

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**ELMALARDA HASAT SONU ÇÜRÜKLÜĞÜ
OLUŞTURAN *PENICILLIUM EXPANSUM*' UN IŞINLAMA
VE IŞINLAMA+SODYUM KARBONAT KOMBİNE
UYGULAMASIYLA ENGELLENMESİ ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR**

**Hazırlayan
Cemile TEMUR**

**Danışman
Prof. Dr. Osman TİRYAKİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Ağustos 2012
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**ELMALARDA HASAT SONU ÇÜRÜKLÜĞÜ
OLUŞTURAN *PENICILLIUM EXPANSUM*' UN IŞINLAMA
VE IŞINLAMA+SODYUM KARBONAT KOMBİNE
UYGULAMASIYLA ENGELLENMESİ ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Cemile TEMUR**

**Danışman
Prof. Dr. Osman TİRYAKİ**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FBY_11_3555 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ağustos 2012
KAYSERİ**

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

C. Temur

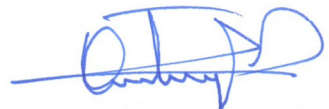
Cemile TEMUR

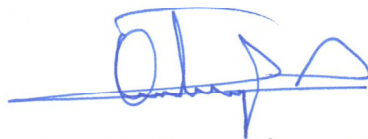
Elmalarda Hasat Sonu Çürüklüğü Oluşturan *Penicillium expansum*' un Işınlama ve Işınlama+Sodyum Karbonat Kombine Uygulamasıyla Engellenmesi Üzerine Araştırmalar adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan


Arş. Gör. Cemile TEMUR

Danışman


Prof. Dr. Osman TIRYAKI



Prof. Dr. Osman TIRYAKI

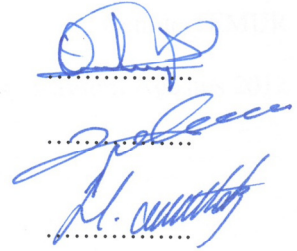
Bitki Koruma ABD Başkanı

Prof. Dr. Osman TİRYAKİ danışmanlığında **Cemile TEMUR** tarafından hazırlanan “**Elmalarda Hasat Sonu Çürüklüğü Oluşturan *Penicillium expansum*’ un Işınlama ve Işınlama+Sodyum Karbonat Kombine Uygulamasıyla Engellenmesi Üzerine Araştırmalar**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

15 /08/2012

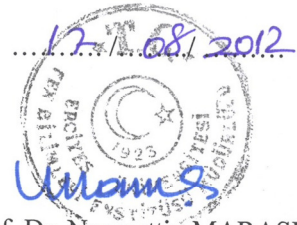
JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Osman TİRYAKİ
Üye : Prof. Dr. Zekai KATIRCIOĞLU
Üye : Yrd. Doç. Dr. H.Handan ALTINOK



ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 17/08/2012 tarih ve 2012/36-02 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Necmettin MARAŞLI

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve bu günlere gelmemde en büyük katkı sahibi sayın hocam Prof. Dr. Osman TİRYAKİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmanın ana materyali olan *Penicillium expansum*'un teşhisinde yaptığı yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. H. Handan ALTINOK'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: FBY_11_3555) teşekkür ederim.

Ayrıca; çalışmalarım süresince yaptığım seyahatlerde beni yalnız bırakmayan, sabırla beni daima destekleyen aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Cemile TEMUR

Kayseri, Ağustos 2012

ELMALARDA HASAT SONU ÇÜRÜKLÜĞÜ OLUŞTURAN *PENICILLIUM EXPANSUM*' UN IŞINLAMA VE IŞINLAMA+SODYUM KARBONAT KOMBİNE UYGULAMASIYLA ENGELLENMESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Cemile TEMUR

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2012

Danışman: Prof. Dr. Osman TİRYAKİ

KISA ÖZET

Meyvelerde hasat sonrası kaliteyi düşüren ve raf ömrünü azaltan en önemli hastalık etmenleri funguslardır. *P. expansum* elmalarda hasat sonu kayıplara neden olan en önemli fungal patojendir. Patojenin kontrolünde kimyasalların kısıtlamasından dolayı yeni yaklaşımlara ve kombine uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmada Kayseri İli'ndeki soğuk hava depolarından elmalardan izole edilen O2 kodlu *P. expansum* izolatu kullanılmıştır. In vitro koşullarda kültürler ⁶⁰Co kaynağında (radioaktivite:1026.2 Ci) ışınlanmış ve en uygun 3.0 kGy bulunmuştur. Çalışmada dozlar arasındaki farklılık SPSS programı kullanılarak Duncan Testi (%5 ve %1) ile araştırılmıştır. İkinci aşamada *P. expansum* ile inokule edilmiş elmalar 3.0, 3.5 ve 4.0 kGy dozlarda ışınlanmış ve 3-4°C'de muhafaza edilmiştir. 46. günde kontrol örneklerinde 23.97 mm, 3.5 kGy dozda ise 8.17 mm çürüme çapı gözlemlenmiştir. Bu bölümde en uygun doz olarak 3.5 kGy bulunmuştur. Son aşamada ise inokule edilmiş elmalara SC+2.5 kGy, SC+ 3.0 kGy ve SC+3.5 kGy uygulamaları yapılmış ve 3-4°C'de muhafaza edilmiştir. Bu bölümde de 46. günde kontrol örneklerinde 54.06 mm, SC+ 3.0 kGy uygulanmışlarda 21.18 mm çürüme çapı olmuştur. En uygun SC+3.0 kGy uygulaması bulunmuştur.

Hastalık gelişimini gösteren eğrinin altındaki alan (The area under the disease progress curve, AUDPC) değerlendirmesi yapılarak, uygulamaların bireysel ve toplam AUDPC değerleri hesaplanmıştır. Etkili olan dozun AUDPC oranlarını azaltması önceki yapılan istatistiksel analiz sonuçlarını doğrular durumdadır.

Anahtar Kelimeler: Elma, *P. expansum*, hasat sonrası çürümeler, sodyum karbonat, ışınlama, kombine uygulama, gamma radyasyonu.

**STUDIES ON INHIBITION OF *PENICILLIUM EXPANSUM*, CAUSES
POSTHARVEST DECAY IN APPLES, BY IRRADIATION AND
IRRADIATION+SODIUM CARBONATE COMBINED TREATMENTS**

Cemile TEMUR

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M. Sc. Thesis, August 2012

Supervisor: Prof. Dr. Osman TIRYAKI

ABSTRACT

Fungi reduce postharvest quality and decrease shelf-life of fruit and are considered as the most important disease agent in fruits. *Penicillium expansum* is an important pathogen causing considerable postharvest losses in apples. Due to some restrictions applied for chemical treatments, there is a need for new approaches and combined treatments for the inhibition of pathogen. In this study, O2 isolate of *P. expansum* isolated from apples in cold storages of Kayseri was used. In invitro conditions, cultures were irradiated with ^{60}Co sources (radioactivity: 1026.2 Ci) and 3.0 kGy was found to be the optimum dose. Differences between doses were evaluated by Duncan's multiple range test ($P=0.05$) of SPSS software. In the second step, inoculated apples with *P. expansum* were irradiated with 3.0, 3.5 and 4.0 kGy doses and stored at 3-4°C for 46 days. At 46th day, while the rot diameter of untreated apples was 23.97 mm, the apples treated with 3.5 kGy had a diameter of 8.17 mm. The dose of 3.5 kGy was determined to be the optimum dose for the second part of the study. In the last step of the study, previously inoculated apples were treated with SC+2.5 kGy, SC+3.0 kGy and SC+3.5 kGy and stored at 3-4°C for 46 days. At the 46th day, rot diameters were measured as 54.06 mm and 21.18 mm for control samples and SC+3.0 kGy treatment, respectively. SC+3.0 kGy was found to be the optimum treatment for the last part of the experiments. The area under the disease progress curve (AUDPC) was evaluated to calculate individual and total AUDPC values. Decrease in AUDPC values of optimum doses were confirming the results of previous statistical analyses.

Keywords: Apples, *P. expansum*, postharvest decay, sodium carbonate, irradiation, gamma radiation, combined treatment.

İÇİNDEKİLER

ELMALARDA HASAT SONU ÇÜRÜKLÜĞÜ OLUŞTURAN *PENICILLIUM* *EXPANSUM*' UN IŞINLAMA VE IŞINLAMA+SODYUM KARBONAT KOMBİNE UYGULAMASIYLA ENGELLENMESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR.

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar LİSTESİ	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Temel Kavramlar	7
1.1.1. Radyasyon, Radyoizotop, Radyoaktivite ve Yarı ömür	7
1.1.2. Radyasyon ve Radyoaktivite Birimleri.....	8
1.1.3. İyonlaştırıcı Radyasyon.....	9

1.1.4. Ultraviyole (UV) Radyasyonu.....	11
1.1.5. Dozaj ve Etkisi.....	11
1.2. Literatür Çalışması	12
1.2.1. Hasat Sonu Çürümelerine Karşı Işınlama Uygulamaları	12
1.2.2. Işınlama Uygulamasının Avantajları.....	14
1.2.3. Işınlama Uygulamasının Dezavantajları	15
1.2.4. Işınlamanın Mikroorganizmaya Etki Mekanizması	16
1.2.5. Işınlama ile Kombine Uygulamalar	19
1.2.5.1. Sodyum Karbonat ile Kombine Uygulama.....	20
1.2.5.2. Sıcak Su ile Kombine Uygulama.....	21
1.2.5.3. Kimyasallar ile Kombine Uygulama	22
1.2.5.4. Modifiye Atmosfer Ambalaj ile Kombine Uygulama	23
1.2.5.5. Soğukta Depolama ile Kombine Uygulama	23
1.2.5.6. Biyolojik Kontrol Ajanları ile Kombine Uygulama.....	25

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Materyal	26
2.1.1. Araştırmada Kullanılan Fungal İzolatlar	26
2.1.2. Araştırmada Kullanılan Fungal Gelişmeyi Engelleyiciler.....	27
2.1.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri	27
2.1.4. Çalışmada Kullanılan Meyve	27
2.2. Yöntem	27
2.2.1. Etmenin İzolasyonu	27
2.2.2. Patojenisite Testi.....	28

2.2.3. In vitro Çalışmaları	30
2.2.4. In vivo Çalışmaları	31
2.2.4.1. Meyvelerin Yüzeysel Dezenfeksiyonu	31
2.2.4.2. Meyvelerin <i>P.expansum</i> ile İnokule Edilmesi	31
2.2.4.3. Sodium Karbonat Uygulaması.....	32
2.2.4.4. Işınlama Uygulaması.....	33
2.2.4.5. Işınlama+Sodyum Karbonat Kombine Uygulaması.....	34
2.2.5. Etkin Bulunan Uygulamada Fungusların Kültürel Özellik ve Patojenisitesindeki Değişimin İncelenmesi.....	35
2.2.5.1. Kültürel Özellik Testi	35
2.2.5.2. Patojenisite Testi	35
2.2.6. Değerlendirmeler	35
2.2.6.1. Koloni Çapı ve Çürüme Çapı Verilerinin İstatistiksel Analizi	35
2.2.6.2. AUDPC Değerlendirmesi	36

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. İzolatların Patojenisite Testi Sonuçları.....	37
3.2. <i>P.expansum</i> Ö2 izolatının Teşhisi	38
3.3. In vitro Koşullarda Işınlama Çalışmaları.....	38
3.3.1. Işınlanmış Kültürlerin 3-4°C’de Muhafaza Edilmesi Sonuçları	39
3.3.2. Işınlanmış Kültürlerin 23±1°C’de Muhafaza Edilmesi Sonuçları.....	41
3.4. İn vivo Koşullardaki Çalışmalar	43
3.4.1. Sodyum Karbonat Uygulaması Sonuçları.....	43

3.4.2. Işınlama Uygulaması Sonuçları.....	44
3.4.3. Işınlama+Sodyum Karbonat Kombine Uygulaması Sonuçları.....	46
3.5. Kültürel Özellik ve Patojenisite Testi Sonuçları	48
3.5.1. Kültürel Özellik Testi	48
3.5.2. Patojenisite Testi	49
3.6. AUDPC Değerlendirmesi	51

4. BÖLÜM

TARTIŞMA – SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. Tartışma – Sonuç	55
4.2. Öneriler	58
KAYNAKLAR	59

ÖZGEÇMİŞ

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Araştırmalarda kullanılan radyoizotopların özellikleri (Anonymous, 1991)...	8
Tablo 1.2. Bazı funguslar için in vitro ve in vivo koşullarda gerekli olan lethal gamma radyasyon dozları (Beraha <i>et al.</i> , 1960)	17
Tablo 1.3. Sulu ortamlarda ışınlanmış bazı fungusların D ₁₀ değerleri (TAEK, 2001). ..	19
Tablo 1.4. <i>Penicillium expansum</i> ile enfekteli Ankara armutlarında çürüklük çapı (Tiryaki ve Maden, 1991).....	24
Tablo 3.1. <i>P. expansum</i> izolatlarının patojenisite testi (23±1°C) ile elde edilen çürüme çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.	37
Tablo 3.2. Işınlanan ve 3-4°C’de saklanan <i>P.expansum</i> kültürlerinin farklı günlerdeki koloni çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.....	39
Tablo 3.3. Işınlanan ve 23±1°C’de saklanan <i>P.expansum</i> kültürlerinin farklı günlerdeki koloni çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.....	41
Tablo 3.4. <i>P.expansum</i> ile inokule edilmiş elmalara SC uygulamasından sonra 3-4 °C’de muhafaza etme ile elde edilen çürüme çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.	43
Tablo 3.5. <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş elmalara ışınlama uygulamasından sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile gözlemlenen çürüme çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.....	44
Tablo 3.6. <i>P.expansum</i> ile inokule edilmiş elmalara SC+ışınlama kombine uygulamasın-dan sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile gözlemlenen çürüme çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları	46
Tablo 3.7. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen <i>P. expansum</i> kültürlerinin 23±1°C’de farklı günlerdeki koloni çapları (mm).....	48
Tablo 3.8. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen <i>P. expansum</i> kültürlerinin 3-4°C’de farklı günlerdeki koloni çapları (mm).....	49
Tablo 3.9. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen <i>P. expansum</i> ’un 23±1°C’de farklı günlerdeki çürüme çapları (mm)	50

Tablo 3.10. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen <i>P. expansum</i> ' un 3-4°C'de farklı günlerdeki çürüme çapları (mm).	51
---	----

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Hidrojen elementinin izotopları	7
Şekil 2.1. Soğuk hava depolarında muhafazaya alınan elmalardan bir görünüm	26
Şekil 2.2. Depolarda <i>P. expansum</i> fungusunun oluşturduğu çürümeler	27
Şekil 2.3. PDA ortamında elma dokularında gelişen <i>P. Expansum</i>	28
Şekil 2.4. Patojenisite testi için <i>P. expansum</i> izolatlarından hazırlanmış spor süspansiyonları	29
Şekil 2.5. Araştırmada kullanılan, TAEK-SANAEM’de bulunan ⁶⁰ Co gamma kaynağı	30
Şekil 2.6. İn vitro çalışmalarında petrideki <i>P. expansum</i> kültürlerinin ışınlanması	31
Şekil 2.7. Elmaların <i>P. expansum</i> ile inokulasyonu	32
Şekil 2.8. <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş elmalara SC uygulaması	32
Şekil 2.9. <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş elmaların ışınlanması	34
Şekil 3.1. <i>P.expansum</i> izolatlarının inokulasyondan sonra 12. günde oluşturdukları çürüme çapları	38
Şekil 3.2. <i>P. expansum</i> O2 izolatının konidi (a), kondiofor (b) ve hifleri (c)	38
Şekil 3.3. Farklı dozlarda ışınlanan ve 3-4°C’de saklanan <i>P. expansum</i> kültürlerinin gelişmeleri	40
Şekil 3.4. Işınlanmış <i>P. expansum</i> kültürlerinin 3-4°C’de saklanmasında 27.günde görülen koloni çapları	40
Şekil 3.5. Farklı dozlarda ışınlanan ve 23±1°C’de saklanan <i>P.expansum</i> kültürlerinin gelişmeleri	42
Şekil 3.6. Işınlanmış <i>P. expansum</i> kültürlerinin 23±1°C’de saklanmasında 9. günde görülen koloni çapları	42
Şekil 3.7. <i>P.expansum</i> ile inokule edilmiş elmalara SC uygulamasından 39 gün sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile görülen çürümeler	43

Şekil 3.8. <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş ve farklı dozlarda ışınlanarak 3-4°C’de muhafaza edilen elmalarda çürüme gelişmeleri	45
Şekil 3.9. <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş elmalara ışınlama uygulamasından 40 gün sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile görülen çürümeler	45
Şekil 3.10. <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş ve SC + ışınlama uygulanarak 3-4°C’de muhafaza edilen elmalarda gözlemlenen çürüme çapları (mm)	47
Şekil 3.11. <i>P.expansum</i> ile inokule edilmiş elmalara SC + ışınlama uygulamasından 40 gün sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile görülen çürümeler	47
Şekil 3.12. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen <i>P. expansum</i> kültürlerinin 23±1°C’de 13 günlük gelişmeleri	48
Şekil 3.13. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen <i>P. expansum</i> kültürlerinin 3-4°C’de 25.günlük gelişmeleri	49
Şekil 3.14. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen <i>P. expansum</i> ’un 16. günde 23±1°C’de oluşturduğu çürümeler.....	50
Şekil 3.15. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen <i>P. expansum</i> ’ un 22. günde 3-4°C’de oluşturduğu çürümeler.....	51
Şekil 3.16. Işınlamanın <i>P. expansum</i> ’un AUDPC’si üzerine etkisi.....	52
Şekil 3.17. Işınlama+SC uygulamasının <i>P. expansum</i> ’un AUDPC’si üzerine etkisi	53
Şekil 3.18. Kültür ışınlamasının (3-4°C saklama) <i>P. expansum</i> ’un AUDPC’si üzerine etkisi	53
Şekil 3.19. Işınlama, ışınlama+SC ve kültür ışınlaması uygulamalarının <i>P. expansum</i> ’ un toplam AUDPC değerlerinin görünümü.....	54

GİRİŞ

Kültürü yapılan elmaların anavatanının, Anadolu'yu da içine alan Kafkaslar ve muhtemelen Güney-Batı Sibiryada olduğu ve birçok elma türünün Orta Asya, Çin, Kore, Japonya ve Kuzey Amerika'da doğal olarak bulunduğu ifade edilmektedir [1]. Günümüzde kültür elması kuzey ve güney yarım kürenin ılıman iklime sahip bölgelerine dağılmış durumdadır. Bugün dünyadaki elma çeşitlerinin sayısı 6500'ü aşmakta olup, Türkiye'de ise bu sayı 460'ı bulmaktadır. Bunlar arasında kalite, verim yönünden yüksek ve ticari anlamda yetiştiriciliği yapılanların sayısı çok azdır. Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan çeşitler arasında Golden Delicious, Starking Delicious, Starkrimson Delicious, Starkspur, Granny Smith ve Jonathan sayılabilir [2].

İnsanlık tarihinin ilk meyvesi sayılan elmadan, beslenme yönünden ve sağlık açısından yararlıdır. Bileşiminde %85 su, %12 şeker bulunan elmada, ayrıca pektin, organik asitler, soda, fosfor, tanen, potasyum ile bolca vitaminler (A, B1, B2, C ve E) bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar düzenli şekilde elma tüketen insanların %50'den fazlasında, kolesterolün %10'un üzerinde düşüş gösterdiğini ortaya koymuştur. Taze meyve, meyve suyu, elma sirkesi ve elma kabuğu olarak tüketilebilen elmanın, sinir ve kasları kuvvetlendirici, idrar söktürücü, karaciğer salgısını artırıcı, ayrıca hazımsızlığı giderici etkileri de bulunmaktadır [3].

Dünyada elma dikili alanlardaki son 40 yıllık dönem boyunca üretim ve verimdeki gelişmeler değerlendirildiğinde; dünya elma üretiminde önemli artışların olduğu anlaşılmaktadır. Nitekim 1961-1965 dönemi ortalamasına göre 20.7 milyon ton olan dünya elma üretimi 2.8 kat artış göstererek 1996-2000 dönemi ortalamasında yaklaşık 58 milyon ton'a, 2007 yılında ise üretim 65 970 706 ton'a yükselmiştir. Dünyada üretilen 66 milyon ton elmanın 2.5 milyon tonu ülkemizde üretilmekte ve bu hali ile Türkiye, elma üretiminde dünyada Çin, ABD ve İran'dan sonra 4. sırada yer almaktadır

[4]. Meyveler içinde önemli ürünlerin üretim miktarlarına bakıldığında daha önceki yıllara göre, elma %3.1, kayısı %44.4, erik %11.6, kiraz %4.9 ve zeytin %23.7 oranında artmıştır [5]. Türkiye de yıllara göre elma üretimi; 2009 yılı 2 782 365 ton, 2010 yılı 2 600 000 ton ve 2011 yılında 2 680 075 ton şeklinde olmuştur [6].

Türkiye’deki meyvecilik alanında Kayserinin yerine bakacak olursak; meyvecilik alanları 6 207 ha olup, toplam arazi varlığının %0.9’unu oluşturmaktadır. Meyveler arasında en fazla yetiştirilen tür 94 bin tonu aşan üretimi ile elma olup ikinci, sırada kayısı yer almaktadır. Son yıllarda özellikle Niğde gibi elma yetiştiriciliğinin yapıldığı ekolojik koşullara benzerliği nedeniyle Kayseri’de elma üretiminin düzenli olarak arttığı görülmektedir. Ayrıca 2009 yılı TÜİK verileri incelendiğinde de mevcut durumda 1 444 705 adet olan meyve veren elma ağacı sayısının yanı sıra 316 209 adet de meyve vermeyen elma ağacı yeni tesis edilmiş bahçelerde görülmektedir. Bu ağaçlarında meyve vermeye başladığı göz önüne alındığında 94 415 ton olan Kayseri elma üretiminin tahmini olarak 20 000 ton civarında bir artış göstereceği ortadadır [7]. Kayseri İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü’nün verilerine göre 2010 yılında ise Kayseri de elma üretimi 127 282 ton’dur. Bu veriye göre Kayseri Türkiye elma üretiminin %4’ünü karşılamaktadır [8]. Kayseri ilinde mevcut bulunan 12 soğuk hava deposunun %85’i Yahyalı ilçesinde geriye kalan %15’lik kısmı da Develi ve Yeşilhisar ilçelerindedir. 2010 yılı itibariyle bu depolarda toplam 42 750 ton ürün bulunmaktadır. Bu ürünlerden yaklaşık %98’i elma, %2’lik kısmı da armut, nar, et ve süt ürünleri oluşturmaktadır [9].

Dünya’da elma üretiminde önemli paya sahip ülkelerin çoğu ihracat açısından da ilk sıraları almaktadır. Elma ihracatında Fransa ilk sırayı alırken, bu ülkeyi ABD, Şili ve İtalya izlemektedir. Türkiye üretim bakımından üçüncü sırada olmakla birlikte, ihracatta dünya ülkeleri arasında 21. sırada yer almaktadır. Türkiye’nin elma ithalatı ise çok az miktarlarda olup, yıllara göre de farklılıklar arz etmektedir. İthalatın yapıldığı başlıca ülkeler İran, İtalya, Arjantin, Şili ve Hollanda’dır. Çeşitte ise tercih edilenler Golden, Starking ve Grany Smith’dir. 2002 yılı itibariyle Türkiye 3 188 ton elma ithal etmiştir [3].

Üretim artışının düzenli oluşu ve Türkiye elma üretiminin geldiği nokta göz önünde bulundurulduğunda ürünün depolanması ve pazar sürecinin uzatılması daha da önemli bir konuma geldiğinden soğuk hava deposu sayısı, üretimi takiben arttırılmalı ve bu tür yatırımlar teşvik edilmelidir [7].

Taze meyve ve sebzelerin hasat sonrası hastalıkları, depo ömrünü kısaltan en önemli sorunlardan biridir. Bu hastalıklar depolanan ürünün çeşidi ve depolama koşullarına bağlı olarak %20-50 düzeyinde kayıplara neden olmaktadır [10].

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. Bunlardan birincisi “Abiyotik Kaynaklı Faktörler” dir. Metabolitlerin eksikliği veya fazlalığı, ürünün bulunduğu ortamın nemi ve sıcaklığı, kimyasal ve fiziksel yaralanmalar hasattan sonra ürünlerin bozulmasına neden olan abiyotik faktörlerdir. İkincisi ise “Biyolojik Kaynaklı Faktörler”dir. Bu bölümün en büyük kısmını funguslar ve bakteriler oluşturmaktadır. Bunlar depolarda yaygın olarak görülürler ve büyük kayıplara neden olurlar. 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 [11].

Tarımsal ürünlerdeki kayıplar, üretildiği ülkenin gelişmişlik düzeyine paralel olarak azalmaktadır. Örneğin, taze meyve ve sebzelerin hasat sonrası oluşan bozulmaları nedeniyle ileri ülkelerde %5-25 düzeyinde bir kayıp söz konusu iken, bu gelişmekte olan ülkeler için %50 düzeyindedir. Hasat sonrası bozulmalar nedeniyle oluşan ürün kaybı bazı durumlarda, hasat ile birlikte paketlenme, depolama ve taşıma masraflarının da çok olması nedeniyle, ürünün bahçedeki toplam değerinin birçok katına ulaşabilmektedir [12].

Meyvelerde hasat sonrası kaliteyi düşüren ve raf ömrünü bitiren en önemli hastalık etmenleri funguslardır. Yaş meyveler bol miktarda su ve besin maddesi içerdiğinden hasattan sonra patojen saldırısına uğrarlar. Enfekte ürünlerde etilen sentezi, solunum ve ısı üretimi artarak olgunlaşma hızlanır. Hastalanan ürünlerdeki fungus sağlamlarada bulaşır. Hasat sonrası hastalık etmenleri olan *Penicillium expansum* Link ve *Botrytis cinerea* W elmalarda zarar yapan en önemli patojenlerdir. Bunlardan *P. expansum* meyve kabuğunun yaralanması ile ürün içine girebilen yara patojenidir. Patojen olgunluğa paralel olarak, uygun ortamda çimlenir ve hastalığa neden olur. Depolarda yaygın olarak görülen hasat sonrası fungal hastalıklar, elmalarda büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hasat sonrası fizyoloji ve bu husustaki bilgi eksikliği, hasat

sonrası depo koşullarının uygun olmaması gibi nedenler kayıpları daha fazla artırmaktadır [13].

Hasat sonrası taze meyvelerde meydana gelen bozulmalar, ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Kayıpları önlemek için pek çok fungusit kullanılmaktadır. Son yıllarda fungusitlere toleranslı patojen ırklarının ortaya çıkması, fungusitlerin insan ve çevre sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin anlaşılması, araştırmacıları yeni alternatif metotlar aramaya itmiştir [14].

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) üretilen gıdaların, Dünyada %25'inin hasat sonrasında kaybolduğunu belirtmiştir [15]. Gıdalardaki en büyük ekonomik kayıplar, böceklerin zarar vermesi, fungal bulaşma ile olmaktadır [16, 17]. Hasat sonrası hastalıklar, ayrıca depolama süresi ve meyvenin pazarlama ömrünü de sınırlandırır. Kayıplar hasat sonrasında fungusit kullanıldığında %5-10 arasında olur; fungusit kullanılmadığında %50 veya daha yüksek kayıplar aynı yıl içerisinde meydana gelebilmektedir [18]. Hasat sonrası kayıpların Türkiye'de %30-40'lara ve bazen de %50'lere vardığı tahmin edilmektedir [19]. Ancak sentetik fungusitlerin hasat edilen ürünlerde kullanımını sınırlandıran önemli bazı faktörler vardır. Bu faktörlerden biri patojenlerin fungusitlere karşı geliştirdikleri dayanıklılık mekanizması sonucu yaygın olarak kullanılan fungusitlerin etkilerini kaybetmeleridir. Son yıllarda etkili fungusitlere dahi dayanıklı ırkların ortaya çıkması ile fungusitler yetersiz kalmıştır. Bir diğer faktör de özellikle son yıllarda gelişmiş ülkelerde tüketim aşamasındaki ürünlerde bulunan fungusit kalıntıları ve bu kalıntıların insan sağlığı üzerinde oluşturduğu risklere karşı oluşan kamuoyu baskısıdır [10, 20].

Hasat sonu hastalıkların önlenmesinde kimyasal olmayan yöntemlerin önemi her geçen gün artmaktadır. Ürünlerde pestisit kalıntısının olmaması istenmektedir. Ayrıca çoğu patojen fungusitlere karşı dayanıklılık kazanmaktadır. Kimyasallara karşı çok alternatif yöntem geliştirilmiş ancak etkinlikleri istenen düzeyde olmamıştır [21]. Bundan dolayı araştırmacılar bu yöntemlerin etkinliğinin artırılması için diğer uygulamalarla kombine edilmesi ile ilgili stratejiler geliştirmişlerdir [14, 22]. Bugüne kadar hasat sonu hastalıklara karşı, sıcaklık uygulaması, biyolojik mücadele, sodyum karbonat uygulaması, modifiye atmosfer ve ışınlama uygulamalarının ikili hatta üçlü kombinasyonu ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır [23, 24, 25].

Işınlama, maddenin kısa dalga boyunda ve yüksek enerjideki iyonlar veya demet halinde hızlandırılmış elektronlar içeren ışınlara maruz bırakılması işlemidir. Tatbik

edilen doz ve enerji seviyesi, ulaşılmak istenen etkiye, radyasyona maruz bırakılan ortam koşullarına bağlı olarak değişir [26].

Gıdaların muhafazasında gamma ışınları, X-ışınları ve hızlandırılmış elektronlar kullanılmaktadır [27]. Gamma ışınları üreten ^{60}Co (Kobalt-60) ve ^{137}Cs (Sezyum-137), bitki koruma araştırma ve çalışmalarında çok kullanılan radyasyon kaynaklarıdır. Bu elementler gamma ışınları olarak adlandırılan yüksek enerjili fotonlar veririler. Bu fotonlar gıdaları çeşitli derinliklerde penetre edebilir. Gamma ışınlarının madde içinde nüfus kabiliyetleri fazla olup bunları durdurmak için demir, kurşun, beton gibi yüksek yoğunlukta ve absorblayıcı madde kullanılır. Gıda ışınlamada X-ışınlarından ve hızlandırılmış elektronlardan da yararlanılmaktadır. X-ışınları 5 MeV (mega elektron volt) ve daha düşük enerjide çalışan kaynaklardan üretilmektedir. Hızlandırılmış elektronlar ise 10 MeV ve daha düşük enerjide çalışan jeneratörlerde üretilmektedir [28].

Bütün gıdalarda, doğal (background) radyasyona maruz kalmalarından dolayı bir dereceye kadar radyoaktiflik vardır. Gıda ışınlamada kullanılmak için onaylanmış radyasyon kaynakları atom altı parçacıkları uyarmak için çok düşük bir enerji üretimiyle sınırlı olmasından dolayı, gıda ışınlama ilave radyoaktiviteye yol açmaz [29]. Zincir reaksiyonlar meydana gelmemesi nedeniyle herhangi bir ilave radyoaktivite oluşmaz [30]. Bir diş X-ışınları ile ışındandıktan sonra radyoaktivite olmadığı gibi, ışınlanmış gıdalarda da radyoaktivitenin oluşması fiziksel olarak mümkün değildir. Işınlama bir radyant enerjidir. Enerji kaynağı kaldırıldığında yok olur [31].

Işınlanan ürünlerde radyoaktifliğin oluşması konusunda yapılan bir çok açıklamada, 5 MeV enerjili gamma ışınlarının ve 10 MeV'un altında olan elektronların çok yüksek dozlarda bile radyoaktiflik meydana getirmediği ortaya konmuştur. Pratikte kullanılan ^{60}Co kaynakları 1.33 MeV, ^{137}Cs kaynakları 0.66 MeV enerjili ışın vermektedir. Bu bakımdan gıda ışınlamada yüksek dozlar kullanılsa bile radyoaktivite meydana gelmesi fiziksel olarak mümkün değildir [32, 33, 34]. Gıdaların radyoaktivite oluşturması nükleer silah denemeleri veya Çernobil benzeri nükleer kazalarda ya da gıdaların radyoaktif partikül sızıntısına maruz kalması gibi durumlarda söz konusudur [26]. Dünya genelinde yaklaşık 170 adet gamma tesisi bulunmaktadır. Çoğu tesis tıbbi malzeme sterilizasyonunda, tıbbi ve paket materyali hazırlamada kullanılmaktadır [35].

FAO/IAEA/WHO (Birleşmiş Milletler Gıda Tarım Örgütü/Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı/Dünya Sağlık Örgütü)'nün Gıda Işınlama ile ilgili Uzmanlar Komitesi (JECFI);

1981 yılında gıda ıslınlama konusunda, “herhangi bir gıdayı 10.0 kGy’e kadar ıslınlamanın güvenilir olduğunu ve hiçbir toksikolojik tehlikeye neden olmayacağını açıklamıştır [36]. Bu limit 1983’te Kodeks genel standardına aktarılmıştır [37]. Daha sonra da JECFI, iyi üretim teknikleri uygulandığı sürece 10.0 kGy’e kadar ıslınlanmanın hiçbir besinsel, kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik probleme neden olmayacağı eklenmiştir [38]. Türk Gıda Kodeksi ıslınlama yönetmeliğinde de 10.0 kGy’lik ıslınlama limiti aynen benimsenmiştir [32].

Hasat sonu hastalıkların kontrol edilmesinde fungusit kullanımının yukarıda açıklanan kısıtlamalarından dolayı araştırmacılar, kimyasal pestisitlere alternatif yöntemler üzerinde çalışmaktadır. Bu yöntemlerden ıslınlama uygulamasıyla hasat sonrası çürümelerin kontrolünde olumlu sonuçlar alınmaktadır [39]. Gıda güvenliğinin sağlanması için daha iyi gıda muhafaza yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Gıda ıslınlaması, mikroorganizmaların, parazitlerin ve böceklerin gelişimi ile depolama ve dağıtım sırasında oluşabilecek ciddi kayıpları kontrol altında tutabileceği öngörülen yöntemlerden biridir [40].

Bir çok araştırmacı ıslınlama ile depo çürümelerinin önüne geçmenin mümkün olmadığını, ıslınlamanın çeşitli derecelerde fungusların gelişmesini geciktirdiği (fungustatik etki), fungusu tamamen öldürebilecek yüksek dozlarda tekstür ve kabuk renginin bozulduğunu belirtmişlerdir [41, 24, 22]. Bundan dolayı ıslınlama ile kombine uygulamalar gündeme gelmiştir. Kombine uygulamalarda genel amaç, birden fazla uygulamanın dozlarının düşürölerek uygulanması ve bu şekilde tekli uygulamalarda oluşabilecek olumsuz etkilerin azaltılmasıdır. Kombine uygulama olarak; düşük dozlarda ıslınlama+düşük sıcaklık; düşük dozlarda ıslınlama+düşük dozlarda kimyasal; düşük dozlarda ıslınlama+sodyum karbonat gibi uygulamalar yapılmaktadır [24, 25]. Karabulut *et al.* [42] hasat sonrası hastalıklarının önlenmesinde sodyum bi karbonat uygulamasının çok başarılı olduğunu vurgulamışlardır.

Bu çalışmada Kayseri İli’nin Develi, Yahyalı ve Yeşilhisar ilçelerinde bulunan soğuk hava depolarındaki elmalardan *P. expansum* izole edilmiş ve patojenisitesi en yüksek olan izolatin ıslınlama ve ıslınlama+sodyum karbonat kombine uygulaması ile enfeksiyonunun engellenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla önce etkili ıslınlama dozunun bulunması için in vitro koşullarda ıslınlama yapılmış, daha sonra da inokule edilmiş elmalarda (in vivo) ıslınlama+sodyum karbonat kombine uygulaması yapılmıştır.

1. BÖLÜM

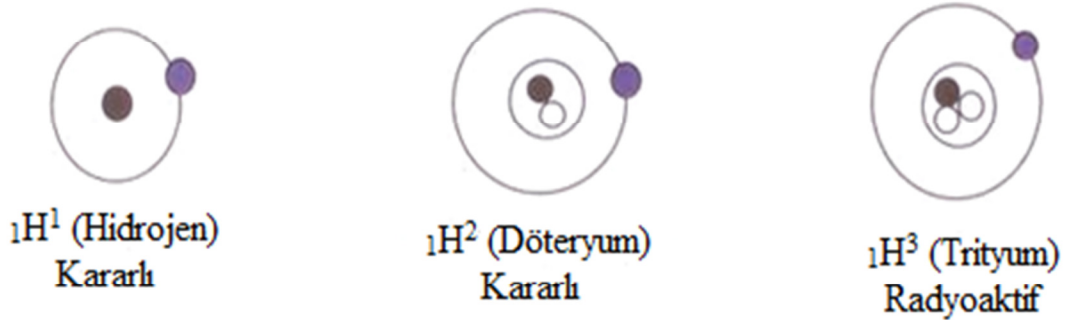
GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Temel Kavramlar

1.1.1. Radyasyon, Radyoizotop, Radyoaktivite ve Yarı ömür

Atom, maddenin özelliğini taşıyan en küçük parçasıdır. Proton ve nötronlardan oluşan bir çekirdek ve çekirdek etrafında dairesel ve eliptik yörüngelerde dolaşan elektronlardan meydana gelir. Atom minyatür bir güneş sistemine benzer. Elektronlar negatif bir yük taşır, bu negatif yüke karşılık olarak protonlar pozitif yüklüdür. Nötronlarsa elektriksel olarak yüksüz parçacıklardır.

Proton sayıları aynı ancak nötron sayıları farklı olan atomlara **izotop** denir. Bir elementin farklı sayılarda izotopları olabilir. Bu izotoplar nötron sayıları farklı olduğundan, farklı kütle numaralarına sahiptirler. Örneğin, hidrojen elementinin 3 izotopu vardır. Hidrojen atomunun izotopları:



Şekil 1.1. Hidrojen elementinin izotopları

Kararsız olan ${}^1_1\text{H}^3$ (radyoaktif) izotopuna radyoaktif element veya **radyoizotop** denir. Bunlar enerji fazlalıklarını **radyasyon** yayarak vermiş olurlar. Bu olaya **radyoaktivite** (veya **radyoaktif parçalanma**) denir. Bu esnada etrafa alfa, beta veya gamma ışınları yayarlar. Bir radyoaktif elementin başlangıçta mevcut olan atom sayısının yarıya inmesi için geçen süreye **yarı ömür** denir [43, 44]. Araştırmalarda kullanılan radyoizotopların yarı ömür ve diğer özellikleri Tablo 1.1’de verilmiştir. Radyoaktivite kontrol edilemeyen bir olaydır. Herhangi bir şekilde yavaşlatılamaz veya durdurulamaz. Üstel bir fonksiyon şeklinde zayıflayan bir tempo ile azalarak kendiliğinden tükeninceye kadar devam eder.

Tablo 1.1. Araştırmalarda kullanılan radyoizotopların özellikleri [45].

Radyoizotop	Yarı ömrü	Radyasyonun	
		Tipi	Enerjisi (keV)
Karbon-14 (${}^{14}\text{C}$)	5730 yıl	β^-	156
Hidrojen-3 (${}^3\text{H}$)	12.3 yıl	β^-	18.8
Kükürt-35 (${}^{35}\text{S}$)	88 gün	β^-	160
Fosfor-32 (${}^{32}\text{P}$)	14.3 gün	β^-	1700
İyot-131 (${}^{131}\text{I}$)	8 gün	β^-	364
Kobalt -60 (${}^{60}\text{Co}$)	5.3 yıl	gamma	1330
Sezyum-137 (${}^{137}\text{Cs}$)	31 yıl	gamma	660

1.1.2. Radyasyon ve Radyoaktivite Birimleri

Uluslararası Radyasyon Birimleri Komitesi (International Commission on Radiation Units, ICRU) tarafından radyasyon (rad) ve radyoaktivite (Curie, Ci) birimleri açıklanmıştır. Işınlama, gıdalarda radyoaktiviteye neden olmayan fiziksel bir proses, bir enerji girdisidir. Bu enerjinin miktarı ışınlama absorblama dozu olarak tanımlanır ve birimi rad (1 rad = 100 erg/g) veya Gray (Gy)’dir [46].

Radyoaktivite birimi Uluslararası Birim Sistemi'nde (System de Internationale, SI) sisteminde Becquerel (Bq)' dir. 1 Bq bir saniyedeki parçalanmaya eşittir. Ancak alışkanlık olarak eski birim Curie (Ci)'nin kullanımına da devam edilmektedir. Bq ile Ci arasında aşağıdaki eşitlikler vardır [47, 48].

Curie (Ci): Aktivite birimi olup 3.7×10^{10} parçalanma/sn'dir.

Becquerel (Bq): 1 Bq=1parç./sn; 1 Ci= 3.7×10^{10} Bq

$$1 \text{ Bq} = 0.2703 \times 10^{-10} \text{ Ci}$$

Son yıllarda kullanılan radyasyon birimi ise Gray (Gy)'dir. Eski birim Rad ile aşağıdaki eşitlikler vardır;

$$1 \text{ rad} = 10^{-2} \text{ Gy}; 1 \text{ kGy} = 1000 \text{ Gy}; 1 \text{ kGy} = 100 \text{ krad}$$

Daha öncelerden kullanılan ışınlama birimleri ve tanımları aşağıda verilmiştir [44, 49].

Röntgen: Sadece X ve gamma ışınları için kullanılır. 1 R=83.7 erg/g'lık enerji verir.

Rad: Enerji olarak 100 erg/g'lık enerji verir. Alfa, beta, gamma, X-ışınları, proton ve nötronlar için kullanılır. 1 krad=1000 rad, 1 Mrad= 10^6 rad.

Rem (Röntgen equivalent man): Röntgenin insan için eşdeğeridir. 1 Röntgenlik X ve gamma ışını ile aynı biyolojik etkiyi meydana getirir.

Rep (Röntgen equivalent physical): Bir madde de 93 erg/g'lık enerji verir. 1 rep=0.93 rad; 1 rad=1.075 rep; 1 Gy=100 rad; 100 rad=107.5 rep.

1.1.3. İyonlaştırıcı Radyasyon

Radyoaktif bozunma ile salınan 4 çeşit radyasyon vardır.

a- Alfa parçacıkları: Atom numarası büyük olan tabii radyoaktif izotoplarda görülür.

b- Beta parçacıkları: ^{14}C , ^{35}S ve ^{32}P beta ışını verirler.

c- Gamma ışınları: ^{60}Co , ^{137}Cs gamma ışını verirler.

d- X-ışınları: Kaynağı elektron yörüngeleridir. Pratikte Röntgen tüpleri ile elde edilirler.

Ayrıca protonlar (hızlı nötronların hidrojen atomu ile etkinleşmesinden yayımlanır) ve nötronlar (çekirdekten kopan elektrik yüksüz parçacıklar) da nükleer radyasyona

girerler. Aynı zamanda bu alfa, beta, gamma, X, nötron ve protonlar iyonlaştırıcı radyasyondurlar [50].

Işınlama maddenin kısa dalga boyunda ve yüksek enerjideki iyonlar veya demet halinde hızlandırılmış elektronlar içeren ışınlara maruz bırakılması işlemidir. Işınlama işlemi iki farklı yöntemle yapılır;

1- Gama Işınlaması

2- Doğrusal Hızlandırıcı kaynaklı ışınlama (elektron demeti ve X-ışınları için)

Gamma ışınlamasında radyoaktif Kobalt-60 (Co-60) ve Sezyum-137 (Cs-137) elementlerinin yaydığı gamma ışınımı (radyasyonu) kullanılır [32]. Gammaların kaynağı atomun çekirdeği iken X-ışınlarındaki elektron yörüngeleridir. Çekirdeğin enerji seviyeleri arasındaki farklar gamma ışını oluşmasına teşkil ederler. Işınların maddeye nüfuz etme yeteneği (girişkenliği) yüksektir [51]. Hızlandırıcı kaynaklı ışınlamada, ışınlama işlemi için ışın tabancası adı da verilen bir mekanizmanın oluşturduğu hızlandırılmış elektron demetleri veya bu elektronların tungsten benzeri bir plakaya çarptırılmasıyla saçılan X-ışınları kullanılır. Hızlandırılmış elektronların girişkenliği gamma ışınlarına kıyasla epey azdır ve enerji seviyesine göre santimetrik düzeyde artar, doğal olarak girilen özdeksel ortamın yoğunluğu da nüfuz derinliğinde etkilidir. X-ışınları ise yine enerji seviyesine bağlı olmak kaydıyla, neredeyse gamma ışınları kadar girişken olabilir. Gıda ışınlamasında elektron demetleri kullanıldığında dünya genelinde izin verilen enerji seviyeleri 10 MeV'in, X-ışınları kullanıldığında ise 5 MeV'in üzerine çıkamaz [35, 40].

İyonize radyasyonun dozu gıda işlemenin etkisini belirler. Radyasyon dozu Gray (Gy) adı verilen uluslararası birimlerle ölçülür. Gıda, ışınlamanın amacına bağlı olarak, 10 kGy'den 50 Gy kadar ışınlama yapılır. Düşük dozda ışınlama (<1 kGy), taze gıdalara bulaşan böcekler ve diğer yüksek yapılı organizmaları öncelikle üremelerini geciktirmek, öldürmek veya steril etmek için kullanılır. Orta dozda ışınlama (1–10 kGy) gıdaları pastörize etmek için ve raf ömrünü uzatmak için kullanılır. Yüksek doz (>10 kGy) ise gıdaları steril etmektedir. Gıda, dozimetre ve çevresel denetimlerin teknik etkisi Federal Gıda, İlaç ve Kozmetik Kanunu ile tanımlanmalı ve uyum içinde olmalıdır [35].

Gamma ışınlamasında, gıda ışınlaması için onay verilen radyoaktif elementlerden Co-60 ticari olarak tercih edilmektedir. Bu elementin yarılanma süresi yaklaşık olarak 5

yıldır. Ayrıca her radyoaktif elementin yarılanma süresi farklıdır ve o elementin bir karakteristiğidir (Tablo 1.1). Işınlama tesisleri genelde %6-12 aktiflik oranlarına inene kadar, yani 16–21 yıl boyunca kullanılmaktadır. Buna karşılık Cs-137'ninki 31 yıldır, fakat Cs-137 daha pahalı ve elde edilmesi daha güç olması nedeniyle bu avantajına rağmen yalnızca araştırma amaçlı ve küçük kapasiteli gıda ışınlama tesislerinde kullanılmaktadır. Cs-137'ye kıyasla özel mahfazası içinde metalik uzun bir kaleme benzeyen Co-60'ın nakliyesi de daha emniyetlidir. Kaza halinde çevreye saçılması veya suya karışması tehlikesi söz konusu değildir. Nükleer silah yapımı çalışmalarında yerleri olmadığı için her iki ürünün de temininde problem yaşanmaz. Cs-137'nin aksine Co-60 nükleer reaktör yan ürünü dahi değildir. Co-60 (veya Cs-137) gibi radyonüklidlerin ışınlamı sürekli olduğu için kullanılmadıkları zaman özel bölümlerinde özel koruyucu mahfaza içinde, bir havuz içinde saklanmaları gerekir. Dolayısıyla işlem başlamadan önce kaynağın bu havuzdan otomatik olarak çıkarılması gerekir [26, 45, 51].

1.1.4. Ultraviyole (UV) Radyasyonu

UV kaynağı olarak kullanılabilen çok sayıda lamba vardır. En çok kullanılanları düşük, orta ve basınçlı Hg lambaları, karbon veya ksenon lambalarıdır. Dalga boyları nm (=mµ) veya Angstrom (Å) olarak belirtilir.

Mor ötesi UV (Far-UV) radyasyonu	200-300 nm
Yakın UV (Near-UV) radyasyonu	300-380 nm
Görülebilir ışık (Visible light)	380-750 nm dalga boyuna karşılık gelir.

1.1.5. Dozaj ve Etkisi

Ölçülerek sistemden malzemeye verilen doz ile malzemenin soğurduğu (emdiği) doz aynı seviyede değildir. Değerlendirmelerde esas alınan malzemenin veya gıdanın emdiği dozdur. Bundan özellikle vurgulanarak soğurulan doz (emilim dozu da denebilir) diye söz edilir. Işınlamada kullanılan bu dozun birimi Gy-Gray'dir. Dozlar genelde kGy cinsinden belirtilir. Doz seviyesine göre ışınlanan ürün farklı etkilere uğrar. Uygulanacak doz ürüne, ürünün biyolojik yüküne, imha edilmek istenen

mikroorganizmaların D_{10} değerlerine, ilgili ülkede yürürlükteki yönetmeliklere, düzenlemelere göre, niyetlenen ışınlama amacına göre değişir [28].

1.2. Literatür Çalışması

1.2.1. Hasat Sonu Çürümelerine Karşı Işınlama Uygulamaları

Gıdalarla insanlara geçen hastalıkların önlenmesi ve gıdalarda mikrobiyolojik bozulmaların geciktirilmesi veya tamamen engellenmesi için çeşitli muhafaza yöntemleri kullanılmaktadır. Gıdaların muhafazasında, mikroorganizmaların kontrol edilmesi için bulaşmanın önlenmesi, mikroorganizmaların uzaklaştırılması, mikrobiyal gelişmenin engellenmesi veya mikroorganizmaların öldürülmesi ilkelerinden yararlanılmaktadır. Mikrobiyal gelişmenin engellenmesi ve mikroorganizmaların yok edilmesi için ısı işlemler, ışınlama, yüksek basınç uygulamaları ve sterilant gazlardan yararlanılmaktadır. Gıda üretiminde kayıpları azaltacak, raf ömrünü artıracak ve güvenilirliği sağlayacak yeni yöntemlerin kullanımı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Bu konuyla ilgili olarak ışınlama uygulamalarının beklentilere cevap vermesi nedeniyle popülaritesi artmıştır [40].

Işınlamanın gıdalar üzerine etkisi mevcut bütün gıda işleme tekniklerinden çok daha fazla araştırmaya konu olmuştur. Yüksek dozlarda ışınlama gıdaların tat, koku ve görünüm gibi organoleptik özelliklerinde bazı değişikliklere neden olur. Bazı gıdalarda bu değişiklik gıdanın yenilebilirliğini etkileyecek düzeyde gerçekleşir. Doz seviyesine göre ışınlanan ürün farklı etkilere uğrar. Uygulanacak doz ürüne, ürünün biyolojik yüküne, imha edilmek istenen mikroorganizmaların D_{10} değerlerine, ilgili ülkede yürürlükteki yönetmeliklere, düzenlemelere göre ve ışınlama amacına göre değişir [26]. FAO tarafından gıda ışınlamasına 10.0 kGy ortalama üst sınır konulmuştur. Işınlamaya tabi tutulan ürüne uygulanan toplam ortalama doz 10.0 kGy'i geçmez. Işınlanmış gıdaların karbonhidrat, protein, yağ, asal aminoasitler, asal yağ asitleri, mineraller gibi içeriklerinde, 10.0 kGy'in üzerinde bile çok fazla besin kaybı olmamaktadır [38].

Çeşitli çalışmalarda gamma ışınlarının, gıda maddelerinin depolanması sürecinde mikotoksin üreten fungusların gelişimini ve mikotoksin oluşumunu inhibe ettiği belirtilmiştir [52]. Işınlamanın fungus gelişmesine etkisi, fungus türüne, uygulanan doza, ürünün nem içeriğine, gıdanın bileşimine ve depolama koşullarına bağlı olarak

değişmektedir. Örneğin *Aspergillus flavus*'un gamma radyasyonuna karşı D_{10} değeri 0.31 kGy, *A. parasiticus*'un ise 0.25 kGy olarak bulunmuştur [53, 54].

Işınlama ile hasat sonu hastalıkların engellenmesi çalışmalarında fungusu engellemek için gerekli olan ışınlama dozu aynı zamanda ışınlanan ürünün besinsel niteliğine olumsuz etki yapmamalıdır. Yani fungusun engellenmesi için gerekli olan radyasyon dozu meyvenin renk, tat, koku, aroma gibi özelliklerinde olumsuz bir etki yapıyorsa anlamı yoktur. Benzeri şekilde organoleptik özelliklerde olumsuz etki yapmayan bir doz limiti fungusun engellenmesi için yeterli değil ise bunun da anlamı yoktur [28].

Yapılan bir çalışmada [55] elma çeşitleri, (örn., "Golden Delicious", "Royal Delicious", "Red Delicious" ve Rich-ARed") 0.1, 0.2, 0.4 ve 0.6 kGy doz seviyelerinde ışınlanarak 2-4°C'de 6 ay süreyle depolanmıştır. Daha sonra örneklerin fizikokimyasal ve organoleptik kalitesindeki değişimler araştırılmış ve 0.1 kGy seviyesindeki ışınlama dozunun söz konusu kalite kriterlerinde olumsuz bir durum oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak ışınlamanın elma ticaretinde alternatif bir koruma metodu olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Işınlama ile hasat sonu hastalıklarının engellenmesi çalışmalarında ışınlama anında ortamda patojenin bulunması gerekir. Aksi halde ışınlamadan sonra patojenin bulaşması durumunda etki görülmez. Darrasa *et al.* [56] *Botrytis cinerea* Whetzel ile yaptıkları çalışmada inokulasyondan sonra yapılan ışınlama ile ışınlamadan sonra yapılan inokulasyona göre hastalık şiddeti, lezyon sayısı önemli derecede az bulunmuştur. Yani ışınlamanın inokulasyon öncesi ya da sonrası yapılması etki mekanizmasında önemli bir etkidir. Işınlama inokulasyon öncesinde yapılırsa etki gözlenmemektedir; oysa ki inokulasyon sonrası yapılırsa fungusun gelişimi yavaşlar [23]. Ayrıca inokulasyon ile ışınlama arasında geçen süre de uygulamanın etkinliğinde önemli faktördür. Altıntop'larda görülen *Penicillium digitatum* Pers.'un gamma ışınlaması ile engellenmesinde inokulasyondan iki saat sonra ışınlama yapıldığında, inokulasyonda 24-72 saat sonra yapılan uygulamaya göre daha fazla etkinlik bulunmuştur [57].

Turunçgillerde ışınlamanın uygulanabilirliğini belirlemeye yönelik olarak yapılan bir çalışmada [58] meyvelerin raf ömrünü uzatmak amacıyla ılık suyla yıkama ve vaksalama uygulamalarının depolama boyunca önemli kayıplara yol açtığı gösterilmiştir. Oysa 0.3 kGy seviyesinde ışınlanan ve 3°C'de depolanan mandarinalarda 8 hafta sonunda daha az bir kayıp olduğu bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, “Sultani çekirdeksiz üzüm” çeşidinin muhafazasında *B. cinerea*’dan kaynaklanan kalite kaybı ve çürümelerin önlenmesi amacıyla söz konusu üzüm çeşidine UV-C uygulaması yapılarak 84 gün muhafaza edilmiştir. Deneme süresince üzüm tanelerinde uygulama öncesi, uygulama sonrası, 21, 42, 63 ve 84’üncü gün analizleri ve her analiz döneminde de üzüm tanelerindeki fiziksel ve kimyasal değişimler [ağırlık kaybı (%), titre edilebilir asit (TEA) (%), pH, suda çözünebilir kuru madde (SÇKM) (%), invert şeker (g/100 g), toplam şeker (g/100 g), tane kabuk rengi (L, a, b), genel görünüm ve tat, mikroorganizma popülasyonu (log cfu/dane), çürük meyve yüzdesi (%)] belirlenmiştir. Çalışma sonunda, özellikle 63. gün muhafaza döneminde UV-C uygulamalarının kontrol meyvelerine göre daha iyi sonuçlar verdiği, muhafazanın 84. gününde ise, uygulamaların kalite kaybı ve çürümleri engellemede yetersiz kaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, UV-C uygulamaları arasında 100 cm (0.25 kJ/m²) uygulamasının diğer uygulamalara göre daha başarılı olduğu da belirlenmiştir [59].

1.2.2. Işınlama Uygulamasının Avantajları

Çeşitli çalışmalara göre, patojenlerin fungusitlere dayanıklılık oluşturmaları ve piyasadan bazı ürünlerin geri çekilmesi, tüketicilerin de kimyasallardan arı olan ürünler talep etmesi bitki hastalıklarının engellenmesinde problemlerin artmasına sebep olmuştur. Bu nedenle antagonistler, doğal bileşikler ve fiziksel mücadele gibi alternatif kontrol yöntemleri üzerine durulmaya başlanmıştır. Gamma ve UV-C (254 nm) radyasyonları da hasat sonrası hastalıklarının kontrolünde kullanılabilen fiziksel uygulama yöntemlerindendir. Bu uygulamaların, fungusit etkisinin yanı sıra, meyvelerde patojene karşı dayanıklılık kazandırabileceği belirtilmiştir [15]. Başka bir çalışmada Lu *et al.* [60] hem UV-C hem de gamma ışınları şeftalilerde depo çürüklüğünü azalttığı ve olgunlaşmayı geciktirdiğini rapor etmiştir.

Gamma radyasyonu meyve sineği gibi zararlıların hayat döngülerinin bütün aşamalarında etkili bir yöntem olup, etkili bir karantina yöntemi olarak kullanılabilir [23]. *P. digitatum*’un sebep olduğu yeşil küf ve *P. italicum* Wehmer’un sebep olduğu mavi küf İspanya’da, Kaliforniya’da turuncgillerde ekonomik açıdan önemli hasat sonrası hastalıklarıdır ve tüm narenciye üretim alanlarında düşük yağışlı. Her iki hastalıkta imazalil, sodium ortho-phenyl phenate veya thiabendazole gibi sentetik fungusit uygulamaları ile geniş alanlarda önemli ölçüde kontrol edilmiştir. Ancak

alternatif yöntemlere ticari paketleme evlerinde bu kimyasalların yaygın kullanımının patojenin dayanıklı ırklarının çoğalmasına yol açması nedeniyle ihtiyaç duyulmuştur [61].

Yapılan çalışmalarda; ışınların meyve ve sebzelerde çürüklük oluşturan fungusların engellenmesinde kimyasalların nüfuz edemeyeceği yerlere kadar girerek mikroorganizmalara ulaşabildiği belirlenmiştir. Oysaki kimyasal yüzey dezenfektanları sadece ürünün yüzeyindeki etmenlere karşı etkili olabilmektedir [62]. Gamma radyasyonunun avantajı farklı büyüklük ve şekildeki ürünlerin ışınlanmasına izin veren yüksek penetrasyon yeteneği ve dozunun yeksenak olmasıdır [63].

1.2.3. Işınlama Uygulamasının Dezavantajları

Işınlama hiç bir artık içermeyen fiziksel bir proses olması nedeniyle taze ve kolay bozulabilen gıdaların korunmasında uygulanan etkin bir yöntem olmakla birlikte her gıdaya uygulanması mümkün değildir. Yağlı gıdalarda ışınlama sonucu acılaşma, yüksek proteinli gıdalarda ise kötü tat ve koku meydana gelmesi ışınlama uygulamalarını sınırlamaktadır [40].

Işınlama işlemi esas olarak gıdaya az miktarda enerji ekler. Isı ile işleme moleküllerin aynı genel türlerini oluşturur, fakat büyük miktarlardadır, çünkü gıdalara eklenen enerji miktarı çoğu kez radyasyondan daha fazladır. Kültürler üzerine radyasyonun tekrarlı uygulamaları ile radyasyona dayanıklı mikrobiyal popülasyonlar oluşur. Bakteriler ve diğer organizmalarda mutasyon, iyonize radyasyon, sıcaklık, kurutma ve UV ışıkları gibi herhangi bir gıda işleme yöntemi ile gelişir. Radyasyon tek bir mekanizma ile mutasyonu oluşturmaz. Ayrıca herhangi bir şekilde oluşan mutasyon, ebeveyn organizmaların virülenslik veya patojenisitelerinde çeşitli derecelerde değişikliklere neden olabilir. Bu teorik bir risk olmasına rağmen, birçok uluslararası derleme ve yayınlarda, gıda ışınlamaya atfedilen yeni patojenin neden olduğuna dair bir rapor yoktur. Benzer bir yaklaşımda mikotoksinler hakkında vardır. Araştırma verileri çelişkili olsa da, bazı çalışmalarda radyasyondan sonra mikotoksin oluşumunda azalma olduğu belirtilmiştir. Bir teoriye göre de küf ve mayanın, bakterilere göre radyasyon direnci daha yüksektir. Herhangi bir küf radyasyon uygulaması altında hayatta kalıyorsa rakiplerinin büyümesini hızlı bir şekilde durduğu ve aslında mikrofloraya hakim olduğu

söylenbilir. Işınlama ile daha fazla besin radyasyonla funguslar için kullanılabilir hale gelebilmektedir [35].

Palou *et al.* [27]'a göre 195-875 Gy arası dozlarda X-ışınlamasına maruz kalmış mandarinlerde yeşil ve mavi küflerde herhangi bir dayanıklılık gözlenmemiştir. Bunun aksine, yeşil küfün gelişiminde *P. digitatum*'a inokulasyondan 6 gün sonra radyasyon uygulandığında, 875 Gy dayanıklılığı az da olsa artırmıştır. Bu X-ışınlarının meyve kabuğunun fiziksel ve fizyolojik özellikleri üzerine olumsuz etkilerinden kaynaklanabilir. Bu doz albedo ve flavedo hücreleri arasında fungus miselinin gelişmesini kolaylaştırabilir. Bu negatif etki sonucu bazı görülmeyen kabuk zararlanmaları da oluşabilir.

1.2.4. Işınlamanın Mikroorganizmaya Etki Mekanizması

Palou *et al.*, [27] mandarinlerde 300 Gy lik gamma ışınlaması ile fenolik bileşiklerin arttığını belirtmişler ve bu artışı phenylalanine ammonia-lyase (PAL) enzim aktivitesi ile ilişkilendirmişlerdir. İyonize radyasyon, ürünlerin muhafaza süresini uzatan ve patojenlere karşı meyvede dayanıklılık oluşturan, yapısal bileşiklerin biyosentezini stimule eder ve /veya fenolik bileşikleri oluşturur. Araştırmacılar bu biyoaktif bileşiklerin sentezlenmesinin meyvede dayanıklılık oluşturacak seviyede olmadığını vurgulamışlardır. Bundan dolayı meyve kabuğunda gelişen fungus yapıları üzerine ışınlamanın direk etkisi, hastalığı engelleme açısından, meyve savunma mekanizmasına olan dolaylı etkisinden daha önemlidir. Bu görüşe paralel olarak, çürümüş mandarinlerde *P. digitatum* ve *P. italicum*'un sporulasyonu X-ışınlaması önemli derecede engellenmiştir.

Işınlamanın etkisi fungus tipine, uygulama dozuna, nem içeriğine, ışınlanacak gıdanın yapısına ve depolama koşullarına bağlıdır [52, 54]. Bu etki aynı zamanda, ışınlama yapılan ortamın nem içeriği, ışınlama sürecindeki sıcaklık ve oksijen varlığı, ışınlanacak ürünün taze ya da donmuş olması gibi faktörlere bağlıdır [64]. Başka bir deyişle ışınlamadan sonra mikroorganizmaların yaşaması, hücrenin dayanıklılığına ve ışınlamanın etkisinde sonra tekrar eski durumuna dönebilmesine, ışınlama dozuna, pH durumuna, atmosferik koşullara ve gıdanın kimyasal yapısına bağlıdır [65].

X-ışınları ve alfa ışınlarının funguslar üzerinde stimule etkisi olmadığı halde UV ışınlaması stimule etkiye sahiptir. UV dalga boyunun azalması ile sporulasyonun

uyarılması azalmaktadır. UV uygulamalarının olgunlaşma sürecini yavaşlatmasının yanında patojen enfeksiyonlarına karşı dayanıklılık mekanizmasının uyardığı belirtilmiştir [59]. Gamma ışınlamasına gelince düşük gamma radyasyonu dozları, örneğin in-vitro ve in-vivo çalışmalarda, 1.0 kGy ile ışınlama fungusun gelişmesini stimüle etmiştir. Etki 1.0 kGy'den fazla olan dozlarda görülmüştür [66]. *P. expansum* ile inokule edilmiş Ankara armutlarında, 0°C de 40 gün sonra, 1.0 kGy ile ışınlanmışlarda 36.21 mm lezyon çapı görülürken bu değer kontrol örneklerinde 34.75 mm olmuştur. Bu bulgularda düşük gamma radyasyon dozlarının sitimulatif etkisini gösterir [62]. Kabak ve Var, [52] de 1.0 kGy'lik dozun aflatoksin oluşumunu stimüle ettiğini, 3.0-4.0 kGy ise fungus ve mikotoksin oluşumunu engellediğini belirtmişlerdir.

Tablo 1.2. Bazı funguslar için in vitro ve in vivo koşullarda gerekli olan lethal gamma radyasyon dozları [67].

Organizma	Konukçu	Doz (*10 ⁵ rad)		
		Tochinai	Czapek	Konukçu
<i>Penicillium digitatum</i>	Limon	1.10-1.48	0.44-0.94	1.82-2.10
<i>P. italicum</i>	Portakal	1.43-1.47	1.19-1.43	1.57-1.82
<i>P.expansum</i>	Elma	1.35-1.40	1.95-2.52	1.82-2.74
<i>Botrytis cinerea</i>	Üzüm, çilek	0.95-1.86	0.95-1.86	2.74-4.56
<i>Monilinia fructicola</i>	Şeftali	1.38-1.85	0.90-1.38	1.37-1.82
<i>Rhizopus nigricans</i>	Şeftali	2.74-3.52	3.52-4.43	1.82-2.28

Birçok araştırmada, konukçular (in-vivo) için gereken radyasyon dozlarının kültür ortamları (in-vitro) için gereken dozlardan daha fazla olduğu belirtilmiştir. Bazı etmenler için in vivo ve in vitro koşullarda gerekli olan dozlar Tablo 1.2'de görülmektedir [67].

Bu tür çalışmalarda ışınlama doz oranı da çok önemlidir. Beraha, [68] yaptığı bir çalışmada yüksek doz oranının, düşük doz oranına göre daha etkili olduğunu belirtmiştir. *B. cinerea* enfeksiyonu 25 krad/dak doz oranında 125-150 krad ışınlama ile engellediği halde, 2.5 krad/dak. oranında 200 krad engellememiştir.

Bir çok araştırmacı ışınlama ile hasat sonrası hastalıkların önüne tamamen geçmenin mümkün olmadığını, ışınlamanın çeşitli derecelerde fungusların gelişmesini geciktirdiği (fungustatik etki), belirtmiştir [62, 67]. Bu görüşe paralel olarak Matthee and Potgieter, [41] de ışınlamanın fungusa etki mekanizmasının fungusu tamamen öldürme şeklinde olmayıp, latent enfeksiyon periyodunun uzatılması şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Fungusu tamamen öldürmek için gerekli olan dozlarda meyvede organoleptik özelliklerinde olumsuzluklar görülmektedir.

İşinlama mikroorganizmaların DNA'sını parçalayarak öldürür. Virüsler radyasyon zararına çok dayanıklı, böcek ve parazitler çok hassastır. Spor ve kistler çok az DNA içerdiklerinden radyasyon etkisine dayanıklıdır. Toksinler de radyasyona dayanıklıdır. Letal etki, radyasyon kaynaklarından yayılan enerji, mikroorganizmadaki su ve diğer moleküllere transfer olur. Bu enerji, mikroorganizmanın DNA'sını bozan, genetik bozukluklara neden olan reaktif kimyasalları oluşturur. Mikroorganizma bu bozukluğu onaramaz ve ölür [35]. Funguslarda letal etkinin oluşumunda; fungal yapı (misel-spor), spor rengi (renkli-renksiz), sporların hücre sayısı, fungal yapının hücre duvarı kalınlığı, spor yaşı önemli faktörlerdir.

Mikroorganizmada, ışınlamanın öldürücü etkisi D_{10} değeri ile ölçülür. D_{10} değeri, bir organizmanın %90'nını öldürmek için gerekli olan ışınlama dozu değeridir. Sulu ortamlarda ışınlanmış bazı fungusların D_{10} değerleri Tablo 1.3'de görülmektedir [28]. Bu değer; mikroorganizmaya, sıcaklığa ve ürüne göre değişmektedir.

İşinlamanın mutajenik etkisi, virülensliğin azalması, spor ve misel yapılarının bozulması ve sporulasyonun azalması şeklinde olmaktadır. Biyokimyasal etkisi ise; enzim aktivitesine, mikotoksinler ve fitoaleksinler üzerine olmaktadır [69].

Tablo 1.3. Sulu ortamlarda ışınlanmış bazı fungusların D₁₀ değerleri [28].

Fungus	Gamma-ışını (kGy)
<i>Aspergillus niger</i>	0.245
<i>A.flavus</i>	0.250
<i>A. versicolor</i>	0.282
<i>A. parasiticus</i>	0.310
<i>P.cyclopium</i>	0.397
<i>Alternaria alternata</i>	2.409

Işınlamanın biyokimyasal etkisi de vardır. Bazı fungus türlerinde ışınlamanın, toksin üretimini teşvik ettiği ya da artırdığına ilişkin çalışmalar bulunmaktadır. Bazı araştırmacılara göre, radyasyon uygulamasında canlı kalan fungus, doğal rekabet ortamının olmamasından dolayı daha hızlı gelişir ve mikoflorayı bastırır. Bir başka açıklama ise, radyasyonun besin maddelerini funguslar için uygun hale getirmesidir [69].

Işınlamanın inokulasyon öncesi ya da sonrası yapılması etki mekanizmasında önemli bir etkindir. Işınlama inokulasyon öncesinde yapılırsa etki gözlenmemektedir; oysa ki inokulasyon sonrası yapılırsa fungusun gelişimi yavaşlar [23, 56].

1.2.5. Işınlama ile Kombine Uygulamalar

Kombine uygulamalarda genel amaç, birden fazla uygulamanın dozlarının düşürülerek uygulanması ve bu şekilde tekli uygulamalarda oluşabilecek olumsuz etkilerin azaltılmasıdır. Radyasyonun etkisinin sıcak su uygulaması ve kimyasallar ile birlikte uygulandığı zaman daha ümit verici olduğu bulunmuştur. SO₂ fumigasyonu ve soğuk depolama uygulaması bunlar arasında önemli olanlarıdır [39, 67]. Bunun gibi SC uygulaması da hasat sonrası hastalıklara karşı başka bir alternatif kombine uygulama yöntemi olarak düşünülebilir.

1.2.5.1. Sodyum Karbonat ile Kombine Uygulama

Palou *et al.* [24] ışınlama (510 ve 875 Gy) ve sodyum karbonatın (SC; 20°C de 150 saniye %3'lük sulu SC) tekli ve kombine edilerek uygulanması ile mandarinlerde *Penicillium* çürüklüğü üzerine çalışmışlardır. Meyveler *P. digitatum* ve *P. italicum* ile yara açma şeklinde inokule edilmiştir. Önce meyveler SC uygulamasına tabi tutulmuş, 36 saat sonra da ışınlama yapılmıştır. Işınlanan meyveler 2 gruba ayrılmış 1. grup meyveler 20°C'de 7 gün inkübe edilmişlerdir. 2 grup meyveler ise 20°C'de 24 saat tutularak 5°C'de 21 gün soğukta muhafaza edilmişlerdir.

Hastalık oluşumu, hastalık şiddeti ve patojenin sporulasyonu 7 gün sonra değerlendirilmiştir (1. grup meyvelerde). *P. digitatum*'da SC-ışınlama (her iki doz) uygulaması mandarinlerde enfeksiyonu %15 oranında azaltılmıştır. *P. italicum* da ise enfeksiyon SC-510 Gy uygulamasında %15; SC-875 Gy uygulamasında %30 oranında azalmıştır. Sporulasyonda ise SC uygulamasıyla kontrol örnekleri arasında fark bulunamamış, ancak SC-510 Gy uygulamasında *P. digitatum* da %50 enfeksiyon görülmüş, *P. italicum* da ise %30 enfeksiyon görülmüştür. SC-875 Gy uygulamasında *P. digitatum* da %5, *P. italicum* da ise %10 enfeksiyon görülmüştür. Hastalık şiddeti değerlendirilmelerinde ise *P. digitatum* da SC-875 Gy uygulamasında çürüme çapı (25 mm) farklılığı önemli olmuştur. *P. italicum* da ise her iki ışınlama dozunda farklılık (25-35 mm) önemli bulunmuştur.

İkinci grup örneklerde (20°C'de 24 saat tutularak 5°C'de 21 gün soğukta muhafaza edilenler) değerlendirmeler 7, 14 ve 21 gün sonra yapılmıştır. Her iki fungus için tek başına SC uygulaması hastalık oluşumu, hastalık şiddeti ve patojenin sporulasyonu önemli bir etki yapmamıştır. SC uygulanmış her iki ışınlama dozunda ise her iki fungusda hastalık oluşumu 7 gün soğukta azalmış, ancak bu 14 ve 21 gün sonra farklılık önemsiz olmuştur. *P. digitatum* sporulasyonu, düşük sıcaklıkta *P. italicum* da göre daha fazla azaltılabilmektedir. Işınlama ile sporulasyon 21 gün sonra her iki fungus için baskı altında tutulabilmiş *P. digitatum*'un enfeksiyonu 875 Gy ile %100'e yakın engellenebilmiştir. Her iki etmen için lezyon çapları her iki ışınlama dozunda soğukta muhafaza süresince azaltılabilmiş, ancak hiçbir uygulama patojenin gelişmesine engel olamamıştır [24]. Nitekim Conway *et al.* [22] elmalarda *P. expansum*'u engellemek için sıcaklık uygulaması-biyolojik kontrol-SC kombinasyonu ile yaptıkları çalışmanın sonunda 4 ay soğukta muhafaza etmede, patojenin gelişmemesi üzerine ilave olarak

20°C’de 2 hafta tutmuşlardır. Böylelikle farklı uygulamaların etkinliği ortaya çıkartılabilmektedir. Palou *et al.* [24], araştırmalarının sonunda 50°C ye kadar ısıtılmış SC uygulamasının daha ümit var olabileceğini vurgulamışlardır.

Turunçgillerde hasat sonrası hastalıkları olan yeşil ve mavi küfün kontrolünde SC uygulaması ile daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar [70] karşılaştırıldığında, Palou *et al.* [24]’e göre yalnızca SC uygulanan çalışmalarda etkinin çok az olduğu gözlemlenmiştir. Hastalığın oranının ve şiddetinin veya patojenin sporulasyonunun azalmasında etkisiz olmasının nedeni olarak, deneylerde kullanılan meyvenin çürümeye aşırı duyarlılığı, ısıtılmayan SC solüsyonunun kullanılması ve musluk suyu ile meyvelerin durulanması sayılabilir. Bu *Penicillium* ile enfekteli turuncgil meyvelerini üzerine SC, SBC (Sodyum bi karbonat) ve diğer düşük toksisiteli gıda katkı maddelerinin etkisinin çok kalıcı olmadığını ve konukçunun türüne ve onun fiziksel ve fizyolojik durumuna yüksek oranda bağlı olduğunu göstermektedir.

SC ve X-ışınlamasının kombinasyonu, özellikle 875 Gy’lik dozda gibi yüksek dozda, 20°C veya 5°C depolanan mandarinlerde hem yeşil küfün hem de mavi küfün hastalık oranını ve şiddetini önemli derecede düşürmüştür [24].

1.2.5.2. Sıcak Su ile Kombine Uygulama

Önceki çalışmalar ışınlama ve sıcak su uygulamalarının hasat sonrası hastalıkların engellenmesinde çok etkili bir kombinasyon olduğunu göstermiştir [71]. Sommer *et al.*, [72] sert çekirdekli meyvelerin fungal hastalıklarının engellenmesi için ışınlama-sıcak su (44°C’de 4 dak. veya 56°C’de 4 dak.) kombine uygulaması ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Gamma radyasyonu ve sıcak su uygulamasının kombinasyonunun sinerjik etkileri eriklerde hasat sonrası hastalıkların spor oluşturmalarını engellemek için yapılan tekli uygulamalar ile kıyaslanmıştır. Bazen uygulamalar arasındaki interaksiyon engellemeyi 5 ile 10 kat artmasına sebep olmuştur. Sinerjizmin miktarı ve maksimum fungusit etki için uygulamanın sıklığı patojene bağlıdır. Eğer ışınlama önce olmuşsa, *R. stolonifer* de maksimum etki oluşmuştur. Bütün diğer çalışmalarda, uygulama sırasındaki farklılık yani önce inokulasyon sonra ışınlama uygulaması en fazla inaktivasyonu sağlamıştır. *M. fructicola* inokule edilmiş meyvelerle yapılan çalışmada kahverengi çürüklüğün kontrolünde ışınlamadan önce sıcaklık uygulaması avantaj sağlamıştır.

Sıcak su aslında çürümeyi azaltır, fakat yaralanma, ağırlık kaybı ve antifungal kalıntı olamayışı riskleri, bu yöntemi uygulama kolaylığı, etkinliği ve kalıcı bir koruma sağlaması gibi özelliklerin nedeniyle bu uygulamayı fungusitlerden daha az çekici yapmıştır [18].

Palou *et al.* [24] denemelerinde ısıtılmış solüsyon kullanmamıştır. Çünkü daha önceki çalışmalarda sıcaklık ile ışınlama kombine olarak mandarin meyvelerine uygulandığında kalitesinde zararlı etkilere yol açmıştır. Ayrıca portakallarda ve greyfurtta yeşil küfün kontrolü için sıcak su ve ışınlama kombine uygulaması daha önceki çalışmalarda çelişkili sonuçlar vermiştir. Bazı çalışmalar bu kombinasyonun sinerjik etkisiyle sonuçlanırken, bazı çalışmalarda ise herhangi bir olumlu etki gözlenmemiştir. Karabulut and Baykal, [25] ise sıcak su uygulamalarının şeftalilerde hasat sonrası hastalıkların kontrol etme potansiyeline sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Sıcaklık uygulaması başlangıçta elmalarda *P. expansum*'un yok edilmesinde etkili olmuştur fakat herhangi bir kalıcı aktivite sergilememiştir. Sıcaklık uygulamasının etki mekanizması hem fungusla direk etkileşim yoluyla hem de meyve dokusunda fizyolojik tepkiler yoluyla görülür. In vitro çalışmalar, fungusların uzun süre yüksek sıcaklığa maruz bırakıldığında hem çimlenmeyi hem de gelişmesini durdurduğu görülmüştür. Sıcaklık uygulamasında ayrıca kabukta engelleyici madde oluşması ile patojenin konukçusunda duyarlılık değişebilir [22].

Radyasyonun etkisi, SO₂ fumigantı ve soğuk depolarda koruma, sıcak su uygulamaları ve kimyasal uygulamaları ile kombine edilerek uygulandığı zaman daha ümit verici olmaktadır. Işınlama ve hasat arasındaki süre azaldıkça daha umut verici bir sonucun gözlenmesi olasıdır. Meyveler depolama sürecinden sonra paketlenildikten sonra hemen ısımlandığı zaman çürümeye azalma gözlemlenmiştir [39].

1.2.5.3. Kimyasallar ile Kombine Uygulama

Işınlama+kimyasal uygulaması hasat sonrası hastalıkların engellenmesinde çok etkili bir kombinasyondur. 1000 ppm benomyl tam etkili olmamasına rağmen yaklaşık 25°C'de elmalarda *P. expansum* un kontrolünde tekli uygulamaların en iyisi olmuştur. Sıcak suyu takiben ışınlama çiftli kombine uygulamasında ve 50°C/10 dakika sıcak su+ışınlama+aureofungin üçlü kombine uygulamasında ve inokulum miktarına bağlı olarak %80-100 arasında hastalık engellenebilmiştir. 250 ppm benomyl +50°C/5 dakika

sıcak su çiftli kombinasyonu veya 50°C/10 dakika sıcak su+150 krad ışınlama-250 ppm benomyl ve 1000 ppm aureofungin + 56°C/4 sıcak su +150 krad ışınlama üçlü kombinasyonları, elmalarda 2 gün önce yapılan enfeksiyonları 25±1°C de 3 hafta süre ile kontrol edebilmiş ve depolama ömrünü uzatabilmiştir [71].

Georgiev [73] ise %80 bağıl nem ve 4-10°C depolanan “Bolgar” üzümünde *B. cinerea* enfeksiyonuna karşı ışınlama ve kimyasal kombine uygulaması üzerine çalışmıştır. Captan+1.0 kGy ışınlama uygulaması *B. cinerea* enfeksiyonuna karşı 2.0 ve 3.0 kGy uygulamalarından daha fazla etkili olmuştur. Benzer sonuçlar Shirzad and Langarek [74] tarafından da rapor edilmiştir. Araştırmacılar üzümün raf ömrünü uzatmak için ışınlama ve SO₂ uygulamasını önermişlerdir.

1.2.5.4. Modifiye Atmosfer Ambalaj ile Kombine Uygulama

Birkaç çalışma amabalajlamada modifiye atmosfer ile paketlenme uygulamasının (Modifiye Atmosfer Paketleme, MAP) hasat sonrası hastalıkları engelleyici etkisi olduğunu göstermiştir [25]. Soğukta depoda saklanan domuz etinde mikrobiyal ve duyusal kalitesi üzerine MAP ile düşük dozlarda ışınlamanın (1.75 kGy) kombine etkisi Grant and Patterson, [75] tarafından çalışılmıştır. Işınlanmış MAP de domuz etinde ağırlıklı olarak da *Lactobacillus* spp. olmak üzere sadece laktik asit bakterileri oluşmuştur. Araştırmacılar çalışmalarında 1.75 kGy dozda ışınlamanın ardından %25 CO₂, dengeli N₂ içeren bir modifiye atmosferde paketlenmesi, domuz etinin mikrobiyolojik ve duyusal kalitesinin artırılması için önermişlerdir.

1.2.5.5. Soğukta Depolama ile Kombine Uygulama

Matthee and Potgieter, [41] fungusu tamamen öldürebilecek yüksek dozlarda tekstür ve kabuk renginin bozulduğunu belirterek, düşük dozlarda ışınlama ile düşük sıcaklıkta depolama kombinasyonunun bu dezavantajı elemine ettiğini açıklamışlardır.

Işınlamanın soğukta depolama kombinasyonu çok ümit vericidir [62, 67]. 3-4°C de gamma ışınlaması yapılmış PDA ortamında saklanan patojenlerin hassasiyet dereceleri üzerine Tiryaki (1990) tarafından yapılan çalışmada, hassasiyet (dayanıklıdan hassasa doğru) *B. cinerea* > *Alternaria tenuissima* > *P. expansum* > *R. stolonifer* şeklinde bulunmuştur.

Colletotrichum acutatum ile inokule edilmiş “Golden Delicious” elma çeşidinde dört ay süre ile 0°C de depolama sırasında çürümenin olmaması, bu patojenle ilgili daha önceki gözlemleri doğrulamıştır. Bu nedenle çeşitli uygulama yöntemlerinin etkinliğinin belirlenmesi için çürümenin gelişmesine izin vermek amacıyla, meyveler ek olarak iki hafta 20°C saklanmıştır. *P. expansum* soğuk depolama koşulları altında bile geniş çaplı çürümelere neden olan *C. acutatum*’dan daha çok saldırgan bir patojendir [22].

Tablo 1.4. *Penicillium expansum* ile enfekteli Ankara armutlarında çürüklük çapı [62].

Doz (kGy)	Işınlamadan sonra geçen gün			
	10	20	30	40
0.0	12.13 A* a**	19.20 Aa	26.29 Aa	34.75 Aa
1.0	11.29 Aa	17.92 Aa	25.63 Aa	36.21 Aa
2.0	10.13 Bb	14.71 Bb	19.21 Bb	28.46 Bb
3.0	9.67 Bb	12.08 Bb	15.71 Bb	22.88 Cc

* p< 0.05 düzeyinde önemli, ** p<0.01 düzeyinde önemli.

Tiryaki ve Maden [62]’nin yaptığı bir çalışmada, *P. expansum*, *B. cinerea* ve *Rhizopus nigricans* ile inokule edilmiş Ankara armutlarının 0°C ve %85-90 bağıl nemde enfeksiyonun gamma radyasyonu ile engellenmesi araştırılmıştır. Uygulamadan 10 gün sonra, lezyon çapı *B. cinerea* ile inokuleli ışınlama uygulanmamış Ankara armutlarında 25.63 mm olmuştur. Oysa 3.0 kGy dozda ışınlama yapılmışlarda lezyon çapı 13.21 mm olarak bulunmuştur. Işınlamadan 20 gün sonra bu değerler 3.0 kGy ve kontrol örnekleri için sırasıyla 20.88 mm ve 35.04 mm olmuştur. *P. expansum* da ise uygulamadan 10 gün sonra lezyon çapları 0.0, 1.0, 2.0 ve 3.0 kGy dozlarında sırasıyla 12.1 mm, 11.29 mm, 10.13 mm ve 9.67 mm olmuştur. Işınlamadan 40 gün sonra *P. expansum* ile inokuleli Ankara armutlarında 1.0 kGy ve kontrol uygulaması için çaplar 36.21 mm ve 34.75 mm olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar düşük gamma radyasyonlarının uyarıcı etkisini desteklemektedir (Tablo 1.4).

1.2.5.6. Biyolojik Kontrol Ajanları ile Kombine Uygulama

Biyolojik kontrol, depo hastalıklarının mücadelesinde etkinlik gösteren kimyasal mücadeleye diğer bir alternatif yöntemdir. Biyolojik kontrol ile çürümenin azaltılmasında biyolojik kontrol çevresel faktörlerden daha çok etkilenmesi nedeniyle fungusitlerden genellikle daha değişkendir. Olgun bir meyvede, biyolojik kontrol, antagonistlerinin yüksek konsantrasyonu ile genç meyvelerin tedavisinde aynı derecede başarıyla uygulanmıştır [14].

D'hallewin *et al.* [76] portakalda *P. digitatum*'un sebep olduğu çürümenin kontrolü UV-C ve biyokontrol kombine uygulaması üzerine çalışmıştır. *Candida oleophila* ırkı ile '13L' UV-C'nin kombine uygulamasında *P. digitatum*'un azalmasında sinerjik bir etki oluşmuştur ve sadece %11 oranında yapay olarak yaradan inokulasyonda enfeksiyon oluşmuştur.

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Materyal

2.1.1. Araştırmada Kullanılan Fungal İzolatlar

Çalışmamızda, Kayseri ilinin Develi, Yahyalı ve Yeşilhisar ilçelerinde bulunan soğuk hava depolarından *Penicillium expansum* L.(Ascomycota-Eurotiomycetes-Eurotiomycetidae-Eurotiales-Trichocomaceae-*Penicillium*-*P. expansum*) ile enfekteli olan elmalar toplanmıştır. Soğuk hava depolarına konulan elmalardan bir görünüm Şekil 2.1’de verilmiştir. İzolasyon çalışmaları sonucunda 10 adet *P. expansum* izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlar daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere PDA ortamı içeren eğik agarlarda 3-4°C’de muhafaza edilmiştir. Depolarda *P. expansum*’un oluşturduğu çürümeler Şekil 2.2’de görülmektedir.



Şekil 2.1. Soğuk hava depolarında muhafazaya alınan elmalardan bir görünüm.



Şekil 2.2. Depolarda *P. expansum* fungusunun oluşturduğu çürümeler

2.1.2. Araştırmada Kullanılan Fungal Gelişmeyi Engelleyiciler

Araştırma kapsamında fungal gelişmeyi engellemek amacıyla sıcak su, sodyum karbonat (SC) ve ^{60}Co gamma radyasyonu kullanılmıştır.

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri

Çalışmada, in vitro koşullarda besiyeri olarak patates dekstroze agar (Potato dextrose agar, PDA, Meck KGaA Darnstadt, Germany) kullanılmıştır.

2.1.4. Çalışmada Kullanılan Meyve

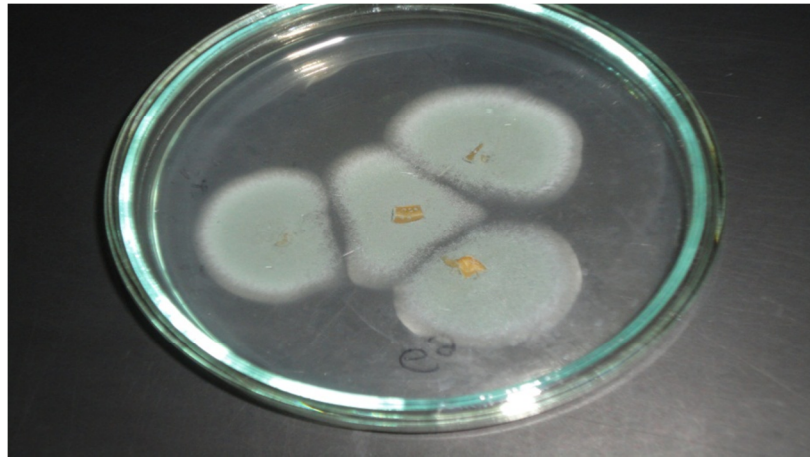
Kayseri ilinde en fazla Golden Delicious elma çeşidi depolandığından çalışmada bu elma çeşidi kullanılmıştır. In vivo çalışmalarda kullanılan elmalar soğuk hava depolarından ve meyve halinden sağlanmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Etmenin İzolasyonu

Çalışmalar sırasında kullanılacak olan *P. expansum* etmeni, Kayseri ilinin Develi, Yahyalı ve Yeşilhisar ilçelerinde bulunan depolama kapasitesi en fazla olan soğuk hava

depolarından etmenle bulaşık elmalardan (Golden Delicious) örnekler alınarak laboratuvar ortamında izole edilmiştir. Her meyveden enfekteli ve sağlam dokuyu içerecek şekilde steril bir bistüri yardımıyla parçalar alınarak PDA ortamında 7 gün süreyle $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de geliştirilmiştir (Şekil 2.3). Daha sonra saflaştırma ve tek spor izolasyonu yapılmıştır. İzolatların kodları ve elde edildikleri depolar şu şekildedir: EL8 ve EL5 (Elbuz Elma Pazarı), EM3 ve EM10 (Eminsu Soğuk Hava Deposu), G2 ve G9 (Gülüm Tarım Soğuk Hava Deposu), D1 ve D8 (Demir Medikal Soğuk Hava Deposu), O2 ve O3 (Özel İdare Soğuk Hava Deposu).



Şekil 2.3. PDA ortamında elma dokularında gelişen *P. expansum*.

2.2.2. Patojenisite Testi

Virülensi en yüksek olan izolatu belirlemek için, elde edilen 10 adet *P. expansum* izolatu ile elmalarda patojenisite testi yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce *P. expansum* izolatu PDA ortamına ekilmiş ve gelişmesi için inkübatörde $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 5-7 gün bekletilmiştir. Gelişmenin olduğu her petriye Tween 80 (%0.05, ağırlık/hacim) içeren steril saf sudan 5 ml ilave edilmiştir. Steril cam baget yardımıyla sporların suya geçmesi sağlanmıştır. Elde edilen süspansiyon çift katlı ince tülbentten geçirilerek steril behere alınmıştır (Şekil 2. 4). Spor süspansiyonlarının spor sayımı, mikroskop altında THOMA kan sayım lamı (hemocytometre) kullanarak gerçekleştirilmiştir. Sayım sonucunda 10^6 spor/ml yoğunlukta inokulum hazırlanmıştır. İnokulasyon için 1 mm çapında ve 8 cm uzunluğunda paslanmaz demir çubuk kullanılmıştır. Demir çubuk spor süspansiyonuna batırıldıktan sonra, önceden yıkanıp steril edilmiş olan elma meyvelerine karşılıklı iki

noktadan delme şeklinde etmenler inokule edilmiştir. Her bir izolat için 2 adet elma denemeye alınmış inokulasyonlar karşılıklı yapıldığından toplam 4 adet ölçüm alınmıştır. Yani her izolat için 4 tekerrür değerlendirmeye alınmıştır. Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur.



Şekil 2.4. Patojenisite testi için *P. expansum* izolatlarından hazırlanmış spor süspansiyonları.

Meyveler gelişimin izlenmesi için $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübatörde karanlık koşullarda 12 gün süreyle muhafaza edilmiştir. 6, 9 ve 12. günde çürüme çapları mm olarak ölçülmüştür. Her bir izolatın oluşturduğu çürüme çapı istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve patojenisitesi en yüksek olan izolat seçilmiştir. İstatistik analizler Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile SPSS programı (Versiyon 9.05) kullanılarak yapılmış ve izolatların virülenslikleri karşılaştırılmıştır..

Patojenisite testi sonucu seçilen *P. expansum* izolatının teşhisi Anniline Blue ile boyama yapıldıktan sonra Trinoküler mikroskop ile elde edilen görüntülere göre, Yrd. Doç. Dr. H. Handan ALTINOK'dan yardım alınarak yapılmıştır.

2.2.3. In vitro Çalışmaları

In vitro çalışmaları, petri kutusundaki *P. expansum* kültürlerinin ışınlanması şeklinde yapılmıştır. Bu amaçla PDA ortamında geliştirilen O2 kodlu izolat 0.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 ve 4.0 kGy'lik dozlarda ışınlanmıştır. Türkiye Atom Enerjisi Kurumu'nun Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi'nde (SANAEM) bulunan 1026.2 Ci aktiviteli ^{60}Co gamma kaynağında, 0.668 kGy/h doz oranında ışınlama yapılmıştır. Çalışmada kullanılan araştırma amaçlı ^{60}Co gamma kaynağı Şekil 2.5'de görülmektedir. Gerekli hesaplamalar yapılarak her doz için petri kutusunun kaynakta kalacağı süreler belirlenmiş ve ışınlama kaynağının haznesine konulmuştur (Şekil 2.6).

İşinlamanın ardından 5 mm çapında disk ile alınan inokulum taze PDA ortamına 4 tekerrürlü olarak aktarılmıştır. $23\pm1^\circ\text{C}$ 'de 4 saat inkübe edildikten sonra $3-4^\circ\text{C}$ 'de buz dolabında (in vivo koşullara paralel olarak) 4 hafta [66] ve $23\pm1^\circ\text{C}$ 'de inkübatörde (fungusun optimum gelişme koşulları olarak) de inkübatörde 2 hafta [77]. Gelişen kolonilerin çapları üçer gün arayla ölçülmüştür. İnokulumun kendi başlangıç çapı 5 mm'dir. Değerlendirmeler "Bölüm 2.2.6."da açıklanan yöntemlerle yapılmıştır.



Şekil 2.5. Araştırmada kullanılan TAEK-SANAEM'de bulunan ^{60}Co gamma kaynağı.



Şekil 2.6. In vitro çalışmalarında petrideki *P. expansum* kültürlerinin ısıtılması.

Kontrol olarak ısıtılmamış kültürlerden aynı şekilde diskler aktarılmıştır.

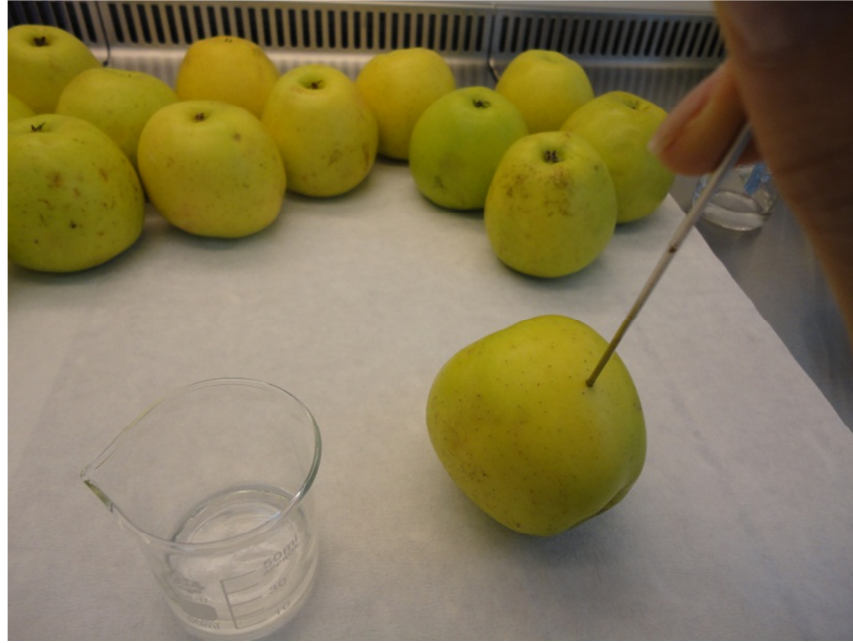
2.2.4. In vivo Çalışmaları

2.2.4.1. Meyvelerin Yüzeysel Dezenfeksiyonu

Meyve yüzey dezenfeksiyonu %0.5'lik NaOCl ile yapılmıştır. “Mevcut konsantrasyon X Alınacak hacim = İstenen konsantrasyon X İstenen toplam hacim” eşitliğine göre [5X A = 0.5X2500 (elma sayısına göre değişebilir.) A= 250 ml NaOCl + 2250 saf su ilave edilerek] dezenfeksiyon için gerekli solüsyon hazırlanmıştır.

2.2.4.2. Meyvelerin *P. expansum* ile İnokule Edilmesi

Elma meyveleri *P. expansum*'un 10^6 spor/ml'lik spor süspansiyonu ile 1mm çapında ve 8 cm uzunluğunda paslanmaz demir çubukla ekvator bölgesinden karşılıklı iki noktadan yaralama yolu ile inokule edilmiştir (Şekil 2.7). Bu inokulum yoğunluğu mavi ve yeşil küf depo hastalıkları için tavsiye edilen bir yoğunluktur [20].



Şekil 2.7. Elmaların *P. expansum* ile inokulasyonu.

2.2.4.3. Sodyum Karbonat Uygulaması

In-vivo koşullarda yapılan çalışmalarda ilk olarak SC uygulaması yapılmıştır. *P. expansum* inokule edilmiş meyveler yaklaşık iki saat sonra ızgaralı paslanmaz çelik sepetlere yerleştirilip 40°C'de (pH 11.3–11.5) %3'lük ve %3.5'luk SC içeren 22.5 litre saf suya 150 saniye daldırılmıştır (Şekil 2.8). Çalışmalar kontrol ve uygulamalı olarak her tekerrürde bir adet elma olmak üzere 9 tekerrürlü yapılmıştır.



Şekil 2.8. *P. expansum* ile inokule edilmiş elmalara SC uygulaması.

Aynı sürede kontrol meyveleri de yalnızca 40°C deki saf suya daldırılmıştır. SC uygulanmış ve uygulanmamış elmalar 20°C de 24 saat tutulduktan sonra 4 hafta 3-4°C’de muhafaza edilmiştir. Uygulamadan 27, 30, 33, 36 ve 39 gün sonra meyvelerdeki çürüklük çapları milimetrik olarak ölçülmüştür.

Araştırmada SC solüsyonunun 50°C’ye kadar ısıtılmasının mandarinlerde *Penicillium* çürüklüklerinin engellenmesinde daha etkili olduğunu belirten Palou *et al.* [78, 79]’un görüşleri doğrultusunda SC solüsyonu ısıtılmıştır. Elmalarda SC uygulamasında Conway *et al.* [14] 38°C kadar ısıttıklarından, bizim çalışmamızda da 40°C’de SC solüsyonun ısıtılması uygun bulunmuştur.

Palou *et al.* [24] SC uygulamasından sonra su ile durulamanın fungusun engellenmesinde etkinliğini azalttığını belirtmiştir. Bundan dolayı denememizde SC uygulamasından sonra yıkama yapılmamıştır.

2.2.4.4. Işınlama Uygulaması

Tek başına ışınlama çalışmasında, in vitro koşullarda etkili bulunan gamma radyasyon dozu ve üzerindeki iki farklı dozda (birçok araştırmada, konukçular (in-vivo) için gereken radyasyon dozlarının kültür ortamları (in-vitro) için gereken dozlardan daha fazla olduğu belirtildiğinden [67]) uygulama yapılmıştır. Bu bölümde toplam uygulama sayısı, kontrol örnekleri de dahil olmak üzere dördüttür. Bu formatta *P. expansum* ile yukarıda açıklanan yöntem ile elmalar inoküle edilmiş ve ışınlama anına kadar 3-4°C de örnek taşıma kutusunda muhafaza edilmiştir. Bir litrelik ışınlama haznesine konulan elmalar belirlenen dozlarda ışınlanmıştır(Şekil 2.9). Işınlamadan sonra örnekler 20°C’de 24 saat tutulduktan sonra 3-4°C’de 46 gün muhafaza edilerek 3’er gün aralıklarla çürüme çapları ölçülmüştür. Çalışmalar kontrol ve uygulamalı olarak, her tekerrürde bir adet elma olmak üzere 8 tekerrürlü yapılmıştır. Bir anlamda ışınlama haznesinin kapasitesi, ışınlama uygulamalarındaki tekerrür sayılarını belirleyen faktör olmuştur.

Aynı işlemler ışınlanmamış kontrol örneklerine de yapılmıştır. Değerlendirmeler “Bölüm 2.2.6”da açıklandığı şekilde yapılarak, 4 adet doz arasındaki farklılık araştırılmıştır.



Şekil 2.9. *P. expansum* ile inokule edilmiş elmaların ışınlaması.

2.2.4.5. Işınlama+Sodyum Karbonat Kombine Uygulaması

Işınlama+sodyum karbonat kombine uygulamasında ise tek bir SC dozu ve ışınlamanın ise 3 farklı dozu uygulanmıştır. In vivo’da etkili bulunan ışınlama dozu ile, bunun iki alt seviyeleri uygulanmıştır (kombine uygulamaların dozları düşürülerek tekli uygulamalardan daha iyi etkinlik elde edilmesi ve tekli uygulamalardan oluşabilecek olumsuz etkilerin azaltılması açısından [39, 67]). Yukarıda açıklanan yöntemler ile önce SC sonra da ışınlama uygulaması yapılmıştır. “2.2.4.4. Işınlama Uygulaması” bölümünde belirtilen aynı inkübasyon sıcaklık ve sürelerine uyulmuştur. Uygulama görmüş meyveler 3-4°C’de 46 gün muhafaza edilerek 3’er gün aralıklarla çürüme çapları ölçülmüştür.

Çalışmalar kontrol ve uygulamalı olarak, her tekerrürde bir adet elma olmak üzere 8 tekerrürlü yapılmıştır. Hiçbir uygulama yapılmamış (ne SC ne de ışınlama) kontrol örnekleri de aynı işlemlerden geçirilmiştir. Bu bölümde toplam uygulama sayısı kontrol dahil olmak üzere dördüttür. Uygulamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemi “Bölüm 2.2.6” da belirtildiği gibi saptanmıştır.

2.2.5. Etkin Bulunan Uygulamada Fungusların Kültürel Özellik ve Patojenisitesindeki Değişimin İncelenmesi

2.2.5.1. Kültürel Özellik Testi

Etkili bulunan uygulama ile muamele görmüş çürümüş elmalardan reizolasyon yapıp patojenin gelişmesi ve sporulasyonu incelenmiştir. Reizolasyon yapılarak gelişen kültürlerden 5 mm çapında diskler alınıp taze PDA'ya 5'er tekerrürlü olarak 10 petriye ekim yapıldı. Bu petrilerden 5 adeti $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de, 5 adedi de $3-4^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır. Her iki uygulamanın da kültürel özelliklerinin değerlendirilmesi ve 3 gün ara ile koloni çapları mm cinsinden ölçülmüştür. Kültürel özellik olarak *P. expansum*'un PDA besiyerinde gelişimi, etmene özgü hif ve spor yapısı incelenmiştir.

Işınlama uygulaması yapılmamış kontrol elmalarından da reizolasyon yapıp aynı formatta kontrol örnekleri için de kültürel özellik testi denemesi kurulmuştur.

2.2.5.2. Patojenisite Testi

Patojenisite testi radyasyonun patojenin hastalandırma yeteneğine yaptığı değişikliğin kalıcılığının incelenmesi için yapılmıştır. Etkili bulunan uygulama ile muamele görmüş çürümüş elmalardan reizolasyon yapıp, izolasyondan sonra elde edilen kültürlerden hazırlanan süspansiyonlardan 5'er tekerrürlü olarak 10 adet elma meyvesine inokülasyon yapılmıştır. Işınlama ve SC uygulamasında olduğu gibi 24 saat oda koşullarında bekletildikten sonra 5 adet elma $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de, 5 adet elmada $3-4^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır ve 3 gün arayla çap ölçümü yapılmıştır.

Işınlama uygulaması yapılmamış kontrol elmalarından reizolasyon yapıp aynı formatta kontrol örnekleri için de patojenisite testi denemesi kurulmuştur.

2.2.6. Değerlendirmeler

2.2.6.1. Koloni Çapı ve Çürüme Çapı Verilerinin İstatistiksel Analizi

Yukarıda yöntemleri açıklanan in vitro koşullarda ışınlanmış kültürlerin $3-4^{\circ}\text{C}$ 'de ve $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmesi ile elde edilen veriler kendi içlerinde istatistiksel analize tabi tutulmuştur. Dozlar arasındaki farklılıklar SPSS programı (SPSS Inc., Chicago, IL,

USA) ile %5 ve %1 seviyesinde Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi yapılarak araştırılmıştır.

Yine in vivo koşullarda 3-4°C’de yapılan sodyum karbonat uygulaması, ışınlama uygulaması ve ışınlama+sodyum karbonat kombine uygulaması verileri de kendi içlerinde SPSS programı ile istatistiksel analize tabi tutulmuştur.

2.2.6.2. AUDPC Değerlendirmesi

Denmeye alınan uygulamalara ait hastalık gelişiminin olduğu alan (area under the disease progress curve, AUDPC) değerleri Eşitlik (2.1) kullanılarak [24, 80, 81] hesaplanmıştır.

$$AUDPC = [(y_i + y_{i+1})/2 \times (t_{i+1} - t_i)] \quad (2.1)$$

Eşitlikteki y_i değeri t_i zamanındaki koloni/çürüme çapı, y_{i+1} değeri t_{i+1} zamanındaki koloni/çürüme çapı, $t_{i+1} - t_i$ değeri ise iki gözlem arasındaki günlerin sayısıdır.

Araştırmanın ışınlanmış kültürlerin 3-4°C’de muhafaza edilmesi, ışınlama uygulaması ve ışınlama+sodyum karbonat kombine uygulaması bölümlerinin dozlara ait elde edilen AUDPC değerleri gözlem bazında hesaplanmış ve ilgili grafikler çizilmiştir. Ayrıca uygulamaların, uygulama bazında toplam AUDPC değerleri hesaplanmış ve SPSS programı ile farklılıklar analiz edilmiştir.

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. İzolatların Patojenisite Testi Sonuçları

Araştırmada kullanılacak virülensi en yüksek olan *P. expansum* izolatını belirlemek üzere elimizde mevcut olan EL8, EL5, EM3, EM10, G2, G9, D1, D8, O2 ve O3 izolatlarıyla “Bölüm 2.2.2.”de açıklanan yöntem ile patojenisite testi yapılmıştır. İzolatların patojenisite testi verileri, yani izolatların gösterdiği çürüme çapları, istatistiksel olarak SPSS programı ile %5 ve %1 düzeyinde analiz edilmiş olup, sonuçları Tablo 3.1’de görülmektedir.

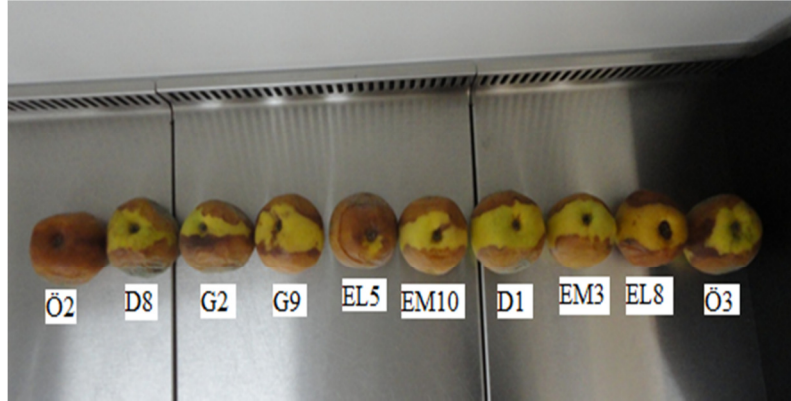
Tablo 3.1. *P. expansum* izolatlarının patojenisite testi (23±1°C) ile elde edilen çürüme çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.

İnokulasyondan sonra geçen süre (gün)			
İzolat kodu	6	9	12
G9	25.12 C*a**	39.12 Ba	53.75 Aa
EL8	25.37 Ca	40.00 ABa	56.00 Aa
O3	25.62 BCa	40.00 ABa	55.25 Aa
D8	26.75 ABCa	40.50 ABa	56.75 Aa
EM10	28.25 ABCa	43.87 ABa	58.62 Aa
EL5	28.37 ABCa	43.50 ABa	57.87 Aa
EM3	29.50ABa	43.50 Aa	57.87 Aa
D1	29.50 ABa	43.50 ABa	56.50 Aa
O2	29.62ABa	44.25ABa	59.25Aa
G2	29.75Aa	43.62ABa	57.50Aa

* p< 0.05 düzeyinde önemli, ** p<0.01 düzeyinde önemli.

Çalışmamızda da en yüksek çürüme çapı oluşturan izolat denemeye alınacağından, bu test virülensi en yüksek olan izolatın belirlenmesi şeklinde yapılacaktır. Tablo 3.1’de,

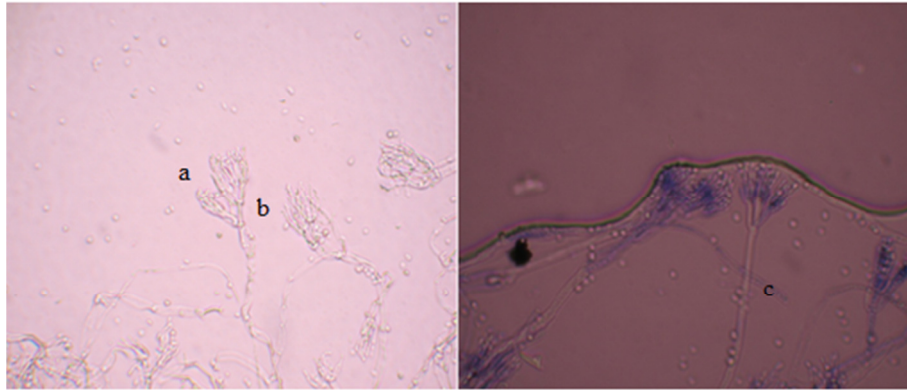
istatistiksel olarak 10 izolat arasında fark olmadığı görülmektedir. Ancak 9 ve 12. gün gözlemlerinde tüm izolatlar arasında O2 izolatının çürüme çapı en yüksek olduğundan, denemenin sonraki bölümlerinde bu izolat ile çalışılmıştır. Şekil 3.1’de her bir izolatın oluşturduğu çürüme çapı görülmektedir.



Şekil 3.1. *P. expansum* izolatlarının inokulasyondan sonra 12. günde oluşturdukları çürüme çapları.

3.2. *P. expansum* O2 İzolatının Teşhisi

Denemede çalışılmasına karar verilen O2 izolatının teşhisi “Bölüm 2.2.2.”de açıklanan yöntem ile yapılmış Şekil 3.2’de gösterilen tipik *P. expansum*’a ait mikroskopik görüntüler elde edilmiştir.



Şekil 3.2. *P. expansum* O2 izolatının konidi (a), kondiofor (b) ve hifleri (c).

3.3. In Vitro Koşullarda Işınlama Çalışmaları

Virulensi en yüksek olan O2 izolatı kullanılarak “Bölüm 2.2.3.” de açıklanan yöntem ile *P. expansum* kültürleri geliştirilmiş ve 0.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 ve 4.0 kGy’lik

dozlarda ışınlanmıştır. Bu bölümdeki çalışma, ışınlanmış kültürlerden inokulumların taze PDA'ya aktarılarak 3-4°C'deki buzdolabına ve 23±1°C'deki inkübatöre konulması şeklinde 2 aşamalı yapılmıştır. Elmalar soğuk hava depolarında 3-4°C'de depolandığından ve *P. expansum* kültürlerinin optimum gelişme sıcaklığı 23±1°C olduğundan bu iki alternatif de denenmiştir.

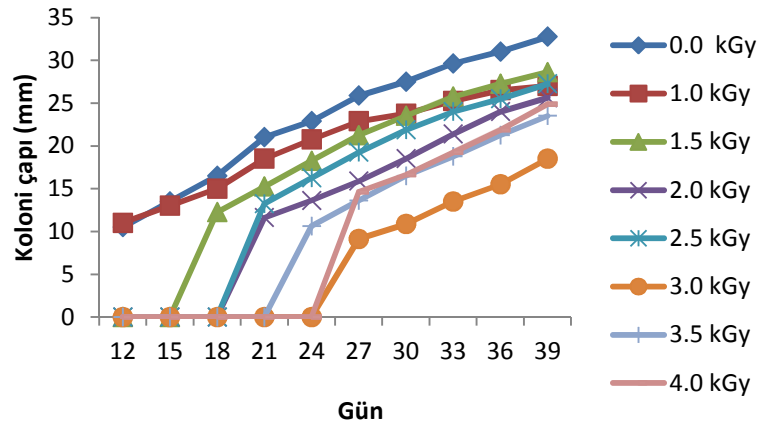
3.3.1. Işınlanmış Kültürlerin 3-4°C'de Muhafaza Edilmesi Sonuçları

Kültürlerin 3-4°C'de 39 gün muhafaza edilerek 3'er gün aralıklarla koloni çapları ölçülmüştür. Elde edilen verilerin SPSS programında analiz edilmesi ile dozlar arasındaki farklılık %5 ve %1 düzeyinde araştırılmıştır (Tablo 3.2). Tabloda görüldüğü gibi 21. güne kadar 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 kGy dozlarla ışınlanmış kültürlerde gelişme olmamıştır. In vitro koşullarda 27. günde çürüme çapı kontrollerde 25.87 mm olurken 3.0 kGy ışınlama dozunda 9.12 mm bulunmuştur. Tüm dozlarda gelişmenin olduğu 27. günden itibaren 3.0 kGy'in gösterdiği koloni çapı %5 ve %1 düzeyinde diğer dozlardan farklı bulunmuştur (Şekil 3.4). 3-4°C'de in vitro denemesinin sonucunda etkili doz 3.0 kGy olmuştur. Ayrıca Şekil 3.3'de yukarıda açıklanan dozlarda ışınlanan ve 3-4°C'de saklanan *P. expansum* kültürlerinin gelişmelerinin seyri görülmektedir.

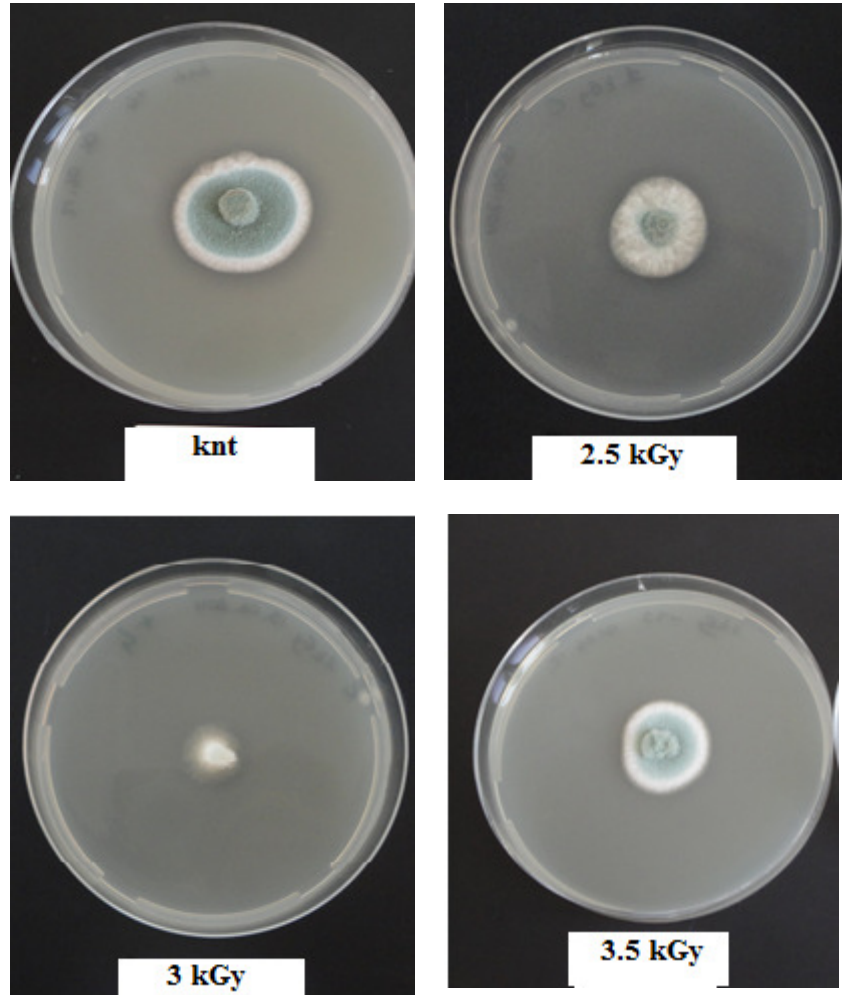
Tablo 3.2. Işınlanan ve 3-4°C'de saklanan *P. expansum* kültürlerinin farklı günlerdeki koloni çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.

Doz (kGy)								
Gün	Kontrol	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
12	10.50 A*a**	11.00 Aa	Bb	Bb	Bb	Bb	Bb	Bb
15	13.50 A a	13.00 Aa	Bb	Bb	Bb	Bb	Bb	Bb
18	16.50 Aa	15.00 Ba	12.25 Cb	Dc	Db	De	Dd	De
21	21.00 Aa	18.50 Bb	15.25 Cbc	11.62 Dd	13.25 Dc	Ee	Ed	De
24	22.87 Aa	20.75 Bb	18.25 Cb	13.62 Ec	16.25 D b	Gd	10.62 Fc	Ge
27	25.87 Aa	22.87 Bb	21.25 BCbc	15.87 Dd	19.25 Cc	9.12 Ee	13.62 Dd	14.62 De
30	27.50 Aa	23.75 Bb	23.50 Bb	18.50 Cc	21.87 Bb	10.87 Dd	16.50 Cc	16.62 Cc
33	29.62 Aa	25.25 Bb	25.75 Bb	21.37 Ccd	24.00 Bbc	13.50 Ee	18.75 Dd	19.25 CDc
36	31.00 Aa	26.50 BCb	27.25 Bb	24.00 CDbc	25.50 BCb	15.50 Fd	21.25 Ec	21.87 DEc
39	32.75 Aa	27.00 BCbc	28.62 Bb	25.62 BCDbc	27.25 BCbc	18.50 Ed	23.50 Dc	24.87 CDbc

* p< 0.05 düzeyinde önemli, ** p<0.01 düzeyinde önemli.



Şekil 3.3. Farklı dozlarda ışınlanan ve 3-4°C’de saklanan *P. expansum* kültürlerinin gelişmeleri.



Şekil 3.4. Işınlanmış *P. expansum* kültürlerinin 3-4°C’de saklanmasında 27.günde görülen koloni çapları.

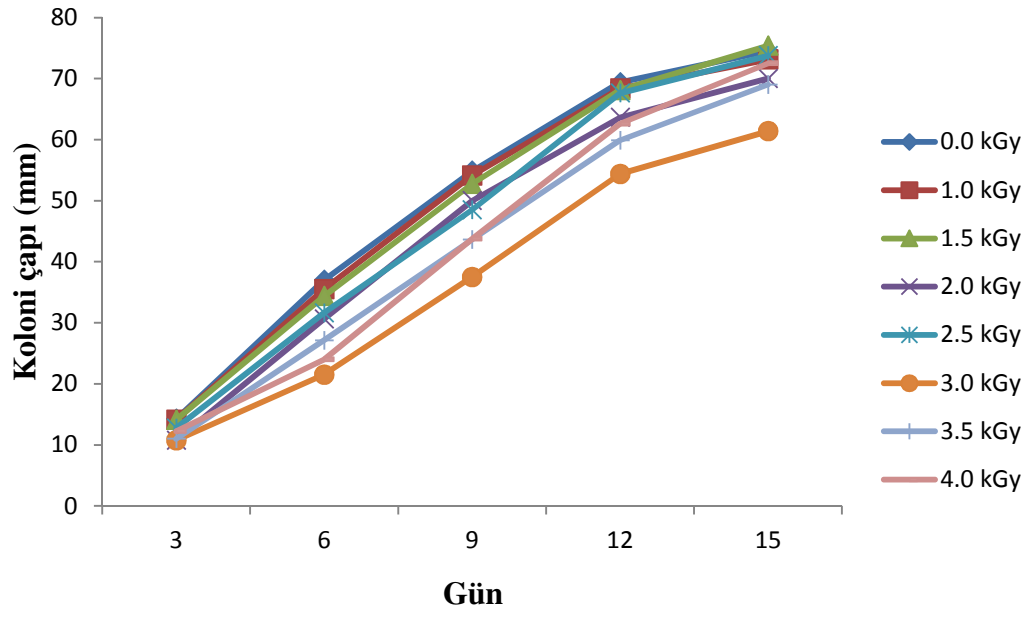
3.3.2. Işınlanmış Kültürlerin 23±1°C’de Muhafaza Edilmesi Sonuçları

Kültürlerin 23±1°C’de 15 gün muhafaza edilerek 3’er gün aralıklarla koloni çapları ölçülmüştür. Elde edilen verilerin SPSS programında analiz edilmesi ile dozlar arasındaki farklılık %5 ve %1 düzeyinde araştırılmıştır (Tablo 3.3). Tabloda görüldüğü gibi kültürlerde gelişme 3. günde başlamıştır. 9. günün ölçümlerine bakıldığında 3.0 kGy’in gösterdiği 37.50 mm’lik koloni çapı %5 düzeyinde diğer uygulamalardan farklı bulunmuştur. %1 düzeyinde ise bu farklılık önemli bulunmamıştır. Şekil 3.6’da da bu farklılık gözlemlenmektedir. Ayrıca Şekil 3.5.’de yukarıda açıklanan dozlarda ışınlanan ve 23±1°C’de saklanan *P. expansum* kültürlerinin gelişmelerinin seyri görülmektedir. 12. ve 15. günlerde ise 3.0 kGy’in gösterdiği koloni çapı %5 ve %1 düzeyinde önemli bulunmamıştır. Ancak bu günlerde de en küçük çürüme çapı yine 3.0 kGy’de olduğundan 23±1°C’de in vitro denemesinin sonucunda da etkili dozun 3.0 kGy olduğuna karar verilmiştir.

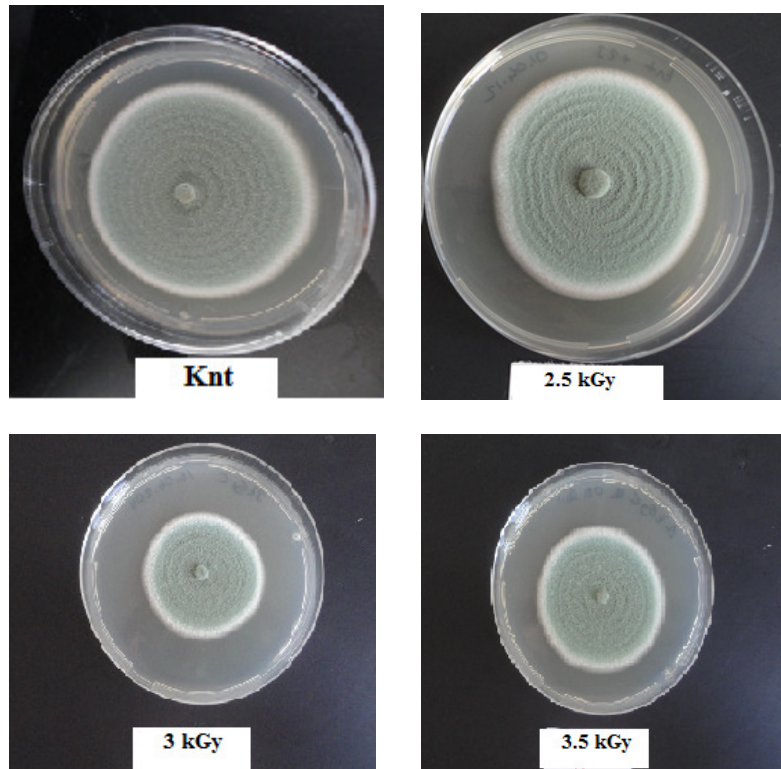
Tablo 3.3. Işınlanan ve 23±1°C’de saklanan *P. expansum* kültürlerinin farklı günlerdeki koloni çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.

Doz (kGy)								
Gün	Kontrol	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
3	14.25 A*a**	14.12 Aa	14.12 Aa	10.75 Ba	12.75 ABa	10.75 Ba	11.00 Ba	12.25 ABa
6	37.00 Aa	35.50 ABab	34.37 ABCab	30.62 CDbc	31.62 BCabc	21.50 Fdc	27.12 DEd	24.00 EFd
9	54.87 Aa	54.12 Aa	52.75 ABa	50.00 ABab	48.50 BC ab	37.50 Dbc	43.62 Cc	43.75 Cac
12	69.37 Aa	68.37 Aa	68.12 Aa	63.62 ABab	67.62 ABa	54.37 Cab	59.87 BCb	62.62 ABab
15	74.50 Aa	73.12 Aa	75.37 Aa	70.00 Aab	73.75 Aa	61.37 Bab	69.00 ABb	72.50 Aab

* p< 0.05 düzeyinde önemli, ** p<0.01 düzeyinde önemli.



Şekil 3.5. Farklı dozlarda ışınlanan ve $23\pm1^\circ\text{C}$ 'de saklanan *P. expansum* kültürlerinin gelişmeleri.



Şekil 3.6. Işınlanmış *P. expansum* kültürlerinin $23\pm1^\circ\text{C}$ 'de saklanmasında 9. günde görülen koloni çapları.

3.4. İn Vivo Koşullardaki Çalışmalar

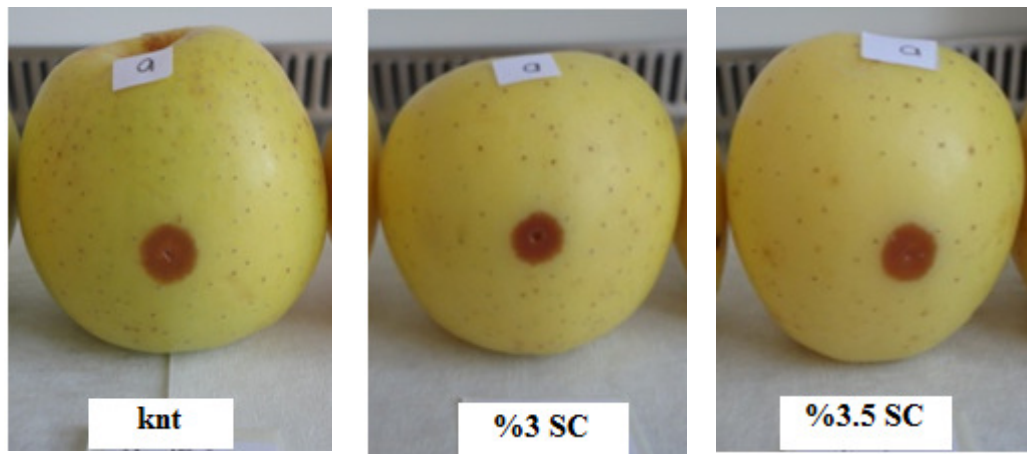
3.4.1. Sodyum Karbonat Uygulaması Sonuçları

P. expansum inokule edilmiş meyvelere “Bölüm 2.2.4.3” de açıklanan yöntem ile SC uygulaması yapılmıştır. Elmalarda çürüme 27. günden itibaren başlamıştır. SC’nin %3 ve %3.5 oranında uygulamasının farklılığı, gerek %5 gerekse %1 düzeyinde önemli bulunmamıştır. Bu sonuç Tablo 3.4 ve Şekil 3.7’de görülmektedir. Ancak çoğu literatürde SC uygulaması %3’lük oranda yapıldığı için denemenin sonraki bölümünde %3 oranında uygulama yapılmıştır.

Tablo 3.4. *P. expansum* ile inokule edilmiş elmalara SC uygulamasından sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile elde edilen çürüme çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.

Sodyum karbonat uygulamasından sonra geçen süre (gün)					
Doz (%)	27	30	33	36	39
Kontrol	6.10 A*a**	6.77 Aa	7.78 Aa	8.64 Aa	9.62 Aa
3.0	6.15 Aa	7.20 Aa	8.35 Aa	9.35 ABa	10.99 ABa
3.5	6.19 Aa	7.25 Aa	8.57 Aa	9.81 Aa	11.22 Aa

* $p < 0.05$ düzeyinde önemli, ** $p < 0.01$ düzeyinde önemli.



Şekil 3.7. *P. expansum* ile inokule edilmiş elmalara SC uygulamasından 39 gün sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile görülen çürümeler.

3.4.2. Işınlama Uygulaması Sonuçları

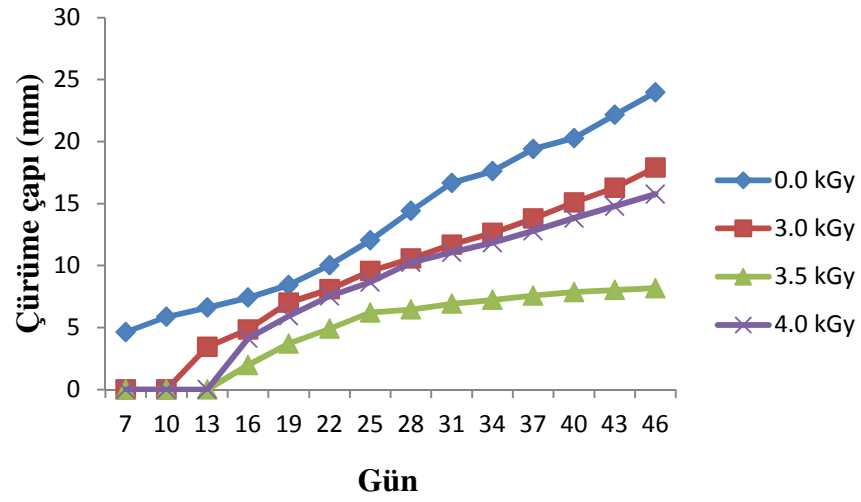
P. expansum inokule edilmiş meyveler “Bölüm 2.2.4.4” de açıklanan yöntem ile 0.0, 3.0, 3.5 ve 4.0 kGy dozlarda ışınlanmış ve 3-4°C’de 46 gün muhafaza edilmiştir. Üçer gün aralıklarla çürüme çaplarının ölçülmesiyle elde edilen veriler SPSS programında analiz edilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılık %5 ve %1 düzeyinde araştırılmıştır (Tablo 3.5).

Tabloda görüldüğü gibi, kontrollerde çürüme 7. günde başlamıştır. 16. günden itibaren alınan ölçümlerde 3.5 kGy uygulaması -iki istisna olmak üzere- %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bu farklılık Şekil 3.9’da da görülmektedir. Çoğu gözlemlerde de bu farklılık %1 düzeyinde de önemli bulunmuştur. 46. günde kontrol örneklerinde 23.97 mm çürüme çapı görülürken 3.5 kGy dozda ışınlananlarda bu değer 8.17 mm olmuştur. Bu farklılık %5 ve %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Ayrıca çürümelerin seyri grafiksel olarak Şekil 3.8’de verilmiştir. Sonuç olarak, 3-4°C’de in vivo koşullarda yapılan ışınlama uygulaması denemesinin sonucunda etkili doz 3.5 kGy olarak bulunmuştur.

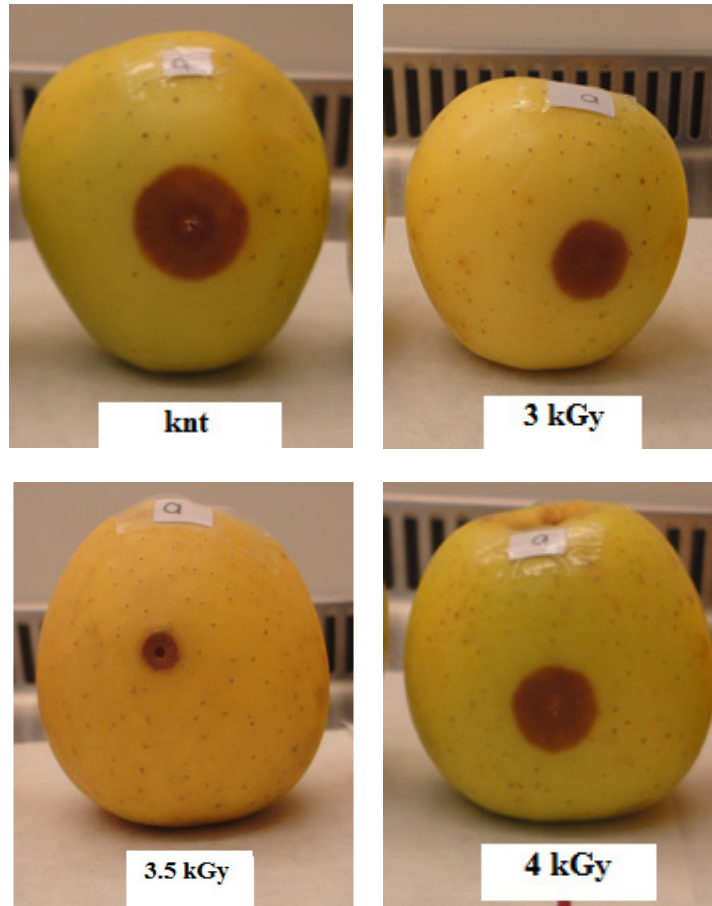
Tablo 3.5. *P. expansum* ile inokule edilmiş elmalara ışınlama uygulamasından sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile gözlemlenen çürüme çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.

Doz (kGy)				
Işınlamadan sonra	Kontrol	3.0	3.5	4.0
geçen süre (Gün)				
7	4.63 A*a**	Bb	Bb	Bb
10	5.85 Aa	Bb	Bb	Bb
13	6.60 Aa	3.43 Bb	Cc	Cc
16	7.40 Aa	4.84 Bb	1.97 Cc	4.12 Bb
19	8.43 Aa	7.01 Bb	3.70 Cc	5.93 Cc
22	10.02 Aa	8.08 Bb	4.90 Cc	7.54 Bb
25	12.03 Aa	9.55 Bb	6.20 Bb	8.64 Bb
28	14.40 Aa	10.55 Bb	6.45 Cc	10.25 Bb
31	16.66 Aa	11.68 Bb	6.92 Cb	11.06 Bb
34	17.60 Aa	12.62 Bb	7.23 Cc	11.83 Bb
37	19.40 Aa	13.78 Bb	7.57 Cc	12.79 Bb
40	20.28 Aa	15.08 Bb	7.85 Cc	13.82 Bb
43	22.15 Aa	16.26 Bb	8.03 Dc	14.77 Cb
46	23.97 Aa	17.90 Bb	8.17 Dd	15.75 Cc

* p< 0.05 düzeyinde önemli, ** p<0.01 düzeyinde önemli.



Şekil 3.8. *P. expansum* ile inokule edilmiş ve farklı dozlarda ışınlanarak 3-4°C’de muhafaza edilen elmalarda çürüme gelişmeleri.



Şekil 3.9. *P. expansum* ile inokule edilmiş elmalara ışınlama uygulamasından 40 gün sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile görülen çürümeler.

3.4.3. Işınlama+Sodyum Karbonat Kombine Uygulaması Sonuçları

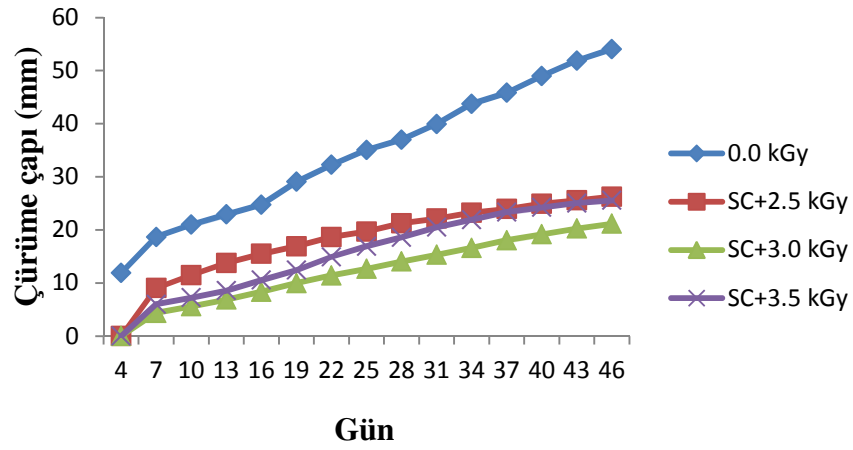
P. expansum inokule edilmiş meyvelere “Bölüm 2.2.4.5” de açıklanan yöntem ile ışınlama ve SC kombine uygulaması yapılmıştır. Örneklere SC+2.5 kGy, SC+ 3.0 kGy ve SC+3.5 kGy uygulamaları yapılmış ve 3-4°C’de 46 gün muhafaza edilmiştir. Üçer gün aralıklarla çürüme çaplarının ölçülmesiyle elde edilen veriler SPSS programında analiz edilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılık %5 ve %1 düzeyinde araştırılmıştır (Tablo 3.6). Tabloda görüldüğü gibi, kontrollerde çürüme 4. günde, diğer uygulamalarda ise 7. günde başlamıştır. 22. günden itibaren alınan ölçümlerde SC+3.0 kGy uygulaması -bir istisna olmak üzere- %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bu farklılık Şekil 3.11’de de görülmektedir. Benzeri şekilde SC+3.0 kGy uygulamasının gösterdiği farklılık %1 düzeyinde de 25, 28 ve 37. gün gözlemlerinde önemli bulunmuştur. Kırk altıncı günde kontrol örneklerinde 54.06 mm, SC+3.0 kGy uygulanmışlarda 21.18 mm çürüme çapı olmuştur ve %5 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur. Ayrıca çürümelerin seyri grafiksel olarak Şekil 3.10’da verilmiştir.

Sonuç olarak, 3-4°C’de in vivo koşullarda yapılan ışınlama+sodyum karbonat kombine uygulaması” denemesinin sonucunda en uygun SC+3.0 kGy uygulaması bulunmuştur.

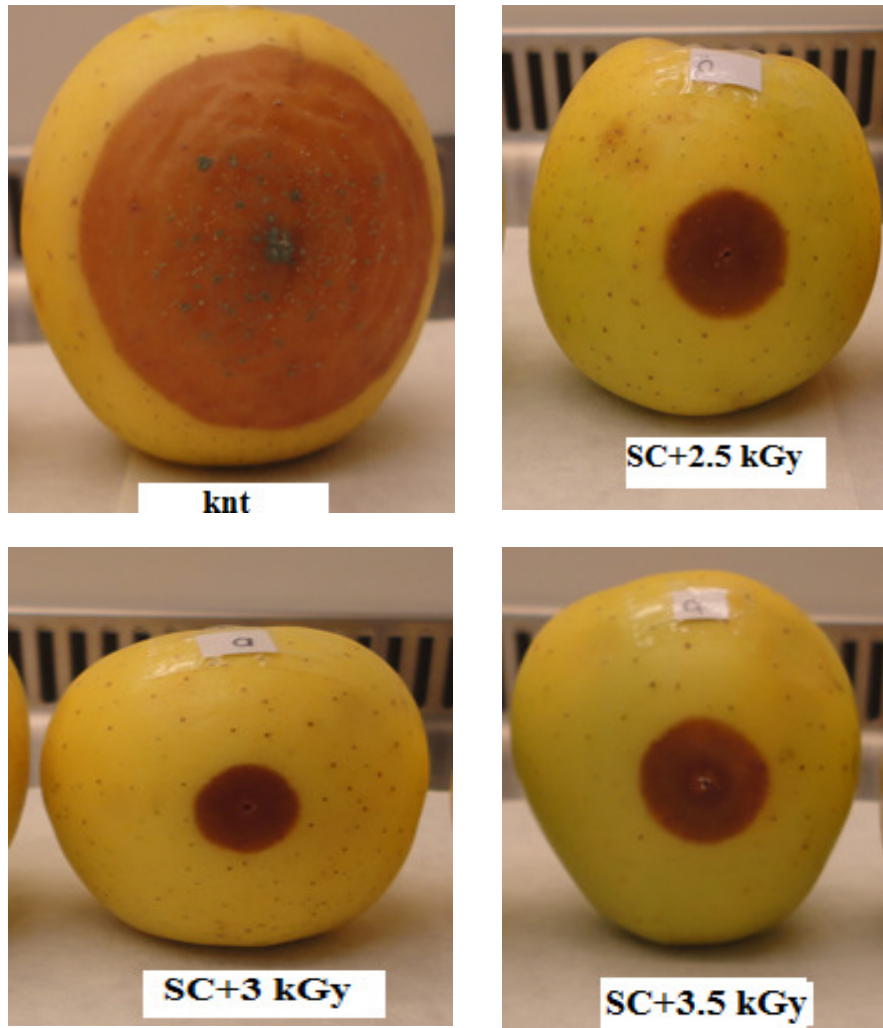
Tablo 3.6. *P. expansum* ile inokule edilmiş elmalara SC+ışınlama kombine uygulamasından sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile gözlemlenen çürüme çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları.

Işınlamadan sonra geçen süre (Gün)	Uygulama			
	Kontrol	SC+2.5 kGy	SC+ 3.0 kGy	SC+3.5 kGy
4	11.87 A*a**	Bb	Bb	Bb
7	18.68 Aa	9.06 Bb	4.37 Cc	6.00 Cb
10	21.00 Aa	11.50 Bb	5.62 Cc	7.25 Cc
13	22.93 Aa	13.75 Bb	6.87 Cc	8.56 Cc
16	24.75 Aa	15.50 Bb	8.37 Cc	10.56 Cc
19	29.06 Aa	16.93 Bb	10.00 Cc	12.43 Cc
22	32.25 Aa	18.68 Bb	11.43 Dc	14.93 Cb
25	35.06 Aa	19.68 Bb	12.68 Cc	16.93 Bb
28	37.00 Aa	21.25 Bb	14.06 Cc	18.62 Bb
31	39.94 Aa	22.12 Bb	15.31 Bb	20.49 Bb
34	43.75 Aa	23.25 Bb	16.62 Cbc	21.93 Bb
37	45.81 Aa	23.93 Bb	18.06 Cc	23.37 Bb
40	49.00 Aa	24.93 Bb	19.18 Cc	24.25 Bc
43	51.87 Aa	25.56 Bb	20.25 Cb	25.06 Bb
46	54.06 Aa	26.25 Bb	21.18 Cb	25.56 Bb

* p< 0.05 düzeyinde önemli, ** p<0.01 düzeyinde önemli.



Şekil 3.10. *P. expansum* ile inokule edilmiş ve SC+ışınlatma uygulanarak 3-4°C’de muhafaza edilen elmalarda gözlemlenen çürüme çapları (mm).



Şekil 3.11. *P. expansum* ile inokule edilmiş elmalara SC+ışınlatma uygulamasından 40 gün sonra 3-4°C’de muhafaza etme ile görülen çürümeler.

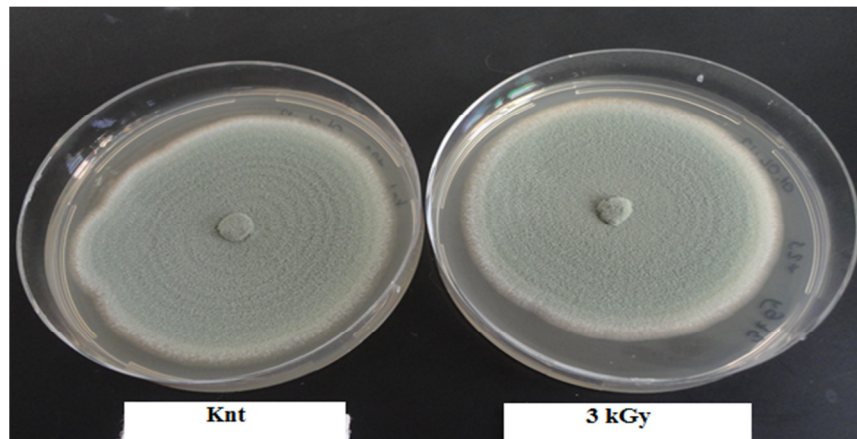
3.5. Kültürel Özellik Ve Patojenisite Testi Sonuçları

3.5.1. Kültürel Özellik Testi

Işınlama+sodyum karbonat kombine uygulaması denemesinin sonucunda uygun bulunan SC+3.0 kGy uygulaması yapılmış elmalardan reizolasyon yapılarak patojenin gelişmesi ve sporulasyonu incelenmiştir. *P. expansum* kültürlerinin $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmesi ile 16 günlük süreçte ölçülen koloni çapları Tablo 3.7'de verilmiştir. Verilerin incelenmesinden kontrol örnekleri ile arasında önemli bir fark olmadığı anlaşılmaktadır. Ayrıca *P. expansum*'un PDA besiyerinde gelişimi, etmene özgü hif ve spor yapılarının mikroskopik incelenmesinde, uygulama yapılmış ve yapılmamışlar arasında bir fark bulunamamıştır (Şekil 3.12).

Tablo 3.7. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen *P. expansum* kültürlerinin $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de farklı günlerdeki koloni çapları (mm).

	İnokulasyondan sonra geçen süre (gün)				
Uygulama	4	7	10	13	16
Kontrol	24.1	42.8	59.0	69.7	72.9
SC+3.0 kGy	22.5	41.1	58.5	68.9	70.0

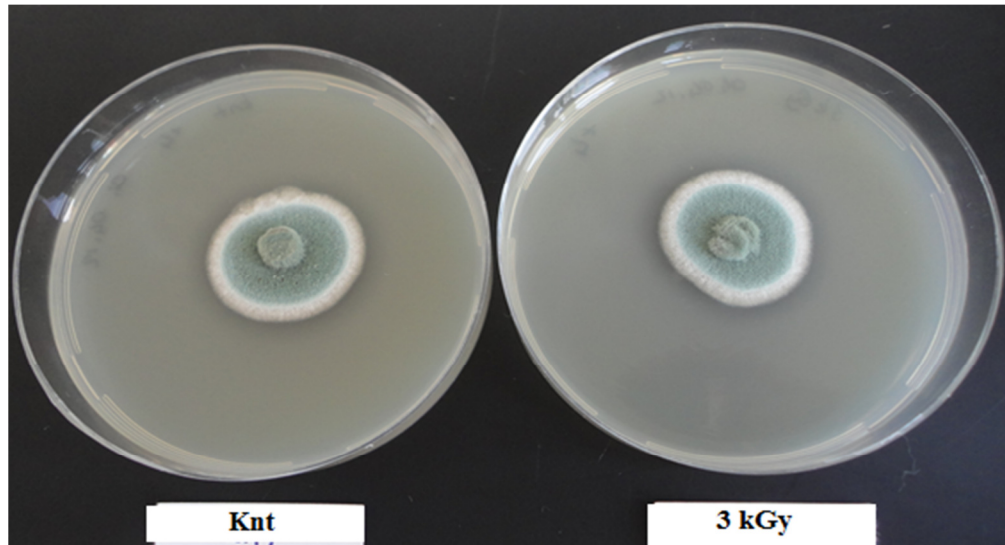


Şekil 3.12. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen *P. expansum* kültürlerinin $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 13 günlük gelişmeleri.

Benzeri şekilde *P. expansum* kültürlerinin 3-4°C’de muhafaza edilmesi ile 45 günlük süreçte ölçülen koloni çapları Tablo 3.8’de verilmiştir. Verilerin incelenmesinden kontrol örnekleri ile arasında önemli bir fark olmadığı anlaşılmaktadır. Yine *P. expansum*’un mikroskopik incelenmesinde, uygulama yapılmış ve yapılmamışlar arasında bir fark bulunamamıştır (Şekil 3.13).

Tablo 3.8. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen *P. expansum* kültürlerinin 3-4°C’de farklı günlerdeki koloni çapları (mm).

İnokulasyondan sonra geçen süre (gün)													
Uygulama	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	42	45
Kontrol	15.8	20.9	23.3	25.7	27.1	29.2	30.6	31.1	32.2	33.6	33.6	34.2	35.1
SC+3.0 kGy	17.2	21.2	24.6	25.7	27.2	28.9	30.9	31.2	34.0	35.5	35.5	36.2	36.4



Şekil 3.13. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen *P. expansum* kültürlerinin 3-4°C’de 25. gündeki gelişmeleri.

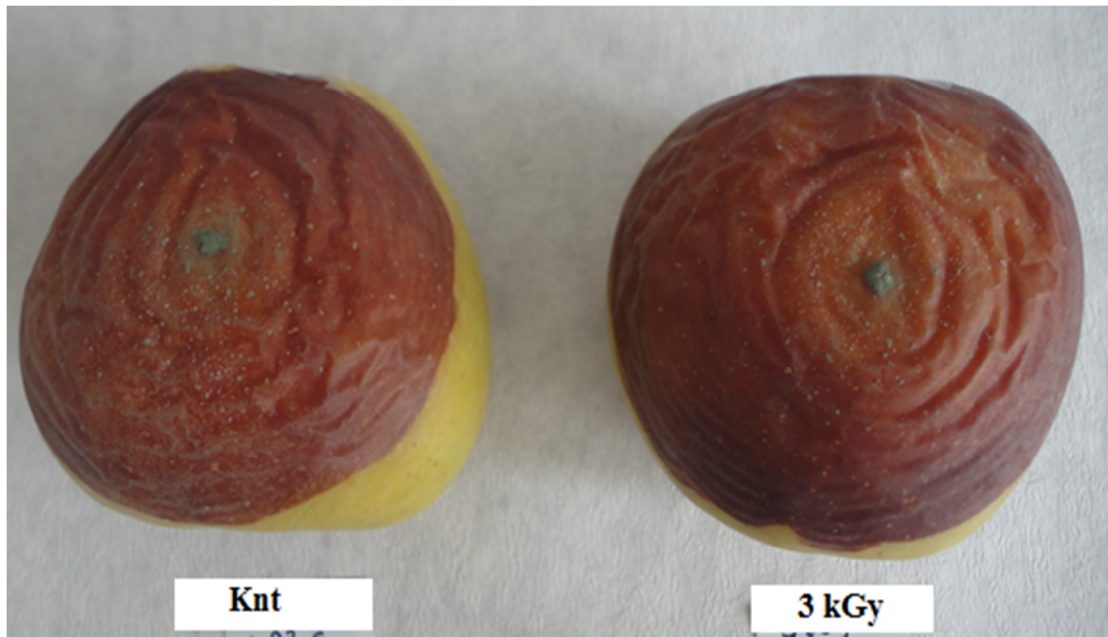
3.5.2. Patojenisite Testi

Işınlama+sodyum karbonat kombine uygulaması denemesinin sonucunda uygun bulunan SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizolasyon yapılarak geliştirilen *P. expansum* ile taze elmalar inokule edilmiştir. Örneklerin 23±1°C’de muhafaza edilmesi ile 16 günlük süreçte ölçülen çürüme çapları Tablo 3.9’da verilmiştir. Verilerin

incelenmesinden kontrol örnekleri ile arasında önemli bir fark olmadığı anlaşılmaktadır. Şekil 3.14'deki resimlerde de bu durum görülmektedir.

Tablo 3.9. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen *P. expansum*' un $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de farklı günlerdeki çürüme çapları (mm).

İnokulasyondan sonra geçen süre (gün)					
Uygulama	4	7	10	13	16
Kontrol	15.2	29.4	43.6	60.8	71.6
SC+3.0 kGy	18.7	35.4	56.9	80.8	88.9



Şekil 3.14. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen *P. expansum*' un 16. günde $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de oluşturduğu çürümeler.

Aynı şekilde elmaların $3-4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmesi ile 54 günlük süreçte ölçülen çürüme çapları Tablo 3.10'da verilmiştir. Verilerin incelenmesinden kontrol örnekleri ile arasında önemli bir fark olmadığı anlaşılmaktadır (Şekil 3.15).

Tablo 3.10. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen *P. expansum*' un 3-4°C'de farklı günlerdeki çürüme çapları (mm).

İnokulasyondan sonra geçen süre (gün)																
Uygulama	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	42	45	48	51	54
Kontrol	6.1	8.3	10.7	13.2	17.0	20.2	23.4	26.5	30.5	30.2	32.2	37.9	41.6	43.9	45.9	51.7
SC+3.0 kGy	4.8	6.8	10.1	13.1	17.2	20.4	23.5	27.1	31.3	34.2	36.8	39.7	43.7	45.6	48.1	54.0



Şekil 3.15. SC+3.0 kGy uygulaması görmüş elmalardan reizole edilen *P. expansum*' un 22. günde 3-4°C'de oluşturduğu çürümeler.

3.6. AUDPC Değerlendirmesi

Hastalık şiddetleri, farklı değerlendirme günlerinde AUDPC formülü ile değerlendirilmiştir. Hastalık gelişiminin olduğu alan kurve (area under the disease progress curve, AUDPC) değerleri Eşitlik (2.1) kullanılarak [81] hesaplanmıştır.

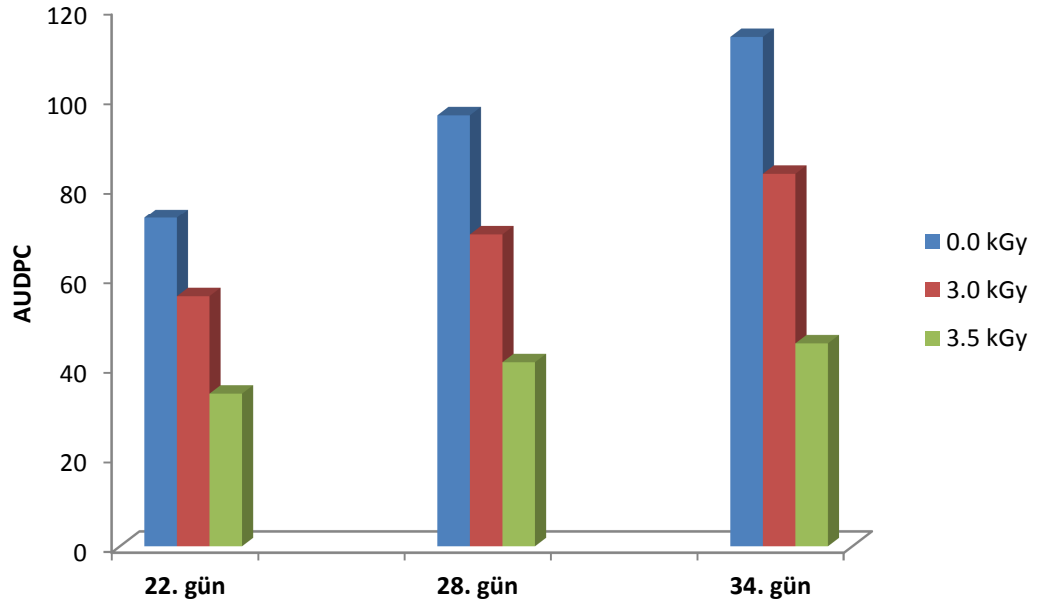
$$AUDPC = [(y_i + y_{i+1})/2 \times (t_{i+1} - t_i)] \quad (2.1)$$

Eşitlikteki y_i değeri t_i zamanındaki koloni/çürüme çapı, y_{i+1} değeri t_{i+1} zamanındaki koloni/çürüme çapı, $t_{i+1} - t_i$ değeri ise iki gözlem arasındaki günlerin sayısıdır.

Eşitlik (2.1)'in daha açık anlaşılması açısından Tablo 3.5'deki 0 kGy uygulaması için AUDPC formülündeki değerler şöyle açıklanabilir. Eşitlikteki y_i değeri 22. gündeki çürüme çapı (10.02), y_{i+1} değeri 28. gündeki çürüme çapı (14.40), $t_{i+1} - t_i$ değeri ise 28-

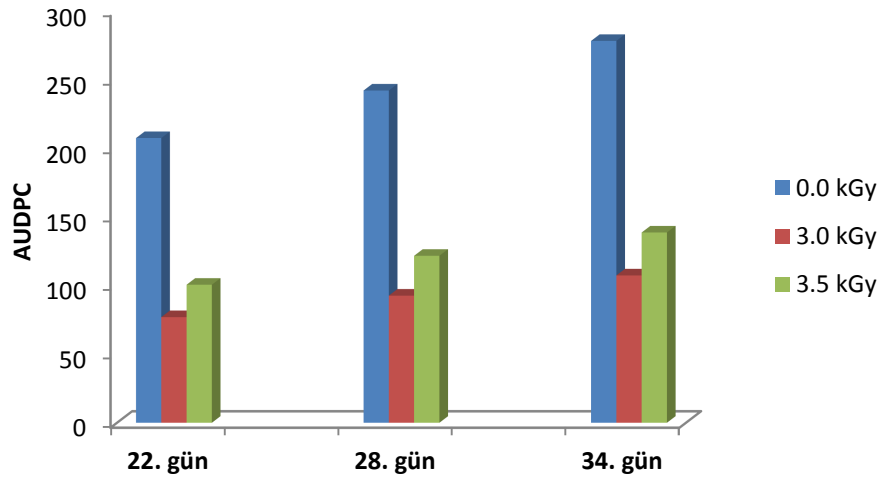
22=6 gün olarak iki gözlem arasındaki günlerin sayısıdır. Aynı işlemler 28-34 ve 34-40 zaman dilimleri için yapıldığında ve bu 3 değeri topladığında bu uygulama için toplam AUDPC değeri 282.90 olarak bulunmuştur.

Araştırmada AUDPC değerlendirmelerinde *de Capdeville et al.* [81] yöntemine paralel olarak bireysel uygulamaların gözlem bazında AUDPC hesaplamaları yapılmıştır. Bu anlamda *P. expansum* ile inokule edilmiş ve ışınlanmış elmalarda *P. expansum*'un gelişmesi üzerine ışınlamanın etkisi, AUDPC ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.16). Grafikte görüldüğü gibi en düşük AUDPC değeri her 3 gözlemde de 3.5 kGy'de bulunmuştur.



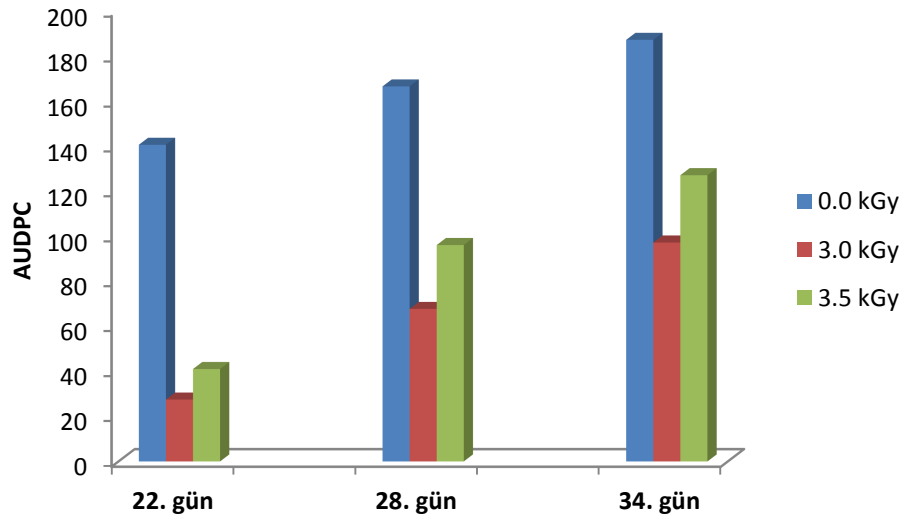
Şekil 3.16. Işınlamanın *P. expansum*'un AUDPC'si üzerine etkisi.

Benzeri şekilde SC+ışınlama uygulaması yapılmış elmalarda *P. expansum*'un gelişmesi üzerine uygulamanın etkisi değerlendirilmiştir. Şekil 3.17'de görüldüğü gibi AUDPC değerinde en fazla azalma her 3 gözlemde de 3.0 kGy'de bulunmuştur.



Şekil 3.17. Işınlama+SC uygulamasının *P. expansum*'un AUDPC'si üzerine etkisi.

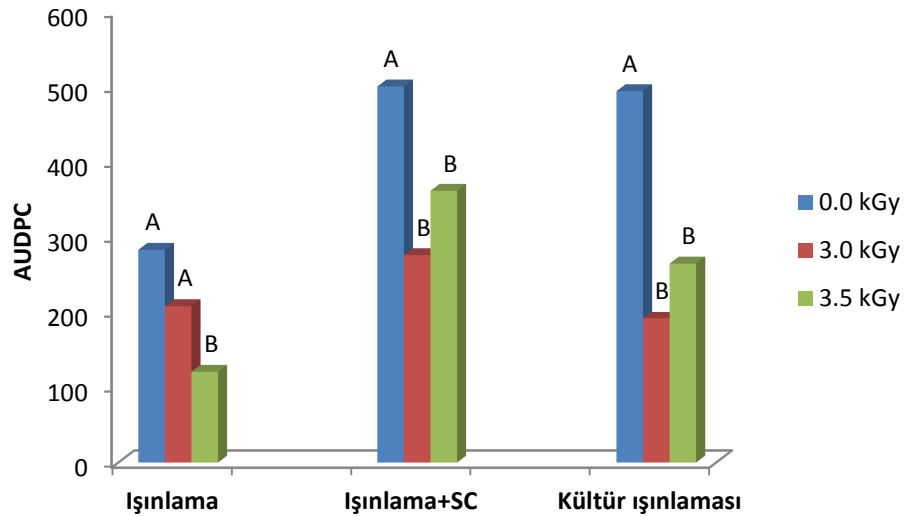
Işınlanmış *P. expansum* kültürlerin taze ortamlara aktarılması ve 3-4°C saklanması şeklinde yapılan in vitro çalışmasında ise *P. expansum*'un koloni gelişmesi üzerine ışınlamanın etkisi, AUDPC ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.18). Grafikte görüldüğü gibi her 3 gözlemde de AUDPC değerinde azalma, en fazla 3.0 kGy'de bulunmuştur.



Şekil 3.18. Kültür ışınlamanın (3-4°C saklama) *P. expansum*'un AUDPC'si üzerine etkisi.

Hastalık gelişimi eğrisinin altındaki alanın (AUDPC) hesaplamasında Palou *et al.*, [24] ise toplam AUDPC değerlerini kullanmışlardır. Çalışmamızda da ışınlanmış kültürlerin

3-4°C’de muhafaza edilmesi, ışınlama uygulaması ve ışınlama+sodyum karbonat kombine uygulaması” bölümlerinin dozlara ait elde edilen uygulama bazında toplam AUDPC değerleri hesaplanmış ve SPSS programı kullanılarak istatistiksel analize tabi tutulmuştur (Şekil 3.19). Grafiğin incelenmesinden, yukarıda “Bölüm 3.3.1”, “Bölüm 3.4.2” ve “Bölüm 3.4.3” de açıklanan sonuçlara paralel olarak, ışınlama uygulamasında 3.5 kGy, ışınlama+SC uygulamasında 3.0 kGy ve kültür ışınlamasında ise 3.0 kGy’nin AUDPC azalma oranları dikkati çekmektedir. Ancak, ışınlama+SC ve kültür ışınlamasında 3.0 ve 3.5 kGy arasındaki farklılık önemli çıkmamıştır. Bunun nedeni AUDPC değerinin somut bir değer olmayıp -% değerlendirmesi gibi- AUDPC azalma oranı şeklinde yorumlanabilir.



Şekil 3.19. Işınlama, ışınlama+SC ve kültür ışınlaması uygulamalarının *P. expansum*’un toplam AUDPC değerlerinin görünümü (Aynı harfi taşıyan değerler arasında %5 önem düzeyinde önemli fark yoktur).

4. BÖLÜM

TARTIŞMA - SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. Tartışma - Sonuç

Bu tez çalışması kapsamında elmalarda hasat sonrası hastalık etmeni olan *P. expansum*'un ışınlama+sodyum karbonat kombine uygulaması ile enfeksiyonunun engellenmesi olanakları araştırılmıştır.

Çalışmamızda ilk olarak *P. expansum* etmeni in vitro koşullarda 0.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 ve 4.0 kGy dozlarda ışınlanmış 3-4°C'de [66] ve 23±1°C'de inkübatörde saklanmıştır [77]. Bu uygulamanın sonucunda in vitro koşullarda 3-4°C'de 27. günden itibaren çürüme çapı %5 ve %1 önem düzeyinde istatistiksel analizlere göre diğer uygulamalardan farklı bulunmuştur. Aynı şekilde 23±1°C'de 9. günün ölçümlerine bakıldığında koloni çapı %5 düzeyinde diğer uygulamalardan farklı bulunmuştur. Bu farklılık %1 düzeyinde ise önemli bulunmamıştır. Bu veriler ışığında in vitro koşullarda uygun dozun 3.0 kGy olduğuna karar verilmiştir.

In-vivo koşullarda yapılan çalışmalarda ilk olarak SC uygulaması yapılmıştır. *P. expansum* inokule edilmiş meyveler yaklaşık iki saat sonra ızgaralı paslanmaz çelik sepetlere yerleştirilip 40°C'de (pH 11.3–11.5) %3.0'lük ve %3.5'luk SC içeren 22.5 litre saf suya 150 saniye daldırılmıştır. Palou *et al.* [24], mandarinlerde *Penicillium* çürüklüğü üzerine yaptığı araştırmalarının sonunda 50°C ye kadar ısıtılmış SC uygulamasının daha ümit var olabileceğini vurgulamışlardır. Başka bir denemede de elma uygulamasında Conway *et al.* [14] 38°C kadar ısıttıklarından, çalışmamızda bunun paralelinde SC solüsyonu 40°C ısıtarak uygulanmıştır. Ayrıca Palou *et al.* [24] SC uygulamasından sonra su ile durulamanın fungusun engellenmesinde etkinliğini azalttığını belirtmiştir. Bundan dolayı denememizde SC uygulamasından sonra yıkama yapılmamıştır. Buna paralel olarak Palou *et al.* [24] çalışmasında 7, 14 ve 21. günlerde

çürüme görülmesine karşın bu araştırmada elmalarda çürüme 27. günden itibaren başlamıştır. SC uygulamasında %3.0 ve %3.5 oranında önemli bir fark bulunmamıştır. Ancak çoğu literatürde SC uygulaması %3.0'lük oranda (Palou *et al.*, 2007) yapıldığı için denemenin ışınlama+SC kombine uygulamasında %3.0 oranında uygulama yapılmıştır. Öte yandan SC uygulamasından sonra durulama yapılmazsa meyvenin organoleptik özelliklerinde olumsuz etkiler görüldüğü de literatürde kaydedilmektedir. Buradan da patojeni engellemek için gerekli olan uygulamanın, aynı zamanda meyvenin organoleptik özelliklerinde olumsuz etki yapmaması gerekliliği ortaya çıkmaktadır [28].

Çalışmamızda sadece ışınlama ile yapılan denemede, in vitro koşullarda etkili bulunan gamma radyasyon dozu ve üzerindeki iki farklı doz uygulanmıştır. Yani 3.0, 3.5 ve 4.0 kGy dozlar uygulanmıştır. Kontrollerde çürüme 7. günde başlamıştır. 16. günden itibaren alınan ölçümlerde 3.5 kGy uygulaması -iki istisna olmak üzere- %5.0 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bu sonuçlara göre denemenin sonucunda etkili doz 3.5 kGy olarak karar verilmiştir. Birçok araştırmada, konukçular (in-vivo) için gereken radyasyon dozlarının kültür ortamları (in-vitro) için gereken dozlardan daha fazla olduğu belirtilmiştir [67]. Araştırmamızın sonucunda da konukçudaki uygun doz kültür ortamındakinden yüksek bulunmuştur.

Kombine uygulamalarda genel amaç, birden fazla uygulamanın dozlarının düşürülerek uygulanması ve bu şekilde tekli uygulamalarda oluşabilecek olumsuz etkilerin azaltılmasıdır [39, 67]. Bu çalışmada ışınlama+sodyum karbonat kombine uygulamasında örneklerle SC+2.5 kGy, SC+ 3.0 kGy ve SC+3.5 kGy uygulamaları yapılmış ve 3-4°C'de 46 gün muhafaza edilmiştir. 22. günden itibaren alınan ölçümlerde SC+3.0 kGy uygulaması -bir istisna olmak üzere- %5.0 düzeyinde önemli bulunmuştur. Çalışmanın bu bölümünde etkili uygulama SC+3.0 kGy uygulaması olmuştur.

Denemenin sonunda en uygun uygulama olarak bulunan, SC+3.0 kGy uygulaması yapılmış örneklerden reizolasyon yapılarak *P. expansum*'un kültürel özelliklerindeki değişiklikler ve patojenisite testi ile hastalandırma yeteneğindeki değişiklikler araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar ışınlama+SC uygulamasının *P. expansum*'da koloni çaplarında, kültürel özelliklerinde ve hastalandırma yeteneğinde kalıcı bir değişiklik yapmadığını göstermektedir. Bu sonuç, ışınlamanın etkisinin fungusu tamamen inaktive etmek şeklinde olmayıp, enfeksiyonu belirli derecelerde geciktirmek olduğunu belirten çoğu araştırmacıların bulgularına paraleldir [41, 62, 67].

Her ne kadar çalışmanın amaçları arasında olmamakla beraber, bu tür çalışmalarda elmaların olgunluk derecelerinin de etkili olduğu gözlemlenmiştir. Işınlama uygulamasında hasat tarihine yakın elmalar, daha az olgun olanlar kullanılmıştır. Işınlama+SC uygulamasında ise daha olgun elmalar (birinci uygulamadan yaklaşık iki ay sonra) kullanılmıştır. Bundan dolayı her iki uygulamanın kontrol örneklerinde olgunluk derecesi fazla olan, ışınlama+SC uygulamasında çürüme çapı gelişimi daha hızlı olmuştur. Bu olgunluk farklılığından dolayıdır ki ışınlama ve ışınlama+SC kombine uygulaması birbirinden bağımsız olacak şekilde dizayn edilmiştir. Yani sadece ışınlama uygulamasında etkili bulunan 3.5 kGy ve bir altı doz kullanılmamış, aynı zamanda 2.5 kGy’de meyve olgunluk derecesine göre etkili olabileceği düşünülerek uygulanmıştır.

Verilerin AUDPC değerlendirilmesinde ise Palou *et al.* [24] ve de Capdeville *et al.* [81] bulgularına paralel çıktığı gibi, çalışmamızın önceki bölümlerinde yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre uygulamaların arasındaki farklılık aynen gözlemlenmiştir.

Yapılan çalışmanın sonucunda;

- Bu denemenin sonucunda uygulamaların elmanın farklı olgunluk dönemlerinde yapılmış olması uygulamaların etki derecesini değiştirdiğini göstermiştir.
- Çalışmamızda sıcak su uygulanmış kontrol örneklerin (ışınlama+SC örneklerinin kontrolü) de çürüme 27. günde başlamış hiçbir muamele görmemiş kontrol örneklerinde (ışınlanan örneklerin kontrolü) çürüme 7. günde başlamıştır. Bu da sıcak su muamelesinin fungusun gelişmesini geciktirici etkisinin olduğunu ortaya koymuştur.
- Ayrıca araştırmamız sonucunda 3-4°C de muhafaza 23°C de muhafazadan daha etkili bulunmuştur. Sadece ışınlama uygulamasında kullanılan örneklerin bir kısmı 46. gün sonunda 3-4°C’den alınıp 23°C’ye bırakılmıştır. Bunun sonucunda 3-4°C’ye göre fungal gelişmenin daha hızlı olduğu gözlemlenmiştir.

Özet olarak bu çalışma sonunda elmalarda hasat sonu çürüklüğü oluşturan *P. expansum*’un enfeksiyonunun geciktirilmesinde, ışınlama uygulamasının SC uygulaması ile kombine edilmesi, kimyasal uygulamalara alternatif bir yöntem olabileceği ortaya çıkmıştır.

4.2. Öneriler

Araştırmanın sonunda yapılabilecek öneriler şöyle sıralanabilir;

- Çalışmada *P. expansum*'un tamamen engellenemeyip, enfeksiyonu belli bir derece geciktirilmesi, elmaların tüketilme periyodunu artırmaktadır.
- Araştırma amaçlı ışınlama kaynağının hacmi küçük olduğundan, daha fazla faktör ve tekerrürlü denemelerin kurulabilmesi açısından gerekli radyasyon dozları hesaplanarak ticari amaçlı ^{60}Co kaynağı kullanılabilir.
- Her ne kadar çalışmanın hedefi *P. expansum*'un engellenmesi olsa da sonuçta elmaların tüketilebilirliği de önemlidir. Bu anlamda bu tür çalışmalarda uygun bulunan doz yada uygulamanın, organoleptik özellik testleri ile konfirme edilmesi veya birlikte yürütülmesi daha uygun olacaktır.
- Araştırmada meyvelerin olgunluk dereceleri patojenin enfeksiyonu açısından önemlidir. Olgunlaştıkça enfeksiyona hassas olmaktadır. Bu anlamda tüm hedeflenen denemeler tek bir dönemde hasat edilen meyvelerden yapılmalıdır. Yine burada da ışınlama kaynağının kapasite vb özellikleri dominanttır.
- Bu tez çalışmasında da belirtildiği üzere ışınlama tüm dünyada değişik amaçlarla kullanılmaktadır. Ülkemizde de IAEA, FAO ve WHO'nun öneri ve direktifleri doğrultusunda Gıda Işınlama Yönetmeliği vardır. Bu yönergelerde belirtildiği şekliyle ışınlanmış ürünlerin tüketilmesinde bir sakınca yoktur.

KAYNAKLAR

1. Westwood, M. N., 1995, Temperate-Zone pomology physiology and culture, Third Edition. Timber Press. Portland, Oregon.
2. Anonim, 2012. Elma Yetiştiriciliği. [http://www.tarim.gov.tr/uretim/Bitkisel_Uretim, Elma_Yetistirciligi.html](http://www.tarim.gov.tr/uretim/Bitkisel_Uretim,Elma_Yetistirciligi.html). (Erişim tarihi: Haziran 2012).
3. Anonim, 2002. Tarımda elmanın yeri. <http://www.ito.org.tr/Dokuman/Sektor/1-32.pdf>. (Erişim tarihi: 23.07.2012).
4. Eren Ş., Kiraz, R., Tosun, F., Doğru, H., 2012. Karaman ili elma üretimi, yapılan çalışmalar, sorunlar ve çözüm önerileri. http://www.karamangth.gov.tr/index.php?option=com_k2&view=item&id=255:elma-ueretimi-yaplan-calsmalar-sorunlar-ve-coezuem-oenerileri&Itemid=258. (Erişim tarihi: 23.07.2012).
5. TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), 2011a. Türkiye İstatistik Kurumu Başkanlığı Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=10780>, (Erişim tarihi: 16.07.2012).
6. TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), 2011b. İstatistiklerle Türkiye.
7. Yılmaz, K. U., Uzun, A., 2011. Kayseri İli'nin meyvecilik potansiyeli açısından analizi. **Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi** 27(3):228-233.
8. Anonim, 2011b. Kayseri'de yetiştirilen stratejik ürünler sorunları ve çözüm yolları "Eylem planı". Kayseri İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü. <http://kayseritarim.gov.tr/user/files/kitapcik.pdf>. (Erişim tarihi: 23.07.2012).
9. Anonim, 2010. Kayseri İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü ile yapılan görüşmeler sonucu elde edilen bilgidir. (Erişim tarihi: 23.11.2011).
10. Klein, J. D., Lurie, S., 1991. Postharvest heat treatment and fruit quality. **Postharvest News Information**. 2:15-19.
11. Benli, M., 2003. Hasat sonrası fungal hastalıklarla kimyasal ve biyolojik mücadele. **Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi**, 01 (08), 1-25.

12. Horuz, S., 2009. Turunçgillerde ekşi çürüklük etmeni (*Geotrichum citri-aurantii*)' ye bazı fungusitlerin etkililikleri üzerinde araştırmalar. Yüksek lisans tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
13. Jones, A. L., Aldwinckle, H. S., 1990. "Compendium of apple and pear diseases" APS Press, USA, 100.
14. Conway, W. S., Leverentz, B., Janisiewicz, W. F., Saftner, R. A., Camp, M. J., 2005. Improving biocontrol using antagonist mixtures with heat and/or sodium bicarbonate to control postharvest decay of apple fruit **Postharvest Biology Technology**, **36**: 235–244.
15. Geisen, R., 1997. A PCR-method for the detection of potential aflatoxinogenic fungi. In: proceedings of the Fifth European *Fusarium* Seminar. Szeged, Hungary, 29 August -5 September, 1997 (Ed. Mesterhazy, A.) Cereal Research Communications, 25 (3 / 1): 241–244.
16. Harris, B., 1998. The battle to minimise losses due to mycotoxins. **World Poultry Magazine on Production Processing & Marketing**, **14** (4): 52-54.
17. Braghini, R., Sucupira, M., Rocha, L. O., Reis, T. A., Aquino S., Corre^a, B., 2009. Effects of gamma radiation on the growth of *A. alternata* and on the production of alternariol and alternariolmonomethyl ether in sunflower seeds. **Food Microbiologie**. **26**, 927–931.
18. Margosan, D. A., Smilanick, J. L., Henson, D. J., 1997. Combination of hot water and ethanol to control postharvest decay of peaches and nectarines. **Plant Disease**. **81**: 1405–1409.
19. Anonymous, 2011a. Hasat sonrası kayıplar. <http://www.bahcesel.com/forumsel/taze-meyve-ve-sebzelerin-muhafazasi/20385-taze-meyve-ve-sebzelerde-hasat-sonrasi/> (Erişim tarihi: Mayıs 2011).
20. Biondi, G., Brigati, S., Foschi, F., 1979. "Penicillium control in citrus fruits after harvesting" XV International congress of refrigeration., Italy, 1-9.
21. Huang, S., Zhu, G., Qin, L., Zhou, X., Huang, F., Lİ, Q., Yan, W., Huang, H., Cen, Z., Fu, G., Hu, C., 2012. Enhacement of efficacy in controlling postharvest decays and extending shelf life of mangoes by combined pre- and

- post- harvest chemical applications. **International Journal of Agriculture and Biology**, **14**(2):176-182.
22. Conway, W. S., Leverentz, B., Janisiewicz, W. F., Blodgett, A. B., Saftner, R. A., Camp, M. J., 2004. Integrating heat treatment, biocontrol and sodium bicarbonate to reduce postharvest decay of apple caused by *Colletotrichum acutatum* and *P. expansum*. **Postharvest Biology Technology**. **34**: 11–20.
 23. Cia, P., Pascholati, S. F., Benato, E. A., Camili, E. C., Santos, C. A., 2007. Effects of gamma and UV-C irradiation on the postharvest control of papaya anthracnose. **Postharvest Biology Technology**. **43**: 366–373.
 24. Palou, L., Marcilla, A., Rojas-Argudo, C., Alonso, M., Jacas, J. A., Angel del Rio, M., 2007. Effects of X-ray irradiation and sodium carbonate treatments on postharvest *Penicillium* decay and quality attributes of clementine mandarins. **Postharvest Biology and Technology** **46**: 252–261.
 25. Karabulut, O. A., Baykal, N., 2004. Integrated control of postharvest diseases of peaches with a yeast antagonist, hot water and modified atmosphere packaging. **Crop Protection** **23**: 431–435.
 26. Çelebi, S., 2007. İyonlaştırıcı radyasyonun etkiselliği ve ışınlamanın bir gıda işleme ve güvenliği tekniği olarak kullanımı. **Vegapaks**, www.vegapaks.com. (Erişim tarihi: 08.07.2012).
 27. Olson, D. G., 1998. Irradition of food. **Food Technol.**, **52** (1): 56-62.
 28. TAEK (Türkiye Atom Enerjisi Kurumu), 2001. Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Ankara Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi Gıda Işınlama Kurs Notları. 26 Şubat-1 Mart, Ankara.
 29. Anonymous, 2000. International atomic energy agency facts about food irradiation. <http://www.iaea.org/worldatom/inforesource/other/food/q&a.html>. (Erişim tarihi 12.06.2012).
 30. Urbain, W. M., 1986. Food Irradiation. Orlando, FL: Academic Press Inc;16.
 31. Brennand, C.P., 1995. Food irradiation the radiation information network. **Idaho State University**, <http://www.physics.isu.edu/radinf/food.htm> (Erişim tarihi:15.05.2011).
 32. Anonymous, 1999. Gıda ışınlama yönetmeliği. Resmi gazete 06.11.1999, 23868.

33. CAC (Codex Alimentarius Commission), 2003. Codex general standard for irradiated foods, Codex Stan 106-1983, Rev. 1-2003.
34. Farkas, J., 2006. Irradiation for better foods. **Trends in Food Science & Technology**, **17**: 148-152.
35. Shea, K. M., 2000. Technical report irradiation of food. *pediatrics*, 106(6), 1505-1510.
36. WHO (World Health Organization), 1981. Wholesomeness of irradiated food, WHO Technical Reports Series, 659 (pp.34) Geneva: World Health Organisation.
37. Anonymous, 1987. Int. Atomic Energy Agency, **Food Irradiation Newsletter**. **11**(2):6.
38. WHO (World Health Organization), 1999. High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Study Group, Technical Report Series N_890. Geneva, Switzerland: WHO.
39. Tiryaki, O., Aydın, G., Gürer, M., 1994. Post-harvest disease control of apple, quince, onion and peach, with radiation treatment, **The Journal of Turkish Phytopathology**, **23** (3): 143-152.
40. Korel, F., Orman, S., 2005. Gıda ışınlaması uygulamaları ve tüketicinin ışınlanmış gıdaya bakış açısı. **Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi .Dergisi**, **9** (2):19-27.
41. Matthee, F. N., Potgieter, L., 1965. (Abstr.), Nuclear Science Abstracts **10** (7): 11635.
42. Karabulut, O. A., Lurie, S., Droby, S., 2001. Evaluation of the use of sodium bicarbonate, potassium sorbate and yeast antagonists for decreasing postharvest decay of sweet cherries. **Postharvest Biology and Technology**, **23**, 233-236.
43. Anonymous, 1977. Laboratory training manual on the use of isotopes and radiation in entomology. Seci Edition. **Technical Reports Series**. No:61. IAEA, Vienna.

44. Josephan, E. S., Peterson, M. S., 1981. Preservation of food by iyonizing radiation. (Glossary of Terms) CRC Press. Boca Raton Florida.
45. Anonymous, 1991. Laboratory training manual on the use of nuclear and associated techniques in pesticide research. Seci Edition. **Technical Reports Series**. No:329, p. 93, IAEA, Vienna.
46. Lagunas-Solar, M.C., 1995. Radiation processing of foods: An overview of scientific principles and current status. **Journal of Food Protection.**, **58**, 2, 186-192.
47. Lannunziata, M. F., 1979. Radiotracers in agricultural chemistry. Academic Press, London, New York, San Fransisko.
48. Vose, P. B. , 1980. Introduction to nuclear techniques in agronomy and plant biology. Pergamon Press, 112-122.
49. Avundukluoğlu, M. A., 1985. Nükleer fiziğin temel kavramları ve radyasyon birimleri. Radyasyondan korunma kurs notları. (8-12 Nisan), 1. TAEK, Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi.
50. Özalpan, A., 2001. Temel radyobiyojoloji., Haliç Üniversitesi Yayınları, No: 3001, 26-21.
51. TAEK (Türkiye Atom Enerjisi Kurumu), 1985. Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi Radyasyondan Korunma Kurs Notu. 8-12 Nisan, Ankara.
52. Kabak, B., Var, I., 2005. Işınlamanın küf gelişimi ve mikotoksin kontrolü üzerine etkisi, **Gıda**, **30** (1): 197-201.
53. El-Bazza Zeinab, E. M., Hala, A. F., El-Fouly Mohie, E. D. Z., El-Tablawy Seham, Y. M., 2001. Inhibitory effect of gamma radiation and Nigella sativa seeds oil on growth, spore germination and toxin production of fungi. **Radiation Physics and Chemistry**, **60**: 181-189.
54. Aziz, N. H., Moussa, L. A. A., 2002. Influence of gamma-radiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxin in fruit. **Food Control**, **13**: 281-288.
55. Bhushan, B., Thomas, P., 1998. Quality of apples following gamma irradiation and cold storage. **International Journal of Food Science**, **49**, 485-492.

56. Darrasa, A. I., Joyceb, D. C., Terrya, L. A., 2010. Postharvest UV-C irradiation on cut *Freesia hybrida* L. inflorescences suppresses petal specking caused by *Botrytis cinerea*, **Postharvest Biology and Technology** **55**: 186–188.
57. Spalding, D. H., Reeder, W. F., 1985. Effect of hot water and gamma radiation on postharvest decay of grapefruit, **Proc. Fla. State Hort. Soc.** **98**: 207-208. 1985.
58. Abdellaoui, S., Lacroix, M., Jobin, M., Boubekri, C., Gagnon, M., 1995. Effect of gamma irradiation combined with hot water treatment on the physico-chemical, nutritional and organoleptic qualities of clementines. **International Journal of Food Science & Technology**. **15**: 217-235.
59. Akbudak, B., Karabulut, Ö. A., 2002. Üzüm muhafazasında Gri Küf’den (*Botrytis cinerea* Pers:Fr.) kaynaklanan kalite kaybı ve çürümelerin Ultravioleto-C (UV-C) ışık uygulamaları ile önlenmesi üzerine bir araştırma. **Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, **16** (2): 35-46.
60. Lu, J. Y., Lukombo, S. M., Stevens, C., Khan, V. A., Wilson, C. L., Pusey, P. L., Chaultz, E., 1993. Low dose UV and gamma radiation on storage rot and physicochemical changes in peaches. **Journal of Food Quality's**. **16**: 301–309.
61. Kinay, P., Mansour, M. F., Mlikota Gabler, F., Margosan, D. A., Smilanick, J. L., 2007. Characterization of fungicide-resistant isolates of *Penicillium digitatum* collected in California. **Crop Protection** **26**: 647–656.
62. Tiryaki, O., Maden, S., 1991. *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* ve *Rhizopus nigricans* ile enfekteli Ankara armutlarında gamma radyasyonunu ile standart depolama koşullarında çürümenin engellenmesi. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 7-11 Ekim, İzmir.
63. Jarrett, R. D., 1982. Isotope radiation sources. In: Josephson, E.S., Peterson, M.S.(Eds) Preservation of Food by Ionizing Radiation. CRC Press, Boca raton, pp 137–163.
64. Smith, J. S., Pillai, S., 2004. Irradiation and food safety. **Food Technology**. **58** (11): 48-55.

65. Monk, J. D., Beuchat L. R., Doyle, M. P., 1995. Irradiation inactivation of foodborne microorganisms. **Journal of Food Protection**, **58** (2): 197-208
66. Tiryaki, O., 1990. Inhibition of *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, and *Alternaria tenuissima*, which were isolated from Ankara pears, by gamma irradiation **The Journal of Turkish Phytopath.**, **19** (3): 133-140.
67. Beraha, L., Ramsey, G. B., Smith, M. A., Wright, W. R., 1960. Gamma radiation dose response some decay pathogens. **Phytopathologia**. **50**: 474-476.
68. Beraha, L., 1964. Influence of gamma radiation dose rate on decay of citrus, pears, peaches on *Penicillium italicum* and *Botrytis cinerea* in-vitro. **Phytopathology**. **54** (7):755-759.
69. Seçer, E., Sanbay, M. U., Bayram, G., 2005. Gıdalarda mikroflora ve mikotoksinlere ışınlamanın etkisi. II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, 22-24 Mayıs. İTÜ Kimya ve Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Maslak, İstanbul.
70. Smilanick, J. L., Margosan, D. A., Mlikota, F., Usall, J., Michael, I. F., 1999. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of commercial postharvest practices on their efficacy. **Plant Disease**, **83**: 139–145.
71. Roy, M. K., 1975. Radiation heat and chemicals combines in the extension of shelf life of apples infected with blue mold rot (*Penicilium expansum*), **Plant Disease. Rep.** **59**(1): 61-64.
72. Sommer, N. F., Fortlage, R. T., Buckeley M. P., Maxie, E. C., 1967. Radiation heat synergism for inactivation of market disease fungi of stone fruits. **Phytopathology**, **57**: 428-433.
73. Georgiev, I., 1983. The effect of gamma irradiation in conjunction with the Fungicide, Captan on suppressing Gray rot during storage of cv “Bolgar” grapes. *Horticultural and Viticultural Science*, 20: 6.
74. Shirzad, B. M., Langarek, D. I., 1984. Gamma radiation technological feasibility of increasing shelf-life of table grapes. *Acta Alimentaria*. 13: 47-64.
75. Grant, I. R., Patterson, M. F., 1991. Effect of irradiation and modified atmosphere packaging on the microbiological and sensory quality of pork stored at refrigeration

- temperatures. **International Journal of Food Science & Technology** 26(5): 507–519.
76. D'hallewin, G. D., Arras, G., Venditti, T., Rodov, V., Ben-Yehoshua, S., 2005. Combination of ultraviolet-C irradiation and biocontrol treatments to control decay caused by *Penicillium digitatum* in 'Washington Navel' orange fruit. *IshsActaHorticulturae* 682:V **International Postharvest Symposium**, 2007-2012.
 77. Seçer, E., İç, E., 2003. Kuru üzümelerde küflenmeye neden olan *Asperillus niger* van *tieghem*'e gama ışınlamasının etkisi. VIII. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, Türkiye Atom Enerjisi Kurumu-Erciyes Üniversitesi 15-17 Ekim, Kayseri.
 78. Palou, L., Smilanick, J. L., Usall, J., Vinas, I., 2001. Control of postharvest blue and green molds of orange by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. **Plant Disease** 85 (4): 371-376.
 79. Palou, L., Usall, J., Munoz, J., Smilanick J. L., Vinas, I., 2002. Hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate for the control of postharvest green and blue molds of clementine mandarins. **Postharvest Biology and Technology**. 24: 93–96.
 80. Altınok H. H., Can C., 2010. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* isolates from eggplant in Turkey by pathogenicity. VCG and RAPD analysis, **Phytoparasitica**. 38: 149-157.
 81. de Capdeville, G., Wilson, C. L., Beer, S. V., Aist, J. R., 2002. Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvested 'Red Delicious' apple fruit. **Phytopathology** 92, 900–908.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Cemile TEMUR

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 02 Temmuz 1986, Develi/Kayseri

Medeni Durumu: Bekâr

Tel: 05374778057

email: cemiletemur@hotmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü,
38039 Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ERÜ Fen Bilimler Enstitüsü	2012
Lisans	Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü	2009
Lise	Develi Anadolu Lisesi	2004

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2011- Halen	Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi	Araştırma Görevlisi

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

Science Citation Index-Expanded(SCI-E) kapsamında OLAN dergilerdeki makaleler

1. **Temur, C.,** Tiryaki, O., Uzun, O. and Basaran, M., 2012 Adaptation and validation of QuEChERS method for the analysis of trifluralin in wind-eroded soil, *J.Environ. Sci.and Health, Part B.* 47 (9):842-850.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında (*Proceedings*) Basılan Bildiriler

1. Tiryaki, O., **Temur, C.,** 2010. The use of ¹⁴C-labelled compound for the uncertainty measurement in pesticide residue analysis”. MGPR and GRIFA 2010, Pesticides in the Mediterranean Area. 11-12 November, Catania, Italy., Book of Abstracts p: 36.
2. Tiryaki, O., **Temur, C.,** 2011. Quality Systems for Pesticide Residue Analysis: ISO 17025 and OECD-GLP 7th MGPR International Symposium “Paolo Cabras” Pesticides in Food and the Environment in Mediterranean Countries, November 9-11, ,Thessaloniki, Greece. Program and Abstracts. p: 65.
3. Tiryaki, O., **Temur, C.,** 2012. Trifluralin Analysis in Wind-Eroded Soils by QuEChERS Method. “, 9th European Pesticide Residue Workshop-EPRW 25-29 June, Vienna, Austria, Fmal Programme & Book of Abstracts p: 322.

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

Science Citation Index-Expanded(SCI-E) kapsamında OLMAYAN dergilerdeki makaleler:

1. Tiryaki, O., **Temur, C.,** 2010. The Fate of Pesticide in the Environment. Journal of Biological and Environmental Sciences, 4(10), 29-38.
2. Tiryaki, O., Seçer, E., **Temur, C.,** 2011. Yemlerde Mikotoksin Oluşumu, Toksisiteleri ve Mikotoksin Kalıntı Analizleri, Anadolu Dergisi, 21(1): 44-58.
3. Tiryaki, O., **Temur, C.,** 2012. Pestisit Kalıntı Analizlerinde Kalite Sistemleri: ISO 17025 ve OECD-GLP. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi.* Yayımlanmasına karar verilmiştir.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

1. Tiryaki, O., Seçer, E., **Temur, C.**, 2010. Yemlerde mikotoksin kalıntı analizleri, Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü ve Bilimsel Tavukçuluk Derneği, Kümes Hayvanları Kongresi, 07-09 Ekim 2010 Kayseri, Bildiri Özetleri: 44.
2. Tiryaki, O., **Temur, C.**, 2011. Tarım İlaçları ve Gıda Güvenliği (Pesticides and Food Safety), Uluslararası Katılımlı 1.Ulusal Ali Numan Kırac Tarım Kongresi,' Osmangazi Üniversitesi, Kongre ve Kültür Merkezi, 27-30 Nisan 2011 Eskişehir, Bildiriler/Proceedings, Cilt (Volume) 2:1031-1042.