BAZI SEBZE TOHUMLARINDA FUNGAL FLORANIN TESPİTİ VE TANILANMASI

YEŞİM ER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

KONYA-2010

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI SEBZE TOHUMLARINDA FUNGAL FLORANIN TESPİTİ VE TANILANMASI

YEŞİM ER

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nuh BOYRAZ

2010, 72 Sayfa

Juri: Doç. Dr. Nuh BOYRAZ

Doç. Dr. Mustafa PAKSOY

Yrd.Doç.Dr Kubilay K. BAŞTAŞ

Konya Melike Hatun Pazarındaki satıcılardan 2008-2009 yıllarında satın alınan bazı sebze tohumlarındaki (bamya, biber, domates, ıspanak, kabak, karpuz, kavun, marul, pırasa ve salatalık) fungal floranın tespiti ve tanılanması için blotter ve agar yöntemleri kullanılmıştır. Her iki yöntemle de izole edilen funguslar, genus ve özellikle de tür düzeyinde teşhis edilebilmeleri için x40 büyütmeli ışık mikroskobunda fungal flora bakımından incelenmiştir. Satıcılardan temin edilen örneklerde blotter yöntemine göre, patojen fungus cins veya tür sayısının, agar (PDA) yöntemine göre daha az olduğu belirlenmiştir. Blotter yönteminde en yaygın fungus cins veya türünün bamya tohumunda *Pythium* spp.; biber tohumunda *Sclerotinia* spp.; domates ve marul tohumunda *Botrytis cinerea*; hıyar, kabak ve karpuz tohumunda *Penicillium* spp.; ıspanak ve pırasa tohumunda *Fusarium culmorum* ve kavun tohumunda ise, *Macrophomina phaseolina* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, blotter yöntemine göre, fungal mikroorganizmalar ile en fazla

bulaşık olan tohum marul tohumu olarak saptanmış ve bulaşıklık oranı %70.65 olarak bulunmuştur.

Benzer şekilde, satıcılardan temin edilen örneklerde en yaygın fungus cins veya türü, bamya, biber, domates, ıspanak, marul ve pırasa tohumlarında, blotter yönteminde olduğu gibi agar (PDA) yönteminde de aynı çıkmıştır. Diğer sebze tohumlarından ise, hıyar, kabak ve kavunda *Fusarium solani;* ıspanakta *Fusarium culmorum*; karpuzda *Alternaria* spp. en yaygın fungus cins veya türü olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, agar (PDA) yönteminde de blotter yönteminde olduğu gibi fungal mikroorganizmalar ile en fazla bulaşık tohum marul tohumu olarak belirlenmiş ve bulaşıklık oranı %99.46 olarak bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: Fungal Flora, Konya, Sebze, Tohum

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION AND IDENTIFICATION OF FUNGAL FLORA OF SOME VEGETABLE SEEDS

YEŞİM ER

Selçuk University, Institute of Sciences

Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc.Prof.Dr.Nuh BOYRAZ

2010, 72 Sayfa

Jury Members: Assoc.Prof.Dr. Nuh BOYRAZ

Assoc. Prof. Dr. Mustafa PAKSOY

Assis. Prof. Dr.Kubilay K. BAŞTAŞ

Blotter and agar (PDA) method was used for some vegetable seeds (okra, pepper, tomato, cucumber, spinach, squash, watermelon, melon, lettuce, leek) bought from sellers of Konya Melike Hatun Bazaar in 2008-2009 to determine and identify fungal flora. Fungi growing both blotter and agar (PDA) method to determine for genus and especially species were investigated in x 40 enlarged light microscope. Less fungi genus or species were isolated from seeds used for blotter method compared to agar (PDA) method. According to blotter method, the most common genus or species was *Pythium* spp. in okra seeds; *Sclerotinia* spp. in pepper seeds; *Botrytis cinerea* in tomato and lettuce seeds; *Penicillium* spp. in cucumber, squash and watermelon seeds; *Fusarium culmorum* in spinach and leek seeds and *Macrophomina phaseolina* in melon seeds. Also, according to blotter method, the

most infectious seed with fungal microorganism was found lettuce and its infectious rate was counted as %70.65.

Especially, in agar (PDA) method, the most common fungi genus or species was same in okra, pepper, tomato, spinach, lettuce and leek seeds as blotter method. The most common genus or species for other vegetable seeds was *Fusarium solani* in cucumber, squash and melon; *Fusarium culmorum* in spinach and *Alternaria* spp. in watermelon. Moreover, the most infectious seed with fungal microorganism in agar (PDA) method was found lettuce as well blotter method and its infectious rate was counted %99.46.

KEY WORDS: Fungal Flora, Konya, Vegetable, Seed

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez aşamasında, ilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nuh BOYRAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, jüri üyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa PAKSOY'a, bana tez çalışmam süresince yol gösteren ve görüşlerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Ahmet GÜNCAN ve Arş. Gör. Serkan YEŞİL'e ve bana her konuda destek olan arkadaşım Ziraat Müh. Bahar Banu BATI'ya çok teşekkür ederim.

Özellikle, benden ilgi ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen tüm güçlüklere rağmen daima yanımda olan yegane varlıklarım Emekli Öğretmen Annem, Nuran ER ve Babam Hayrettin ER'e sonsuz şükranlarımı bildiririm.

Konya, 2010 **Yeşim ER**

İÇİNDEKİLER

ÖZET I

ABSTRACT III

ÖNSÖZ V

İÇİNDEKİLER VI

ŞEKİLLER LİSTESİ VIII

ÇİZELGE LİSTESİ X

1. GİRİŞ 1

2.KAYNAK ARAŞTIRMASI 5

3.MATERYAL VE METOT 15

3.1 Materyal 15

3.2 Metot 15

3.2.1 Standart Nemli Hücre (Blotter) Yöntemi 15

3.2.2 Agar (PDA) Yöntemi 16

3.2.3 Fungal Floranın Tanılanması 16

3.2.4 Tohumlarda Fungal Bulaşıklık Oranının Belirlenmesi 17

4.ARAŞTIRMA BULGULARI 18

4.1 Nemli Hücre (Blotter) Yöntemiyle Tespit Edilen Funguslar 18

4.2 Agar (PDA) Yöntemiyle Tespit Edilen Funguslar 21

4.3 Araştırma Sonucunda Tohumlardan Elde Edilen Fungal Mikroorganizmalar 24

4.3.1 *Alternaria* spp. 25

4.3.2 *Aspergillus* spp. 27

4.3.3 *Botrytis cinerea* 29

4.3.4 *Drechslera* spp. 31

4.3.5 *Fusarium* spp. 32

4.3.6 *Macrophomina phaseolina* 35

4.3.7 *Nigrospora* spp. 37

4.3.8 *Penicillium* spp. 39

4.3.9 *Pythium* spp. 41

4.3.10 *Rhizopus stolonifer* 43

4.3.11 *Sclerotinia* spp. 45

4.3.12 *Sordaria fimicola* 47

4.3.13 *Verticillium* spp. 48

5. TARTIŞMA VE SONUÇ 49

6.KAYNAK LİSTESİ 54

7.ÖZGEÇMİŞ 62

ŞEKİLLER LİSTESİ **Sayfa No**

Şekil 4.1 *Alternaria* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi 26

Şekil 4.2 *Alternaria* sp. Konidileri 26

Şekil 4.3 Blotter Ortamında Domates Tohumları Üzerinde *Alternaria* sp. Enfeksiyonu 26

Şekil 4.4 *Aspergillus* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi 28

Şekil 4.5 *Aspergillus* sp.'nin Konidiofor Yapısı ve Konidileri 28

Şekil 4.6 *Botrytis cinerea*'nın PDA Ortamında Koloni Gelişimi 30

Şekil 4.7 *Botrytis cinerea*'nın Konidiofor Yapısı ve Konidileri 30

Şekil 4.8 Blotter Ortamında Marul Tohumları Üzerinde *Botrytis cinerea* Enfeksiyonu 30

Şekil 4.9 *Drechslera* sp.'nin PDA ortamında Koloni Gelişimi 31

Şekil 4.10 *Drechslera* sp. Konidileri 31

Şekil 4.11 *Fusarium culmorum*'un PDA Ortamında Koloni Gelişimi 33

Şekil 4.12 *Fusarium culmorum*'un Makro Konidileri 33

Şekil 4.13 *Fusarium solani*'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi 34

Şekil 4.14 *Fusarium solani*'nin Konidiofor Yapısı ve Makro Konidileri 34

Şekil 4.15 *Fusarium* sp. Hifleri Üzerinde Klamidospor Oluşumu 34

Şekil 4.16 *Macrophomina phaseolina*'nın PDA Ortamında Koloni Gelişimi 35

Şekil 4.17 *Macrophomina phaseolina*'nın Sclerot Yapısı 36

Şekil 4.18 Blotter ortamında Karpuz Tohumları Üzerinde *Macrophomina phaseolina* Enfeksiyonu 36

Şekil 4.19 *Nigrospora* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi 38

Şekil 4.20 *Nigrospora* sp.'nin Zygospore Yapısı 38

Şekil 4.21 *Penicillium* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi 40

Şekil 4.22 *Penicillium* sp.'nin Konidiofor Yapısı ve Konidileri..... 40

Şekil 4.23 *Pythium* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi 42

Şekil 4.24 *Pythium* sp.'ye ait Sporangium ve Oospore Yapısı 42

Şekil 4.25 Blotter Ortamında Bamya Tohumu Üzerinde *Pythium* sp. Enfeksiyonu 42

Şekil 4.26 *Rhizopus stolonifer*'in PDA Ortamında Koloni Gelişimi 44

Şekil 4.27 *Rhizopus stolonifer*'in Sporangiofora ve Columella Yapısı 44

Şekil 4.28 *Sclerotinia* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi 45

Şekil 4.29 *Sclerotinia* sp. Askosporları..... 46

Şekil 4.30 Blotter Ortamında Biber Tohumları Üzerinde *Sclerotinia* sp. Enfeksiyonu 46

Şekil 4.31 *Sordaria fimicola*'nın PDA Ortamında Koloni Gelişimi..... 47

Şekil 4.32 *Sordaria fimicola* Askosporları..... 47

Şekil 4.33 *Verticillium* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi 48

Şekil 4.34 *Verticillium* sp.'nin Konidi ve Konidiofor Yapısı 48

ÇİZELGE LİSTESİ Sayfa No

Çizelge 4.1 Blotter Yöntemiyle Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Bulaşıklık Oranları (%) 18

Çizelge 4.2 Blotter Yöntemiyle Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Funguslar ve Bulunma Oranları (%)..... 19

Çizelge 4.3 Agar (PDA) Yöntemiyle Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Bulaşıklık Oranları (%) 21

Çizelge 4.4 Agar (PDA) Yöntemiyle Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Funguslar ve Bulunma Oranları (%)..... 22

Çizelge 4.5 Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Fungal Mikroorganizmaların Taksonomik İlgilerine Göre Gösterilişi 24

1.GİRİŞ:

Sebzeler, bitkisel üretim içerisinde birim alandan en yüksek gelir getirmekle birlikte, yeryüzünde önemli ölçüde ekimi ve üretimi yapılan ürün grupları arasında yer almaktadır. Dünyada üretilen kültür bitkilerinin yaklaşık %90'a yakın bir kısmı tohum aracılığı ile üretilmektedir. Tohumla yetiştirilen bitkiler arasında en önemlilerini tahıllar, baklagiller ve sebzeler oluşturmaktadır. Türkiye'de sebzecilik 1970'li yıllardan sonra hızla gelişmiş ve günümüzde yaklaşık 900 000 ha ekiliş alanına sahip olmak suretiyle 24 milyon ton üretim değerine ulaşmıştır. Sebze üretiminin % 87'si açıkta, % 13'ü örtü altında yapılmaktadır. Özellikle, örtü altı tarımı 1980'li yılların ikinci yarısından itibaren hızlı bir büyüme kaydetmiştir (Anonim, 2000).

Ülkemizde, ılıman iklim türlerinden tropik iklim türlerine kadar uzanan yazlık ve kışlık 50 civarında sebze türü yetiştirilmektedir. Buna ek olarak 20 kadar bitkinin de, kültürü yapılmamakla birlikte doğadan toplanıp sebze şeklinde tüketildiği bilinmektedir. Sebze üretiminde Çin Halk Cumhuriyeti, Hindistan ve ABD'den sonra dördüncü sırada bulunan Türkiye, kişi başına yıllık sebze üretimi bakımından bu ülkelerin önünde yer almaktadır (Anonim, 2000).

Sebzecilik, birim alandan çok yüksek verimin alındığı ve gelirin elde edildiği bir üretim dalıdır. Ülkemizde 27 milyon ha olan işlenen toplam alanlar içinde sebzeler yaklaşık 900 bin ha ile % 3'lük bir paya sahiptir. Birim alandan alınan ortalama verim tarla ürünlerinde 340 kg/da, meyvelerde 463 kg /da, sebzelerde ise 2424 kg/da'dır (Anonim, 1999a). Rakamlar basit olarak karşılaştırıldığında sebze yetiştiriciliğinden, tarla ürünlerine göre 6-7, meyveciliğe göre 4-5 kat daha yüksek verim alındığı ortaya çıkmaktadır. Sebzelerin örtü altında yetiştirilmesi durumunda bu farklar daha da büyümektedir. Benzer farklılıklar birim alandan elde edilen brüt ve net gelir bakımından da geçerlidir (Anonim, 1998d).

Üretilen sebzelerin tür ve tür gruplarına dağılımında meyvesi yenenler ilk sırayı (% 75) almakta, bunlar arasında domates başta gelmekte, bunu karpuz, kavun, hıyar ve biber izlemektedir. İkinci grup olarak başta kuru soğan olmak üzere soğansı sebzeler önem kazanmaktadır. Yaprağı yenen sebzeler ise, üçüncü grupta yer almaktadır. Bunun yanında, hızla artma eğilimi gösteren sebzelerin arasında enginar,

roka, kereviz, brokoli, alabaş, çin lahanası, japon turpu gibi ürünler de bulunmaktadır (Abak ve ark., 2000).

Sebze tarımında, gerek ekiliş alanı gerekse üretim bakımından öncü olan bölgelerimiz Ege ve Akdeniz bölgeleridir. Bu iki bölgenin üretimlerinin toplamı, toplam sebze üretimimizin yarısını oluşturmaktadır. Sonraki sırayı Marmara ve Orta Kuzey bölgeleri almakta ve bunları Karadeniz, Güneydoğu, Ortadoğu, Orta Güney ve Kuzeydoğu bölgeleri izlemektedir. Bölgeler içinde de verimlilik bakımından önceliği 3086 kg/da ile Akdeniz bölgesi almakta, bunu Ege, Marmara ve Karadeniz bölgeleri takip etmektedir (Abak ve ark.,2000).

Sebzeler içerdiği askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler gibi antioksidanlar, flavonoller ve fenolik asitler gibi fenolik bileşiklerle insan beslenmesinde vazgeçilmez gıdalarından biridir (Mackerras, 1995).

Bununla birlikte, hemen hemen bütün gıdalar mikroorganizmalarla bulaşık olabilirler. Bu organizmaların içinde en önemli grubu funguslar oluşturmaktadır. Funguslar geliştikleri üründe çeşitli metobolitler üreterek insan ve hayvanlarda hastalık ve zehirlenmeye yol açmaktadır (Ciegler ve ark. 1971).

Diğer birçok üründe olduğu gibi ekonomik öneme sahip olan sebzelerde de (özellikle domates, biber, hıyar, kabak gibi) verimliliği ve kaliteyi kısıtlayan başlıca faktörler arasında bir çok fungusun oluşturduğu hastalıklar ilk sırada yer almaktadır. Bu hastalıkların bir çoğu da tohum ile birlikte tarladan tarlaya ve hatta ülkeden ülkeye taşınmaktadır. Tohumluk, bitkilerin kültüre alınmalarından bu yana yararlanılan en önemli tarımsal girdilerin başında gelmektedir. Zira, bitkisel üretimde toprak işlemesi, sulama, gübreleme, mekanizasyon, bitki koruma vb. uygulamalar en iyi şekilde yerine getirilse bile, ürün verimliliğini arttırmak tohumun niteliğine ve kalitesine bağlı olarak değişmektedir. Buna dayanarak, iyi nitelikli tohum kullanımı ile verimde %20-25 hatta bazı zamanlar daha da yüksek bir artış sağlamak mümkündür (Şehirali, 1989).

Tohum kaynaklı patojenler, bitkilerden elde edilen ürün miktarının azalması (%15-30 arasında), tohumun çimlenme yeteneğinin zayıflaması veya kaybolması, bitki hastalıklarının gelişimi, tohumlarda renk ve şekil değişiklikleri, tohumlarda biyokimyasal değişmeler ve toksin oluşumu, tohum oluşumunun veya

olgunlaşmasının engellenmesi, tohumlarda çürüme gibi simptomlara neden olmaktadır (Neergaard, 1988).

Günümüzde dünyada yılda tahminen 127.400.000 ton tohumluk kullanıldığı ifade edilmektedir. Dünyada üretilen kültür bitkilerinin yaklaşık %90'a yakın bir kısmı da tohum aracılığı ile üretilmekte ve en fazla yetiştirilen bitkiler arasında da tahıllar, baklagiller ve sebzeler bulunmaktadır. Bu bitkilerin birçoğu da tohum kaynaklı patojenler tarafından zarara uğratılmaktadır. Dünyada bitki hastalıkları nedeni ile oluşan toplam kaybın, potansiyel üretimin %12'lik bir kısmını teşkil ettiği ve bu değerin üretici düzeyindeki parasal değerinin de 50$ milyar kadar olduğu belirtilmektedir. Tohum kaynaklı patojenlerin özellikle bitkilerden alınan ürün ile tohum kalitesi üzerinde etkin olduğu göze çarpmaktadır (Erkan, 1998).

Tohumlarda patojenlerin bulunduğu ve enfeksiyon oluşturduğu kısımlar ovül, embriyo, endosperm, tohum kabuğu, perikarp ve brakte olarak belirlenmiştir. Fungal patojenlerin çoğu tohumu oluşturan kısımlara büyük ölçüde kontamine olmakla beraber sağlıklı tohumlara da hasat ve harman sırasında karışabilmektedir. Hastalıklı tohum; hastalığın yayılması, çıkışı ve çoğalmasında ilk kaynak olması nedeniyle çok önemlidir. Bitki hastalıklarının çoğu fungal hastalıklardır. Bazen bitkiler bu hastalıkları tolere edebilmekte, bazen de büyük ölçüde zarara uğramaları nedeniyle önemli boyutta ürün kayıplarına uğramakta dahası ürün tamamen elden çıkabilmektedir. Ekonomik öneme sahip ve tohumluk olarak kullanılacak sebzelerde en sık rastlanan fungal patojenleri, bamya tohumlarında, *Botrytis* sp., *Colletotrichum dematium, Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum, Fusarium solani, Fusarium* spp., *Glomerella cingulata, Macrophomina phaseolina, Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum;* biber tohumlarında, *Alternaria alternata, Helminthosporium* sp., *Macrophomina phaseolina, Phoma destructiva, Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum;* domates tohumlarında, *Alternaria alternata, Alternaria alternaria* f.sp. *lycopersici, Alternaria solani, Didymella lycopersici, Fulvia fulva, Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici, Fusarium spp., Glomerella cingulata, Phoma destructiva, Phomopsis* spp., *Phytophthora capsici, Phytophthora infestans, Pythium aphanidermatum, Rhizoctonia solani, Septoria lycopersici, Verticillium dahliae;* ıspanak tohumlarında, *Botrytis cinerea, Cladosporium variable, Colletotrichum dematium* f.sp. *spinaciae, Colletotrichum spinaciicola, Fusarium oxysporum* f.sp.

spinaciae, Rhizoctonia solani, Verticillium sp., *Verticillium dahliae;* kabak ve karpuz tohumlarında, *Alternaria* spp., *Cladosporium cucumerinum, Didymella bryoniae, Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae, Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina, Sclerotinia sclerotiorum;* kavun tohumlarında, *Cladosporium cucumerinum, Fusarium oxysporum, Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis,* F. *solani* f.sp. *cucurbitae, Fusarium sp., Glomerella lagenaria, Macrophomina phaseolina, Rhizoctonia solani;* marul tohumlarında, *Alternaria dauci, Botrytis cinerea, Bremia lactucae, Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum, Sclerotium rolfsii, Septoria lactucae, Verticillium alboatrum;* pırasa tohumlarında, *Alternaria porri, Botrytis alli, Botrytis cinerea, Cladosporium alli, Peronospora destructor, Puccinia alli, Verticillium alboatrum, Fusarium culmorum;* salatalık tohumlarında ise, *Alternaria cucumerina, Cladosporium cucumerinum, Colletotrichum lagenarium, Corynespora cassiicola, Didymella bryoniae, Fusarium oxysporum, Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum,* F. *solani* f.sp. *cucurbitae;* şeklinde sıralamak mümkündür (Neergaard., 1977).

Hastalıklar; tohumla, toprakla, bitki artıkları ve iklim etmenleri (rüzgar, yağmur vb.) ile bir yerden diğer bir yere taşınmaktadır. Tohumla taşınma, hastalık etmenlerinin bulunmadığı temiz alanlara patojenlerin dağılması yönünden önemli bir faktördür. Birçok patojen, birkaç yıl tohumda, tohum canlı kaldığı sürece canlılığını devam ettirebilmektedir. Patojenler tohumda yapışmış olarak, tohum içinde, kabuk altında, kabuk aralarında veya toprakta tohum yatağının yanında bulunabilmekte, bulunma şekli patojenin türüne ve üreme şekline, konukçu tohumun cins ve taşıdığı özelliklere göre değişiklik göstermektedir (Eğriçayır,1985).

Yukarıdaki veriler de dikkate alındığında, sebze tohumlarının fungal florasını tespit ve tanılamaya yönelik yapılan araştırma, hastalıklardan ari tohum kullanımı, hastalığın meydana getireceği kayda değer boyuttaki ürün kayıplarını önlemenin yanı sıra daha az fungisit kullanımına zemin hazırlaması; dolayısıyla daha ekonomik anlamda yetiştiricilik yapılması ve çevre sağılının korunmasına büyük ölçüde katkı sağlaması yönüyle bu konunun ne derece önemli olduğuna işaret etmektedir.

2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

Üretim materyali içinde ağırlıklı bir yeri olan tohum birçok patojenin taşınmasında ve bu patojenlerden kaynaklanan hastalıkların primer enfeksiyonunda ana kaynaktır (Gökova,1996).

Tohum kökenli olan ve tohumla taşınabilen hastalık etmenlerini tanımak ve bunları kontrol altına alabilme yollarını bilmek sağlıklı bir ürün elde etmenin ilk aşamasını oluşturmaktadır (Neergaard,1988).

Tohumlar üzerinde veya içinde bulundurdukları patojenlerden zarar görebildikleri gibi, bu patojenlerin yayılmalarında veya taşınmalarında aracılık görevini de yapabilmektedirler (Erkan, 1998).

Tohumlarda bitki patojenlerinin de olduğunun anlaşılması sonucu tohumda sağlık testlerinin de yapılmasının zorunlu olduğu ortaya çıkmıştır. Tohumda bulunması istenmeyen hastalıkların var olup olmadığını veya önerilen tolerans sınırlarını aşıp aşmadığını anlamanın tek yolu tohumların hastalık yönünden test edilmeleridir (Temiz ve Fesli, 1978).

Tohumun sağlık durumu esas olarak hastalığa neden olan organizmaların varlığını ya da bulunmayışını ifade etmektir. Tohumlarda gerçekleştirilen sağlık testleri değişik amaçlar doğrultusunda yapılmaktadır (Agarwal, V.K and Sinclair, J.B., 1987).

Bunlar; tohumun üretim alanındaki performansını belirleyen faktör olarak sağlık durumunu incelemek, sertifikasyon programlarında patojen içermeyen tohumluk elde etmek, karantina uygulamalarında tohum örneklerindeki enfeksiyonları belirlemek, tohumlara pestisit uygulamasının veya diğer aplikasyonların yapılmasının gerekliliğine karar vermek, bir araştırmada tohum kaynaklı bir enfeksiyonun yaygınlığını ve önemini tespit etmek, tohumların insan ve hayvan besini olarak uygunluğunu saptamak şeklinde sıralanabilir (De Tempe ve ark., 1979).

Araştırıcılara göre, tarla ve depodan alınan tohumlarda görünmesi olası olan tüm organizmalardan hedef patojenin ayırt edilmesi yani özgüllük, um stoklarında düşük oranda olan ve tarladaki bitkilerde muhtemelen önemli olabilecek organizmaları tanılama durumu yani duyarlılık, sonuçların kısa sürede ve hatasız sağlanma durumu, uygulama ve düzenleme açısından kolay olma durumu, iş gücü,

ekipman ve malzeme yönünden masrafların ekonomik sınırlarda olması, sonuçların yöntemi uygulayan kişi dikkate alınmaksızın aynı örnek veya mukayese örneği için sağlıklı ve yeniden elde edilebilir olması tohum sağlık testlerinde kullanılan yöntemlerin elverişli olması açısından yerine getirilmesi gerekli durumlardır (Baltzer, 1930; Maude,1996).

Günümüzde, sağlık testleri için tohum partilerinden örnek alınması genellikle I.S.T.A (Uluslararası Tohum Test Birliği)'nın belirlediği kurallar çerçevesinde olmaktadır. Tohum partisi ya da tohum lotu uluslar arası bir analiz sertifikasının verilebileceği, fiziksel olarak nitelikleri bilinebilen ve belirli bir ağırlığa sahip olan tohum miktarı olarak açıklanmaktadır (ISTA, 1976; Şehirali, 1989). Özellikle tohum partisinin homojenliği önemli bir özelliktir. Tohum partisinin homojenliğinin testler aracılığı ile ölçülebilen çeşit safiyeti, yabancı ot tohumu sayısı, çimlenme vb. özellikler ile ilgili olduğu ifade edilmektedir (Neergaard,1988). Laboratuvar testlerinde kullanılan tohum miktarı tohum partisini temsil eden küçük bir kısımdır. Yapılacak olan testlerde benzer ve güvenilir bulguların elde edilmesi için tohum partisinden parça örnek, paçal örnek, temsili örnek ve çalışma örneğinin kurallara uyacak biçimde alınması ve hazırlanması zorunlu olmaktadır. Bu nedenle alınacak örneğin çalışma örneğine küçültülmesi, sırasında gereken özen gösterilmeli ve çalışma örneğinin alındığı tohum partisini tam olarak temsil etmesi sağlanmalıdır (ISTA, 1996). Neergaard, tohum partisi ağırlığının tohum iriliği buğday tohumu kadar olan veya buğday tohumundan daha fazla olan türlerde 20 000 kg, tohum iriliği buğday tohumundan daha az olan türler de ise 10 000 kg olmasın gerektiğini belirtmektedir (Neergaard,1988; Şehirali, 1989).

Örnek alınması istenen tohum partisi hava geçirmeyen yada geçirebilen torba, çuval, paket, kap vb. kapalı ortamlarda veya depo, kamyon, römork gibi yerlerde dökme ya da yığın halinde bulunabilir. Bu nedenle örnekleme zamanı, örnekleme zamanında deneyimli kişiler tarafından yapılmalı ve örneklenen tohum partisi örneklenmeden sonra mühürlenmelidir (ISTA, 1996; Neergaard, 1988).

Alınan paçal örnek, I.S.T.A tarafından önerilen yöntemlerden birinin kullanılması ile temsili örnek haline getirilmektedir. Üretim veya satış yerlerinde paçal örneklerin karıştırılamasının ve büyüklüklerinin kurallara uygun şekilde yapılması güç olduğu içim bazen paçal örneğin tümünün laboratuvara gönderilmesi

söz konusu olabilmekte ve temsili örnek burada elde edilmektedir. Diğer yandan paçal örnek uygun büyüklükte ise, tohum miktarı azaltılmadan doğrudan temsili örnek olarak dikkate alınabilmektedir. Laboratuvara veya ilgili testleme kurumuna gönderilen temsili örneğin çalışma örneği büyüklüğüne indirilmesi burada gerçekleştirilmektedir. Tohum örneklerinde uygulanacak değişik amaçlı testlere (sağlık, safiyet, çimlenme, nem içeriği tayini, ağırlık testi vb.) göre çalışma örneklerinin minimum ağırlıkları farklı olmaktadır (ISTA, 1976; Van der Burg ve ark, 1983).

Tohum sağlık testlerinde uygulanacak test yönteminin tipine bağlı olarak temsili örneğin tamamı ya da belli bir kısmı çalışma örneği olarak kullanılmaktadır. Tohumda yapılacak sağlık testlerinde uygulanacak yöntemin seçimi incelenecek olan patojene veya patojenin bulunduğu ortam koşuluna, tohum türüne ve testin amacına bağlıdır (Langerak,1983). Testlerde kullanılacak olan yöntemin seçimi ve sonuçların değerlendirilmesi bu konuda bilgili ve deneyimli olmayı gerektirmektedir. Bir tohum partisinin sağlık durumunun belirlenmesinde en az iki özel tipte test uygulandığı görülmektedir. Bunlar; çalışma örneğini oluşturan tohumların hastalıklı bitki artığı, patojenlerin üreme organları, sklerot, ur vb. bulundurmaları yönünden incelenmeleri ve belli bir inkübasyon süresinden sonra çalışma örneğini oluşturan tohumların veya bu tohumlardan meydana gelen fidelerin patojenlerin veya belirtilerinin varlığı açısından incelenmeleri şeklinde sıralanabilir (Roberts ve ark.,1993)

Tohum kaynaklı fungusları tanılamada kullanılan birçok yöntem vardır. Ancak, tohum kaynaklı fungal etmenleri tanılamada kullanılan yöntemler tanılanması istenilen fungusun nitelikleri ile inokulumun tohumda bulunduğu yere göre değişme göstermektedir. Tohumlarda bulunan fungusları tanılamak için genellikle doğrudan tohumu incelemeye ve inkubasyona dayalı değişik yöntemlerden yararlanılmaktadır (ISTA,1976).

Tohum kaynaklı fungusları tanılamada kullanılan yöntemleri sırasıyla ele alıcak olursak; tohumların incelenmesin yönteminde bazı fungusların tohum kabuğu renginde değişmeler, morfolojik anormallikler ve tohumda oluşturdukları fungal üreme yapıları nedeni ile göz kontrolü veya ışık mikroskobunda incelenmeleri yapılmakta ve bu sayede tanılanmaları mümkün olmaktadır. Islatma ya da yumuşatmadan sonra tohumların incelenmesi yöntemi yıkamadan sonra su içinde

sporların serbest kalması durumunda bazı fungal enfeksiyonları tanılamak için uygun olmaktadır. Tohum yıkama yöntemi, tohum yüzeyinde spor şeklinde taşınan tohum kaynaklı fungusları tanılamak için kullanılır. Tohumları tanılamada kullanılan inkubasyon yöntemleri ise ikiye ayrılmaktadır. Bunlardan ilki blotter yöntemidir. Bu yöntem, fungal patojenleri ve tohumda bulunan diğer mikroorganizmaları tanılamada kullanılan basit ve masrafsız bir yöntemdir. Yöntemin esası ortamda yüksek düzeyde bir oransal nem sağlamak ve fungal gelişme için optimum ışık ve sıcaklık koşullarını sağlamaktır. Diğeri ise agar (PDA) yöntemidir ve tohumlarda bulunan fungal etmenlerin besi ortamında gelişme ve koloni karakteristiklerine dayanmaktadır. Fidelerde belirti izleme yöntemi, tohum kaynaklı enfeksiyonlar nedeni ile oluşan belirtilerin gelişimine izin verecek kontrollü koşullar altında fide yetiştirilmesini kapsamaktadır. Bu yöntem de, katlanmış kağıt yöntemi, kurutma kağıdı yöntemi ve ve test tüplerinde agar yöntemi ve toprak yöntemleri olmak üzere 4'e ayrılmaktadır. Diğer bir yöntem olan Fluoressens yöntemi, ultraviyole ışık altında (yaklaşık 100 watt'lık bir lamba) fungusun teşhis edilmesi için fluoressent bir madde üretme yeteneğine dayanmaktadır. Histopatolojik yöntemler, tohumun farklı kısımlarındaki inokulumu saptamak ve obligat fungus enfeksiyonlarını belirlemek için kullanılmaktadır. Embriyo sayım yöntemi ise, besin ortamında ve kurutma kağıdı üzerinde gelişmeyen tohum kaynaklı bazı fungal patojenlerin tanılanmasında kullanılan temel bir yöntemlerden biridir (ISTA, 1996).

Bugün birçok ülkede tohumluk sertifikasyonu ve karantina amacı ile tohum sağlık testleri yapılmakta ve tohum ihraç eden ülkelerin bitki koruma servisleri tohum sağlık testlerine dayanarak Uluslararası Bitki Sağlık Belgesi (International Phytosanitary Certificate) düzenlemektedirler (Agarwal and Sinclair, 1987; Kulik, 1984).

Habib ve ark. (2007), patlıcan çeşitlerinin (*Solanum melongena*) tohumlarındaki fungal floranın, tohumda bulundukları yerleri belirlemiş ve tespit edilen fungusların tohum çimlenmesi üzerine etkilerini araştırmıştır. Yapılan çalışmada, fungal izolatlar, yerel tohum satılan işletmelerden toplanılan farklı çeşitlerdeki patlıcanın 25 kadar tohum örneğinden elde edilmiştir. Bu tohum gruplarının %6.75-%13 arasında değişen oranlarda *Alternaria alternata, Aspergillus flavus, Culvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium solani* gibi birçok

fungusu içerdiği tespit edilmiştir.%1,29-%37,8 oranları arasında *Epicoccum, Mucor* ve *Penicillium*'un bazı saprofitik ve nonpatojenik türleri ise ayrıca izole edilmiştir. Yapılan analizler, fungusların büyük bir kısmının embriyodan çok tohum kabuğunda bulunduğunu ortaya koymuştur. Tohumların embriyo kısmında yalnızca F. *oxysporum* ve F. *solani* düşük oranda tespit edilmiştir. Test edilen funguslar, patlıcanda %30-82 oranında tohum çimlenmesini engellemiştir.

Shahida (1996), Pakistanın sebze tohumu satan farklı işletmelerinden toplanan domates tohumlarına ait 24 örneğin fungal florasını incelemiştir. Blotter yöntemini takiben agar yöntemiyle de incelenen tohumlarda büyük ölçüde fungus tespit edilmiştir. Tespit edilen 20 fungus cinsi ve 37 fungus türünü *Alternaria alternata*, A. *tenuissima, Aspergillus candidus*, A. *flavus*, A. *fumigatus*, A. *niger*, A. *quadrilineatus*, A. *sulphureus*, A. *terreus,* A. *wentii*. *Aspergillus* sp., *Auriobasidium pullulans, Cephaliophora irregularis, Chaetomium globosum,* C. *indicum*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata,* C. *tuberculata, Drechslera australiensis, D. hawaiiensis, Fusarium moniliforme,* F. *o*xysporum, F. *semitectum*, F. *solani*, *Mucor* sp., *Macrophomina phaseolina*, *Nigrospora oryzae*, *Penicillium* sp., *Paecilomyces variotii,* P. *lilacinus*, *Phoma* sp., *Rhizopus* sp., *Scopulariopsis* sp., *Stachybotrys atra, Syncephalastrum* sp., ve *Trichoderma harzianum* oluşturmaktadır. Bunlardan en az 21 türü domates tohumlarında henüz yeni rapor edilmiştir. *Fusarium moniliforme*, F. *solani,* F. *oxysporum,* A. *alternata*, D. *australiensis*, A. *flavus* ve A. *Niger* en fazla oranda tespit edilen funguslar olmuştur. Tohumlara uygulanan yüzey sterilizasyonu *Chaetomium* spp., *Fusarium oxysporum*, F. *solani*, A. *flavus* ve A. *Alternata* funguslarının miktarında büyük ölçüde artışa neden olmuştur. Bununla birlikte, A. *niger* A. *terreus*, A. *wentii*, D. *australiensis*, *Penicillium* sp., ve *Rhizopus* sp. tarafından meydana gelen infeksiyonda azalma görülmüştür. Ayrıca, *Fusarium moniliforme*, F.*oxysporum* ve *Alternaria alternata* 'nın konidileri ile yapılan tohum inokulasyonu tohum çimlenmesini büyük ölçüde azaltmıştır.

Nishikawa ve ark. (2006), Solaneceae familyasına ait depolanan sebze tohumlarında fungal floranın belirlenmesi ve tespit edilen fungusların biyolojik aktivitelerini belirlemek için yapmış oldukları çalışmada domates, patlıcan, dolmalık biber ve kırmızıbiberi içine alan, uzun ve kısa dönemlere göre muhafaza edilen

Solaneceae familyasına ait bitkilerin 1296 adet tohumundan 629 kadar fungus izole etmişlerdir. İzolatlar, tanımlanamayan funguslar hariç 22 cins halinde sınıflandırılmış ve fungal floralar, domates-patlıcan ve biber grupları olmak üzere iki kısma ayrılmıştır. Araştırıcılar fungusların biyolojik etkinliği üzerine yaptıkları çalışmalarda *Geotrichum candidum* ile enfekte olan çoğu domates tohumunun enfekte olmamış tohumlarda da aynı oranda çimlendiği ve geliştiğini gözlemlemiştir Patlıcan tohumlarından izole edilen *Cladosporium sphaerospermum* ve *Arthrinium* sp'nin. ise, çimlenmeyi büyük ölçüde engellediğini saptamışlardır. Buna ek olarak, *Penicillium variabile* patlıcanda kök uzamasını engellemiş, dolmalık biber ve kırmızıbiber tohumlarında tespit edilen *Alternaria alternata, Botrytis cinerea* ve *Myrothecium verrucaria*'nın ise tohumlarda patojenik olduğunu rapor etmişlerdir.

Chiejina (2006), kavun tohumlarının üç çeşidi ile ilişkili olan fungusları incelemiştir. Fungal flora, test edilen üç kültivarda kabuksuz tohumlarda kabuklu tohumlara oranla daha fazla miktarda bulunmuştur. Dokuz kadar fungal cins izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Ancak, bu dokuz cinsin ikisi tanımlanamamıştır. *Citrullus vulgaris* tanımlanamamış iki cinste dahil olmak üzere dokuz cinsin hepsi ile infekte olmuştur. Enfeksiyon oranı yüzdesi, kültivarların hepsinde kabuklu tohumlara sahip olanlara nazaran kabuksuz tohuma sahip olan kültivarlarda daha yüksek oranda gözlenmiştir. *Aspergillus* spp. en fazla miktarda tespit edilen cins olmuştur. *Aspergillus niger* de kavun tohumunda en çok bulunan tür olmuştur. Bunu *Rhizoctonia solani* takip etmiş ve Aflatoksin üreten *Aspergillus flavus* ise en az miktarda tespit edilen tür olmuştur.

Valkonen ve ark. (1990), ekonomik öneme sahip tohum partilerinin kalitesini değerlendirmek amacıyla çin lahanasının (*Brassica pekinensis*) fungal florası ve fungal floranın patojenitesi üzerine araştırma yapmıştır. Yapılan çalışmada, tohum partilerinde bulunan çok sayıda fungal tür arasında dokuzunun *Brassica pekinensis* üzerinde patojenik olduğu belirlenmiştir. Bu funguslardan *Alternaria raphani* ve A. *brassicola* en yaygın ve en patojenik tür olarak bulunmuştur. Blotter yöntemi, tohum sağlık testleri için inkubasyon ortamı olarak başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Tohumların sodyumhipoklorit ile yüzey dezenfeksiyonu, A. *raphani*'nin dahili infeksiyonunu tespit etmek amacıyla yapılmıştır. A. *brassicola* ve A. *raphani*'nin

etkisi arasında doğrusal bir ilişki olduğu kanıtlanmıştır. Tohum partilerinin %10'u A. *raphani*'nin meydana getirdiği ağır enfeksiyon nedeniyle fide üretiminin dışında tutulmuştur.

Sultana ve ark. (2006), *Lasiodiplodia theobromae*'nin tohum kaynaklı inokulumunun tespiti ve bal kabağı *(Cucurbita pepo)* fidelerine taşınması konusunda çalışmalar yapmıştır. Doğal yollarla infekte olmuş bal kabağı tohumlarını kullanarak, fungal patojen *Lasiodiplodia theobromae* 'nın testanın içinde ayrıca kotiledon ve embriyo dokusunda da bulunduğunu tespit etmiştir. Bununla birlikte, sağlıklı tohumlar için de testa da fungusun etkili olabildiği gözlemlenmiştir. L. *theobromae*, fidelere taşınmakla beraber çıkış öncesi ve sonrası çökertene neden olarak tarımla uğraşılan tarlalarda inokulum potansiyelinde artışa neden olmuştur.

Du-Hyunglee, S.B. ve ark. (1984), *Didymella bryoniae*'nin tohum kaynaklı inokulumunun tespiti, salatalık ve balkabağı fidelerine taşınması konusunda çalışmalar yapmıştır. 13 ülkeden temin edilen 91 adet salatalık ve balkabağına ait tohum örneğinden, 4 ülkeye ait 9 kadar tohum örneği *Didymella bryoniae* ile enfekteli olarak bulunmuştur. Patojenin tohum kabuğunda, tohumun içinde ve ayrıca kotiledon dokusunda ve perispermde (bazı tohumlarda bulunan ve tohum taslağı özünden gelişen besleyici doku) bulunduğu tespit edilmiştir. İlk olarak, fide enfeksiyonu radikulada (kökçük), hipokotilde ve kotiledonlarda meydana gelmiştir. Hipokotil ve kotiledonlar üzerinde meydana gelen enfeksiyon, sap ve ilk çıkan yaprakların enfeksiyonu için daha fazla zemin hazırlarken, radikula infeksiyonu genel olarak çıkış öncesi bodurluğa neden olmuştur. Deneysel olarak, D.*bryoniae*'ye ait tüm izolatlar hıyarı (*Cucumis sativus*), doğu kavununu (*Cucumis melo* var. *makuwa*), balkabağnı (*Cucurbita pepo*) ve karpuzu (*Citrillus vulgaris*) farklı gelişim evrelerinde enfekte edebilmektedir. Hıyar ve balkabağının hassasiyeti, hakim nem koşulları ile önemli ölçüde etkilenmiştir. Blotter metodu, agar (PDA) metoduna göre tohum kaynaklı enfeksiyonu belirleme açısından daha elverişli olarak bulunmuştur.

Kubota ve ark. (2006), lahanaya *(Brassica oleracea)* ait tohum örneklerini, tohum kaynaklı funguslar olan *Alternaria brassicicola* ve *Alternaria brassicae*'nin varlığını tespit etmek amacıyla incelemiştir. A. *brassicola* incelenen 44 örneğin 26'sında saptanmıştır. Fakat, A. *brassicae* örneklerin hiçbirinde bulunamamıştır.

Tohumların %24-37'si enfekte edilmiş ve embriyo dokularında %4-8 oranında A. *brassicola* enfeksiyonu olduğu tespit edilmiştir. A. *brassicola* ile yapılan tohum inokulasyonu, çimlenen fidelerde verim kaybı ve sonrasında ise fidelerin ölümüne neden olmuştur. Fungus, depolanan tohumlar üzerinde canlılığını ve patojenitesini 1 yıl kadar sürdürmüştür. Bu çalışma da, ekonomik öneme sahip lahana tohumlarının yüksek oranda A. *brassicola* ile bulaşık olduğuna ve bu bulaşık tohumların hastalığın başlıca kaynağı olabileceğine işaret edilmiştir.

Reuveni ve ark. (1983), kavunda *Macrophomina phaseolina*'nın gelişimi üzerine tohum kaynaklı inokulumun rolünü incelemiştir. Yapay ve doğal yollardan infekte edilmiş kavun tohumu üzerine yapılan denemeler sonucunda *Macrophomina phaseolina* fungusunun tohum kabuğu ve kotiledonlarda bulunduğu ortaya konulmuştur. Patojenin, infekte ettiği tohumlardan fidelere taşındığı ve oradan da direk kavuna taşındığı gözlemlenmiştir ve ayrıca topraktaki inokulum potansiyelinin de arttığı tespit edilmiştir.

Hernandez ve ark. (2006), ıspanakta tohum kaynaklı *Cladosporium variabile* ve *Stemphylium botryosum*'un patojenitesi belirlemeye yönelik çalışmalar yapmıştır. USA, Danimarka, Hollanda, Yeni Zellanda'da üretilen 77 kadar ıspanak tohumuna ait partide, *Stemphylium botryosum* fungusu 77 tohum partisinin hepsinde, *Cladosporium variabile* fungusu ise 77 tohum partisinin sadece 37'sinde tespit edilmiştir. Bazı ıspanak tohumlarına ait S. *botryosum* ve C. *variabile*'den alınan izolatların patojenik olduğu belirlenmiştir. S. *botryosum*'un patojenik izolatları, % 60 bağıl nem ve 4,4 °C sıcaklıkta 11 yıla kadar depolanan 12 adet tohum partisinin her birinde tespit edilmiştir. C. *variabile* ise 3-8 yıl kadar depolanmış 11 tohum partisinin sadece 2'sinde patojenik olarak bulunmuştur. Tohum denemeleri, S. *botryosum* ve C. *variabile* funguslarının ıspanak tohumunun iç ve dış kısmında bulunduğunu ortaya koymuştur. S. *botryosum* 5 kadar tohum partisinin embriyosunda %5-76 oranında tespit edilmiştir. Fakat, *Cladosporium variabile*, ise yalnızca bu tohum partilerinin embriyosunda %0-1 oranında tespit edilmiştir. Bu da, S. *botryosum*'un C. *variabile*'ye göre ıspanak tohumundan daha zor eradike edilebildiğini göstermektedir.

Köycü ve ark. (1997), Türkiye'nin 7 bölgesinden temin edilen soğan tohumu örneklerine ait tohum kabuğu, embriyo ve endosperm kısımlarını kültüre almış, tohum kaynaklı fungusları tespit etmiş ve bu fungusların steril toprak ve tarla toprağında yetiştirilen soğan fidelerine taşınmasını incelenmişlerdir. Tespit edilen funguslar arasında ilk etapta, soğan tohumlarında bulunan *Aspergillus alutaceus* , *Beauveria bassiana* , *Cladosporium cladosporioides* , *Geotrichum* sp., *Humicola fuscoatra, Trichoderma harzianum,* T. *pseudokoningii* ve soğan fidelerinde bulunan *Fusarium culmorum* , F. *graminearum* ve F. *sambucinum* fungusları kaydedilmiştir. *Aspergillus niger* tohum örneklerinde (özellikle tohum kabuğunda) ve steril ve tarla toprağının her ikisindeki tohumlardan gelişen soğan fidelerinin köklerinde ve soğanlarında en fazla oranda tespit edilen fungus olmuştur. *Fusarium oxysporum,* steril toprakta ve tarla toprağında yetiştirilen soğan fidelerinden tohumlara nazaran daha yüksek oranda izole edilmiştir. F. *acuminatum,* F. *sambucinum,* F. *equiseti* ve F.*graminearum* yalnızca steril toprakta yetişen soğan fidelerinden izole edilmiştir. İkili yapılan kültür testlerinde, *Fusarium* izolatlarının (*Fusaium oxysporum* hariç), A. *niger* tarafından agar (PDA) ortamında gelişimleri engellenmiştir. *Fusarium* spp. steril toprakta yetişen soğan fidelerinde gözlemlenmiş ve tarla toprağında yetiştirilen fidelerde ise gelişimi diğer funguslar tarafından engellenmiştir ve sonuç olarak tespit edilen bütün fungusların tohum kökenli olduğu ve A. *niger* ve *Fusarium* spp.'nin ise, tohumdan veya topraktan soğan fidelerine taşınabildiği tespit edilmiştir.

Sharfun ve ark. (2004), Hindistandan ithal edilen 40 kadar biber tohumuna ait örneği blotter ve agar (PDA) metotu kullanarak fungal flora yönüyle incelemiştir. Yapılan çalışmada tespit edilen *Absidia corymbifera, Acremonium fusidioides, Aspergillus tamarii, Blakeslea* sp., *Cephaliophora irregularis, Cladosporium accacicola, Scopulariopsis* sp., *Streptomyces* sp., *Tritirachium* sp., ve *Ulocladium tuberculatum* fungusları biber tohumlarında ilk kez gözlemlenmiştir.

Sultana ve ark. (2009), uluslar arası tohum testleme derneği tarafından kabul edilen teknikleri kullanarak, su kabağı (*Lagenaria siceraria*) tohumlarında bulunan fungal florayı tespit etmek amacıyla çalışmalar yapmıştır. Yapılan çalışmada, toplam 22 cins ve 45 fungus türü izole edilmiş ve bunlardan 35 tanesi şimdiye kadar su kabağı tohumlarında gözlemlenmemiştir. Uygulanan blotter yönteminde, nicel olarak

agar metotuna oranla daha fazla miktarda fungus elde edilmiştir. *Lasiodiplodia theobromae, Fusarium semitectum Macrophomina phaseolina* ve *Fusarium oxysporum* sırasıyla %33, %91, %50 ve %66 bulunma oranıyla sukabağı tohumlarından en fazla izole edilen funguslar olarak belirlenmiştir.

3.MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Yapılan çalışmada, materyal olarak Konya Melike Hatun Pazarındaki satıcılardan ekonomik öneme sahip ve yaygın olarak ekimi yapılan ilaçsız sebze tohumları (bamya, biber, domates, ıspanak, kabak, karpuz, kavun, marul, pırasa, salatalık) temin edilerek, Blotter yöntemine göre her bir sebze türü için toplam 2000 adet ve agar yöntemine göre her bir sebze türü için de toplam 3000 adet tohum kullanılmıştır.

3.2 Metot

Sebze örneklerindeki fungal floranın belirlenmesinde, sebze tohumluklarının üzerinde veya içerisinde gelişen fungusları izole etmek amacıyla blotter ve agar yöntemi olmak üzere 2 metot kullanılmıştır (ISTA,1976).

3.2.1 Standart Nemli Hücre (Blotter) Yöntemi

Öncelikle, sebze tohumlarına ait örnekler standart blotter yöntemine tabi tutulur. Bunun için, dokuz cm çapında petri kabına yuvarlak olarak kesilen 3-4 kat filtre kağıdı sterilizasyona tabii tutulduktan sonra steril su yardımıyla nemlendirilmiştir ve bu şekilde nemlendirilen kurutma kağıtları üzerine her bir sebzeye ait test edilecek olan tohum, türüne göre, farklı sayıda ve eşit aralıklarla ekilerek 1 hafta süreyle 22 ± 2 °C’ de inkübasyona bırakılmıştır. Ayrıca fungal sporulasyonu sağlamak için de, 8 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda inkubasyon yapılmıştır (Doyer, 1938, Pirson,1978, Neergaard 1988, Maude 1996). Bir haftalık inkübasyon süresi sonunda tohumda fungal organizmalara ait gelişmeler ışık mikroskobu altında incelenmiş ve cins veya tür düzeyinde teşhisleri yapılmıştır.

3.2.2 Agar (PDA) Yöntemi

Tohumda hızlı gelişen ve yüzeysel enfeksiyon yapan fungusları tanılamak için uygun bir yöntemdir. Yapılan çalışmada, agar yöntemi için besiyeri olarak Uluslararası Tohum Testleme Birliği (ISTA) tarafından önerilen Patates Dekstroz Agar (PDA) kullanılmıştır (ISTA, 1976). Sebzelere ait belirli sayıda tohum örneği öncelikle %2'lik NaOCl' de 1 dk yüzeysel sterilizasyona tabi tutulduktan sonra üç seri steril saf sudan geçirilerek steril kurutma kağıtları arasında kurutulmuştur. Daha sonra ise, her bir sebzeye ait test edilecek olan tohum, PDA ve antibiyotik içeren ortama (0,1gr sterptomycin) türüne göre, farklı sayıda ve eşit aralıklarla ekilerek 1 hafta süreyle 22 ± 2 °C' de inkübasyona bırakılmıştır. Bir haftalık inkübasyon süresi sonunda tohumda fungal organizmalara ait gelişmeler ışık mikroskobu altında incelenmiş ve cins veya tür düzeyinde teşhisleri yapılmıştır (Agarwal and Sinclair, 1987)

3.2.3 Fungal Floranın Tanılanması

Tohumlarda gelişen fungal mikroorganizmaları tanılayabilmek için, blotter yönteminde, fungal mikroorganizların sebze tohumları üzerinde meydana getirdiği hif, miselyum gelişimleri ve oluşturduğu enfeksiyonlar; agar (PDA) yönteminde ise, fungal mikroorganizmaların besi ortamında meydana getirdiği hif, miselyum ve koloni gelişimleri dikkate alınmıştır. Yukarıda sayılan yöntemler, genellikle fungal mikroorganizmaların teşhislerinin yapılması için bir yere kadar yeterlidir. Fungal mikroorganizmaların genus ve özellikle de tür düzeyinde tanılanması gerekmektedir. Bu bakımdan, blotter ve agar yöntemine göre izole edilen funguslar, kesin bir teşhis için konidiofor ve konidi yapıları bakımından x 40 büyütmeli ışık mikroskobu altında ayrı ayrı incelenmiş ve daha sonra trinoküler araştırma mikroskobunda resimleri çekilerek cins ve tür düzeyinde tanılamaları Von Arx, 1970; Booth , 1971 ; Barnett ve Hunter , 1972; Nirenberg, 1976; Domsch ve ark.,1980'e göre yapılmıştır.

3.2.4 Tohumlarda Fungal Flora Bulaşıklık Oranının Belirlenmesi

Sebze tohumlarındaki fungal flora bulaşıklık oranını belirlemek için öncelikle, incelenecek olan tohum sayısı belirlenmiştir. Sonrasında, bu incelenen sebze tohumları içinden fungal mikroorganizma ile bulaşık tohum sayısı tespit edilmiştir.

Tohumlardaki bulaşıklık oranını hesaplamak için ise, aşağıda belirtilen formül kullanılmıştır.

$$\text{Bulaşıklık Oranı} = \frac{\text{Fungal Mikroorganizma ile Bulaşık Tohum Sayısı}}{\text{İncelenen Tohum Sayısı}} \times 100$$

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Nemli Hücre (Blotter) Yöntemiyle Tespit Edilen Funguslar

Blotter yöntemi kullanılarak Konya Melike Hatun Pazarındaki satıcılardan temin edilen 2008 ve 2009 yılına ait her bir sebze türü için 2000 adet tohum örneği üzerinde çalışılmıştır. Dolayısıyla, 409 adet bamya, 867 adet biber, 979 adet domates, 329 adet hıyar, 1230 adet ıspanak, 140 adet kabak, 257 adet karpuz, 681 adet kavun, 1413 adet marul ve 1264 adet pırasa tohumuna ait örnekde fungal gelişime rastlanmış ve bu örnekler fungal flora bakımından incelenmiştir.

Öncelikle, blotter yöntemiyle sebze tohumlarında saptanan bulaşıklık oranları tespit edilmiş ve (%) olarak çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Blotter Yöntemiyle Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Bulaşıklık Oranları (%)

SIRA NO	SEBZELER	İncelenen Tohum Sayısı	Fungal Mikroorganizma ile Bulaşık Tohum Sayısı	Bulaşıklık Oranı (%)
1	BAMYA	2000	409	20.45
2	BİBER	2000	867	43.35
3	DOMATES	2000	979	48.95
4	HIYAR	2000	329	16.45
5	ISPANAK	2000	1230	61.5
6	KABAK	2000	140	7.0
7	KARPUZ	2000	257	12.85
8	KAVUN	2000	681	34.05
9	MARUL	2000	1413	70.65
10	PIRASA	2000	1264	63.20

Çizelge 4.1'e bakıldığında, en fazla miktarda fungal mikroorganizma barındıran sebze 1413 adet bulaşık tohum ve % 70.65 bulaşıklık oranına sahip bamya olarak belirlenmiştir. En az miktarda fungal mikroorganizma barındıran sebze ise 140 adet bulaşık tohum ve %7.0 bulaşıklık oranına sahip kabak olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2'de ise, blotter yöntemiyle sebze tohumlarında bulunan fungal mikroorganizmalar saptanmış ve tohumda bulunma oranları (%) olarak verilmiştir.

Çizelge 4.2 Blotter Yöntemiyle Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Funguslar ve Bulunma Oranları (%)

	İZOLE EDİLEN FUNGAL MİKROORGANİZMALAR										
SEBZELER	*Alternaria* spp.	*Aspergillus* spp.	*Botrytis cinerea*	*Fusarium culmorum*	*Fusarium solani*	*Macrophomina phaseolina*	*Nigrospora* spp.	*Penicillium* spp.	*Pythium* spp.	*Rhizopus stolonifer*	*Sclerotinia* spp.
BAMYA	-	7.57	-	-	-	-	-	7.33	77.75	7.33	-
BİBER	-	15.45	-	-	-	-	-	15.22	-	14.41	54.90
DOMATES	-	13.99	49.43	-	-	-	-	21.65	-	14.91	-
HIYAR	-	22.18	-	-	22.18	-	-	33.73	-	22.18	-
ISPANAK	19.83	8.61	-	43.90	-	-	11.62	11.78	-	4.22	-
KABAK	6.42	22.14	-	-	23.57	-	-	25.0	-	22.85	-
KARPUZ	12.06	28.40	-	-	-	3.11	-	35.79	-	20.62	-
KAVUN	-	11.60	-	12.48	16.00	24.52	-	23.05	-	12.33	-
MARUL	-	13.44	60.43	-	-	-	-	12.59	-	13.51	-
PIRASA	-	5.53	-	64.47	-	-	-	17.80	-	12.18	-

Çizelge 4.2'de görüleceği üzere, sebze tohum örneklerinden tespit edilen veya tanımlanan fungus cins veya tür sayısı 11 adettir. Örneklerden tespit edilen fungal mikroorganizmalardan en çok bulunanları sırasıyla, bamya tohumlarında *Pythium* spp. (%77.75), biber tohumlarında *Sclerotinia* spp. (%54.90), domates tohumlarında *Botrytis cinerea* (%49.43), hıyar tohumlarında *Penicillium* spp. (%33.73), ıspanak tohumlarında *Fusarium culmorum* (%43.90), kabak tohumlarında *Fusarium solani* (%23.57) karpuz tohumlarında *Penicillium* spp. (%35.79), kavun tohumlarında *Macophomina phaseolina* (%24.52), marul tohumlarında *Botrytis cinerea* (%60.43) ve pırasa tohumlarında ise, *Fusarium culmorum* (%64.47) olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca, çizelge 4.2'ye bakıldığında, tohumlardan tespit edilen fungal mikroorganizmalardan *Allternaria* spp.'nin (%19.83) ıspanak tohumlarında, *Aspergillus* spp.'nin (%28.40) karpuz tohumlarında, *Botrytis cinerea'*nın (%60.43) marul tohumlarında, *Fusarium culmorum*'un (%64.47) pırasa tohumlarında, *Fusarium solani*'nin (%23.57) kabak tohumlarında, *Macrophomina phaseolina*'nın (%24.52) kabak tohumlarında, *Nigrospora* spp.'nin (%11.62) ıspanak tohumlarında, *Penicillium* spp.'nin (%35.79) karpuz tohumlarında, *Pythium* spp.'nin (%77.75) bamya tohumlarında, *Rhizopus stolonifer*'in (%22.85) kabak tohumlarında ve *Sclerotinia* spp.'in (%54.90) ise, biber tohumlarında en fazla oranda bulunduğu görülmektedir.

4.2 Agar (PDA) Yöntemiyle Tespit Edilen Funguslar

Agar yöntemi kullanılarak, Konya Melike Hatun Pazarındaki satıcılardan temin edilen 2008 ve 2009 yılına ait her bir sebze türü için 3000 adet tohum örneği üzerinde çalışılmıştır. Dolayısıyla, 589 adet bamya, 1276 adet biber, 1597 adet domates, 1483 adet ıspanak, 247 adet kabak, 412 adet karpuz, 687 adet kavun, 2984 adet marul, 2211 adet pırasa ve 432 adet salatalık tohumuna ait örneklerde fungal gelişime rastlanmış ve bu örnekler fungal flora bakımından incelenmiştir.

Öncelikle, agar (PDA) yöntemiyle sebze tohumlarında saptanan bulaşıklık oranları tespit edilmiş ve (%) olarak çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3 Agar (PDA) Yöntemiyle Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Bulaşıklık Oranları (%)

SIRA NO	SEBZELER	İncelenen Tohum Sayısı	Fungal Mikroorganizma ile Bulaşık Tohum Sayısı	Bulaşıklık Oranı (%)
1	BAMYA	3000	589	19.63
2	BİBER	3000	1276	42.53
3	DOMATES	3000	1597	53.23
4	HIYAR	3000	432	14.40
5	ISPANAK	3000	1483	49.43
6	KABAK	3000	247	8.23
7	KARPUZ	3000	412	13.73
8	KAVUN	3000	687	22.90
9	MARUL	3000	2984	99.46
10	PIRASA	3000	2211	73.70

Çizelge 4.3'e bakıldığında, en fazla miktarda fungal mikroorganizma barındıran sebze 2984 adet bulaşık tohum ve % 99.46 bulaşıklık oranına sahip marul olarak belirlenmiştir. En az miktarda fungal mikroorganizma barındıran sebze 247 adet bulaşık tohum ve %8.23 bulaşıklık oranına sahip kabak olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4'de ise, agar (PDA) yöntemiyle sebze tohumlarında bulunan fungal mikroorganizmalar saptanmış ve tohumda bulunma oranları (%) olarak verilmiştir.

Çizelge 4.4 Agar (PDA) Yöntemiyle Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Funguslar ve Bulunma Oranları (%)

	İZOLE EDİLEN FUNGAL MİKROORGANİZMALAR													
SEBZELER	*Alternaria* spp.	*Aspergillus* spp.	*Botrytis cinerea*	*Drechslera* spp.	*Fusarium culmorum*	*Fusarium solani*	*Macrophomina phaseolina*	*Nigrospora* spp.	*Penicillium* spp.	*Pythium* spp.	*Rhizopus stolonifer*	*Sclerotinia* spp.	*Sordaria fimicola*	*Verticillium* spp
BAMYA	-	7.13	-	-	-	-	-	-	7.80	77.24	7.80	-	-	-
BİBER	-	9.16	12.14	-	-	-	-	-	11.91	-	20.37	46.39	-	-
DOMATES	1.87	21.28	34.81	-	-	-	-	-	33.18	-	8.82	-	-	-
HIYAR	-	17.59	-	25.0	-	30.55	-	-	11.80	-	15.04	-	-	-
ISPANAK	19.28	9.23	-	-	40.86	-	-	8.83	8.96	-	9.17	-	-	-
KABAK	9.31	23.48	-	-	-	30.36	-	-	16.19	-	20.64	-	-	-
KARPUZ	27.66	15.29	-	14.32	-	-	2.42	-	16.74	-	16.74	-	6.79	-
KAVUN	-	17.46	-	5.24	11.64	38.42	-	-	12.37	-	14.84	-	-	-
MARUL	-	11.19	43.63	-	-	-	-	-	6.03	-	6.23	13.37	-	8.64
PIRASA	-	4.92	-	-	78.87	-	-	-	4.25	-	11.94	-	-	-

Çizelge 4.4'de görüleceği üzere, sebze tohum örneklerinden tespit edilen veya tanımlanan fungus cins veya tür sayısı 14 adettir. Örneklerden tespit edilen fungal mikroorganizmalardan en çok bulunanları sırasıyla, bamya tohumlarında *Pythium* spp. (%77.24), biber tohumlarında *Sclerotinia* spp. (%46.39), domates tohumlarında *Botrytis cinerea* (%34.81), hıyar tohumlarında *Fusarium solani* (%30.55), ıspanak

tohumlarında *Fusarium culmorum* (%40.86), kabak tohumlarında Fusarium solani (%30.36), karpuz tohumlarında *Alternaria* spp. (%27.66) kavun tohumlarında *Fusarium solani* (%38.42), marul tohumlarında *Botrytis cinerea* (%43.63) ve pırasa tohumlarında ise, *Fusarium culmorum* (%78.87) olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca çizelge 4.4'e bakıldığında, tohumlardan tespit edilen mikroorganizmalardan *Allternaria* spp.'nin (%27.66) karpuz tohumlarında, *Aspergillus* spp.'nin (%23.48) kabak tohumlarında, *Botrytis cinerea*'nın (%43.63) marul tohumlarında, *Drechslera* spp.'nin (%25.0) hıyar tohumlarında, *Fusarium culmorum*'un (%78.87) pırasa tohumlarında, *Fusarium solani'nin* (%38.42) kavun tohumlarında, *Macrophomina phaseolina*'nın (%2.42) karpuz tohumlarında, *Nigrospora* spp.'nin (%8.83) ıspanak tohumlarında, *Penicillium* spp.'nin (%33.18) domates tohumlarında, *Pythium* spp.!nin (%77.24) bamya tohumlarında, *Rhizopus stolonifer*'in (%20.64) kabak tohumlarında, *Sclerotinia* spp.'nin (%46.39) biber tohumlarında, *Sordaria fimicola*'nın (%6.79) karpuz tohumlarında ve *Verticillium* spp.'nin ise, (%8.64) marul tohumlarında en fazla oranda bulunduğu görülmektedir.

Çizelge 4.5 Bazı Sebze Tohumlarında Saptanan Fungal Mikroorganizmaların Taksonomik İlgilerine Göre Gösterilişi

SINIF	TAKIM	FAMILYA	CİNS	TÜR
COELOMYCETES	Sphaeropsidales	Sphaeropsidaceae	*Macrophomina phaseolina*	*Macrophomina phaseolina*
DISCOMYCETES	Helotiales	Sclerotiniaceae	*Botrytis* *Sclerotinia*	*Botrytis cinerea* *Sclerotinia* spp.
HYPHOMYCETES	Moniliales	Tuberculariaceae	*Fusarium*	*Fusarium culmorum* *Fusarium solani*
		Dematiaceae	*Alternaria*	*Alternaria* spp.
		Moniliaceae	*Penicillium* *Aspergillus* *Drechslera* *Verticillium*	*Penicillium* spp. *Aspergillus* spp. *Drechslera* spp. *Verticillium* spp.
OOMYCETES	Peronosporales	Pythiaceae	*Pythium*	*Pythium* spp.
PYRENOMYCETES	Sphaeriales	Sordariaceae	*Sordaria*	*Sordaria fimicola*
TRICHOMYCETES	Trichosphaeriales	Trichosphaeriaceae	*Nigrospora*	*Nigrospora* spp.
ZYGOMYCETES	Mucorales	Mucoraceae	*Rhizopus*	*Rhizopus stolonifer*

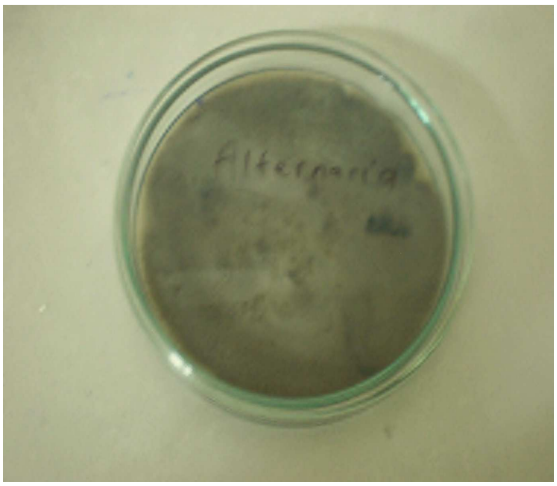
4.3 Araştırma Sonucunda Tohumlardan Elde Edilen Fungal Mikroorganizmalar

Farklı sebze tohumlarından izole edilen fungal mikroorganizmaların kültür ortamlarındaki koloni gelişimi ve mikroskobik özellikleri dikkate alınarak, 3.2.3'de Fungal Floranın Tanılanması konu başlığı altında verilen kaynaklardan yararlanarak tanımlanan fungal mikroorganizmalara ait bilgiler aşağıda her tür ve genus için ayrı ayrı gösterilmiştir.

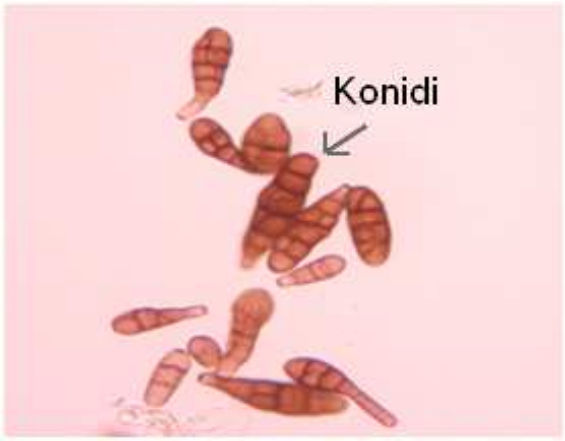
4.3.1 *Alternaria* spp.

Alternaria spp. geniş bir konukçu listesine sahip olmakla beraber özellikle domates, patlıcan, patates ve crucifer bitkileri üzerinde ciddi ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir. *Alternaria* spp**.**'nin konidileri genellikle gri, koyu siyahımsı kahverengi veya siyah görünümlüdür. Miselyum tamamen batık veya kısmen yüzeyseldir. Hifler renksiz, zeytinimsi kahverengi veya kahverengidir ve nadiren stroma oluşmaktadır (Neergaard,1945) (Şekil 4.1 ve 4.3).

Konidiofor ise, koyu renkli, bölmeli, bazen belirsiz, dallı veya dalsız yapıda olduğunda uçta tekbir por vardır ve bu pordan tek bir konidi meydana gelmektedir. Böylece, meydana gelen konidiyumlar da doğrudan doğruya konidiofor yapısını oluşturmaktadır. Konidiler tek tek oluşabildiği gibi daha sık olarak tabandan tepeye doğru basit veya dallı zincirler meydana getirmekte ve koyu pigmentli, ovoid, uca doğru keskin veya yumuşak şekilde sivrilmektedir (Şekil 4.2). Konidiler, düz veya pürüzlü, ovoid şekil, genellikle gelişmenin çok erken evrelerinde ve ilk bölmenin oluşumundan önce belirgin biçimde gaga şeklini almakta olup enine ve boyuna bölmelere sahiptir (Jackson ve ark.,1959).



Şekil 4.1 *Alternaria* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi



Şekil 4.2 *Alternaria* sp. Konidileri

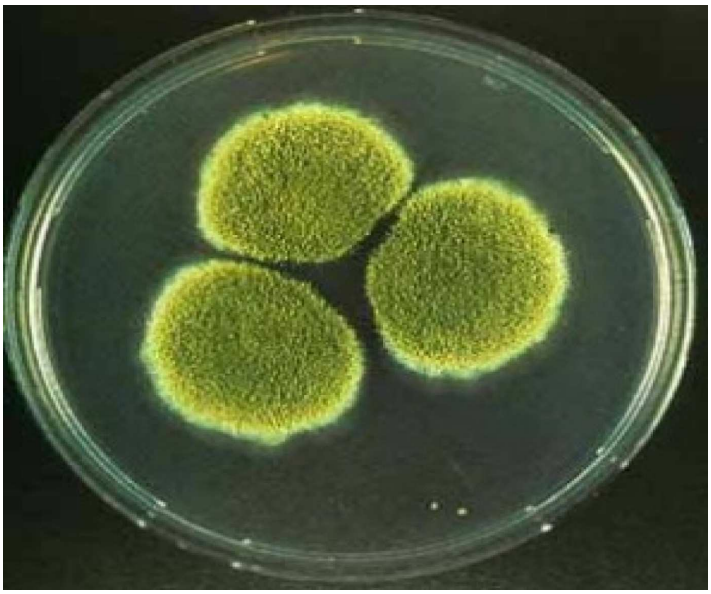


Şekil 4.3 Blotter Ortamında Domates Tohumları Üzerinde *Alternaria* sp. Enfeksiyonu

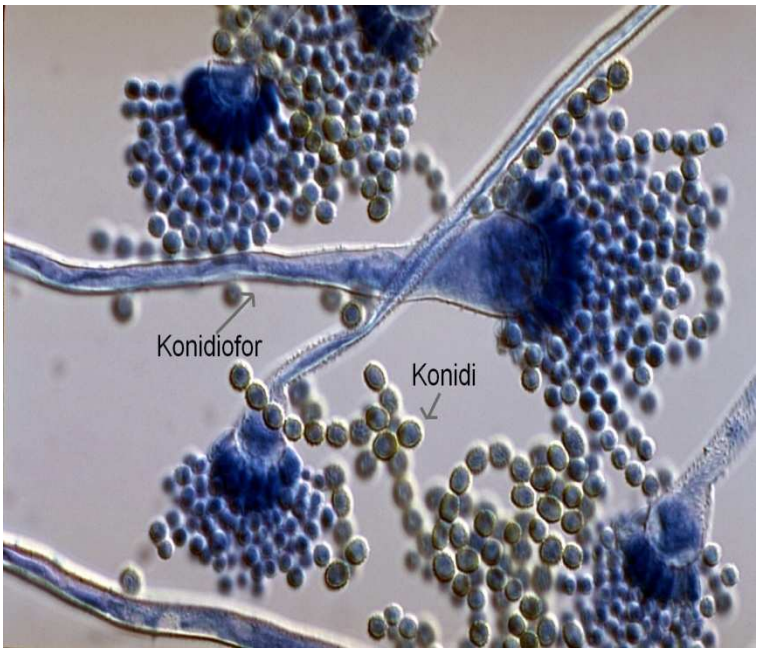
4.3.2 *Aspergillus* spp.

Aspergillus spp. türleri meyve ve sebzelerin büyük bir kısmını etkilemektedir. Hastalık etmeni saprofitiktir. Genellikle olgunlaşmamış ve çatlamış meyvelerde hastalık oluşturmaktadır. Özellikle, yurdumuzda soğan, sarımsak, incir, turunçgiller ve yerfıstığında en fazla miktarda görülmektedir (Raper ve ark.,1965).

Aspergillus spp. türleri, kısa ve dik konidioforları, konidioforlar ucunda bulunan vesikülleri ve vesiküllerin üzerinde de bunları kaplamış sterigmaları ile karakterize edilmektedir (Şekil 4.5). Sterigmalar bir tabaka üzerinde gelişebilir veya doğrudan doğruya vesiküllerden çıkabilirler. Phalidlerden (sterigma) de en uçtan aşağıya doğru (bazipetal) konidi zincirleri oluşur. Vejetatif miselyum, dallı ve bölmeli hiflerden oluşmuş, renksiz, parlak renkli veya birkaç türde kahverengimsi hale dönüşmektedir. Konidioforlar ise, ayak hücrelerinden gelişmektedir. Ayak hücreleri özelleşmiş, genişlemiş, kalın çeperli hif hücreleridir. Konidioforlar da bu hücrelerden dik olarak gelişmektedir (Thom ve ark.,1945).



Şekil 4.4 *Aspergillus* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi

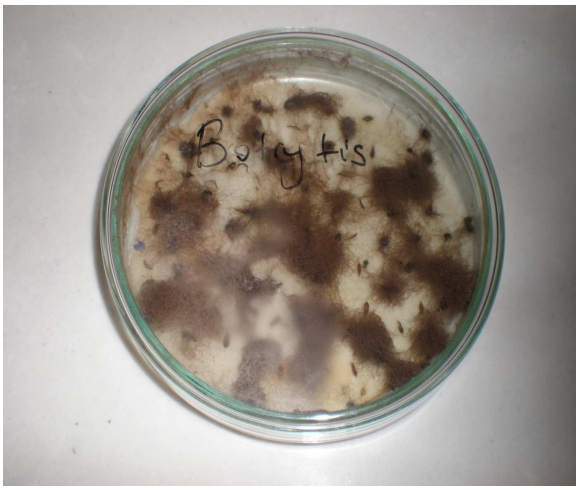


Şekil 4.5 *Aspergillus* sp.'nin Konidiofor Yapısı ve Konidileri

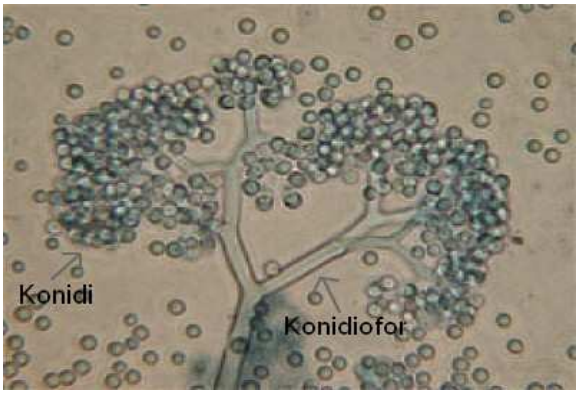
4.3.3 *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea, tüm dünya yüzeyine yayılmış, kapalı ve açık ortamda yetiştirilen süs bitkilerini, sebze ve meyveleri içine alan 235'ten fazla ekonomik öneme sahip bitkilerde büyük kayıplara yol açabilen hasat öncesi ve sonrasında görülebilen bir bitki patojenidir. Konukçuları arasında en çok domates, marul, salatalık, biber, patlıcan ve çilekte hastalık oluşturmaktadır (Groves ve ark.,1939).

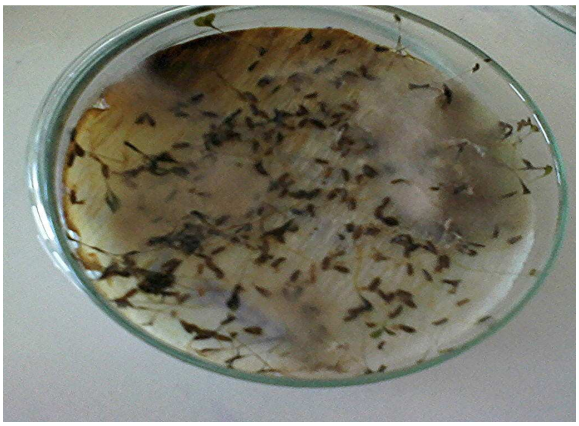
Botrytis cinerea'nın konidioforları uzun, ince yapılı, şeffaf veya renkli biçimde dallanmış ve bazen de tepe kısmına yakın çatal şeklindedir. Tepe kısmında bulunan hücreler, genişçe ve yuvarlaktır. Sterigmata üzerinde gelişen konidi kümeleri, kitle halinde şeffaf, kül rengi veya gri renkte olabilir (Şekil 4.7). Konidileri tek hücrelidir. PDA ortamında kolay gelişebilmekte ve hızlı bir şekilde petriyi kaplamaktadır. Miseller belli bir olgunluğa geldikten sonra PDA ortamında değişik şekil ve büyüklükte sklerot oluştururlar (Groves ve ark.,1939) (Şekil4.6).



Şekil 4.6 *Botrytis cinerea*'nın PDA Ortamında Koloni Gelişimi



Şekil 4.7 Botrytis cinerea'nın Konidiofor Yapısı ve Konidileri (EMSL Analytical Inc, 2010)

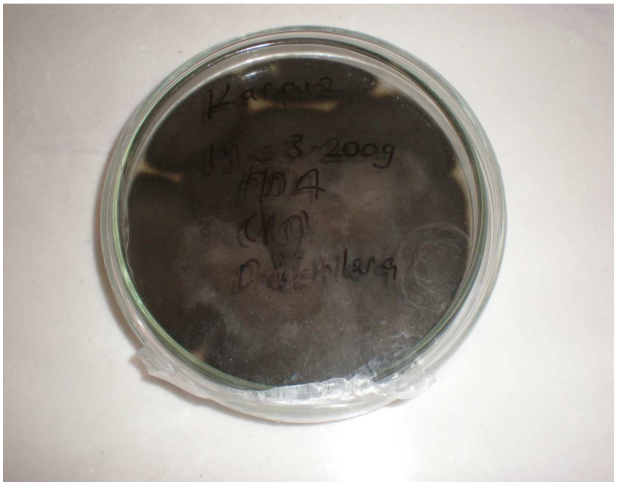


Şekil 4.8 Blotter Ortamında Marul Tohumları Üzerinde *Botrytis cinerea* Enfeksiyonu

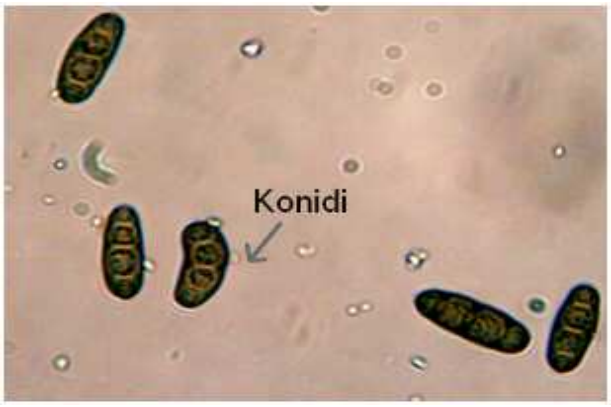
4.3.4 *Drechslera* spp.

Drechslera spp.**,** oldukça geniş bir konukçu listesi olmakla beraber arpa, buğday,çeltik bitkilerinde daha fazla oranda hastalık meydana getirmektedir (Luttrell, 1964).

Drechslera spp. türlerinin konidioforları basit yapılı ve kahverengidir. Konidioforların tepe kısmında tek tek bulunan konidiler bulunmaktadır. Konidiler uç kısımdan tepeye doğru gelişmeye devam etmek suretiyle ikinci bir spor meydana getirmektedirler. Bu sporlar, siyah, birkaç hücreli silindirik biçimdedir (Şekil 4.10) ve herhangi bir hücreden parazitik ya da saprofitik olarak gelişebilmektedir (Luttrell,1964).



Şekil 4.9 *Drechslera* sp.'nin PDA ortamında Koloni Gelişimi



Şekil 4.10 *Drechslera* sp. Konidileri

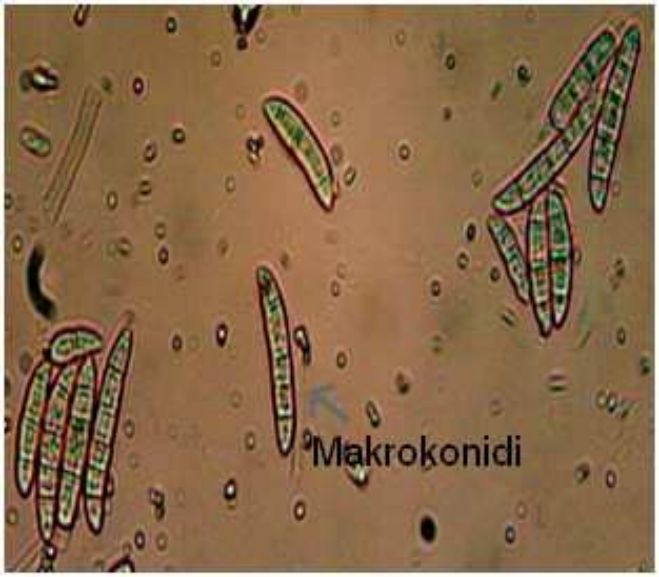
4.3.5 *Fusarium* spp.

Fusarium spp. türleri oldukça geniş bir konukçu listesine sahiptir. *Fusarium*'un hastalığa neden olduğu ekonomik öneme sahip bitkilere; domates, patates, biber, salatalık, kavun, arpa ve buğday örnek olarak verilebilir (Toussoun ve ark., 1968).

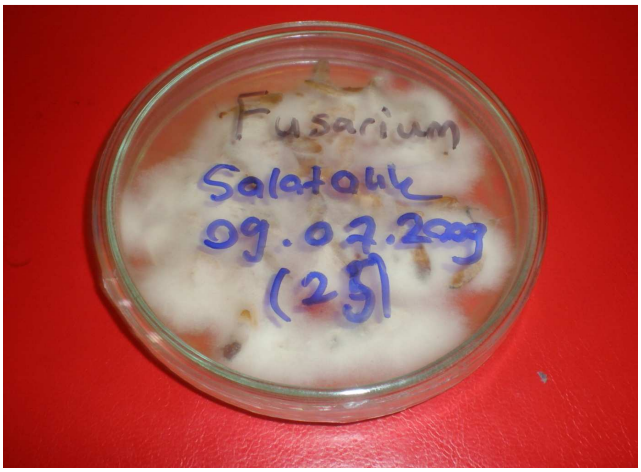
Fusarium spp. türlerine ait uzun ve pamuğumsu şekilde gelişen miselyumlar kültür ortamında genellikle pembe, mor ve sarı renk teşkil etmektedir. Miselyumlarda bulunan konidioforlar ise değişken, ince ve basit yapılı veya kalın, kısa, düzensiz şekilde dallanmış orak görünümündedir. *Fusarium* spp. türlerinin 3 farklı tip sporu vardır. Mikrokonidiler tek hücreli, şeffaf, küçük sporlardır. Makrokonidiler ise enine genellikle 3-4 bölmeli, mekik şeklinde ve genellikle kıvrıktır (Şekil 4.12 ve Şekil 4.14). Bazı türlerde karakteristik şekilde 1-2 bölmeli ve kalın hücre duvarına sahip klamidosporlar oluşmaktadır (Toussoun ve ark., 1968) (Şekil 4.15).



Şekil 4.11 *Fusarium culmorum*'un PDA Ortamında Koloni Gelişimi



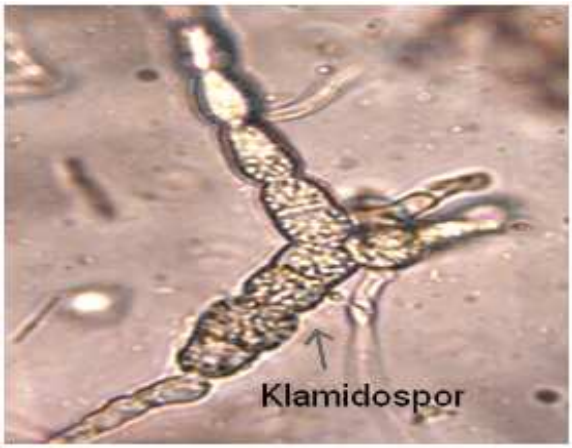
Şekil 4.12 *Fusarium culmorum*'un Makro Konidileri



Şekil 4.13 *Fusarium solani*'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi



Şekil 4.14 *Fusarium solani*'nin Konidiofor Yapısı ve Makro Konidileri

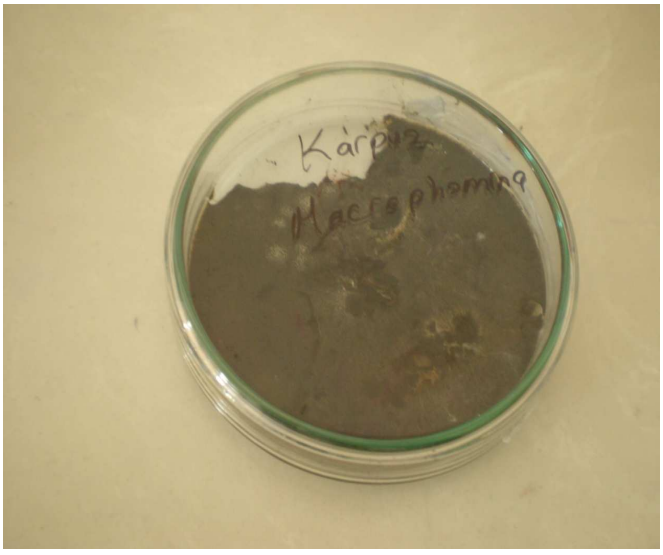


Şekil 4.15 *Fusarium* sp. Hifleri Üzerinde Klamidospor Oluşumu

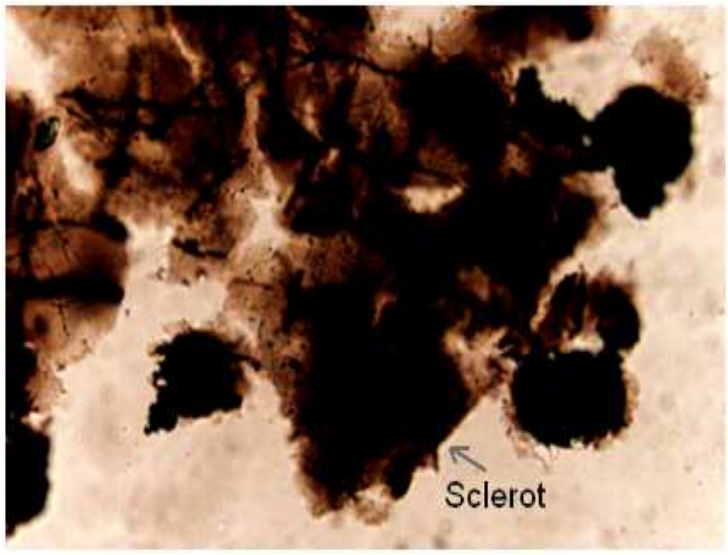
4.3.6 *Macrophomina phaseolina*

Macrophomina phaseolina geniş bir konukçu listesine sahip olup, bunlar arasında ekonomik öneme sahip cucurbit bitkileri, domates, patates ve fasulye de yer almaktadır (Sharma ve ark.,1987)

Coelomycetes sınıfı üyelerinin en belirin özelliği konidilerin, piknitler ve aservuli içinde oluşmasıdır. *Macrophomina phaseolina* türlerinde piknidiumlar koyu renkli, derimsi ve kömür gibi sert, stromaya gömülü yada yüzeysel ve dairesel bir açıklığa sahiptir. Konidiler de piknitler içinde oluşmaktadır. Konidileri, 15 mikrondan büyük ve bir tarafı kesik mekik şeklindedir. *Macrophomina phaseoli '* nin genç hifleri renksiz, 8 mikron kalınlıkta olup, fazlaca dallanırlar ve herbir dal ana dala paraleldir. Yaşlanmış hiflerin görünüşü biraz daha değişiktir. Bunların ince bölmeleri ve dik dalları vardır. Bu hifler üstünde 27°C ' de 2-3 gün içinde sklerotlar oluşur. Sklerotlar düz, parlak, siyah ve şekilsizdir (Şekil 4.17) (Sharma ve ark.,1987).



Şekil 4.16 *Macrophomina phaseolina'*nın PDA Ortamında Koloni Gelişimi



Şekil 4.17 ***Macrophomina phaseolina*****'nın Sclerot Yapısı**

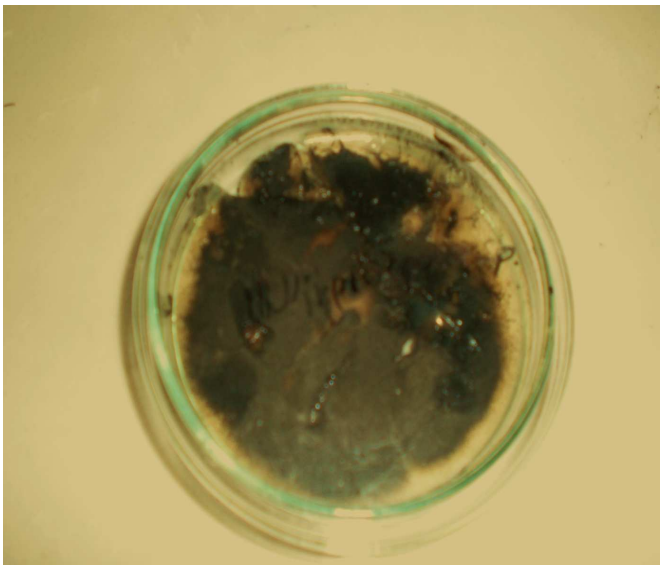


Şekil 4.18 Blotter ortamında Karpuz Tohumları Üzerinde ***Macrophomina phaseolina*** **Enfeksiyonu**

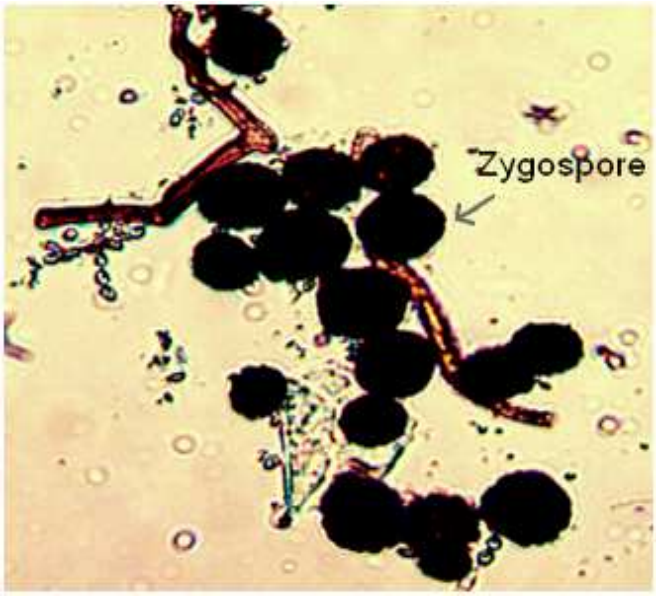
4.3.7 *Nigrospora* spp.

Nigrospora spp. kontrolü yapılmayan yaşlı, zayıf yani elveriş koşullardaki bitkilerde yaygın olarak görülmektedir. Özellikle, elma, pamuk, sorgum ve mısır bitkisinde hastalık meydana getirmektedir. Ancak, fitopatolojik yönden önem arz etmemektedir (Hudson ve ark., 1963).

Nigrospora spp. türlerinin eşeysiz üreme yapısı, içinde hareketsiz sporangiosporların bulunduğu tipik sporangiumdur. Eşeyli üreme yolu ise gametangial birleşmedir ve bu birleşme sonucunda zygospore adı verilen kalın çeperli, hareketli, koyu renkli, diploid eşeyli sporlar meydana gelmektedir (Şekil 4.20). Üyelerinin çoğu saprofit özellik gösterir. Trichomycetes sınıfını oluşturan üyelerin fitopatolojik yönden önemi yoktur. Genellikle eşeysiz ürerler ve somatik hifin uç tarafında tek sıra halinde dizilmiş, tek sporlu sporangiumlar oluşturmaktadırlar (Hudson ve ark., 1963).



Şekil 4.19 *Nigrospora* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi

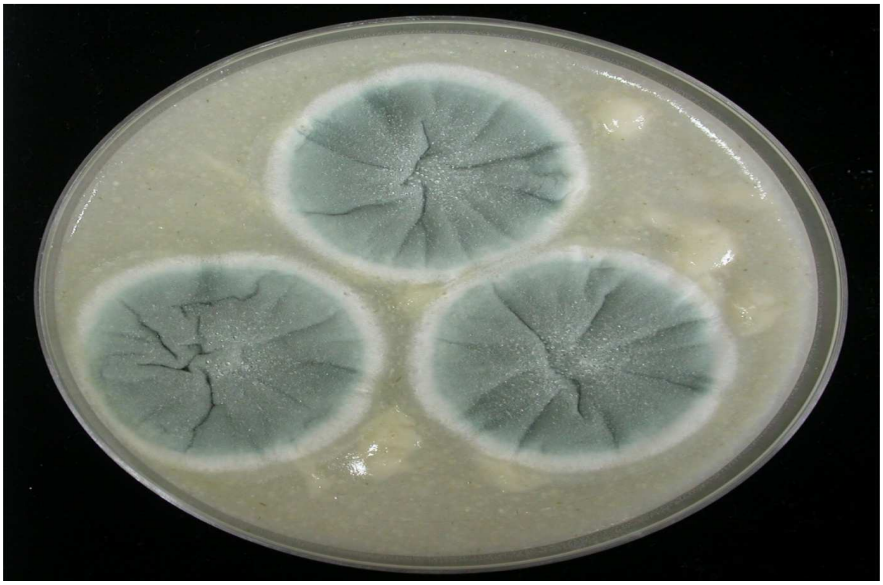


Şekil 4.20 *Nigrospora* sp.'nin Zygospore Yapısı

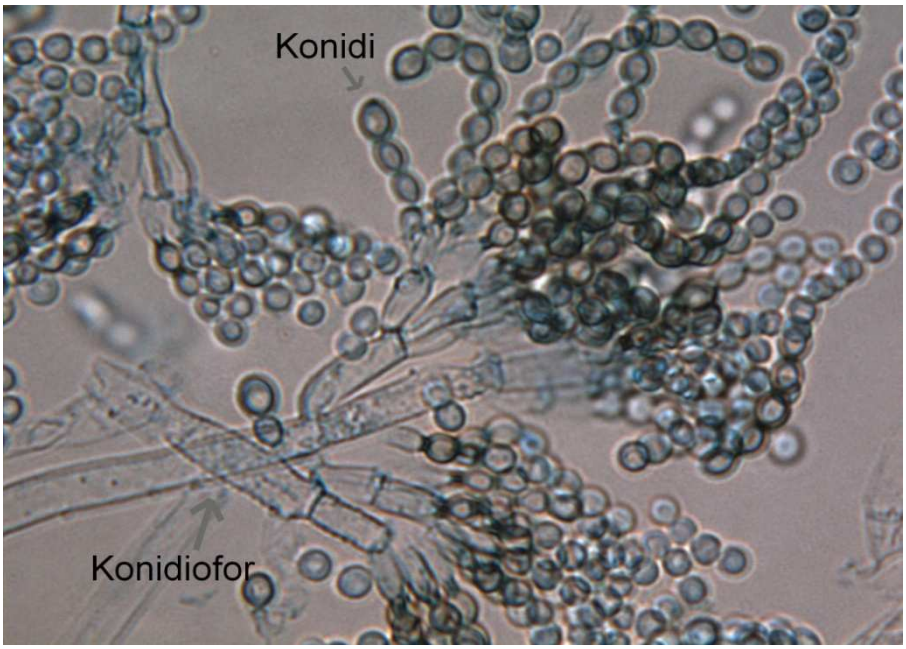
4.3.8 *Penicillium* spp.

Penicillium spp. türleri**,** soğan, turunçgil meyveleri, elma ve mısır bitkisinde yaygın olarak rastlanmakta ve şekerpancarı, patates, sarımsak, havuç, kültür mantarı, kabak, ve diğer bir çok tohumlu bitkide de ortaya çıkmaktadır. Zafiyet paraziti olup, hastalanmış ve yaralanmış meyvelerde tahribat daha da fazla olmaktadır (Raper ve ark., 1949)

Penicillium spp.'nin hifleri bölmeli, dar, genellikle 2-3 µm eninde, renksiz veya parlak renkli, düzensiz olarak dallanmakta, yoğun veya kompakt miselyum oluşturmaktadır. Konidioforlar farklılaşmamış havai hiflerden gelişmektedir. Konidiofor sapları, nispeten dar ve ince çeperli, genellikle 1-2 bölmeli, bazı türlerde apikal olarak şişkin, bununla birlikte, vesiküller daima küçük çaplıdır (Şekil4.22). Vesiküller karakteristik olarak penisillat şekilde dallanmış ve 'penisillus' adı verilen yapılar gelişmiştir. Bu yapılar, genellikle terminal ve doğrudan saplar üzerinde gelişmektedir. Phalidler ise, terminal ve komptakt vertisiller halinde, nispeten kısa, ampuliform, çok nadir olarak da silindiroidal ve düz çeperlidir. Konidiler, bazipetal olarak gelişmekte, genellikle uzun zincirler halinde, tek hücreli, çok küçük, küresel, elipsoidal, priform veya apikulat, nadiren de silindiroidal şekildedir (Raper ve ark., 1949) (Şekil 4.22).



Şekil 4.21 *Penicillium* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi

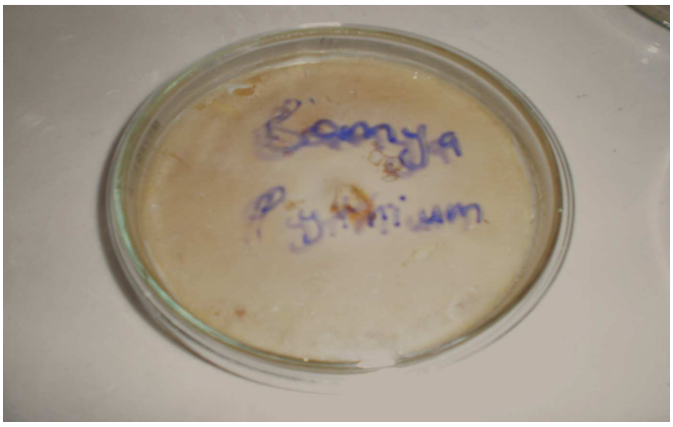


Şekil 4.22 *Penicillium* sp.'nin Konidiofor Yapısı ve Konidileri

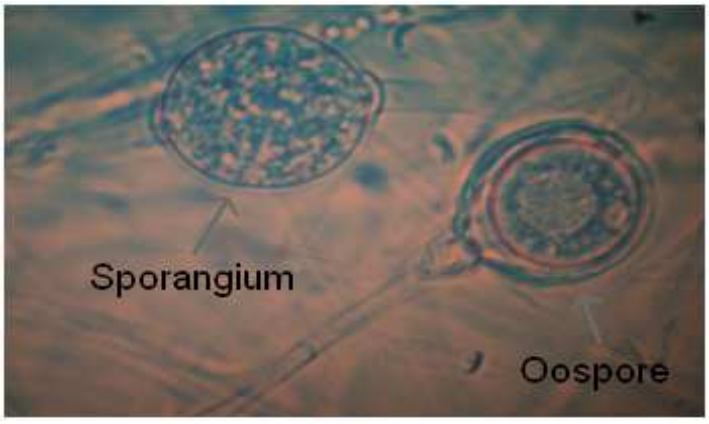
4.3.9 *Pythium* spp.

Pythium spp. türlerinin konukçu dizileri arasında tek yıllık bitkiler, sebzeler ve meyve ağaçları yer almakta ve ekonomik boyutta hastalığa neden olmaktadır. Bu konukçuların bazıları; şekerpancarı, biber, çilek, krizantem, marul, kabakgiller, pamuk ve çim bitkileri şeklindedir (Owen-Going, 2002).

Pythium spp. türlerinde, hifler iyi gelişmiştir. Sporongiofor özel yapıda, miselyum intersellüler, beslenme haustoriumlar aracılığıyla ile olmaktadır. Sporangiumlar ise, stomalardan çıkan özel yapılı dallanmış sporangioforun dal uçlarında tek tek veya grup halinde oluşmaktadır. Eşeysiz üreme yapısı olan sporangiumlar oval veya limon şeklindedir (Şekil 4.24). Sporangium içinde bulunan zoosporlar, böbrek şeklindedir ve kamçıları yoktur. Çimlenmek suretiyle penetrasyon yaparlar. Eşeyli üreme yolu ise, gametangial temastır. Birbiriyle temasta bulunan gametangiumlar, Oogonium ve anteridium morfolojik yönden tamamen farklıdır. Oospore genellikle küreseldir ve ortasında birkaç adet dişi gamet bulundurmaktadır (Şekil 4.24). Antheridium ise, silindirik yapıdadır ve kendine ait döllenme borusu ile oogonium çeperini geçerek, oosfere ulaşmakta ve bu sayede gametangial temas meydana gelmektedir (Owen-Going, 2002) .



Şekil 4.23 *Pythium* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi



Şekil 4.24 *Pythium* sp.'ye ait Sporangium ve Oospore Yapısı



Şekil 4.25 Blotter Ortamında Bamya Tohumu Üzerinde *Pythium* sp. Enfeksiyonu

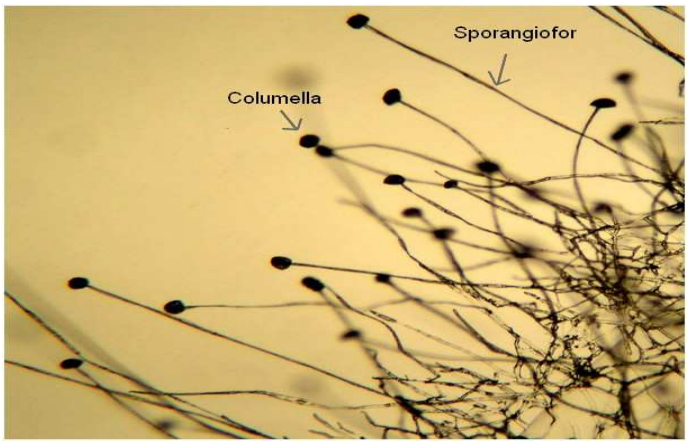
4.3.10 *Rhizopus stolonifer*

Rhizopus stolonifer, ekmek küfü olarak bilinmektedir. Geniş bir konukçu listesine sahip olan bu türe karşı, birçok sebze ve meyve duyarlıdır. Patojene karşı en çok duyarlı olan bitkilere *Allium, Brassica, Cucumis, Cucurbita,, Lycopersicon, Phaseolus, Pisum, Solanum* türleri örnek olarak verilebilir (Zycha ve ark., 1969; Domsch ve ark.,1980).

Rhizopus stolonifer türünde aseksüel üreme yapısı sporangiumdur ve içinde çok sayıda hareketsiz sporangiospor bulundurmaktadır. Sporangium sporangioforun uç kısmında küresel bir şişkinlik halinde görülmektedir. Bu şişkinliğin içinde, sporangiofora ait genellikle ‘columella’ adı verilen küresel bir başçık ve bunu çevreleyen bir spor kitlesi bulunmaktadır (Zycha ve ark., 1969; Domsch ve ark.,1980) (Şekil 4.27).



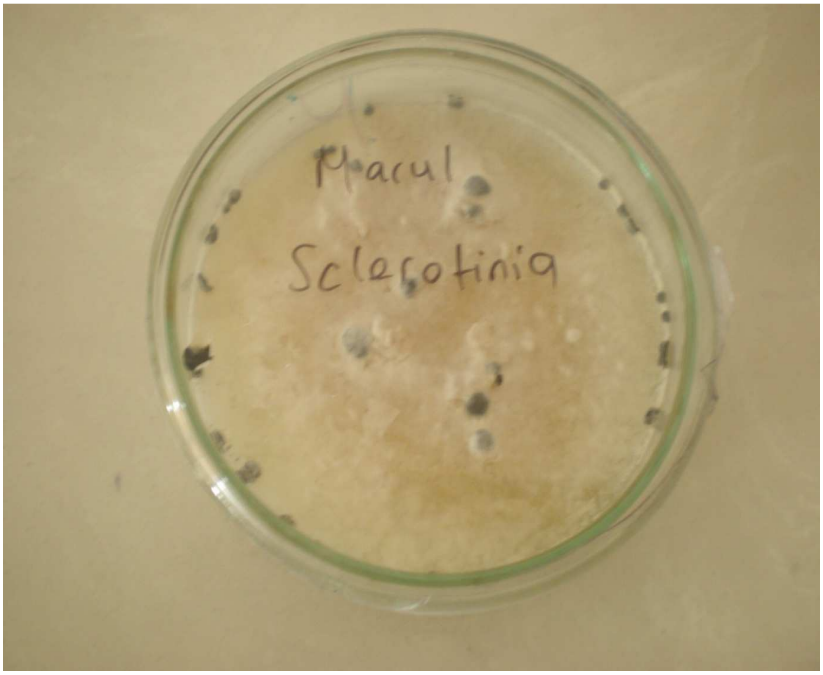
Şekil 4.26 *Rhizopus stolonifer*'in PDA Ortamında Koloni Gelişimi



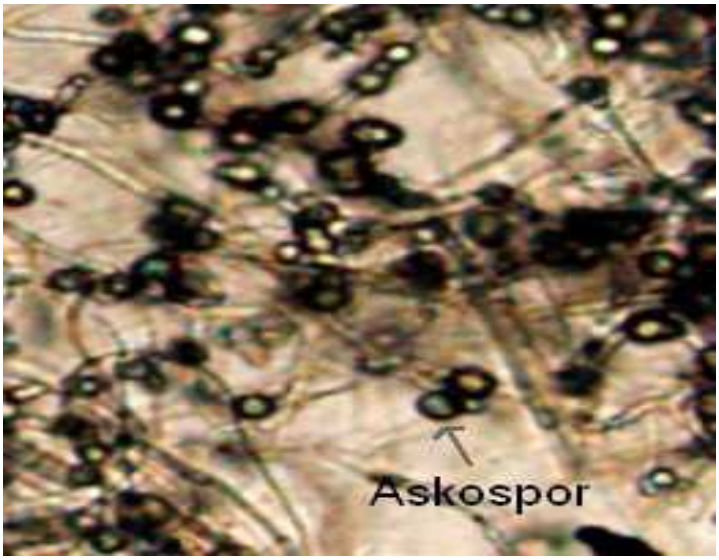
Şekil 4.27 *Rhizopus stolonifer*'in Sporangiofora ve Columella Yapısı

4.3.11 *Sclerotinia* spp.

Sclerotinia spp. türleri, domates, patates, fasulye, patlıcan, havuç, kereviz, biber, marul, kabak, elma, karanfil gibi geniş bir konukçu listesine sahiptir. *Sclerotinia* türlerinde, miselyum bir askosporun veya bir konidiumun çimlenmesiyle gelişmeye başlamaktadır. Dolayısıyla, enfeksiyonlardan sorumlu olan hem konidiumlar hem de askosporlardır (Şekil 4.29). Bu türe ait karakteristik bir özellik de sklerot oluşumu ve sklerotun çimlenmesiyle meydana gelen çok saplı, huni biçiminde ve ten renginde olan apotesyumlardır (Lumsden, 1979).



Şekil 4.28 *Sclerotinia* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi



Şekil 4.29 *Sclerotinia* sp. Askosporları

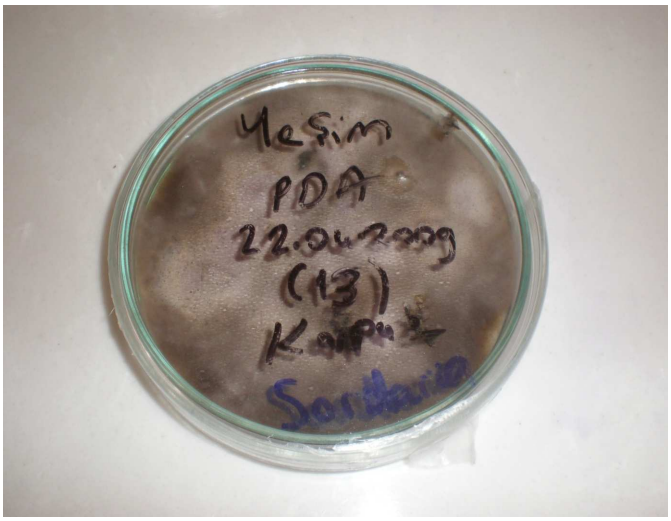


Şekil 4.30 Blotter Ortamında Biber Tohumları Üzerinde *Sclerotinia* sp. Enfeksiyonu

4.3.12 *Sordaria fimicola*

Sordaria fimicola, tahıllar hariç çok sayıda bitki tohumunda bulunabilir. Ancak, fitopatolojik yönden önem teşkil etmemektedir (Alexopoulos ve ark.,1996).

Sordaria fimicola türünde, koyu renkli, derimsi, kömür gibi sert yapılı, küresel veya armut biçiminde ostiollu peritesyumlar stromatik dokuya gömülü olarak bulunmaktadır. Askosporlar olgunlaşınca peritesyumdan basınçla fırlatılmakta böylece askosporlardan oluşan yeni koloniler meydana gelmektedir (Alexopoulos ve ark., 1996) (Şekil 4.32).



Şekil 4.31 *Sordaria fimicola*'nın PDA Ortamında Koloni Gelişimi



Şekil 4.32 *Sordaria fimicola* Askosporları

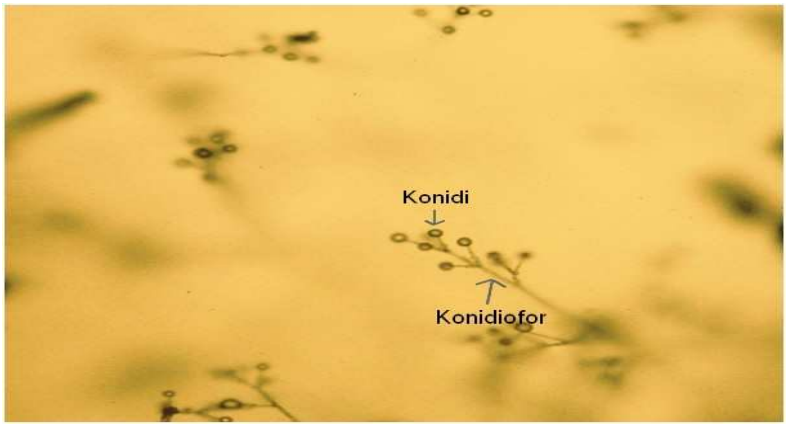
4.3.13 *Verticillium* spp.

Verticillium spp. oldukça geniş bir konukçu listesine sahip olup, odunsu ve otsu bitkilerde hastalık yapmaktadır. Bunlardan bazıları; domates, patlıcan, biber, marul, nane, krizantem, pamuk, meyve ağaçları, çilek, güller ve yoncadır (Buckley ve ark., 1969).

Verticillium spp. phalid özelliği gösteren phialospore adı verilen konidiosporlara sahiptir. Bu sporlar, teker teker veya basipetal zincirler halinde ya da başçık halinde bir arada bulunmaktadır (Şekil 4.34). İnce yapılı konidioforlar ise, bir noktadan ikiden fazla olarak verticillat biçimde dallanmaktadır (Buckley ve ark., 1969) (Şekil 4.34).



Şekil 4.33 *Verticillium* sp.'nin PDA Ortamında Koloni Gelişimi



Şekil 4.34 *Verticillium* sp.'nin Konidi ve Konidiofor Yapısı

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Melike Hatun Pazarında ki satıcılardan temin edilen bamya, biber, domates, ıspanak, kabak, karpuz, kavun, marul, pırasa ve salatalık olmak üzere 10 ayrı sebze türüne ait tohum örneklerinde fungal floranın tespiti ve tanılanması için blotter yöntemi ve agar (PDA) yöntemi kullanılmıştır.

Blotter yöntemi gerçekleştirilmesi çok kolay ve masrafsız bir yöntemdir. İçinde nemli kurutma kağıtlarının yer aldığı ışık geçirgenliğine sahip kaplar ve amaca uygun standart inkubasyon koşullarının bulunduğu her durumda bu test gerçekleştirilebilir. Bu yöntemde fungusların tanılanması, tohumların üzerinde gelişen her fungus genusunun ve hatta türünün sergilediği karakteristik özelliklerin iyi bilinmesi ile mümkündür. Bu karakteristik özellikler genellikle konidioforların biçimleri, uzunlukları; conidiumların biçimleri, boyutları, bölme durumları, renkleri, zincir oluşturup oluşturmadıkları, zincir uzunluğu, konidioforlar üzerinde yerleşme biçimleri; spor kitlelerinin görünüşü miselyum rengi ve oluşan koloninin yoğunluğudur (Agarwal ve ark., 1987).

Agar petri kabı yöntemi, hızlı gelişen fungusların yüzeysel enfeksiyonlarını tanılamak için uygundur. Bu yöntem İsviçre'de tahıllar, Kuzey Irlanada'da keten ile yulaf ve Kanada'da bezelye tohumlarında bulunan fungusları tanılamak için kullanılmaktadır. Bu yöntemin olumsuz yönü, yavaş gelişen fungusların veya tohumun iç kısmında bulunan fungal patojenlerin ağır gelişmeleri nedeni ile hızlı gelişen funguslar tarafından baskı altına alınmalarıdır (Neergaard, 1988).

Araştırma da, sebze tohumu örneklerinden blotter yöntemi ile tanımlanan fungus cins veya tür sayısı 11 adet iken; agar metodunda bu sayısı 14 adet olarak bulunmuştur. Agar metotunda blotter yöntemine göre 3 farklı fungus cinsi teşhis edilmekle beraber, diğer 11 adet fungus cins veya türü her iki metotta da tespit edilmiştir. Dolayısıyla, agar ve nemli hücre yöntemi arasındaki sonuçlar genel olarak paralellik göstermekte ve her iki yöntem için tespit edilen fungus cins veya tür sayılarının hemen hemen birbiri ile yakın değerlerde olduğu görülmektedir.

Kullanılan her iki yöntemde de saptanan bamya tohumlarında, *Pythium* spp., biber tohumlarında *Sclerotinia* spp., domates tohumlarında *Botrytis cinerea*, ıspanak

ve pırasa tohumlarında *Fusarium culmorum* funguslarının ve bulunma oranlarının hemen hemen birbirine yakın ve her iki yöntemde de en fazla değerlerde olması dikkati çekmektedir. Yani, blotter ve agar yöntemi ile fungal flora bakımından incelenen sebze tohumlarının yarıdan çoğunda (bamya, biber, domates, ıspanak, marul ve pırasa) aynı fungusların baskın nitelikte olduğunu söyleyebiliriz. Bununla birlikte, blotter ve agar blotter yönteminin her ikisinde de *Fusarium culmorum*'un kavun tohumlarında ve *Macrophomina phaseolina*'nın ise karpuz tohumlarında en az oranda olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca, yine uygulanan her iki yöntemde de aynı fungal mikroorganizmayı barındıran sebze türlerinden; ıspanak, kabak ve karpuzun *Alternaria* spp.; domates ve marulun *Botrytis cinerea*; ıspanak, kavun ve pırasanın *Fusarium culmorum*; hıyar, kabak ve kavunun *Fusarium solani*; karpuzun *Macrophomina phaseolina*; ıspanağın *Nigrospora* spp., bamyanın *Pythium* spp.; biberin ise *Sclerotinia* spp. fungusları ile bulaşık olduğu gözlemlenmiştir. Yani, agar ve blotter yöntemleri kullanılarak sebze tohumlarından elde edilen funguslar, genel olarak her iki yöntemde de ortak çıkmış ancak *Sclerotinia* spp.'nin agar metodunda marul ve biberde tespit edilirken blotter metodunda sadece biberde ortaya çıktığı dikkat çekmiştir. Bunun sebebi, *Sclerotinia* spp.'nin marul tohumunun yüzeyinde olması ve biber tohumunun iç kısmında yerleşmiş olması şeklinde açıklanabilir. Zira, agar ortamı yüzeysel enfeksiyonları tanılamak için en uygun yöntem olduğu için tohumun iç kısmına yerleşmiş funguslar yavaş gelişirler ve hızlı gelişen diğer funguslar tarafından baskı altına alınırlar.

Özellikle saprofit türler olan *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. ve *Rhizopus stolonifer* blotter ve agar yönteminde bütün sebze tohum örneklerinde görülmüştür. Blotter yönteminde, saprofitik organizmalardan *Aspergillus* spp., en fazla karpuz en az pırasa tohumlarında; *Penicillium* spp., en fazla karpuz en az bamya tohumlarında; *Rhizopus stolonifer* en fazla kabak en az ıspanak tohumlarında gözlemlenmiştir. Agar yönteminde ise, *Aspergillus* spp., en fazla kabak, en az bamya tohumlarında; *Penicillium* spp., en fazla domates en az pırasa tohumlarında; *Rhizopus stolonifer* ise, en fazla kabak en az marul tohumlarında gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, saprofitik fungusların genellikle değişik oranlarda farklı sebze tohumlarında görüldüğü; ancak *Rhizopus stolonifer*'in agar ve blotter her iki yöntemde de en fazla kabak

tohumlarında bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, saprofitik fungusların sebze tohumlarının yarıdan fazlasında bulunma oranlarının blotter yöntemine göre agar yönteminde daha az oranda olduğu dikkati çekmektedir. Bunun nedeni, agar yönteminde sebze tohumlarının besi ortamına ekilmeden önce sodyumhipoklorit ile yüzeysel dezenfeksiyona tabii tutulması; blotter yönteminde ise ekim öncesi saprofitik gelişimi engellemeye yönelik yüzeysel dezenfeksiyon yapılmaması olabilir.

Yine, blotter yönteminden farklı olarak agar yöntemiyle *Drechslera* spp., *Sordaria fimicola* ve *Verticillium* spp. fungusları teşhis edilmiş; *Sordaria fimicola* yalnızca kavun, *Verticillium* spp. yalnızca marul ve *Drechslera* spp. hıyar, karpuz ve kavun tohumlarında gözlemlenmiştir. Ayrıca, her iki yöntemde de *Nigrospora* spp. ve *Pythium* spp. funguslarının sırasıyla yalnızca bamya ve ıspanak tohumlarında bulunduğu dikkati çekmiştir. *Macrophomina phaseolina* ise, her iki yöntemde de saptanmış ancak agar yönteminde yalnızca karpuzda, blotter yönteminde ise kavun ve karpuz tohumlarında ortaya çıkmıştır. Bunun nedeni *Macrophomina phaseolina*'nın tohumun iç kısmında bulunması ve ağır gelişmesi nedeni ile agar ortamında hızlı gelişen funguslar tarafından baskı altına alınması olabilir.

Sebze tohumlarında saptanan bulaşıklık oranlarına bakıldığında ise, fungal mikroorganizma ile bulaşık tohum sayısı dolayısıyla bulaşıklık oranı en fazla olan sebze tohumu blotter ve agar yöntemlerinin her ikisinde de marul olarak belirlenmiş, yine blotter ve agar yöntemlerine göre bulaşıklık oranı en az olan sebze ise, kabak olarak belirlenmiştir. Buna göre, tohumların bulaşıklık oranlarının da birbiri ile paralellik gösterdiğini söyleyebiliriz.

Sebze tohumlarıyla ilgili araştırıcılar tarafından yapılan diğer çalışmalarda, domates tohumlarına ait 24 örneğin fungal florası incelenmiştir. Blotter yöntemini takiben agar yöntemiyle de incelenen tohumlarda büyük ölçüde fungus tespit edilmiştir. Tespit edilen fungusları, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Nigrospora oryzae*, *Drechslera* spp, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizopus* spp. ve *Penicillium* spp. oluşturmaktadır (Shadida, 1996). Yine yapılan başka bir araştırma da ise bamya ve domates tohumlarında *Alternari* spp., *Fusarium* spp. ve *Aspergillus* spp. en fazla oranda tespit edilen funguslar olmuştur (Al-Kassim ve ark, 2000). Başka bir araştırıcı

da, salatalık tohumlarının embriyo, kotiledon, testa kısmından *Macrophomina phaseolina* izole etmiştir (Sultana ve ark., 2009). Kavun tohumları üzerinde yapılan başka bir araştırmada ise, *Aspergillus niger* en baskın tür olarak belirlenmiş bunu da *Rhizopus stolonifer* takip etmiştir. En az oranda tespit edilen fungus türü *Aspergillus flavus* olmuştur (Chiejina, 2006).

Araştırmalar da sebze tohumlarından teşhis edilen baskın fungusların sıralamasındaki farklılıklar, büyük ölçüde araştırmanın yapıldığı bölge farklılıklarından kaynaklanmaktadır.

Dünyanın birbirinden farklı bölgelerinde yer alan ve çok değişik iklim ve üretim koşullarına sahip birçok ülkede yürütülen benzer araştırmalarda benzer sonuçlara rastlanmasına rağmen yine dünyanın farklı ülkelerinde yürütülen diğer çalışmalarda saptanan sonuçlarla da farklılık göstermesi bir çelişki değildir. Çok farklı iklim ve üretim koşullarında yetiştirilen sebzelerin tohum mikoflorasında ortak bulunan fungusların olması kadar ender görülen fungusların da olması doğal bir neticedir.

Tohumlar depolanana kadar ve depolanma aşamasında da birçok tohum kaynaklı fungus tarafından kontamine olmaktadır. Tohumların uygun şartlar altında tutulması, gerekli uygulamanın yapılması aşamasında üreticiler için büyük önem taşımaktadır. Yüksek kaliteli tohum patojenlerden ari, sağlıklı ve uzun ömürlü olmalıdır. Bununla birlikte, yüksek nitelikli tohum elde etmek için, birçok ülke tohum testinin ayrılmaz bir parçası olan tohum kaynaklı hastalıklara ait rutin testler uygulamaktadır. Özellikle de bu bağlamda, bölgeler ve ülkeler arası tohum ticareti için ‘Bitki Sağlığı Sertifikası’ gerekrmektedir. Bu gereksinim doğrultusunda, patojenlerin varlığını tanımlamak için yapılan patojen risk analizinde, herbir ilgili patojene ait temel bilgilerden yararlanılır. Örneğin, Endonezya’da üretilen acı biber, salatalık ve domates gibi bir çok sebze tohumu tohum kaynaklı patojenlerin varlığını anlamaya ya da eradike etmeye yönelik hiçbir uluslar arası standarta sahip değildir. Bu durumda, hastalıktan ari, yüksek nitelikli ve uzun ömürlü tohum kavramından söz etmek de olanaksızdır. Bu bakımdan, tohum mikroflorasının tespit edilmesine yönelik çalışmalar muhakkak suretle yapılmalıdır (Maude, 1996)

Sebze tohumlarında fungal floranın tespiti ve tanılanmasına yönelik yapılan bu araştırma; bitki üretimin %90'ının tohum aracılığı ile olması tohumu bitkisel üretimin vazgeçilmez bir girdisi haline getirmektedir. Sağlıklı ve sertifikalı tohum üretimi, tohumdan gelişecek olan bitki dolayısıyla bu bitkileri tüketicek olan insan ve hayvan tüm canlılar için büyük önem taşımaktadır. Zira, hastalıklı tohum üretimi hem büyük ölçüde ürün kaybının yaşanmasına neden olacak hem de oluşan ürünü tüketen canlıların sağlığı açısından tehlike oluşturacaktır. Ayrıca, hastalıktan ari sağlıklı tohum üretimi amacıyla yapılan patojenisite testleri, fungusid uygulamasını da azaltacak ve bu da çevre sağlığını olumlu yönden etkileyecektir.

6. KAYNAK LİSTESİ

Abak ve ark,2000. Sebze Tarımında 2000'lerde Uretim Hedefleri. V. Turkiye Ziraat Muhendisliği Teknik Kongresi, 2000

Agarwal, V.K and Sinclair, J.B., 1987. Principles of Seed Pathology Vol. 1 (XII+176 p.) and Vol. 2 (XII+ 168 p.). CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.

Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell. M. 1996. Introductory Mycology. John Wiley and Sons. p. 361

Al- Kassım, M.Y. and Monawar, M. . 200. Seed-borne Fungi of Some Vegetable Seeds In Gazan Province And Their Chemical Control. Saudi. J. Bio. Sci., Vol. 7, No: 2, 2002

Anonim, 1998 d. FAO Istatistikleri, 1998.

Anonim, 1999 a. Tarımsal Yapı 1997 (Uretim, Fiyat, Değer). T.C.Basbakanlık Devlet Ist. Enst. Yay. No: 2234, Ankara.

Anonim,2000. Tarımsal yapı. Basbakanlık Devlet Istatistik Enstitusu. Yayın No: 2457. Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası, Ankara.

Baltzer, U., 1930. Untersuchungen uber die Anfalligkeit des Roggens fur Fusariosen. Phytopathology Z. 2: 377-441

Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Publishing Company, USA, 240 p.

Booth, C., 1971. The Genus Fusarium. CMI, Kew, Surrey, England, 237 pp.

Buckley, P.M., Wyllie, T.D. and DeVay, J.E. 1969. Fine structure of conidia and conidium formation in *Verticillium alboatrum* and *Verticillium nigrescens*. Mycologia 61: 240-250.

Chiejina, V. 2006. Studies on seed-borne pathogens of some nigerian melons, Agro- Science, Vol. 5 (1): pp. 13-16.

Ciegler ve ark.,1971. Patulin, Penicillic acid and other Carcinogenic Lactones. Microbial Toxins. Vol. VI Fungal Toxins

Du-Hyunglee, S.B. Mathur and P. eergaard. 1984. Detection and location of seedborne inoculum of *Didymella bryoniae* and its transmission in seedling of cucumber and pumpkin. Phytopathology Z., 109: 301-308.

De Tempe, J. And Binnerts, J. 1979. Introduction to methods of seed health testing. Seed Sci. and Technol. 7: 601-636

Domsch, K.H., Gams, V. And Anderson, T.H. 1980. Compendium of Soil Fungi, Volume 1. Academic Press, London, 859 pp.

Doyer, L.C.,1938. Manual for the Determination of Seed-borne Diseases. ISTA., 59 p., Wageningen, Holland

Egriçayır, S., 1985. Tohum Patolojisinin önemi ve Yöntemleri Bugday ve Mısır Hastalıkları Semineri, Orza Yay., Ankara, 101s.

EMSL Analytical Inc, 2010. Environmental Molecular Sciences Laboratory, Quality Laboratory Services.

Erkan, S., 1998. Tohum Patolojisi. Gözdem Ofis, Izmir, 275 s.

Gökova, L.1996. Manisa İlinde Buğday ve Arpa Tohumlarıyla Taşınan Fungal Flora Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı. İzmir.

Groves, J.W and Drayton, F.L., 1939. Mycologia. Vol. 31, No. 4 (Jul. - Aug., 1939), pp. 485-489.

Habib A., Sahi, S.T., Ghazanfar, M.U., Ali, S. 2007. Location of Seed-borne Mycoflora of Eggplant (*Solanum melongena* L.) in different Seed Components and Impact on Seed Germinability, International Journal of Agriculture & Biology 1560–8530/3–514–516.

Hernandez-Perez, P., du Toit, L. J. 2006. Seedborne *Cladosporium variabile* and *Stemphylium botryosum* in Spinach, Plant Disease 90: 137-145.

Hudson, H.J. 1963.The perfect state of *Nigrospora oryzae*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46: 355-360.

ISTA, 1976. International Rules for Seed Testing : Annexes 1976. Seed Sci and Technol. 4 (Suppl.): 3-49, 50-177

ISTA, 1996. International Rules for Seed Testing, Annexes 1996. Seed Sci and Technol. 24 (Suppl.): 13-19, 93-122, 247-252.

Jackson, C.R. and Weber, G.F. 1959. Morphology and taxonomy of *Alternaria*

cucumerina Mycologia 51: 401-408.

Köycü, N.D., Özer, N.1997.Determination of Seedborne Fungi in Onion and Their Transmission to Onion Sets, Phytoparasitica, Volume25, Number 1, 25-31.

Kubota, M., Abiko, K., Yanagisawa, Y. and Nishi, K. 2006. Frequency of *Alternaria brassicicola* in commercial cabbage seeds, Journal of General Plant Pathology. Volume 72, Number 4, 2006 - 197-204.

Kulik, M.M., 1984. New techniques for the detection of seed-borne pathogenic viruses, viroids, bacteria and fungi. Seed Sci. and Technol. 12: 831-840

Langerak, C.J., 1983. Teaching and training of seed pathology in the Netherlands. Seed Sci. And Technol. 11: 1311-1315.

Lumsden, R.D. 1979. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. Phytopathology 69: 890-895.

Luttrell, E.S. 1964. Systematics of *Drechslera* and related genera. Mycologia 56: 119-132.

Mackerras, D. 1995. Antioxidants and health. Fruits and vegetables or supplements Food Australia 47S, 3-23.

Maude, R.B., 1996. Seed-borne Diseases and Their Control, Principles and Practise. CAB International, Wallingford, England, XVII+ 280 p.

Neergaard, P. 1945. Danish species of *Alternaria* and *Stemphyllium.* Taxonomy, parasitism and economic significance. Einar Munksgaard, Copenhagen.

Neergaard, P., 1988. Seed Pathology Vols. I and II, MacMillan Press,Hong Kong, XXV+ 1191 p.

Neergaard, P., 1977. Seed Pathology Vols. I and II, MacMillan Press, London.

Nirenberg, H., 1976. Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der Fusarium Sektion Liseola. Mitt. Biol. Bundesant. Land- Forstwirtsch. Heft 169, Berlin-Dahlem, 117 pp.

Nishikawa, J., Kobayashi, T., Shirata, K., Chibana T. and Natsuaki, K.T. 2006. Seedborne fungi detected on stored solanaceous berry seeds and their biological activities, Journal of General Plant Pathology, Volume 72, Number 5, 305-313.

Owen-Going, T. N., 2002. Etiology and epidemiology of *Pythium* root rot in bell pepper (*Capsicum annuum* L.) in commercial-scale and small-scale hydroponic systems. (MSc thesis). University of Guelph. 2002.

Raper, K.B. and Thom, C. 1949. A manual of the Penicillia. The Williams and Wilkins Co.

Raper, K.E., and Fennell, D.I. 1965. The genus *Aspergillus*. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. 686 p.

Roberts, S.J., Phelps, K., Taylor, J.D. and Ridout, M.S., 1993. Design and

Interpretation of seed health Assays. In: Proc. First ISTA –PDC Symp. On Seed Health Testing pp. 115-125, Agriculture Canada Central Seed Laboratory, Ottewa, Ontario, Canada.

Reuveni, R., Nachmias, A. and Krikun, J. 1983. The Role of Seedborne Inoculum on the Development of *Macrophomina phaseolina* on Melon, Plant Disease, 67: 280- 281.

Shahida, P.1996. Studies on some seed-borne fungal diseases of tomato, Pakistan Research Repository, thesis 8-9-10.

Sharfun, N. ve ark. 2004 . Seed-borne Mycoflora of *Capsicum annuum* Imported From India. Pak. J. Bot., 36(1): 191-197, 2004.

Sharma, R.C. and Bhowmik, T.P., 1987. Journal of Phytopathology Volume 118, Issue 2, pages 181–186, February 1987

Sultana, N.2006. Location of seed-borne inoculum of *Lasiodiplodia theobromae* and its transmission in seedlings of pumpkin (*Cucurbita pepo*), Journal of Scentific and Industrial Research, 49(2): 140-142.

Sultana N. ve ark., 2009. Location of Seed-borbe Inoculum of *Macrophomina phaseolina* and ıts Transmission in Seedlings of Cucumber. Pak. J. Bot., 41(5): 2563-2566, 2009.

Al- Kassım, M.Y. and Monawar, M.N. 200. Seed-borne Fungi of Some Vegetable Seeds In Gazan Province And Their Chemical Control. Saudi. J. Bio. Sci., Vol. 7, No: 2, 2002

Sultana N. ve ark., 2009. Seed-borne Fungi Associated with Bottle Gourd. Pak. J. Bot., 41(1): 435-442, 2009.

Şehirali, S., 1989. Tohumluk ve Teknolojisi. A.İ.Z.F. Basımevi, Ankara, XII+330 s.

Temiz, K. ve Fesli, S. 1978. Ege Bölgesinde Yetiştirilen Sebze Türlerine Ait Çeşitlerde Tohumla Geçen Fungal Hastalık Etmenlerinin Tespiti Üzerine Araştırmalar. TÜBİTAK Yayınları. No: 397, Ankara.

Thom, C., and Raper, K.B. 1945. A manual of the Aspergilli. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.

Toussoun, T.A. and Nelson, P.E. 1968. A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species. Pennsylvania State University Press.

Van der Burg, W.J., Bekendam, J., Van Geffen, A. And Heuver, M. 1983. Project seed laboratory 2000-5000. Seed Sci. and Technol. 11: 157-227.

Valkonen, J.P.T and Koponen, H. 1990. The seed-borne fungi of Chinese cabbage (*Brassica pekinensis*) and their pathogenicity, Plant Pathology. Volume 39, Issue 3, pages 510–516.

Von Arx, J.A. 1970. The Genera of Fungi Sporulating in Pure Ceulture. Verlag Von

J. Cramer, Germany.

Zycha, H., Siepmann, R. and Linneman G. 1969. Mucorales. J. Cramer,

Lehre, 355 pp.

7. ÖZGEÇMİŞ

23.10.1984 yılında Ankara'da doğdum. İlkokul eğitimimi Kavaklıdere İlköğretim Okulunda tamamladıktan sonra Ortaokul eğitimime Salih Alptekin İlköğretim Okulunda devam ettim. 2002 yılında Sokullu Mehmet Paşa Süper Lisesini bitirdim. 2003 yılında Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Programı altında lisans eğitimime başladım. Daha sonra 2005 yılında tercihim olan Bitki Koruma bölümüne girdim ve 2007 yılında mezun oldum. Aynı yıl, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim dalında Yüksek Lisansıma başladım.