve arkadaşları (1995) bu denemeleri yaparken aynı koşullarda bir başka deneme daha kurmuşlardır. Elma yaralarına antagonist maya ile (*C. oleophila*) Nisin birlikte inoküle edilmiştir. Oda sıcaklığında 7 gün sonra incelenen elmalar yalnızca maya inoküle edilen elmalarla kıyaslanmıştır. Başarı yüzdesi nisin + antagonist kombinasyonunda çok daha fazla yüksektir.

Piano ve arkadaşları (1997) yaptıkları araştırmada, elmalarda patojen *B. cinerea*'ya karşı biyolojik kontrol kapasitesini kanıtladıkları *Metschnikowia pulcherrima* mayası patojen gelişimini ve spor germinasyonunu inhibe etme yeteneğini metabolik aktivite sonucu meydana getirdiği toksit maddelerle başardığını ortaya koymuşlardır.

İnsan sağlığına ve ekolojik dengeye tahrib yeteneği olabileceği düşünülen antibiyotik üreten kontrol ajanları pek de uygun görülmemektedir. Ayrıca patojenlerin bir süre sonra bu antibiyotiklere direncinin olduğu düşünülürse, farklı mekanizmalarla çalışan antagonistler üzerinde çalışılması önerilmiştir (Wilson and Wisniewski 1994).

d- Hiperparazitizm: Patojen ve antagonist organizmaların direkt etkileşimleri sonucu parazitik yolla patojenleri imha etmesidir.

Botrytis cinerea'lar üzerinde attachment (tutunma) yeteneği tesbit edilen biyokontrol ajanı *Pichia guilliermondii* (izolat 87) ve *Debaryomyces hansenii* (izolat 117) üzerinde alışan Wisniewski ve arkadaşları (1991) SEM çalışmalarıyla tutunma yeteneğini buna bağlı olarak da hiperparazitizmin nasıl işlediğini ortaya koymuşlardır. Aldıkları sonuçlara göre etkili 87 suşu ve etkisiz 117 suşu, *B. cinerea* hiflerine sıkıca tutunmuşlar, tutundukları bölgelerde çukurcuklar oluşturarak hifleri okelttiklerini gözlemişlerdir.

Bu mekanizmanın açığa çıkarılması için yaptıkları bir dizi biyokimyasal analizler sonucunda *D. hansenii* ve *P. guilliermondii*'nin beta (1-3) glukanase enzim aktivitesinin olduğu ortaya konulmuştur. Bu Şekilde iki maya suşunun patojen hife tutunduktan sonra β -(1-3) glukanase enzimiyle patojen hücre duvarlarını yıkıma uğratarak biyokontrol sağladıkları düşünülmüştür (Wisniewski et al. 1991).

Mayalar ekstraselüler matris maddeleriyle tutunmayı sağlamakta ve fungal hücre duvarlarını hidrolize etmektedirler. Mayalar β -glukorinaz üretme yeteneğindedirler. Bir başka çalışmada Notario (1982) Atagonistik etkisi kanıtlanmış *Candida Albicans*'ın da glukorinaz aktivitesinin varlığını ortaya koymuştur.

Bu konuyla ilgili diğer bir çalışma da Grevesse ve arkadaşları (1998) tarafından yapılmıştır. Elmalarda hasat sonrası patojen *B. cinerea*'ya antagonistik etkisi belirlenen *Pichia anomala*'da exo-beta 1,3-glukanase aktivitesi gözlenmiştir. In vitro koşullarda antagonistik maya süspansiyonu içine Glukoz veya hücreden arındırılmış *B. cinerea* hücre duvar parçaları konulduğu zaman glukanase aktivitesinin çok fazlalaştığı görülmüştür. Mayaların hiperparazitik antagonizm mekanizmasında diğer araştırcılarla aynı fikri paylaşan Grevesse ve arkadaşları in vitro olarak da inhibitör etkiyi göstermişlerdir. Halen bu kaniyle ilgili genetik çalışmalar devam etmektedir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

Elmalarda hasat sonrası büyük kayıplara neden olan *Penicillium expansum* ve *Botrytis cinerea* patojenlerine karşı; elma ağaç kısımları ve meyve yüzeyinden izole edilmiş epifitik mayalalar biyokontrol aktiviteleri bakımından araştırılmıştır.

Şubat–95 tarihinden başlayarak Kasım–95 tarihine kadar, bir aylık periyotlar halinde, dört elma bahçesi ve 1 depodan örnekler toplanmıştır. Örnekler bahçelerin değişik yerlerinden yaprak, çiçek, meyve olarak toplanmıştır. Elma bahçelerinde Golden ve Starking elma çeşitleri birarada bulunmaktadır. Bundan dolayı her iki elma çeşidinden de örnekler alınmıştır.

2.1. Örneklerin Toplandığı Alanlar

1– Isparta Eğirdir, Konya Bucağı mevki: Tamamen terk edilmiş bir elma bahçesidir. 1990 yılından bu yana herhangi bir bakım ve hasat yapılmamıştır. Bakımsızlığıyla göze çarpan bu bahçede elma ağaçlarında yaprak, dal ve meyvelerde büyük hasarlar mevcuttur.

2– Isparta Eğirdir Çay Köyü Harpuçlu Mevki: Muammer Akkanat isimli bir şahsa ait 8 dekar civarında elma bahçesidir. Bakımı ve düzenli ilaçlaması yapılmaktadır.

3– Isparta Eğirdir Çay Köyü Akdudibi Mevki: Yılmaz Akkanat isimli bir şahsa ait 6 dekar civarında bakımlı bir elma bahçesidir.

4– Isparta Eğirdir Göldere Mevki: Mehmet Kılıç isimli şahsa ait, bol ilaçlama yapılan bakımlı, ticari amaçla oluşturulmuş 40 dekar civarında bir elma bahçesidir.

5– Mehmet Kılıç'a ait soğuk hava deposu: 0°C'de 85–90 nemde hava soğutmalı sadece elma depolanan bir soğuk hava deposudur.

Elma bahçelerinden örnekler alınırken her bahçe için 5 ana bölge seçilmiş her bölgeden 5'er ağaç üzerinden 3'er örnek toplanmıştır (Yaprak, çiçek, meyve mevsimine bağlı olarak).

Örnekler steril eldiven ve steril büstri yardımıyla alınarak steril torbalar içinde muafaza edilmiştir. Örnekler bekletilmeden A.Ü. Ziraat Fak. Gıda Müh. Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına taşınarak analizleri yapılmıştır.

2.1.1. Yaprak örnek analizleri

Steril şartlarda sapsarıyla koparılan yapraklar, önceden hazırlanıp steril hale getirilen fizyolojik tuzlu su (FTS)'li erlenler içine alınmıştır. Her örnek için ayrı erlene konulan yapraklar yarım saat 150 dev/dak'da çalkalanmıştır. PDA (Potato Dextroz Agar) besi yeri üzerine 100 µl örnek alınarak drigalski spatulu ile yayılmış ve 4 gün 24°C de inkübe edilerek gelişen mikroorganizmaların izolasyonları yapılmıştır. Daha sonra saflık kontrolleri yapılan mayalar stok kültür olarak +4°C'de saklanmıştır.

2.1.2. Çiçek örnekleri

Alınan çiçekli örneklerin de tek tek 2.1.1.'de ifade edildiği gibi izolasyonları yapılmıştır.

2.1.3. Meyve örnekleri

Her bir partide üç elma bulunan steril torbalarla taşınan elmalar, swap kültür yöntemiyle yüzey örnekleri steril FTS'li tüpler içine alınmıştır.

Yine PDA üzerine 100 µl aktararak 2.1.1.'de belirtildiği gibi izolasyonları yapılmıştır (Janisiewicz et al. 1994, 1996, Sobiczewski et al. 1996, Falconi and Mendgen 1994, Gullino et al. 1991, Lima et al. 1998, Leibinger et al. 1997 Teixido et al. 1999).

İzolasyonları yapılan mikroorganizmalar pH = 4,5–5 de hazırlanmış PDA petri kutularına ekilmeleri sonucunda epifitik mayalar saf olarak izole edilmiştir.

Elma yaprak, çiçek ve meyvelerinden izole edilen 123 maya izolatu *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı antagonistik kontrol aktiviteleri bakımından incelenmiştir.

2.3. Antibiyosis Denemeleri

Epifitik 123 maya izolatu in vitro koşullarda iki ayrı patojene karşı tek tek denenmiştir. Maya gelişimi için NYDA (Nutrient Yeast Dextrose Agar) kullanılmıştır.

NYDA ⇒ 20 gr Agar
8 gr Nutrient Broth
4 gr Yeast Extract
1,5 gr Dextrose
1000 ml Distile su

Patojenlerin gelişimi için seçilen besi ortamı PDA'dır.

PDA ⇒ 200 gr Patates (kabukları soyulmuş)
1000 ml Çeşme suyu
20 gr Toz şeker
15 gr Agar

Hazırlanışı: Küp küp doğranan patatesler 1 lt su içinde tencerede kaynatılmış, kaynama başladıktan sonra yarım saat beletilmiş kaynamaya devam ettirilmiştir. Tülbentten süzülerek 1 lt su olabilmesi için saf su ile tamamlanmıştır. Besiyeri hazırlandıktan sonra sterilize edilmiştir (121°C'de 15 dak.).

Steril petrilere önceden hazırlanmış PDA'ların katılması beklendikten sonra nokta ekim ile *P. expansum* ve *B. cinerea*'ların ekimleri yapılmıştır. 22°C'de 5 gün inkübe edilmiştir. *B. cinerea*'ların sporilizasyona geçmesi için 1 gün ışık altında bırakılmıştır (Janisiewicz et al. 1994, Janisiewicz 1996).

PDA içeren petri kutuları üzerinde küf ekimi yapıldıktan 3 gün sonra NYDA üzerine her petriye 1 maya olacak şekilde tüm petri yüzeyini tarayarak öze ile sürümleri yapılmıştır. Mayalar 28°C'de 2 gün inkübe edilmiştir.

5. günün sonunda 5 günlük küf plakları (sporilizasyonu tamamlamış) ve 2 günlük gelişmiş maya plakları hazır hale gelmiştir.

P. expansum bulunan PDA plağı üzerine ve *B. cinerea* bulunan PDA üzerine steril 15 ml FTS çözeltisi dökülmü ve çam spatül yardımıyla sporların FTS içine geçmesi sağlanmıştır. Petriden alınan spor içeren FTS, içinde minik cam boncuklar bulunan steril tüplere alınmış, tüp karıştırıcıda iyice karıştırılarak, cam boncukların da yardımıyla sporların tek tek ayrılması sağlanmıştır. Bu şekilde sayımları daha kolay hale gelmiştir.

Toma lamı üzerinde sayımları yapılan *B. cinerea* ve *P. expansum*'un 10^3 cfu/ml olacak şekilde süspansiyon edilmiş ve PDA plakları üzerine 100 µl alınarak yayma preparatları hazırlanmıştır. Biraz beklendikten sonra, iki günlük gelişmiş maya örnekleri mantar delme aleti ile 15 mm çapında diskler halinde kesilerek, spor ekimi yapılmış PDA'lar üzerine, (her petriye 3 disk olacak şekilde) ters olarak konulmuştur. *B. cinerea* ve *P. expansum* için ayrı ayrı denenen mayalar 3 paralel olarak hazırlanmıştır. 24°C'de 5 gün inkübe edilerek, maya diski etrafında zon oluşup oluşmadığı belirlenmiştir (Pusey and Wilson 1984, Phae et al. 1990, Maussaif et al. 1997).

2.4. Hiperparazitizm Denemeleri

Epifitik 123 maya izolatından, morfolojik olarak farklı bulunan 44 maya seçilerek Patojen hüflerine tutunma (attachment) yeteneği bakımından denenmiştir.

% 10 zayıflatılmış PDA kullanılarak, ışık mikroskopisi, SEM ve TEM elektron mikroskopileri için ayrı ayrı preparasyon işlemleri yapılmıştır.

% 10 zayıflatılmış PDA ⇒

Normal PDA hazırlanırken kullanılan patates ekstraktından 100 ml alınarak hazırlanmıştır.

100 ml	patates ekstraktı
2 gr	toz şeker
18 gr	Agar
900 ml	Distile su

karşımıyla hazırlanan besi ortamı steril edilerek, petrilere dökülmüştür. Katılaştıran besi yerleri üzerine öze ile stok saf kültür halinde bulunan *P. expansum* ve *B. cinerea*'dan petrilerin tam ortasına olarak şekilde nokta ekimleri yapılmış, 22°C'de 5 gün inkübe edilmiştir. Petride patojenler yıldız biçimli zayıf bir gelişme göstermiştir.

Mayaların gelişimi için NYDB (Nutrient Yeast Dextrose Broth) kullanılmıştır. Tüplere hazırlanan ve steril hale getirilen NYDB'lere stok maya kültürlerinden öze ile ekimleri yapılmış 48 saat 28°C'de yatık olarak çalkalayıcıya yerleştirilip inkübe edilmiştir. 48 saat

sonunda maya'ların sayımı yapılarak 10^8 cfu/ml olacak şekilde FTS içinde süspansiyon edilmişlerdir.

Patojen hücreler 5. günün sonunda cılız yıldız şeklinde yayılım göstermişlerdir. Bu gelişen hücrelerin uç kısımlarına, 48 saatlik maya süspansiyonları, (10^8 cfu/ml) mikropipet ile damlatılmıştır. 3 paralelli olarak yapılan damlatma preparatları 24 saat 24°C de inkübe edilmiştir.

Bu kısma kadar ışık mikroskopisi SEM ve TEM için aynı prosedür uygulanmıştır. Preparasyon işlemlerinde farklı yollar izlenmiştir.

a- Işık mikroskopisi: 5 günlük zayıf gelişmiş *B. cinerea* ve *P. expansum*'a ayrı ayrı 3 paralel olarak denenmiş maya izolatları ile karşılaştırılıp 24 saat inkübe edildikten sonra petripler steril su ile iyice yıkanmıştır. Patojen-maya buluşmasının olduğu yerler daha önceden işaretlenmiş, yıkamanın ardından da bölgelerden bistüri yardımıyla alınan kare şeklindeki PDA parçaları temiz lam üzerine konularak lamel kapatılmış ve ışık mikroskopisinde incelenerek resimleri çekilmiştir (Campbell and Duffus 1991, McGinnis 1980).

b- Electron Mikroskopisi: Tıpkı ışık mikroskopisi gibi hazırlanmış PDA'lerden patojen-maya karşılaşmasının olduğu bölgelerden (yıkama yapıldıktan sonra) küçük parçalar kesilmiştir ve elektron mikroskopisi için hazırlanmıştır.

Üzerinde patojen hücreleri ve onlara tutunmuş maya'ların olduğu düşünülen küçük PDA parçaları fosfat tamponunda ($\text{pH}=7$) hazırlanmış % 3'ük Guluteraldehitte ön fiksasyonu yapılmış. 3 saat Guluteraldehitte bekletilen numuneler 4 defa fosfat tamponundan geçirilerek (4 saat içinde) yıkanmıştır.

Bir gün önceden renkli şişe içerisinde fosfat tamponu ile hazırlanmış % 1'lik Osmium tetroksit (OsO_4) içinde $+4^{\circ}\text{C}$ 'de, 2 saat bekletilerek post fiksasyon işlemi tamamlanmıştır. Tampon çözeltisi için 4 defa (4 saat içinde) yıkanarak, dehidrasyon işlemine başlanmıştır.

% 50'lik alkolde 10 dakika

% 60'lık alkolde 10 dakika

% 70'lik alkolde hazırlanmış % 1 Uranil asetatı 60 dakika

% 70'lik alkolde 10 dakika

% 70'lik alkolde 10 dakika

% 80'lik alkolde 10 dakika

% 90'lik alkolde 10 dakika

% 96'lik alkolde 10 dakika

% 100'lik alkolde 10 dakika

% 100'lik alkolde 10 dakika

% 100'lik alkolde + propilen oxide (1x1 oranında) 15 dakika

Propilen oxide 30 dakika

olarak dehidrasyon işlemi tamamlanmıştır. Bu aşamaya kadar Scanning electron mikroskopisi (SEM) ve Transmission electron mikroskopisi (TEM) için işlem aynen uygulanmıştır.

SEM için hazırlanacak olan numuneler, dehidrasyon işleminden sonra steril petrilere alınarak, etüv içinde kurumaya bırakılmıştır.

30°C de 12 saat

45°C de 12 saat

60°C de 48 saat

bekletilerek numunelerin suyu iyice alınmış ve Staptlar üzerine yapıştırılan numuneler altın ile kaplanarak SEM'da incelenmiştir (TPAO kurumu olanaklarından yararlanılmıştır.)

TEM preparasyonunda ise dehidrasyon aşaması sonuna kadar aynı prosedür uygulanmış, dehidrasyondan sonra gömme işlemine geçilerek bloklar hazırlanmıştır. Gömme ortamı olarak Araldite CY212 kullanılmıştır.

Gömme ortamı Araldit'in hazırlanışı ⇒

Araldite CY212 - 10 ml

DDSA - 10 ml

DMP-30 - 0,5 ml

Dibutil ftalat - 1 ml

alınarak cam bir kap içerisinde iyice karıştırılmıştır. Recine kıvamında olan aralditte göme yapılmadan, önce numuneler araldite alıştırmıştır.

Propilen oxide – gömme ortamı = 1:1 2 saat

Propilen oxide – gömme ortamı = 1:2 2 saat

Propilen oxide – gömme ortamı = 1:3 1 gece

Saf gömme ortamı 3 saat

rototor aleti içerisinde bekletilerek araldite alıştırma işlemi tamamlanmıştır Saf aralditten alınan numuneler blok kapları içine yerleştirilmiş etiketlendikten sonra saf araldit içine gömülmüştür. Bloklar etüv içine alınarak 40°C'de 12 saat 60°C'de 48 saat bekletilerek araldit'in katlaşması sağlanmıştır.

Bloklar tirimleme yapılarak kenarlarındaki fazla aralditler tirim bıçağı ile alınmıştır. Ultra-mikrotom'da cam bıçak yardımı ile alınan 100A° kalındığındaki ince kesitler x300, x400 mech'lik gritler üzerine alınmıştır. Bir gün önceden hazırlanan Uranil asetat ve kurşun sitrat boylarıyla boyanan gritler TEM'da incelenmiştir (A.Ü. Fen Fak. Elektron mikroskobundan yararlanılmıştır).

Elektron mikroskopi çalışmalarında temel teknikler olarak Hayat (1972)'in Basic Electron Microscopy Techniques kitabından, Campbell ve Duffus'ın (1991) Yeast apractical approach kitabından, Wilson and Chalutz (1989), Wisniewski et al. (1991), Manocha, (1985), Huang et al. (1993), Chalutz and Wilson (1992), Nelson et al. (1986), Jarvis et al. (1990), Wisniewski et al. (1991), makalelerinin materyal metod kısımlarından yararlanılmıştır.

2.5. İn-vivo Elma denemeleri

Elma yaprak, çiçek ve meyveleri üzerinden izole edilmiş 123 maya suşu, Elmalarda hasat sonrası hastalık etmeni *P. expansum* ve *B. cinerea*'lara karşı elmalar üzerinde denenmiştir. Patojenler 10^5 cfu/ml, mayalar ise 10^8 cfu/ml olacak şekilde (toma lamı ile sayımları yapılarak) elmalarda açılan yaralar üzerine inoküle edilmiştir.

Her bir maya şusu *B. cinerea* ve *P. expansum*'a ayrı ayrı denenmiş, her maya denemesi için 6 elma, her elma için iki suni yaralama kullanılmıştır (Janiszewicz et al. 1994, Leibinger et al. 1997, Janiszewicz and Bors 1995, Roberts 1990).

Elma denemelerinde lezyon çaplarının ölçümü ve yaraların net tayini için Golden elmaları kullanılmıştır. Yetersiz Laboratuvar şartları ve malzeme noksanlığı nedeniyle, mayalar parti parti incelenmiştir. Her parti için ayrı kontrol denemesi yapılmıştır.

Kasadan gözle görülür hasarlı elmalar ayıklanmış, sağlam olanlar ise çeşme suyunda yıkanmıştır. 1 gece bekletilerek suyunun süzülmesi ve elmaların kuruması beklenmiştir. Yıkanmış sağlam elmalar % 70'lik alkolle daldırılarak elma yüzey sterilizasyonu yapılmıştır.

Daha önceden ozonlu su ile yıkanmış 25 x 40 boyutundaki plastik tepşiler kuruduktan sonra içlerine steril havlu kağıtlar serilerek, üzerine plastik bardaklardan kesilmiş daireler yerleştirilmiştir. Bu daireler tepsi ile elmanın birbirine temas etmesini engelleyecek boyutta kesilmiştir. 1 maya denemesi için 6 elma kullanılmış, plastik tepsi 6 elmayı birden almadığı için 2 tepsi 1 deneme olarak hazırlanmıştır.

Elmalar, yan yatırılarak plastik daireler üzerine oturtulmuştur. Elmaların yukarı bakan kısımlarında 3 mm boyunda ve 3 mm çapında delikler açılmıştır. Birbirine 1,5–2 cm arayla her elmaya iki tane delik açılmıştır. Yarım saat kuruması beklenmiştir.

NYDB'de kültüre edilen maya izolatları 48 saat 28°C'de çalkalanarak geliştirilmiştir. Toma lamı ile sayımları yapılan mayalar 10⁸ cfu/ml olacak şekilde, her deliğe 30 µl damlatılmış, damlaların delik üzerinde kalmasına özen gösterilmiştir. 2 saat beklenerek maya süspansiyonlarının elma yüzeyinde kuruması sağlanmıştır.

PDA'ya nokta ekimi yapılan *P. expansum* ve *B. cinerea*'ların sporlaşması sağlanarak 5–6 gün 22°C'de inkübe edilmiştir. PDA yüzeyinde gelişen sporları alabilmek için, steril su hazırlanarak petrolere 15 ml dökülmüş, cam spatül yardımı ile sporların ıslanması ve suya geçmesi sağlanmıştır. Pipet yardımı ile steril şartlarda, içinde minik cam boncuklar olan tüplere alınmışlardır. Spor süspansiyonları cam çubuklar ve tüp karıştırıcı yardımıyla iyice karıştırılmıştır. Toma lamı ile sayımları yapılarak 10⁵ cfu/ml olacak şekilde her deliğe 20 µl olarak inoküle edilmiştir. Kuruması için 3 saat beklenmiş, elmalara deydirmeden

100–150 cc kadar distile su konularak tepsiler polietilen torbalara geçirilerek ağız lastikle bağlanmıştır. Bu şekilde yapay olarak nemli ortam sağlanmıştır. Tepsiler 22°C'de 7 gün bekletilmiştir. Her bir deneme için kontrol hazırlanmış, kontrol elmalara sadece 10³ cfu/ml patojen süspansiyonları verilmiştir.

7. günün sonunda her bir maya için hazırlanan elmalardaki yaralar ve yara çapları ölçülmüştür.

Yaraların çürüme ve çürümemesine göre hastalık yüzdesi hesaplanmıştır.

$$\text{Hastalık Yüzdesi} = \frac{\text{Çürüyen yara sayısı}}{\text{Toplam yara sayısı}} \times 100$$

Kontroller de dahil olmak üzere her maya için hastalık yüzdesi ve buna bağlı olarak da etki yüzdesi hesaplanmıştır.

$$\text{Etki Yüzdesi} = \frac{(\text{Kontroldeki hastalık \%}) - (\text{Uygulamadaki hastalık \%})}{(\text{Kontroldeki hastalık \%})}$$

Her maya için ayrı ayrı yara (lezyon) çapları ölçülmüş, sonuçlar kontrollerle kıyaslanarak, Duncan çoklu testine göre değerlendirilmiş, varyans analiz tabloları oluşturulmuştur.

İn-vivo elma denemelerinde başarılı bulunan ve antibiyosis denemelerinde de (+) sonuç veren mayalardan 13 tanesi seçilerek soğuk hava deposunda +4°C'de, her maya için 5 elma olarak denenmiştir. Soğuk hava deposunda 5 hafta bekletildikten sonra, yara sayıları ve yara çapları bakımından Duncan çoklu testine göre, variant analiz tabloları çıkarılmış ve grafiklerle sonuçlar istatistik olarak değerlendirilmiştir (El-Ghaouth et al. 2000, El-Ghaouth et al. 2000, Janisiewicz 1996, Teixeira et al. 1999, Howell et al. 2000, Carisse et al. 2000, Zhang and Yuen 2000, Braun-Kiewnick et al. 2000, Zhou et al. 1999, Köhl et al. 2000, Sivakumar et al. 2000, Postma et al. 2000).

2.6. Mayaların Tanımlanması

İn-vivo elma denemeleri sonucunda başarılı biyokontrol aktivitesi gösteren 13 maya izolatu tanımlanmaya çalışılmıştır.

2.6.1. İzolatların tanımlanmasında kullanılan morfolojik testler

2.6.1.1. Vejetatif hücrelerle çoğalma

Tanımlamada önemli kriterlerden olan vejetatif üreme şeklinin belirlenmesi için, NYDB sıvı kültüre ekimleri yapılan maya izolatları 150 dev/dak çalkalanarak 28°C'de bir gün inkübe edilmiştir. Genç kültürden alınan maya izolatları, PDA üzerine ekilerek 28°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. Özeyle alınan maya örneği bir damla su içinde yayılarak mikroskopta incelenmiştir.

Mayaların tomurcuklanma veya fizyolla çoğaldığı belirlenmiştir (Barnett et al. 1983, Campbell and Duffus 1991).

2.6.1.2. Pseudomisel oluşumunun mikroskobik incelenmesi

Eğer bir maya tomurcuklanma ile çoğalıyorsa, olgunlaşmış tomurcuk ya hemen ana hücreden ayrılmakta, ya da ana hücreden ayrılmadan zincirli yapılar oluşturmaktadır. Bu zincirli yapılara pseudomisel adı verilmektedir (Barnett et al. 1983, McGinni 1980). Bu oluşum tanımlanmada önemli olup pseudomisel oluşturup oluşturmadığı belirlenmiştir.

Pseudomisel oluşumunu incelemek için Dalmau plates yöntemi uygulanmıştır (Barnett et al. 1983). Bu metod için ana besi yeri yine PDA'dır. Maya izolatlarının NYDB de geliştirilmiş 1 günlük kültürlerinden öze ile alınarak PDA üzerine bir çizgi ekim ve iki nokta ekim yapılmıştır. Önceden sterilize edilmiş lameller ekim yapılan bölgelerin üzerine kapatılmış, 28°C'de 10 gün inkübe edilerek mikroskopta incelenmiştir.

2.6.1.3. Ballistospor oluşumunun incelenmesi

Ballistospor: Vejetatif hücrelerden çıkıntı yaparak özel bir yapı içinde gelişen ve özel bir fırlatma mekanizması ile havaya fırlatılan sporlardır (Lodder 1970). Bu sporlar *Bullera*, *Sporobolomyces* ve *Sporidiobolus* genuslarının tanımlanmasında kullanılır.

Balistospor tayini için Malt extract agar kullanılmıştır.

Malt extract agar:

Malt extract	30 gr
Pepton	5 gr
Agar	15 gr
Distile su	1000 ml

Bu deneme için iki ayrı boyutta petri kullanılmıştır. Büyük 9 mm'lik petrilere Malt ext. agar steril bir şekilde dökülmüştür. Yine büyük petri içine küçük petri kapağı konularak (5 mm'lik) steril edilmiş, besiyeri de steril edilerek petri içindeki küçük petrilere besi yeri dökülmüştür. Soğuyup katılaşması beklendikten sonra büyük petriye önce döktüğümüz besi yeri üzerine maya izolatlarından öze ile aldığımız kültürden + şeklinde çizgi ekimi yapılmıştır. Sürüm yapılan petri, içinde küçük petri bulunan diğer petri kapağı kaldırılarak üzerine kapanmıştır. Petrinin ağız kısmı iyice bantlanarak 3 hafta 20°C'de inkübe edilmiştir. Üç hafta sonunda Blastospor oluşturup oluşturmadığı küçük petrideki üremeye göre değerlendirilmiştir (Barnett et al. 1983).

2.6.1.4. Askospor oluşumunun mikroskopik incelenmesi

Mayaların askospor oluşturup oluşturmadığını incelemek için NYDB içinde kültüre edilmiş 1 günlük taze maya kültürleri kullanılmıştır. Daha önceden hazırlanmış steril Gorodkova agar üzerine inoküle edilerek 25°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. Mikroskopik incelemelerde askospor görülememişse, 20°C'de 6 hafta bekletilen kültürlerden yayma preparat hazırlanarak incelenmiş, Ascosporların daha iyi görülebilmesi için Malahit yeşili-Safranin ile ikili boyama yapılmıştır (Barnett et al. 1983).

Gorodkova agar ⇒

D-Glukoz	-	1 gr
Pepton	-	10 gr
NaCl	-	5 gr
Agar	-	15 gr
Distile su	-	1000 ml

Malahit yeşili ⇒

Malahit yeşili - 5 gr

Distile su - 100 ml

boya önceden hazırlanarak süzölmüş daha sonra kullanılmıştır.

Safranin ⇒

Safranin - 0,5 gr

Distile su - 100 ml

süzölmek kullanılmıştır.

Askosporların boyanması ⇒

6 haftalık költürden bir damla su üzerine alınmış iyice yayılarak kurumaya bırakılmıştır. Birkaç sefer alevden geçirilerek fikse edilen mayalar üzerine % 5'lik malahit yeşili boyasından damlatılmış 60 saniye beklenmiştir. Boyanın kuruması için sıcak tabla kullanılmıştır. Akan suda yıkanan preparatlara, Safranin damlatılarak 30 saniye beklenmiştir. Yine akan suda yıkanmış ve preparat kuruduktan sonra mikroskopta incelenmiştir.

Askosporlar - mavi - yeşil renkte

Vejetatif hücreler - kırmızı renkte görölmüştür.

2.6.2. Tanımlanmada kullanılan fizyolojik testler

2.6.2.1. Glukoz fermantasyonu

Bu testte mayaların glukozu kullanıp kullanmadığına bakılmıştır ve buna göre tanımlanmışdır. Glukoz fermantasyonu testinde sıvı besi yeri kullanılmıştır (Lodder, 1970).

D-Glukoz - 30 gr

Pepton - 20 gr

Yeast ext. - 5 gr

Distile su	-	1000 ml	pH = 5,8
Bromacresol porple	-	% 1'lik 3,2 ml	

Hazırlanan besiyeri tüplere dağıtılarak sterilize edilmiştir. Stok mayalardan geliştirilmiş 1 günlük kültürden 20 µl aşılardan besiyeleri 2 gün 28°C'de inkübe edilmiştir. Steril besiyeri içine dürham tüpü yerleştirilmiş, indikatör boyadaki renk değişimi + dürhamda bulunan gaz + ise sonuç (+) olarak değerlendirilmiştir.

2.6.2.2. Üreaz testi

Ortamda yeterli vitamin sağlandığı zaman, maya üreyi kullanabilir. Üreyi amonyaka çevirip hidrolize etmek için üreaz enzimden yararlanmaktadır. Maya tanımlanmasında üreaz aktivitesi önemli bir kriter olarak kullanılmaktadır (Barnet et al. 1983).

Bu test için Christensen'in Üre broth'u kullanılmıştır.

Christensen'in üre broth'u ⇒

Pepton	-	1 gr
NaCl	-	5 gr
D-Glukoz	-	1 gr
KH ₂ PO ₄	-	2 gr
Fenol kırmızısı	-	0,012 gr
Distile su	-	1000 ml

Besiyeri hazırlandıktan sonra fitrasyonla sterilize edilmiş ve steril tüpler içine 7'şer ml konulmuştur (pH = 6,8) Bir günlük taze kültürden 20 µl. ekimleri yapılarak 28°C'de 3 gün bekletilmiştir. Maya izolatlarında Üreaz aktivitesi pembe renk oluşumu ile üreaz (+) olarak nitelendirilmiştir.

2.6.2.3. DBB testi = (Diazonyum blue B. testi)

Bu test, maya şuşlarının *Basidiomycetes* olup olmadığını ayırt etmek için yapılır. Yapılan denemelerde *Basidiomycetes* mayalarının bütün şuşları DBB tamponu uygulandığında koyu kırmızı renk vermektedir (Barnet et al. 1983).

Bu test için MYGP agar kullanılmıştır. Steril olarak hazırlanan MYGP agar üzerine, bir günlük taze kültürden sürüm yapılmıştır. 10 gün 28°C'de inkübe edilen petriler DBB solusyonu damlatılarak 2 dak. içerisinde kırmızı renk oluşumuna göre sınıflandırılmıştır.

MYGP Agar ⇒

Malt extract	-	3 gr
Yeast extract	-	3 gr
D-Glukoz	-	10 gr
Pepton	-	5 gr
Agar	-	15 gr
Distile su	-	1000 ml

Diazonium blue B (DBB) çözeltisi hazırlanırken, pH = 7'de soğuk distile su ile 0,1 M. tris-HCl tampon çözeltisi hazırlanmış, her mililitresi için 1 mg DBB tuzu eklenmiştir. Çözelti, soğukta veya buz içinde bekletilmiştir. 10 gün inkübe edilmiş MYGP agar üzerinde gelişen mayalar 2 saat 55°C'de ütevde bekletilmiştir. 2 saatin sonunda etüvden çıkarır çıkarmaz üzerine DBB solusyonu damlatılmıştır. Şayet renk kırmızıya dönüşürse DBB (+), mayalar aynı renklerini korurlarsa DBB (-) olarak değerlendirilmiştir.

2.6.2.4. Nitrat testi

Mayaların besin olarak azot kaynaklarını kullanıp kullanamamasına göre ayrımlarının yapıldığı bir testtir. Bu test için Yeast Carbon base ve % 0,5 KNO₃ kullanılmıştır.

Besi yerinin hazırlanması ⇒

Difco Yeast Carbon base	-	11,7 gr
Distile su	-	1000 ml

karışımla stok solusyon hazırlanmıştır. % 0,5 KNO₃ de hazırlanarak steril hale getirilmiştir.

4,5 ml	-	N kaynağı
0,5 ml	-	Stok Yeast Carbon base

steril şartlarda birbiri üzerine pipetlenmiştir. 1 günlük genç maya kültüründen ekimleri yapılarak 3 gün 28°C'de inkübe edilmiştir. Besiyerinin bulanık olup olmayışına göre, üreme varsa (+), yok ise (-) olarak değerlendirilmiştir (Campbell and Duffus 1991).

2.6.2.5. Karbon kaynakları testi

Maya'ların tanımlanmasını daha iyi yapabilmek için karbon kaynakları testi yapılmıştır. Burada esas alınan maya'nın hangi kaynağı besin olarak kullanıp kullanmadığıdır (Barnett et al. 1983). Bu test için Yeast N base kullanılmıştır.

Difco Yeast N base – 6,7 gr
Distile su – 1000 ml

Karışım stok solusyon olarak hazırlanmış ve sterilize edilmiştir. % 2'lik karbon kaynakları hazırlanmış ve tüplere 4,5 ml olarak dağıtılıp sterilize edilmiştir (110°C'de 15 dak.).

Steril 4,5 ml karbon kaynağı üzerine 0,5 ml Stok Yeast N base pipetlenmiştir. Bu besi yeri üzerine 1 günlük taze maya kültüründen ilave edilerek (20 µl) 28°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. Yine üremenin varlığına göre değerlendirilmiştir. Üreme varsa ve kültür bulanıklaşmışsa (+), üreme yok ve kültür bulanık değilse (-) olarak değerlendirilmiştir.

Kullanılan karbon kaynakları ⇒

Glikoz

Galaktoz

Maltoz

Sükroz

Mellibiyoz

Laktoz

Sellobiyoz

Rafinoz

Nişasta

Mayaların tanımlanması yapılırken temel olarak Barnet et al. (1983) kullanılmıştır. Bununla birlikte gerek besi yerlerinin hazırlanması, gerekse sınıflandırma için: Cambell and Duffus (1991), Onions et al. (1981), Samson et al. (1988) McGinni (1980), Lodder (1970), Lodder and Kerger – van Rij (1967) kitaplarından yararlanılmıştır.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Antibiyosis denemeleri

Elma yaprak, çiçek ve meyveleri üzerinden izole edilmiş 123 maya izolatu, *P. expansum* ve *B. cinerea*'ya karşı tek tek denenmiştir.

Maya izolatlarının patojen küf sporları üzerine, gelişimi önleyici etkileri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. Alınan sonuçlara göre 123 maya izolatından, 92 tanesi *P. expansum*'a 68 tanesi de, *B. cinerea*'ya karşı etkisiz bulunmuştur. Etkili bulunan maya izolatlarında üç farklı etki gözlenmiştir (Çizelge 3.1).

Birinci etki şeklinde: Maya disklerinin etrafında küf sporlarının gelişimi tamamen engellenmiş, 116 nolu izolatta görüldüğü gibi 4.94 cm çapında antibiyosis zonu oluşturmuştur.

Çizelge 3.1. *B. cinerea* ve *P. expansum*'a etki mekanizmaları araştırılan 123 maya izolatının numarası, izolasyonunun yeri, antibiyosis etki şekli, antibiyosis zon çapları

İzolasyon	İzolat numarası	<i>P. expansum</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)
Meyve	1	inh	2,03	inh	2,12
Çiçek	7	-	0	-	0
Çiçek	11	-	0	-	0
Yaprak	13	-	0	-	0
Yaprak	14	-	0	-	0
Meyve	20	-	0	-	0
Yaprak	23	-	0	-	0
Meyve	24	-	0	-	0
Meyve	25	-	0	-	0
Çiçek	27	-	0	çök	3,3
Çiçek	33	-	0	çök	3,05
Meyve	36	-	0	-	0
Yaprak	43	-	0	-	0

Çizelge 3.1. (devam)

İzolasyon	İzolat numarası	<i>P. expansum</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)
Meyve	45	–	0	–	0
Yaprak	48	–	0	inh	3,77
Yaprak	51	–	0	çök	3,64
Yaprak	56	–	0	–	0
Meyve	57	kh	2,43	kh	2,15
Yaprak	58	kh	2,43	kh	2,25
Meyve	59	kh	2,6	kh	2,3
Meyve	60	–	0	–	0
Meyve	61	kh	2,55	kh	2,5
Meyve	62	–	0	–	0
Yaprak	63	–	0	çök	2,85
Meyve	64	–	0	–	0
Meyve	65	–	0	–	0
Meyve	66	–	0	–	0
Yaprak	71	–	0	çök	3,92
Çiçek	75	ink	1,47	inh	2,9
Meyve	77	–	0	–	0
Çiçek	78	–	0	–	0
Meyve	83	kh	2,23	kh	2,4
Meyve	85	kh	1,28	kh	2,7
Yaprak	87	–	0	inh	3,63
Yaprak	88	inh	3,88	inh	3,7
Meyve	89	–	0	–	0
Meyve	90	–	0	–	0
Yaprak	91	–	0	çök	3,55
Çiçek	92	–	0	çök	3,15
Yaprak	93	–	0	çök	3,97
Meyve	100	–	0	–	0

Çizelge 3.1. (devam)

İzolasyon	İzolot numarası	<i>P. expansum</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)
Meyve	102	-	0	-	0
Yaprak	103	-	0	-	0
Çiçek	104	-	0	-	0
Yaprak	105	inh	2,53	inh	3,1
Meyve	106	kh	2,8	kh	2,7
Meyve	107	-	0	-	0
Çiçek	108	-	0	-	0
Meyve	109	inh	2,2	çok	2,8
Meyve	110	-	0	-	0
Çiçek	111	-	0	-	0
Yaprak	113	-	0	-	0
Çiçek	114	-	0	-	0
Yaprak	115	inh	2,3	inh	2,92
Yaprak	116	inh	4,94	inh	2,3
Çiçek	119	-	0	-	0
Çiçek	120	-	0	çok	3,05
Yaprak	121	-	0	çok	3,3
Yaprak	154	kh	2,2	kh	2,6
Meyve	158	-	0	-	0
Yaprak	162	-	0	-	0
Meyve	173	kh	1,9	kh	2,0
Yaprak	175	inh	2,14	inh	2,52
Meyve	177	kh	2,4	kh	2,2
Meyve	188	-	0	-	0
Yaprak	189	-	0	-	0
Meyve	190	-	0	-	0
Meyve	193	-	0	-	0
Meyve	196	inh	2,9	inh	2,8

Çizelge 3.1. (devam)

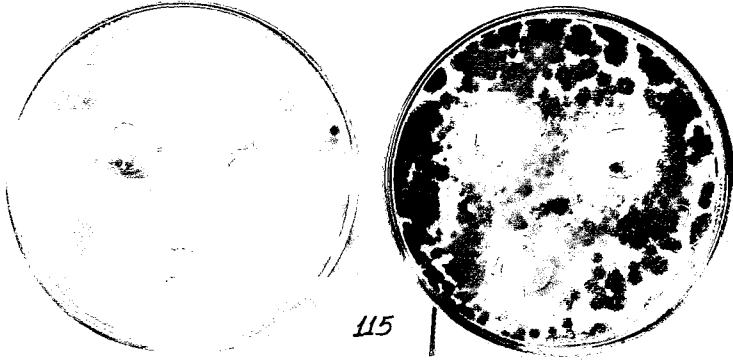
İzolasyon	İzolot numarası	<i>P. expansum</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)
Yaprak	197	–	0	–	0
Meyve	205	–	0	–	0
Yaprak	209	inh	2,37	inh	2,2
Yaprak	210	–	0	–	0
Yaprak	211	kh	2,85	kh	2,63
Yaprak	212	–	0	–	0
Meyve	213	–	0	çök	2,34
Yaprak	214	–	0	–	0
Yaprak	215	kh	2,6	kh	2,8
Meyve	223	kh	2,6	kh	2,1
Meyve	230	kh	2,6	kh	2,73
Meyve	235	–	0	–	0
Meyve	235	–	0	–	0
Meyve	243	–	0	–	0
Meyve	249	kh	2,35	kh	2,2
Yaprak	252	kh	2,65	kh	2,5
Yaprak	253	kh	2,43	kh	2,18
Çiçek	255	–	0	çök	2,97
Çiçek	255	–	0	çök	2,97
Meyve	256	–	0	–	0
Meyve	259	–	0	çök	3,27
Çiçek	260	–	0	–	0
Meyve	261	kh	2,55	kh	2,92
Meyve	263	kh	2,4	kh	2,0
Meyve	263	kh	2,4	kh	2,0
Meyve	264	kh	2,67	kh	2,43
Meyve	265	–	0	–	0
Yaprak	266	kh	2,1	kh	2,05

Çizelge 3.1. (devam)

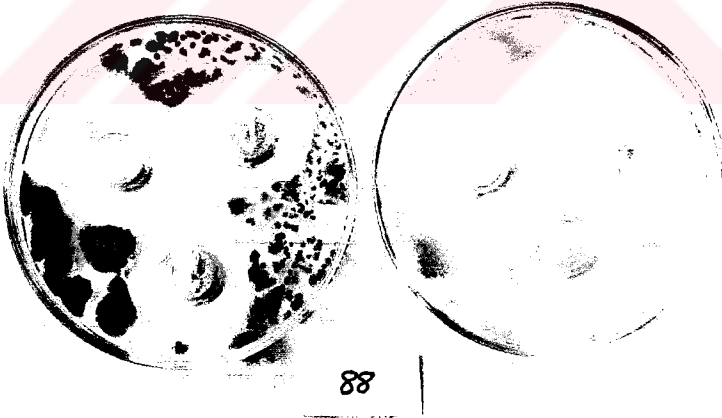
İzolasyon	İzolot numarası	<i>P. expansum</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)
Meyve	267	–	0	–	0
Yaprak	269	kh	2,33	kh	2,08
Meyve	273	–	0	çök	3,37
Çiçek	275	–	0	–	0
Meyve	276	–	0	çök	4,17
Yaprak	277	–	0	çök	2,05
Meyve	278	–	0	–	0
Çiçek	279	–	0	çök	3,4
Yaprak	281	–	0	–	0
Meyve	282	–	0	–	0
Yaprak	283	–	0	–	0
Yaprak	284	–	0	–	0
Meyve	285	kh	2,5	kh	2,9
Meyve	286	–	0	–	0
Yaprak	294	–	0	–	0
Meyve	295	–	0	–	–
Meyve	298	–	0	–	0
Meyve	299	–	0	–	0
Meyve	301	–	0	–	0
Yaprak	304	–	0	–	0
Yaprak	312	kh	2,78	kh	2,73
Yaprak	316	–	0	–	0
Yaprak	317	–	0	–	0
Meyve	318	–	0	–	0
Yaprak	M ₁	–	0	–	0
Yaprak	M ₂	–	0	–	0

Bu şekilde parlak antibiyosis zonu oluşturan maya izolatlarının etki şekli çizelgede inhibisyon etkisi olarak (inh.) ifade edilmiştir.

Çizelge 3.1’de tanımlandığı üzere; *P. expansum*’lara karşı antibiyosis zonu oluşturan 10 maya izolatu, *B. cinerea*’lara karşı ise 11 maya izolatu gösterilmiştir (Şekil 3.1, 3.2).



Şekil 3.1. 115 nolu maya izolatının *B. cinerea* ve *P. expansum* gelişmesini engellemesi



Şekil 3.2. 88 nolu izolatının *B. cinerea* ve *P. expansum* gelişmesini engellemesi

Maya-patojen küf sporları karşılaşmasında ikinci etki türü pigmentasyon olarak gözlenmiştir. Bu pigmentasyon Çizelge 3.1'de kırmızı halka oluşumu (kh) olarak ifade edilmiştir.

B. cinerea ve *P. expansum*'a denenen maya izolatlarından 25 tanesinde her iki patojenle karşılaşan aynı maya izolatlarında disk etrafında kırmızı bir pigmentasyon oluşmuştur (Şekil 3.3).

P. expansum ile karşılaşan ve pigmentasyon veren maya diskleri çevresinde, 2-2,97 cm çapında kırmızı pigmentli bir zon oluşmuştur. (Çizelge 3.1, Şekil 3.4) İnkübasyonun üçüncü gününe kadar disk etrafındaki halkanın içinde spor gelişimi gözlenememiştir. Üçüncü günden sonra pigment halkanın içi, de dahil olmak üzere *P. expansum* petriyi tamamen kaplamıştır.

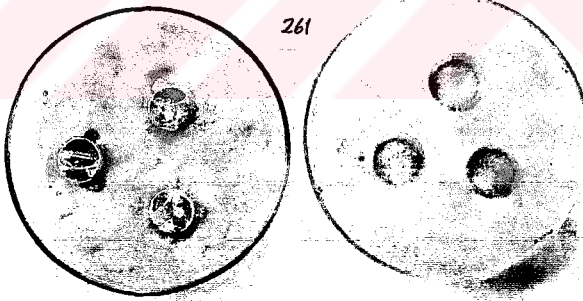
B. cinerea'larda *P. expansum* denemelerinde olduğu gibi maya diskleri etrafında bir pigment halka oluşumu gözlenmiştir. İnkübasyon boyunca maya diski ile kırmızı pigmentli zon arasındaki bölgede, *B. cinerea* sporlarının gelişemediği gözlenmiştir (Şekil 3.5). İnkübasyon süresi yedi güne kadar uzatılan petrilerde, pigmentli zon içinde spor gelişimine rastlanmamıştır.



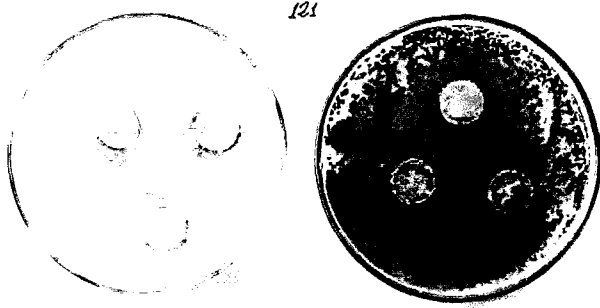
Şekil 3.3. 263 nolu maya izolatının *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı oluşturduğu kırmızı pigmentli zonlar



Şekil 3.4. 223 nolu maya izolatının *P. expansum* ile karşılaşması sonucu oluşan kırmızı pigmentli zonlar



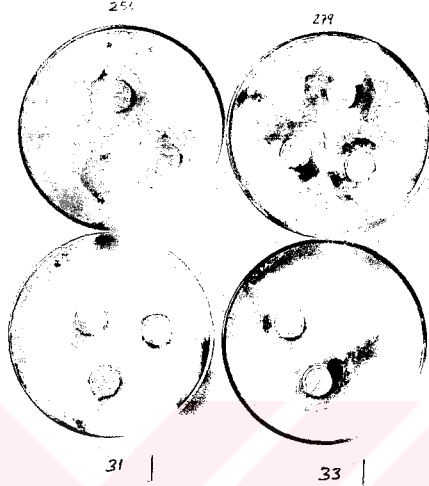
Şekil 3.5. 261 nolu maya izolatının *B. cinerea* ile karşılaştığı bölgede oluşan pigmentli zon ve zon içinde spor gelişiminin engellenmesi



Şekil 3.6. 121 nolu maya izolatında sadece *B. cinerea* denemelerinde gözlenen çöktüntü oluşumu

Antibiyosis denemelerinde gözlenen üçüncü etkileşim türü çöktüntü oluşumu (çök) şeklinde gözlenmiştir (Çizelge 3.1). Bu oluşum sadece *B. cinerea* sporlarıyla karşılaşan maya izolatları arasında meydana gelmiştir. *P. expansum* denemelerinde böyle bir oluşuma rastlanmamıştır (Şekil 3.6).

Sadece *B. cinerea*'lara karşı oluşan çöktüntü meydana getiren maya izolatları Çizelge 3.1.'de görülmektedir. Denemeye göre 123 maya izolatında 19 tanesinde bu etkileşim gözlenmiştir. Patojenle karşılaşan maya gelişmesinin üçüncü günü sonunda, maya disklerine kadar patojen hifler gelişmiştir. Dördüncü ve beşinci günlerde, disk etrafında gelişen hiflerin, zon meydana getirecek şekilde, koyu renk alarak çökeldikleri gözlenmiştir (Şekil 3.7). İnkübasyon süresi yedi güne uzatılmış fakat bir değişiklik olmamıştır.



Şekil 3.7. Bazı maya izolatının *B. cinerea*'larda oluşturduğu çöktüntüler

3.2. İn vivo Elma Denemeleri

Bölüm 2.5'de değinildiği gibi; 123 maya izolatu, elmalar üzerinde *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı denenmiştir. İn vivo denemeler iki aşamada yürütülmüştür.

3.2.1. 22°C'de in vivo elma denemeleri

İlk olarak maya izolatlarının tamamı *B. cinerea* ve *P. expansuma* karşı tek tek denenmiş, 22°C'de 7 gün inkübe edilerek, hastalık yüzdesi, etki yüzdesi ve yara çapı ortalamaları hesaplanarak, Çizelge 3.2.1a,b, 3.2.2a,b, 3.2.3a,b, 3.2.4a,b, 3.2.5a,b, 3.2.6a,b, 3.2.7a,b'de gösterilmiştir.

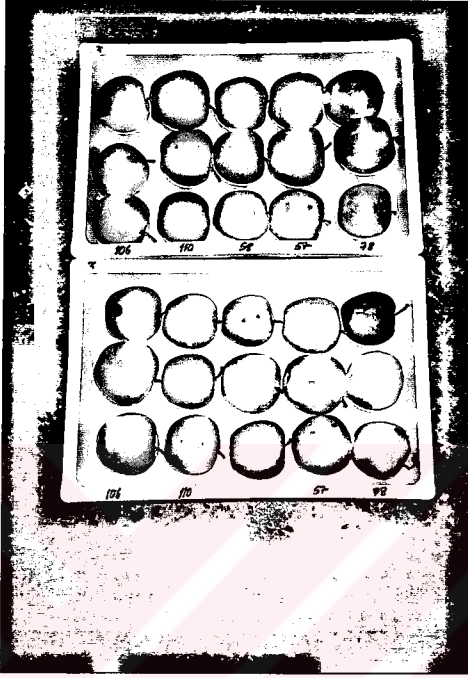
Bu çizelgelerden anlaşılacağı gibi, yapılan in vivo elma denemelerinde (22°C) *P. expansum*'a karşı % 50 etki ile 66 nolu maya izolatu, % 41,66 ile 116, 277, 36, 33 ve % 33,33 ile 120, 85 nolu maya izolatları etkili bulunmuştur.

B. cinerea denemelerinde (22°C), 21 farklı maya izolatının etki yüzdesi % 50 üzerinde bulunmuştur. Bu etkili mayalardan 91, 36, 110, 57 nolu izolatlar % 100'lük koruma sağlamıştır.

22°C'de yapılan elma denemelerinde aynı maya izolatlarının *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı etki farkları gösterilmiştir (Şekil 3.2.1, 3.2.2).



Şekil 3.2.1. Bazı maya izolatlarının *P. expansum* çürümelerine karşı etkisi (22°C)

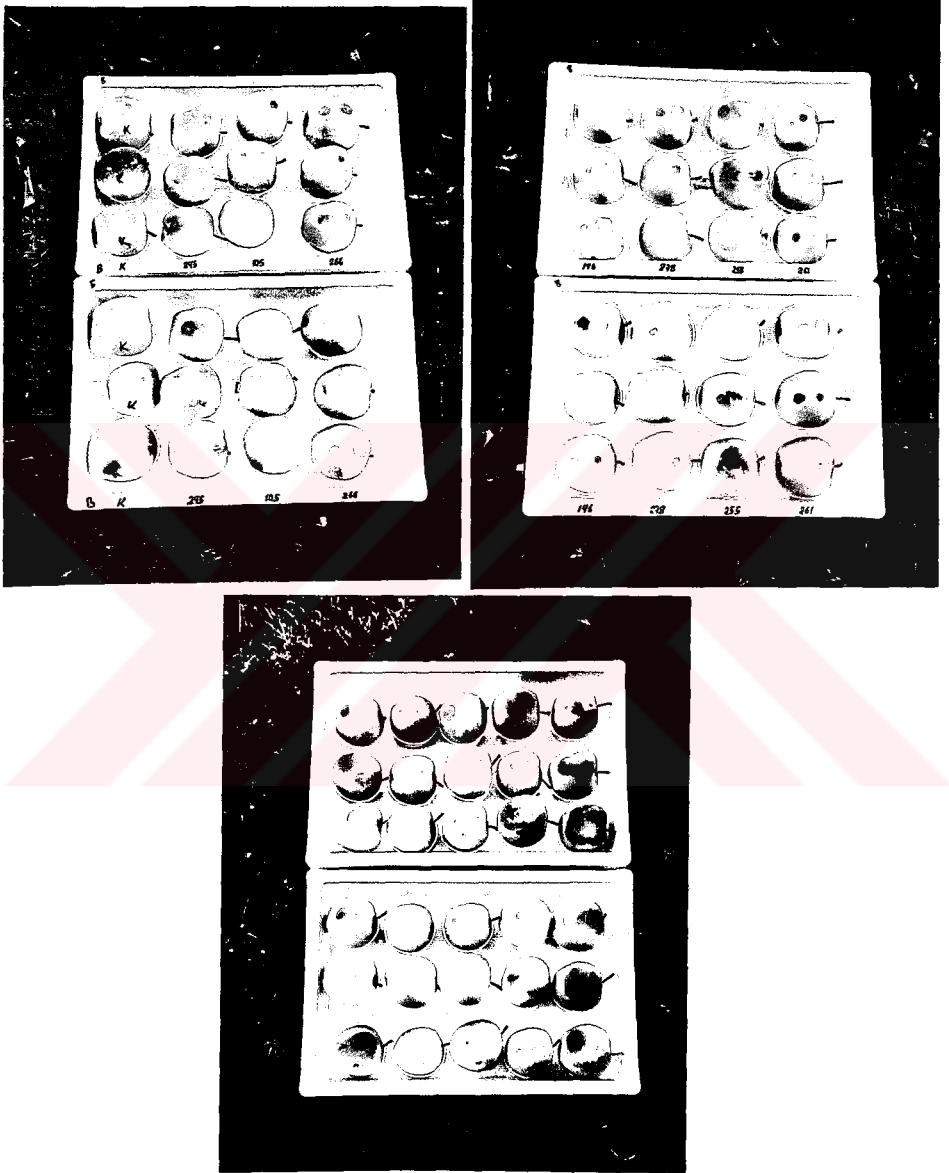


Şekil 3.2.2. Bazı maya izolatlarının *B. cinerea*'ya karşı kontrol etkisi (22°C)

Şekil 3.2.1'de elmalar üzerinde 5 ayrı maya izolatının 22°C'de *P. expansum* üzerinde hiçbir antagonistik kontrol etkisi gözlenmezken, *B. cinerea*'lar üzerinde etkili antagonistik aktivite göstermişlerdir (Şekil 3.2.2).

Şekil 3.2.2'de 106 nolu maya izolatının yara azaltıcı etkisi gözlenirken 110, 58 ve 57 nolu maya izolatlarında antagonistik aktivite tam manasıyla gözlenmiş fakat 78 nolu maya izolatu *B. cinerea*'ya karşı antagonistik etki gösterememiştir.

22°C'de depolanan elma denemelerinde *B. cinerea*'lara karşı antagonistik etkileri gözlemek farklı maya izolatlarında mümkün olmuştur (Şekil 3.2.3).



Şekil 3.2.3. Bazı maya izolatlarının *B. cinerea*'lara karşı antagonistik etkileri (22°C)

Şekil 3.2.3'de görüldüğü gibi *B. cinerea* kontrolde % 100 hastalık oluşturmuştur. Kontrole kıyasla 295, 255 ve 66 nolu maya izolatlarının antagonistik etki gösteremedikleri, buna karşın 105, 36 ve 108 nolu izolatların *B. cinerea*'nin kontrolünü sağladıkları görülmüştür. Diğer maya izolatlarının antagonistik etkileri, (kontrol çürüklerle kıyaslandığında), çürüklük sayı ve çaplarını azaltma yönünde olduğu gözlenmektedir.

İn vivo elma denemelerinde maya izolat sayısının çokluğu nedeniyle, gruplar halinde denemeler kurulmuştur. Her parti denemede iki patojen için ayrı ayrı kontrol numuneleri hazırlanmıştır.

İzolatların patojenlere karşı gösterdikleri antagonistik etki yüzdeleri ve yara çapları üzerine olan etkileri tek tek hesaplanmış ve kontrol numune ile kıyaslanarak kendi içinde analizleri yapılmıştır. Deneme sonucunda alınan veriler Duncan Çoklu Testine göre, Variant analizleri yapılarak istatistiki olarak değerlendirilmiştir. Yüzde önem sırasına göre hangi variantta önemli ise ($P=5\%$ veya $P=1\%$) o öneme göre parti içinde değerlendirilmiştir (Çizelge 3.2.1a,b, 3.2.2a,b, 3.2.3a,b, 3.2.4a,b, 3.2.5a,b, 3.2.6a,b, 3.2.7a,b).

Birinci parti denemede *P. expansum*'a karşı denenen maya izolatlarından, en etkili kontrol, % 41,6 etki gösteren 116 nolu maya izolatı sağlamıştır. Yara çapına bakıldığında ise $P=1\%$ 'e göre 0,875 cm yara çapı ortalaması ile kontrolle kıyaslandığında önemli bir azalma görülmüştür (Çizelge 3.2.1a).

Çizelge 3.2.1a. Farklı mayaların, *P. expansum* üzerine etkileri

İzolat Numarası	Hastalık Yüzdeleri	Etki Yüzdeleri	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	3,792 a
27	100 a	0	3,417 a
51	100 a	0	3,542 a
91	93,667 a	8,333	2,958 a
93	100 a	0	3,542 a
109	91,667 a	8,333	2,458 a
116	58,334 b	41,666	0,875 b
121	100 a	0	3,5 a

$P=5\%$

$P=1\%$

Çizelge 3.2.1b. Farklı mayaların *B. cinerea* üzerine etkileri

İzolot Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	75 ab	0	3,583 a
27	16,667 cd	77,77	0,292 bc
51	85 ab	0	2,223 ab
91	0 d	100	0 c
93	100 a	0	3,583 a
109	41,667 bcd	44,44	0,834 bc
116	100 a	0	4,750 a
121	58,334 abc	22,22	1,017 bc

P = % 5

P = % 1

Birinci parti *B. cinerea* denemelerinde ise % 100 etkili kontrol sağlayan 91 nolu maya izolatu çürüklük gelişimini engelleyerek, tam kontrol sağlamıştır (Çizelge 3.2.1b).

İkinci parti *P. expansum* denemelerinde, hastalık yüzdesi % 100 olan kontrole kıyasla en başarılı kontrolü sağlayan 66 nolu maya izolatu % 50 etki ve P = % 1'e göre 1,125 cm yara çapı ile başarılı bulunmuştur. 277, 36 ve 33 nolu izolotlar ise % 41,66 olarak etki yüzdeleri hesaplanmıştır (Çizelge 3.2.2a).

İkinci parti *B. cinerea* denemelerinde kontrole kıyasla 36 nolu maya izolatu % 100 etki ile P = % 1 öneme göre en etkili izolat olmuş ve hiç yara oluşturmamıştır. 108 nolu izolat % 88,99 etki ile ve 104 nolu izolat % 79,99 etki ile başarılı bulunan mayalar olmuştur (Çizelge 3.2.2b).

Çizelge 3.2.2a. Farklı mayaların, *P. expansum* üzerine etkileri

İzolot Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	3,625 ab
7	91,667 ab	8,333	2,783 abcde
13	91,667 ab	8,333	2,833 abcde
25	75 ab	25	2,375 abcde
33	58,333 ab	41,667	1,475 cde
36	58,334 ab	41,666	1,850 bcde
48	100 a	0	3,450 abc
63	91,667 ab	8,333	2,792 abcde
66	50 b	50	1,125 e
71	83,333 ab	16,667	2,517 abcde
88	83,333 ab	16,667	2,475 abcde
89	100 a	0	2,850 abcde
92	83,334 ab	16,666	2,625 abcde
104	75 ab	25	2,292 abcde
108	83,333 ab	16,667	2,017 abcde
111	100 a	0	2,583 abcde
120	66,667 ab	33,333	2,042 abcde
205	83,333 ab	16,667	2,825 abcde
255	100 a	0	3,208 abcd
256	100 a	0	3,508 abc
265	100 a	0	3,917 a
276	75 ab	25	2,808 abcde
277	58,334 ab	41,666	1,417 de
279	75 ab	25	2,684 abcde

P = % 1

P = % 1

Çizelge 3.2.2b. Farklı mayaların *B. cinerea* üzerine etkileri

İzolat Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	83,333 a	16,667	2,542 ab
7	50 abcd	39,99	1,742 abcd
13	66,667 ab	19,99	2,1 abcd
25	91,667 a	0	1,750 abcd
33	58,333 abc	30	1,917 abcd
36	0 d	100	0 d
48	75 a	9,99	1,708 abcd
63	75 a	9,99	1,683 abcd
66	91,667 a	0	3,475 a
71	75 a	9,99	2 abcd
88	83,333 a	0	2,642 ab
89	91,667 a	0	2,408 abc
92	58,333 abc	30	1,250 abcd
104	16,668 bcd	79,99	0,542 bcd
108	8,334 cd	89,99	0,167 cd
111	75 a	9,99	1,808 abcd
120	91,667 a	0	2,5 ab
205	91,667 a	0	3,292 a
255	100 a	0	2,950 a
256	66,667 ab	19,99	2,042 abcd
265	83,334 a	0	3,5 a
276	66,667 ab	19,99	1,242 abcd
277	91,667 a	0	2,667 ab
279	83,333 a	0	1,233 abcd

P = % 1

P = % 1

Üçüncü parti denemede *P. expansum*'a karşı etkili kontrol sağlayan maya izolatu bulunamamıştır (Çizelge 3.2.3a).

Aynı parti, *B. cinerea* denemelerinde, maya izolatlarından en etkili kontrolü 105 nolu maya sağlamış % 83,33 etki ve 0,126 cm yara çapı ortalaması ile en etkili bulunurken, % 58,33 etki ile 45 nolu maya, 0,284 cm yara çapı ortalamasıyla, % 50 etki ile ve 1,292 cm yara çapı ortalamasıyla 190 nolu izolat ve % 41,667 etki, 0,592 cm yara çapı ortalaması ile P = % 1 öneme göre başarılı bulunmuştur (Çizelge 3.2.3b).

Çizelge 3.2.3a. Farklı mayaların, *P. expansum* üzerine etkileri

İzolat Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	2,917 ab
23	100 a	0	3,042 a
45	91,667 a	8,333	1,750 cd
87	91,667 a	8,333	1,792 cd
102	91,667 a	8,333	2,474 abc
105	100 a	0	2,058 cd
115	100 a	0	1,958 cd
162	100 a	0	2,958 ab
190	91,667 a	8,333	2,433 abc
193	100 a	0	2,325 abc
196	100 a	0	1,975 cd
215	100 a	0	2,417 abc
252	100 a	0	2,250 abc
255	100 a	0	2,208 abcd
261	91,667 a	8,333	1,417 d
266	100 a	0	2,292 abc
278	100 a	0	2,292 abc
285	100 a	0	2,3 abc
286	100 a	0	2,142 bcd
295	100 a	0	2,917 ab

P = % 5

P = % 1

Çizelge 3.2.3b. Farklı mayaların *B. cinerea* üzerine etkileri

İzolot Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	5,008 a
23	100 a	0	5,042 a
45	41,667 ab	58,333	0,284 f
87	75 ab	25	1,250 def
102	91,667 a	8,333	1,342 def
105	16,667 b	83,333	0,126 f
115	75 ab	25	1,250 def
162	100 a	0	3,792 abc
190	50 ab	50	1,292 def
193	100 a	0	1,850 bcdef
196	66,667 ab	33,333	1,075 def
215	100 a	0	2,325 bcde
252	75 ab	25	0,525 ef
255	83,334 a	16,666	3 abcd
261	66,667 ab	33,333	1,025 def
266	75 ab	25	1,350 def
278	58,333 ab	41,667	0,592 ef
285	75 ab	25	0,725 ef
286	83,333 a	16,667	1,542 cdef
295	100 a	0	4,042 ab

P = % 1

P = % 1

Dördüncü parti *P. expansum* denemesinde, 175 nolu izolatın, P = % 1 öneme göre 2,850 cm yara çapı ortalaması ve % 25 etkisi ile yara çapında azaltıcı etkisi gözlenmiştir (Çizelge 3.2.4a).

Dördüncü parti *B. cinerea* denemesinde ise 110 ve 57 nolu izolatlar % 100 etki ile tam kontrolü sağlarken, 58 nolu izolat 91,666 etki ile ve $P = \% 1$ 'e göre 0,334 cm yara çapı ortalaması ile etkili, 154, 107, 62 nolu izolatlar % 83,33 etki gösterdiği ve % 75 ila % 16,667 etki ile 12 farklı maya etkileri gözlenmiştir (Çizelge 3.2.4b).

Çizelge 3.2.4a. Farklı mayaların, *P. expansum* üzerine etkileri

İzolat Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	4,292 a
20	83,334 a	16,666	3,208 a
57	100 a	0	3,875 a
58	100 a	0	3,625 a
62	100 a	0	3,958 a
64	83,333 a	16,667	3,083 a
75	91,667 a	8,333	3,458 a
77	83,333 a	16,667	3,625 a
78	100 a	0	3,8 a
83	100 a	0	3,750 a
106	100 a	0	3,583 a
107	76,667 a	23,333	3,208 a
110	100 a	0	3,875 a
154	83,333 a	16,667	3,083 a
173	91,667 a	8,333	3,392 a
175	75 a	25	2,850 a
209	100 a	0	3,917 a
211	91,667 a	8,333	3,625 a
230	100 a	0	3,625 a
316	83,333 a	16,667	3,292 a

$P = \% 1$

$P = \% 1$

Çizelge 3.2.4b. Farklı mayaların *B. cinerea* üzerine etkileri

İzolot Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	5,667 a
20	58,333 abcde	41,667	2,125 abcde
57	0 e	100	0,151 de
58	8,334 de	91,666	0,334 de
62	16,667 cde	83,333	0,709 de
64	50 abcde	50	1,292 cde
75	25 bcde	75	0,751 de
77	66,667 abcd	33,333	2,708 abcde
78	100 a	0	5,292 ab
83	58,334 abcde	41,666	1,775 cde
106	41,667 abcde	58,333	1,667 cde
107	16,668 cde	83,332	0,668 de
110	0 e	100	0 e
154	16,668 cde	83,332	0,326 de
173	83,333 ab	16,667	3,708 abc
175	41,667 abcde	58,333	1,334 cde
209	50 abcde	50	0,875 cde
211	33,334 bcde	66,666	1,959 bcde
230	33,334 bcde	66,666	0,434 de
316	75 abc	25	1,725 cde

P = % 1

P = % 1

Beşinci parti *P. expansum* denemelerinde, Variant analiz tablosuna göre, % 33,33 etki ile 85 nolu izolot P = % 1'e göre 1,959 cm yara çapı ortalamasıyla en etkili gözlenmiştir.

Aynı parti *B. cinerea* denemelerinde, % 44,44 etki ile ve P = % 1'e göre 0,834 cm yara çapı ortalaması ile 85 nolu maya izolotı etkili bulunmuştur (Çizelge 3.2.5b).

Altıncı ve yedinci parti denemelerinde *P. expansum* ve *B. cinerea*'ya karşı denenen mayalar içinde etki yüzdesi yüksek olan maya izolatına rastlanmamıştır (Çizelge 3.2.6a,b, Çizelge 3.2.7a,b).

Çizelge 3.2.5a. Farklı mayaların, *P. expansum* üzerine etkileri

İzolat Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	3,667 ab
14	100 a	0	3,425 ab
60	75 ab	25	2,375 b
85	66,667 b	33,333	1,959 b
90	100 a	0	3,208 b
103	100 a	0	3,783 ab
119	100 a	0	3,975 ab
158	91,667 ab	8,333	7,083 a
197	100 a	0	3,458 ab
210	100 a	0	3,417 ab
214	83,333 ab	16,667	2,384 b
223	100 a	0	3,675 ab
235	100 a	0	3,625 ab
243	100 a	0	3,492 ab
267	100 a	0	3,792 ab
281	83,333 ab	16,667	2,725 b
283	100 a	0	3,667 ab
284	100 a	0	3,542 ab
298	100 a	0	3,667 ab
299	100 a	0	3,750 ab
304	100 a	0	3,542 ab
317	100 a	0	3,583 ab
318	91,667 ab	8,333	3,200 b

P = % 1

P = % 1

Çizelge 3 2 5b. Farklı mayaların *B. cinerea* üzerine etkileri

İzolat Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	83,333 ab	0	2,917 def
14	100 a	0	3,125 cde
60	75 ab	0	1,683 efg
85	41,667 b	44,44	0,834 g
90	83,334 ab	0	2,667 defg
103	75 ab	0	2,250 defg
119	100 a	0	6,250 a
158	100 a	0	3,750 bcd
197	100 a	0	3,125 cde
210	100 a	0	3,242 cde
214	100 a	0	2,725 defg
223	66,667 ab	11,11	1,117 fg
235	100 a	0	3,875 abcd
243	75 ab	0	1,667 efg
267	100 a	0	5,667 ab
281	83,333 ab	0	2,142 defg
283	100 a	0	2,975 def
284	100 a	0	3,875 abcd
298	100 a	0	5,185 abc
299	100 a	0	5,333 abc
304	91,667 a	0	2,333 defg
317	91,667 a	0	2,917 def
318	100 a	0	2,267 defg

P = % 1

P = % 1

Çizelge 3.2.6a. Farklı mayaların, *P. expansum* üzerine etkileri

İzolat Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	4,625 ab
11	100 a	0	4,767 a
43	100 a	0	3,942 c
59	100 a	0	4,050 bc
61	100 a	0	4,125 abc
100	100 a	0	4,108 abc
113	100 a	0	4,4 abc
213	100 a	0	4,658 ab
235	100 a	0	4,125 abc
253	100 a	0	4,325 abc
263	100 a	0	4,317 abc
269	100 a	0	4,083 abc
273	100 a	0	4,308 abc
282	100 a	0	4,217 abc
301	100 a	0	4,608 ab

P = % 1

P = % 1

Çizelge 3.2.6b. Farklı mayaların *B. cinerea* üzerine etkileri

İzolot Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	8,625 a
11	100 a	0	4,750 abcdef
43	100 a	0	6,208 abcde
59	100 a	0	3,558 def
61	100 a	0	3,650 def
100	83,333 a	16,667	2,717 ef
113	91,667 a	8,333	5,250 abcdef
213	100 a	0	7,5 abc
235	100 a	0	7,833 ab
253	100 a	0	3,792 cdef
263	100 a	0	2,642 f
269	100 a	0	3,892 bcdef
273	100 a	0	8,333 a
282	100 a	0	6,875 abcd
301	100 a	0	7,5 abc

P = % 1

P = % 1

Çizelge 3.2.7a. Farklı mayaların, *P. expansum* üzerine etkileri

İzolot Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	3,658 a
M ₁	100 a	0	3,133 a
M ₂	100 a	0	3,5 a
1	100 a	0	3,583 a
24	100 a	0	3,308 a
56	91,667 a	8,333	3,025 a
65	100 a	0	3,017 a
114	100 a	0	3,283 a
177	100 a	0	3,542 a
188	100 a	0	3,208 a
189	91,667 a	8,333	3,242 a
212	100 a	0	3,083 a
249	100 a	0	3,392 a
259	100 a	0	3,100 a
260	100 a	0	3,167 a
263	100 a	0	3,017 a
264	100 a	0	3,042 a
275	100 a	0	3,625 a
294	100 a	0	3,383 a
312	100 a	0	3,033 a

P = % 1

P = % 1

Çizelge 3.2 7b. Farklı mayaların *B. cinerea* üzerine etkileri

İzolat Numarası	Hastalık Yüzdesi	Etki Yüzdesi	Yara Çapı (cm)
K	100 a	0	8 a
M ₁	100 a	0	5,542 bcde
M ₂	100 a	0	6,458 abc
1	100 a	0	5,850 abcd
24	100 a	0	7 ab
56	100 a	0	6,083 abcd
65	100 a	0	4,5 cdefg
114	100 a	0	6,542 abc
177	100 a	0	4,4 efg
188	100 a	0	6,042 abcd
189	100 a	0	7 ab
212	100 a	0	6,5 abc
249	83,334 a	16,666	3,834 defg
259	100 a	0	5,125 bcdef
260	100 a	0	5,875 abcd
263	100 a	0	2,692 g
264	100 a	0	2,975 fg
275	100 a	0	7 ab
294	100 a	0	5,875 abcd
312	100 a	0	4,333 cdefg

P = % 1

P = % 1

3.2.2. +4°C'de depo elma denemeleri

Çizelge 3.1'de görüleceği gibi, 22°C'de yapılan elma denemelerinde, etkili antagonistik aktiviteleri gözlenen maya izolatlarından 13 tanesi seçilerek +4°C'deki depolarda etkileri araştırılmıştır.

22°C'de yapılan denemeler, yöntemler 2.5. bölümünde anlatıldığı gibi aynen uygulanmış seçilen 13 maya izolatu *P. expansum* ve *B. cinerea*'ya karşı tek tek denenmiştir. +4°C'de soğuk hava deposunda 5 hafta bekletilmiştir. Alınan sonuçlara göre *P. expansum*'a karşı denenen 13 mayadan 36 nolu maya izolatu % 100 etki, 85 nolu izolatu % 90 etki, 45, 154, 110 nolu izolatlara % 80 etki, 75, 33, 58 nolu izolatlara % 70 etki, 105 nolu izolatu % 60 etki, 66 nolu izolatu % 50 etki, 108 ve 277 nolu izolatlara % 40 etki gösterirken, 116 nolu maya izolatu etkisiz bulunmuştur (Çizelge 3.2.2.1).

+4°C'de soğuk hava depolarında *B. cinerea*'ya karşı denenen 13 maya izolatından, 85 nolu, % 40 etki, 75 ve 45 nolu izolatlara % 10 etki gösterirken diğer 10 maya izolatu etkisiz bulunmuştur (Çizelge 3.2.2.1).

Çizelge 3.2.2.1. *P. expansum* ve *B. cinerea*'ya etkileri denenmiş maya izolatlarının 22°C ve +4°C'deki deneme sonuçları

İzolasyon	İzolatu numarası	<i>P. expansum</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)
Meyve	1	0		0	
Çiçek	7	8,4		50	
Çiçek	11	0		0	
Yaprak	13	8,4		25	
Yaprak	14	0		0	
Meyve	20	16,7		41,7	
Yaprak	23	0		0	
Meyve	24	0		0	
Meyve	25	25		8,4	
Çiçek	27	0		83,4	
Çiçek	33	41,7	70	41,7	0
Meyve	36	41,7	100	100	0
Yaprak	43	0		0	
Meyve	45	8,4	80	58,4	10
Yaprak	48	0		25	

Çizelge 3.2.2.1. (devam)

İzolasyon	İzolot numarası	<i>P. expansum</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)
Yaprak	56	8,4		0	
Meyve	57	0		83,4	
Yaprak	58	0	70	92	0
Meyve	59	0		0	
Meyve	60	25		25	
Meyve	61	0		0	
Meyve	62	0		83,4	
Yaprak	63	8,4		8,4	
Meyve	64	16,7		66,7	
Meyve	65	0		0	
Meyve	66	50	50	8,4	0
Yaprak	71	25		25	
Çiçek	75	8,4	70	75	10
Meyve	77	16,7		33,4	
Çiçek	78	0		0	
Meyve	83	0		41,7	
Meyve	85	33,4	90	66,7	40
Yaprak	87	8,4		25	
Yaprak	88	16,7		8,4	
Meyve	89	0		8,4	
Meyve	90	0		16,7	
Yaprak	91	8,4		100	
Çiçek	92	16,7		33,4	
Yaprak	93	0		0	
Meyve	100	0		8,4	
Meyve	102	8,4		8,4	
Yaprak	103	0		25	

Çizelge 3.2.2.1. (devam)

İzolasyon	İzolot numarası	<i>P. expansium</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)
Meyve	107	8,4		83,4	
Çiçek	108	16,7	40	92	0
Meyve	109	8,4		58,4	
Meyve	110	0	80	100	0
Çiçek	111	8,4		25	
Yaprak	113	0		8,4	
Çiçek	114	0		0	
Yaprak	115	0		25	
Yaprak	116	42	0	0	0
Çiçek	119	0		0	
Çiçek	120	33,4		0	
Yaprak	121	0		41,7	
Yaprak	154	16,7	80	83,4	0
Meyve	158	8,4		0	
Yaprak	162	0		0	
Meyve	173	8,4		25	
Yaprak	175	25		50	
Meyve	177	0		0	
Meyve	188	0		0	
Yaprak	189	8,4		0	
Meyve	190	8,4		50	
Meyve	193	0		0	
Meyve	196	0		33,4	
Yaprak	197	0		0	
Meyve	205	16,7		8,4	
Yaprak	209	0		58,4	
Yaprak	210	0		0	

Çizelge 3.2.2.1. (devam)

İzolasyon	İzolat numarası	<i>P. expansum</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)
Yaprak	212	0		0	
Meyve	213	0		0	
Yaprak	214	25		0	
Yaprak	215	0		0	
Meyve	223	0		33,4	
Meyve	230	0		66,7	
Meyve	235	0		0	
Meyve	235	0		0	
Meyve	243	0		25	
Meyve	249	0		16,7	
Yaprak	252	0		25	
Yaprak	253	0		0	
Çiçek	255	0		16,7	
Çiçek	255	0		0	
Meyve	256	0		33,4	
Meyve	259	0		0	
Çiçek	260	0		0	
Meyve	261	8,4		33,4	
Meyve	263	0		8,4	
Meyve	263	0		0	
Meyve	264	0		0	
Meyve	265	0		16,7	
Yaprak	266	0		25	
Meyve	267	0		0	
Yaprak	269	0		0	
Meyve	273	0		0	
Çiçek	275	0		0	

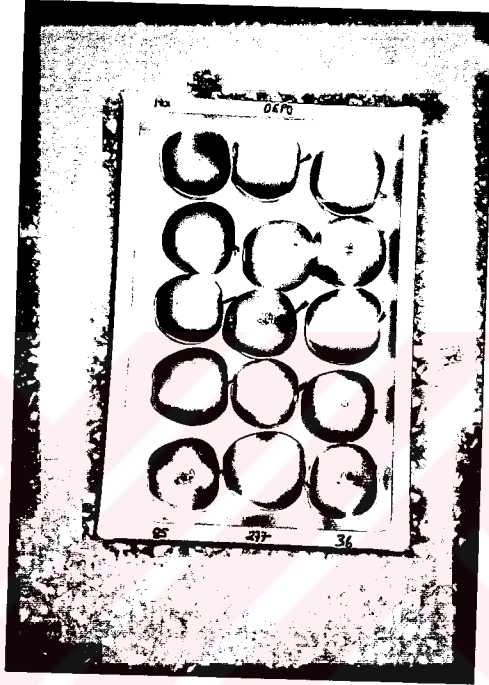
Çizelge 3.2.2.1. (devam)

İzolasyon	İzolot numarası	<i>P. expansum</i>		<i>B. cinerea</i>	
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Etki yüzdesi (4°C)
Meyve	278	0		41,7	
Çiçek	279	25		16,7	
Yaprak	281	16,7		16,7	
Meyve	282	0		0	
Yaprak	283	0		0	
Yaprak	284	0		0	
Meyve	285	0		25	
Meyve	286	0		16,7	
Yaprak	294	0		0	
Meyve	295	0		0	
Meyve	298	0		0	
Meyve	299	0		0	
Meyve	301	0		0	
Yaprak	304	0		8,4	
Yaprak	312	0		0	
Yaprak	316	16,7		41,7	
Yaprak	317	0		8,4	
Meyve	318	8,4		0	
Yaprak	M ₁	0		0	
Yaprak	M ₂	0		0	

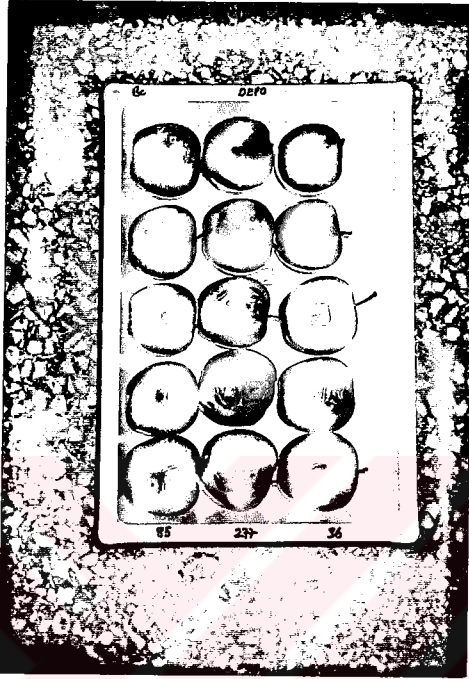
Aynı maya izolotlarının +4°C'de *P. expansum* ve *B. cinerea*'ya karşı etkileri farklılık göstermiştir. 85, 277 ve 36 nolu maya izolotlarıyla yapılan *P. expansum* ve *B. cinerea* denemelerindeki farklı etkilere örnek olarak Şekil 3.2.2. 1a ve b'de verilmiştir.

Şekilden de anlaşılacağı gibi *P. expansum* +4°C denemelerinde 85 ve 36 nolu izolotların uygulandığı elmalarda hiç çürüme gözlenmezken, 277 nolu izolot denemelerinde, yara sayılarında azalma gözlenmiştir (Şekil 3.2.2. 1a).

B. cinerea +4°C denemelerinde 85 nolu izolatta yara sayılarında azalma, 277 nolu izolatta yaraların tamamında çürüme görülürken, 36 nolu izolatta yara çaplarında küçülme saptanmıştır (Şekil 3.2.2.1b).



Şekil 3.2.2.1a. Bazı maya izolatlarının depo koşullarında *P. expansum*'a karşı etkileri



Şekil 3.2.2.1b. Bazı maya izolatlarının depo koşullarında *B. cinerea*'ya karşı etkileri

+4°C'deki elma denemelerinde de, hastalık yüzdeleri ve yara çapı ortalamaları bakımından farklılıklar gözlenmiştir. Deneme kendi içinde kontrole kıyaslanarak Duncan Çoklu Testi ile Varyant analizleri yapılmış P = % 1 öneme göre tabloları oluşturulmuştur (Çizelge 3.2.2.2a, b).

P. expansum ve *B. cinerea*'ya maya izolatlarının etkisi ayrı ayrı hesaplanmıştır. Oluşturulan varyant analiz tablolarından hastalık yüzdesi ve yara çapı ortalamalarına göre maya izolatlarının kontrol etkisi grafiklerle gösterilmiştir. (+4°C elma denemeleri) (Şekil 3.2.3.1a,b, Şekil 3.2.3.2a, b).

+4°C'deki elma denemelerinde *B. cinerea*'lara karşı denenen mayalardan, 85 nolu izolat % 40 etki ile ve 1,82 cm yara çapı ortalaması ile P = % 1 önemli görülürken, *P. expansum* denemelerinde 33 nolu izolat % 100 etki ile tam koruma sağlarken, 116 nolu

izolat % 90 etki, 110, 66, 105 nolu izolatlara ise % 80 etki göstermiş, diğer 7 izolat % 40 ila % 70 arasında etki gösterirken 154 nolu maya etkisiz bulunmuştur (Çizelge 2.2.2a,b).

Çizelge 3.2.2.2a. 13 farklı maya izolatinin +4°C'de *B. cinerea*'lara karşı etkileri

İzolat No.	<i>B. cinerea</i>		Etki (%)
	Hastalık %	Yara Çapı (cm)	
Kontrol	100,0 a	4,12 abcd	0
33	100,0 a	3,55 abcd	0
36	100,0 a	2,125 abcd	0
45	90,0 ab	1,89 abcd	10
58	100,0 a	2,97 ab	0
66	100,0 a	3,85 abcd	0
75	90,0 ab	2,85 abcd	10
85	60,0 b	1,82 abcd	40
105	100,0 a	3,03 ab	0
108	100,0 a	3,29 cd	0
110	100,0 a	2,7 a	0
116	100,0 a	3,65 abcd	0
154	100,0 a	2,93 ab	0
277	100,0 a	3,45 d	0

P = %1

P = %1

Çizelge 3.2.2.2b. 13 farklı maya izolatuunun, +4°C'de *P. expansum*'a karşı etkileri

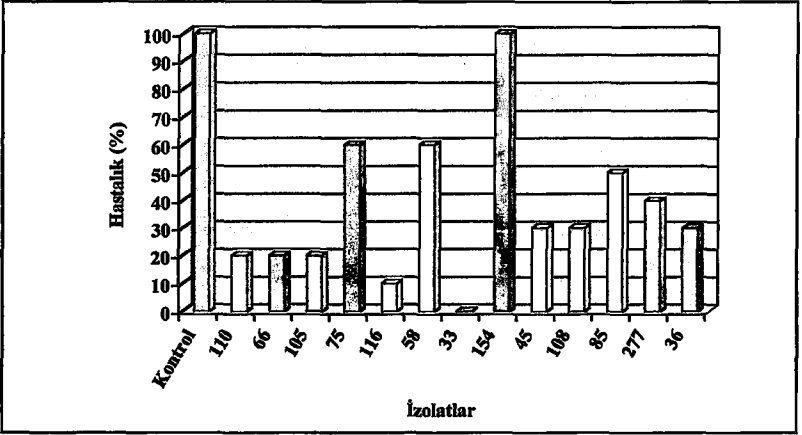
İzolat No.	<i>P. expansum</i>		Etki (%)
	Hastalık %	Yara Çapı (cm)	
Kontrol	100,0 a	1,88 a	0
33	0,000 b	0,00 b	100
36	30,00 ab	0,17 b	70
45	30,00 ab	0,21 b	70
58	60,00 ab	1,1 ab	40
66	20,00 ab	0,13 b	80
75	60,00 ab	0,7 ab	40
85	50,00 ab	0,52 ab	50
105	20,00 ab	0,26 b	80
108	30,00 ab	0,26 b	70
110	20,00 ab	0,23 b	80
116	10,00 ab	0,05 b	90
154	100,0 a	1,83 a	0
277	40,00 ab	0,41 b	60

P = %I

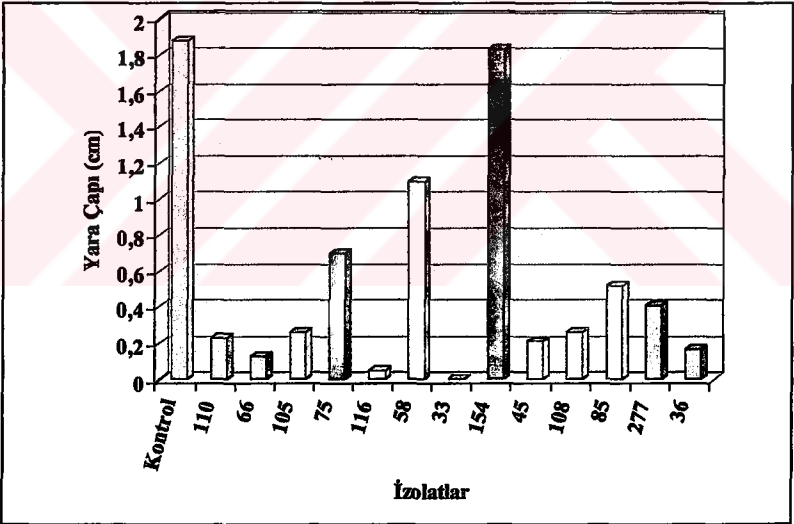
P = % I

Seçilen 13 tane maya izolatu yapılan soğuk hava denemelerinde (+4°C), mayaların *P. expansum*'a karşı etkileri Şekil 3.2.3. 1a'daki grafikte gösterilmiştir. Buna göre en başarılı antagonistik etkiyi 33 nolu izolat göstermiştir. Onu 116 nolu izolat ve 110, 66, 105 nolu izolatlara izlemiştir.

Mayaların yara çapı üzerindeki etkilerini açıklayan grafikte ise *P. expansum* 33 nolu izolatta hiç çürümeye oluşturmamıştır. Yara çapını küçülten maya izolatlara sırasıyla 116, 66, 36, 45, 110, 108, 105, 277, 85, 75, 58 ve 154 olarak belirlenmiştir (Şekil 3.2.3. 1b).



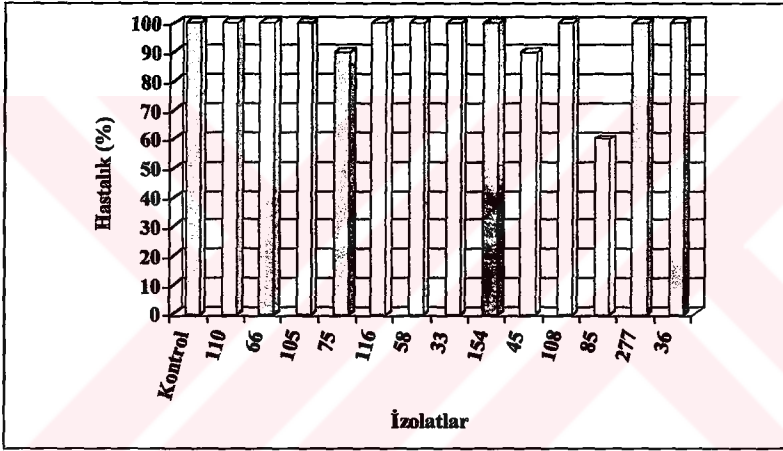
Şekil 3.2.3.1a. Bazı maya izolatlarının soğuk hava koşullarında elmalarda *P. expansum*'un neden olduğu hastalık üzerindeki etkileri



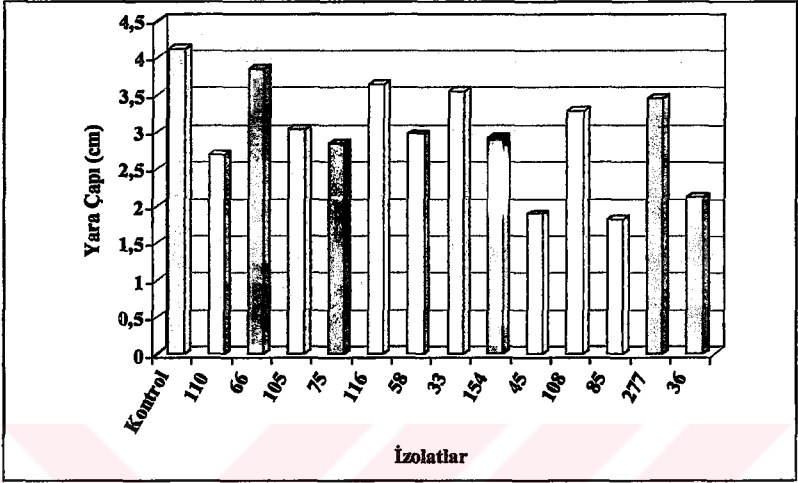
Şekil 3.2.3.1b. Bazı maya izolatlarının soğuk hava koşullarında elmalarda *P. expansum*'un neden olduğu yara çapı (cm) üzerindeki etkileri

+4°C soğuk hava koşullarında yapılan elma denemelerinde, *B. cinerea*'ların neden olduğu hastalık üzerine mayaların etkisini gösteren grafiğe bakıldığında (Şekil 3.2.3.2a), hastalık yüzdesi en düşük gözlenen 85 nolu maya izolatıdır. Onu 75 nolu maya izolatı izlemektedir. Diğer mayalarda kontrole yakın hastalık yüzdeleri saptanmıştır.

Mayaların elmalarda soğuk hava koşullarında *B. cinerea*'nın neden olduğu yara çapları üzerine etkisini gösteren grafiğe bakıldığında, yara çapı en küçük alan 85 nolu izolat olmuş, onu 45, 36, 110 nolu izolatlar izlemiştir. Diğer yara çapları kontrol yara çaplarına yakın olarak gözlenmiştir (Şekil 3.2.3.2b).



Şekil 3.2.3.2a. Bazı maya izolatlarının soğuk hava koşullarında elmalarda *B. cinerea*'nın neden olduğu hastalık üzerindeki etkileri



Şekil 3.2.3.2b. Bazı maya izolatlarının soğuk hava koşullarında elmalarda *B. cinerea*'nın neden olduğu çürüklük büyüklüğü üzerine etkileri

3.3. Hiperparazitizm, tutunma denemeleri (attachment)

Hiperparazitizm denemeleri için 123 maya izolatı içinden seçilen 44 maya izolatı kullanılmıştır (Çizelge 3.3.1).

Çizelge 3.3.1. *B. cinerea* ve *P. expansum* etki mekanizmaları araştırılan 123 maya izolatının numarası izolasyonunun nereden yapıldığı, antibiyosis etki şekli, antibiyosis zon çapı, Hiperparazitizmle ilgili tutunma sonuçları, in-vivo elma denemelerinde 22°C ve +4°C'de depo deneme sonuçları ve etki yüzdeleri

İzolasyon	İzolat numarası	<i>P. expansum</i>					<i>B. cinerea</i>				
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)
Meyve	1	0	inh	2,03			0	inh	2,12		
Çiçek	7	8,4	-	0	(+)		50	-	0	(+)	
Çiçek	11	0	-	0			0	-	0		
Yaprak	13	8,4	-	0	(-)		25	-	0	(-)	
Yaprak	14	0	-	0			0	-	0		

Çizelge 3.3.1. (devam)

İzolasyon	İzolat numarası	<i>P. expansum</i>					<i>B. cinerea</i>				
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)
Meyve	20	16,7	-	0			41,7	-	0		
Yaprak	23	0	-	0	(-)		0	-	0	(-)	
Meyve	24	0	-	0			0	-	0		
Meyve	25	25	-	0	(+)		8,4	-	0	(+)	
Çiçek	27	0	-	0	(-)		83,4	çök	3,3	(+)	
Çiçek	33	41,7	-	0	(-)	70	41,7	çök	3,05	(+)	0
Meyve	36	41,7	-	0	(+)	100	100	-	0	(+)	0
Yaprak	43	0	-	0			0	-	0		
Meyve	45	8,4	-	0	(-)	80	58,4	-	0	(-)	10
Yaprak	48	0	-	0	(-)		25	inh	3,77	(-)	
Yaprak	51	0	-	0	(-)		0	çök	3,64	(+)	
Yaprak	56	8,4	-	0			0	-	0		
Meyve	57	0	kh	2,43			83,4	kh	2,15		
Yaprak	58	0	kh	2,43	(+)	70	92	kh	2,25	(+)	0
Meyve	59	0	kh	2,6			0	kh	2,3		
Meyve	60	25	-	0			25	-	0		
Meyve	61	0	kh	2,55			0	kh	2,5		
Meyve	62	0	-	0			83,4	-	0		
Yaprak	63	8,4	-	0	(-)		8,4	çök	2,85	(+)	
Meyve	64	16,7	-	0			66,7	-	0		
Meyve	65	0	-	0			0	-	0		
Meyve	66	50	-	0	(-)	50	8,4	-	0	(+)	0
Yaprak	71	25	-	0	(-)		25	çök	3,92	(-)	
Çiçek	75	8,4	ink	1,47	(+)	70	75	inh	2,9	(+)	10
Meyve	77	16,7	-	0			33,4	-	0		
Çiçek	78	0	-	0			0	-	0		

Çizelge 3.3.1. (devam)

İzolasyon	İzolot numarası	<i>P. expansum</i>					<i>B. cinerea</i>				
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)
Meyve	83	0	kh	2,23			41,7	kh	2,4		
Meyve	85	33,4	kh	1,28	(-)	90	66,7	kh	2,7	(+)	40
Yaprak	87	8,4	-	0	(+)		25	inh	3,63	(+)	
Yaprak	88	16,7	inh	3,88	(+)		8,4	inh	3,7	(+)	
Meyve	89	0	-	0	(-)		8,4	-	0	(-)	
Meyve	90	0	-	0			16,7	-	0		
Yaprak	91	8,4	-	0	(-)		100	çök	3,55	(+)	
Çiçek	92	16,7	-	0	(-)		33,4	çök	3,15	(-)	
Yaprak	93	0	-	0	(-)		0	çök	3,97	(+)	
Meyve	100	0	-	0			8,4	-	0		
Meyve	102	8,4	-	0			8,4	-	0		
Yaprak	103	0	-	0			25	-	0		
Çiçek	104	25	-	0	(+)		83,4	-	0	(+)	
Yaprak	105	0	inh	2,53	(+)	60	83,4	inh	3,1	(+)	0
Meyve	106	0	kh	2,8			50	kh	2,7		
Meyve	107	8,4	-	0	(-)		83,4	-	0	(+)	
Çiçek	108	16,7	-	0	(-)	40	92	-	0	(+)	0
Meyve	109	8,4	inh	2,2	(-)		58,4	çök	2,8	(+)	
Meyve	110	0	-	0	(-)	80	100	-	0	(+)	0
Çiçek	111	8,4	-	0	(-)		25	-	0	(-)	
Yaprak	113	0	-	0			8,4	-	0		
Çiçek	114	0	-	0			0	-	0		
Yaprak	115	0	inh	2,3			25	inh	2,92		
Yaprak	116	42	inh	4,94	(-)	0	0	inh	2,3	(-)	0
Çiçek	119	0	-	0			0	-	0		
Çiçek	120	33,4	-	0	(+)		0	çök	3,05	(+)	

Çizelge 3.3.1. (devam)

İzolasyon	İzolot numarası	<i>P. expansum</i>					<i>B. cinerea</i>				
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)
Yaprak	121	0	-	0	(-)		41,7	çök	3,3	(-)	
Yaprak	154	16,7	kh	2,2	(+)	80	83,4	kh	2,6	(-)	0
Meyve	158	8,4	-	0			0	-	0		
Yaprak	162	0	-	0			0	-	0		
Meyve	173	8,4	kh	1,9			25	kh	2,0		
Yaprak	175	25	inh	2,14			50	inh	2,52		
Meyve	177	0	kh	2,4			0	kh	2,2		
Meyve	188	0	-	0			0	-	0		
Yaprak	189	8,4	-	0			0	-	0		
Meyve	190	8,4	-	0			50	-	0		
Meyve	193	0	-	0			0	-	0		
Meyve	196	0	inh	2,9			33,4	inh	2,8		
Yaprak	197	0	-	0			0	-	0		
Meyve	205	16,7	-	0	(-)		8,4	-	0	(+)	
Yaprak	209	0	inh	2,37			58,4	inh	2,2		
Yaprak	210	0	-	0			0	-	0		
Yaprak	211	8,4	kh	2,85			50	kh	2,63		
Yaprak	212	0	-	0			0	-	0		
Meyve	213	0	-	0	(-)		0	çök	2,34	(-)	
Yaprak	214	25	-	0			0	-	0		
Yaprak	215	0	kh	2,6			0	kh	2,8		
Meyve	223	0	kh	2,6			33,4	kh	2,1		
Meyve	230	0	kh	2,6			66,7	kh	2,73		
Meyve	235	0	-	0			0	-	0		
Meyve	235	0	-	0			0	-	0		
Meyve	243	0	-	0			25	-	0		

Çizelge 3.3.1. (devam)

İzolasyon	İzolat numarası	<i>P. expansum</i>					<i>B. cinerea</i>				
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutumma)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutumma)	Etki yüzdesi (4°C)
Meyve	249	0	kh	2,35			16,7	kh	2,2		
Yaprak	252	0	kh	2,65			25	kh	2,5		
Yaprak	253	0	kh	2,43			0	kh	2,18		
Çiçek	255	0	-	0	(-)		16,7	çök	2,97	(+)	
Çiçek	255	0	-	0			0	çök	2,97		
Meyve	256	0	-	0	(-)		33,4	-	0	(+)	
Meyve	259	0	-	0			0	çök	3,27		
Çiçek	260	0	-	0			0	-	0		
Meyve	261	8,4	kh	2,55			33,4	kh	2,92		
Meyve	263	0	kh	2,4			8,4	kh	2,0		
Meyve	263	0	kh	2,4			0	kh	2,0		
Meyve	264	0	kh	2,67			0	kh	2,43		
Meyve	265	0	-	0	(-)		16,7	-	0	(-)	
Yaprak	266	0	kh	2,1			25	kh	2,05		
Meyve	267	0	-	0			0	-	0		
Yaprak	269	0	kh	2,33			0	kh	2,08		
Meyve	273	0	-	0			0	çök	3,37		
Çiçek	275	0	-	0	(-)		0	-	0	(-)	
Meyve	276	25	-	0	(+)		25	çök	4,17	(+)	
Yaprak	277	41,7	-	0	(-)	40	8,4	çök	2,05	(-)	0
Meyve	278	0	-	0	(-)		41,7	-	0	(+)	
Çiçek	279	25	-	0	(-)		16,7	çök	3,4	(+)	
Yaprak	281	16,7	-	0			16,7	-	0		
Meyve	282	0	-	0			0	-	0		
Yaprak	283	0	-	0			0	-	0		
Yaprak	284	0	-	0			0	-	0		

Çizelge 3.3.1. (devam)

İzolasyon	İzolat numarası	<i>P. expansum</i>					<i>B. cinerea</i>				
		Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)	Etki yüzdesi (22±2°C)	Antibiyosis etki şekli	Antibiyosis zon çapı (mm)	Attachment (tutunma)	Etki yüzdesi (4°C)
Meyve	285	0	kh	2,5			25	kh	2,9		
Meyve	286	0	-	0			16,7	-	0		
Yaprak	294	0	-	0			0	-	0		
Meyve	295	0	-	0			0	-	-		
Meyve	298	0	-	0			0	-	0		
Meyve	299	0	-	0			0	-	0		
Meyve	301	0	-	0			0	-	0		
Yaprak	304	0	-	0			8,4	-	0		
Yaprak	312	0	kh	2,78			0	kh	2,73		
Yaprak	316	16,7	-	0	(-)		41,7	-	0	(+)	
Yaprak	317	0	-	0			8,4	-	0		
Meyve	318	8,4	-	0			0	-	0		
Yaprak	M ₁	0	-	0			0	-	0		
Yaprak	M ₂	0	-	0			0	-	0		

Işık mikroskopisi ile yapılan ilk çalışmalar 44 maya izolatını içermektedir.

SEM çalışmalarında 44 maya içinden seçilen 4 izolat tutunma yeteneği bakımından *B. cinerea* ve *P. expansum*'a denenmiştir.

TEM çalışmalarında ise soğuk hava depolarında her iki patojene birden başarılı antagonistik etki gösteren 85 nolu maya izolatu denenmiştir.

3.3.1. Işık mikroskopunda hiperparazitizm, tutunma denemeleri

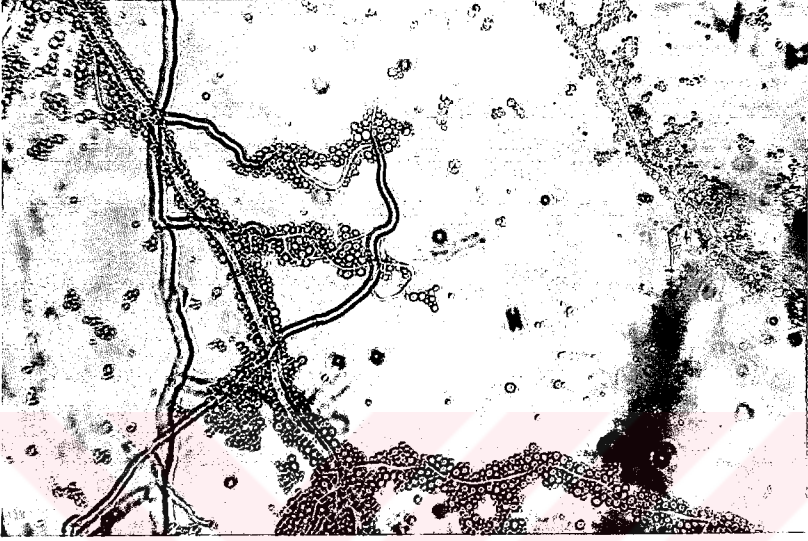
Işık mikroskopisi için hazırlanan, PDA üzerinde patojen-maya karşılaşmasının yapıldığı bölgelerden parçalar alınarak lam ile lamel arasına yerleştirilerek incelenmiştir. Patojen hifler üzerine mayaların tutunma yeteneği var ise (+), yok ise (-) olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.3.1)'de görüldüğü gibi *B. cinerea* hiflerine tutunma

yeteneği olan 29 tane maya izolatu gözlenmiştir. *P. expansum* hiflerine tutunma yeteneği olan 15 maya izolatu saptanmıştır.

B. cinerea hiflerine mayaların kümeler halinde, adeta hifleri sararcasına tutunduğu, *P. expansum* hiflerine ise yer yer birkaç maya hücresinin tutunduğu gözlenmiştir (şekil 3.3.1a, b, c, şekil 3.3.2).



şekil 3.3.1a. 279 notlu maya izolatının *B. cinerea* hiflerine tutunması (Işık mikroskobisi x 200)



Şekil 3.3.1b. 33 nolu maya izolatının *B. cinerea* hiflerine tutunması (Işık mikroskobisi x 200)



Şekil 3.3.1c. 93 nolu maya izolatının *B. cinerea* hiflerine tutunması (Işık mikroskobisi x 200)



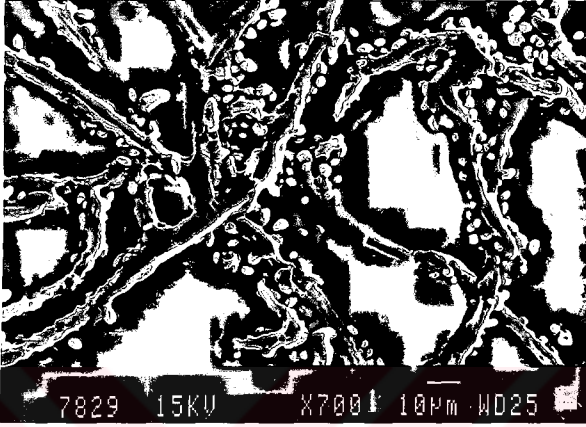
Şekil 3.3.2. *P. expansum* hiflerine tutunmamış 33 nolu maya izolatlarının ışık mikroskobu görüntüsü x 200

3.3.2. SEM'de tutunma denemeleri

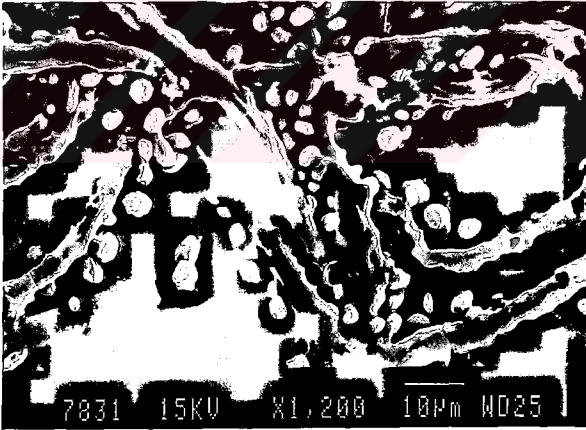
SEM'de tutunma yetenekleri bakımından 36, 75, 85, 110 nolu maya izolatları incelenmiştir.

İncelenen 4 maya izolatın *B. cinerea*'ya tutunma yeteneğinin varlığı SEM mikrographları ile ortaya konulmuştur.

75 nolu izolatın *B. cinerea* üzerine tutunması değişik büyütmelemlerle incelenmiştir. Maya hücrelerinin hifleri sorması ve sıkıca tutunması gözlemlenmiştir (Şekil 3.3.2.1a, b).

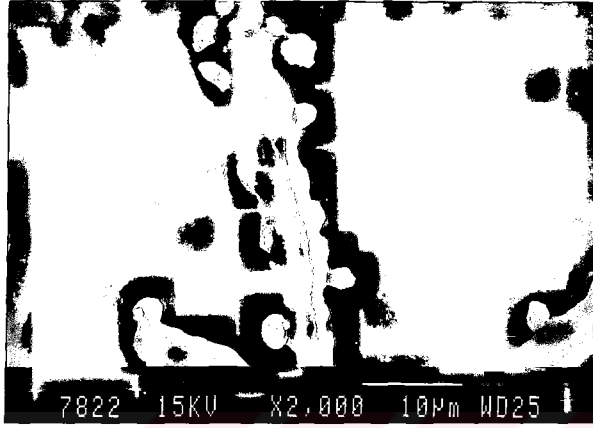


Şekil 3.3.2.1a. 75 nolu izolatın *B. cinerea* hiflerine tutunması. (x 700) SEM mikrografı



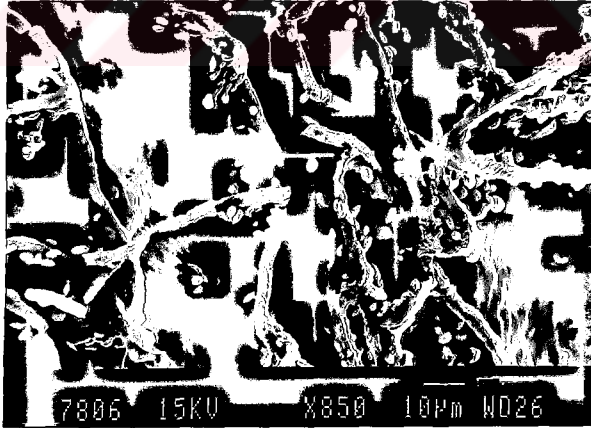
Şekil 3.3.2.1b. 75 nolu izolatın *B. cinerea* hiflerine tutunmasını gösteren SEM mikrografı (x 1200)

Büyütme biraz daha fazlaştırıldığında bir hif üzerine tutunan mayaların tutunma yerleri ve hif üzerinde çukurlar meydana getirdiği gözlenmiştir (Şekil 3.3.2.2).

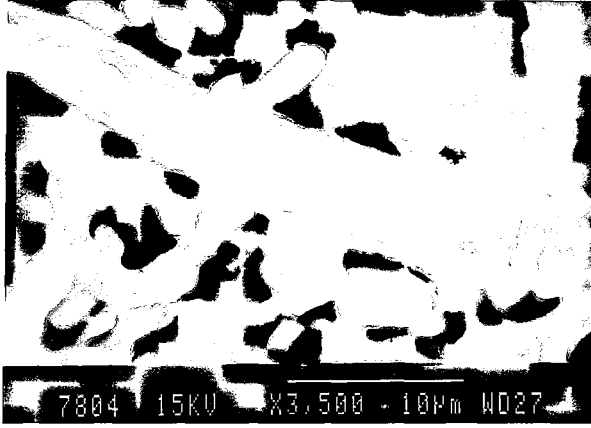


Şekil 3.3.2.2. 75 nolu maya izolatlarının *B. cinerea* üzerine tutunması, tutunduğu yerler ve hif üzerindeki çukurluklar x 2000

85 nolu izolatın *B. cinerea*'ya tutunma yeteneği 75 nolu izolat ile paralellik göstermektedir. Total SEM mikrograflarında hifler etrafını sıkıca saran mayalar gözlenirken daha büyük büyütmelerde mayaları hif üzerine tutunduğu bölgeler ve hifler üzerinde oluşturdukları çukurluklar gözlenmiştir (Şekil 3.3.2.3a,b).

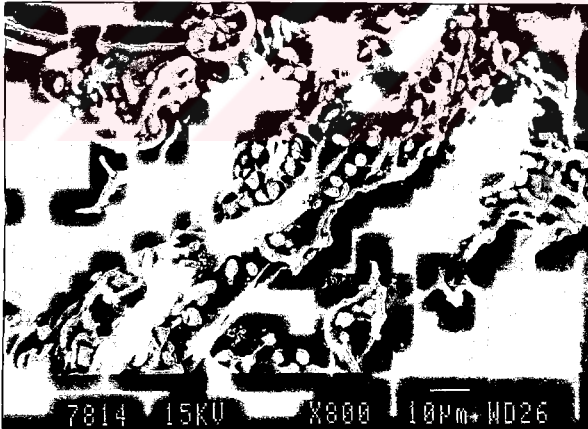


Şekil 3.3.2.3a. 85 nolu izolatın *B. cinerea* hiflerini sarması x850 büyütmede SEM mikrografı



Şekil 3.3.2.3b. 85 nolu izolatın *B. cinerea* hifleri tüzerine tutunmasını ve çukurlar oluşturmamasını gösteren SEM mikrograftı x 3500

Aynı etkiler 110 ve 36 nolu mayaların *B. cinerea*'lar üzerinde gözlenmiştir (Şekil 3.3.2.4, Şekil 3.3.2.5).

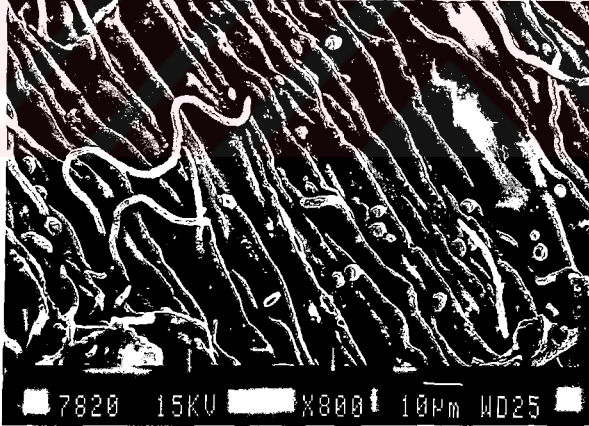


Şekil 3.3.2.4. *B. cinerea* hiflerine tutunmuş 36 nolu maya izolatı SEM mikrograftı x 800



Şekil 3.3.2.5. *B. cinerea* hiflerine tutunmuş 110 nolu maya izolatu SEM mikrografi x 1200.

SEM ile yapılan çalışmalarda *P. expansum*'a, muamele edilen 4 maya izolatında da herhangi bir tutunmaya rastlanamamıştır (Şekil 3.3.2.6).



Şekil 3.3.2.6. *P. expansum* hiflerine uygulanmış 75 nolu maya izolatu preparatında, herhangi bir tutunmaya rastlanamamıştır x 800

3.4. TEM’de Tutunma Denemeleri

İn-vivo +4°C’de; *P. expansum* ve *B. cinerea*’ya etkili kontrol sağlayan 85 nolu izolat üzerinde TEM incelemeleri yapılmıştır.

Bölüm 3.3’de açıklandığı gibi SEM incelemeleri sonucunda *P. expansum*’a tutunma gerçekleşmemiştir. Benzer sonuç TEM çalışmalarında da gözlenmiştir. Gerek SEM ve gerekse TEM çalışmaları sonucunda, maya izolatlarının *P. expansum* hiflerine tutunma yeteneklerinin olmadığı saptanmıştır.

B. cinerea denemelerinde ise çok net tutunma gözlenmiştir. TEM ince yapı analizlerinde 85 nolu izolatin, hiflere tutunduğu bölgelerden geçen kesitler incelenmiş ve tutunma başlangıcındaki hif hücre yapısı ile tutunma gerçekleştiğinden sonraki hif hücre yapısı kıyaslanmıştır.

Ökaryotik organizmalar olan maya ve küflerin, protoplazma etrafını saran hücre duvarları mevcuttur. Bu hücre duvarları mayalarda, glukoz ve mannan ihtiva eder. Küflerde ise hücre duvarlarında azot ihtiva eden bir polisakkarit kitin bulunmaktadır. Küf ve maya hücre duvarları etrafını glukoz ve ksilozdan oluşan polisakaritler sarar. Hücrelerin birbirini tanıması veya interaksyonu bu ekstraselüler matriks maddeleriyle mümkündür. Ekstraselüler matriks içinde bulunan ve hücreler tarafından üretilen lektin maddeleri de bu tutunmayı kolaylaştırır (Özcelik 1995).

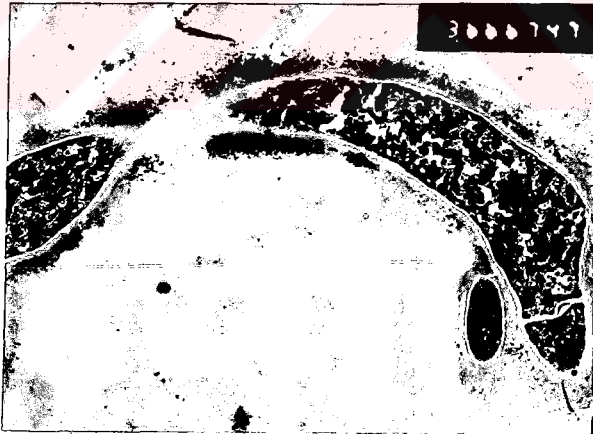
Küf miselleri üzerinde hiperparazitik bir yıkım sözkonusu ise önce maya ve küf hücrelerinin birbirine tutunması gerekmektedir. Bu tutunma mekanizması TEM mikrografları ile aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Birbirine yakın olarak gözlenen maya ve küf mikrografında, iki hücrenin protoplazması ve içindeki organeller, hücre duvarları ve çok yoğun olarak gözlenen ekstraselüler matriks izlenebilmiştir. Her iki hücrede de küçük ve çok sayıda vaküller görülmüştür (Şekil 3.4.1).



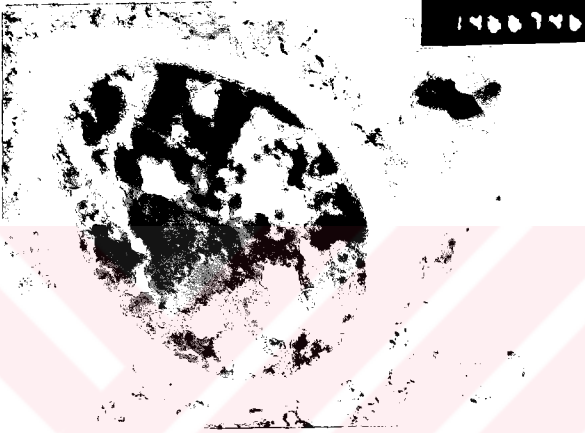
Şekil 3.4.1. Maya ve kıf interaksyonu başlangıcı ve her iki hücrenin protoplazmik yapısı, hücre duvarları ve etrafında bulunan çok yoğun ekstraselüler matriks TEM mikrofotografisi (x 4.800)

Aynı bloktan yapılan seri kesitlerde, hiflere tam olarak tutunmuş mayalar gözlenmiştir. Bu mayaların ekstraselüler matriksleri tamamen birleşmiş, sanki ortak kullanılan matriks gibi iki organizma arasında çok ince matriks maddesi görülmüştür (Şekil 3.4.2).



Şekil 3.4.2. Kıf miseli ile maya arasındaki tam tutunma ve maya-misel arasındaki ekstraselüler matriksin ortak hal olarak azalması (x 3600)

Küf-maya tutunmasının bulunduğu kısımdan, alınan bir başka kesit ve o bölgenin TEM görüntüsünde misel enine kesiti ve sağ alt köşede tutunmuş fulu görünen maya kesiti bulunmaktadır. Misel hücre içine bakıldığında, mitokondriler, Şekil 3.4.1'deki mikrografa nazaran daha büyük vakuoller ve nükleus netlikle görülmüştür. Hücre duvarı ve etrafını saran ekstraselüler matriks'te net olarak gözlenebilmiştir (Şekil 3.4.3).



Şekil 3.4.3. Küf miseli ile maya interaksiyonu ve misel ince yapısı (x 14.000)

Diğer bir TEM mikrografında hif hücre duvarlarındaki incelemeler, yer yer yok olmuş, hücre duvarı, sadece ekstraselüler matriks ile sarılmış bir görüntü vardır. Hif hücre içine bakıldığında stoplazmada oldukça büyük dejenerasyon gözlenmektedir. Stoplazma adeta ortada toplanmış, çevresini büyük bir boşluk sarmıştır.

Ortadaki stoplazma kitlesinde endoplazmik retikulumlar, ribozom taneleri, siyah lekeler olarak gözlenen granüller ve dejenere olmuş mitokondriler gözlenmiştir (Şekil 3.4.4).



Şekil 3.4.4. Dejenere olmuş *B. cinerea* miseli TEM mikrografi (x 14.000)

3.5. Mayaların Tanımlanması

Bölüm 2.6'da belirtildiği gibi 13 maya izolatının genus bazında tanımlanması yapılmıştır.

Tanımlamaya geçilmeden önce maya izolatları, koloni yapısı ve rengine göre gruplara ayrılmıştır. 108 nolu izolat, somon rengi düz kenarlı parlak koloniler 116 nolu izolat sarımsı kenarları tırtıklı koloniler; 277, 33, 66 nolu izolatlar uçuk pembe renkte, tepcecik şeklinde, kenarlara ağ gibi dağılan koloniler; 105, 154, 58 nolu izolatlar, açık pembe renkte, kenarları düz olmayan ve yaşlı kültürlerde koyu renk alan koloniler; 110, 36 nolu izolatlar mat beyaz, kenarları tırtıklı koloniler 45, 85 nolu izolatlar sümüksü, parlak beyaz, akışkan koloniler ve 75 nolu izolat ise parlak beyaz kenarları düz koloniler oluşturmuşlardır.

Mayalar üzerinde, tanımlamanın daha iyi yapılabilmesi için aşağıda belirtilen bazı morfolojik testler uygulanmıştır:

1- Vejetatif hücrelerle çoğalma

Vejetatif hücrelerle olan çoğalma, ya tomurcuklanma ya da fizyon bölünme şeklinde olup, tanımlamada çok önemli bir kriterdir. Hatta tomurcuk oluşturarak çoğalan mayaların, tür bazındaki tanımlaması tomurcuklanma tipine göre değişmektedir. Mayalar tek kutuplu, iki kutuplu veya çoklu tomurcuklanma ile çoğalabilirler.

Tanımlanmaya çalışılan 13 maya izolatının vejetatif çoğalma şekilleri, Çizelge 3.5.1'de gösterilmiştir. Bu deneme sonuçları ve mikroskopik incelemelere göre; 75, 108, 110, 85, 45, 36, 116 ve 58 nolu izolatların tek kutuplu tomurcuklanma ile, 33, 66 nolu izolatların iki kutuplu tomurcuklanma ile 154, 105 ve 277 nolu izolatların ise fizyon bölünme ile çoğaldıkları gözlenmiştir.

Çizelge 3.5.1. 13 farklı maya izolatının tanımlanmasında kullanılan morfolojik test sonuçları

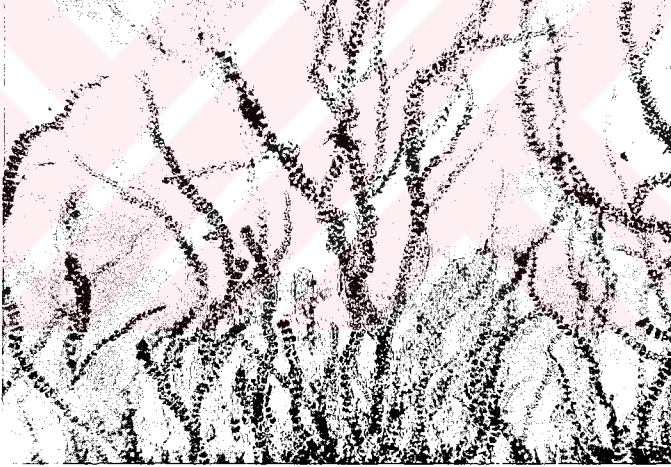
İzolat Numarası	Tomurcuklanma	Pseudohif oluşumu	Glukoz fermentasyonu	Glukoz fermant. Gaz.	Üreaz testi	Nitrat testi	DBB	Balıtospor oluşumu	Ascospor oluşumu	Tanımlanan Genuslar
<i>S. cerevis</i>	(+)	(+)	S	(+)	(-)	(-)az				
33	(+)	(+) pseudo	W _{az}	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	Rodosporidium
36	(+)	(-)	S	(+)	(-)	(-)az	(-)	(-)	(+)	Torulasporea
45	(+)	(-)	S	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	Candida
58	(+)	(-)	S	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	Hansenula
66	(+)	(+) septa	W _{az}	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	Rhodosporidium
75	(+)	(-)	S	(+)	(+)	(-)az	(-)	(-)	(+)	Candida
85	(+)	(-)	S	(+)az	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	Candida
105	(-) fizyon	(+) pseudo	S	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	Williopsis
108	(+)	(-)	S	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	Rodotorula
110	(+)	(+) septa	S	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	Hansenula
116	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)az	(-)	(-)	(-)	(+)	Debaryomyces
154	(-) fizyon	(-)	S	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	Hansenula
277	(-) fizyon	(+) septa	W _{az}	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	Rodosporidium

2- Pseudomisel (=Pseudohif) Oluşumu

Mayalar tomurcuklanma ile çoğalıyor ise, tomurcuklanan yeni hücre ya hemen ana hütreden ayrılır, ya da ayrılmadan kalır. Ayrılmayan ve giderek olgunlaşan mayalarda birbirine yapışık kalan hücreler, boncuk dizileri gibi uzantılar oluştururlar. İşte bu tomurcuklanma sonucu oluşan, hife (=misele) benzeyen yapılar pseudohif olarak tanımlanır (Barnett et al 1983).

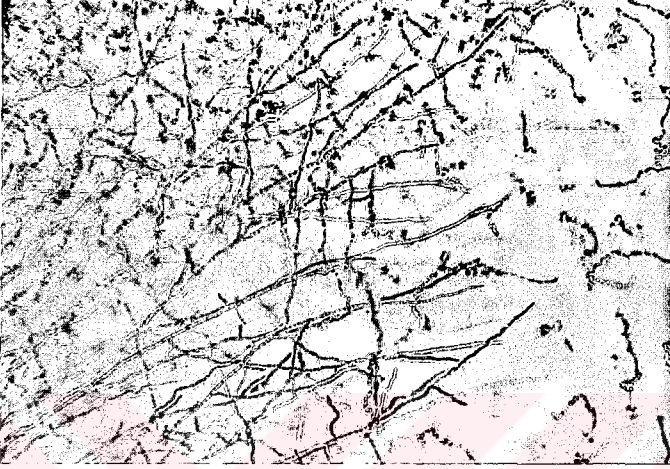
Ayrıca olgun kültürlerde gelişen septalı miseller vardır. Bunlar da genellikle kötü ortam şartlarında, küf misellerine benzer septalı hifler oluştururlar (Barnett et al 1983).

Yapılan pseudohif oluşum denemelerinde her iki tür hif oluşumuna da rastlanmıştır. Çizelge 3.5.1’de pseudohif oluşturan maya izolatları (+) pseudohif oluşturmayan maya izolatları ise (-) olarak belirtilmiştir. Şekil 3.5.1’de 105 ve 33 nolu maya izolatlarının pseudohifler oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 3.5.1).



Şekil 3.5.1. 105 nolu izolat’ın oluşturduğu pseudohifler x 250

66, 277, ve 110 nolu izolatların ise septalı hifler oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 3.5.2).



Şekil 3.5.2. 277 nolu izolatın meydana getirdiği septalı hifler görülmektedir x 250

Diğer maya izolatlarında ise pseudohif oluşumuna rastlanmamıştır.

İzolasyon tanımlanmasında kullanılan diğer testler; Glukoz, Üreaz, Nitrat, DBB testleri ve Ballistospor oluşumu, ile Askospor oluşum testleridir. Bu test sonuçları Çizelge 3.5.1'de verilmiştir.

Tanımlamanın daha iyi yapılabilmesi için karbon kaynakları testi uygulanmıştır. Ortamda bulunan karbon kaynağında mayaların gösterdiği gelişme durumuna göre, o karbon kaynağında gelişebiliyorsa (+) ortamda bulunan karbon kaynağında gelişemiyorsa (-) olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.5.2).

Çizelge 3.5.2. İzolatların karbon kaynaklarını kullanma özellikleri

İzolat numarası	Glukoz	Galaktroz	Maltoz	Sükroz	Melibiyoz	Laktöz	Cellebiyoz	Rafnoz	Nişasta
<i>S. cerevis</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
33	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
36	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-) _{az}	(+)
45	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-) _{az}	(+)
58	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-) _{az}	(+) _{biraz az}
66	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
75	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-) _{az}	(+)
85	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-) _{az}	(+)
105	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-) _{az}	(+) _{biraz az}
108	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+) _{az}	(+)	(+) _{biraz az}
110	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
116	(-) _{pok az}	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+) _{az}	(-)	(+) _{biraz az}
154	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+) _{biraz az}
277	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-) _{az}	(+)	(+)	(+)

Karbon kaynakları ve morfolojik tanı test sonuçlarına göre; 45, 75, 85 nolu izolatlara *Candida* sp., 66, 277, 33 nolu izolatlara *Rhodospiridium* sp., 105 nolu izolat, *Williopsis* sp., 36 nolu izolat, *Torulopsis* sp., 108 nolu izolat *Rhodotorula* sp., 58, 154, 110 nolu izolatlara *Hansenula* sp. ve 116 nolu izolat *Debaryomyces* sp. genusuna dahil edilmiştir (Barnett et al 1983) (Çizelge 3.5.1).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Hasat sonrası hastalıklara ve ekonomik kayıplara neden olan fungal hastalıklarla mücadelede 1960'lı yıllardan bu yana, fungusitler kullanılmaktadır (Cohen and Shalom 1990, Childers 1992, Matheron and Matejka 1988)

Fungisitlerin daha etkili olabilmesi için kombine bileşikleri kullanılmıştır (Biondi et al. 1979).

Isparta Eğirdir gölü çevresinde ticari amaçla kurulmuş elma bahçelerinde, çok fazla ve bilinçsizce çeşitli kimyasallar kullanılmaktadır. Golden ve Starkink elmalarının yetiştirildiği bu bölgede, hasat öncesi periyodik ilaçlamalar yapılmaktadır. Bu kimyasalların, doğaya verdiği zarar önlenememekte ve yağmur suları ile Eğirdir gölüne taşınmaktadır. Söz konusu kimyasallar, göl eko-sistemini olumsuz etkilemekte ve göldeki Levrek balıklarının üretimini azaltmaktadır. Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Laboratuvarı çalışmalarına göre, göl gittikçe fakirleşmekte olup, göldeki kurtarma ve antma çalışmaları halen sürdürülmektedir (Eğirdir Su Ürünleri Araş Raporu 1989).

Kimyasallar doğal dengeyi bozmakla kalmayıp, fungusit ve pestisitlere dayanıklı türlerin ortaya çıkmasıyla, mücadelede yetersiz kalınmaktadır (Dave et al. 1980)

1987 Amerikan Ulusal Akademisi raporlarına göre halen kullanılmakta olan fungusitlerin % 90'ında farklı dokuz kanserojen bileşiğin varlığı saptanmıştır.

Bilinen bütün bu olumsuzluklar karşısında, fungusitlere alternatif metodlar aranmış ve bilim adamları biyolojik mücadeleye yönelmiştir.

Biyolojik mücadelenin avantajlı yönleri; temininin kolay ve ucuz olması, doğal ortamda bulunması, doğal dengeyi bozması ve insan sağlığını tehdit etmemesidir. Ayrıca su ile yıkanarak, meyve ve sebze yüzeylerinden arındırılabilmeleri ise en önemli avantajdır (Wilson and Wisniewski 1994).

Bütün bu veriler ışığında; biyolojik mücadeleyi amaçladığımız çalışmamızda, Omoifo and I Kotun (1987), Chand and Spotts (1996), Janisiewicz et al. (1994, 1995) ve Sobiczewski et al. (1996)'un yapmış oldukları çalışmalara paralel olarak elma yaprak ve meyve yüzeylerinden elde edilen maya izolatları kullanılmıştır. Literatürlerde

rastlanmayan; çiçek açma, meyve tutma ve meyvenin gelişim evrelerinde toplanan örneklerle izolasyonlar yapılmıştır.

Çeşitli zamanlarda ve farklı alanlardan toplanan örneklerle, biyolojik mücadelede kullanılacak maya örnekleri çoğaltılmaya çalışılmıştır.

Üreticilerin yakınmalarına göre en büyük kayıp; hasattan sonra soğuk hava depolarında meydana gelmekte ve depolama sırasında kasa başına % 25'lere varan fire ile karşılaşmaktadır. Bu problemi aşmak için yola çıktığımız çalışmada, elmalarda hasat sonrası hastalıklara neden olan *P. expansum* ve *B. cinerea* üzerinde durulmuştur.

Elma kısımlarından izolasyonları yapılan 123 epifitik maya izolatının, *P. expansum* ve *B. cinerea* üzerine etkileri in-vitro ve in-vivo koşullarda tek tek denenmiş, biyolojik mücadelede en etkili antagonistik mayaların saptanmasına çalışılmıştır.

McLaughlin ve arkadaşlarının (1990), belirttikleri gibi, en iyi kontrolün sağlandığı, patojen: 10^5 cfu/ml, maya: 10^8 cfu/ml yoğunluklarıdır. Bu deneme sonuçlarından yola çıkılarak, in-vitro ve in-vivo çalışmalarımızda patojen: 10^3 cfu/ml, maya: 10^8 cfu/ml yoğunluklarındaki mikroorganizmalar kullanılmıştır.

Elmalar üzerinde denenen 123 maya izolatından, 22°C'deki test sonuçlarına göre; *P. expansum*'a etkili 7 maya, *B. cinerea*'ya etkili 30 maya izolatu ve her iki patojene birden etkili 4 antagonistik maya tesbit edilmiştir.

Mayaların antagonistik etkisi hesaplanırken, mayaların, elma üzerindeki yaraları çürütme yüzdesinden ve yara çapı ortalamalarından yararlanılmıştır. Kontrol ile kıyaslanan maya örneklerinde etki yüzdeleri ve yara çapı ortalamaları farklılıklar göstermiş, bu farklılıkların varyans analizleri yapılarak, gruplar arasındaki farkın önem kontrolleri yapılmıştır. P: % 1 yanılma payına göre hesaplanmış ($1 - P = 0,99$), testin güvenilirliği % 99 olarak tesbit edilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığı ve Duncan testine göre hangi grup testin, etkili antagonizm gösterdiği yargısına varılmıştır. Buna göre; etki yüzdesi % 50'nin üzerinde olan mayalar etkili antagonistler olarak

tanımlanmış, % 30–% 50 arasında etkili bulunan maya izolatları ise lezyon (yara) azaltıcı olarak nitelendirilmiştir.

Lezyon azaltıcı etkisi gözlenen maya izolatları 10^8 cfu/ml yoğunlukta denenmiştir. Maya yoğunluğun artırarak yapılacak denemelerle (10^9 , 10^{10} , 10^{11} gibi) antagonistik aktivitenin yükselbileceği düşünülmektedir. Fakat böyle bir çalışma yapma olanağımız olamamış, ileriki çalışmalarda denenmesi düşünülmüştür.

Elma denemelerinde 22°C 'de başarılı bulunan maya izolatlarından 13 tanesi seçilerek $+4^\circ\text{C}$ 'de soğuk hava şartlarında test edilmiştir. Test sonuçlarının Varyans analizleri yapılarak Duncan çoklu testi ile değerlendirilmiştir.

Soğuk hava şartlarında ($+4^\circ\text{C}$) denenen maya izolatlarından *P. expansum*'a etkili 9 maya izolatı saptanırken, *B. cinerea* denemelerinde sadece 1 maya izolatı % 40 antagonistik etki gösterebilmiştir. Her iki patojene birden etkili 1 maya izolatı (85 nolu izolat) saptanmıştır.

Elma denemelerinde 22°C test sonuçları ile $+4^\circ\text{C}$ test sonuçları kıyaslanacak olursa, 22°C 'de antagonistik aktivite daha yüksek olarak bulunmuştur.

Benzer bir çalışma yapan Lima ve arkadaşları (1998), elmalar üzerinde, iki maya izolatının *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı 0 ila 35°C 'ler arasındaki antagonistik etkilerini araştırmışlardır. Maya izolatlarının en etkili oldukları sıcaklık derecesinin 24°C olduğunu belirtmişlerdir.

İn-vivo elma denemelerinde 22°C ile $+4^\circ\text{C}$ 'lerdeki test sonuçlarına göre maya izolatları *P. expansum*'a karşı etkili antagonistik aktiviteyi $+4^\circ\text{C}$ 'de sağlamışlardır. Aynı maya izolatlarının 22°C 'deki test sonuçlarına bakıldığında ise etki yüzdesinin düşük olduğu gözlenmiştir. *B. cinerea* denemelerinde, durum tam tersine gelişmiş, maya izolatları 22°C 'de en etkili antagonistik aktivitelerini sergilerken $+4^\circ\text{C}$ 'de aynı etki gözlenmemiştir.

İn-vivo elma denemeleri yapılan 123 maya izolatı, in-vitro şartlarda *B. cinerea* ve *P. expansum* üzerine denenmiştir. İn-vitro test sonuçları ile in-vivo test sonuçları arasında

paralellik beklenmiş, ancak in-vitro testlerde çok sayıda maya antagonistik etki gösterirken, in-vivo denemelerde daha az sayıda maya etkili bulunmuştur.

Bu sonucu destekleyen bir çalışma da Schiewe ve Mendgen (1992), elmalardan elde ettikleri 700 izolatu, patojenlere karşı, in-vivo ve in-vitro olarak denemişlerdir. İn-vitro koşullarda 50 izolat, patojenlerin bir veya ikisine birden etkili iken, in-vivo koşullarda 4 bakteri ve 3 maya izolatu etkili bulunmuştur.

İN-vitro şartlarda patojenlerle karşılaşan maya izolatlarında üç farklı etki gözlenmiştir.

Bunlardan birincisi; inhibisyon zonu oluşumudur. *P. expansum*'a karşı 10 maya, *B. cinerea*'ya karşı 11 maya izolatı, antibiyotik zonuna benzer parlak zonlar oluşturmuştur. Bu zonların mayalar tarafından antibiyotik veya antifungal bir bileşik üreterek patojenleri inhibe ettikleri düşünülmüştür. Fakat bu maddenin ne olduğuna dair analizleri yapılmamıştır. Bu maddelerin analizlerinin mümkün olduğu, birçok literatürde belirtilmiş (Moussaif et al. 1997, Boruah et al. 1999, El-Ghaouth et al. 2000, Converti et al. 1999) ve ileride yapılması düşünülmüştür.

İkinci etki şekli; kırmızı pigmentli zon oluşumudur. Maya izolatlarından 25 tanesi, hem *B. cinerea*'larla hem de *P. expansum*'larla karşılaştığında, kırmızı pigmentli zonlar oluşturmuştur.

İnkübasyonun ilk üç gününde zon içinde spor gelişimi gözlenmezken, *P. expansum* denemelerinde üçüncü günden sonra sporlar gelişerek maya bloklarına kadar misellerini geliştirmişlerdir. *B. cinerea*'larda ise kırmızı pigment zon içinde, inkübasyon süresi boyunca hiçbir gelişme görülmemiştir.

Üçüncü etki şekli; çöküntü oluşumudur. Bu etki sadece *B. cinerea*'larda gözlenmiştir. 19 maya izolatu *B. cinerea*'lara denendiğinde, ilk üç gün içinde maya disklerine kadar küf miselleri gelişmiştir. Üçüncü günün sonunda maya diskleri etrafında gelişen hiflerin zon oluşturacak şekilde koyu renk alarak çökeldikleri görülmüştür.

Gelişmiş küf misellerinin mayalarla karşılaştıktan sonra çöküntüye uğraması, bize hiperparazitizm ile ilgisinin olabileceğini düşündürmüştür.

Bahsettiğimiz ve denemelerle ortaya konulan bu etki şekillerine antibiyosis hariç hiçbir literatürde rastlanmamıştır.

Mikroorganizmaların antagonistik etki mekanizmaları tam olarak açıklanamamaktadır. Yapılan araştırmalar ışığında, bilim adamlarının birleştikleri nokta; mikroorganizmaların, yer ve besin rekabeti, konukçunun direncinin güçlendirilmesi antibiyosis ve hiperparazitizm yollarından bir veya birkaçını kullanarak antagonistik etkiyi gösterdikleri yolundadır (Chalutz et al. 1988, Isaac 1992, Karaçalı 1993, Wilson et al. 1994, Bora 1998).

Denemelerimizde bu etki mekanizmalarından antibiyosis gözlenmiştir. Fakat bu mekanizma ile antagonistik etki sağlayan mayalar üzerinde fazlaca durulmamıştır. Patojenlerin inhibisyonu için mayaların ürettiği düşünülen, antibiyotik veya antifungal maddelere karşı, patojenlerin direnç kazanmaları mümkündür. Bu nedenle antibiyosis gösteren maya izolatları ile biyokontrol amaçlanmamıştır.

Antagonistik etkiler içinde en etkili ve en kalıcı yöntem olarak düşündüğümüz mekanizma hiperparazitizmdir.

Çalışmamızda hiperparazitizm denemeleri yapılmıştır. Bu mekanizmada esas olan antagonistlerin, hiflere tutunarak parazitik yolla direkt olarak patojenlerin gelişimini engellemesidir. Mekanizma bugüne kadar henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Biz de çalışmamızda, ışık mikroskopisi, TEM ve SEM çalışmaları ile mekanizma hakkında bilgi sahibi olmayı amaçladık.

Işık mikroskopisi ile yaptığımız çalışmalarda, 123 maya izolatından 44'ü seçilerek, *B. cinerea* ve *P. expansum* üzerinde in-vitro olarak denenmiştir. Sonuçlara göre *B. cinerea* hiflerine tutunma yeteneği olan 29 maya ve *P. expansum* hiflerine tutunma yeteneği olan 15 maya izolatu bulunmuştur. Mikrograflarda, *B. cinerea* hiflerine çok sayıda ve yığınlar halinde mayalar tutunurken, *P. expansum* hiflerine yer yer ve birkaç mayanın tutunduğu görülmüştür.

SEM çalışmalarında ise en fazla antagonistik aktivite gösteren 4 maya izolatu *P. expansum* ve *B. cinerea* üzerine denenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 4 maya

izolatında da *P. expansum* hiflerine tutunma görülmemiştir. *B. cinerea*'larda ise maya izolatlarının hepsi hiflere sıkıca tutunmuşlar, büyük büyütmelemlerde alınan mikrograflarda, bu tutunma yerleri ve tutundukları bölgelerde çukurluklar görülmüştür.

Elektron mikroskopisi ile yapılan birçok çalışmada da benzer bulgular elde edilmiştir (El-Graouth et al. 1998, Wisniewski et al. 1991, Droby et al. 1994).

Hiperparazitik tutunma ve çukurlar oluşturma üzerinde yapılan kimyasal analizlerde, Wisniewski ve arkadaşları (1991) *D. hansenii* ve *P. guilliermondii* üzerinde yaptıkları çalışmada β -(1-3) Gluconase enzim aktivitesi saptamışlardır. Diğer bir çalışmada, ise Grevesse ve arkadaşları (1998), elma Botritis zararlarına karşı antagonistik aktivitesi saptadıkları, *Pichia anomala*'da exo-beta (1-3) Gluconase aktivitesi gözlemişlerdir.

Çalışmamızda bu tarz bir kimyasal analiz yapılmamış, antagonistik, hiperparazitik maya suşları üzerindeki kimyasal çalışmanın ileriki dönemlerde yapılması düşünülmüştür.

TEM denemelerinde +4°C'de en başarılı olan ve her iki patojene birden etkisi kanıtlanan 85 nolu izolat ile çalışılmıştır.

Sonuçlara göre 85 nolu izolat *P. expansum*'a karşı tutunma göstermemiş, *B. cinerea*'da ise tutunma net bir biçimde izlenmiştir.

Seri kesitlerde, maya-patojen hif interaksiyonunun bulunduğu bölgeler incelenmiş, maya-hif arasındaki ekstraselüler matriksin çok fazla geliştiği görülmüştür.

Tutunmanın tam gerçekleştiği bölgelerden alınan kesitlerde iki hücre arasında bir ekstraselüler matriks görülmüştür.

TEM mikrograflarından elde edilen diğer bir sonuç ise; tutunmadan sonra hif içinde vakuollerin çoğaldığı ve yer yer hücre duvarlarında dejenerasyonların olduğu gözlenmiştir. Elimizdeki literatürlerde böyle bir sonuç rastlanmamıştır.

Çalışmamızda en son olarak da, +4°C'de in-vivo denemeleri yapılan 13 maya izolatının tanımlanması yapılmıştır.

Genus bazında yapılan tanımlamada, morfolojik testler ve karbon kaynağı testleri kullanılmıştır. Maya izolatlarından 3'ü *Candida*, 3'ü *Rhodosporidium*, 3'ü *Hansenula*, 1'i *Debaryomyces*, 1'i *Rodotorula*, 1'i *Torulasporea* ve 1'i de *Williopsis* genusuna dahil edilmiştir.

Sonuç olarak; antagonistik aktiviteleri saptanan maya izolatları ile hasat sonrası hastalıklara neden olan patojenlerin, kontrolü sağlanabilmekte ve fungusitlere alternatif olarak önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- AFEK, U. and SZTEINBERG, A. 1998. Accumulation of Scoparone, a Phytoalexin Associated with Resistance of Citrus to *Phytophthora citrophthora*. *Phytopathology*, 78, 1678-1682, Israel.
- ANDERSON, J.A., FILONOW, A.B., VISHNIAC, H.S., 1977. *Cryptococcus homicola* inhibits development of lesions in "Golden Delicious" apples. *HortScience* 32(7) 1235-1236.
- ANDREWS, J.H., BERBEE, M., NORDHEIM, E.V. 1983. Microbial Antagonism to the Imperfect Stage of the Apple Scab Pathogen, *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 73; 228-234.
- ARRAS, G. 1996. Mode of action of an isolate of *Candida famata* in biological control of *Penicillium digitatum* in Orange fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 8, 191-198, Italy.
- ARRAS, G., DEMONTIS, S. SUSSARELLU, L. 1996. Characterization of Yeasts (*Pichia guilliermondii* and *Rhodotorula glutinis*) Antagastic to *Penicillium digitatum*. *Annali di Microbiologia ed Enzimologia*. 46, 285-298.
- BARMORE, C R. and NGUYEN, T K. 1985. Polygalacturonase Inhibition in Rind of Valencia Orange Infected with *Diplodia natalensis*. *Phytopathology*, 75, 446-449, Florida
- BARNETT, J.A., PAYNE, R.W., PARROW, D. 1983 YEASTS, Characteristics and Identification. Cambridge University Press. 811. Cambridge.
- BIONDI, G., BRIGATI, S. and FOSCHI, F. 1979. *Penicillium* control in citrus fruits after harvesting. XV International congress of refrigeration., 1-9 Italy.
- BORA, T. and ÖZAKTAN, H. 1998. Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaş. Ege Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü. 205. İzmir.

- BORUAH, P., DEKABHUYAN, P., DUTTA, S.C., MOHAN, S., MATHUR, R.K.** 1999. Isolation of two antifungal compounds from *Neolitsea cuipala* and their activity against some plant pathogenic Fungi. *Folia Microbiology* 44(4): 385-387.
- BRAUN-KIEWNICK, A., JACOBSEN, B.J., SANDS, D.C.** 2000. Biological Control of *Pseudomonas syringae* pv. *syngae*, the Causal Agent of Basal Kernel Blight of Barley, by Antagonistic *Pantoea agglomerans*. *Phytopathology* 90; 368-375.
- CALVENTE, V., BENUZZI, D., OBUCHOWICZ, N., HOUGH, G., TOSETTI, M.** 1999. Changes in surface microflora of apple and pear fruits y application of pesticides and their relation with biocontrol of postharvest diseases. *Agro-food-Industry-Hi-Tech.*, 10(1); 30-33.
- CAMPBELL, I., DUFFUS, J.H.** 1991. *Yeast a practical approach*, IRL PRESS 283, Oxford-Washington.
- CARISSE, O., PHILION, V., ROLLAND, D., BERNIER, J.** 2000. Effect of Fall Application of Fungal Antagonists on Spring Ascospore production of the Apple Scab Pathogen, *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 90: 31-37.
- CHALUTZ, E. and WILSON, C.L.** 1990. Postharvest Biocontrol of Green and Blue Mold Sour Rof of Citrus Fruit by *Debaryomyces hansenii*. *Plant Disease*, 74, 2, 134-137, Israel.
- CHALUTZ, E. and WILSON, C.L.** 1992. Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables Through Manipulation of Epiphytic Plant Microflora. *Proceedings of the second International Symposium.* 255-266.
- CHALUTZ, E., COHEN, L., WEISS, B. and WILSON, C.L.** 1988. Biocontrol of Postharvest Disease of Citrus Fruit by Microbial Antagonists. *Proceedings of the Sixth International Citrus Congress*, 1467-1470, Israel.
- CHALUTZ, E., DROBY, S. and WILSON, C.L.** 1988. Microbial Protection Against Postharvest Disease of Citrus Fruit. *Phytoparasitica*, 16, 2, 195-196, Israel.

- CHAND, G.T., SPOTTS, R.A. 1996. Postharvest biological control of blue mold of apple and brown rot of sweet cherry by natural saproptotic yeasts alone or in combination with low doses of fungicides. *Biological Control* 6(2); 253-259.
- CHILDERS, C.C. 1992. Suppression of *Frankliniella bispinosa* (Thysanoptera: Thripidae) and the Fungal Pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*, with Pesticides During the Bloom Cycle and Improved Fruit Set on 'Novel' orange in Florida. *J. Econ. Entomol.*, 85, 4, 1330-1339.
- COHEN, E. and SHALOM, Y. 1990. Fenpropimorph: A promising fungicide for postharvest diseases in citrus fruits. *Phytoparasitica*, 18, 1, 17-26, Israel.
- CONVERTI, A., PEREGO, P. DOMINGUEZ, J.M. 1999. Xylitol Production from Hardwood Hemicellulose Hydrolysates by *Pachysolen tannophilus*, *Dabaryomyces hansenii* and *Candida guilliermondii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 82: 141-151.
- DAVE, B., SALES, M. and WALIA, M. 1989. Resistance of different strains of *Penicillium digitatum* to imazalil treatment in California citrus packinghouse. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 102, 178-179.
- DAVE, B.A., KAPLAN, H.J. and PETRIE, J.F. 1980. The Isolation of *Penicillium digitatum* sacc. strains tolerant to 2-AB, SOPP, TB2 and Benomyl. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 93, 344-347.
- DERRICK, K.S., LEE, R.F., BRLANSKY, R.H., TIMMER, L.W., HEWITT, B.G. and BARTHE, G.A. 1990. Proteins Associated with Citrus Blight. *Plant Dis.*, 74, 168-170.
- DROBY, S., CHALUTZ, E., WILSON, C.L. and WISNIEWSKI, M. 1989. Characterization of the biocontrol activity of *Debaryomyces hansenii* in the control of *Penicillium digitatum* on Grapefruit. *Can. J. Microbiol.*, 35, 794-800, Israel.

- DROBY, S., WISNIEWSKI, M.E., CHALUTZ, E., WILSON, C.L. 1994. Complex Mechanisms of Action Involved in the Biocontrol Activity of Yeast Antagonists against Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables. 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Kuşadası-Aydın; 217-218, Türkiye.
- EĞİRDİR SU ÜRÜNLERİ ARAŞTIRMA RAPORU 1989. Eğirdir gölü zenginleştirme çalışmaları.
- EL-GHAOUTH, A., SMILANICK, I.L., BROWN, G.E., IPPOLITO, A., WISNIEWSKI, M. and WILSON, C.L., 2000. Application of *Candida saitoana* and Glycolchitosan for the Control of Postharvest Diseases of Apple and Citrus Fruit Under Semi-Commercial Conditions. Plant Diseases. 84; 243-248.
- EL-GHAOUTH, A., SMILANICK, J.L., WISNIEWSKI, M., and WILSON, C.L. 2000. Improved Control of Apple and Citrus Fruit Decay with Combination of *Candida saitoana* and 2-Deoxy-D-Glucose. Plant Diseases 84: 249-253.
- EL-GHAOUTH, A., WILSON, C.L., WISNIEWSKI, M. 1998. Ultrastructural and Cytochemical Aspect of the Biological Control of *Botrytis cinerea* by *Candida saitoana* in Apple Fruit. Phytopathology, 88; 282-291.
- EL-NESHWAY, S., WILSON, C.L., Ait-OUBAHOU, A., 1995. Enhancement of *Candida oleophila* for the biocontrol of postharvest diseases of apple with Nisin. Proceeding of an international symposium. 419-425. Morocco.
- FALCONI, C.J., MENDGEN, K. 1994. Epiphytic fungi on apple leaves and their value for control of the postharvest pathogens *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena* and *Penicillium expansum*. Zeitschrift-für-pflanzenkrankheiten-und Pflanzenschutz. 101(1); 38-47.
- FILONOW, AB. 1999. Yeasts reduce the stimulatory effect of acetate esters from apple on the germination of *Botrytis cinerea* conidia. Journal Omical Ecology. 25(7); 1555-1565.

- FLOROS, J.D., DOCK, L.L., NIELSON, P.V. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* growth on apples stored under modified atmosphere. *Journal of food production*. 61(12); 1661-1665.
- GOYAL, T.C., SPOTTS, R.A. 1996. Control of postharvest pear diseases using natural saprophytic yeast colonists and their combination with a low dosage of thiabendazole. *Postharvest Biology and Technology*. 7; 51-64.
- GREVESSE, C., JIJAKLI, M.H., LEPOIVRE, P. 1998. Study of α -glucanase activity production by the yeast *Pichia anomala* in relation to its antagonistic properties against *Botrytis cinerea* on postharvest apples. Twelfth forum for applied biotechnology 63. Belgium.
- GUELDNER, R.C., REILLY, C.C., PUSEY, P.L., COSTELLO, C.E., ARRENDALE, R.F., HIMMELSBACH, D.S., CRUMLEY, F.G., CULTER, H.G. 1988. Isolation and identification of Iturin as antifungal peptides in biological control of peach brown rot with *Bacillus subtilis*. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 36, 366
- GULLINO, M.L., ALOI, C., PALITTO, M., BENZI, D., GARIBALDI, A. 1991. Attempts at biological control of postharvest diseases of apple. *Mededelingen-van-de-Faculteit-Landbouwwetenschappen*. 56(2): 195-202 Italy.
- GULLINO, M.L., BENZI, D., ALOI, C., TESTONI, A., GARIBALDI, A., VERHOEFF, K., (ed): MALATHRAKIS, N.E., WILLIAMSON, B., 1992. Biological control of *Botrytis* rot of Apple. *International Botrytis Symposium Greece 197-200*.
- HAYAT, M.A. 1972. *Basic Electron Microscopy Techniques*. Van Nostrand Reinhold Company. 119. New York.
- HERSHENHORN, J., MANULIS, S. and BARASH, I. 1990. Polygalacturonases Associated with Infection of Valencia Orange by *Penicillium italicum*. *Phytopathology*, 80, 1374-1376, Israel.

- HOWELL, C.R., HANSON, L.E., STIPANOVIC, R.D., PUCKHABER, L.S. 2000. Induction of Terpenoid Synthesis in Cotton Roots and Control of *Rhizoctonia solani* by seed Treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology*, 90: 248–252.
- HUANG, Y., DEVERALL, B.J. and MORRIS, S.C. 1993. Effect of *Pseudomonas cepacia* on postharvest biocontrol of infection by *Penicillium digitatum* and on wound responses of citrus fruit. *Australasian Plant Pathology*, 22, 3, 84-93, Sydney.
- HUANG, Y., DEVERALL, B.J., MORRIS, S.C. and WILD, B.L. 1993. Biocontrol of Postharvest orange diseases by a strain of *Pseudomonas cepacia* under semi-commercial conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 3, 293-304, Australia.
- HUANG, Y., WILD, B.L. and MORRIS, S.C. 1992. Postharvest biological control of *Penicillium digitatum* decay on citrus fruit by *Bacillus pumilus*. *Ann. Appl. Biol.*, 120, 367-372, Australia.
- ISAAC, S. 1992. *Fungal-Plant Interactions*. Chapman Hall, 418. London.
- JANISIEWCZ, W.J., BORS, B. 1995. Development of a microbial community of bacterial and yeast antagonists to control wound-invading postharvest pathogens of fruits. *Applied and Environmental Microbiology* 61(9); 3261–3267.
- JANISIEWICZ, PETERSON, D.L., BORS, R. 1994. Control of storage decay of apples with *Sporobolomyces roseus*. *Plant Disease*, 78(5); 466–470.
- JANISIEWICZ, W. 1996. Ecological diversity niche overlap and coexistence of antagonists used in developing mixtures for biocontrol of postharvest diseases of apples. *Phytopathology*. 86(5); 473–479.
- JANISIEWICZ, W. 1999. Blue Mold, *Penicillium spp.* *Fruit Disease Focus*. 1-3.

- JANISIEWICZ, W., YOURMAN, L. 1989. Control of Storage Rots of Pome Fruits with Pyrrolnitrin Isolated from Antagonistic *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology*. 79(10); 1187.
- JANISIEWICZ, W., YOURMAN, L., ROITMAN, J., MAHONEY, N. 1991. Postharvest Control of Blue Mold and Gray Mold of Apples and Pears by Dip Treatment with Pyrrolnitrin a Metabolite of *Pseudomonas cepacia*. *Plant Disease*, 75(5); 490-494.
- JANISIEWICZ, W.J. and ROITMAN, J. 1988. Biological Control of Blue Mold and Gray Mold on Apple and Pear with *Pseudomonas cepacia* *Phytopathology*. 78; 1697-1700.
- JANISIEWICZ, W.Z. 1988. Biocontrol of Postharvest Diseases of Apples with Antagonist Mixtures. *Phytopathology* 78; 194-198.
- JARVIS, W.R., BARRIE, S.D. and TRAQUAIR, J.A. 1990. Morphological and chemical studies of *Penicillium oxalicum*, newly identified as a pathogen on greenhouse cucumbers *Can. J. Bot.*, 68, 21-25, Canada.
- JONES, A.L., ALDWINCKLE, H.S. 1990. *Compendium of Apple and Pear Diseases*. APS Press, 100, USA
- KAMPP, J. 1994. Biological Control of Postharvest Diseases of Apples and Pears. *Acta Horticulturae* 368; 69-77, Denmark.
- KAPLAN, H.J. and DAVE, B.A. 1979. The current status of Imazalil: A postharvest fungicide for citrus. *Proc. Fla. State. Hort. Soc.*, 92, 37-43, California.
- KAPLAN, H.J., DAVE, B.A. and PETRIE, F.J. 1981. Tolerance of citrus pathogens to current packinghouse treatment. *Proc. Inc. Citriculture*, 788-791, U.S.A.
- KARAÇALI, İ. 1993. Bahçe Ürünlerinin Muhafaza ve Pazarlaması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 494, İzmir.

- KINAY, P., YILDIZ, M., DROBY, S., YILDIZ, F., COHEN, L., WEISS, B. 1998. Evaluation of Antagonistic Activity of Epiphytic Yeasts against *Penicillium* Decay of Mandarin and Grapefruit. *Molecular Approaches in Biological Control*, IOBC/wrps Bulletin, 21(9); 291-296, Swtzerland.
- KÖHL, J., GERLAGH, M., GRIT, G. 2000. Biocontrol of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* in Different Production Systems of Cyclamen. *Plant Disease* 84, 569–573.
- KREGER–VAN–RIJ, N.J.W. 1984. The yeasts. A taxonomic study, 3rd.ed. Elsevier. Amsterdam.
- LEIBINGER, W., BREUKER, B., HAHN, M., MENDGEN, K. 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic mikroorganisms in the field. *Phytopathology*. 87(11); 1103–1110.
- LIANG, W.J. and LIU, S.D. 1989. The Use of Antagonistic Microorganisms to Control Green and Blue Mold Diseases of Citrus. *Plant Protection Bulletin*, 31, 263–275, Taiwan.
- LIMA, G., CURTIS, F.–de, CASTORIA, R., CICCÒ, V.–de, 1998. Activity of the Yeast *Cryptococcus laurentii* and *Rhodotorula glutinis* aganist postharvest rots on different fruits. *Biocontrol Science and Technology*. 8(2); 257–267.
- LODDER, J. 1970. The yeasts: A taxonomic study. North–Holland Publishing Company, 1385. Amsterdam.
- LODDER, J. and KREGER–VAN–RIJ, N.J.W. 1967. The Yeast: A taxonomic study. North–Holland Publishing Company. 713. Amsterdam.
- MANOCHA, M.S. 1985. Specificity of mycoparasite attachment to the host cell surface. *Can. J. Bot.*, 63; 772-778.
- MATHERON, M.E. 1988. Persistence of Systemic Activity for Fungicides Applied to Citrus Trunks to control *Phytophthora gummosis*. *Plant Disease*, 72, 2, 170-174, Arizona.

- MAUSSAIF, M., JACQUES, P., SCHAAR WACHTER P., BUDZIKIEWICZ, H, THONART, P. 1997. Cyclosporin C is the main antifungal compound produced by *Acremonium luzulae*. Applied and Environmental Microbiology. 63(5); 1739–1743.
- McGINNIS, M.R. 1980. Laboratory Handbook of Medical Mycology. Academic Press. 661. New York.
- McKEEN, C.D., REILL, C.C., PUSEY, P.L. 1986. Production and partial characterization of antifungal substances against *Monilinia fructicola* from *Bacillus subtilis* Phytopathology. 76; 136.
- McLAUGHIN, R.J., WISNIEWSKI, M.E., WILSON, C.L., CHALUTZ, E. 1989. Biocontrol of Postharvest Rots of Peach and Apple with the Yeasts *Hanseniaspora uvarum* and *Debaryomyces hansenii*. Phytopathology. 79(10); 1187.
- McLAUGHLIN, R.J., WILSON, C.L., DROBY, C.L., BEN-ARIE, R., CHALUTZ, E. 1992. Biological Control of Postharvest Diseases of Grape, Peach and Apple with the Yeasts *Kluyveromyces fragilis* and *Candida guilliermondii*. Plant Diseases, 76, 470-473.
- McLAUGHLIN, R.J., WISNIEWSKI, M.E., WILSON, C.L., CHALUTZ, E. 1990. Effect of Inoculum Concentration and Salt Solutions on Biological Control of Postharvest Diseases of Apple with *Candida* sp. Phytopathology, 80, 456-461, U.S.A.
- McLAUGHLIN, R.J., WILSON, C.L., CHALUTZ, E. KURTIMAN, CP., FETT, WF., OSMAN, SF. 1990. Characterization and reclassification of yeasts used for biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables. Applied and Environmental Microbiology. 56(11); 3583–3586.
- MERCIER, J. and WILSON, C.L., 1995. Effect of wood moisture on the biocontrol by *Candida oleophila* of gray mold rot (*Botrytis cinerea*) of apple. postharvest Biology and Technology. 6(2); 9–15.

- MIGHELI, Q., GULLIND, M.L., PIANO, S., GALLIANO, A., DUVERNEY, C. 1997. Biocontrol Capability of *Metschnikowia pulcherrima* and *Pseudomonas syringae* against postharvest rots of apple under semi-commercial condition. International symposium on crop protection. 62 Belgium
- MOUSSAIF, M., JACQUES, P., SCHAARWACHTER, P., BUOZEKIWICZ, H., THONART, P. 1997. Cyclosporin-C is the main antifungal compound produced by *Acremonium luzulae*. Applied and Environmental Microbiology. 1739-1743.
- NELSON, E.B., CHAO, W.L., NORTON, J.M., NASH, G.T., HARMAN, G.E. 1986. Attachment of *Enterobacter cloacae* to Hyphae of *Pythium ultimum*: Possible Role in the Biological Control of *Pythium* Preemergence Damping-Off. Phytopathology, 76; 327-335.
- NOTARIO, V., 1982. β -glucanase from *Candida albicans*: purification, characterization and the nature of their attachment to cell wall components. Journal Genetic Microbiology. 128; 747.
- OMOIFO, C. and I. KOTUN, T. 1987. Inhibition of growth of some Plant pathogens by antagonistic microorganisms. J. Basic. Microbiology, 27(9); 515-519.
- ONIONS, A.H.S., ALLSOPP, D., EGGINS, H.O.W. 1981. Smith's Introduction to Industrial Mycology. Edward Arnold Ltd. 398. London.
- ÖZÇELİK, S. 1995. Genel Mikrobiyoloji. Atabey. 259. Isparta.
- PHAE, C.G., SASAK, M., SHODA, M., KUBOTA, H. 1990. Characteristics of *Bacillus subtilis* Isolated from Composts Suppressing Phytopathogenic Microorganisms. Soil S. Plant Nutr., 36(4); 575-586.
- PIANO, S., NEYROTTI, V., MIGHELI, Q., GULLINO, M.L. 1997. Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. Postharvest Biology and Technology 11(3); 131-140

- POSTMA, J., WILLEMSEN-de KLEIN, M.J.E.I.M., van ELSAS, J.D. 2000. Effect of the Indigenous Microflora on the Development of root and crown rot caused by *Pythium aphanidermatum* in Cucumber grown on rockwool. *Phytopathology* 90: 125-133.
- PUSEY, P.L. 1989. Use of *Bacillus subtilis* and Related Organisms as Biofungicides. *Pestic. Sci.*, 27; 133-140.
- PUSEY, Y., WILSON, C.L., 1984. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. *Plant Diseases*, 68, 753.
- QADIR, A., HEWETT, E.W., LONG, P.G. 1997. Ethylene production by *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*. 11; 85-91.
- QIN, B., ZHANG, X., WU, G. and TIEN, P. 1992. Plant resistance to fungal diseases induced by the infection of cucumber mosaic virus attenuated by satellite RNA. *Ann. appl. Biol.*, 120, 361-366, China.
- ROBERTS, R G. 1990. Postharvest Biological Control of Gray Mold of Apple by *Cryptococcus laurentii*. *Phytopathology*, 80; 526-530.
- ROITMAN, J N., MAHONEY, N E., JANISIEWIEZ, BENSON, M. 1990. A New Chlorinated Phenylpyrrole Antibiotic Produced by the Antifungal Bacterium *Pseudomonas cepacia*. *J. Agric Food Chem*, 38; 538-541.
- SAMSON, R.A, van-REENEN-HOEKSTRA, E.S. 1988. Introduction to Food-Borne Fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures 280 Baarn.
- SCHIEWE, A, MENDGEN, K. 1992. Identification of antagonists for biological control of the postharvest pathogens *Pezizula malicorticis* and *Nectria galligena* on apples. *Journal of Phytopathology*. 134(3); 229-237.
- SHOLBERG, PL., MARCHI, A., BECHARD, J. 1995. Biocontrol of apple using *Bacillus* spp. isolated from stored apples. *Canadian-journal of Microbiology*. 41(3); 247-252.

- SIVAKUMAR, D., WIJERATMAN, R.S.W., WIJESUNDERA, R.L.C., MARIKAR, F.M.T., ABEYESEKERE, M. 2000. Antagonistic Effect of *Trichoderma harzianum* on Postharvest Pathogens of rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Phytoparasitica*, 28(3); 240–247.
- SOBICZEWSKI, P., BRYK, H., BEREZIYNSKI S., 1996. Evaluation of epiphytic bacteria isolated from apple leaves in control of postharvest apple diseases. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 4(1); 35–45.
- TEIXIDO, N., USALL, J., GUTIERREZ, O., VINAS, I. 1998. Effect of the antagonist *Candida sake* on apple surface microflora during cold and ambient (Shelf life) storage. *European Journal of Plant Pathology*. 104(4) 387–398.
- TEIXIDO, N., USALL, J., MAGAN, N., VINAS, I. 1999. Microbial population dynamics on Golden Delicious apples from bud to harvest and effect of fungicide applications. *Annals of Applied Biology*. 134(1); 109–116.
- TURHAN, G. and GROSSMANN, F. 1994. Antagonistic Activity of Five *Myrothecium* Species Against Fungi and Bacteria in Vitro. *J. Phytopathology*, 140, 97-113, Germany.
- USALL-J., TEIXIDO, N., FONS, E., OCHOA-de-ERIBE, J., 1996. Successful biological control of the major postharvest diseases on apple and pear with new strain of *Candida sake*. *Proceedings of International Conference*. 603–608, Brighton.
- UTKHEDE, R.S. and SMITH, E.M. 1991. Effects of Nitrogen and Phosphorus on the Growth of Microorganisms Associated with Apple Replant Disease and on Apple Seedlings Grown in Soil Infested with these Microorganism. *J. Phytopathology*, 132, 1-11, Canada.
- WILSON, C.L. and WISNIEWSKI, M.E., 1994. *Biological control of postharvest diseases theory and practice*. CRC press, 182, USA.

- WILSON, C.L. and CHALUTZ, E. 1989. Postharvest Biological Control of *Penicillium* Rots of Citrus with Antagonistic Yeasts and Bacteria. *Scientia Hort.*, 40, 105-112, USA.
- WILSON, C.L., WISNIEWSKI, M.E., DROBY, S., CHALUTZ, E. 1993. A Selection strategy for Microbial antagonists to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae*, 53; 183-189.
- WISNIEWSKI, M., BILES, C., DROBY, S., McLAUGHLIN, R., WILSON, C., CHALUTZ, E. 1991. Mode of action of the postharvest biocontrol yeast, *Pichia quilliermondii*. I. Characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 39(4); 245-258.
- WISNIEWSKI, M., McLAUGHLIN, R., WILSON, C.W., CHALUTZ, E. 1989. Biocontrol of Botrytis Rot of Apple: Electron Microscopy of Effective and Ineffective Strains of the yeast *Debaryomyces Hansenii*. *Phytopathology*, 79(10); 1215-1216.
- ZHANG, Z., YUEN, G.Y. 2000. The role of Chitinase production by *Stenotrophomonas maltophilia* Strain C₃ in Biological Control of *Bipolaris sorokiniana*. *Phytopathology*. 90; 384-389.
- ZHOU, T., NORTHOVER, J., SCHNEIDER, K.E. 1999. Biological control of postharvest diseases of peach with phyllosphere isolates of *Pseudomonas syringae*. *Can. J. Plant Pathology*, 21; 375-381.

ÖZGEÇMİŞ

Ankara'da 1967 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'da tamamladı. 1984 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalından, 1988 yılında mezun oldu. Aynı yıl A.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı. Yüksek lisansını aynı fakültede, Sitoloji Dalında 1988-1992 yılları arasında tamamladı. Doktora çalışmalarını 1992-2000 yılları arasında A.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji Kürsüsü'nde tamamladı.

Halen Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.