

**HASAT SONRASINDA SOĞANDA (*Allium  
cepa* L.) *Aspergillus niger* ve *Fusarium  
oxysporum* f. sp. *cepae* ÜZERİNE BAZI  
ANTAGONİST FUNGUSLARIN ETKİSİ**

**Fulya AKAN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Nuray ÖZER**

**2009**

T.C.

NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HASAT SONRASINDA SOĞANDA (*Allium cepa* L.) *Aspergillus niger* ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* ÜZERİNE BAZI ANTAGONİST FUNGUSLARIN ETKİSİ

Fulya AKAN

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF. DR. NURAY ÖZER

TEKİRDAĞ-2009

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Nuray ÖZER danışmanlığında, Fulya AKAN tarafından hazırlanan bu çalışma 13.02.2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Bitki Koruma. Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Nuray ÖZER

*İmza :*

Üye : Prof. Dr. Levent ARIN

*İmza :*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Arzu COŞKUNTUNA

*İmza :*

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU

**Enstitü Müdürü**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	v
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>4</b>
2.1. Soğan Yumrularında <i>Aspergillus niger</i> 'in Varlığı ve Etmenin Kontrolü ile İlgili Çalışmalar .....	4
2.2. Soğan Yumrularında <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> 'nin Varlığı ve Etmenin Kontrolü ile İlgili Çalışmalar.....	5
2.3. Antagonist Seçimine Yönelik Yöntem Çalışmaları .....	6
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>8</b>
3.1. Materyal .....	8
3. 2. Yöntem.....	8
3.2.1. Patojen fungusların geliştirilmesi.....	8
3.2.2. Patojen ve antagonist funguslarla elma meyveleri ve soğanların inokulasyonu .....	9
3.2.3. Hastalık değerlendirmesi.....	10
3.3. Deneme Deseni ve İstatistik Değerlendirme .....	10
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>13</b>
4.1. Patojen Fungusların Yaralanmış Elma Meyvesi ve Soğanda Oluşturdukları Enfeksiyon Tipleri ..	13
4.2. Antagonist Fungusların Elmada <i>A. niger</i> Enfeksiyonuna Etkisi .....	16
4.2.1 Antagonist fungusların elmada <i>A. niger</i> 'in oluşturduğu lezyon çapına etkisi .....	16
4.2.2. Antagonist fungusların elmada <i>A. niger</i> 'in kolonizasyonu üzerine etkisi .....	18
4.2.3. Antagonist fungusların soğanda <i>A. niger</i> 'in kolonizasyonu üzerine etkisi.....	21
4.3. Antagonist Fungusların Soğanda <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> 'nin Kolonizasyonu Üzerine Etkisi ...	23
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>25</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>28</b>
ÖZGEÇMİŞ .....	31

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

## HASAT SONRASINDA SOĞANDA (*Allium cepa* L.) *Aspergillus niger* ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* ÜZERİNE BAZI ANTAGONİST FUNGUSLARIN ETKİSİ

Fulya AKAN

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuray ÖZER

Bu çalışmada yemeklik soğanda (*Allium cepa* L.) çürümeye neden olan *Aspergillus niger* van Tieghem ve *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *cepae* (Hans) Synder&Hans üzerine bazı antagonist fungusların etkileri belirlenmiştir. *Trichoderma* sp. 'ne ait iki izolat (TRIC3 ve TRIC8) her iki patojenin kontrolü için, *Penicillium* sp. (PEN15) ve *Aspergillus* sp. (ASP3)'ne ait birer izolat sırasıyla *A. niger* ve *F. oxysporum* f. sp. *cepae*'nin kontrolü için kullanılmıştır. Denemeler, patojenlerin oluşturduğu lezyon çapı ve yara kolonizasyon şiddeti gibi parametre ölçümlerine dayalı, antagonistlerin farklı iki konsantrasyonu ( $10^6$  and  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$ ) kullanılarak, yaralanmış elma meyvesi ve soğan yumrusu üzerinde gerçekleştirilmiştir. *A. niger* antagonist uygulaması yapılmamış elmalar (Kontrol) üzerinde lezyon oluşturmuş ve aynı zamanda kontrol elma meyvesi ve soğan yumrularındaki yaraları kolonize etmiştir. *F. oxysporum* f. sp. *cepae* sadece soğanda açılan yarayı kolonize edebilmiş, kontrol elmada herhangi bir lezyon ya da kolonizasyona neden olamamıştır. *A. niger* üzerine antagonist fungusların etkinliği kullanılan test bitkileri ve ölçülen parametrelere göre farklılık göstermiştir. TRIC8 izolatının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonundaki uygulaması ölçülen tüm parametreler açısından *A. niger* ve *F. oxysporum* f. sp. *cepae* enfeksiyonunu en yüksek oranlarda azaltmıştır.

**Anahtar kelimeler:** biyolojik kontrol, soğan (*Allium cepa* L.), test yöntemi, yumru çürüklüğü, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*

2009, 31 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### THE EFFECTS OF SOME ANTAGONIST FUNGI ON *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* IN ONION (*Allium cepa* L.) AFTER HARVEST

Fulya AKAN

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Main Science Division of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Nuray ÖZER

In this study, the effects of some antagonist fungi on onion (*Allium cepa* L.) bulb rot caused by *Aspergillus niger* van Tieghem and *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *cepae* (Hans) Synder&Hans were determined. Two isolates (TRIC3 and TRIC8) of *Trichoderma* sp. were tested for control of both pathogens on onion bulbs. Additionally, one isolate of *Penicillium* sp. (PEN 15) and *Aspergillus* sp. (ASP3) were used for control of *A. niger* and *F. oxysporum* f. sp. *cepae*, respectively. Assays were performed on wounded apple fruits and onion bulbs using two different concentrations ( $10^6$  and  $10^7$  conidia ml<sup>-1</sup>) of antagonists, based on different parameters of measurement such as lesion diameter, wound colonization severity by pathogens. *A. niger* caused lesions untreated apple fruit with antagonists. The pathogen also colonized the wounds on untreated apple fruit and onion bulb. *F. oxysporum* f. sp. *cepae* was able to colonize only the wounds in onion and did not cause any lesion or colonization on untreated apple. The effectiveness of antagonistic fungi on *A. niger* differed to the test plants and parameters. The isolate TRIC8 at the concentration of  $10^7$  conidia ml<sup>-1</sup> reduced the infection by *A. niger* and *F. oxysporum* f. sp. *cepae* at the highest rate for all parameters.

**Key words:** biological control, onion (*Allium cepa* L.), test method, bulb rot, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*

2009, 31 pages

## **TEŞEKKÜR**

Tezimin planlanıp, yürütülmesinde ve tamamlanmasında emeği geen, desteğini esirgemeyip bana yol gösteren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Nuray ÖZER'e, tez çalışmalarım esnasında bana büyük kolaylıklar gösteren ve destek olan çalıştığım şirketteki müdürüm Sayın Kenan KUYUCUKLU'ya, maddi ve manevi anlamda her an yanımda bulunan sevgili aileme katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. İnokule edilmiş elma meyvesi ve soğan yumrularının inkübasyonu.....	9
Şekil 3.2. Elma meyvesinde açılan yaralarda <i>A. niger</i> kolonizasyonu için 0-3 skalası.....	11
Şekil 3.3. Soğanda açılan yaralarda <i>A. niger</i> kolonizasyonu için 0-3 skalası.....	12
Şekil 4.1. <i>A. niger</i> izolatu (AN6) ile inokule edilmiş elma meyvesindeki lezyon (Kontrol)	13
Şekil 4.2. <i>A. niger</i> izolatu (AN6) ile inokule edilmiş elma meyvesindeki yaranın kolonizasyonu (Kontrol) .....	14
Şekil 4.3. <i>A. niger</i> izolatu (AN6) ile inokule edilmiş soğanın görünümü (Kontrol) .....	14
Şekil 4.4. <i>A. niger</i> izolatu (AN6) ile inokule edilmiş soğanda yaranın kolonizasyonu (Kontrol) .....	15
Şekil 4.5. <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> izolatu (FOC6) ile inokule edilmiş elma meyvesinin görünümü (Kontrol) .....	15
Şekil 4.6. <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> izolatu (FOC6) ile inokule edilmiş soğanda yaranın kolonizasyonu (Kontrol) .....	16
Şekil 4.7. TRIC3 izolatının $10^7$ konidi $ml^{-1}$ konsantrasyonunda elmada <i>A. niger</i> 'in oluşturduğu lezyon gelişimine etkisi .....	17
Şekil 4.8. Elmada antagonist fungusların $10^6$ (A) ve $10^7$ (B) konidi $ml^{-1}$ konsantrasyonlarında <i>A. niger</i> 'in lezyon gelişimine etkinlikleri.....	18
Şekil 4.9. TRIC8 izolatının $10^7$ konidi $ml^{-1}$ konsantrasyonunda elmada <i>A. niger</i> 'in kolonizasyonuna etkisi.....	19
Şekil 4.10. Elmada antagonist fungusların $10^6$ (A) ve $10^7$ (B) konidi $ml^{-1}$ konsantrasyonlarında <i>A. niger</i> 'in kolonizasyonu üzerine etkinlikleri .....	20
Şekil 4.11. TRIC8 izolatının $10^7$ konidi $ml^{-1}$ konsantrasyonunda soğanda <i>A. niger</i> 'in kolonizasyonuna etkisi.....	22
Şekil 4.12. Soğanda antagonist fungusların $10^6$ (A) ve $10^7$ (B) konidi $ml^{-1}$ konsantrasyonlarında <i>A. niger</i> 'in kolonizasyonu üzerine etkinlikleri .....	22
Şekil 4.13. TRIC8 izolatının $10^7$ konidi $ml^{-1}$ konsantrasyonunda soğanda <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> kolonizasyonuna etkisi .....	24
Şekil 4.14. Soğanda antagonist fungusların $10^6$ (A) ve $10^7$ (B) konidi $ml^{-1}$ konsantrasyonlarında <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> 'nin kolonizasyonu üzerine etkinlikleri.....	24



## ÇİZELGELER DİZİNİ

- Çizelge 4.1. Elmada antagonist fungusların farklı konsantrasyonlarda uygulanmasından sonra *A. niger*'in oluşturduğu lezyon çapı..... 17
- Çizelge 4.2. Elmada antagonist fungusların farklı konsantrasyonlarda uygulanmasından sonra *A. niger*'in kolonizasyon şiddeti ..... 19
- Çizelge 4.3. Soğanda antagonist fungusların farklı konsantrasyonlarda uygulanmasından soğanda *A. niger* 'in kolonizasyon şiddeti..... 21
- Çizelge 4.4. Soğanda antagonist fungusların farklı konsantrasyonlarda uygulanmasından sonra *F. oxysporum f. sp. cepae* 'nin kolonizasyon şiddeti ..... 23

## 1. GİRİŞ

Yemeklik soğan (*Allium cepa* L.) insan beslenmesinde önemli bir yer tutmakta ayrıca geleneksel tıpta bazı hastalıkları önleyici ve tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Bu hastalıklar arasında; şeker hastalığı, soğuk algınlığı, damar sertliği, kardiovasküler hastalıklar ve sindirim sistemi bozuklukları bulunmaktadır (Bayraktar 1981).

Soğan kendine has, kolaylıkla ayırt edilebilen tat ve kokuya sahiptir. Bu koku allinaz enziminin, S-alk(en)yl cycteine sulfoxide bileşiğini hidrolize etmesinden dolayı açığa çıkan uçucu özellikteki sülfür bileşiklerinden ileri gelmektedir. 100 g soğanda; 1.2 g protein, 0.1 g yağ, 8.9 g şekerli maddeler, 8 g su, 12 g kuru madde, 30 mg kalsiyum ve 42 kalori bulunmaktadır.

Hemen hemen her ülkede yetiştirilen yemeklik soğan üretiminde Türkiye 66 000 ha alan ve 1 779 392 ton üretim ile dünyada üçüncü sırada yer almaktadır (Anonim 2007). Ülkemizde soğan üretimi en fazla Bursa, Amasya, Tekirdağ, Çorum, Gaziantep, Hatay ve Tokat illerinde yapılmaktadır. Tekirdağ ili soğan üretimi açısından önemli bir yere sahip olup, Trakya bölgesi içerisinde yemeklik soğan ekiliş alanı yönünden toplam 24 030 da ile ilk sırada yer almaktadır (Anonim 2005). Soğan üretimi tohum, fide ve arpacıklarla yapılmakta, ticari olarak, tohumla ve arpacıkla üretim tercih edilmektedir.

Yemeklik soğan ekiliş alanlarında hastalık etmenleri, zararlılar ve yabancı otlar ürün kayıplarına neden olmaktadır. Yemeklik soğanda hastalığa neden olan etmenler arasında *Aspergillus niger* van Tieghem ve *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. f. *sp.cepae* (Hans) Synder&Hans önemli yer tutmaktadır.

*A. niger* yemeklik soğanda siyah çürüklük hastalığına neden olmaktadır (Sumner 1995). Etmen tohum çimlenmesini, fide çıkışını ve tohumun canlılığını azaltmaktadır (Gupta ve ark. 1984, Tanaka 1991, Hayden ve Maude 1992; Özer ve Köycü 1997, El-Nagerabi ve Ahmed 2001). Bununla birlikte çıkış öncesi ve çıkış sonrası çökertene neden olmaktadır (Gupta ve Mehra 1984; Özer ve Köycü 1997). Enfekteli arpacıklardan gelişen soğan yumrularında yumrunun dış kabukları altında siyah küçük spor yığınlarından oluşan çizgiler şeklinde görülmektedir. Dış kabuklar kaldırıldığında spor yığınları kolayca fark edilmektedir. Fungus

gelişimini benzer şekilde yumru pullarında da sürdürmektedir. *A.niger* soğanda tohum kökenli bir patojen olup, bulaşık tohumlardan fide ve arpacık ve baş soğana taşınabilmektedir (Hayden ve Maude 1992; Hayden ve ark. 1994; Köycü ve Özer 1997). Ayrıca patojen depolanan yumrularda görülen ve yumru çürüklüğüne neden olan funguslar arasında ilk sırayı almaktadır (Hayden ve Maude 1997; Raju ve Naik 2006; Srinivasan ve Shanmugam 2006).

*F. oxysporum* f. sp. *cepae* ise dip çürüklüğü hastalığı etmenidir (Havey 1995). Etmen tohum verimini ve çimlenmeyi, 1000 dane ağırlığını azaltmakta, genç fidelerin çıkış öncesi ve çıkış sonrası ölümüne neden olmaktadır (Srivastava ve Qadri 1984, Barnoczkine-Stoilova 1986, Köycü ve Özer 1997). Şiddetli hallerde, yumru pulları da hastalanmakta ve yumrunun dış kısmında beyaz renkli miselyumlar kendini göstermektedir (Cramer 2000). Patojen bazen olgun yumruda latent enfeksiyona neden olabilmekte, bu durumda hasat döneminde yumru ağırlığı azalmaktadır (Abawi ve Lorbeer 1972). Patojen depolama süresince tüm yumru çürüyene kadar gelişimine devam edebilmektedir (Tahvonen 1981, Brayford 1996, Stadnik ve Dhingra 1996).

Her iki hastalık etmeninin kontrolü için genellikle fungusitlerle tohum ve arpacık uygulamaları önerilmektedir. Depolanan yumrulara ise, depo koşullarının uygun hale getirilmesinin yanı sıra, arpacıkların dikimden önce veya depoya konmadan önce fungusitlerle ilaçlanması, söz konusu hastalıkların azalmasına neden olabilmektedir. Bununla birlikte fungusit kalıntılarının insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin bilindiği günümüzde biyolojik savaşım önem kazanmış olup, yararlı mikroorganizmaların çok sayıda bitki hastalığına karşı etkinlikleri üzerinde araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir. Yemelik soğanın tüm gelişim dönemlerinde ve depolarda görülen siyah küf ve dip çürüklüğü hastalıklarına karşı, biyolojik savaşım olanaklarına yönelik az sayıda araştırma bulunmaktadır (Rajendran ve Ranganathan 1996; El-Nagerabi ve Ahmed 2001; Coşkuntuna ve Özer 2008). Bu çalışmalarda, daha ziyade, antagonist fungusların yemelik soğanın üretim döneminde siyah küf ve dip çürüklüğü hastalığına karşı etkileri incelenmiştir.

Biyolojik savaş uygulamalarında en önemli problemlerden birisi, lokal antagonistlerin kullanılmaması nedeniyle antagonist mikroorganizmaların çevreye adapte olamamasıdır. Bu nedenle ilimizde soğan üretimi yapılan topraklardan izole edilen ve *in vitro* çalışmalarda % 70'in üzerinde her iki patojenin gelişimini engelleyebildiği tespit edilmiş olan antagonist fungus türleri (Der 2007; Koç 2007) yemelik soğandaki hastalık etmenlerinin biyolojik kontrolü denemelerinde büyük bir potansiyel oluşturmaktadır. Biyolojik savaş

uygulamalarında diğer bir problem ise, uygulamada kullanılmak üzere aday antagonist mikroorganizmaların seçimi sırasında yapılan ön testlerin güvenilirliğidir.

Bu çalışmanın amacı, daha önce soğan üretim alanlarında tespit edilmiş *A. niger* ve *F. oxysporum* f. sp. *cepae* 'ya karşı yüksek engelleme oranına sahip bazı antagonist fungusların söz konusu patojenlerin oluşturduğu yumru çürüklüğüne etkinliğini farklı test bitkileri ve enfeksiyon parametreleri kullanarak belirlemek, bu bağlamda daha sonra yapılacak çalışmalar için uygun bir test yöntemi oluşturmaktır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Soğanda *Aspergillus niger*'in Varlığı ve Etmenin Kontrolü ile İlgili Çalışmalar

Sinha ve ark. (1994), hasattan sonra soğanlara gamma ışınları ve fungusitlerin birlikte uygulanması ile *A. niger* tarafından meydana getirilen siyah küf hastalığı nedeniyle meydana gelen kayıpların % 79 oranında azaldığını, ancak soğanın dış kabukları üzerinde yüksek konsantrasyonlarda fungusit kalıntılarının bulunduğunu bildirmektedirler.

Özer (1995) Tekirdağ ilinde tarlada üretilen ve depolanan soğanlarda *A. niger*'in varlığını tespit etmiş olup, patojenin önemli kayıplara neden olduğunu ve hastalığın depoda kontrolü için procymidone etkili maddeli fungusitle arpacık ilaçlaması ve hasattan 15 gün önce yaprak ilaçlaması uygulamalarının hasat sonrasında meydana gelen yumru çürüklüğünü azalttığını belirtmektedir.

Hayden ve Maude (1997), İngiltere'de siyah çürüklük hastalığına neden olan *A. niger*'in depolanmış soğanlarda en sık görülen patojenlerden biri olduğunu, hasat sonrası depolanmış soğanlarda patojenin gelişimi üzerine sıcaklık ve oransal nemin önemli rol oynadığını bildirmişlerdir.

El-Neshawy ve ark. (1999), Mısır 'da *Trichoderma* spp. (*T. harzianum* ve *T. koningii*)'ni içeren ticari preparatın *A. niger* ile enfekteli yumru sayısını azaltmadığını ancak patojenin soğan pullarında kontrole göre daha küçük çapta lezyon oluşturmasına neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Ko ve ark. (2002), Taiwan'da doğal koşullarda depolanan soğanlarda %21-99 arasındaki oranlarda meydana gelen kayıpların özellikle *A. niger* tarafından oluşturulduğunu ve vejetasyon dönemindeki fazla yağışların depolama süresince soğandaki hastalıkların artışına neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Abdel-Sater ve Eraky (2002), *A.niger*'in depolanan soğanlarda görülen ve depo fungusları olarak gruplandırılan türler arasında yer aldığını bildirmişlerdir.

Srinivasan ve Shanmugam (2006), soğanların depolanması sırasında görülen en önemli sorunlardan birisinin, soğanlarda *A. niger* tarafından oluşturulan siyah küf hastalığı olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar hastalığın depoda kontrolü için havalandırmanın büyük önem taşıdığını bildirmekte, ayrıca hasada yakın dönemde carbendazim etkili madde ile yaprak ilaçlaması ya da hasat sonrasında baş soğan ilaçlaması uygulamalarını önermektedirler.

Raju ve Naik (2006), *A. niger* ve *Penicillium digitatum*'un Hindistan'da depolanan yemeklik soğanlardan sıklıkla izole edildiğini bildirmektedir. Araştırmacılar hasada yakın dönemde carbendazim etkili maddeli fungusla yaprak ilaçlamasının, 15 gün süre ile depolanan soğanlarda *A.niger* ve *P. digitatum*'un oluşturduğu sırasıyla siyah küf ve yeşil çürüklük hastalıklarını önlediğini, depolama süresi uzadıkça fungusitlerin etkinliğinin azaldığını belirtmişlerdir.

## **2.2. Soğanlarda *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*'nin Varlığı ve Etmenin Kontrolü ile İlgili Çalışmalar**

Tahvonen (1981), Finlandiya'da *F. oxysporum*'un depolanan soğanların %1-10' unda çürüklüğe neden olduğunu, hastalığı önlemek amacıyla arpacıkların benomyl etkili maddeli fungusla ilaçlanması gerektiğini, ayrıca düşük depo sıcaklıklarının depo patojenlerinin gelişmesini önlemediğini sadece yavaşlattığını bildirmektedir.

Özer (1995) Tekirdağ'da tarlada ve depolanan soğanlarda *F. oxysporum*'un varlığını belirlemiş, kontrollü depolarda hastalığın düşük oranda görüldüğünü bildirmiştir.

Rajendran ve Ranganathan (1996), *in vitro* denemelerin yanı sıra, tarlada, saksıda gerçekleştirdikleri denemelerinde *Trichoderma viride* ve *Pseudomonas fluorescens* kombinasyonunun tohuma uygulanması ile *F. oxysporum* f. sp. *cepae* tarafından soğanlarda oluşturulan dip çürüklüğü hastalığını azalttığını belirlemişlerdir.

Abdel-Sater ve Eraky (2002), Mısır 'da *F. oxysporum*'un tarladan hasat edilen soğanlarda sıklıkla görüldüğünü bildirmektedirler.

Rafika ve ark. (2006) Tunus'da depolarda çürüyen soğanlardan en fazla izole edilen funguslar arasında *Fusarium oxysporum*'un da bulunduğunu, bunun yanı sıra kırmızı soğanların beyaz renkli olanlara göre daha uzun depolama ömrünün olduğunu belirtmişlerdir.

Coşkuntuna ve Özer (2008), *Trichoderma harzianum* içerikli bir ticari biyolojik preparatın (Sim ®Derma ) arpacıklara uygulanması ile patojenle bulaşık topraklarda soğan çürüklüğü hastalığının azaldığını, ayrıca baş soğan çapı ve ağırlığının arttığını belirlemişlerdir.

### 2.3. Antagonist Seçimine Yönelik Yöntem Çalışmaları

Lima ve ark. (1997), çileklerde depo çürüklüklerini önlemek amacıyla yaptıkları biyolojik kontrol çalışmalarında antagonist izolatların seçiminde ön testleri üzüm tanesi, çilek ve kivi meyveleri üzerinde gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar meyveler üzerinde 2 mm genişliğinde ve 3 mm derinliğinde yaralar açarak, antagonistlerin  $5 \times 10^7$ - $10^8$  konidi  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyonunu yaralara uyguladıktan 2 saat sonra patojen fungusların  $1.5 \times 10^4$  konidi  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyonundaki konidi süspansiyonunu uygulamışlardır.  $20^\circ\text{C}$ 'de yüksek nemde 5 günlük inkübasyon süresinden sonra çürüten meyve oranını belirlemişlerdir. Deneme sonucunda % 70'in üzerinde antagonistik etki gösteren antagonist mikroorganizmaları seçmişlerdir.

Latorre ve ark. (1997), sofralık üzümde *Botrytis cinerea*'nın biyolojik kontrolünde kullanılacak antogonistlerin seçimlerini elma meyveleri (*Granny Smith*) üzerinde gerçekleştirmişler, bu amaçla elmalarda yaralar açarak (0.5 cm genişlik ve 2.0 cm derinlik) patojen fungus ve antagonist uygulamaları yapmışlardır. Ön testleme esnasında antogonist fungus  $10^6$  konidi  $\text{ml}^{-1}$ , patojen ise  $10^4$  konidi  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyonunda eş zamanlı olarak uygulanmış ve  $23^\circ\text{C}$ , %95 nemde 4 günlük inkübasyondan sonra lezyon çapı dikkate alınarak etkili bulunan antogonistleri seçmişlerdir. Seçilen antagonistlerin % 37.5 oranında etkili olduğu belirtilmektedir.

El-Neshawy ve ark. (1999), *Trichoderma* spp. (*T. harzianum* ve *T. koningii*) 'ni içeren ticari preparatın soğanlarda *A. niger*'e etkisini belirlemek amacıyla, soğan pullarını, içinde ticari preparat (10 g/L) bulunan kavanozlara yerleştirmişler ve oda sıcaklığında 4, 12 ve 24 saat süreyle inkübasyona bırakmışlardır. Daha sonra soğan pullarını *A. niger*'in 4 mm çapındaki agar diskleri ile inokule etmişler ve tekrar steril kavanozlara yerleştirmişlerdir. Yedi günlük inkübasyon periyodundan sonra, çürüme oranını ve soğan pulları üzerindeki lezyon çaplarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, söz konusu uygulama sonucunda *A. niger*'in soğan pulları üzerinde daha küçük çaplı lezyon oluşturduğunu ancak tüm soğan pullarında lezyonların meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Shena ve ark. (1999), *Aureobasidium pullulans* izolatlarının üzümde *Penicillium digitatum*, *B. cinerea*, *R. stolonifer* ve *A. niger*'e, kiraz domatese *B. cinerea* ve *R. stolonifer*'e karşı etkinliklerini belirlemek amacıyla ön test materyali olarak elma meyvesi (*Golden delicious*), üzüm danesi ve kiraz domates meyvesini kullanmışlardır. Araştırmacılar elmanın 4 tarafından 2 mm derinlikte yaralar açmışlar, önce  $10^7$  konidi  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyonunda

hazırlanan antogonist izolatları inokule etmişler, 2 saat sonra  $5 \times 10^4$  konidi  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyonda hazırlanan patojenin spor süspansiyonunu ilave etmişlerdir.  $20^\circ\text{C}$ 'de 5 günlük inkübasyon süresinden sonra enfekteli meyve oranı dikkate alınarak etkili antogonistler belirlemişlerdir. Söz konusu çalışmada seçilen antagonist mikroorganizmaların % 93 oranında etkili bulunduğu bildirilmektedir.

Castoria ve ark. (2001), sofralık üzümlerde *A. niger*, *Rhizophus stolonifer*, *Penillium expansum* ve *B. cinerea*'ya karşı *Aureobasidium pullulans*'ın etkinliğini belirlemek amacıyla antogonist izolatu, yaralanmış (3 mm genişlik x 3 mm derinlik) elma (Royal Gala) ve sofralık üzüm danelerine uyguladıklarını bildirmektedirler. Araştırmacılar antogonistin spor yoğunluğunu  $1 \times 10^8$  konidi  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyonunda kullanmışlar, antogonist inokulasyonundan 2 saat sonra  $2 \times 10^4$  konidi  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyonunda patojen süspansiyonunu ilave etmişlerdir.  $20^\circ\text{C}$ 'de %95 oransal nemde 6 gün süreyle inkübasyondan sonra enfekteli yara yüzdesini dikkate alarak antogonistin etkinliğini belirlemişlerdir. Söz konusu testler sonucunda antagonist mikroorganizmanın % 95 oranında etkili bulunduğu bildirilmektedir.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Denemenin materyalini patojen ve antagonist fungus türleri, soğan ve elma meyvesi oluşturmuştur. Patojen fungus olarak soğan tohumlarından izole edilen, tohum ve toprak yoluyla inokule edildiğinde patojen olduğu bilinen *A. niger*'e ait AN6 izolatu ve *F.oxysporum* f.sp. *cepae*'ya ait FOC6 izolatları kullanılmıştır (Özer ve Köycü 1997). AN6 izolatu ile yapılan denemelerde, daha önce soğan yetiştirilen topraklardan izole edilen ve ikili karşılaştırma testlerinde (Der 2007) AN6 izolatına karşı % 70'in üzerinde antagonistik etki gösteren *Penicillium* cinsine ait PEN15 izolatu, *Trichoderma* cinsine ait TRIC3 ve TRIC8 izolatları kullanılmıştır. FOC6 ile yapılan denemelerde ise benzer testler sonucunda söz konusu izolata karşı % 70 üzerinde antagonistik etkiye sahip (Koç 2007), TRIC3 ve TRIC8 izolatları ile birlikte *Aspergillus* cinsine ait ASP3 izolatu kullanılmıştır. Patojen ve antagonist funguslar PDA (Patates Dextrose Agar) besi ortamında geliştirilmişlerdir.

Test bitkisi olarak kullanılan *Granny Smith* (Latorre ve ark. 1997) çeşidine ait elma meyveleri ve her iki patojene karşı hassas olduğu bilinen Kantartopu çeşidine (Özer 1998) ait soğanlar marketlerden temin edilmiştir.

#### 3. 2. Yöntem

##### 3.2.1. Patojen fungusların geliştirilmesi

Patojen funguslardan *A. niger* 'e ait AN6 izolatu 30°C'de 5 gün, *F. oxysporum* f. sp. *cepae* 'ye ait FOC6 izolatu ve antagonist funguslara ait izolatlar 23°C'de 7 gün süre ile PDA besi ortamında geliştirilmişlerdir. Gelişen kültürlerden antagonist fungusların  $10^6$  ve  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  olmak üzere iki farklı konsantrasyonda konidi süspansiyonları hazırlanmıştır. Patojen fungusların ise daha önceki denemelerde virüent buldukları konidi yoğunlukları kullanılmıştır. Bu yoğunluklar AN6 izolatu için  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  (Hayden ve Maude 1992) ve FOC6 izolatu için  $10^6$  konidi  $ml^{-1}$  (Özer ve Köycü 1998) olmuştur.

### 3.2.2. Patojen ve antagonist funguslarla elma meyveleri ve soğanların inokulasyonu

Elma meyveleri ve soğanlar %75'lik alkol çözeltisinde 5 dakika süre boyunca yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulmuş, daha sonra her bir meyve veya soğanın iki tarafına 0.5 cm çapında ve 2 cm derinliğinde iki adet yara açılmıştır (Latorre ve ark. 1997). Açılan yaralara patojen ve antagonistlerden hazırlanan konidi süspansiyonlarından eş zamanlı olarak 250 µl ilave edilmiştir. Sadece patojenin konidi süspansiyonunun kullanıldığı elma ve soğanlar kontrol olarak değerlendirilmiştir. Uygulama yapılan elma meyveleri ve soğanlar, steril saf su ile ıslatılmış 3 katlı kurutma kağıtlarının bulunduğu küvetlerin içindeki ıtalara üzerine yerleştirilmiştir. Küvetler şeffaf naylon torbalar ile örtülerek 23°C 'de 12 saat ışık ve 12 saat karanlık koşullarda bir hafta süre ile iklim odasında inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. İnokule edilmiş elma meyvesi ve soğanların inkübasyonu

### 3.2.3. Hastalık değerlendirmesi

İnkübasyon süresinin sonunda patojenlerin oluşturduğu lezyon çapı ölçülmüş, ayrıca uygulama yapılan elma meyveleri ve soğanlar yaraların bulunduğu kısımdan boyuna kesit alınarak kesilmiş ve yaralarda patojenlerin kolonizasyonu incelenmiştir. Yaraların patojenler tarafından farklı derecelerde kolonize olması nedeniyle, kolonizasyon şiddetinin belirlenmesi için Prof. Dr. Nuray ÖZER (Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü) tarafından geliştirilen 0-3 skalası kullanılmıştır. Bu skalada 0: kolonizasyon yok, 1: Yaranın ¼ ünün kolonizasyonu, 2: Yaranın ½ sinin kolonizasyonu 3: Yaranın tümünün kolonizasyonu olarak değerlendirilmiştir. *A. niger*'in kolonizasyonu için 0-3 skalasının elma meyvesi ve soğandaki görünümü sırasıyla Şekil 3.2. ve Şekil 3.3.'de verilmiştir. *F. oxysporum* f. sp. *cepae* izolatının kolonizasyonu da benzer şekilde değerlendirilmiştir. Kolonizasyon şiddeti (%) aşağıda verilen Tawsend-Heuberger formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Karman 1971).

$$\text{Kolonizasyon şiddeti \%} = [\Sigma(n.V) / Z.N]$$

n= Skalada farklı kolonizasyon derecesine isabet eden yara adedi

V=Skala değeri

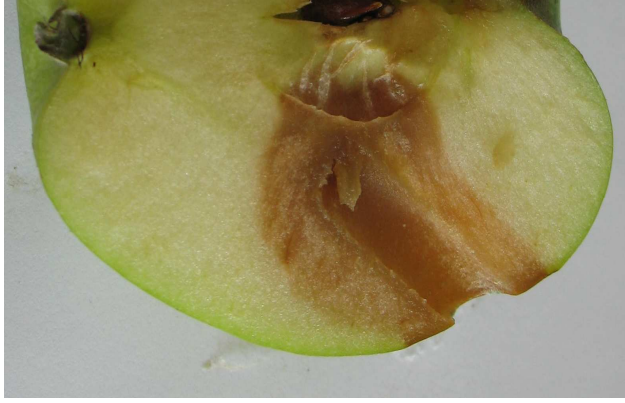
Z=En yüksek skala değeri

N= Kontrole tabii tutulan yara sayısı

Antagonist fungusların, patojen fungusların oluşturduğu lezyon çapı veya kolonizasyon şiddeti gibi enfeksiyon tipleri üzerine etkililiği ise Abbot formülü  $[(\text{Kontrol soğandaki enfeksiyon oranı (A)} - \text{Uygulama yapılmış soğanda enfeksiyon oranı}) / \text{A} \cdot 100]$  kullanılarak belirlenmiştir (Karman 1971).

### 3.3. Deneme Deseni ve İstatistik Değerlendirme

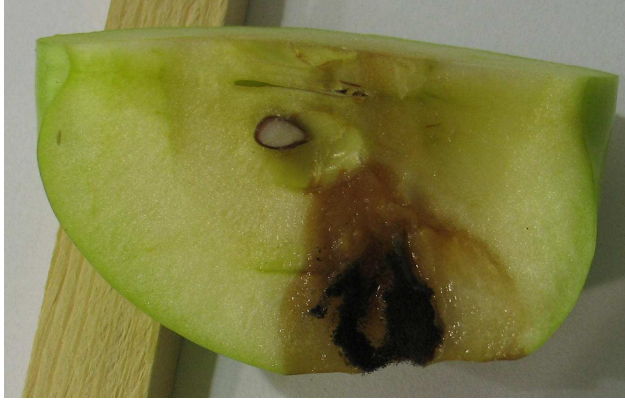
Denemeler 3 tekerrürlü olarak her tekerrürde 4 elma meyvesi ya da soğan olacak şekilde faktöriyel düzende (uygulama x doz) tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. Elde edilen değerler varyans analizine tabii tutulmuş, ortalamalar arasındaki farklılıkların önemliliği LSD (asgari önemli fark) testi çoklu karşılaştırma yöntemine göre belirlenmiştir.



**0 Kolonizasyon yok**



**1 Yarannın ¼ 'ünün kolonizasyonu**



**2 Yarannın ½ 'sinin kolonizasyonu**



**3 Yarannın tümünün kolonizasyonu**

Şekil 3.2. Elma meyvesinde açılan yaralarda *A. niger* kolonizasyonu için 0-3 skalası





**0 Kolonizasyon yok**



**1 Yaranın ¼ 'ünün kolonizasyonu**



**2 Yaranın ½ ' sinin kolonizasyonu**



**3 Yarının tümünün kolonizasyonu**

Şekil 3.3. Soğanda açılan yaralarda *A. niger* kolonizasyonu için 0-3 skalası

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Patojen Fungusların Yaralanmış Elma Meyvesi ve Soğanda Oluşturdukları Enfeksiyon Tipleri

Patojen funguslar olarak ele alınan *A. niger* ve *F. oxysporum* f. sp. *cepae* elma meyvesi ve soğanda açılan yaralara inokule edildiklerinde farklı belirtiler oluşturmuşlardır. Elma meyvesinde açılan yaralara *A. niger* izolatu tek başına inokule edildiğinde (Kontrol), meyve üzerinde lezyon oluştuğu (Şekil 4.1.), meyve, yara yerlerinden kesildiğinde ise yaranın patojenin sporları ile dolu olduğu görülmüştür. (Şekil 4.2.). Patojen soğanda lezyon oluşturmamış (Şekil 4.3.), sadece yarası kolonize etmiştir (Şekil 4.4.). *F. oxysporum* f. sp. *cepae* ise elmada herhangi bir lezyon ya da kolonizasyona neden olmamış (Şekil 4.5.), ancak soğanda açılan yaraları kolonize edebilmiştir (Şekil 4.6.). Çalışmamızda test bitkisi olarak ele alınan elma ve soğanda patojen fungusların farklı enfeksiyon tipleri göstermesi nedeniyle, *A. niger* ile yapılan çalışmalarda elma meyvesinde lezyon çapı, elma ve soğanda kolonizasyon şiddeti parametreleri, *F. oxysporum* f. sp. *cepae* ile yapılan denemelerde ise sadece soğanda kolonizasyon şiddeti parametresi dikkate alınmıştır.



Şekil 4.1. *A. niger* izolatu (AN6) ile inokule edilmiş elma meyvesindeki lezyon (Kontrol)



Şekil 4.2. *A. niger* izolatu (AN6) ile inokule edilmiş elma meyvesindeki yaranın kolonizasyonu (Kontrol)



Şekil 4.3. *A. niger* izolatu (AN6) ile inokule edilmiş soğanın görünümü (Kontrol)





Şekil 4.4. *A. niger* izolatu (AN6) ile inokule edilmiş soğanda yaranın kolonizasyonu (Kontrol)



Şekil 4.5. *F. oxysporum* f. sp. *cepae* izolatu (FOC6) ile inokule edilmiş elma meyvesinin görünümü (Kontrol)





Şekil 4.6. *F. oxysporum* f. sp. *cepae* izolatu (FOC6) ile inokule edilmiş soğanda yaranın kolonizasyonu (Kontrol)

## 4.2. Antagonist Fungusların Elmada *A. niger* Enfeksiyonuna Etkisi

### 4.2.1. Antagonist fungusların elmada *A. niger* 'in oluşturduğu lezyon çapına etkisi

Antagonist fungusların elmada açılan yaralara uygulanması halinde, *A. niger*'in oluşturduğu lezyon çapları Çizelge 4.1.'de görülmektedir., *Trichoderma* cinsine ait TRIC3 izolatının  $10^6$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyondaki uygulaması hariç, tüm uygulamalarda patojenin oluşturduğu lezyon çapı kontrole göre önemli derecede daha düşük olmuştur (Çizelge 4.1). TRIC3 izolatının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonunda (Şekil 4.7.) ve TRIC8 izolatının her iki konidi konsantrasyonlarında diğer uygulamalara göre oldukça düşük lezyon çapları (1.9-2.0 cm) elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. Elmada antagonist fungusların farklı konsantrasyonlarda uygulanmasından sonra *A. niger*'in oluşturduğu lezyon çapı

Aday antagonist	Konsantrasyon (konidi ml <sup>-1</sup> )	Lezyon çapı (cm)*
PEN15	10 <sup>6</sup>	3.0 b
	10 <sup>7</sup>	2.9 b
TRIC3	10 <sup>6</sup>	3.1 ab
	10 <sup>7</sup>	2.0 c
TRIC8	10 <sup>6</sup>	1.9 c
	10 <sup>7</sup>	1.9 c
<i>A. niger</i> (Kontrol)	10 <sup>7</sup>	3.8 a

\* Her değer, 3 tekrarın ortalamasıdır. Birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler LSD testine göre birbirinden önemli derecede (P=0.05) farklıdır.

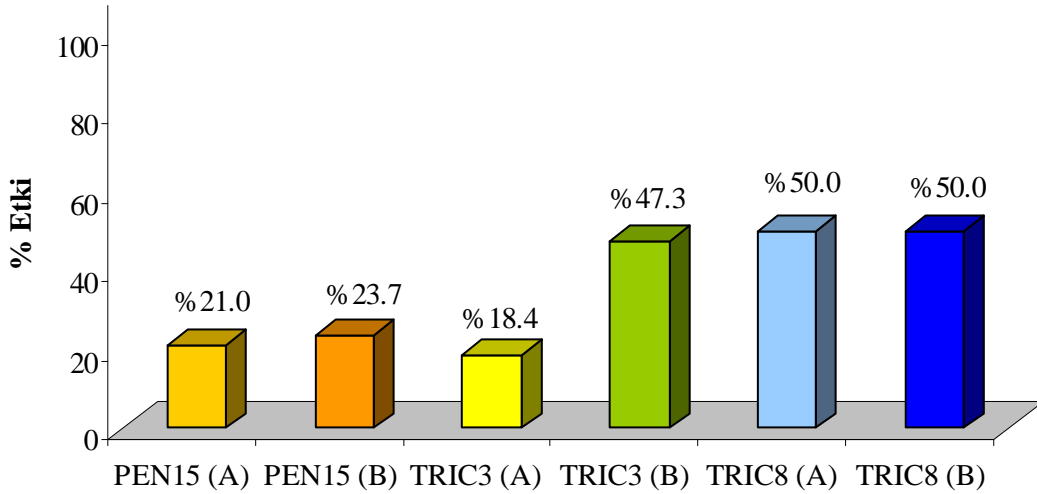


Şekil 4.7. TRIC3 izolatının 10<sup>7</sup> konidi ml<sup>-1</sup> konsantrasyonunda elmada *A. niger*'in oluşturduğu lezyon gelişimine etkisi

Antagonist fungusların, elmada patojenin oluşturduğu lezyon çapı üzerine etkileri Şekil 4.8.'de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi TRIC8 izolatının  $10^6$  ve  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonlardaki uygulamaları %50 etkinlik oranı ile ilk sırada yer almakta, bunu %47.3 oranında etkili bulunan TRIC3 izolatının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyondaki uygulaması izlemektedir. Test edilen diğer izolatlar ise % olarak daha düşük oranda etki göstermişlerdir.

#### 4.2.2. Antagonist fungusların elmada *A. niger*'in kolonizasyonu üzerine etkisi

Antagonist funguslar iki farklı spor konsanstrasyonunda hazırlanarak elmada açılan yaralara uygulandığında, patojen fungus *A. niger*'in kolonizasyon şiddetleri arasında önemli derecede farklılıklar olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2.). Patojen fungusun en düşük kolonizasyon şiddeti (%6.9) TRIC8 izolatının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonunda uygulanması halinde elde edilmiş, bunu % 13.9 ile aynı izolatın  $10^6$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonu takip etmiştir. Söz konusu izolatın iki spor yoğunluğu arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. Bu uygulamalarda patojen fungus yarayı çok az miktarda kolonize edebilmiştir (Şekil 4.9.).



Şekil 4.8. Elmada antagonist fungusların  $10^6$  (A) ve  $10^7$  (B) konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonlarında *A. niger*'in lezyon gelişimine etkinlikleri

Çizelge 4.2. Elmada antagonist fungusların farklı konsantrasyonlarda uygulanmasından sonra *A. niger*'in kolonizasyon şiddeti

Aday antagonist	Konsantrasyon (konidi ml <sup>-1</sup> )	Kolonizasyon şiddeti (%)*
PEN15	10 <sup>6</sup>	69.4 c
	10 <sup>7</sup>	41.7 d
TRIC3	10 <sup>6</sup>	93.1 b
	10 <sup>7</sup>	61.1 c
TRIC8	10 <sup>6</sup>	13.9 e
	10 <sup>7</sup>	6.9 e
<i>A. niger</i> (Kontrol)	10 <sup>7</sup>	100.0 a

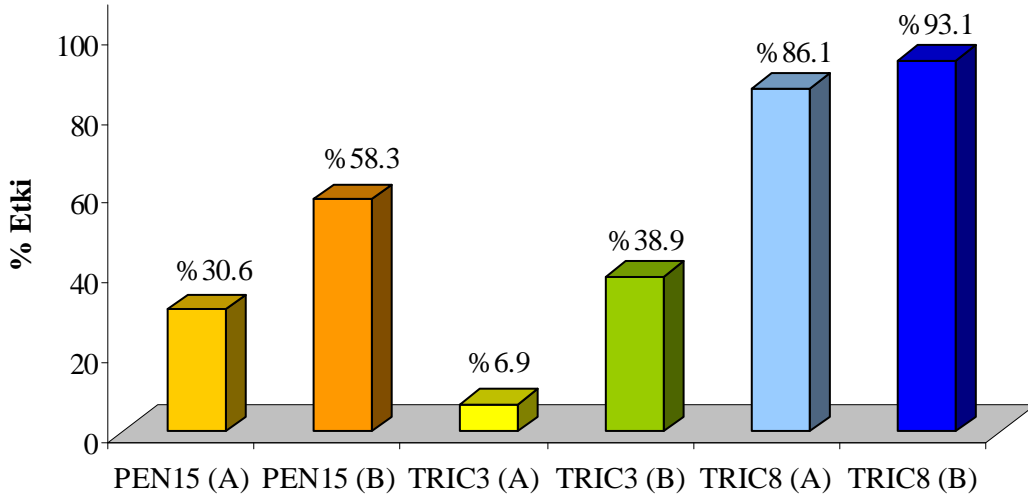
\* Her değer, 3 tekrarın ortalamasıdır. Birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler LSD testine göre birbirinden önemli derecede (P=0.05) farklıdır.



Şekil 4.9. TRIC8 izolatının 10<sup>7</sup> konidi ml<sup>-1</sup> konsantrasyonunda elmada *A. niger*'in kolonizasyonuna etkisi

Diğer antagonist funguslardan *Penicillium* cinsine ait PEN15'in  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonunda uygulanması halinde patojenin kolonizasyon şiddeti  $10^6$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonundaki uygulamaya göre istatistiki olarak önemli derecede düşük olmuştur. *Trichoderma* cinsine ait TRIC3 izolatının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonundaki uygulamasında düşük olmamakla birlikte patojenin kolonizasyon şiddetinin düştüğü görülmektedir

Araştırmamızda ele alınan antagonist fungusların, *A. niger*'in elmada kolonizasyonu üzerine etkinlikleri dikkate alındığında, TRIC8 izolatının  $10^6$  ve  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonundaki uygulamalarında sırasıyla %86.1 ve %93.1 oranları ile oldukça yüksek etkinlik gösterdiği dikkati çekmektedir (Şekil 4.10.). Diğer antagonist izolatlardan PEN15 ve TRIC3'ün  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonundaki uygulamalarının ise orta düzeyde etkinlik (sırasıyla %58.3 ve %38.9) gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.10. Elmada antagonist fungusların  $10^6$  (A) ve  $10^7$  (B) konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonlarında *A. niger*'in kolonizasyonu üzerine etkinlikleri

#### 4.2.3. Antagonist fungusların soğanda *A. niger*'in kolonizasyonu üzerine etkisi

Antagonist fungus izolatlarının patojen izolat *A. niger* ile birlikte soğanda açılan yaralara uygulanması sonucu, patojenin oluşturduğu kolonizasyon şiddetleri Çizelge 4.3.'de verilmiştir. Çizelge 4.3.'de de görüldüğü gibi TRIC3 izolatının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonu ve TRIC8 izolatının her iki konsantrasyonunda, *A. niger* 'in soğanda oluşturduğu kolonizasyon şiddeti kontrole göre önemli derecede düşük olmuştur. Bununla birlikte en düşük kolonizasyon şiddeti TRIC8 izolatının uygulamalarında elde edilmiş, antagonist izolat yara içinde patojenin gelişimini belirgin düzeyde sınırlandırmıştır (Şekil 4.11.).

Antagonist fungusların, *A. niger*'in soğanda kolonizasyonu üzerine etkinlikleri incelendiğinde tüm izolatların %50'nin altında etkinlik gösterdiği Şekil 4.12.'de görülmektedir. En yüksek etkinlik (%38.8) değeri TRIC8 izolatının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonundaki uygulamalarında elde edilmiş, bunu aynı izolatın  $10^6$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonu (%35.9) izlemiştir.

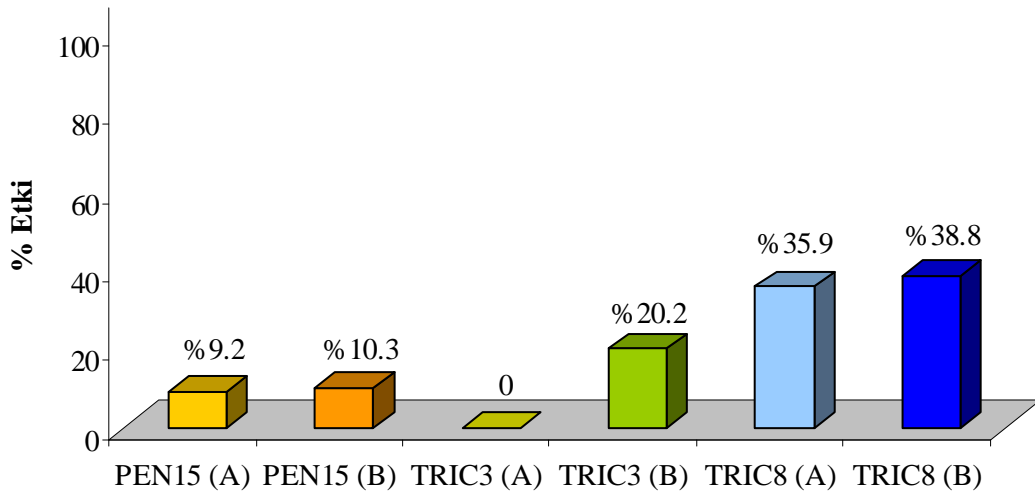
Çizelge 4.3. Soğanda antagonist fungusların farklı konsantrasyonlarda uygulanmasından sonra *A. niger* 'in kolonizasyon şiddeti

Aday antagonist	Konsantrasyon (konidi $ml^{-1}$ )	Kolonizasyon şiddeti (%)*
PEN15	$10^6$	88.5 abc
	$10^7$	87.5 bc
TRIC3	$10^6$	98.6 a
	$10^7$	77.8 cd
TRIC8	$10^6$	62.5 de
	$10^7$	59.7 e
<i>A. niger</i> (Kontrol)	$10^7$	97.5 ab

\* Her değer, 3 tekrarın ortalamasıdır. Birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler LSD testine göre birbirinden önemli derecede ( $P=0.05$ ) farklıdır.



Şekil 4.11. TRIC8 izolatının  $10^7$  konidi  $\text{ml}^{-1}$  konsanstrasyonunda soğanda *A. niger*'in kolonizasyonuna etkisi



Şekil 4.12. Soğanda antagonist fungusların  $10^6$  (A) ve  $10^7$  (B) konidi  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyonlarında *A. niger*'in kolonizasyonu üzerine etkinlikleri



### 4.3. Antagonist Fungusların Soğanda *F. oxysporum f. sp. cepae*'nin Kolonizasyonu Üzerine Etkisi

Çalışmamızda test edilen antagonist fungus izolatları soğanda açılan yaralara verildiğinde, patojen fungus *F. oxysporum f. sp. cepae*'nin neden olduğu kolonizasyon şiddeti kontrole göre önemli derecede düşük bulunmuştur (Çizelge 4.4.). Patojen tarafından oluşturulan en düşük kolonizasyon şiddeti (%1.4), TRIC3 ve TRIC8 izolatlarının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonunda elde edilmiştir. Şekil 4.13.'de görüldüğü gibi bu uygulamalarda patojen çok düşük seviyede gelişme göstermiştir.

Antagonist fungus izolatlarının tümü patojenin soğanda kolonizasyon şiddeti üzerine % 80'in üzerinde etkili bulunmuş (Şekil 4.14.), en yüksek etkiyi (%98.4) TRIC3 ve TRIC8 izolatlarının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonu sağlamıştır.

Çizelge 4.4. Soğanda antagonist fungusların farklı konsantrasyonlarda uygulanmasından sonra *F. oxysporum f. sp. cepae* 'nin kolonizasyon şiddeti

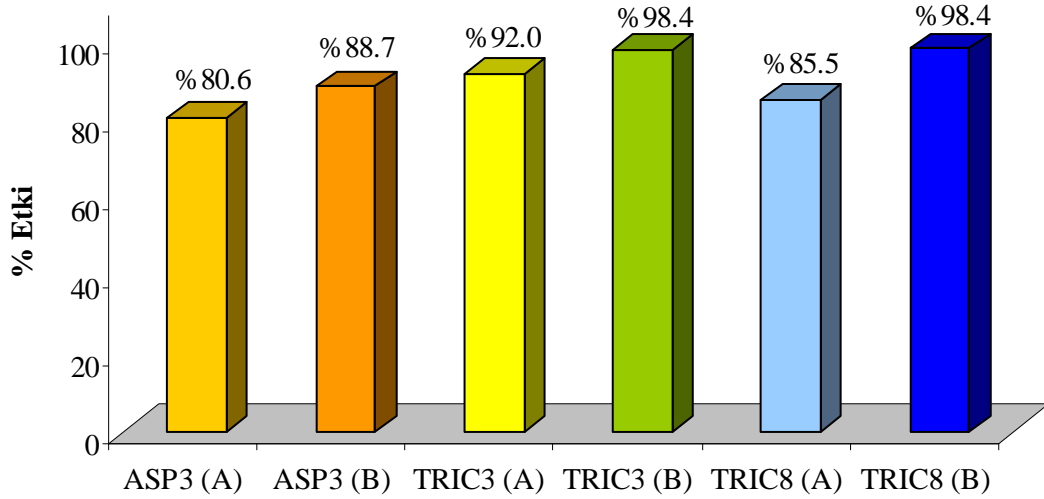
Aday antagonist	Konsantrasyon (konidi $ml^{-1}$ )	Kolonizasyon şiddeti (%)*
ASP3	$10^6$	16.7 b
	$10^7$	9.7 b
TRIC3	$10^6$	6.9 b
	$10^7$	1.4 b
TRIC8	$10^6$	12.5 b
	$10^7$	1.4 b
<i>F. oxysporum f.sp. cepae</i> (Kontrol)	$10^7$	86.1 a

\* Her değer, 3 tekrarın ortalamasıdır. Birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler LSD testine göre birbirinden önemli derecede ( $P=0.05$ ) farklıdır.





Şekil 4.13. TRIC8 izolatının  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonunda soğanda *F. oxysporum* f. sp. cepae kolonizasyonuna etkisi.



Şekil 4.14. Soğanda antagonist fungusların  $10^6$  (A) ve  $10^7$  (B) konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonlarında *F. oxysporum* f. sp. cepae 'nin kolonizasyonu üzerine etkinlikleri

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yemelik soğanda siyah küf ve dip çürüklüğü hastalık etmenleri olan sırasıyla *A. niger* ve *F. oxysporum* f. sp. *cepae* gerek üretim gerekse hasat sonrasında depolama süresince soğan yumrularında önemli derecede ürün kaybına neden olmaktadır (Özer 1995; Hayden ve Maude 1997; Abdel-Sater ve Eraky 2002; Ko ve ark. 2002; Rafika ve ark. 2006). Her iki hastalık etmeninin kontrolü için kimyasal savaşım önerilmektedir (Özer 1995; Raju ve Naik 2006; Srinivasan ve Shanmugan 2006). Ancak çevre kirliliği ve insan sağlığı açısından biyolojik savaş uygulamaları yapılmasında yarar bulunmaktadır. Biyolojik savaşımın etkinliğini arttırmak açısından, özellikle soğan üretim alanlarına, soğan tohumu, arpacık, baş soğana kolay adapte olabilecek antagonist mikroorganizmaları kullanmak büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda ilimiz soğan üretim alanlarından daha önce izole edilmiş ve *in vitro* testlerde söz konusu patojen funguslara karşı yüksek oranda etkililik gösteren antagonist fungus türlerinden bazıları (Der 2007; Koç 2007) bu çalışmada soğan çürüklüğü hastalığının biyolojik kontrolü için test edilmiştir.

Yemelik soğanda siyah küf ve dip çürüklüğü hastalıklarının biyolojik kontrolüne yönelik az sayıda çalışma bulunmakta ve bu çalışmalarda antagonist mikroorganizmalarla tohum ve arpacık uygulamaları önerilmektedir (Rajendran ve Ranganathan 1996; Coşkuntuna ve Özer 2008). Her iki hastalık etmeninin hasat sonrasında depo koşullarında da görülmesi nedeniyle (Tahvonen 1981; Stadnik ve Dhingra 1996), depolanan soğanların da korunması gerekmektedir. Bununla birlikte özellikle depoya yerleştirilecek soğanlarda siyah küf hastalığının biyolojik kontrolü için soğan pullarını kullanarak antagonist fungusların etkinliğini belirleyen El-Neshawy ve ark. (1999) tarafından gerçekleştirilen bir araştırma dışında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda söz konusu hastalık etmenlerinin hasat sonrasında neden olduğu soğan çürümelerini önlemek amacıyla biyolojik savaş olasılığı değerlendirilmiş ve bu çerçevede test yöntemi belirlenmiştir. Antagonist fungusların etkinliğini belirlemek için test bitkisi olarak elma meyvesi ve soğan bütün haliyle kullanılmış, elmada lezyon çapı, elma ve soğanda yara kolonizasyon şiddeti parametreleri dikkate alınarak ölçümler yapılmıştır. Antagonist fungusların seçiminde yurt dışında yapılan çalışmalarda da daha ziyade elma meyvesinin tercih edildiği görülmüştür (Latorre ve ark. 1997; Shena ve ark. 1999; Castoria ve ark. 2001).

Araştırmamız esnasında patojen fungus türlerinden *A. niger*'in patojen izolatu hem elma meyvesi hem de soğanda açılan yaralarda kolaylıkla kolonize olmuş, ancak sadece elma

meyvesinde yara yerlerinde lezyon meydana getirmiştir. Diğer patojen fungus türü olan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* ise elma meyvesinde herhangi bir lezyon oluşturmamış ve yara yerlerinde kolonize olamamıştır. Bu sonuçlar dikkate alındığında, *A. niger*'in biyolojik kontrolüne yönelik testlerde elma meyvesi ve soğanın test materyali olarak kullanılabilceği, ancak *F. oxysporum* f. sp. *cepae* ile yapılacak testlerde soğan ile sonuç alınabileceği kanısına varılmıştır.

Soğan üretimi yapılan tarla topraklarından izole edilen ve soğanda patojen fungus türleri olan *A. niger* ve *F. oxysporum* f. sp. *cepae* üzerine *in vitro* koşullarda etkililiği bilinen antagonist funguslar elmada açılan yaralara  $10^6$  ve  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonunda uygulandığında, elma meyvesi üzerinde oluşan lezyon çapları özellikle yüksek konsantrasyonda azalmıştır. Antagonist fungus izolatları arasında TRIC8 izolatının her iki konsantrasyondaki uygulamalarında, *A. niger* elma meyvesi üzerinde kontrole göre daha küçük çaplı lezyonlar oluşturmuş, yine elma meyvesi ve soğanda daha az şiddette kolonize olmuştur. Söz konusu izolat, ele alınan tüm parametreler yönünden diğer izolatlara göre daha yüksek oranda etkili bulunmuştur. Test edilen izolatlar arasında TRIC3 izolatı, yüksek konsantrasyonda uygulandığında *A. niger* 'in elmada oluşturduğu lezyon çapının azaldığı, patojenin elma ve soğanda kolonizasyon şiddetini çok yüksek oranda olmamakla birlikte engellediği tespit edilmiştir. *Penicillium* cinsine ait PEN15 izolatının yüksek konsantrasyonda uygulanması halinde *A. niger*'in sadece elmada kolonizasyon şiddetinin yüksek oranda azaldığı görülmüştür. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*'nin soğandaki kolonizasyonu üzerine antagonist fungusların etkisine yönelik çalışmalarımızda, TRIC3, TRIC8 izolatları ile *Aspergillus* sp.'ne ait ASP3 izolatı kullanılmış, tüm antagonist izolatların patojenin soğandaki kolonizasyonunu azalttığı ve % 80 in üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Her iki patojenin soğandaki gelişiminin antagonist fungus türleri ile önlenmesi ile ilgili herhangi bir çalışma ile karşılaşılmadığından, elde edilen tüm bu bulgular orijinal nitelik taşımaktadır.

Antagonist fungus türlerinin soğan üzerinde *A. niger*'in gelişimi üzerine etkililikleri kullanılan test bitkisi ve ölçülen parametrelere göre farklılık göstermiştir. Antagonist türler elmada patojenin kolonizasyon şiddetinin ölçülmesi durumunda en yüksek oranda etkili bulunmuşlardır. Elmada lezyon çapı ölçülmesi durumunda etkinlik oranları daha düşük olmuştur. Soğanda kolonizasyon şiddeti ölçümlerinde ise en düşük etkinlik oranları elde edilmiştir. Burada antagonist fungus türleri ile yapılan çalışmalarda, farklı test bitkilerinin kullanılmasının ve değişik ölçüm parametrelerinin dikkate alınmasının gerekli olduğu dikkati çekmektedir.

Antagonist mikroorganizmaların seçimi ile ilgili diğer çalışmalarda elma meyvesinin (Latorre ve ark. 1997; Shena ve ark. 1999; Castoria ve ark. 2001) yanı sıra çilek ve kivi meyveleri (Lima ve ark. 1997), üzüm tanesi (Shena ve ark. 1999; Castoria ve ark. 2001) ve kiraz domates (Shena ve ark. 1999) kullanılmış, patojenin konidi konsantrasyonu, antagonist izolatin konidi konsantrasyonundan yaklaşık yarı yarıya olacak şekilde düşük tutulmuştur. Bu çalışmalarda yapılan testlerde, lezyon çapı, enfekteli yara ve meyve oranı parametreleri dikkate alınmış, antagonist mikroorganizmaların %37.5-%93 arasında değişen oranlarda etkililik oranları tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise patojenlerin en yüksek konsantrasyonu kullanılmış, patojen ve antagonist eşit konsantrasyonlarda test bitkilerine uygulanmıştır. Ayrıca antagonist funguslar düşük konidi konsantrasyonunda da denenmiştir. Bu bağlamda düşünüldüğünde düşük konsantrasyonda dahi *A. niger* üzerine en az %35.9 oranında etkinlik gösteren *Trichoderma* cinsine ait TRIC8 izolatinin oldukça başarılı olduğu kanısına varılmıştır. Söz konusu izolat ayrıca soğanda *F. oxysporum* f. sp. *cepae* üzerine % 80'in üzerinde etkili olmuştur. *A. niger*'in oluşturduğu elmada lezyon çapı, elma ve soğanda kolonizasyon şiddeti üzerine sırasıyla % 47.3, %38.9 ve %20.2 oranlarında, *F. oxysporum* f. sp. *cepae*'nin soğanda kolonizasyonu üzerine %98.4 oranında etkili bulunan TRIC3 izolatinin  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  konsantrasyonunun da söz konusu patojenlerin biyolojik kontrolü için önem taşıdığı düşünülmektedir. Patojenlerin en yoğun konsantrasyonda bulunduğu ve gelişimleri için optimum koşulların sağlandığı koşullarda gerçekleştirilen testler sonucunda etkili bulunan bu antagonist fungus türleri özellikle depolanan soğanlarda her iki patojen tarafından oluşturulan yumru çürüklüğü hastalığının biyolojik kontrolü çalışmalarında kullanılabilir.

Araştırmamızda ayrıca soğanlarda *A. niger* ve *F. oxysporum* f. sp. *cepae* tarafından oluşturulan soğan çürüklüğünün biyolojik kontrolünde kullanılacak antagonist fungusların seçiminde uygulanabilecek yeni bir test yöntemi belirlenmiştir. Test yöntemleri kapsamında alınan test bitkisi ve ölçülen parametreler arasında, elmada kolonizasyon şiddeti ölçümünün, tüm antagonistlerin yüksek oranda etkili bulunması nedeniyle yanıtıcı olabileceği, ele alınan patojenlerin konukçusu olduğu soğanda kolonizasyon şiddeti parametresinin daha sonra yapılacak testlerde kullanmak için daha uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

- Abawi GS, Lorbeer JW (1972). Several aspects of the ecology and pathology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Phytopathology*, 62: 870-876.
- Abdel Sater MA, Eraky SA (2002). Bulbs mycoflora and their relation with three stored product mites. *Mycopathologia*, 153: 33-39.
- Anonim (2005). Tekirdağ Tarım İl Müdürlüğü, Proje İstatistik Şube Müdürlüğü, 2005 yılı "Açıkta Sebze Yetiştiriciliği Kesin Ürün Karnesi.
- Anonim (2007). Food and Agricultural Organization (FAO) <http://faostat.fao.org> (erişim tarihi, 01.01.2009).
- Barnoczkine-Stoilova E (1986). Possibilities of controlling *Fusarium* infection on onion. *Review of Plant Pathology*, 1987, 66: 5423.
- Bayraktar K (1981). Sebze Yetiştirme Cilt 2.Ders Kitabı. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No.169, 479 s., İzmir.
- Brayford D (1996). *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Mycopathologia*, 133: 39-40.
- Castoria R, De Curtis F, Lima G, Caputo L, Pacifico S, De Cico V (2001). *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action. *Postharvest Biology and Technology*, 22: 7-17.
- Coşkuntuna A, Özer N (2008). *Trichoderma harzianum* ile soğanda dip çürüklüğü hastalığının tarla koşullarında biyolojik kontrolü.Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 38, Isparta-Türkiye.
- Cramer CS (2000). Breeding and genetics of *Fusarium* basal rot resistance in onion. *Euphytica*, 115: 159-166.
- Der B (2007). Tekirdağ ili soğan üretim alanlarında görülen siyah küf hastalığı yönünden toprak fungistasisinin belirlenmesi. Master Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye.
- El-Nagerabi SAF, Ahmed AHM (2001). The effect of black mould (*Aspergillus niger*) on two Sudanese cultivars of onion. *Tropical Science*, 41: 95-99.
- El-Neshawy S, Osman N, Okash, K (1999). Biological control of neck rot and black mould of onion. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 77:125-137.
- Gupta RP, Mehra V (1984). Studies on the effect of fungal metaolites on vibility and seedling vigour of seed. *Indian Journal of Plant Pathology*, 2: 100-102.
- Gupta RP, Srivastava VK, Pandey WB (1984). Note on fungi associated with onion seeds, their pathogenicity and control. *Review of Plant Pathology*, 65: 2593.
- Havey MJ (1995). *Fusarium* basal plate rot, Compendium of onion and garlic diseases., Eds: H.F. Schwartz, S.K. Mohan, APS Press, St. Paul, Minnesota, U.S.A., 10-11.
- Hayden NJ, Maude RB (1992). The role of seed-borne *Aspergillus niger* in transmission of black mould of onion. *Plant Pathology*, 41: 573-581.

- Hayden NJ, Maude RB, Proctor FJ (1994). Studies on the biology of black mould (*Aspergillus niger*) on temperate and tropical onions 1 A comparison of sources of the disease in temperate and tropical fields crops. *Plant Pathology*, 43: 562-569.
- Hayden NJ, Maude RB (1997). The use of integrated pre- and post-harvest strategies for the control of fungal pathogens of stored temperate onions. *Acta Horticulturae*, 433: 475-479.
- Karman M (1971). Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler, Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. T.C. Tarım Bakanlığı, Ziraı M¼cadele ve Karantina Genel M¼d¼rl¼ę¼ Yayınları, 278s, İzmır.
- Ko SS, Chang WN, Wang JF, Cherng SJ, Shanmugasundaram S (2002). Storage variability among short-day onion cultivars under high temperature and high relative humidity, and its relationship with disease incidence and bulb characteristics. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127: 848-854.
- Koç M (2007). Tekirdağ ili soğan üretim alanlarında g¼r¼len dip ç¼r¼kl¼ę¼ hastalığı y¼n¼nden toprak fungistasisinin belirlenmesi. Master Tezi. Fen Bilimleri Enstit¼s¼, Tekirdağ, T¼rkiye.
- K¼yç¼ ND, Özer N (1997). Determination of seed-borne fungi in onion and their transmission to onion sets. *Phytoparasitica*, 25:25-31.
- Latorre BA, Agosin E, San Martin R, Vasquez GS (1997). Effectiveness of conidia of *Trichoderma harzianum* produced by liquid fermentation against *Botrytis* bunch rot of table grape in Chile. *Crop Protection*, 16: 209-214.
- Lima G, Ippolito A, Nigro F, Salerno M (1997). Effectiveness of *Aureobasidium pullulans* and *Candida oleophila* against postharvest strawberry rots. *Postharvest Biology and Technology*, 10: 169-178.
- Özer N (1995). Soğan yumrusu ¼zerinde gelişen fungal etmenlerin tespiti ve kimyasal savaşım olanakları ¼zerine bir araştırma. Trakya ¼niversitesi, Tekirdağ Ziraat Fak¼ltesi Yayınları No: 226, 34s Tekirdağ.
- Özer N, K¼yç¼ ND (1997). The pathogenicity of *Aspergillus niger* and some *Fusarium* species on onion seeds and seedlings. In "Proceedings 10<sup>th</sup> Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. France" June 1-5, pp. 277-281.
- Özer N, K¼yç¼ ND (1998). Evaluation of seed treatments for controlling *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum* on onion seed. *Phytopathologia Mediterranea*, 37:33-40.
- Özer N (1998). Reaction of some onion cultivars to *Aspergillus niger* Van Tieghem and *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Journal of Turkish Phytopathology*, 27:17-26.
- Rafika SB, Mejda DR, Mohamed BK, Hatem C (2006). Onion storage ability and an inventory of onion post-harvest fungi in Tunisia. *Tropical Science*, 46: 105-112.
- Rajendran K, Ranganathan K, (1996). Biological control of onion basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*) by combined application of fungal and bacterial antagonists. *Journal of Biological Control*, 10:97-102.
- Raju K, Naik MK (2006). Effect of pre-harvest spray of fungicides and botanicals on storage diseases of onion. *Indian Phytopathology*, 59:133-141.

- Shena L, Ippolito A, Zahavi T, Cohen L, Nigro F, Droby S (1999). Genetic diversity and biocontrol activity of *Aureobasidium pullulans* isolates against postharvest rots. *Postharvest Biology and Technology*, 17: 189-199.
- Sinha P, Sharma RP, Roy MK (1994). Management of storage rot in onion through gamma irradiation and chemicals. *Journal of Food Science and Technology* 31: 311-315.
- Srinivasan R, Shanmugam V (2006). Postharvest management of black mould rot of onion. *Indian Phytopathology*, 59: 333-339.
- Srivastava KJ, Qadri SMH (1984). Some studies of damping-off disease of onion (*Allium cepa* L.). *Indian Botanical Reporter*, 3:147-148.
- Stadnik MJ, Dhingra OD (1996). Response of onion genotypes to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* during the growth phase and in storage. *Fitopatologia Brasileira*, 21: 431-435.
- Sumner DR (1995). Black Mold. *Compendium of onion and garlic diseases.*, Ed: H.F. Schwartz, S.K. Mohan, APS Press, St. Paul, Minnesota, U.S.A., 26-27.
- Tahvonen R (1981). Storage fungi of onion and their control. *Journal of Scientific Agricultural Society of Finland*, 53: 27-41.
- Tanaka K (1991). Studies on the black mould disease of onion bulbs caused by *Aspergillus niger* van Tieghem. *Review of Plant Pathology*, 70: 8299.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1982 yılında İstanbul'da doğdum. İlköğretim ve liseyi sırayla Karadeniz Ereğli TED Koleji'nde ve Osman Ülkümen Süper Lisesi'nde tamamladım. 2001 yılında Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim bölümünde eğitime başladım. 2005 yılının Nisan ayında Erasmus bursu kazanarak İtalya'da Tuscia Üniversitesi 'nde bir öğrenim dönemi boyunca eğitim aldım. 2006 yılında Trakya Üniversitesi Bitki Koruma bölümünden mezun olup aynı yıl içinde Yüksek Lisans eğitimime başladım. 2007-2008 yılları arasında Alara Fidan Üretim Firması'nda ziraat mühendisi olarak çalıştım.2008 Ocak ayından itibaren tarım piyasasına hizmet veren Kleffmann Group Pazar Araştırmaları Şirketi 'nde proje müdürü olarak çalışmaktayım.