**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ**
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

# UZUN DÖNEM SAKLANAN KIZILÇAM (*Pinus brutia* TEN.) TOHUMLARINDA FUNGAL MİKROBİOTANIN BELİRLENMESİ

**Songül ÖZTÜRK**

**ORMAN MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ÇANKIRI**
**2021**

**Her hakkı saklıdır**

**TEZ ONAYI**

Songül ÖZTÜRK tarafından hazırlanan **"Uzun Dönem Saklanan Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) Tohumlarında Fungal Mikrobiotanın Belirlenmesi"** adlı tez çalışması 17/09/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** **:** Dr. Öğr. Üyesi Funda OSKAY

**Jüri Üyeleri** **:**

**Başkan** **:** Dr. Öğr. Üyesi Funda OSKAY
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Üye** **:** Dr. Öğr. Üyesi Bora İMAL
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Üye** **:** Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gülden ADAY KAYA
Ormancılık ve Orman Ürünleri Anabilim Dalı
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ**

**Enstitü Müdürü**

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Uzun Dönem Saklanan Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) Tohumlarında Fungal Mikrobiotanın Belirlenmesi**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (17/09/2021).

**Songül ÖZTÜRK**

*Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından OF080120L08 numaralı proje ile desteklenmiştir.*

# ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

UZUN DÖNEM SAKLANAN KIZILÇAM (*Pinus brutia* TEN.) TOHUMLARINDA FUNGAL MİKROBİOTANIN BELİRLENMESİ

Songül ÖZTÜRK

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Funda OSKAY

Bu tez çalışması, kızılçam tohumlarının fungal mikrobiotasının belirlenmesi amacı ile yürütülmüştür. Çalışmada, dört farklı kızılçam (Pinus brutia Ten.) tohum bahçesinden 1997-2017 yılları arasında toplanılmış ve 2020 yılına kadar soğuk hava deposunda saklanmış tohumlar kullanılmıştır. Kızılçam tohumlarının mikobiotası, besi ortamına izolasyona dayalı yöntemlerle belirlenmiştir. İzolatlar morfolojik ve ITS dizilemesi ile moleküler olarak teşhis edilmiştir. Kızılçam tohumlarında Ascomycota ve Basidiomycota bölümlerine dahil toplam 33 fungal takson teşhis edilmiştir. İzolasyon sıklığı bakımından en yaygın ilk on takson arasında *Jattaea* sp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Neocucurbitaria* sp., *Sydowia polyspora., Penicillium* spp., *Aequabiliella* sp., *Kalmusia variispora, Neofusicoccum mediterraneum* ve *Lophodermium seditiosum* yer almıştır. Kızılçam tohularından izole edilen Ascomycota bölümüne dahil diğer taksonlar; *Diplodia sapinea*, *Ochroconis* sp. *Nothophoma* sp., *Didymosphaeria* sp., *Botryotinia* sp., *Trichothecium roseum* ve *Trichoderma* sp.'dir. Kızılçam tohumlarından izole edilen Basidiomycota bölümüne dahil funguslar; *Stereum hirsutum*, *Sistotrema brinkmannii*, *Schizophyllum commune* ve *Butlerelfia* sp.'dir. *Jattaea* sp., tüm orijin ve saklama süresi grubuna ait tohumlardan izole edilen tek ortak taksondur. En fazla sayıda izolat ve takson Serik ve Kesmeçay orijinli tohumlar ve genç tohumlarda (0-5 yıldır saklanan) tespit edilirken bunların fungal biyolojik çeşitliliği diğerlerinden daha yüksek bulunmuştur. Kızılçam tohumlarında tespit edilen funguslar arasında *Diplodia sapinea, Lophodermium seditiosum, Sydowia polyspora* ve *Neofusicoccum mediterreneum* gibi önemli patojenik türler de yer almıştır. Korelasyon analizleri, depolama süresi arttıkça fungal kolonizasyon oranlarının azaldığını ortaya koymuştur. Buna göre, kızılçam tohumlarının uygun koşullarda 20 yıldan daha uzun süre saklanabileceği söylenebilir. Bununla birlikte, patojenik fungusların yayılmasının önlenmesi için, depolama öncesinde ve sonrasında tohumların patojenik fungusların varlığı açısından kontrol edilmesi önerilebilir.

**2021, 56 sayfa**

**ANAHTAR KELİMELER:** Tohum patolojisi, Tohum saklama, mikobiota, *Jattaea* sp., *Neocucurbitaria* sp., *Diplodia sapinea, Sydowia polyspora, Lophodermium seditiosum*

## ABSTRACT

Master of Science Thesis

DETERMINATION OF THE FUNGAL MICROBIOTA OF LONG-TERM STORED TURKISH PINE (*Pinus brutia* TEN.) SEEDS

Songül ÖZTÜRK

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Forest Engineering

Advisor: Asst. Prof. Dr. Funda OSKAY

This thesis study was carried out in order to determine the fungal microbiota of Turkish pine (*Pinus brutia* Ten.) seeds. Seed collected between 1997-2017 from 4 different seed orchards and than stored in a cold storage room until 2020 were used in this study. The mycobiota of seeds were studied based on culture depended methods. Fungi were identified both morphologically and via sequencing the ITS region of isolates. A total of 33 taxa belonging to Ascomycota and Basdiomycota divisions were identified. The top ten most common taxa included *Jattaea* sp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Neocucurbitaria* sp., *Sydowia polyspora., Penicillium* spp., *Aequabiliella* sp., *Kalmusia variispora, Neofusicoccum mediterraneum* and *Lophodermium seditiosum*. Other taxa belonging to Ascomycota division were; *Diplodia sapinea*, *Ochroconis* sp. *Nothophoma* sp., *Didymosphaeria* sp., *Botryotinia* sp., *Trichothecium roseum* and *Trichoderma* sp. Those belonging to the Basidiomycota division were *Stereum hirsutum, Sistotrema brinkmannii, Schizophyllum commune* and *Butlerelfia* sp.. *Jattaea* sp. was the only common taxon isolated from seeds belonging to the whole group of origins and storage durations. The highest number of isolates and taxa were detected in seeds of Serik and Kesmeçay origins and in young seeds (stored for 0-5 years), and their fungal biodiversity was found to be higher than the others. Pathogenic fungi such as *Diplodia sapinea, Lophodermium seditiosum, Sydowia polyspora* and *Neofusicoccum mediterraneum* were also isolated from the Turkish pine seeds. Correlation analysis revealed a decrease in fungal colonization rates as the storage time increased. Accordingly, it can be said that the Turkish pine seeds can be stored under suitable conditions for long periods over 20 years. On the other hand, to prevent the establishment and spread of pathogenic fungi, seeds should be checked for the presence of pathogenic fungi before and after storage.



**2021, 56 pages**

**Keywords**: Seed pathology, Seed storage, mycobiota, *Jattaea* sp., *Neocucurbitaria* sp., *Diplodia sapinea, Sydowia polyspora, Lophodermium seditiosum*

# ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

"Uzun dönem saklanan Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) Tohumlarında Fungal Mikrobiotanın Belirlenmesi" adlı bu çalışma 2018-2021 yılları arasında hazırlanarak Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü' nde "Yüksek Lisans" tezi olarak sunulmuştur.

Tez konusunun belirlenmesinde bilgi birikimiyle bana yol gösteren, laboratuvar çalışmalarımda birebir ilgilenen, aynı zamanda güler yüzü ve neşesi ile motivasyonu artıran Orman Entomolojisi ve Koruma Anabilim Dalı öğretim üyesi çok değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Funda OSKAY'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında beni her zaman destekleyen ve yardımları ile yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Bora İMAL'e ve değerli jüri üyesi Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gülden ADAY KAYA'ya teşekkür ederim.

Çalışmada kullanılan kızılçam tohumları Antalya Orman Fidanlığı temin edilmiştir. Tohumların kullanılmasına olanak sağlayan Antalya Orman Fidanlık Müdürlüğüne ve tohumların temininde yardımcı olan Orman Mühendisi Belkız DİCLE'ye teşekkür ederim.

Ayrıca maddi manevi tüm desteklerini esirgemeyen aileme sabırlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Çankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri koordinatörlüğü tarafından OF080120L08 nolu yüksek lisans projesi kapsamında desteklenmiştir.

**Songül ÖZTÜRK**
**Çankırı, 2021**

# İÇİNDEKİLER

**ÖZET** ..... **i**
**ABSTRACT** ..... **ii**
**ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR** ..... **iii**
**İÇİNDEKİLER** ..... **iv**
**SİMGELER DİZİNİ** ..... **vi**
**KISALTMALAR DİZİNİ** ..... **vii**
**ŞEKİLLER DİZİNİ** ..... **viii**
**ÇİZELGELER DİZİNİ** ..... **ix**
**1. GİRİŞ** ..... **1**
**2. LİTERATÜR ÖZETİ** ..... **4**
**2.1 Orman Ağacı Tohumlarında Fungal Mikrobiota** ..... **4**
**2.2 Türkiye'de Orman Ağacı Tohumlarında Fungusların Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar** ..... **8**
**2.3 Tohumların Uzun Dönem Saklanması** ..... **11**
**3. MATERYAL ve METOT** ..... **13**
**3.1 Materyal** ..... **13**
**3.2 Metot** ..... **15**
**3.2.1.Kızılçam tohumlarından fungusların izolasyonu** ..... **15**
**3.2.2 Fungusların saflaştırılması** ..... **16**
**3.2.3 Fungusların teşhisi** ..... **17**
**3.2.4 Biyolojik çeşitlilik hesaplamaları ve fungal toplulukların analizi** ..... **18**
**3.2.5 Tohumlarda fungal kolonizasyon oranlarının ve çimlenme yüzdelerinin belirlenmesi ve analizi** **19**
**4. BULGULAR** ..... **21**
**4.1 Kızılçam Tohumlarında Tespit Edilen Funguslar** ..... **21**
**4.2 Tohumlarda Tespit Edilen Fungusların Taksonomik Çeşitliliği** ..... **22**
**4.3 Fungusların Bulunma Sıklıkları** ..... **26**
**4.4 Fungal Toplulukların Biyolojik Çeşitliliği** ..... **28**
**4.5 Tohum Orijini ve Saklama Süresinin, Tohumlarda Fungal Kolonizayon ve Tohum Çimlenme Yüzdeleri ile İlişkileri** ..... **31**
**5. TARTIŞMA ve SONUÇ** ..... **39**

**KAYNAKLAR .....47**
**EKLER.....52**
**ÖZGEÇMİŞ.....56**

## SİMGELER DİZİNİ

| | |
|---|---|
| ' | Dakika |
| " | Saniye |
| % | Yüzde |
| °C | Santigrat Derece |

## KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---|---|
| g | gram |
| m | Metre |
| mg | Miligram |
| mL | Mililitre |
| mm | Milimetre |
| cm | Santimetre |
| vd.. | ve diğerleri |

# ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Araştırmada kullanılan kızılçam tohumlarının temin edildiği tohum bahçelerinin konumunu gösterir Google Earth ekran görüntüsü.....14
Şekil 3.2 Tohumların petri kabına ekimi ve 20°C'ye ayarlı inkubatöre yerleştirilmesi. 15
Şekil 3.3 Koloni morfolojilerine göre morfotiplere ayrılan izolatlardan bazıları (MEA besi ortamnıda yaklaşık 14 günlük kolonilerin üstten görünümü) .....16
Şekil 4.1 Kızılçam tohumlarından elde edilen izolatların Bölüm, Sınıf, Takım ve Aile seviyelerinde izolat sayılarına göre dağılımları.....26
Şekil 4.2 En sık izole edilen ilk 10 taksonun orijin ve saklama sürelerine göre izolasyon sıklıkları.....27
Şekil 4.3 Kızılçam tohumlarında fungal taksonların A) orijinlere göre B) saklama sürelerine göre paylaşımlarını gösteren Venn diagramı .....28
Şekil 4.4 Saklama süresine göre fungal kolonizasyon oranları.....31
Şekil 4.5 Orijine göre fungal kolonizasyon oranları .....32
Şekil 4.6 Kızılçam tohumlarında fungal kolonizasyon oranlarının a) saklama sürelerinin orijinlere göre b) orijinlerin saklama sürelerine göre dağılım grafikleri .....33
Şekil 4.7 Saklama sürelerine göre tohumların çimlenme yüzdeleri (ÇY %) .....35
Şekil 4.8 Orijinlere göre tohumların çimlenme yüzdeleri (ÇY%) .....35
Şekil 4.9. Kızılçam tohumlarında çimlenme oranlarının a) saklama sürelerinin orijinlere göre b) orijinlerin saklama sürelerine göre dağılım grafikleri.....36
Şekil 4.10 Uzun dönem saklanan kızılçam tohumlarında çimlenme ve fungal gelişim yüzdeleri .....36

# ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) tohumlarında tespit edilen funguslar ..... 10
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan tohum materyaline ilişkin bilgiler ..... 13
Çizelge 3.2 Tohumların saklama süresine göre gruplandırılması ..... 14
Çizelge 4.1 ITS dizilemesi sonuçları ..... 23
Çizelge 4.2 Kızılçam tohumlarından teşhis edilen fungusların taksonomik çeşitliliği ... 25
Çizelge 4.3 Orijinine göre tohum funguslarının biyoçeşitlilik indisleri ..... 29
Çizelge 4.4 Saklama sürelerine göre biyoçeşitlilik indisleri ..... 30
Çizelge 4.5 Orijin ve saklama sürelerine göre biyoçeşitlilik indisleri ..... 30
Çizelge 4.6 Saklama süresi ile fungal kolonizasyon ve çimlenme yüzdeleri arasındaki ilişkilerin korelasyon analiz sonuçları ..... 37
Çizelge 4.7 Orijinlere göre çimlenme ve fungal kolonizasyon yüzdeleri arasında korelasyon analiz sonuçları ..... 37
Çizelge 4.8 Saklama sürelerine göre çimlenme ve fungal kolonizasyon yüzdeleri arasında korelasyon analiz sonuçları ..... 38

# 1. GİRİŞ

Ülkemizde ağaçlandırma çalışmalarında orman fidanlıklarımızda üretilen fidanlar kullanılmaktadır. Şüphesiz ki mevcut orman alanlarının iyileştirilmesi ya da sürekliliğin sağlanması ve yeni ormanların oluşturulması amacı ile dikilecek fidanların, ağaçlandırma amacına hizmet edebilmeleri için sağlıklı ve kaliteli olmaları gerekmektedir. Tohumun elde edilmesinden fidan üretimine kadar geçen süreçte, tohum kalitesinin kontrolü ve bu kalitenin korunması önemlidir. Diğer taraftan, orman ağacı tohumlarının kalitesi ve çimlenme yeteneği, tohumun olgunlaşma aşaması, hasadı ve saklanması sırasında çeşitli faktörler tarafından etkilenmektedir. Örneğin tohumların erken toplanması, uygun koşullar altında saklanmaması, ağaçlarda ya da tohumlarda patojen ya da zararlıların bulunması gibi durumlarda tohumun kalitesi azalmakta veya tamamen düşebilmektedir. Funguslar, hasat öncesi ya da sonrasında ve depolama sırasında önemli miktarda tohum kaybına sebep olabilen, tohumların kalitesi üzerinde önemli etkileri olan başlıca biyotik faktördür.

Tohum gerek ekim gerek dikim yoluyla olsun ağaçlandırmaların en temel gereksinimidir (Ürgenç 1998). Ağaçlandımalar için gerekli yeterli miktarda tohumun her yıl temin edilmesi mümkün olmayabilir. Nitekim fakir tohum yıllarında gerekli mükktarda tohum elde edilemeyebilir. Dolayısıyla zengin tohum yıllarında temin edilen bol miktrarlardaki tohumun uygun şartlar altında kalite ve yaşama kabiliyetlerine zarar vermeden saklanması gerekliliği doğar (Ürgenç 1998). Tohumların saklanabilirliği üzerinde; sıcaklık, saklama süresi, nispi nem, saklama metodu, tohumun nem miktarı ve saklanacak tohumların üzerindeki ya da içerisindeki fungal inokulum miktarı etkilidir.

Genelde tohumlar uygun olmayan sıcaklık ve rutubet koşullarında saklandığında fungus zararına uğramaktadır. Bununla birlikte tohum toplama ve ibreli ağaçlarda kozalaktan tohum çıkarma esnasında da tohumlara funguslar bulaşabilmektedir (Velioğlu 2001). Tohumların saklanması esnasında *Trichothecium, Penicillium, Aspergillus, Alternaria, Botrytis, Fusarium, Rhizopus ve Mucor* gibi fungus türleri sıklıkla görülebilmektedir. Fakat söz konusu bu funguslar sağlıklı tohumlarda doğrudan zarar yapmamakta, çeşitli nedenlerle kalitesi düşmüş tohumlarda etkili olmaktadır (Akıllı ve Katırcıoğlu 2006).

Tohumlarda saklama sıcaklığı ve neminin artması topraktan ya da havadan bulaşan fungusların kolonizasyonu (Roberts 1972) ve tohumların içerisinde bulunan fungusların ve böceklerin gelişimini teşvik etmektedir (Christensen 1972). Saklama sırasında sıcaklığın ve rutubetin uygun olmaması fungal kolonizayon sonucunda tohumun çürümesi ve küflenmesi ile sonuçlanabilmektedir (Yahyaoğlu ve Ölmez 2003, Göktürk vd. 2019).

Ülkemizde orman ağacı tohumlarının çimlenme kabiliyetlerini yitirmeden saklanma sürelerinin belirlenmesi konusunda çalışmalar bulunsa da (Ürgenç ve Odabaşı 1971, Saatçioğlu 1971, Aslan 1972, Boydak 1981, 1982, Temel vd. 2011, Göktürk vd. 2019) bu çalışmalar çoğunlukla 5-10 yıllık bir dönemi kapsamakta, daha uzun süreli saklama konusunda bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte yukarıda bahsi geçen çalışmalarda saklama koşulları ve süresinin tohumların çürümesi ve küflenerek kullanılamaz hale gelmesinde fungusların önemli rol üstlendiği belirtilse de tohumda fungusların belirlenmesine yönelik çalışmalar da nispeten sınırlıdır (Velioğlu 2001, Akıllı 2004, Akıllı ve Kantarcıoğlu 2006, Argun vd. 2014). Bunun da ötesinde, tohum saklama süresi ile tohumlarda fungal kolonizasyon ve fungal mikrobiota ilişkilerini ele alan bir çalışma bulunmamaktadır.

Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.), bir cinsli bir evcikli bir tür olup tozlaşma olayı rüzgarla olmaktadır. Yükselti ve iklim koşullarına göre; erkek çiçekler Mart-Mayıs ayında olgunlaşmakta, dişi çiçekler ise Mart ayında tomurcuk pullarının açılması ile görülmekte, tozlaşma ise Mart-Mayıs ayları arasında gerçekleşmektedir. Kızılçam kozalakları normal yetişme ortamı koşullarında 27 ayda olgunlaşmakta (3. yılın başı) tohum dökümü Temmuz-Ağustos hatta Eylül sonlarına kadar devam etmektedir. Bununla birlikte ağaç üzerinde 8-9 yıl kalabilen kozalaklarda bulunmaktadır. Kızılçamda tohum verimi yapay ormanlarda 10, doğal ormanlarda ise 15 yaşından sonra başlamaktadır. Fakat tohum üretimi için en uygun yaş aralığı 40-70' tir. Kızılçamda her sene bol tohum yılı olmakla birlikte genelde 2 yılda bir zengin tohum yılları meydana gelmektedir. 3. yılın başında olgunlaşan kızılçam kozalakları Şubat-Mayıs ayları arasında toplanmaktadır. Kozalaklardan tohum elde edilmesinde genelde güneş yöntemi kullanılmakta bununla

birlikte kozalaktan tohum çıkarma tesislerinden de faydalanılmaktadır. Kızılçamda ortalama kozalak ağırlığı 45,6 gr olup 1 kg kozalakta ortalama 1610 adet tohum bulunmaktadır. Tohum bin dane ağırlığı ortalama 62,9 gr dır (Saatçioğlu 1971, Gezer ve Yücedağ 2006, Boydak vd. 2006).

Ülkemizin ekonomik ve ekolojik açıdan en önemli orman ağacı türü olan ve 5.6 milyon hektarda yayılış gösteren kızılçam, aynı zamanda ağaçlandırma çalışmalarında da en çok kullanılan türdür (Boydak vd. 2006). Ağaçlandırma çalışmalarında yaygın kullanımı, beraberinde kızılçam tohumuna olan ihtiyacı da arttırmaktadır. Bu nedenle Kızılçam tohumlarının kalitesine zarar vermeden uzun yıllar saklanması zorunluluğu ortaya çıkmaktadır. Ayrıca yangın gibi doğal afetler sonucunda türün tohumunun saklanma sürelerini tespit etmek acil tohum ve fidan ihtiyacının karşılanmasında uygulama çalışmalarına katkı sağlayacaktır. Bununla birlikte saklama süresinin artmasıyla fungusların tohum kalitesi üzerindeki olumsuz etkileri daha da artabilmektedir. Ancak gerek kızılçam tohumlarının uzun dönem saklanması, gerekse uzun dönem saklanan tohumlarda fungusların etkisi konusunda bir araştırma bulunmamaktadır.

Bu tez çalışması, soğuk hava deposunda uygun koşullarda 4-23 yıl aralığında saklanan, 4 farklı kızılçam tohum bahçesinden temin edilen tohumlarda fungal mikrobiotanın belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

# 2. LİTERATÜR ÖZETİ

Çalışmanın bu bölümünde; tohum fungusları, orman ağacı tohumlarının fungusları, ülkemizde orman ağacı tohumlarının fungusları üzerine yapılan çalışmalar ile tohumların uzun süre saklanması konuları hakkında kaynak özetleri verilmiştir.

## 2.1 Orman Ağacı Tohumlarında Fungal Mikrobiota

Birçok fungus, tohumları oluşumu ve olgunlaşma sürecinde enfekte eder ve tohumların hem kalite hem de kantitesi üzerinde önemli kayıplara yol açar. Tohum oluşumu ya da olgunlaşması sırasında tohumu enfekte eden fungusların tohumlarda sebep olduğu hastalık ya da bozulmalar; tohumun olgunlaşamaması ya da boş tohum oluşumu, tohum çürüklüğü, tohum doku ölümü, çimlenme kapasitesinin azalması ya da tamamen kaybolması, tohumda fizyolojik değişimler şeklinde gruplandırılabilmektedir. Diğer taraftan bazı funguslar depolama sırasında tohuma zarar verir, bunlar depo fungusları olarak gruplandırılır (Neergaard 1977).

Tohum fungusları; i) depo fungusları, ii) tohum kökenli patojenler ve iii) tohumla taşınan patojenler olarak da gruplandırılabilmektedir (Agarwal and Sinclair 1997, Fraedrich and Miller 1995, Sateesh and Bhat 1999, Berjak, 2000, Dhingra *et al.* 2002, 2003). Küf fungusları olarak da adlandırılabilen depo fungusları, uygun olmayan depolama koşullarında sıklıkla rastlanılan, hasat sonrasında tohum yüzeyine sonradan bulaşan *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. gibi yaygın sabrobik fungusları kapsar. Tohum kökenli patojenler, tohumların çürümesine, çimlenme özelliğinin azalmasına ve çimlenme sonrasında fidecik ve fidan ölümlerine, damping- off (çökerten) vb. erken fide dönemi hastalıklarına sebep olan patojenleri içermektedir. Tohum fungusları arasında ormancılık açısından en tehlikeli grup tohumla taşınan patojenler olup, fidan ve bitkinin ilerleyen gelişme evrelerinde ortaya çıkan hastalıklara sebep olan patojenleri kapsar.

Tohum kökenli funguslar tohumların dış ya da iç dokularını kolonize edebilirler. *Botryosphaeria, Botrytis, Fusarium, Mucor, Phialophora, Rhizopus* ve *Trichothecium*

tohumların dış yüzeylerini kolonize eden fungus cinsleri arasında sayılabilmektedir. Bu cinsler genellikle türe özelleşmemiş olup birden fazla tür içerebilirler. *Alternaria, Aspergillus, Botrytis, Botryodiplodia, Caloscypha, Cephalosporium, Fusarium, Phoma, Schizophyllum* ve *Sirococcus* cinsleri ise tohum iç dokularını kolonize edebilen yaygın fungal cinslerdir. Bu gruptaki funguslar tohum kalitesini düşürebilir, çıkış öncesi ve sonrasında fidan ölümlerine sebep olabilirler.

İğne yapraklı orman ağacı türlerinin tohumları ile ilişkili, tohumla taşınan ya da tohum kökenli çok sayıda önemli patojen bildirilmiştir (Cilliers et al. 1993, Fraedrich and Miller 1995, Motta *et al.* 1996, Schröder *et al.* 2002, Talgø *et al.* 2010, Ridout and Newcomber 2018, Cleary et al. 2019, Mohanan and Sharma 1991, Ivory and Tompsett 1994). Orman ağacı tohumları ile taşınan önemli patojenler arasında çam sürgün yanıklığı etmeni *Diplodia sapinea*, *Sirococcus conigenus* (syn. S. strobilinus), *Caloscypha fulgens* ve *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon ve Maubl (syn: *Botryodiplodia theobromae* Pat.) ile çok sayıda *Fusarium* türü yer alır. Günümüzde bu türler arasında en önemlisi çam çıralı kanser hastalığı etmeni *Fusarium circinatum* Nirenberg ve O'Donnell (teleomorph = *Gibberella circinata* Nirenberg and O'Donnell; sin. *F. subglutinans* f. sp. *pini*)'dur.

Çam tohumları ile ilişkili fungusların belirlenmesine yönelik çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Schubert (1961), farklı sıcaklık derecelerinde depolanan *Pinus lambertiana* tohumları ile ilişkili fungusları araştırdıkları çalışmasında, -18, -5, 5 ve 28 °C'de 6 yıldır depolanmakta olan tohumlardan yalnızca -18°C'de depolanan tohumların canlı kaldığını ancak bunların da yaşama kabiliyetlerinin %38 oranında azaldığını belirlemiştir. -5 °C'de saklanan tohumların tamamının funguslar tarafından kolonize edilirken bu oranın -18 °C'de saklanan tohumlarda %47 olarak belirlendiği bildirilmiştir. -5 ve -18°C'de saklanan tohumlarda tespit edilen funguslar sırasıyla; *Penicillium* ve *Monilia implicata* ile *Penicillium, Gliocladium* ve steril beyaz fungus olarak rapor edilmiştir.

Whittle (1977), tohum olgunlaşma süreci başlangıcından (tozlaşma öncesi) iki yıl depolamaya kadar olan süreçte sarıçam tohumlarında görülen fungusları araştırmıştır. Çalışmada, ağaç üzerindeki olgunlaşmamış kozalaklardaki tohumların tüm mikobiotasını *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll. (sin. *Sclerophoma pithyophila* Höhn., *Dothichiza pythiophila* (Cda) Petrak)'nın teşkil ettiği, bu fungusun olgunlaşmamış tohumlardaki yoğunluğunun %95'e ulaşabildiği belirlenmiştir. Bu fungus olgunlaşmış tohumların mikobiotasında da baskın olarak bulunmuştur. Tohum mikobiotasının tohum çıkarma sırasında önemli oranda değiştiğini bununla birlikte depolama sırasında farklı tohum partilerinin mikobiotasının büyük oranda benzerlik gösterdiği ve *Penicillium* gibi tipik depo funguslarının izolasyon sıklığının arttığını belirlemiştir.

Mittal and Wang (1987), nemli hücre ve agar yöntemi kullanarak *Pinus strobus* tohum ve kozalak karpellerinden 13, *Picea glauca* tohum ve kozalak karpellerinden 17 fungal tür izole etmişlerdir. *Alternaria alternata, Aureobasidium pullulans, Cladosporium cladosporoides, C. herbarum, Fusariums porotrichioides, Mucor hiemalis, Penicillium aurantiogriseum* ve *Rhizopus nigricans* tohumlardan en sık izole edilen funguslar olarak belirlenmiştir. Çalışmada, ağaçlardan toplanan açılmamış kozalaklardan çıkarılan tohumlarda, kozalak hasadı ve tohum çıkarma işlemleri sırasında tohumlara bulaşan fungusların genellikle tespit edilmediği bildirilmiştir. Ayrıca, kozalaktan çıkarıldıktan sonra orman zeminine bırakılan tohumlarda tespit edilen fungusların, çıkarıldıktan sonra doğrudan laboratuvara getirilen tohumlarda tespit edilenlere kıyasla daha fazla fungus tarafından kolonize edildiği de ortaya koyulmuştur.

Lilja *et al.* (1995), Finlandiya'da, agar ve nemli hücre yöntemi kullanarak *Pinus sylvestris* tohum ve kozalaklarındaki fungusları ve bunların patojenitelerini araştırmıştır. Çalışmada, tohum ve kozalaklardan izole edilen fungusların farklılık gösterdiği ortaya koyulmuştur. *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries, *C. herbarum* (Pers.) Link ex Gray, *Alternaria alternata* Fr. KeissL,, *Botrytis cinerea* Pers. ex Nocca & Balb, *Fpicoccum purpurascens* Ehrenb. ex Schlecht, *Hormonema dematioides* Eagerberg & Melin, *Trichoderma* spp. ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *pini* kozalaklardan izole edilen funguslar olarak bildirilmiştir. Tohumlardan izole edilen funguslar ise; *H. dematioides, Penicillium* spp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Acremoniella atra* (Corda) Sacc.,

*Arthrinium* sp. olarak rapor edilmiştir. Agar ya da filtre kâğıdında çimlendikten sonra devrilen tohumlardan, *H. dematioides, Fusarium avenaceum, Alternaria alternata, Epicoccum purpurascens* ve *Ulocladium atrum*'un izole edildiğini ancak bu fungusların patojenisite testlerinde yalnızca *Fusarium* türlerinin patojenik bulunduklarını rapor etmiştir. Ayrıca, patojenisite testlerinde tüm fungusların steril edilmiş torf-kum karışımlı ortamda steril edilmemiş ortama kıyasla daha patojenik oldukları belirlenmiştir.

Fraedrich and Miller (1995), Georgia, Alabama, ve Florida (ABD)'da tohum bahçelerinden ve kozalaktan tohum çıkarma tesislerinden temin edilen *Pinus elliottii* Engelm. var. *elliottii* tohumlarının fungusları araştırdıkları çalışmada, tohumlarda *Lasiodiplodia theobromae*, *Sphaeropsis sapinea*, ve *Fusarium* spp., gibi patojenik türler ile birlikte çok sayıda fungus tespit etmişlerdir. Çalışmada, bu patojenik fungusların tohum depolaması sırasında arttığı da ortaya koyulmuştur. *Alternaria, Curvularia, Chaetomium, Epicoccum, Penicillium, Rhizopus, Trichoderma, Mucor, Nigrospora, Pestalotia* cinsleri ile *Schizophyllum commune* çalışmada tespit edilen diğer funguslar olarak bildirilmiştir.

Kowalczyk (2007), Polonya'da 2-17 yıldır depolanan sarıçam tohumlarının fungusları ve fungusların uzun süreli saklama sırasında tohum kalitesi üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Araştırma sonucunda tohum fungal topluluklarının saklama süresi ile birlikte değiştiğini, saklama süresinin, fungal topluluk yapısını tohumların orijininden daha fazla etkilediği ve saklama süresi arttıkça toplulukların giderek daha çok benzerlik gösterdiği ortaya koyulmuştur. Yüzey sterilizasyonu yapılan ve yapılmayan tohumlarda tespit edilen baskın fungusların çeşitliliği de benzer bulunmuş ve buna dayanarak tohumların iç dokularının genellikle aynı grup funguslarca kolonize edildiği kanısına varılmıştır. Saklama süresi arttıkça funguslar tarafından kolonize edilen çimlenmeyen tohum oranının da arttığı belirlenmiştir.

## 2.2 Türkiye'de Orman Ağacı Tohumlarında Fungusların Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar

Ülkemizde, orman ağaçlarının tohumlarında görülen fungusların tespitine yönelik nispeten az sayıda araştırma bulunmaktadır (Velioğlu 2001, Akıllı 2004, Akıllı ve Katırcıoğlu 2006, Argun vd. 2014, Karaman 2021, Oskay ve Karataş 2021). Bunlara ek olarak, Cleary *et al.* (2019) tarafından da Türkiye'den temin edilen çeşitli çam türlerine ait tohumların fungusları Yeni Nesil DNA dizileme yaklaşımlarından faydalanılarak belirlenmiştir.

Velioğlu (2001), "Bazı orman ağacı tohumlarında fungal flora tespiti" adlı çalışmasında karaçam, sarıçam, fıstıkçamı, Doğu Ladini, Duglas Göknarı, halepçamı ve Gleditçya gibi çeşitli orman ağacı türlerinin tohumlarından agar yöntemini kullanarak *Trichoderma, Fusarium, Penicillium, Aspergillus, Acremonium, Stigmina, Oedocephalum, Perinoria cinslerini* teşhis etmiştir.

Akıllı (2004) ve Akıllı ve Katırcıoğlu (2006), Türkiye'nin çeşitli coğrafik bölgelerindeki karaçam, kızılçam ve sarıçam tohum meşcerelerinden toplanan tohumlarda görülen fungusları belirlemişlerdir. Nemli hücre (blotter) ve agar yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada; fungusların cins ve tür seviyesinde teşhisleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda fungus oranı en yüksek olan tür karaçam olarak tespit edilirken, sarıçam tohumlarında fungal floranın diğer türlere kıyasla daha az olduğu belirtilmiştir. Çalışmada çam tohumlarında yaygın olan funguslar; *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Aspergillus* spp., *Alternaria alternata* olarak belirlenmiştir.

Argun vd., (2014), *Pinus nigra* tohumlarında bulunan funguslar ve bunların fidanlardaki patojenisitelerini araştırmıştır. Çalışmada, tohumlarda çürümeye sebep olan ya da çimlenmeyi engelleyici etkileri olan küf funguslarının çok yaygın olduğu belirlenmiştir. Yaygın olarak bilinen küf funguslarından *Penicillium* cinsinin de fidanlarda ölüme sebep olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, *Fusarium oxysporum* ve *Alternaria alternata*'nın fidanlarda gelişme geriliğine ve ölüme sebep olduğu tespit edilmiştir.

Ülkemizde çam iç fıstığı üretiminin en yoğun olduğu Kozak yaylasında, iç fıstık üretiminde önemli kayıplara neden olan etmen ve etkenlerin araştırıldığı çalışmalar sırasında, tohumla taşınan hastalık etmenleri arasında dünya çapında önemli bir tohum patojen olarak bilinen *Caloscypha fulgens t*espit edilmiştir (Tosun vd. 2014).

Karaman (2021), yüksek lisans tez çalışması kapsamında, Türkiye'deki bazı orman fidanlıklarından temin edilen kızılçam, karaçam, fıstıkçamı tohumlarında *Diplodia sapinea'* nın varlığının tespit edilmesi amacıyla çalışmalar yürütmüştür. Morfolojik ve moleküler teşhis yöntemleri kullanılarak kızılçam ve fıstıkçamı tohumlarında *Diplodia sapinea*'nın varlığı belirlenmişken; karaçam tohumlarında patojen tespit edilmemiştir. Ayrıca çalışmada teşhisi yapılan ve en fazla izole edilen diğer türler; *Sydowia polysora, Alternaria altarnata, Aspergillus niger, Fusarium, Fusarium oxysporum, Trichoderma harzianum, Aureobasidium pullulans, Trimmatostroma salicis, Rhizoctonia solani, Chaetomium globosum, Stephylium* sp. olarak rapor edilmiştir.

Oskay ve Karataş (2021) tarafından, iptal edilmiş karaçam ve sarıçam tohum bahçelerinden temin edilen tohumlarda *Diplodia sapinea'*nın varlığı ve yoğunluğu araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, karaçam ve sarıçam tohumlarının ortalama %70'inin (sırasıyla %72 ve 57) *D. sapinea* ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu çalışma Türkiye'de karaçam ve sarıçam tohumlarında *D. sapinea*'nın varlığını ortaya koyan izolasyona dayalı ilk çalışmadır. Karaçam ve sarıçam tohumlarında tespit edilen diğer funguslar arasında *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Trichoderma* spp., *Ulocladium* sp., *Chaetomium* sp. ve *Fusarium* sp., gibi ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda da tespit edilmiş, tohumla ilişkil küf fungusları yer almıştır. Bununla birlikte, söz konusu çalışmada, ülkemizde daha önceden çam tohumlardan rapor edilmemiş, *Sydowia polyspora*, *Xylaria* sp., *Nigrospora* sp. gibi türler de tepit edilmiştir.

Bunlara ek olarak, Cleary *et al.* (2019), çeşitli ülkelerden (İsveç, Portekiz, İngiltere, ABD ve Türkiye) temin edilen bazı çam türlerine ait tohumların fungal topluluklarını yüksek verimli DNA dizileme yaklaşımı ile moleküler olarak belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda, tohumlarda önemli bir kısmı patojenleri içeren çok sayıda fungal takson tespit

etmişlerdir. Tohumlarda tespit edilen en yaygın patojenler; *Sydowia polyspora, Lasiodiplodia theobromae, Diplodia intermedia* ve *Diplodia sapinea* olarak bildirilmiştir.

Bu çalışmalar incelendiğinde, kızılçam tohumları ile ilişkili fungusların; Akıllı (2004), Akıllı ve Katırcıoğlu (2006), Cleary *et al.* (2019) ve Karaman (2021) tarafından yapılan çalışmalarda ele alınmış olduğu anlaşılmaktadır. Akıllı ve Katırcıoğlu (2006), Akıllı (2004), Karaman (2001) ve Cleary *et al.* (2019) tarafından kızılçam tohumlarında tespit edilen funguslar Çizelge 2.1'de sunulmuştur.

**Çizelge 2.1** Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) tohumlarında tespit edilen funguslar

| Tespit edilen funguslar | Kaynaklar | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Akıllı ve Katırcıoğlu (2006)[a] | Akıllı (2004)[b] | Cleary vd., (2019)[c] | Karaman (2021)[d] |
| *Alternaria alternata* | + | + | + | + |
| *Alternaria infectoria* | | | + | |
| *Alternaria tenuissima* | | | + | |
| *Ambrosiella sp.* | | | + | |
| *Amphisphaeriaceae sp.* | | | + | |
| *Ascomycota sp* | | | + | |
| *Aspergillus sp.* | | | + | |
| *Aspergillus niger* | + | + | | |
| *Aureobasidium pullulans* | | | + | + |
| *Buckleyzyma armeniaca* | | | + | |
| *Buckleyzyma* sp. | | | + | |
| *Cephalosporium spp.* | + | | | |
| *Chaetomium sp* | + | + | | |
| *Cladosporium cladosporioides* | | | + | |
| *Cladosporium herbarum* | + | | + | |
| *Cryptococcus skinneri* | | | + | |
| *Cytospora sp* | | | + | |
| *Dothiorella iberica* | | | + | |
| *Diplodia sapinea* (sin.*:Sphaeropsis sapinea)* | | | + | + |
| *Epicoccum sp.* | + | + | + | |
| *Exobasidium maculosum* | | | + | |
| *Filobasidium chernovii* | | | + | |
| *Filobasidium magnum* | | | + | |
| *Filobasidium wieringae* | | | + | |
| *Fusarium* sp. | | | + | + |
| *Fusarium sporotrichioides* | + | + | | |
| *Hyalodendriella sp* | | | + | |
| *Jattaea* sp. | | | + | |
| *Lewia sp.* | | | + | |
| *Lophodermium seditiosum* | | | + | |
| *Malassezia sp* | | | + | |
| *Mucor spp.* | + | + | | |
| *Mycocalicium victoriae* | | | + | |
| *Mycotypha sp.* | + | | | |

**Çizelge 2.1** Kızılçam (Pinus brutia Ten.) tohumlarında tespit edilen funguslar (devam)

| Tespit edilen funguslar | Kaynaklar | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Akıllı ve Katırcıoğlu (2006)[a] | Akıllı (2004)[b] | Cleary vd., (2019)[c] | Karaman (2021)[d] |
| *Naganishia sp* | | | + | |
| *Naganishia albida* | | | + | |
| *Naganishia albidosimilis* | | | + | |
| *Neocucurbitaria cava* (sin*: Pyrenochaeta cava*) | | | + | |
| *Neocucurbitaria unguis-hominis* (Sin*: Pyrenochaeta unguis-hominis)* | | | + | |
| *Penicillium* spp. | + | + | + | |
| *Pestalotiopsis citrina* | | | + | |
| *Phoma* sp. | | | + | |
| *Phaeococcomyces* sp. | | | + | |
| *Pleosporaceae sp* | | | + | |
| *Pleosporales sp* | | | + | |
| *Pseudogymnoascus pannorum* | | | + | |
| *Rhizopogon sp* | | | + | |
| *Rhizopus stolonifer* | + | + | | |
| *Rhytismataceae sp* | | | + | |
| *Quambalaria cyanescens* | | | + | |
| *Sarea difformis* | | | + | |
| *Scolecobasidium sp* | | | + | |
| *Stemphylium sp* | + | + | | |
| *Steril fungusa* | + | | | |
| *Sydowia polyspora* | | | + | + |
| *Symmetrospora gracilis* | | | + | |
| *Tremella sp* | | | + | |
| *Trichoderma harzianum* | | | | + |
| *Trichothecium roseum* | | | + | |
| *Trimmatostroma salicis* | | | | + |
| *Ulocladium sp* | + | + | | |
| *Vishniacozyma victoriae* | | | + | |

İlgili kaynakçada rapor edilen fungus "+" ile işaretlenmiştir. İlgili kaynakçalarda kullanılan yöntemler; a: Blotter yöntemi, b:Agar yöntemi, c Yeni Nesil DNA dizileme yöntemi

## 2.3 Tohumların Uzun Dönem Saklanması

Ormancılık pratiğinde, bol tohum yıllarında temin edilen orman ağacı tohumları, daha sonraki yıllarda kullanılmak üzere saklanmaktadır. Tohumların belirli bir süre saklanabilmesini mümkün kılan temel koşul, tohumun hayati faaliyetlerini en düşük seviyeye indirmek ve bunu saklama süreci boyunca korumaktır. Burada, tohumda solunum asgaride tutularak, besi dokusunda bulunan rezerv maddelerin kullanımının yavaşlatılması esastır (Atay vd. 1970). Saklama sürelerine göre tohumlar; ortodoks ve

rekalsitrant olmak üzere iki gruba ayrılırken, ortodoks tohumlar düşük nem içeriğinde saklama süresi uzun olan, çam, ladin gibi türlere ait tohumları, rekalsitrant tohumlar ise yüksek nem içeriğine sahip, saklama süresi kısa olan meşe gibi türlere ait tohumları kapsar (Bonner 2008, Göktürk vd. 2019).

Ürgenç ve Odabaşı (1971), kızılçam tohumlarında uzun süreli saklamanın çimlenmeye olan etkisini araştırmışlardır, araştırma sonunda 5 farklı orijine ait Kızılçam tohumlarında başlangıçtaki çimlenme yüzdesini ortalama %79.8, 8 yıl sonra açıkta oda sıcaklığında saklanan tohumlarda ortalama %66.1, ağzı kapalı kaplarda 5-7 $^{0}$C de saklanan tohumlarda ise %66.6 olarak tespit etmişlerdir.

Aslan (1972), ibreli ağaç türlerimizin tohumlarının saklanma sürelerinin tayini üzerine denemeler adlı çalışmasında; uygun koşullar altında (+4 $^{0}$C ve ağzı kapalı kaplarda) ladin tohumlarının 3-4 yıl, sarıçam tohumlarının 8 yıl, karaçam tohumlarının 7 yıl ve kızılçam tohumlarının 5-6 yıl çimlenme kabiliyetini yitirmeden saklanabileceğini tespit etmiştir. Yine Ürgenç ve Odabaşı (1971), kızılçam tohumlarının +4 ºC de kuru saklama yöntemi ile 5-6 yıl çimlenme kabiliyetini yitirmeden saklanabildiğini tespit etmişlerdir. Diğer bir araştırmada ise Boydak (1982), karaçam tohumlarının çimlenme kabiliyetini yitirmeden 8-10 yıl, sarıçam tohumlarının ise 5-6 yıl saklanabildiğini tespit etmiştir.

Atay vd. (1970), 8 yıl saklanan karaçam, sarıçam ve ladin tohumlarının çimlenme kabiliyetini araştırdıkları çalışmalarında, başlangıçtaki ve 8 yıl sonraki çimlenme yüzdelerini karaçamda %99 ve %94, sarıçamda %82,3 ve %42,4, Doğu ladininde ise %82,5 ve %37,6 olarak tespit etmişlerdir. Diğer taraftan, Temel vd. (2011), 10 yıl süreyle saklanan karaçam tohumlardaki çimlenme hızının ve çimlenme yüzdesinin sırayısyla %79,93'ten %30,68'e ve %95,99'dan %58,41'e düştüğünü tespit etmişlerdir.

# 3. MATERYAL VE METOT

## 3.1 Materyal

Çalışmanın ana materyalini Antalya Orman Fidanlığı soğuk hava deposunda uzun süre saklanan (4-24 yıl aralığında) kızılçam tohumları oluşturmaktadır. Söz konusu tohumlar tohum bahçelerinden temin edilmiş olup tohum toplanan alanlara ait bilgiler Çizelge 3.1'de verilmiştir. 4 farklı orijine ait tohumlarda saklama periyotları tohum stok durumu da göz önünde bulundurularak 3-5 yıl arasında seçilmiştir. Toplamda orijinlerde 5 farklı saklama yılına ait tohumlarda çalışılmıştır. Gündoğmuş orijininde ise sadece 2 farklı saklama yılına ait tohumlarda çalışılmıştır (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1** Çalışmada kullanılan tohum materyaline ilişkin bilgiler

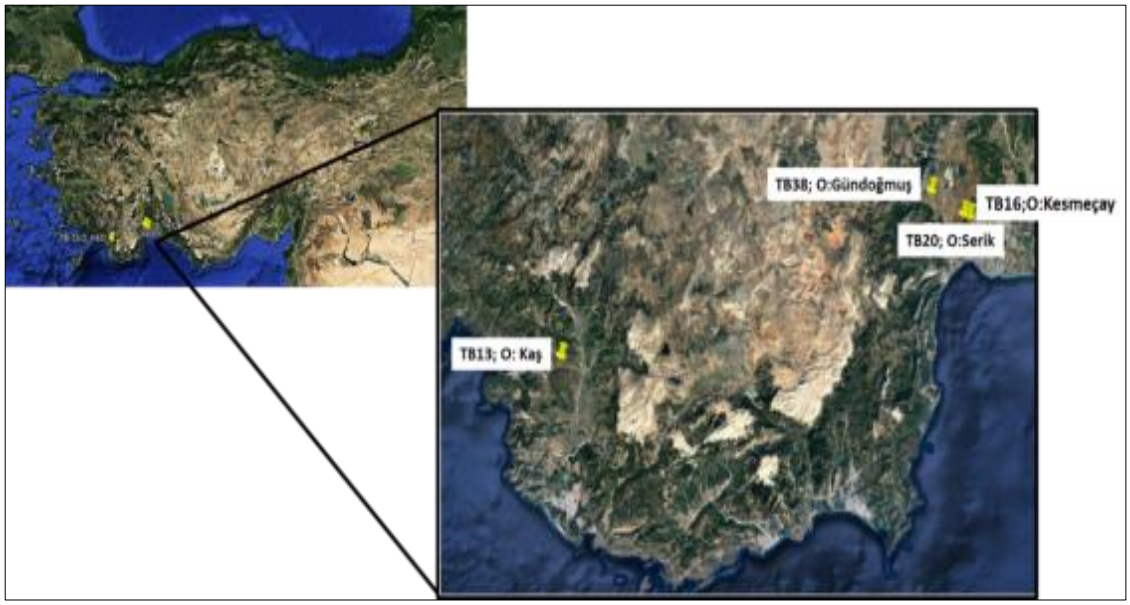
| No | Orijin | Yükselti (m) | Tohum kaynağı UK No** | TB kurulduğu İşletme Müdürlüğü-Şefliği | Koordinatlar | Min-Max tohum saklama süresi (yıl) | Tohum toplama yılı |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Karaçay-Kaş | 1050 | TB*-13 | Kemer-Akçay | 36° 38' 38"D 29° 17' 08"K | 6-22 | 1999, 2004, 2008, 2011, 2015 |
| 2 | Kesmeçay-Antalya | 320 | TB-16 | Antalya-Döşemealtı | 36° 58' 00" 30° 40' 42" | 4-23 | 1998, 2005, 2008, 2014, 2017 |
| 3 | Pınarözü-Serik | 500 | TB-20 | Antalya-Döşemealtı | 36°58' 15" 30° 39' 33" | 4-18 | 2003, 2008, 2012, 2014, 2017 |
| 4 | Gündoğmuş -Antalya | 1000 | TB-38 | Antalya-Düzlerçamı | 37° 01' 30" 30° 32' 54" | 8-24 | 1997, 2013 |

*TB: Tohum Bahçesi **UK No: Ulusal Kayıt No

Söz konusu orijinlere ait tohumlar 2019 yılı içerisinde Antalya Fidanlık Müdürlüğünden resmi yazı ile temin edilerek gerekli analizler yapılıncaya kadar Çankırı Karatekin Üniversitesi Orman Fakültesi Silvikültür Anabilim Dalı Tohum Teknolojisi ve Orman Ekofizyolojisi Laboratuvarında buzdolabında +4 $^{0}$C ağzı kapalı kaplarda saklanmıştır.

Her birtohum kaynağı ve tohum toplama yılı için 100 adet tohum kullanılmıştır. Buna göre çalışmada toplam 1700 adet tohum kullanılmıştır.

Antalya'da yer alan TB-16, TB-20 birbirine yaklaşık 1,5 km mesafede, TB-38'e yaklışık 14 km uzaklıkta birbirine yakın sahalar olup, TB-13 nolu bahçe Muğla sınırları içerisindedir (Şekil 3.1).




**Şekil 3.1** Araştırmada kullanılan kızılçam tohumlarının temin edildiği tohum bahçelerinin konumunu gösterir Google Earth ekran görüntüsü

Tohumlar toplanıldıkları yıldan itibaren Antalya Orman Fidanlığı soğuk hava deposunda metal kaplar içerisinde +4C'de muhafaza edilmiştir. Buna göre çalışmada kullanılan tüm tohumlar aynı koşullar altında depolanmıştır. Tohumlar saklama sürelerinin uzunluğuna göre 5 gruba ayrılmıştır (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2** Tohumların saklama süresine göre gruplandırılması

| Tohum toplama yılı | Tohum yaş/saklama süresi | Saklama süresi aralığı | Saklama süresi grup kodu |
|---|---|---|---|
| 2017 | 4 | 0-5 | A |
| 2011-2012-2013-2014-2015 | 6-7-8-9-10 | 6-10 | B |
| 2008 | 13 | 11-15 | C |
| 2003-2004-2005 | 16-17-18 | 16-20 | D |
| 1997-1998-1999 | 21-22-23 | 21-25 | E |

## 3.2 Metot

### 3.2.1.Kızılçam tohumlarından fungusların izolasyonu

Fungal mikrobiota, besi ortamına izolasyona dayalı klasik yaklaşımla belirlenmiştir. Bu çalışmada tohumların içerisinde kolonize olmuş fungusların izolasyonuna odaklanılmış, buna göre kızılçam tohumlarında derin enfeksiyon yapan fungusları belirlemek amacıyla "agar yöntemi" kullanılmıştır.

Tohumlar ilk olarak yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Yüzey sterilizasyonu için tohumlar 10 dakika %4'lük NaOCl de, ardından 5'er dakika süreyle steril saf suda bekletilmiştir. Yüzey sterilizasyonu tamamlanan tohumlar steril kurutma kağıtları arasında aseptik koşullarda kurutulduktan sonra içerisinde Patates dekstroz agar (PDA) bulunan 90 mm'lik plastik petri kaplarına yerleştirilmiştir. Her bir petriye 10 adet tohum ekimi yapılmıştır. Tohum ekimi tamamlandıktan sonra Petri kaplarının etrafı parafilm ile sarılmış ve 20°C de karanlıkta inkubasyona bırakılmıştır (Şekil 3.2).

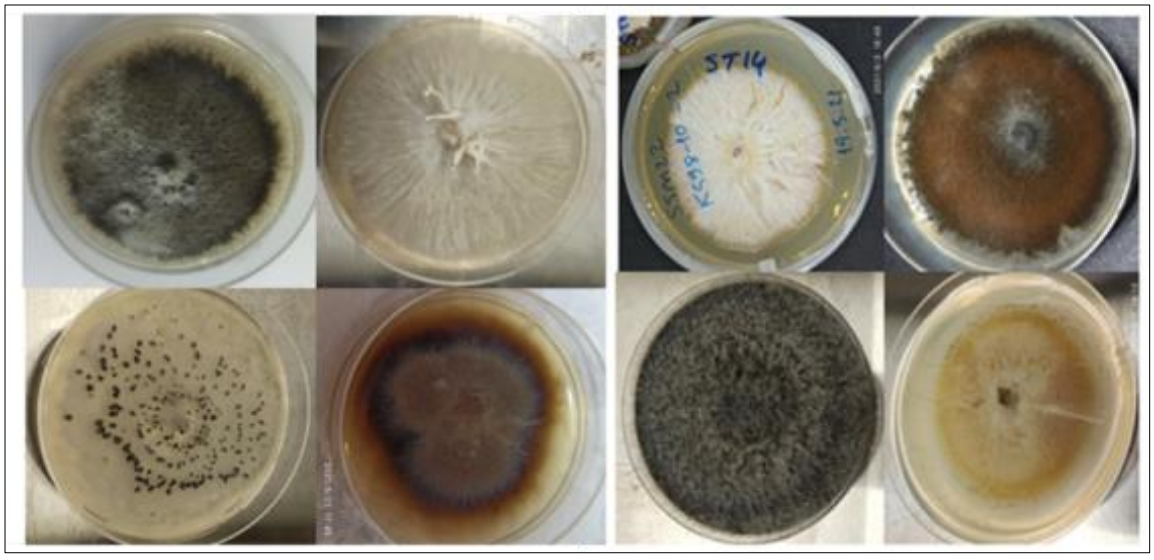


**Şekil 3.2** Tohumların petri kabına ekimi ve 20°C'ye ayarlı inkubatöre yerleştirilmesi.

### 3.2.2 Fungusların saflaştırılması

Besi ortamına ekimi yapılan tohumlarda fungal kolonilerin gelişimi düzenli aralıklarla (3-4 günde bir) izlenmiştir. On-on beş günlük inkubasyon periyodunun ardından tohumlardan gelişen fungal koloniler, içerisinde %1.5'lik MEA bulunan 60 mm çapındaki Petri kaplarına aktarılarak saflaştırılmıştır. Hızlı gelişen koloniler tespit edildiği gün saflaştırılmıştır. Hızlı gelişen kolonilerin bulunduğu Petri kabındaki diğer tohumlar gerekli görülmesi halinde bulaşmaları önlemek adına yeniden PDA ortamına aktarılmıştır.

Saflaştırılan funguslar, inkubatöre yerleştirilmiş ve 20 °C'de, karanlıkta 10 gün inkubasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, izolatlar koloni morfolojilerine göre (koloni rengi, tekstürü, ortam rengi vb.) morfolojik gruplara ayrılmıştır (Şekil 3.3). Her bir morfotipi temsilen bir izolat referans izolat olarak seçilmiş ve klasik ve moleküler yöntemlerden faydalanılarak teşhise alınmıştır.




**Şekil 3.3** Koloni morfolojilerine göre morfotiplere ayrılan izolatlardan bazıları (MEA besi ortamnıda yaklaşık 14 günlük kolonilerin üstten görünümü)

### 3.2.3 Fungusların teşhisi

#### *Morfolojik tanı*

Morfotip referans izolatlar ilk olarak geleneksel yöntemlerden faydalanılarak; izolatların koloni morfolojileri ve mikroskobik özelliklerine göre morfolojik olarak teşhis edilmeye çalışılmıştır. Bunun için her bir izolatlardan mikorskopik inceleme için steril saf su kullanılarak preparatlar hazırlanmış ve bunlar 10-400 büyültmeli mikroskop altında incelenmiştir. Fungus tanısında temel mikolojik yayınlardan yararlanılırken, taksonların geçerli adları, sinonimleri ve yazar isimleri ile taksonomileri "www.indexfungorum.org" ve "https://www.mycobank.org" veritabanlarından kontrol edilmiştir.

#### *Moleküler teşhis*

Morfolojik olarak, tür ya da cins seviyesinde teşhis edilemeyen morfotip izolatlarının tanısı molekület olarak gerçekleştirilmiştir. Moleküler tanı; i)DNA ekstraksiyonu, ii) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), iii) sanger dizileme ve iv)dizi analizleri aşamalarından oluşmutur. Sanger dizileme ticarei bir firma aracılığı ile hizmet alımı yolu ile gerçekleştirilirken diğer aşamalar, ÇAKU, Orman Patolojisi Ballıca Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### *DNA ektraksiyonu*

İzolatlar sellofan membran kaplı MEA besi ortamına aktarılmış ve karanlıkta 20°C'de 7-14 gün inkübe edilmiş, ardından ortamda gelişen miseller, bistüri yardımı ile selofan membran kazınmış ve 2 mL'lik steril mikrosantrifuj tüplerine aktarılmıştır. DNA izolasyonu için 60-100 mg misel ayrı bir mikrosantifüj tüpüne alınmış ve içerisine 3 mm çapında 6-7 adet steril edilmiş metal boncuklar eklenmiştir. İçerisinde miseller ve metal boncukar olan tüpler en yüksek hızda en az 10 dakika vortekslenmiştir. Bu süre miseller iyice parçalanınya kadar gerektiği kadar uzatılmıştır. Misellerden DNA, GeneJet

Genomic DNA (Thermo-Scientific) hazır ekstraksiyon kiti kullanılarak, kitin protokolüne göre ekstrakte edilmiştir.

İzolatlara ait genomik DNAların rDNA ITS bölgeleri, ITS1-ITS4 primer çifti (White *et al.* 1990) ile, Solis Biodyne (Estonya) FIREPol® DNA Polymerase Taq polimeraz enzimi kullanılarak yürütülen reaksiyonlar ile çoğaltılmıştır. PCR amplifikasyonu sonrasında PCR ürünleri %1.5 agaroz jelde elektroforezde yürütülmüş ve ardından jel görüntüleme sisteminde agaroz jelde ilgili örnekkde bant bulunup bulunmadığı incelenmiştir. Uygun büyüklükte bant bulunan PCR ürünleri, ITS5 primeri kullanılarak tek taraflı olarak diziletilmiştir. Sanger dizileme işlemi, ticari bir firma aracılığıyla (BM LABOSİS, Ankara, Türkiye) gerçekleştirilmiştir.

***DNA dizi analizleri ve tür tayini***

DNA dizileri BioEdit (Ibis Bioscience, CA, USA) kullanılarak kontrol edilmiş ve gerekli durumlarda manuel olarak düzenlenmiştir. Diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) nükleotid veritabanında yer alan diğer dizilerle BLAST algoritması kullanılarak karşılaştırılmıştır. BLAST taramaları Genbankasında yer alan tip materyallere ait diziler ile karşılaştırma yapılacak şekilde ayarlanmıştır. Tür seviyesinde teşhis kriteri dizinin gen bankasındaki türlerle %99 ve üzerinde benzerlik göstermesi olarak belirlenmiştir.

### 3.2.4 Biyolojik çeşitlilik hesaplamaları ve fungal toplulukların analizi

Çalışmada fungal biyoçeşitlilik hesaplamalarında; "Biyoloik Çeşitlilik Bileşen (Biçep) Hesaplama Yazılımı" (Özkan vd. 2020) ve PAST4 (Paleontological Statıstıcs Software Package For Educatıon And Data Analysis) kullanılmıştır. Hesaplanan indisler; Tür Zenginliği (S), Chao1, Shanon ve Simpson indisleridir.

Tohumlardan izole edilen takson adetlerinin tohum kaynakları (orijin) ve saklama süresi gruplarınına göre ayrılmaları Venn diagramları oluşturularak görselleştirilmiştir. Bu amaçla, InteractiVenn kullanılmıştır (Heberle *et al.* 2015).

### 3.2.5 Tohumlarda fungal kolonizasyon oranlarının ve çimlenme yüzdelerinin belirlenmesi ve analizi

Her bir tohum kaynağı (orijin) ve tohum toplama yılına ait tohumların ekildiği her bir Petri kabına ve her bir petri kabındaki tohumlara numara verilmiştir (1-10). Tohumlar besi ortamına ekildikten sonra 3-4 günde bir kontrol edilmiş ve kontroller sırasında tohum üzerinde herhangi bir fungal koloni gelişimi gözlemlendiğinde ilgili tohum kaynağı ve saklama süresi grubuna ait föy üzerinde petri numarası ve tohum numarası işaretlenmiştir.

Tohumlarda fungal kolonizasyona ek olarak aynı tohumların besi ortamındaki çimlenmeleri de takip edilmiştir. Deneme sürecinde kökçüğü, tohum boyunun 1-1,5 katı olan tohumlar çimlenmiş kabul edilip ilgili çimlendirme föylerine kaydedilmiştir.

Fungal kolonizasyon ve çimlenme takibi 26.3.2021-.15.4.2021 tarihleri arasında 25 gün sürmüş olup ortalama 3 gün aralıklarla bakılarak ilgili föylere kayıtlar alınmıştır. Değerlendirmeler, 25. günde yapılan son gözlem sonuçları esas alınarak hesaplanmıştır.

Tohumlarda fungus yoğunluğu (fungal kolonizasyon yüzdesi) ve çimlenme yüzdesi her bir tohum kaynağı ve saklama süresi grubu için (Çizelge 3.2), üzerinde fungal koloni gelişimi gözlemlenen tohumların yüzdesi (fungal gelişim görülen tohum adedi x100/ toplam tohum adedi, çimlenen tohum adedix100/toplam tohum adedi) şeklinde hesaplanmıştır.

Farklı tohum kaynaklarından (orijinlerden), farklı yıllarda toplanarak saklanan tohumlarda fungal kolonizasyon ve çimlenme yüzdeleri bakımından fark olup olmadığı varyans analizleri ile belirlenmiştir. Varyans analizleri yapılmadan önce verilerin normal dağılım gösterip göstermediği test edilmiş, normal dağılım göstermeyen verilerde non-

parametrik varyans analizi olarak Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Saklama süresi, orijin, fungal kolonizayon yüzdesi ve çimlenme yüzdeleri arasındaki ilişkiler korelasyon analizleri ile test edilmiştir. İstatistik analizler SPSS (Versiyon 20, IBM) istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

# 4. BULGULAR

## 4.1 Kızılçam Tohumlarında Tespit Edilen Funguslar

Çalışmada, toplam 1700 adet tohumdan 210 adet izolat (%12,5) elde edilmiştir. Gündoğmus, Kaş, Kesmeçay, Serik orijinli tohum kaynaklarında sırasıyla 11 (%5,23), 21 (%10), 80 (%38,09), 98 (%46,6) fungus izole edilmiştir. Saklama süresi gruplarına göre (0-5, 6-10, 11-15, 16-20, 21-25 yıllık tohumlar) kızılçam tohumlarından izole izolat adetleri sırasıyla 87, 51, 12, 36, 24 tür.

Çalışmada 105 adet farklı morfotip grubu belirlenmiş, bunların bir kısmı morfolojik ve mikroskobik özelliklerine göre cins ya da tür seviyesinde teşhis edilirken, 48 adet morfotip izolatı ise moleküler olarak teşhis edilmek üzere ayrılmıştır. ITS dizilemesi sonucunda, 48 izolatın 47 adedinin teşhisi gerçekleştirilmiştir. Toplam 47 izolatın ITS gen bölgesi DNA dizi analizleri yapılmış ve analizler sonucunda tür ya da cins seviyesinde toplam 21 faklı takson teşhis edilmiştir (Çizelge 4.1).

Moleküler ve morfolojik olarak teşhis edilen funguslar tür ya da cins seviyesinde toplam 33 fungal taksonu temsil etmektedir. Teşhis edilen taksonlar alfebetik sıraya göre; *Aequabiliella* sp., *Alternaria* spp..(5 takson), *Aspergillus* spp. (7 takson), *Botryotinia* sp., *Butlerelfia* sp., *Cladosporium* spp. (2 takson), *Didymosphaeria* sp., *Diplodia sapinea*, *Kalmusia variispora*, *Lophodermium seditiosum*, *Neocucurbitaria* sp., *Neofusicoccum mediterraneum*, *Nothophoma* sp., *Ochroconis* sp., *Penicillium* spp. (takson ayrımı yapılmamıştır), *Schizophyllum commune*, *Sistotrema brinkmannii*, *Stereum hirsutum*, *Sydowia polyspora*, *Trichoderma* sp. ve *Trichothecium roseum*'dur. Bunlara ek olarak tohumlardan izole edilen 210 adet izolattan 31 adedi teşhis edilememiş (UN; unidentified), dizilemeye gönderilen bir fungusun ise taksonomik ataması yapılamamıştır (*Ascomycota* sp.).

## 4.2 Tohumlarda Tespit Edilen Fungusların Taksonomik Çeşitliliği

Teşhis edilen funguslardan 30 takson Ascomycota, 4 takson Basidiomycota bölümüne dahildir. Kızılçam tohumlarında Ascomycota (174) ve Basidiomycota (5) bölümlerine dahil toplam 179 izolat tespit edilmiştir. Buna göre kızılçam tohumlarında teşhisi yapılan fungusların % 97,2' si Ascomycota bölümüne dahildir. Basidiomycota bölümüne dahil fungusların izolasyon oranı %2,79 olarak belirlenmiştir. Kızılçam tohumlarından izole edilen fungusların taksonomik dağılımları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

İzolat sayılarına bakıldığında Ascomycota bölümüne dahil en yaygın Dothideomycetes (71 izolat), Sordariomycetes (61 izolat), Eurotiomycetes (35 izolat) sınıfları, en düşük olarak da Leotiomycetes (6) sınıfı bulunmuştur. Basidiomycota bölümünde tek sınıf olarak Agaricomycetes (5 izolat) tespit edilmiş ve tüm izolatlar arasında en düşük izolasyon oranına sahip sınıf olarak belirlenmiştir.

İzolat sayılarına göre en yüksek sayıya sahip takımlar; Calosphaeriales (59), Pleosporales (52), Eurotiales (29), Dothideales (10) 'tir.

Çalışmada elde edilen izolatlardan en yaygın olarak Calosphaeriaceae (59), Aspergillaceae (29), Pleosporaceae (27), Cucurbitariaceae (18), Dothioraceae (10), Botryosphaeriaceae (6), Celotheliaceae (6) aileleri tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.1** ITS dizilemesi sonuçları

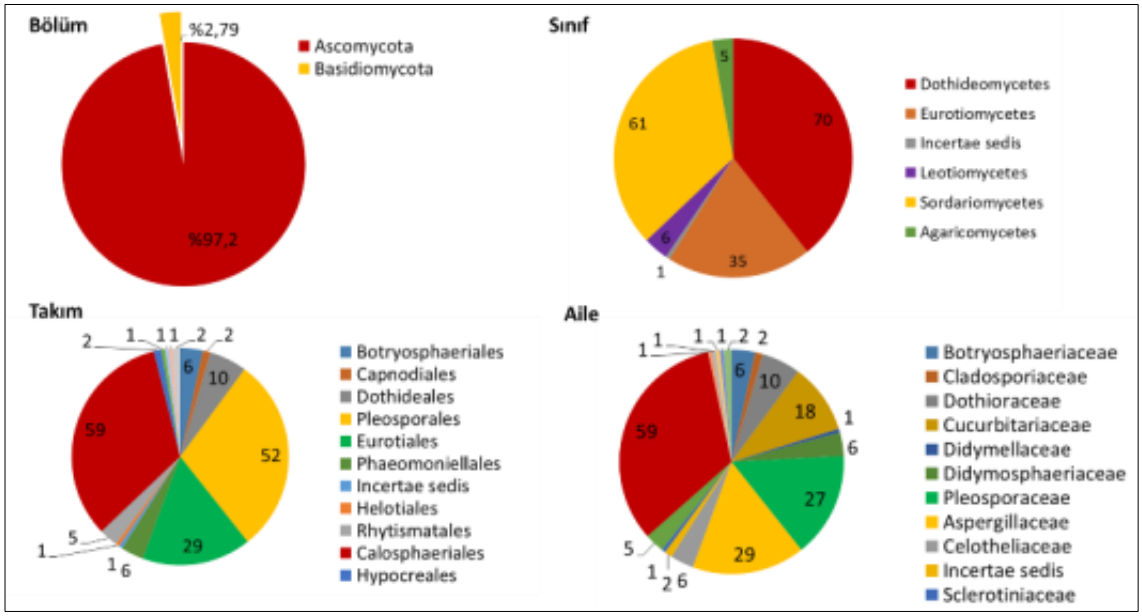
| DNA No | Morfotip | İzolat adı | Tanı | İzolatın benzerlik gösterdiği Genbankası referans diziler | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Organizma adı | Benzerlik (%) | GenBank kodu |
| 25 | Ssm50-2 | S14-2-9 | *Aequabiliella* sp. | *Aequabiliella effusa* | 99,04 | NR_132005.1 |
| 45 | ssm101-3 | S14-5-2 | *Aequabiliella* sp. | *Aequabiliella effusa* | 99,42 | NR_132005.1 |
| 24 | Ssm41 | KÇ17-9-3 | *Alternaria* sp2. | *Alternaria infectoria* | 99,63 | NR_131263.1 |
| 15 | Ssm25-3 | KÇ17-9-6 | *Alternaria* sp2. | *Alternaria ethzedia* | 99,42 | MH861941.1 |
| 16 | Ssm26 | S03-6-10(1) | *Alternaria* sp3. | *Alternaria murispora* | 99,79 | NR_137964.1 |
| 22 | Ssm47 | KÇ17-6-6(1) | *Alternaria* sp1. | *Alternaria angustiovoidea* | 100 | MH861939.1 |
| 3 | Ssm5 | KÇ98-3-9 | *Aspergillus* sp1. | *Aspergillus quadrilineatus* | 99,63 | NR_131263.1 |
| 4 | Ssm6 | KÇ98-10-10 | *Aspergillus* sp1. | *Aspergillus quadrilineatus* | 100 | NR_131289.1 |
| 14 | Ssm22 | KÇ98-10-2 | *Aspergillus* sp1. | *Aspergillus quadrilineatus* | 100 | NR_131289.1 |
| 21 | ssmx | S12-2-1 | *Botryotinia sp*. | *Botryotinia* sp. | 99,79 | KY777361.1 |
| 10 | Ssm11 | S17-7-1(1-2) | *Butlerelfia* sp. | *Butlerelfia eustacei* | 99,7 | NR_159781.1 |
| 20 | Ssm31 | S14-10-1(1-2-3) | *Cladosporium* sp. | *Cladosporium subcinereum* | 100 | NR_148193.1 |
| 13 | Ssm15 | KÇ17-7-3 | *Didymosphaeria* sp. | *Didymosphaeria* | 99,63 | NR_137006.1 |
| 17 | Ssm30 | S03-5-4 | *Diplodia sapinea* (Fr.) Fuckel | *Diplodia sapinea* | 100 | NR_152452.1 |
| 11 | Ssm12 | K08-6-6(1-2) | Dizileme başarısız | | | |
| 31 | Ssm53 | K15-9-7 | *Jattea* sp. | *Jattaea discreta* | 99,81 | MT431362.1 |
| 42 | Ssm101-1 | G13-7-1(1) | *Jattea* sp. | *Jattaea taediosa* | 98,54 | NR_136136.1 |
| 30 | Ssm52 | S17-6-9 | *Jattea* sp. | *Jattaea discreta* | 99,81 | MT431362.1 |
| 33 | Ssm54-5 | S03-9-3(1) | *Jattea* sp. | *Jattaea discreta* | 99,81 | MT431362.1 |
| 35 | Ssm56-2 | S03-8-2 | *Jattea* sp. | *Jattaea discreta* | 99,81 | MT431362.1 |
| 43 | Ssm101-1 | K11-10-4(1,2) | *Jattea* sp. | *Jattaea discreta* | 99,81 | MT431362.1 |
| 44 | ssm101-2 | S08-1-1 | *Jattea* sp. | *Jattaea discreta* | 98,35 | NR_166038.1 |
| 12 | Ssm14 | S17-9-4 | *Kalmusia* sp. | *Kalmusia variispora* | 99,8 | NR_145165.1 |
| 46 | Ssm102 | G97-7-1(1,2) | *Kalmusia* sp. | *Kalmusia variispora* | 100 | NR_145165.1 |
| 47 | Ssm103 | G97-7-2 | *Kalmusia sp*. | *Kalmusia variispora* | 100 | NR_145165.1 |
| 7 | Ssm19 | K15-1-1 | *Lophodermium seditiosum* Minter, Staley & Millar | *Lophodermium seditiosum* | 99,53 | KU041712.1 |
| 8 | Ssm74 | KÇ17-10-4 | *Lophodermium seditiosum* | *Lophodermium seditiosum* | 99,77 | KU041712.1 |
| 9 | Ssm75 | S17-3-1 | *Lophodermium seditiosum* | *Lophodermium seditiosum* | 100 | KU041712.1 |

**Çizelge 4.1** ITS dizilemesi sonuçları (devam)

| DNA No | Morfotip | İzolat adı | Tanı | İzolatın benzerlik gösterdiği Genbankası referans diziler | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Organizma adı | Benzerlik (%) | GenBank kodu |
| 27 | Ssm43-8 | S17-1-1(2) | *Neocucurbitaria* sp. | *Neocucurbitaria juglandicola* | 99,61 | NR_156358.1 |
| 36 | Ssm57-1 | S17-1-8(1) | *Neocucurbitaria* sp. | *Neocucurbitaria juglandicola* | 99,8 | NR_156358.1 |
| 23 | Ssm45 | S03-1-10(2) | *Neocucurbitaria* sp. | *Neocucurbitaria juglandicola* | 99,61 | NR_156358.1 |
| 28 | Ssm43-9 | KÇ17-9-9 | *Neocucurbitaria* sp. | *Neocucurbitaria juglandicola* | 99,8 | NR_156358.1 |
| 29 | Ssm44-1 | S17-4-1 | *Neocucurbitaria* sp. | *Neocucurbitaria juglandicola* | 100 | NR_156358.1 |
| 38 | Ssm61 | S03-8-4 | *Neocucurbitaria* sp. | *Neocucurbitaria juglandicola* | 100 | NR_156358.1 |
| 49 | Ssm104 | S17-9-3(1,2) | *Neocucurbitaria* sp. | *Neocucurbitaria juglandicola* | 100 | NR_156358.1 |
| 5 | Ssm7 | KÇ17-8-4 | *Neofusicoccum mediterraneum* Crous, M.J. Wingf. & A.J.L. Phillips | *Neofusicoccum mediterraneum* | 100 | MN593196.1 |
| 19 | Ssm29-1 | KÇ17-8-5 | *Neofusicoccum mediterraneum* | *Neofusicoccum mediterraneum* | 100 | KY711221.1 |
| 41 | Ssm67 | KÇ17-10-9 | *Nothophoma* sp. | *Nothophoma anigozanthi* | 99,78 | NR_135992.1 |
| 50 | Ssm105 | K15-1-8(1) | *Ochroconis* sp. | *Ochroconis tshawytschae* | 99,71 | NR_111435.1 |
| 2 | Ssm2 | S14-8-1(1-2-3) | *Schizophyllum commune* Fr. | *Schizophyllum commune* | 100 | MK269269.1 |
| 48 | Ssm85 | G97-8-2(2) | *Sistotrema brinkmannii* (Bres.) J. Erikss | *Sistotrema brinkmannii* | 99,83 | LN714605.1 |
| 6 | Ssm8 | KÇ98-10-9 (1) | *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. | *Stereum hirsutum* | 100 | KU973867.1 |
| 1 | Ssm1 | S03-2-5 | *Stereum hirsutum* | *Stereum* sp. | 99,63 | MK050606.2 |
| 37 | Ssm59-2 | KÇ17-5-1(2) | *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll | *Sydowia polyspora* | 99,1 | MK762617.1 |
| 39 | Ssm64-1 | S17-10-7/2(1) | *Sydowia polyspora* | *Sydowia polyspora* | 99,07 | KY659505.1 |
| 40 | Ssm71 | S17-3-4 | *Sydowia polyspora* | *Sydowia polyspora* | 99,63 | MN636228.1 |
| 18 | Ssm38 | S03-7-3 | unidentified, *Ascomycota* sp. | | | |

**Çizelge 4.2** Kızılçam tohumlarından teşhis edilen fungusların taksonomik çeşitliliği

| Bölüm | Sınıf | Takım | Aile | Taxon | Takson sayısı | izolat sayısı |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ascomycota | | | | Unidentified *Ascomycota* sp. | 1 | 1 |
| | Dothideomycetes | Botryosphaeriales | Botryosphaeriaceae | *Diplodia sapinea* | 1 | 1 |
| | | | | *Neofusicoccum mediterraneum* | 1 | 5 |
| | | Capnodiales | Cladosporiaceae | *Cladosporium* spp. | 2 | 2 |
| | | Dothideales | Dothioraceae | *Sydowia polyspora* | 1 | 10 |
| | | Pleosporales | Cucurbitariaceae | *Neocucurbitaria* sp. | 1 | 18 |
| | | | Didymellaceae | *Nothophoma* sp. | 1 | 1 |
| | | | Didymosphaeriaceae | *Didymosphaeria* sp. | 1 | 1 |
| | | | | *Kalmusia* sp. | 1 | 5 |
| | | | Pleosporaceae | *Alternaria* spp. | 5 | 27 |
| | | Venturiales | Sympoventuriaceae | *Ochroconis* sp. | 1 | 1 |
| | Eurotiomycetes | Eurotiales | Aspergillaceae | *Aspergillus* spp. | 7 | 23 |
| | | | | *Penicillium* spp. | 1* | 6 |
| | | Phaeomoniellales | Celotheliaceae | *Aequabiliella* sp | 1 | 6 |
| | Leotiomycetes | Helotiales | Sclerotiniaceae | *Botryotinia* sp. | 1 | 1 |
| | | Rhytismatales | Rhytismataceae | *Lophodermium seditiosum* | 1 | 5 |
| | Sordariomycetes | Calosphaeriales | Calosphaeriaceae | *Jattaea* sp. | 1 | 59 |
| | | Hypocreales | Hypocreaceae | *Trichoderma* sp. | 1 | 1 |
| | | | Incertae | *Trichothecium roseum* | 1 | 1 |
| Basidiomycota | Agaricomycetes | Agaricales | Schizophyllaceae | *Schizophyllum commune* | 1 | 1 |
| | | Atheliales | Atheliaceae | *Butlerelfia* sp. | 1 | 1 |
| | | Cantharellales | Hydnaceae | *Sistotrema brinkmannii* | 1 | 1 |
| | | Russulales | Stereaceae | *Stereum hirsutum* | 1 | 2 |
| | | | | Teşhis edilemeyen izolatlar (UN) | | 31 |
| | | | | Toplam | 34 | 210 |




**Şekil 4.1** Kızılçam tohumlarından elde edilen izolatların Bölüm, Sınıf, Takım ve Aile seviyelerinde izolat sayılarına göre dağılımları

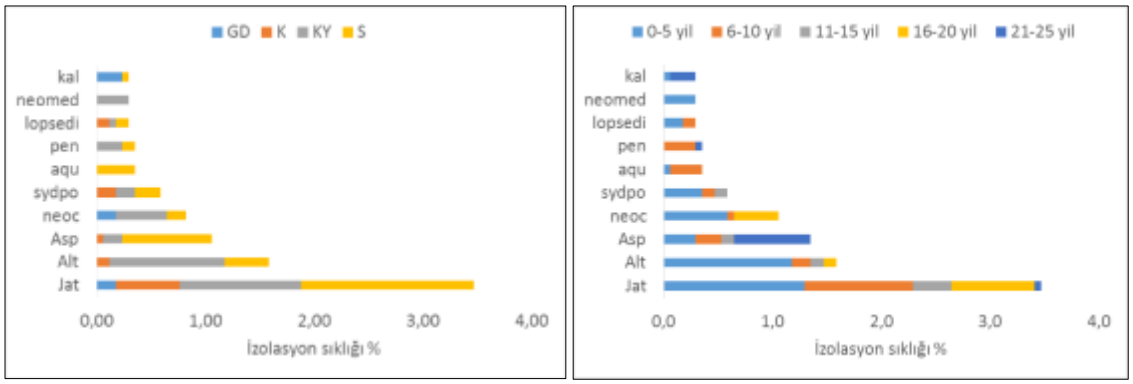
### 4.3 Fungusların Bulunma Sıklıkları

Kızılçam tohumlarından izole edilen funguslar cins ve tür seviyesinde teşhis edildikten sonra elde edilen izolatlar arasındaki bulunma sıklıkları hesaplanmıştır. En yüksek görülme oranı olan fungus; %28,10 ile *Jattae* sp.'dir. Bunu %8,57 oranıyla *Neocucurbitaria* sp. takip etmektedir. Bulunma sıklığı düşük olan funguslar *Ascomycota* sp., *Butfeleria* sp., *Botryotinia* sp., *Cladosporium* sp1. *Cladosporium* sp2., *Didymosphaeria* sp., *Diplodia sapinea, Nothophoma* sp., *Ochroconis* sp., *Schizophyllum commune, Sistotrema brinkmannii, Stereum hirsutum, Trichoderma* sp., *Trichothecium roseum*'dur. Fungusların tohum kaynağı ve toplama yıllarına göre izolasyon sıklıkları Ek 1'de verilmiştir.

Kızılçam tohumlarından izole edilen taksonların tohumlardan izole edilme sıklıkları %12,35 ile %0,06 arasında değişmiştir. İzole edilen funguslar arasından en yaygın ilk 10 taksonun izolat sayısı 5 ve daha fazla olup bunlar izolasyon sıklığına göre sırasıyla *Jattaea* sp., *Neocucurbitaria* sp., *Sydowia polyspora, Aequabiliella* sp., *Lophodermium seditiosum, Neofusicoccum mediterraneum* ve *Kalmusia variispora*'dır (sırasıyla; %3,5,

%0,8, %0,6, %0,4, %0,3, %0,3, %0,3; Şekil 4.2). Yaygın olarak izole edilen taksonlar arasında ilk sıralarda *Alternaria* spp. (tüm Alternaria taksonları), *Aspergillus* spp. (Tüm Aspergillus taksonları) ve *Penicillium* spp. de yer almıştır (sırasıyla; %1,6, %1,1, %0,4); (Şekil 4.2). Bu fungusların orijinlere ve yıllara göre yaygınlıkları Şekil 4.2'de sunulmuştur. Şekil 4.2 incelendiğinde, *Aspergillus* spp. ve *K. variotii*'nin sıklıkla çok yaşlı tohumlarda (>21 yaş) *Alternaria* spp., *N. mediterraneum*, ve *S. polyspora*'nın daha çok genç tohumlarda bulunduğu görülmektedir. Bununla birlikte *Jattaea* sp. ve *Neocucurbitaria* sp.'nin her yaş grubundan tohumda görülebildiği anlaşılmaktadır.

Tohum kaynağına göre yaygın funguslar ele alındığında, *Jattaea* sp.'nin tüm orijinlerde görülmekle birlikte en yaygın olarak Serik orijinli tohumlarda görüldüğü, *S. polyspora*'nın Gündoğmuş hariç tüm orijinlerde hemen hemen eşit oranlarda bulunduğu, *Aequabiliella* sp. ve *K. variispora*'nın yalnızca Serik orijinli tohumlarda görüldüğü anlaşılmaktadır.

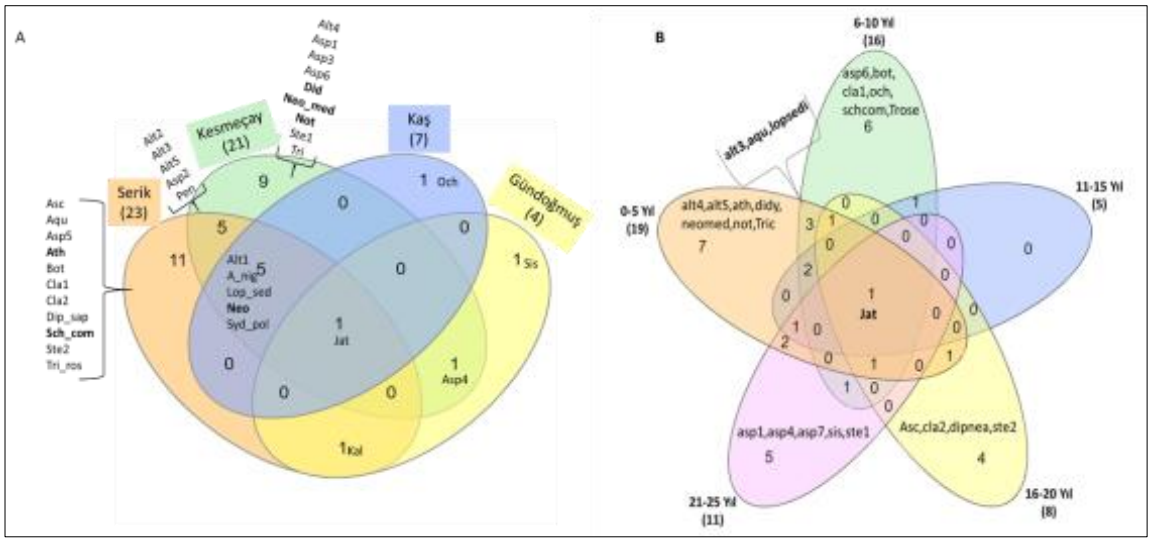



**Şekil 4.2** En sık izole edilen ilk 10 taksonun orijin ve saklama sürelerine göre izolasyon sıklıkları

Fungal taksonların, orijinler ve saklama süresi gruplarında birlikte ya da ayrı görülme durumları Venn digramları kullanılarak görselleştirilmiştir (Şekil 4.3). Şekil incelendiğinde, tüm orijinler ve tüm saklama gruplarında ortak olarak görülen 1 adet takson olduğu anlaşılmaktadır. Tüm orijinlerde ve saklama süresi gruplarına ait tohumlardan ortak izole edilen bu tek takson *Jattea* sp.'dir. Tek bir orijinde tespit edilen takson sayısı en yüksek olan tohumlar; Serik orijinli tohumlardır. Serik tohumlarında toplam 23 adet takson tespit edilmiş ve bunların 11 adedi yalnızca bu orijine ait

tohumlarda belirlenmiştir. Yalnızca Serik orijinli tohumlarda tespit edilen funguslardan bazıları *D. sapinea, S. commune, Aequelibella* sp., *Butleferia* sp.'dir. Kesmeçay orijinli tohumlarda tespit edilen toplam 21 taksonun 9 adedi yalnızca bu orjijine ait tohumlardan izole edilmiştir.

Çok uzun süre (21 yıldan daha uzun) saklanmakta olan tohumlarda toplam 11 takson tespit edilmiş olup bunların 5'i *Aspergillus*, biri *Penicillium* cinsine dahildir. Yalnızca 21-25 yıl saklanan tohumlarda görülen taksonların da 3 'u *Aspergillus* cinsine ait olup diğer ikisi Basidiomycota bölümüne dahil *Stereum hirsitum* ve *Sistetroma birkanmannii*'dir.




**Şekil 4.3** Kızılçam tohumlarında fungal taksonların A) orijinlere göre B) saklama sürelerine göre paylaşımlarını gösteren Venn diagramı

### 4.4 Fungal Toplulukların Biyolojik Çeşitliliği

Kızılçam tohumlarında tespit edilen fungusların biyolojik çeşitlilikleri orijin ve saklama sürelerine göre varlık/yokluk ya da bolluk verileri kullanılarak hesaplanmıştır. Orijine göre Alfa (α) çeşitlilik indis değerleri Çizelge 4.3' te verilmiştir. Tür zenginliği ve birey sayısı bakımından en zengin orjinli tohumlar Serik orijinli tohumlardır (24 takson). Diğer indislerin en yüksek değerlerine Kesmeçay orijininde rastlandığı görülmektedir. Orijijnlere göre H' indeks değerleri karşılaştırıldığında; en yüksek biyolojik çeşitliliğin

Kesmeçay orijininde olduğu görülmüş, bunu Serik orijini takip etmiştir. Serik ve Kesmeçay orijinlerinin biyolojik çeşitlilikleri arasında istatistiki olarak bir farklılık yoktur ($t$=1,22 $p$>0,05). Biyolojik çeşitlilik en düşük Gündoğmuş orijinli tohumlarda belirlenmiştir. Gündoğmuş orijinli tohumların fungal biyolojik çeşitliliği Kaş orijinli tohumlarınkinden istatistik olarak farklı değil, ancak Kesmeçay ve Serik orijinli tohumlarınkinden anlamlı olarak farklıdır. Caho-1 değerleri incelendiğinde, nadir türlerin en fazla Kesmeçay orijinli tohumlardan izole edildiği anlaşılmaktadır.

**Çizelge 4.3** Orijinine göre tohum funguslarının biyoçeşitlilik indisleri

| İndisler | Tohum bahçesi Orijinleri | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Gündoğmuş | Kaş | Kesmeçay | Serik |
| Tür zenginliği | 4 | 8 | 22 | 24 |
| Birey sayısı | 11 | 21 | 80 | 98 |
| Simpson_1-D | 0,7107 | 0,7256 | 0,8944 | 0,8553 |
| Shannon_H (H') | 1,295 | 1,659 | 2,626 | 2,421 |
| Chao-1 | 4 | 11,81 | 71,38 | 35,88 |
| Evenness_e^H/S | 0,9123 | 0,6568 | 0,6283 | 0,4692 |

Saklama sürelerine göre indis değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Genç tohumların (0-5 yıldır saklanan) tür zenginliği ve birey sayısının en yüksektir. Tüm indislerin (Chao-1 hariç) en yüksek değere 0-5 yıl saklama aralığında rastlandığı görülmüştür. H' indexine göre biyolojik çeşitlilik en yüksek 0-5 yıldır saklanan tohumlarda belirlenmiştir. Bunu 6-10 ve 21-25 yıldır saklanan tohumlar takip etmiştir. Bu 3 grup arasında önemli bir istatistiki fark bulunmamaktadır. Ancak 11-15 ve 16-20 yıldır saklanan tohumların çeşitliliği bunlardan istatistiki olarak farklıdır. 11-15, 16-20 yıllık tohumların biyolojik çeşitlilik değeri en düşük bulunmuş ve bu 2 grup arasındaki H' index değerleri istatistiki olarak birbirinden farklı değildir ($t$=0,88 $p$ >0,05). Saklama süresine göre en fazla nadir tür 21-25 yıldır saklanan yaşlı tohumlarda görülmüştür.

Çizelge 4.5'te orijinler içinde saklama sürelerine göre biyolojik çeşitlilik değerleri gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde, Kesmeçay orijinli, 0-5 yıldır saklanan tohumlarda tür zenginliğinin (14 takson) en yüksek miktarda olduğu, bunu Serik orijinli, 0-5 ve 6-10 yıldır saklanan tohumların takip ettiği anlaşılmaktadır.

**Çizelge 4.4** Saklama sürelerine göre biyoçeşitlilik indisleri

| Indisler | Saklama süresi aralığı | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0-5 yıl | 6-10 yıl | 11-15 yıl | 16-20 yıl | 21-25 yıl |
| Tür zenginliği | 19 | 16 | 5 | 8 | 11 |
| Birey sayısı | 87 | 51 | 12 | 36 | 24 |
| Simpson_1-D | 0,8844 | 0,8397 | 0,6806 | 0,7485 | 0,8611 |
| Shannon_H | 2,501 | 2,259 | 1,358 | 1,601 | 2,15 |
| Chao-1 | 27,9 | 26,46 | 5,917 | 15,78 | 31,13 |
| Evenness_e^H/S | 0,6415 | 0,5981 | 0,7777 | 0,6196 | 0,7801 |

Chao-1 indisine göre, nadir türlerin en fazla görüldüğü tohumlar ise Serik orijinli, 6-10 yıldır saklanan tohumlardır. Bunu Kesmeçay orijinli, 0-5 ve 21-25 yıldır saklanan tohumların takip ettiği hesaplanmıştır. H' indexsine göre biyolojik çeşitlilğin en yülsek bulunduğu tohumlar 0-5 yıldır saklanan Kesmeçay ve Serik orijinli tohumlardır.

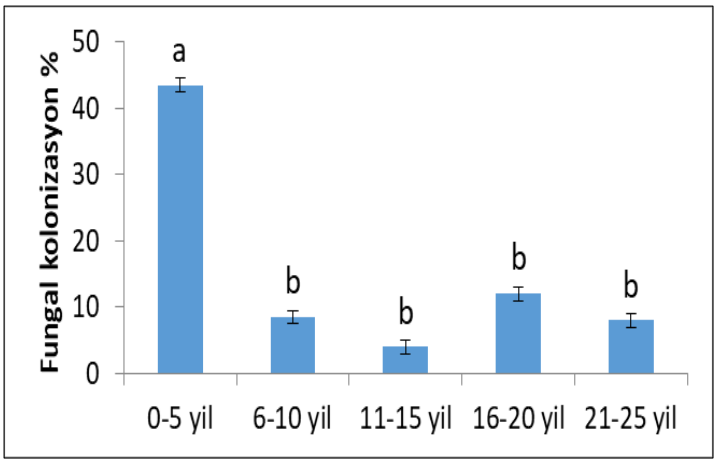
**Çizelge 4.5** Orijin ve saklama sürelerine göre biyoçeşitlilik indisleri

| Orijin | Saklama süresi | Indisler | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Tür zenginliği | Birey sayısı | Simpson_1-D | Shannon_H | Chao-1 |
| Gündoğmuş | G-1 | 2 | 5 | 0,32 | 0,5 | 2 |
| | G-3 | 2 | 6 | 0,5 | 0,693 | 2 |
| Kaş | K-5 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | K-3 | 2 | 4 | 0,375 | 0,562 | 2 |
| | K-2 | 7 | 16 | 0,75 | 1,661 | 8,406 |
| Kesmeçay | KY-5 | 9 | 18 | 0,833 | 1,966 | 23,17 |
| | KY-3 | 3 | 4 | 0,625 | 1,04 | 4,5 |
| | KY-2 | 3 | 7 | 0,612 | 1,004 | 3 |
| | KY-1 | 14 | 51 | 0,867 | *2,298* | 26,25 |
| Serik | S-4 | 8 | 36 | 0,748 | 1,601 | 15,78 |
| | S-3 | 3 | 4 | 0,625 | 1,04 | 4,5 |
| | S-2 | 10 | 22 | 0,843 | 2,044 | 27,18 |
| | S-1 | 12 | 36 | *0,871* | 2,252 | 13,09 |

## 4.5 Tohum Orijini ve Saklama Süresinin, Tohumlarda Fungal Kolonizayon ve Tohum Çimlenme Yüzdeleri ile İlişkileri

İncelenen toplam 1700 adet kızılçam tohumunun %12,4 ünde fungal gelişim gözlemlenmiştir.

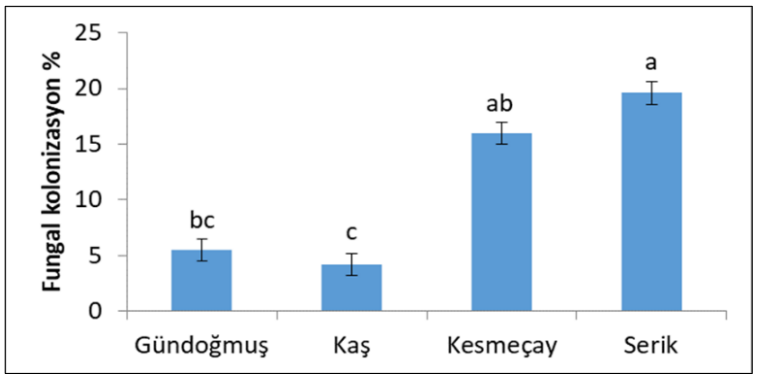
Fungal kolonizasyon yüzde verileri homojen bir dağılım göstermediği için (f=6.85 p<0.05) tek yönlü Anova testi alternatifi olarak nonparametrik Kruskal-Wallis testi kullanılarak saklama süresinin fungal kolonizasyon oranı üzerine etkili olup olmadığı diğer bir deyişle tohumların fungal kolonizayon oranları arasında saklama sürelerine göre fark olup olmadığı belirlenmiştir. Test sonucu, saklama sürelerine göre fungal kolonizasyon oranları bakımından farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir [$x^2(4)=44,104$; $p<0,001$, Şekil 4.3]. Gruplar arasındaki (saklama süresi) farklılıkları incelemek amacıyla Jonckheere-Terpstra testi yapılmış test sonucu fungal kolonizasyon oranlarında yalnızca 0-5 yıl saklanan tohumların diğerlerinden farklı olduğunu göstermiştir (Şekil 4.4).




**Şekil 4.4** Saklama süresine göre fungal kolonizasyon oranları

Tohumların orijinlerinin fungal kolonizasyon oranı üzerine etkili olup olmadığı belirlemek amacıyla yapılan nonparametrik Kruskal-Wallis test sonucu orijinlerine göre fungal kolonizasyon oranları bakımından farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir [$x^2(3)=28.035$; $p<0.001$, Şekil 4.3]. Gruplar arasındaki (orijin)

farklılıkların da Jonckheere-Terpstra test sonucuna göre 4 orijin de birbirinden farklı olduğu görülmüştür (Şekil 4.5).

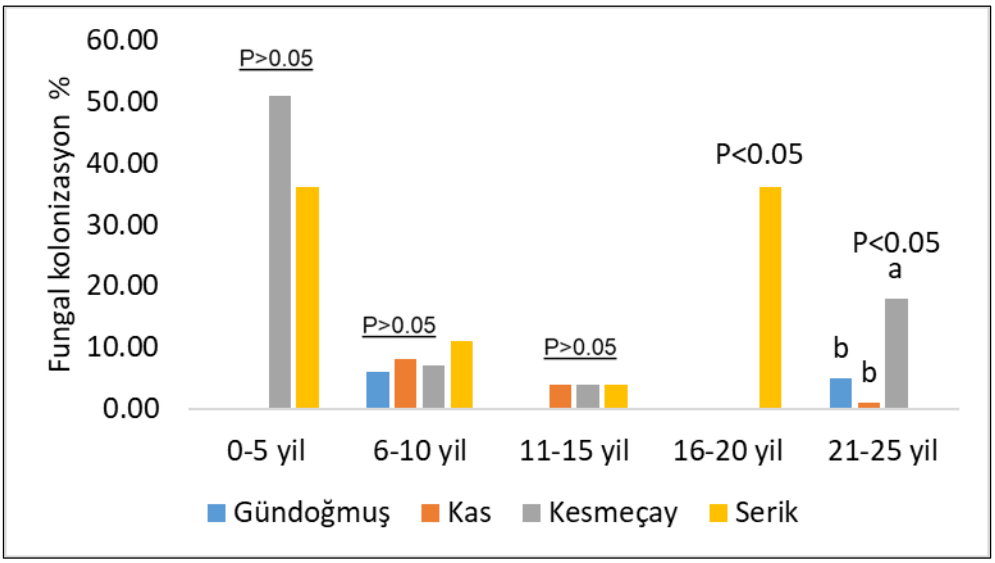



**Şekil 4.5** Orijine göre fungal kolonizasyon oranları

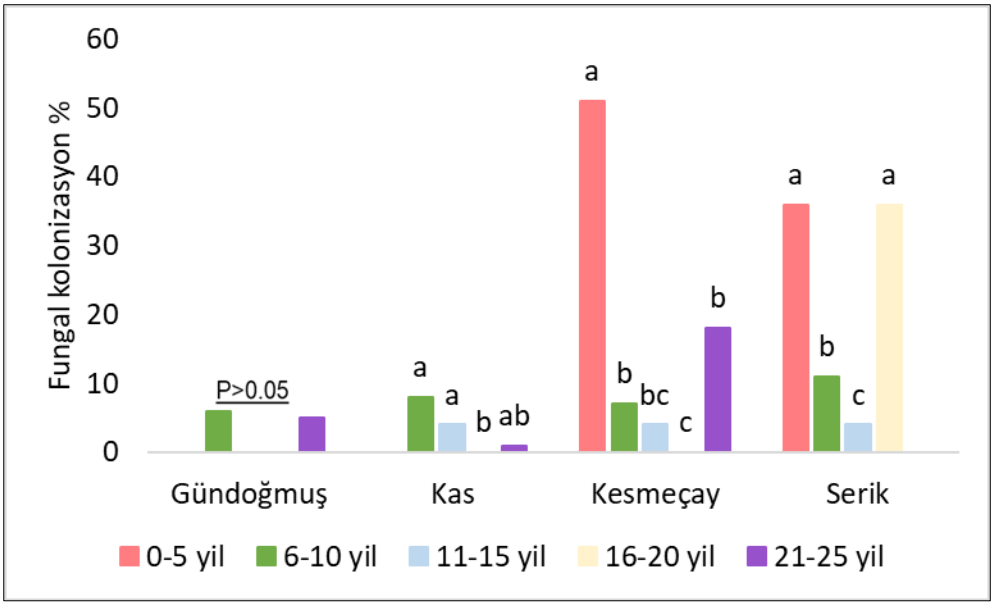
En yüksek fungal kolonizasyon oranı Kesmeçay orijinli, 0-5 yıldır saklanan tohumlarda belirlenmiştir (%51, Şekil 4.6a), bunu Serik orijinli 0-5 ve 16-20 yıldır saklanan tohumlar takip etmiştir (%36, şekil 4.6a). En düşük fungal kolonizasyon oranı Kaş, Kesmeçay, Serik orijinli 10-15 yıldır saklanan tohumlarda belirlenmiştir (%4, Şekil 4.6a). 16-20 yıldır saklanmakta olan Kaş ve Kesmeçay orijinli tohumlarda herhangibir fungal gelişim tespit edilmemiştir.

Saklama sürelerine göre orijinler arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan değerlendirildiğinde; 0-5, 6-10, 11-15 yıl saklanan tohumlarda orijinler arasında istatistiki olarak önemli bir farklılık olmadığı anlaşılmaktadır [istatistik test değerleri sırasıyla $x^2(1)=2,249$; $p=0,131$; $x^2(3)=4,385$ $p=0,223$; $x^2(2)=0,098$; $p=0,952$; Şekil 4.6a]. Diğer taraftan 16-20 yıl ve 21-25 yıl saklanan tohumlarda orijinler arasında farklılıklar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur [istatistik test değerleri sırasıyla $x^2(2)=23,872$; $p<0,05$; $x^2(2)=9,440$ $p<0,05$; Şekil 4.6a ].

a




b




**Şekil 4.6** Kızılçam tohumlarında fungal kolonizasyon oranlarının a) saklama sürelerinin orijinlere göre b) orijinlerin saklama sürelerine göre dağılım grafikleri

Orijinlerde saklama süresi bakımından farklılıklar değerlendirildiğinde Gündoğmuş orijini hariç diğer orijinlerde (Kaş, Kesmeçay, Serik) saklama süreleri arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan anlamlıdır [istatistik test değerleri sırasıyla $x^2(1)=1,358$ $p=0,244$; $x^2(3)=7,923$ $p<0,05$; $x^2(4)=30,727$ $p<0,05$; Şekil 4.6b].

Tohumlarda fungal kolonizasyona ek olarak tohumların çimlenmeleri de takip edilerek çimlenme yüzdeleri belirlenmiştir. Tüm tohumların ortalama %70.6'sı çimlenmiş olup, en düşük çimlenme yüzdesi Serik orijinli sırasıyla 5-10 ve 0-5 yıldır saklanan tohumlarda

belirlenmiştir (%43 ve %46; Şekil 4.7) bunu Gündoğmuş orijinli 20-25 yıldır saklanan tohumlar takip etmiştir (%47, Şekil 4.7). En yüksek çimlenme yüzdesi Kesmeçay orijinli sırasıyla 10-15, 20-25 ve 15-20 yıldır saklanan tohumlarda (%90, %89 ve %87) belirlenmiş, bunu Kaş orijinli 10-15 yıldır saklanan tohumlar takip etmiştir (%84, Şekil 4.7).

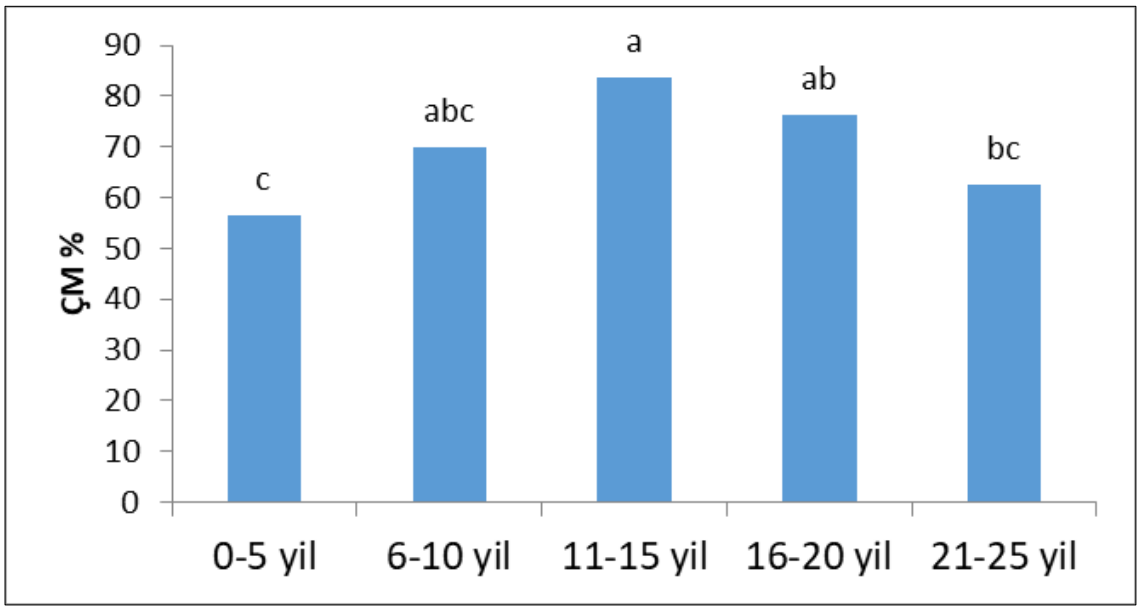
Çimlenme yüzde verileri homojen bir dağılım gösterdiği için (Levene testi f=1,668 p=0,068) iki yönlü Anova testi kullanılarak saklama süresinin çimlenme üzerine etkili olup olmadığı diğer bir deyişle tohumların saklama sürelerine göre çimlenme yüzdeleri bakımından fark olup olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.7). Test sonucuna göre saklama sürelerine göre çimlenme oranları bakımından farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir [$x^2(4)=44,104$, $p <0,001$]. Gruplar arasındaki (saklama süresi) farklılıkları incelemek amacıyla Tukey testi yapılmış test sonucu çimlenme oranlarında yalnızca 0-5 yıl saklanan tohumların diğerlerinden farklı olduğunu göstermiştir (Şekil 4.7).

Orijinlerine göre çimlenme oranları bakımından farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir [$x^2(3)=28,035$, $p <0,001$ Şekil 4.8].

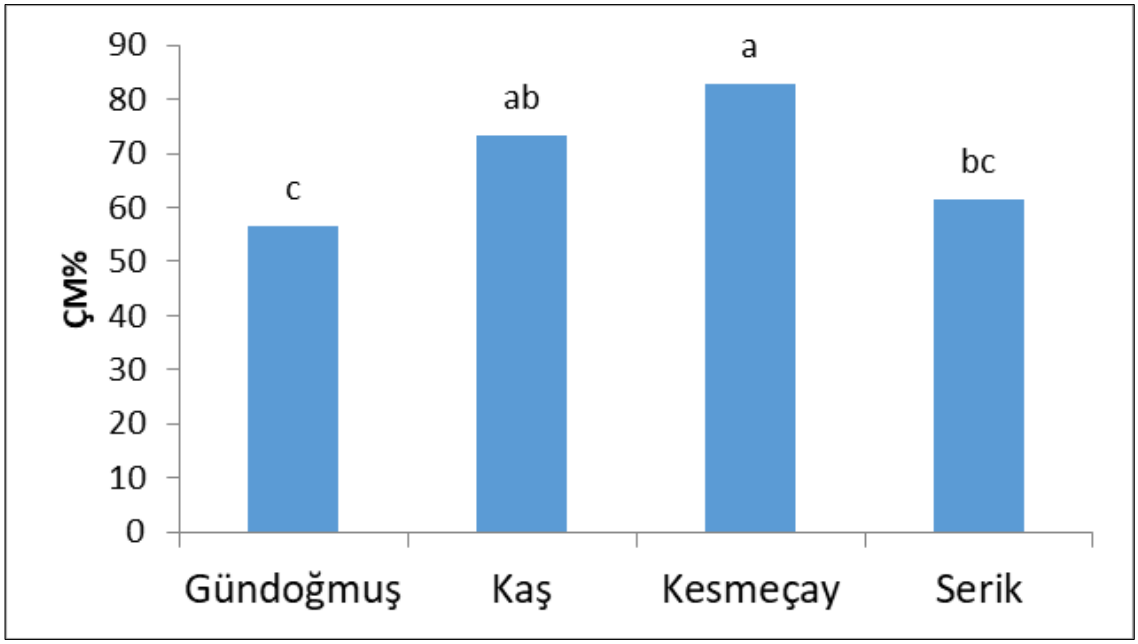
Kızılçam tohumlarında çimlenme yüzdelerinin saklama sürelerine göre orijinler arasında ve orijinlere göre saklama süreleri arasındaki farklılıkları analiz edildiğinde; 11-15 yıldır saklanan tohumlar hariç saklama süreleri grupları içersisinde orijinler arasında istatistiki farklılıklar olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.9a). Şekil 4.9b incelendiğinde; orijinler içinde farklı saklama süreleri arasındaki farklılıklara bakıldığında da her bir orijin için saklama süreleri grupları arasındaki farklılıkların anlamlı olduğu görülmektedir.

Tohumlarda fungal kolonizayon ve çimlenme yüzdeleri birlikte incelendiğinde; kızılçam tohumlarında genelde yüksek çimlenme yüzdeleri düşük fungal gelişim gösteren tohumlarda tespit edildiği görülmüştür. Bu durum ayrıntılı olarak değerlendirildiğinde, fungal kolonizasyon oranı oranı %0-10 arasında olan tohumlarda çimlenme yüzdesi ortalama %74, fungal kolonizasyon oranı %11-20 olan tohumlarda çimlenme yüzdesi

ortalama %75 ve fungal kolonizasyon oranı %20 üzerinde olan tohumlarda çimlenme yüzdesi ortalama %48,5 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

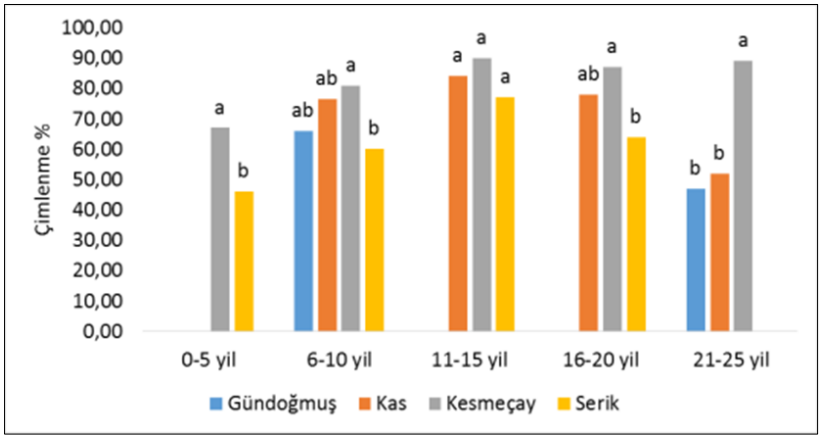



**Şekil 4.7** Saklama sürelerine göre tohumların çimlenme yüzdeleri (ÇY %)

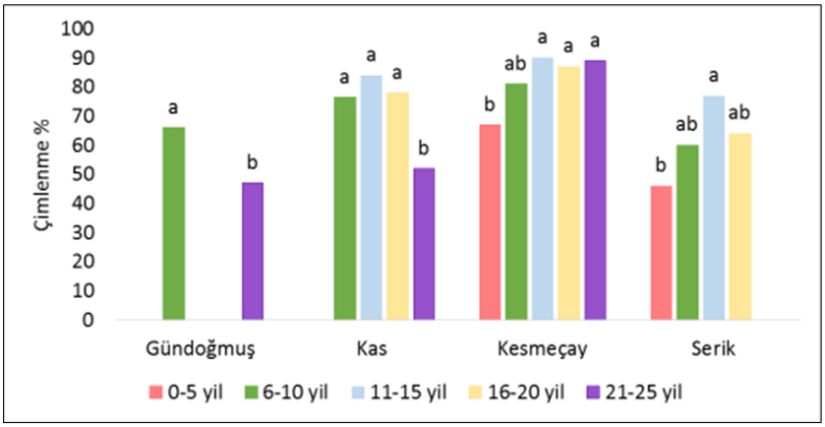



**Şekil 4.8** Orijinlere göre tohumların çimlenme yüzdeleri (ÇY%)

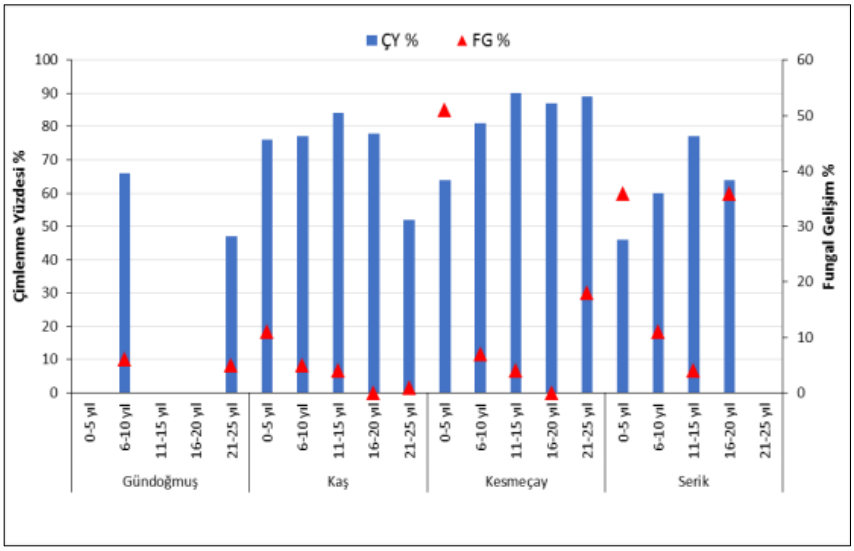
a




b




**Şekil 4.9**. Kızılçam tohumlarında çimlenme oranlarının a) saklama sürelerinin orijinlere göre b) orijinlerin saklama sürelerine göre dağılım grafikleri




**Şekil 4.10** Uzun dönem saklanan kızılçam tohumlarında çimlenme ve fungal gelişim yüzdeleri

Korelasyon analizi sonuçları fungal kolonizayon ve çimlenme arasında ters yönlü anlamlı bir korelasyon olduğunu doğrulamıştır (Korelasyon katsayısı=-0,195, P<0,05; Çizelge 4.6). Saklama süresi ile fungal kolonizasyon arasında negatif yönlü kuvvetli bir ilişki olduğu anlaşılmaktadır (Korelasyon katsayısı=-0,372, P<0,01; Çizelge 4.6). Buna göre saklama süresi azaldıkça fungal kolonizasyon % artmaktadır denilebilir. Saklama süresi ile çimlenme yüzdesi arasındaki ilişki pozitif yönlüdür ancak bu ilişki anlamlı değildir (P>0,05; Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.6** Saklama süresi ile fungal kolonizasyon ve çimlenme yüzdeleri arasındaki ilişkilerin korelasyon analiz sonuçları

| | Saklama süresi | Fungal kolonizasyon % | Çimlenme % |
|---|---|---|---|
| Saklama süresi | 1 | -0,372**<br>0 | 0,092<br>0,232 |
| Fungal kolonizasyon % | | 1 | -0,195*<br>0,011 |
| Çimlenme % | | | 1 |

[a] Korelasyon Katsayısı(Spearman's rho); [b] P-değeri; *korelasyon 0,05 seviyesinde anlamlıdır, ** korelasyon 0,01 seviyesinde anlamlıdır.

**Çizelge 4.7** Orijinlere göre çimlenme ve fungal kolonizasyon yüzdeleri arasında korelasyon analiz sonuçları

| **Orijin** | **Değişken** | **Fungal kolonizasyon %** |
|---|---|---|
| Gundogmus | Cimlenme % | 0,519[a]*<br>0,019[b] |
| Kas | Cimlenme % | 0,013<br>0,93 |
| Kesmecay | Cimlenme % | -0,414**<br>0,003 |
| Serik | Cimlenme % | -0,324*<br>0,022 |

[a] Korelasyon Katsayısı; [b] P-değeri; *korelasyon 0,05 seviyesinde anlamlıdır, ** korelasyon 0,01 seviyesinde anlamlıdır.

Orijinlere göre ilişkiler ayrı ayrı analiz edildiğinde; Kaş orijinine ait tohumlarda fungal kolonizayon ve çimlenme arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı (P>0,05), ancak Gündoğmuş, Kesmeçay ve Serik orijinli tohumlarda fungal kolonizayon ve çimlenme arasındaki ilişkilerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu anlaşılmıştır. Bununla birlikte

ilişki Gündoğmuş Orijinli tohumlarda pozitif yönlü iken Kaş ve Kesmeçay orijinli tohumlarda negatif yönlüdür (Çizelge 4.7).

Saklama sürelerine göre ilişkiler ayrı ayrı analiz edildiğinde; 0-5, 6-10, 11-15 yıldır saklanan tohumlarda fungal kolonizayon ve çimlenme arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı (P>0,05), ancak 16-20 ve 21-25 yıldır saklanan tohumlarda fungal kolonizayon ve çimlenme arasındaki ilişkilerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu anlaşılmıştır(P<0,01). Bununla birlikte ilişki 16-20 yıldır saklanan tohumlarda negatif yönlü, 21 yıldan uzun süredir saklana tohumlarda ise pozitif yönlüdür (Çizelge 4.8).

**Çizelge 4.8** Saklama sürelerine göre çimlenme ve fungal kolonizasyon yüzdeleri arasında korelasyon analiz sonuçları

| Saklama süresi | Değişken | Fungal kolonizasyon % |
|---|---|---|
| 0-5 yil | Cimlenme % | 0,288[a]<br>0,218[b] |
| 6-10 yil | Cimlenme % | -0,119<br>0,366 |
| 11-15 yil | Cimlenme % | -0,302<br>0,105 |
| 16-20 yil | Cimlenme % | -0,558**<br>0,001 |
| 21-25 yil | Cimlenme % | 0,504**<br>0,004 |

[a] Korelasyon Katsayısı; [b] P-değeri; *korelasyon 0,05 seviyesinde anlamlıdır, ** korelasyon 0,01 seviyesinde anlamlıdır.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması, 4-24 yıldır soğuk hava deposunda saklanmış kızılçam tohumlarının fungal mikrobiotasının belirlenmesi amacı ile yürütülmüştür. Çalışmada, herbiri bir orijini temsil eden (Gündoğmuş, Kaş, Kesmeçay ve Serik orijinleri) dört farklı tohum bahçesinden 1997-2017 yılları arasında temin edilmiş kızılçam tohumları kullanılmıştır. Tohumlar temin edildikten sonra aynı koşullar altında, Antalya Orman Fidanlığı tohum deposunda saklanmıştır. Bu tez çalışması için, tohumlar saklama sürelerine göre 5 gruba ayrılmış ve toplam 17 tohum partisinde her birinden 100'er adet tohum olmak üzere toplam 1700 adet tohum ile çalışılmıştır. Fungal mikrobiota, besi ortamına (PDA) izolasyona dayalı klasik yaklaşımla belirlenmiştir. Tohumlardan izole edilen funguslar morfolojik ve ITS dizilemesi ile moleküler olarak teşhis edilmiştir.

Bu tez çalışmasında tohumlardan 210 adet izolat elde edilmiştir. Morfolojik tanı ve moleküler tanı sonuçlarına göre kızılçam tohumlarında Ascomycota ve Basidiomycota bölümlerine dahil toplam 5 sınıf, 15 takım ve 18 familyaya mensup 22 cinse ait 33 fungal takson teşhis edilmiştir.

Kızılçam tohumlarından izole edilen taksonların tohumlardan izole edilme sıklıkları %12.35 ile %0.06 arasında değişmiştir. İzolasyon sıklığı bakımından en yaygın ilk on takson arasında *Jattaea* sp., *Alternaria spp.*, *Aspergillus* spp., *Neocucurbitaria* sp., *Sydowia polyspora.*, *Penicillium* spp., *Aequabiliella* sp., *Kalmusia variispora, Neofusicoccum mediterraneum ve Lophodermium seditiosum* yer almıştır. Kızılçam tohularından izole edilen Ascomycota bölümüne dahil diğer taksonlar; *Diplodia sapinea, Ochroconis* sp. *Nothophoma* sp., *Didymosphaeria* sp., *Botryotinia* sp., *Trichothecium roseum* ve *Trichoderma* sp.'dir. Kızılçam tohumlarından izole edilen Basidiomycota bölümüne dahil funguslar; *Stereum hirsutum, Sistotrema brinkmannii*, *Schizophyllum commune* ve *Butlerelfia* sp.'dir.

Dünya çapında çam tohumları ile ilişkili fungusların kültüre almaya (agar ya da nemli hücre yöntemi) dayalı yöntemlerle belirlenmesine yönelik araştırmalarda, tohum kabuğu mikobiotası olarak kabul gören sabrobik küf funguslarından *Aspergillus, Penicillium,*

*Mucor, Rhizopus, Cladosporium, Trichothecium* gibi cinslerin yaygın olarak tespit edildiği görülür (Lilja *et al.* 1995, Mittal and Wang 1987, Whittle 1977). Bu funguslar belirli bir konukçuya özelleşmemiş olup özellikle depolanan tohumlarda yaygındır. Bu fungusların uygun koşullarda (uygun olmayan depolama koşulları) çimlenen tohumların dokularını enfekte edebildikleri ve fidanları öldürebildikleri bilinmektedir (Gibson 1957). Çalışmamızda yukarıda adı geçen yaygın depo küflerinden *Aspergillus, Penicillium, Trichothecium, Trichoderma* cinslerine ait funguslar tespit edilmiştir. Ancak bunlardan yalnızca *Aspergillus* spp. yaygındır (%1,4), diğer cinslere ait taksonların bulunma sıklıkları ise % 0,4'ün altındadır. Bu tez çalışmasında, yüzey sterilizasyonu ile tohum yüzeyindeki fungusların büyük bir kısmının etkili bir şekilde elemine edilmiş olduğu, depolama koşullarında daha uzun süre saklanmış tohumlarda dahi bu fungusların çoğalarak tohum dokusu içerisine girememiş oldukları söylenebilir. Bu durum, Antalya tohum saklama depolarındaki saklama koşulların uygunluğunu teyit eder niteliktedir.

Küresel ölçekte, çam tohumlarının iç dokularında ortak ve yaygın olarak tespit edilen fungusların başında *Sydowia polyspora* gelmektedir (Whittle 1977, Ganley and Newcombe 2006, Ridout and Newcombe 2018, Bastide *et al*. 2019, Cleary *et al.* 2019). Türkiye'de yapılan çalışmalarda da bu fungusun, karaçam sarıçam ve kızılçam tohumlarında bulunduğu ortaya koyulmuştur (Karaman 2021, Oskay ve Karataş 2021). Bu tez çalışmasında *S. polyspora*'nın bulunma sıklığı %0,6'dır.

Ülkemizde karaçam, sarıçam ve kızılçam tohumlarında görülen fungusların tespitine yönelik araştırmalar incelendiğinde, çam tohumlarında *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Aspergillus* spp., *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium oxysporum*, *Chaetomium* sp., *Trichoderma* spp., *Acremonium* sp., *Paecilomyces* sp, *Periconia* sp., *Fusarium* sp. gibi yaygın olarak kozalakların hasadı ve tohumların depolanması sırasında dışarıdan tohuma bulaşan türlerin belirlendiği anlaşılmaktadır (Velioğlu 2001, Akıllı 2004, Akıllı ve Kantarcıoğlu 2006, Argun vd. 2014). Bunlara karşılık Karaman (2021) ile Oskay ve Karataş (2021) çam tohumlarında önemli bir patojen olan *Diplodia sapinea*'nın varlığını belirlemeye yönelik yürüttükleri araştırmalarında *D. sapinea*'ya ek olarak çeşitli türler de tespit etmişlerdir. Karaman (2021), kızılçam, karaçam ve fıstıkçamı tohumlarında *Alternaria altarnata, Aspergillus niger, Aureobasidium pullulan,*

*Chaetomium globosum, D. sapinea, Fusarium* sp., *Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani, Sydowia polysora, , Stephylium* sp., *Trichoderma harzianum ve Trimmatostroma salicis*'i tespit etmiştir. Oskay ve Karataş (2021) karaçam ve sarıçam tohumlarında, *D. sapinea*'ya ek olarak *Sydowia polyspora* gibi diğer patojenik türler de tespit etmişlerdir. Bahsi geçen çalışmada, tohumlarda tespit edilen diğer funguslar; *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* spp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Ulocladium* sp., *Xylaria* sp.,'dir.

Bu tez çalışmasında, Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalara kıyasla hem tür zenginliği (takson sayısı) hem de takson çeşitliği bakımından daha zengin bir mikobiotanın belirlenmiştir Örneğin Akıllı ve Katırcıoğlu (2006) karaçam, kızılçam ve sarıçam tohumlarında nemli hücre yöntemi ile toplam 23 takson, yalnızca kızılçam tohumlarında (toplam 10.400 adet tohum) nemli hücre yöntemi ile 14 takson tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise 1700 adet tohumda agar yöntemi ile 34 takson tespit edilmiştir. Çalışma bulguları arasındaki farklılıkların nedenleri arasında, çalısmalarda kullanılan izolasyon yöntemleri, yüzey sterilizayonu şiddeti ya da fungus teşhis yöntemleri olabilir. Bunlara ek olarak, diğer çalışmalarda yalnızca Askomycota bölümüne dahil funguslar tespit edililirken bu çalışmada, Basidiomycota bölümüne dahil 4 tür tespit edilmiştir. Basidiomycota bölümüne dahil funguslar besi ortamnıda genellikle spor oluşturmayan steril kültürler halinde gelişir ve bu durum bu fungusların morfolojik olarak teşhis edilememesine neden olur. Bu çalışmada moleküler yöntemlerin kullanılmış olması gerek morfolojik olarak birbirine benzer fungusların gerekse steril fungusların doğru ve güvenilir bir şekilde birbirinden ayırt edilerek teşhis edilmesine katkıda bulunmuştur.

Daha önce yapılan çalışmalarda kızılçam tohumlarında tespit edilen funguslar ile bu çalışmada tespit edilen funguslar karşılaştırıldığında, kızılçam tohumlarında ortak olarak belirlenen taksonların; *Aspergillus niger, Diplodia sapinea, Jattaea* sp., *Lophodermium seditiosum, Sydowia polyspora* ve *Trichothecium roseum* olduğu anlaşılmıştır. Bu ortak türler*'den D. sapinea ve Sydowia polyspora* Karaman (2021) ve Cleary *et al.* (2019) tarafından tespit edilen türlerdir. Diğer taraftan *Jattaea* sp., *Lophodermium seditiosum ve Trichothecium roseum* yalnızca Cleary *et al.* (2019) tarafından ve doğrudan tohumlarda moleküler olarak tespit edilmiştir.

*Jattaea* sp. bu çalışmada kızılçam tohum mikobiotasının en yaygın taksonudur ve bunu *Neocucurbitaria* sp. izlemiştir. Cleary *et al.* (2019) tarafından kızılçam tohumlarından *Jattaea* sp. ile *Neocucurbitaria* cinsine dahil iki takson tespit edilmiştir. Bunlar *Neocucurbitaria cava ve N. unguis-hominis*'tir. Cleary *et al.* (2019) tarafından da *Jattaea* ve *Neocucrbitaria* cinsine dahil taksonların yaygın olarak tespit edilmiş olması bu iki cinse ait taksonların kızılçam tohumların mikobiotasının önemli bir elemanı olabileceğine işaret etmektedir. Diğer taraftan, Cleary *et al.* (2019) tarafından yapılan çalışmada kullanılan kızılçam tohumları Antalya, Döşemealtı orman işletme şefliği sınırları içersindeki Bucak orijinli TB19 nolu tohum bahçesinden temin edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan tohumlardan Serik ve Kesmeçay orijinli tohumlar da aynı şeflik sınırları içerisindeki TB16 ve TB20 nolu bahçelerden gelmiştir. Serik ve Kesmeçay orijinli tohumlarda fungal topluluklarının yapısı birbirine benzer bulunmuştur. Bu tohumların geldiği bahçeler arasındaki mesafe 1,5 km'den daha azdır.

Tüm orijin ve saklama süresi gruplarına ait tohumlardan ortak izole edilen tek takson *Jattaea* sp. olarak bulunmuştur. Buna göre *Jattaea* sp.'nin bu çalışmada kullanılan kızılçam tohum mycobiotasının karakteristik bileşeni olduğu söylenebilir. *Neocucurbitaria* sp. de her yaş grubu tohumda görülmüştür. Bu fungusun da bu çalışma da kullanılan kızılçam tohumlarının mikobiotasının önemli bir bileşeni olduğu ileri sürülebilir.

*Neocucurbitaria* cinsi dikotilen bitkiler ile ağaç ve çalılarda, karasal habitatlarda sabrobik ya da insan derisinde parazitik türleri içerir. Cucurbitariaceae familyasına dahil edilmiş, yeni tanımlanmış bir cinstir. Jaklitsch *et al.* (2018) bu cinse 19 fungus türünün dahil olduğunu belirtmişlerdir. Bu türlerin konukçuları arasında çam ya da ibreli türler şu ana kadar rapor edilmemiştir. Bu çalışmada toplam 18 *Neocucurbitaria* izolatı elde edilmiş bunlardan 8' inin ITS gen bölgesi dizilenmiş, izole edilen Neocucurbitaria cinsine dahil izolatların ITS dizileri 19 türden *N. jugladicula* ile %100 benzerlik göstermiştir. Tohumların %1,06'sını, izolatların %8,57'sini oluşturmaktadır. Fungusun izole edildiği tohumların %77,8'i çimlenmiştir. Fungusun tespit edildiği tohumların büyük bir kısmının çimlenmiş olması fungusun çam tohumlarında sabrobik olduğunun bir göstergesi olabilir. Benzer şekilde *Jattaea* sp. tarafıdan kolonize edilenn tohumların %62 si çimlenmiştir. Bu

fungus fungus 0-5 yaşlı genç tohumlardan daha sık izole edilmiş (%37). *Jattaea* ve *Neocucrbitaria* izolatlarının taksonomisi ve tohumlardaki ya da fidanlardaki etkisinin belirlenmesine yönelik yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

Çok yaşlı (21 yıldan daha uzun süre saklanmakta olan) tohumlarda toplam 11 takson tespit edilmiş olup bunların 5'i *Aspergillus,* biri *Penicillium* cinsine dahildir. Yalnızca 21-25 yıl saklanan tohumlarda görülen taksonların da 3'ü *Aspergillus* cinsine ait olup diğer 2'si Basidiomycota bölümüne dahil *Stereum hirsitum* ve *Sistetroma birkanmannii'* dir. Bu bulgulara göre çok uzun süreden beri saklanan tohumların karakteristik türlerinin sabrobik *Aspergillus* ve sabrobik odun çürüklüğü funguslarını içerdiğini söylenebilir.

*Aspergillus* spp. ve *Kalmusia variispora* sıklıkla çok yaşlı tohumlarda (>21 yaş); *Alternaria* spp., *N. mediterraneum,* ve *S. polyspora* daha çok genç tohumlarda bulunmuştur. *Kalmusia variispora* İran'da İran çamlarından patojenik bir tür olarak rapor edilmiştir (Abed-Ashtiani *et al.* 2019). Bu fungusun izole edildiği tohumların %20'si çimlenmiştir. *K. variispora*'nın çam tohum ve fidanlarında patojenisitesi test edilmelidir.

İncelenen toplam 1700 adet kızılçam tohumunun %12,4 ünde fungal gelişim gözlemlenmiştir. Saklama süresi fungal kolonizasyon yüzdeleri üzerinde istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur.

Bu çalışmada, fungal kolonizasyon ve tohum çimlenme yüzdeleri arasında negatif yönlü, anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Buna göre tohumlarda fungal kolonizayon oranı arttıkça çimlenme yüzdelerinin azaldığı söylenebilir. Ancak bu çalışmamızda, tohum saklama süresi ile fungal kolonizasyon yüzdesi arasındaki korelasyon anlamlı ve negatif yönlü bulunmuştur. Yani beklenenin aksine, saklama süresi arttıkça fungus miktarı artmamıştır. Yahyaoğlu ve Ölmez (2003), saklama sırasında sıcaklığının düşük, hava alışverişi ve rutubetin asgaride tutulması ile respirasyonun asgariye ineceğini, böylece tohumun çürüme ve küflenmesinin engellenerek uzun süre saklamanın mümkün olabileceğini belirtmiştir. Buna göre Antalya Orman Fidanlığı soğuk hava deposunun Yahyaoğlu ve Ölmez (2003) tarafından belirtilen uygun saklama koşullarını sağladığı

söylenebilir. Çalışmada kullanılan tohumlarda depo funguslarının çok az yoğunlukta bulunmuş olması da depo koşullarının uygun olduğu kanısını güçlendirmektedir.

Çalışmamızda saklama süresi ile çimlenme yüzdesi arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur ancak bu ilişki anlamlı bulunmamıştır. Uzun süre saklamanın kızılçam tohumları üzerindeki etkilerini daha detaylı olarak araştırılması gerekmektedir. Kızılçam tohumlarında en fazla fungal kolonizasyon genç tohumlarda (0-5) görülürken bu tohumlarda çimlenme yüzdeleri de diğer saklama sürelerinden anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Tohumda fungal kolonizasyon üzerinde tohumun toplandığı alan, toplanma şekli, tohum çıkarma yöntemi ve saklama koşullarının etkili olduğu bilinmektedir. Fraedrich and Miller (1995), kozalakların üretildiği koşullar, toplanma, işleme ve depolama yöntemleri ve koşullarının farklılık gösterebildiğini, kozalakların toplandığı sahalarda (tohum bahçesi vb.) ve kozalak işleme tesislerinde uygulanan yöntemlerin belirli fungusların yerleşmesi, gelişimi ve yayılışı için uygun koşullar yaratabileceğini belirtmiştir. Dolayısıyla, genç tohumlarda daha fazla fungal kolonizasyon tespit edilmesinde, saklama süresinden ziyade, diğer faktörlerin daha etkili olması muhtemeldir. Diğer taraftan, fungal kolonizasyon oranı, 0-5 yıl saklanan tohumlarda diğer saklama sürelerine göre yüksek bulunmasının nedeni tohumun rutubet oranı düşürülmeden saklanmış olması ile de açılanabilir. Tüm bunlar birlikte değerlendirildiğinde, kızılçam tohumlarının uygun koşullarda 20 yılı aşkın süreler boyunca saklanabileceği söylenebilir. Ancak tohumların başlangıçtaki sağlık durumu ve kalitesi ile muhtemelen tohum rutubet yüzdesi belirleyici olacaktır. Bu nedenle depolamadan önce tohumların kalitesi kontrol edilmeli, rutubet yüzdesi %10'un altına düşürülmelidir. Tohum partisi içinde depolama sırasında potansiyel patojenik fungusların yapılanması ve yayılmasını önlemek için, tohumlar ayrıca patojenik fungusların varlığı açısından da kontrol edilmelidir.

Çalışma hem ülkemiz orman ağaçları tohumlarının fungal mikrobiotası konusunda, hem de uzun dönem saklanan tohumlarda bu mikobiotanın değişimi konusunda yeni ve önemli bilgiler sunmaktadır. Çalışmada, ülkemizde daha önceden rapor edilmemiş yeni funguslar tespit edilmiştir. Diğer taraftan bu çalışma sağlıklı kızılçam tohumlarının uygun depolama koşulları altında, 20 yıldan daha uzun süre saklanabileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte 0-5 yaş arası genç tohumlarda fungal kolonizasyonun

yüksek bulunmuş olması, tohumların toplandığı sahanın sağlığı, kozalakların hasat zamanı ya da tohumların depoya alındığı andaki rutubet miktarı gibi faktörler ile ilişkilendirilebilir.

Bu çalışmada tohumlarda *Diplodia sapinea, Lophodermium seditiosum, Sydowia polyspora* ve *Neofusicoccum mediterreneum* gibi önemli patojenik türler de tespit edilmiştir. Bu bulgular, ülkemizde orman ağacı tohumlarının orman ağacı hastalıklarının taşınması ve fidanlık ve orman alanlarına yayılması bakımından taşıdıkları risklerin ortaya koyulması açısından da dikkat çekicidir. Günümüzde, canlı bitki ve tohum ticareti hastalık etmenlerinin uzun mesafelerde taşınmasında önemli bir yol olarak kabul görmektedir (Cleary *et al.* 2019, Franic *et al.* 2019, Santini *et al.* 2013). Tohumla taşınan patojenlerin tespiti, hastalıkların yeni alanlara taşınmasının ya da geniş alanlara yayılmasının engellenmesinde öenmli bir adımdır.

Bilinen bitki hastalıklarının yayılmasının engellenmesinde en etkili mücadele yöntemlerinden biri de yasal önlemlerdir. Tarımsal ürünlere ait tohumlar için birçok ülkede bölgeler ve ülkeler arası tohum ticareti için 'Bitki Sağlığı Sertifikası' kullanılmakta, bunun için de tohum kaynaklı hastalıkların belirlenmesine yönelik testler, diğer tohum testlerinin ayrılmaz bir parçası olarak rutin olarak yapılmaktadır. Ancak küresel ölçekte orman ağacı tohumları için yasal önlemler yeterli değildir ve tohum sağlık testleri günümüzde yalnızca iki patojen için uygulanmaktadır; *Fusarium circinatum* ve *Caloscypha fulgens.* Diğer taraftan yakın zamanda yapılan çalışmalar (Cleary *et al.* 2019, Franic *et al.* 2019) orman ağacı tohumlarının patojen taşıma risklerinin tanınması ve gerekli yasal önlemlerin alınması için önemli kanıtlar sunmuştur. Bu tez çalışması ile de kızılçam tohumlarının düşük oranlarda da olsa patojenleri içerebildiği ortaya koyulmuştur.

Ülkemizde de orman bitkisi tohumluklarının üretimi ve ticaretinde usul ve esasların belirlendiği yasal bir düzenleme bulunmaktadır. Ne varki bu yasal düzenlemede de, diğer birçok Avrupa ülkesinde olduğu gibi orman ağacı tohumları patojen taşıma riski bakımından dikkatle ele alınmış durumda değildir. Örneğin Oskay ve Karataş (2021), ülkemizdeki bu yasal düzenlemede, orman bitkileri tohumluklarının ülke içerisindeki

hareketinde istenen özel şartların belirtildiği ekte, fidanlarda *Diplodia sapinea* varlığının bitkisel materyal hareketliliğine mani teşkil edebileceğinin belirtildiğini ancak tohumlarda bulunabileceğinin göz önünde bulundurulmadığına işaret edilmiştir. Bu bağlamda, bu tez çalışması, *D. sapinea*'nın ülkemiz içinde yayılışının sınırlandırılmasında yasal önelemlerin önemini ve tohumlardaki varlıklarının dikkatle ele alınması gerektiği görüşünü desteklemiştir.

Orman fidanlıklarında tohum ekimi öncesinde tohumların kaliteleri ORTOHUM (Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü) tarafından yapılan testlerle belirlenmektedir. Oskay ve Karataş (2021), bu testlere ek olarak, orman ağacı tohumlarında önemli patojenlerin belirlenmesi için de test yapılması gerektiğini belirtmiştir. Bu tez çalışmasınının bulguları, *D. sapinea* ve diğer patojenik fungusların tohumlardaki varlığını ve tohumla taşınma riskini bir kez daha kanıtlar niteliktedir.

Enfekteli tohum ya da kozalakların fidanlıklara ya da orman alanlarına taşınması hastalıkların yayılmasında önemli bir risk faktörü olarak ele alınmalı, yasal önlemler çerçevesinde tohumla da taşınabililen orman patojenleri için ülke içi-ülke dışı tohum materyali taşınımında tohumların kontrolü de yapılmalıdır. Diğer taraftan ormancılık pratiği ve ülke ormanlarının uzun vadede sağlığının korunması için öncelikli olarak tohum bahçesi tohum meşceresi gibi tohum kaynaklarının ve buradan toplanan kozalak ve tohumların fidanlıklara getitilmeden önce bulaşık olup olmadığının belirlenmesi önerilebilir. Bunlara ek olarak, fidanlıklarda kozalaktan tohum çıkama işlemlerinden tohumun saklama ve ekim öncesinde görebileceği, mekanik (ısı) ya da kimyasal (fungisit) uygulamalarının patojenler ve tohum çimlenmesi ya da tohum hayatiyeti üzerindeki etkileri araştırılabilir. Böylece, tohuma zarar vermeyen ancak patojenleri ve elemine eden pratik yöntemler geliştirilebilir.

## KAYNAKLAR


Abed-Ashtiani, F., Narmani, A., and Arzanlou, M. 2019. Analysis of *Kalmusia variispora* associated with grapevine decline in Iran. European Journal of Plant Pathology, 154(3): 787-799.

Agarwal, V.K. and Sinclair, J.B. 1997. Principles of seed pathology, 2 ed. Crc Press.

Akıllı, S. 2004. Türkiye'de ağaçlandırma çalışmalarında kullanılan bazı iğne yapraklı orman ağaçları tohumlarında fungal floranın tespiti. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, 70 sayfa, Ankara.

Akıllı, S. ve Katırcıoğlu, Y.Z. 2006. Türkiye'de ağaçlandırma çalışmalarında kullanılan bazı iğne yapraklı orman ağaçları tohumlarında fungal floranın tespiti. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 6: 63-73.

Argun, N., Ceylan, S., Velioğlu, E., Aydın, Ü. 2014. Karaçam [*Pinus nigra* J. F. Arnold subsp. nigra var. pallasiana (Loudon) Rehder] tohum meşçere ve bahçelerinde üretilen tohumlarda bulunan fungusların tespiti ve fidanlardaki patojeniteleri Türkiye II. Orman Entomolojisi ve Patolojisi Sempozyumu Bildiriler Kitabı. Orman Genel Müdürlüğü, ss: 748-758, Antalya

Aslan, S. 1972. Bazı ibreli ağaç türlerimizin tohumlarının saklama sürelerinin tayini üzerine denemeler. Orm. Arş. Ens. Yay. Teknik Bülten Seri No: 50, Ankara.

Atay, İ., Ürgenç, S., Odabaşı, T. 1970. Karaçam, Sarıçam ve Doğu Ladini tohumlarının 8 yıllık saklama deneme sonuçları. İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, 20 (2): 68-80.

Bastide, P.Y., LeBlanc, J., Kong, L., Finston, T., May, E.M., Reich, R., Hintz, W.E., von Aderkas, P. 2019. Fungal colonizers and seed loss in lodgepole pine orchards of British Columbia. Botany, 97: 23-33.

Berjak, P. 2000. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. Seed Science Research, 10: 301-306.

Bonner, F. T. 2008. Storage of seeds, In: The Woody Plant Seed Manual. Agriculture Hand Book, Bonner FT, Karrfalt RP (Eds.). The Woody Plant Seed Manual. Agriculture Hand Book 727, USDA Forest Service, pp. 85-95, Washington.

Boydak, M. 1981. Sarıçam (*Pinus sylvestris*) tohumlarında olgunlaşma zamanı ve saklamanın süresi arasındaki ilişkileri. İ.Ü. Orm. Fak. Dergisi, 31:105-127.

Boydak, M. 1982, Karaçam (*Pinus nigra* Arnold var. *caramanica* (Loud.) Rehd.) tohumlarının olgunlaşma zamanı ve saklama süreleri arasındaki ilişkiler, İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, 32(2): 199-218.

Boydak, M., Dirik., H., Çalıkoğlu, M. 2006. Kızılçamın (*Pinus brutia* Ten.) Biyolojisi ve Silvikültürü. OGEMVAK Yayını, Lazer Ofset Matbaası, 364 sayfa, Ankara.

Christensen, CM. 1972. Microflora and seed deterioration, In: Viability of Seeds, E. H. Roberts eds), Springer, Dordrecht, pp: 59-93, UK.

Cilliers, A. J., Swart, W. J., and Wingfield, M. J. 1993. A review of Lasiodiplodia theobromae with particular reference to its occurrence on coniferous seeds. South African Forestry Journal, 166(1): 47-52.

Cleary, M., Oskay, F., Doğmuş, H.T., Lehtijärvi, A., Woodward, S., Vettraino, A.M. 2019. Cryptic risks to forest biosecurity associated with the global movement of commercial seed. Forests, 10: 459.

Dhingra, O. D., Lustosa, D. C., Maia, C. B., Mesquita, J.B. 2003. Seedborne fungal pathogens of Jacaranda (*Dalbergia nigra*) tree. Seed Science and Technology, 31(2): 341-349.

Dhingra, O. D., Maia, C. B., Lustosa, D. C., Mesquita, J. B. 2002. Seedborne pathogenic fungi that affect seedling quality of red angico (Anadenanthera macrocarpa) trees in Brazil. Journal of Phytopathology, 150: 451-455.

Fraedrich, S. W. And Miller, T. 1995. Mycoflora associated with slash-pine seeds from cones collected at seed orchards and cone-processing facilities in the south-eastern USA 1. European Journal of Forest Pathology, 25(2): 73-82.

Franic, I., Prospero, S., Hartmann, M., Allan, E., Auger-Rozenberg, M.A., Grunwald, N.J., Kenis, M., Roques, A., Schneider, S., Sniezko, R., Williams, W., Eschen, R. 2019. Are traded forest tree seeds a potential source of nonnative pests? Ecol Appl, 29(7): e01971.

Ganley, R.J. and Newcombe, G. 2006. Fungal endophytes in seeds and needles of *Pinus monticola*. Mycological Research, 110:318-327.

Gezer, A., Yücedağ, C. 2006. Orman Ağaçları Tohumları ve Tohumdan Fidan Yetiştirme Tekniği, SDÜ. Orman Fakültesi, Yayın No: 56, 149 sayfa, Isparta.

Gibson, I. A. S. 1957. Saprophytic fungi as destroyers of germinating pine seeds. The East African Agricultural Journal, 22(4): 203-206.

Göktürk, A,. Solhan İ, Temel F, Ölmez Z. 2019. Saklama süresinin Doğu Ladini (*Picea orientalis* L.) tohumlarının çimlenme yüzdesi ve hızı üzerine etkisi. Journal of Bartin Faculty of Forestry, 21 (1): 182-190.

Heberle, H., Meirelles, G.V., da Silva, F.R., Telles, G.P. and Minghim, R. 2015. InteractiVenn a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams. BMC Bioinformatics, 16(1): 1-7.

Ivory, M. H. and Tompsett, P. B. 1994. Germplasm health and disease indexing with particular reference to forest trees in tropical countries. The Common wealth Forestry Review, 1: 28-34.

Jaklitsch, W.M., Checa, J., Blanco, M.N., Olariaga, I., Tello, S. and Voglmayr, H. 2018. A preliminary account of the Cucurbitariaceae. Studies in Mycology, 90:71-118.

Karaman, A., 2021. Türkiye'de orman fidanliklarından temin edilen çam tohumlarinda *Diplodia sapinea* varliğinin tespiti. Yüksek Lisans Tezi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, 48 sayfa, Isparta.

Kowalczyk, A. 2007. Some phytopathological aspects of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seed storage. Phytopathologia Polonica, 45.

Lilja, A., Hallaksela, A., Heinonen, R. 1995. Fungi colonizing Scots-pine cone scales and seeds and their pathogenicity. European Journal of Forest Pathology 25: 38-46.

Mittal, R. and Wang, B., 1987. Fungi associated with seeds of eastern white pine and white spruce during cone processing and seed extraction. Canadian Journal of Forest Research 17: 1026-1034.

Mohanan, C., Sharma, J. K. 1991. Seed pathology of forest tree species in India-present status, practical problems and future prospects. The Commonwealth Forestry Review, 1: 133-151.

Motta, E., Annesi, T., and Balmas, V. 1996. Seedborne fungi in Norway spruce: testing methods and pathogen control by seed dressing. European Journal of Forest Pathology, 26(6): 307-314.

Neergaard, P. 1977. Seed pathology. The Macmıllan Press Ltd, Page 1187, London

Oskay, F. ve Karataş, A. 2021. *Pinus nigra* subsp. *pallasiana* ve *Pinus sylvestris* tohumlarında *Diplodia sapinea*'nın yoğunluğu. Türkiye Ormancılık Dergisi, 22(3): 218-228.

Özkan, K., Küçüksille, E. U., Mert, A., Gülsoy, S., Süel, H., Başar, M. 2020. Biyolojik Çeşitlilik Bileşenleri (BİÇEB) hesaplama yazılımı. Turkish Journal of Forestry, 21: 344-348.

Ridout, M., Newcombe, G. 2018. Sydowia polyspora is both a Foliar Endophyte and a Preemergent Seed Pathogen in *Pinus ponderosa.* Plant Disease, 102: 640-644.

Roberts, E. H. 1972. Storage environment and the control of viability, In: Viability of Seeds, Roberts, E. H. (Eds)., Chapman and Hall London, pp. 14–58, UK.

Saatcioğlu, F., 1971. Orman ağacı tohumları. 3. Baskı, İ.Ü. Yayın No:1649, Orman Fakültesi Yayın No:173, 242 sayfa, İstanbul.

Santini, A., Ghelardini, L., De Pace, C., Desprez-Loustau, M.L., Capretti, P., Chandelier, A., Cech, T., Chira, D., Diamandis, S., Gaitniekis, T., Hantula, J., Holdenrieder, O., Jankovsky, L., Jung, T., Jurc, D., Kirisits, T., Kunca, A., Lygis, V., Malecka, M., Marcais, B., Schmitz, S., Schumacher, J., Solheim, H., Solla, A., Szabo, I., Tsopelas, P., Vannini, A., Vettraino, A.M., Webber, J., Woodward, S., Stenlid, J. 2013. Biogeographical patterns and determinants of invasion by forest pathogens in Europe. New Phytologist, 197: 238-250.

Sateesh, M. K. and Bhat, S. 1999. Detection of seed-borne Phomopsis azadirachtae and its transmission in Azadirachta indica (Neem). Seed Science and Technology, 27(2):753-759.

Schröder, T., Kehr, R., and Hüttermann, A. 2002. First report of the seed-pathogen Geniculodendron pyriforme, the imperfect state of the ascomycete Caloscypha fulgens, on imported conifer seeds in Germany. Forest Pathology, 32(4/5): 225-230.

Schubert, G. 1961. Fungi associated with viability losses of Sugar Pine seed during cold storage. Soc. Amer. Foresters Proc., 1960: 18–21

Talgø, V., Brodal, G., Klemsdal, S. S., and Stensvand, A. 2010. Seed borne fungi on Abies spp. Seed science and Technology, 38(2): 477-493.

Temel, F., Gülcü, S., Ölmez, Z., Göktürk, A. 2011. Germination of Anatolian Black Pine (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) Seeds from the Lakes Region of Turkey Geographic Variation and Effect of Storage. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj., 39(1):267-274.

Tosun, N., Güven, H., Akatlar, C. 2014. Türkiye'de fıstıkçamlarında tohum patojeni *Geniculodendron pyriforme* G.A. Salt (Eşeyli form: *Caloscypha fulgens*)'nin ılk kaydı ve etmene karşı fungisitlerin etkililikleri. Türkiye Ii. Orman Entomolojisi ve Patolojisi Sempozyumu, 7 - 9 Nisan 2014 Antalya, Bildiriler Kitabı, ss, 472-474, Antalya

Ürgenç S, Odabaşı T. 1971. Kızılçam *(Pinus brutia* Ten.) tohumlarının uzun süreli (7yıl) kozalak içinde saklanmasının diğer saklama metodlarıyla mukayeseli sonuçları, İÜ orman Fakültesi Dergisi, 21 (2): 82-92.

Ürgenç, S. 1998. Ağaçlandırma Tekniği Genişletilmiş ve Yenilenmiş 2. baskı, İ.Ü. Orman Fakültesi, Yayın No: 94/441, 600 sayfa, İstanbul.

Velioğlu, E. 2001. Bazı orman ağacı tohumlarında fungal flora tespiti. Orman Bakanlığı Yayın No: 119, 15 sayfa, Ankara.

White, T., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, JJ, White TJ, (eds) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press Inc., pp. 315-322, New York, USA.

Whittle, A. 1977. Mycoflora of cones and seeds of *Pinus sylvestris.* Transactions of the British Mycological Society, 69:47-57.

Yahyaoğlu, Z., Ölmez, Z. 2003. Ağaçlandırma Tekniği Ders Notu, Artvin Orman Fakültesi Yayın No: 1., Artvin.

**EKLER**

**EK 1. Kızılçam tohumlarından izole edilen fungusların izolasyon sıklıkları**

**EK 2. Fungus adları ve kısaltmaları**

**EK 1.** Kızılçam tohumlarından izole edilen fungusların izolasyon sıklıkları

| | | GÜNDOĞMUŞ | | KAŞ | | | | | KESMEÇAY | | | | | SERİK | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Taksa | Toplam | 1997 | 2013 | 1999 | 2008 | 2004 | 2011 | 2015 | 1998 | 2005 | 2008 | 2014 | 2017 | 2003 | 2008 | 2012 | 2014 | 2017 |
| Ascomycota sp. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Alternaria sp1. | 5.71 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.95 | 0.00 | 0.00 | 0.95 | 0.00 | 2.86 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.95 |
| Alternaria sp2. | 2.86 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.90 | 0.95 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Alternaria sp3 | 1.90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.43 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 |
| Alternaria sp4. | 0.95 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.95 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Alternaria sp5. | 1.43 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.95 |
| Aequabiliella sp. | 2.86 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.43 | 0.95 | 0.48 |
| Aspergillus niger | 4.29 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 1.43 |
| Aspergillus sp1. | 1.90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Aspergillus sp2. | 1.43 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.95 |
| Aspergillus sp4. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Aspergillus sp5. | 1.90 | 0.00 | 1.43 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Aspergillus sp6. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 |
| Aspergillus sp7. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| (Butlerelfia) Athelia sp. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 |
| Botryotinia sp. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 |
| Cladosporium sp1. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 |
| Cladosporium sp2. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Didymosphaeria sp. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Diplodia sapinea | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Jattaea sp. | 28.10 | 0.00 | 1.43 | 0.00 | 1.43 | 0.00 | 2.38 | 0.95 | 0.48 | 0.00 | 0.48 | 1.43 | 6.67 | 6.19 | 0.95 | 0.00 | 1.90 | 3.81 |
| Kalmusia sp. | 2.38 | 1.90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 |

**EK 1**. Kızılçam tohumlarından izole edilen fungusların izolasyon sıklıkları (Devamı)

| | | GÜNDOĞMUŞ | | KAŞ | | | | | KESMEÇAY | | | | | SERİK | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Taksa | Toplam | 1997 | 2013 | 1999 | 2008 | 2004 | 2011 | 2015 | 1998 | 2005 | 2008 | 2014 | 2017 | 2003 | 2008 | 2012 | 2014 | 2017 |
| Lophodermium seditiosum | 2.38 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.95 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.95 |
| Neocucurbitaria sp. | 8.57 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.43 | 3.33 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.33 |
| Neofusicoccum mediterraneum | 2.38 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.38 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Nothophoma sp. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Ochroconis sp. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Penicillium spp. | 2.86 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 1.43 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.95 | 0.00 | 0.00 |
| Schizophyllum commune | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 |
| Sistotrema sp. | 0.48 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Stereum sp1. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Stereum sp2. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Sydowia polyspora | 4.76 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.95 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.43 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 1.43 |
| TE | 8.10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 1.90 | 1.90 | 0.00 | 0.95 | 0.95 | 1.43 |
| Trichoderma sp. | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Trichothecium roseum | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 |
| Unidentified sp3 | 0.95 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Unidentified sp4 | 2.38 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.95 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.95 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Unidentified sp5 | 2.86 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.43 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.48 |
| Unidentified sp6 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Genel Toplam | 100 | 2.38 | 2.86 | 0.48 | 1.90 | 0.00 | 2.38 | 5.24 | 8.57 | 0.00 | 1.90 | 3.33 | 24.29 | 17.14 | 1.90 | 5.24 | 5.24 | 17.14 |

**EK 2**. Fungus adları ve kısaltmaları

| ID | ID_code |
|---|---|
| Alternaria sp1. | alt1 |
| Alternaria sp2. | alt2 |
| Alternaria sp3. | alt3 |
| Alternaria sp4. | alt4 |
| Alternaria sp5. | alt5 |
| Aquabiliella sp. | aqu |
| Ascomycota sp. | Asc |
| Aspergillus niger | aspiger |
| Aspergillus sp1. | asp1 |
| Aspergillus sp2. | asp2 |
| Aspergillus sp4. | asp4 |
| Aspergillus sp5. | asp5 |
| Aspergillus sp6. | asp6 |
| Aspergillus sp7. | asp7 |
| Butlerelfia (Athelia) sp. | ath |
| Botryotinia sp. | bot |
| Cladosporium sp1. | cla1 |
| Cladosporium sp2. | cla2 |
| Didymosphaeria sp. | didy |
| Diplodia sapinea | dipnea |
| Jattaea sp. | Jat |
| Kalmusia sp. | kal |
| Lophodermium seditiosum | lopsedi |
| Neocucurbitaria sp. | neoc |
| Neofusicoccum mediterraneum | neomed |
| Nothophoma sp. | not |
| Ochroconis sp. | och |
| Penicllium sp. | pen |
| Schizophyllum commune | schcom |
| Sistotrema sp. | sis |
| Stereum sp1. | ste1 |
| Stereum sp2. | ste2 |
| Sydowia polyspora | sydpo |
| Trichoderma sp. | Tric |
| Trichothecium roseum | Trose |
| UN | UN |

## ÖZGEÇMİŞ

**Kişisel Bilgiler**

**Adı- Soyadı** **:** Songül ÖZTÜRK

**Eğitim**

| | | |
|---|---|---|
| Yüksek Lisans | Çankırı Karatekin Üniversitesi<br>Fen Bilimleri Enstitüsü<br>Orman Mühendisliği Anabilim Dalı | 2018-2021 |
| Lisans | Düzce Üniversitesi<br>Orman Fakültesi<br>Orman Mühendisliği Bölümü | 2012–2018 |

**İş Deneyimi**

| **Yıl** | **Kurum** | **Görev** |
|---|---|---|
| 2009-2011 | Side-Özel Anadolu Hastanesi | Radyoloji Teknikeri |
| 2011-2018 | Düzce Atatürk Devlet Hastanesi | Radyoloji Teknikeri |
| 2018-Halen | Çankırı Devlet Hastanesi | Radyoloji Teknikeri |