

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
2015-YL-001**

**İNCİR İÇ ÇÜRÜKLÜĞÜNE KARŞI ANTAGONİST
BAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELE**




Ümran AKSU ÇATALLIK

**Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU**

AYDIN

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Ümran AKSU ÇATALLIK tarafından hazırlanan İncir İç Çürüklüğüne Karşı Antagonist Bakteriler ile Biyolojik Mücadele başlıklı tez 05/12/2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan : Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU	A.D.Ü. Zir. Fak.	
Üye : Doç. Dr. Ayhan YILDIZ	A.D.Ü. Zir. Fak.	
Üye : Doç. Dr. Engin ERTAN	A.D.Ü. Zir. Fak.	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans Tezi, Enstitü Yönetim Kurulununsayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY

Enstitü Müdürü

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

05 /01 /2015
Ümran AKSU ÇATALLIK

ÖZET

İNCİR İÇ ÇÜRÜKLÜĞÜNE KARŞI ANTAGONİST BAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELE

Ümran AKSU ÇATALLIK

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU

2015, 67 sayfa

Fusarium türlerinin neden olduğu “İncir İç Çürüklüğü” Türkiye’de incir meyvelerinde görülen en önemli hastalıklardan biridir. Bu çalışmada, Aydın ilinde İncir İç Çürüklüğü’ne neden olan *Fusarium* türlerine karşı dişi ve erkek incir meyvelerinden izole edilen antagonist bakterilerin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda etkinliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Aydın ilinden (Bozdoğan, Nazilli ve Erbeyli İncir Araştırma İstasyonu) toplanan hastalıklı erkek incir meyvelerinden *Fusarium* spp., sağlıklı erkek incir meyvelerinden de bakteriler izole edilmiştir. Saflaştırılan ve patojen bulunan *Fusarium* izolatları ITS1/ITS4 ve ef1/ef2 primerleri ile PCR analizi ve sonrasında baz dizileri belirterek Gen Bankasında (NCBI) BLASTn analizi ile tanılanmıştır. Saflaştırılan toplam 138 bakteri izolatu içinde, 3 *Fusarium* (2 *F. solani*, 1 *F. verticilloides*) izolatına karşı ikili kültür testlerinde en yüksek engelleme zonu oluşturan 20 tanesi 16S rDNA ya özgü 27F/1390R primerleri ile PCR da çoğaltılarak tanılanmıştır. Seçilmiş olan 20 bakteri izolatının ilek arısı (*Blastophaga psenes*) çıkışına ve *Fusarium verticilloides*’e olan etkileri koparılmış erkek incir meyvelerinde testlenmiştir. Çalışmalar sonunda izole edilen funguslar *Fusarium solani* (30), *Fusarium proliferatum* (15), *Fusarium verticilloides* (9), *Fusarium* sp. (13) olarak tanılanmıştır. Bahçe denemelerinde seçilen 4 bakteri izolatu ve prokloraz etkili maddeli bir ticari fungusit uygulanan ilek meyveleri kullanılarak Nazilli ilçesi Kızıldere köyünde Sarılop çeşidinden kurulu ticari bir incir bahçesinde ilekleme yapılmıştır. Denemeler tesadüf blokları deneme desenine göre 7 karakter (4 bakteri + 1 fungusit+ 1 kontrol + 1 üretici koşulları) 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. İncir İç Çürüklüğü’ne karşı bakteri uygulamalarında *Pseudomonas* sp olarak tanımlanan (BB7-B4) den %72, *Pantoea* sp. (Boğa in 1) den % 63,23, *Serratia* sp. (Kaba ilek B2) %52,77, *Pseudomonas* sp. (BEB 10 B2T) den %42,77 etki elde edilmiştir. Bahçe denemesinde ticari fungusit (prokloraz) uygulaması İncir İç Çürüklüğü’ne karşı %34,31 oranında etkili bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: *Ficus carica*, İncir İç Çürüklüğü, Sarılop, ilek, biyokontrol, *Fusarium* spp.

ABSTRACT

BIOLOGICAL CONTROL OF FIG ENDOSEPSIS WITH ANTAGONISTIC BACTERIA

Umran AKSU ÇATALLIK

M. Sc. Thesis, Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Kemal BENLIOGLU

2015, 67 pages

“Fig endosepsis” caused by *Fusarium* spp. is one of the most important diseases of fig fruits in Turkey. The study aims at determining *in vitro* and *in vivo* effectiveness of antagonistic bacteria isolated from male and female fig fruits against *Fusarium* spp causing Fig Endosepsis in Aydın Province. *Fusarium* spp was isolated from diseased caprifigs and bacteria were isolated from healthy caprifigs collected from Aydın province (Bozdoğan, Nazilli and Erbeyli Fig Research Institute). Pathogenicity of purified *Fusarium* isolates was evaluated on detached caprifig fruits and identified by PCR analysis with ITS1/ITS4 and ef1/ef2 primers, followed by sequencing and NCBI BLASTn analysis. Twenty out of 138 purified bacterial strains showing the highest inhibitory activity against 3 *Fusarium* isolates in dual culture tests were also identified by 16S rDNA sequencing after amplification of the gene by PCR with the primers 27F/1390R. Twenty selected bacterial strains were also tested for the effect on fig wasp (*Blastophaga psenes*) emergence and the pathogenicity of *Fusarium verticillioides* on detached caprifig fruits. At the end of study, 30 *Fusarium* strains were identified as *Fusarium solani*, 15 *Fusarium proliferatum*, 9 *Fusarium verticillioides* and 13 *Fusarium* sp. In the orchard experiments, caprifig fruits treated with 4 selected bacterial strains and one commercial fungicide (prokloraz) were used by pollination in a commercial fig (cv Sarılop) orchard of Kızıldere willage of Nazilli town. Experiments were conducted by using randomized-plot design 7 treatments (4 bacterium, 1 fungicide, 1 untreated control, 1 farmer condition) with 3 replicates. Orchard experiments resulted in decrease in the fig endosepsis by 72% from the application of *Pseudomonas* sp ((BB7-B4), 62.23% of *Pantoea* sp. (Boğa in 1), 52,77% of *Serratia* sp. (Kaba ilek B2), 42.77% of *Pseudomonas* sp. (BEB 10 B2T). Commercial fungicide (prokloraz) treatment showed 34.31% activity against fig endosepsis in the orchard experiment.

Key words: *Ficus carica*, fig endosepsis, Sarılop, caprific, biocontrol, *Fusarium* spp.

ÖNSÖZ

Çalışma Adnan Menderes Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Projeleri ZRF-13044 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir. 2011, 2012 ve 2013 yıllarında Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji laboratuvarı olanakları ile tamamlanan çalışmanın, laboratuvar denemelerinde kullanılacak olan erkek incir örnekleri Erbeyli İncir Araştırma İstasyonu koleksiyon bahçesinden alınmıştır. Arazi denemeleri Nazilli Kızıldere köyü Sarılop çeşiti incir ağaçlarından oluşan üretici bahçesinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmakta bulunduğum Nazilli Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü Müdürü Sayın Sunay GÜLER'e, bu çalışma konusunun seçilmesinde ve yürütülme aşamalarında desteklerini hiç esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Sayın Kemal BENLİOĞLU başta olmak üzere Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü tüm hocalarıma, yüksek lisansa başvuramda etkisinin büyük olduğunu düşündüğüm beni bugünlere getiren canım annem Suriye AKSU'ya ve çalışmalarımda yardımlarıyla ve gösterdiği sabırla her zaman yanımda olan sevgili eşim Serkan ÇATALLIK'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
EKLER DİZİNİ.....	xxi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1 Materyal	23
3.2 Yöntem.....	23
3.2.1 Fungus Çalışmaları.....	23
3.2.2 Bakteri Çalışmaları.....	26
3.2.3 Bahçe Denemeleri	30
3.2.4 Deneme Deseni ve İstatistiki Analizler	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1 Fungus Çalışmaları.....	35
4.2 Bakteri Çalışmaları.....	43
4.3 Bahçe Denemeleri	53
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR	62
EKLER.....	67
ÖZGEÇMİŞ	68

SİMGELER DİZİNİ

FAO	Food Agriculture Organization
PDA	Potato Dekstroz Agar
KB	King B Agar
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
°C	Derece santigrad
L	Litre
M	Molar
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
ml	Mililitre
mm	Milimetre
µl	Mikrolitre
cm	Santimetre
g	Gram
UV	Ultraviolet
rDna	Ribozomal Deoksiribonükleik Asit
NaOCl	Sodyum hipoklorid
ng	Nanogram
ITS	İnternal Transcribed Spacer
<i>tef-1a</i>	Translation Elongation Factor 1 alpha
EDTA	Etilen Diamine Tetra Asetik asit
pH	Hidrojen konsantrasyonu
T ₁₀ E ₁	Tris EDTA
NA	Nutrient agar
EC	Emülsiyon Konsantre
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
OD	Optical Density
dNTP	deoksi nükleotid trifosfat
Pr	Prokloraz
LSD	Asgari Önemli Fark

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Sarılop ve erkek incirlerin farklı evreleri ve ilek arıcığı (<i>Blastophaga psenes</i>) ile İç Çürüklüğü'ne neden olan <i>Fusarium</i> türlerinin yaşam döngüsü.....	4
Şekil 3.1. Patojenisite testlerinin yapıldığı içinde tel kafes ve perlit buluna plastik kutuya yerleştirilmiş boğa meyvelerin görünümü.....	24
Şekil 3.2. İkili kültür testleri için fungus ve bakteri ekimi yapılmış PDA besiyeri.....	27
Şekil 3.3. Antagonist bakteri izolatlarının ilek arsının meyveden çıkışına etkisini belirlemek için boğa meyvelerinin konduğu kapağına tülbent yapıştırılmış plastik kutuların görünümü.....	28
Şekil 3.4. Nazilli Kızıldere köyünde İncir bahçesinde kurulan deneme planı.....	30
Şekil 3.5. Nazilli Kızıldere köyünde incir bahçesinde kurulan denemede ağaçların işaretlenmesi ve tül örtüler ile ağaçların örtülmesi (19.Mayıs.2013).....	30
Şekil 3.6. Bahçe denemelerinde kullanılan ilek meyvelerinin kesilerek incelenmesi ve <i>Fusarium</i> spp bulaşıklılığının saptanması için agar damlatma yöntemi.....	31
Şekil 3.7. Bahçe denemelerinde ileklemede kullanılan erkek incir meyvelerine sıringa ile bakteri uygulaması ve ilekleme (12/Haziran/2013).....	32
Şekil 3.8. Laboratuvara getirilen hastalıklı Sarılop incir meyvelerinden fungal etmenlerin izolasyonu.....	33
Şekil 4.1. Patojenisite yapılmış erkek ve Sarılop incir meyvelerinde <i>Fusarium spp.</i> 'nin varlığı.....	35
Şekil 4.2. Üstte ve altta ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü.....	38
Şekil 4.3. Üstte ve altta efl/ef2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü.....	39
Şekil 4.4 Üstte ve altta 27F/1390R primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü.....	47
Şekil 4.5. Deneme bahçesinde uygulamalardan sonra 5.8.2014 tarihinde yapılan sayımlarda kontrol parsellerden birindeki incir ağacında hastalıklı ve sağlıklı Sarılop meyvelerininin görünümü.....	54
Şekil 4.6. Deneme bahçesinde uygulamalardan sonra 5.8.2014 tarihinde yapılan sayımlarda bakteri uygulanmış parsellerden alınan sağlıklı (solda) ve kontrol uygulamalarda alınan hastalıklı (sağda) meyvelerin görünümü.....	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. İncir üreten ülkelerin 2012 yılı incir üretim miktarları.....	1
Çizelge 1. 2 2013 yılı Aydın ili ve ilçelerindeki incir üretim alanı, üretimi ve ağaç sayıları.....	2
Çizelge 4.1. Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen funguslar ve virülens değerleri.....	36
Çizelge 4.2. Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen ve patojen bulunan 37 <i>Fusarium</i> spp. izolatının <i>tef-1 α</i> genine özgü ef1/ef2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLASTn analiz sonuçları.....	37
Çizelge 4.3. Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen fungusların virülensliklerine göre sınıflandırılması.....	41
Çizelge 4.4. Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen bakterilerin ikili kültür sonuçları.....	43
Çizelge 4.5 Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen (30) bakteri izolatının 16s rDNA geni sekans analizine göre gen bankasında (NCBI) yapılan BLASTn analiz sonuçları.....	48
Çizelge 4.6. Antagonist bakterilerin (20 adet) ilek arı çıkışına etkileri.....	50
Çizelge 4.7. Antagonist bakterilerin (20 adet) koparılmış ilek incir meyvelerinde İncir İç Çürüklüğü etmeni <i>Fusarium verticillioides</i> 'e (KB1)' etkileri.....	51
Çizelge 4.8. Deneme bahçesinde kullanılan ilek meyvelerinden izole edilen funguslar ve patojenisite sonuçları.....	53
Çizelge 4.9. Deneme bahçesinde yapılan çalışmalarda sarılop ve ilek incir meyvelerinden izole edilen funguslar ve patojenisite sonuçları.....	55
Çizelge 4.10. Bahçe denemelerinde ilek ve sarılop meyvelerinden izole edilen ve patojen bulunan 31 <i>Fusarium</i> spp. izolatının <i>tef-1 α</i> genine özgü ef1/ef2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları.....	56
Çizelge 4.11. Nazilli ilçesi Kızıldere köyünde 5 yaşlı Sarılop çeşidi incir bahçesinde ilek meyvelerine 4 antagonist bakteri ve prokloraz fungusiti uygulandıktan sonra yapılan ilekleme sonrası Sarılop meyvelerinde İç Çürüklüğü bulunma oranı ve uygulamaların yüzde etkinlikleri.....	57

EKLER DİZİNİ

Ek-1 Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen funguslar ve virülens değerleri Varyans Analizi.....	67
Ek-2 Antagonist bakterilerin (20 adet) ilek arı çıkışına etkileri Varyans Analizi ..	67
Ek-3 Antagonist bakterilerin (20 adet) koparılmış ilek incir meyvelerinde İncir İç Çürüklüğü etmeni <i>Fusarium verticillioides</i> 'e (KB1)' etkileri Varyans Analizi.....	67
Ek-4 Nazilli ilçesi Kızıldere köyünde 5 yaşlı Sarılop çeşidi incir bahçesinde ilek meyvelerine 4 antagonist bakteri ve prokloraz fungusiti uygulandıktan sonra yapılan ilekleme sonrası Sarılop meyvelerinde İç Çürüklüğü bulunma oranı ve uygulamaların yüzde etkinlikleri Varyans Analizi.....	67

1. GİRİŞ

İncir, Urticales (Isırganlar) takımının Moraceae (Dutgiller) familyasının Ficus cinsinden olan *Ficus carica L.* türünün meyveleridir (Ülkümen vd, 1948). Geniş yaprakları, tropikal ağaç görünüşü ile incirin (ficus) 600 den fazla türü bilinmektedir. Dünya’da kültüre alınan en eski kültür bitkisi olduğu belirtilen incir (Kislev vd. 2006), sevilerek tüketilen taze ve kuru meyveleri yanısıra ağacın kabukları, kökleri, yaprakları ve sütü ortaçağ ve daha öncesinden beri kanserden koruyucu, tedavi edici ve enfeksiyonu önleyici amaçla kullanılmaktadır (Lansky vd. 2008).

Dünya incir üretiminin (1.101.699 ton) yaklaşık %24.9’nı Türkiye sağlamakta bunu % 15.5 ile Mısır, %7.2 ile İran izlemektedir (Çizelge 1.1). Türkiye Dünya kuru incir üretiminin %60’ını, Aydın ili de Türkiye üretiminin %63’nü sağlamaktadır (Anonim, 2012).

Çizelge 1.1. İncir üreten ülkelerin 2012 yılı incir üretim miktarları (FAOSTAT, 2012)

Ülke Adı	Üretim Miktarı (ton)	Toplam Üretimdeki Pay (%)
Türkiye	274.535	24.9
Mısır	171.062	15,5
Cezayir	110.058	9.9
Fas	102.694	9.3
İran	78.000	7.2
ABD	35.072	3.1
Diğer	329.752	29.9
Toplam	1.101.699	100

Aydın ili açısından en önemli dış satım ürünü sayılabilen kuru incir Türkiye’nin geleneksel ihraç ürünleri arasında ilk sıralardadır. Türkiye bu yolla yıllık olarak yaklaşık 75-80 milyon dolarlık ihracat geliri elde etmektedir (Anonim, 2008). Kuru incir, son yıllardaki ortalama 55.000 tonluk üretimi ve yıldan yıla değişmekle birlikte 45-50 bin ton civarındaki ihracat miktarı ile kuru ve kabuklu meyvelerimiz arasında fındık, çekirdeksiz kuru üzüm ve kuru kayısıdan sonra dördüncü sırada yer almaktadır. Kuru incir 100’e yakın ülkeye ihraç edilmekle birlikte ihracatımızın %70 civarı Avrupa birliği ülkelerine yapılmaktadır. Dünya

kuru incir üretim ve ihracatında ise Türkiye ilk sırada yer almaktadır (Ege İhracatçı Birlikleri, 2013).

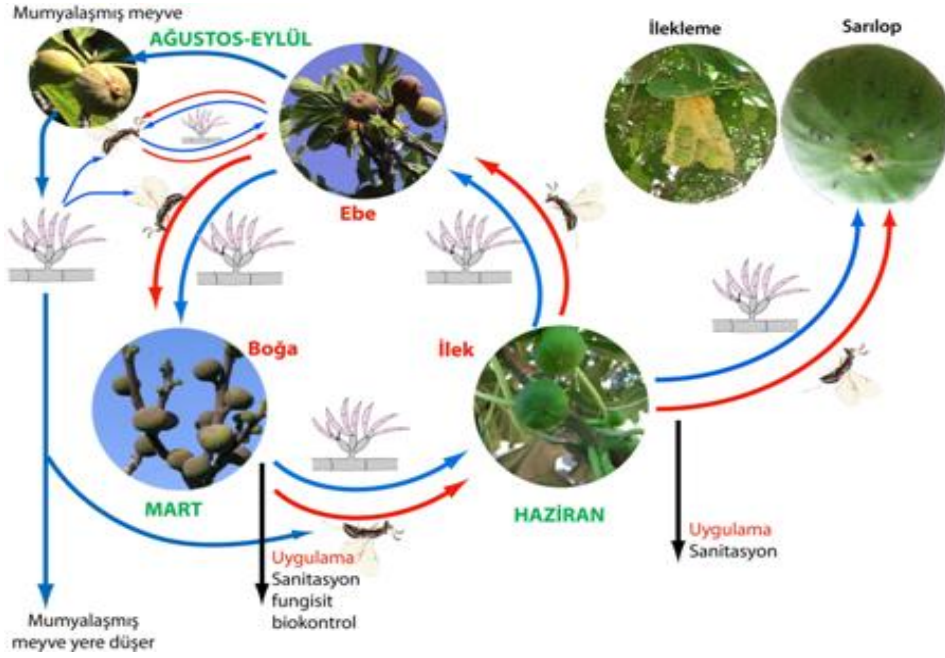
Ülkemizin birçok yöresinde, tüm kıyı bölgelerinde, Ege Bölgesinde, Güneydoğu Anadolu`da ve İç Anadolu`nun korumalı vadilerinde incir ağacına rastlanmaktadır. Ancak ticari olarak yetiştiriciliğinin yoğun olduğu yerler Aydın ve İzmir il sınırları içinde kalan Büyük ve Küçük Menderes orta havzası ile Bursa ve çevresidir. Kurutmalık incirin ticari anlamda yetiştiriciliği ise tümüyle Büyük ve Küçük Menderes vadilerini ayıran Aydın dağları ile Germencik (Aydın), Birgi (Ödemiş) ve kısmen Tire`deki kır-taban ve taban arazilerde yapılmaktadır (Aksoy vd. 2001). 2013 yılı Aydın ili ve ilçelerindeki toplu meyveliklerin alanı Çizelge 1.2 de verilmiştir. Çizelge 1.2`den görüleceği gibi üretim alanı açısından sırasıyla Nazilli, Germencik, İncirliova ve Köşk ilçeleri başta gelirken üretim miktarı en fazla olanlar ise Nazilli, Germencik, İncirliova ve Sultanhisar ilçeleridir.

Çizelge 1. 2 2013 yılı Aydın ili ve ilçelerindeki incir üretim alanı, üretimi ve ağaç sayıları*

İlçe	Toplu meyveliklerin alanı (da)	Üretim (ton)	Ağaç başına ortalama verim (kg)	Meyve veren yaşta ağaç sayısı	Meyve vermeyen yaşta ağaç sayısı	Toplam ağaç sayısı
Merkez	23.056	14.119	41	347.405	25.780	373.185
Bozdoğan	15.479	7.700	21	361.700	67.900	429.600
Buharkent	13.294	6.241	24	258.000	2.000	260.000
Germencik	89.297	49.678	39	1.283.500	158.725	1.442.225
İncirliova	37.669	19.580	29	674.500	5.000	679.500
Köşk	24.697	5.675	15	391.000	49.000	440.000
Nazilli	95.327	51.473	29	1.773.150	43.240	1.816.390
Sultanhisar	20.504	17.403	53	327.000	2.200	329.200

(*) Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2013).

Dünyada yaygın olarak üretimi yapılan ve tüketilen incir *Ficus carica* L. türüne aittir. İncir çift evcikli yani dioik bir meyve türüdür. Erkek (*Ficus carica caprificus*) ve dişi (*Ficus carica domestica*) ağaçları ayrıdır. İncirde diğer meyve türlerinde olduğu gibi çiçeklenme ve meyve bağlama yoktur. Meyve taslakları yaprak koltuklarında oluşur, daha sonra gelişip olgunlaşarak yenebilecek hale gelirler. Meyveler 1 yıl önceki sürgünün uç gözlerinden veya o yılki sürgünün üzerindeki yaprak koltuklarındaki gözlerden meydana gelir. Erkek ve dişi incir ağaçlarında her yıl 3 seri meyve gözü oluşmakta ve meydana gelen 3 mahsülün [erkek incirlerde: ilek (bahar), ebe (yaz) ve boğa (kış), dişi incirlerde: yellop (bahar), iyilop (yaz-ana ürün), sonlop (kış)] meyveleri belirli aralıklarla olgunlaşmaktadır. İlkbahar (yellop) ürünü bir yıl önceki sürgünün uç kısmındaki kışı uyur halde geçiren gözlerden gelişir. Genellikle sayıca azdır. İlkbahar mahsülü meyveler bu dönemde çiçek tozu bulunmadığından dökülür. Ekonomik olan yaz ürünü (iyilop) incir meyveleri ise, o yılki sürgünün yaprak koltuklarında ve yaklaşık birer haftalık aralıklarla doğar. Sarılop ve Bursa Siyahı incir çeşitlerinin meyve vermesi için *Blastophaga psenes* L. olarak isimlendirilen ilek arılarının dişileri yardımıyla erkek incirlerden çiçek tozlarını alarak döllenmesi gerekir. İlek arıları ile incir arasındaki simbiyotik ilişki birlikte evrimleşen böcek ve bitkinin güzel bir örneğidir. İlek arıları doğada, aynı ağaç üzerinde üç meyve döneminde yaşamını sürdürmektedir. Bu nedenle Sarılop ve Bursa Siyahı incir yetiştiriciliğinde üreticiler ilekleme adını verdikleri bir yöntemle haziran ayında erkek incir meyvelerini (ilek) belirli bir düzen ve sayıda olacak şekilde dişi incir ağaçlarına asarlar. İleklemede amaç, aslında ilek arıcığının dişi incir meyvelerini bulmasına yardımcı olarak tozlaşmayı sağlamaktır. İlek meyvelerinden çıkan ilek arıcıkları incir meyvesine girerek vücudundaki polen tozlarını incirin dişi çiçeklerine bulaştırmakta böylece döllenme olmaktadır (Aksoy, 1981; Aksoy vd. 2001). Şekil 1.1 de Sarılop incir çeşidinde erkek ve dişi incir ağaçlarında meyvelerin farklı evreleri ve ilek arısı ile yaşam döngüsü özetlenmiştir.



Şekil 1.1. Sarılop ve erkek incirlerin farklı evreleri ve ilek arıcığı (*Blastophaga psenes*) ile iç çürüklüğüne neden olan *Fusarium* türlerinin taşınma yolları (Michailides vd. 1996 dan değiştirilerek çizilmiştir)

İlek arıcığı, *Blastophaga psenes*, bir yıl içerisinde erkek ağaçlarda birbirini izleyen yaz meyvesi ebe, kış meyvesi boğa ve ilkbahar meyvesi ilek içerisinde hayat döngüsünü tamamlar (Şekil 1.1). Arıcığın yaşam döngüsü erkek incir meyvesi içerisinde tamamlanırken bu meyveler içerisindeki polenlerin olgunlaşma süreci de bu döngüyle kusursuz bir biçimde uyum gösterir. Arıcığın yumurtalarını bırakmak için diğer bir meyveye geçme zamanı ile ayrılacağı meyvenin polen olgunluk zamanı birbiri ile çakışır. Böylece arıcık polenleride beraberinde diğer meyveye taşımış olur. Hastalık etmenlerinin incir meyvesi içerisine girişi de bu kısa yolculuk esnasında havadan, meyvelerden, yapraklardan, dallardan arıcığın üzerine bulaşması ile gerçekleşir (Aksoy, 2007).

İncir meyveleri özellikle küf kompleksi olarak adlandırılan bir grup fungustan (*Alternaria*, *Penicillium*, *Eurotium*, *Cladosporium* ve *Aspergillus* spp.) ve ekşiliğe neden olan maya türlerinden zarar görmektedir. Ancak Sarılop incir meyveleri özellikle *Fusarium solani*, *Fusarium verticilloides* (daha önce *F. moniliforme*)

Fusarium dimerum, *Fusarium proliferatum* ve *Fusarium subglutinans* tarafından oluşturulan İç Çürüklüğü (Endosepsis) yada Pembe Çürüklük veya Kahverengi Çürüklük adı verilen bir hastalıktan zarar görmektedir. Hastalığın incir üreticisi her ülkede (Yunanistan, Cezayir, ABD’de Kaliforniya eyaleti ve Türkiye) sorun olduğu belirtilmektedir. Yapılan araştırmalar hastalığın ilek arısının etmene ait konidileri farklı ağaçlardaki dişi meyvelere taşınmasıyla yayıldığını göstermektedir. Söz konusu hastalığın diğer etmenlerin de neden olduğu hastalıklarla beraber yaklaşık % 50 verim ve kalite kaybına neden olduğu da tespit edilmiştir (Michailides vd. 1996). Hastalık etmeni fungus, normalde erkek incir ağaçlarının boğa (kış) meyvesinde kışlar, fakat patojenin propagülleri ayrıca erkek ve dişi incir ağaçlarının dal, yaprak ve meyveleri üzerinde de bulunur. Patojenin konidileri, boğa meyvesine, sonbaharda ilek arısının neslini devam ettirmek üzere yumurta bırakmak amacıyla girmesi sonucu taşınır. Etmen aynı şekilde ilek arısı aracılığıyla ilek (bahar) meyvesine daha sonra da yaz meyvesi ebeye taşınır. Bu şekilde birbirini takip eden tüm erkek incir meyveleri İç Çürüklüğü hastalığı ile bulaşır ve hastalık yıldan yıla artarak yaygınlaşır (Şekil 1.1). Hastalığın ilek arısının kanat, ayak gibi vücut parçalarıyla meyve içerisine taşındığı belirtilmektedir. İç Çürüklüğü hastalığı meyvelerin kalitesini düşürerek pazar değerini olumsuz şekilde etkilemektedir. Etmeninin incir meyvesinde ekonomik olarak kayba sebep olmasının yanı sıra insan ve hayvan sağlığı üzerine olumsuz etkileri bulunan mikotoksin (fumonisin, okratoksin) üretmesi hastalığın önemini daha da arttırmaktadır (Michailides vd. 1996). Bu nedenle incir yetiştiriciliğinde İç Çürüklüğü hastalığı ile mücadele gerek ekonomik gerekse insan sağlığı açısından önemli bir konudur.

İncirde İç Çürüklüğü hastalığı ile biyolojik mücadele konusunda antagonist bir fungus *Paecilomyces lilacinus* (Michailides vd. (1993) dışında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut kaynaklar incelendiğinde; hastalık etmeni *Fusarium* türlerine karşı İncirde İç Çürüklük hastalığı dışında antagonist bakteriler ile biyolojik mücadele konusunda pek çok çalışmanın varlığı bilinmektedir. Örneğin mısırdaki *Fusarium moniliforme* (syn. *F. verticilloides*)’e karşı antagonist bakterilerden yararlanılmakta (Bacon vd, 2001; Cavaglieri vd, 2005a; Cavaglieri vd, 2005b), yine bakteriler yardımı ile çeltikte (Rosales ve Mew, 1997) söz konusu etmene karşı etkin biyolojik kontrol yöntemleri bulunmaktadır.

Bu alışma kapsamında erkek ve dişi incir meyvelerinden izole edilen antagonistik bakterilerin laboratuvar ve bahçe koşullarında İncir İ ürüklüğü hastalığı'na karşı etkinliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Subbarao ve Michailides (1992), İncir İç Çürüklüğü hastalığı'na sebep olan etmenin 65 yıl önce bazı morfolojik kriterlere göre *Fusarium moniliforme* var. *fici* olarak adlandırıldığını belirtmiştir. Araştırmacılar mısır bitkisinden elde ettikleri *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*) ile incirden elde ettikleri *Fusarium moniliforme* var. *fici*'yi gelişme oranları, mikrokonidilerinin büyüklüğü, sporodochia, makrokonidi, klamidiospor ve sklerot oluşturup oluşturmamaları yönünden karşılaştırmışlardır. Ayrıca izolatlar çapraz patojenisite (cross pathogenicity) açısından da değerlendirilmiştir. Yapılan karşılaştırmada morfolojik özellikler yönünden patojene özel bir durumun söz konusu olmadığı, her iki etmenin (mısır ve incir izolatının) incirde iç çürüklüğüne, incirden elde edilen izolatın da mısır danesinde çürüklüğe neden olduğu belirlenmiştir. İncirden elde edilen izolatlar, tüysüz şeftali (*Prunus persica* var. *nectarina*) ve Japon eriğinde (*P. salisina*) de meyve çürüklüğüne sebep olmuştur. Elde edilen sonuçlara dayanılarak *F. moniliforme* var. *fici*'nin mısırdan elde edilen *F. moniliforme* ile benzer morfolojik özelliklere sahip olması ve konukçuya spesifik olmaması nedeniyle İncir İç Çürüklüğü hastalığının tek etmeni olmadığı kanısına varılmıştır.

Subbarao ve Michailides (1993), İncirde İç Çürüklüğü hastalığı'na sebep olan *Fusarium* türlerinin miseliyal gelişimi, sporulasyonu, optimum gelişme sıcaklıkları ve hastalık oluşturma yeteneklerini araştırmıştır. *F. moniliforme* ve *F. solani* hastalığa neden olan dominant etmenler olarak belirlenmiştir. Bu amaçla ABD'de Kaliforniya'da incir üretim alanlarından hastalık belirtisi gösteren kültüre alınmış ve yabani erkek incirlerden toplam 62 izolat elde edilmiştir. Bunlardan 1 izolat *F. dimerum*, 7 izolat *F. solani* ve 54 izolat ise *F. moniliforme* olarak tanımlanmıştır. Türler içinde yer alan izolatların *in-vitro*'da gelişimleri birbirinden önemli ölçüde farklılıklar göstermiştir. Koloni çapları ölçüldükten sonra sporulasyonun belirlenmesi için kolonilerin üzerine 10 ml steril deiyonize su verilmiş ve Thoma lamında spor sayımları yapılmıştır. Sporulasyonun koloni gelişimi ile pozitif ilişkili ($r=0.43$; $P=0.0001$; $n=236$) olduğu belirtilmiştir. *F. moniliforme* ve *F. solani* izolatlarının çoğunun optimum gelişme sıcaklığının 25°C olduğu, *F. dimerum* için ise 30°C olduğu tespit edilmiştir. *F. dimerum* izolatının orta derecede virüent, *F. solani* izolatlarının virüent veya yüksek derecede virüent, *F. moniliforme* izolatlarının yaklaşık %11'i avirüent, %67'si zayıf ya da orta derecede virüent, %22'sinin ise virüent ya da yüksek derecede virüent olduğu tespit edilmiştir. Yabani erkek incirlerden elde edilen *F. moniliforme*

izolatlarının, kültüre alınmış erkek incirlerden elde edilen izolatlara göre daha virulent olduğu görülmüştür. Buna karşın benzer durum *F. solani* için tespit edilmemiştir. Sonuç olarak yabancı erkek incirlerden kültüre alınmış incirlere *F. moniliforme*'nin girişinin Kaliforniya incir endüstrisi açısından önemli ve uzun süreli problemlere neden olabileceği belirtilmiştir.

Subbarao vd. (1993), beş farklı sıcaklık (15, 20, 25, 30 ve 35 °C) ve -0.46 ile -4.46 MPa arasında değişen 10 farklı ozmotik potansiyel koşullarında *Aspergillus niger*, İncir İç Çürüklüğü hastalığı etmeni *F. moniliforme* ve incir meyvesinin iç kısmında doğal olarak bulunan *Paecilomyces lilacinus*'un gelişimi ve sporulasyonuna etkilerini araştırmışlardır. Denemeler aynı zamanda *P. lilacinus*'un biyokontrol ajanı olarak ilaçlamada en uygun zamanın belirlenmesi için incir bahçesinde de yürütülmüştür. Her üç fungusun gelişimi ozmotik potansiyelden ziyade sıcaklıktan daha fazla etkilenmiştir. *A. niger* ve *P. lilacinus*'un miseliyal gelişimi için optimum sıcaklık 30°C olarak belirlenmiştir. Bu optimum sıcaklık derecesinde azalan ozmotik potansiyel *A. niger*'in gelişimini daha az, *P. lilacinus*'un gelişimini ise daha çok etkilemiştir. *F. moniliforme*'nin gelişimi 35°C de -3.12 MPa dan yüksek olan ozmotik potansiyelde ve 15°C de -1.79 MPa dan düşük olan ozmotik potansiyel değerlerinde azalmıştır. Söz konusu üç fungus, sıcak ve kuru koşullarda yaşayabilme yeteneklerine göre değerlendirildiğinde, *A. niger* > *G. Fujikuroi* > *P. lilacinus* şeklinde sıralanmıştır. Ozmotik potansiyel değerleri dikkate alınmadığında, 15 ve 20°C gibi düşük sıcaklıklarda *A. niger*'in gelişiminin azaldığı belirlenmiş ve bu durum *Aspergillus*'un ilek meyvelerinde niçin sıklıkla görülmediğini de kısmen açıklamıştır. *P. lilacinus*'un gelişimi sıcaklığa bağlı olmaksızın azalan ozmotik potansiyel nedeniyle azalmış ve bu fungusun test edilen üç fungus içerisinde mevcut sudan en az faydalanan fungus olduğu ortaya çıkmıştır. Bu fungus'un biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilmesi için yüksek nemin gerektiği ve *P. lilacinus*'un spor süspansiyonu, mart ortasında ilek meyvelerine püskürtüldüğünde İç Çürüklüğü hastalığı'nın uygulama yapılmayan ağaçlara göre %50 oranında azaltığı saptanmıştır. Buna karşın aynı uygulamalar Sarılop ağaçlarına uygulandığında düşük nem koşulları nedeniyle benzer etki elde edilemediği bildirilmiştir. Ancak araştırmacılar İlek meyvelerinin oluştuğu dönemde sıcaklıkların 30°C yi geçmediğini ve o dönemde sık yağışlar nedeniyle *P. lilacinus*'un etkili olmasını sağlayan yeterli nem koşullarının oluşacağı sonucuna varmışlardır.

Geleneksel olarak, Kaliforniya İncir Enstitüsü (CFI) Kaliforniya incir sektöründe hizmet vermekte ve *F. moniliforme*'nin sebep olduğu İncir İç Çürüklüğü hastalığı ve yenilmeyen erkek incirlerdeki diğer küflerin seviyelerini kontrol etmektedir. Bu testler rutin olarak incirlerin iç kısmından ostiol boyunca uzanan çiçek demetleri çıkarılıp erimiş patates dekstroz agar ile karıştırıldıktan sonra petri kaplarına dökülerek yürütülmektedir. Bu çalışmada araştırmacılar incir meyvelerini yüzey dezenfeksiyonu sonrası steril bir bıçakla ikiye böldükten sonra uygulanan 3 farklı izolasyon tekniğini (1-steril pens ile 5 noktadan alınan çiçek demetlerinin asitleştirilmiş besiyerine ekilmesi; 2-tüm çiçek demetlerini steril bıçakla çıkarılarak besi yerine ekimi; 3-yarım meyve ortasına erimiş asitleştirilmiş besiyeri damlatılarak meyvelerin tel ızgaralar üzerinde nemli koşullarda inkube edilmesi) karşılaştırmışlardır. Çalışmalar sonunda agar damlatma tekniğinde 20 incir meyvesi için 7.5-8 ml besiyerine gereksinim duyulduğu, yöntemin hızlı, ekonomik ve en iyi sonuç veren bir metot olduğuna karar vermişlerdir (Michailides vd. 1994).

İncir İç Çürüklüğü hastalığı'na neden olan *F. moniliforme* propagüllerinin İncirin döllenmesinde aracı rolü oynayan ilek arısı *Blastophaga psenes* ile taşındığı tespit edilmiştir. Taramalı elektron mikroskopu çalışmaları *Fusarium moniliforme*'ye ait mikrokonidilerin ve misel parçalarının polenle birlikte doğrudan arı vücut ve bacak parçalarında da bulunduğunu göstermiştir. Çiçek gallerinden yapay yollarla çıkarılan ergin arıların hastalığı taşımadığı, buna karşın ergin arıların bulaşık erkek incir meyvelerini doğal yollarla terkederken %91 ile 100 arasında *Fusarium moniliforme* propagülleri ile bulaştığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada izole edilmiş dallarda 5-10 boğa meyvesinin varlığında 1 boğa meyvesi bulunan dallara oranla hastalıkla bulaşık olan ilek oluşumunun iki kattan daha fazla olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde 5-10 boğa meyvesi konulan dallardaki ilek meyvelerinde hastalıklı ilek arısı sayısı, tek meyve konulan dallara oranla iki kattan daha fazla olmuştur. Benzer durum Sarılop meyveleri için de geçerli olmuş ve 5-10 boğa meyvesinin bulunduğu dallardan elde edilen ilek meyveleriyle tozlaşması sağlanan Sarılop incirlerinin bulaşıklılığı, bir boğa meyvesinin bulunduğu dallardan elde edilen ilek meyvesiyle tozlaşan Sarılop incirlerine göre çok daha fazla olmuştur. Buna göre gereğinden fazla meyveyle yapılan tozlaşmanın meyve içerisine daha yüksek sayıda ilek arısı girmesine sebep olduğu ortaya çıkmıştır. Çalışma sonuçlarına göre meyve içerisinde 3 veya daha fazla hastalıkla bulaşık arı, ostiol'de %100 oranında *Fusarium moniliforme* bulaşıklılığına, 5 ve üzerinde hastalıkla bulaşık arı ise

meyvenin iç kısmında %100 bulaşıklılığa sebep olmuştur. Yoğun ilek arısı popülasyonu az sayıdaki alıcı meyveyle karşılaştığında İncir İç Çürüklüğü'nün bulunma oranının arttığı bildirilmiştir (Michailides ve Morgan.,1994).

İç Çürüklüğü hastalığı'na neden olan *Fusarium moniliforme* ve Siyah Çürüklüğe neden olan *A. niger* izolatlarına sıcaklığın etkisini araştırıldığı bir çalışmada, kültüre alınmış incirden 2, yabani erkek incir ağacından izole edilen 3 *Fusarium moniliforme* izolatı ile Siyah Çürüklük belirtisi gösteren incirden elde edilen bir *Aspergillus niger* izolatının 5 farklı sıcaklıkta meyvede kolonizasyonu ve lezyon çapları incelenmiştir. Yüzeysel dezenfeksiyonu yapılmış yarım incir meyveleri ilgili etmenlerle inokule edilmiş ve 15, 20, 25, 30 ve 35 °C sıcaklıklarda, %97 nemde inkübe edilmişlerdir. İnkübasyondan 3 ve 5 gün sonra *Aspergillus niger* ve *Fusarium moniliforme* tarafından oluşturulan lezyon genişliği ölçülmüş ve *Fusarium moniliforme* için optimum kolonizasyonun 30°C de olduğu saptanmıştır. Kültüre alınmış erkek incir meyvelerinden elde edilen izolatların, 35°C'de iyi kolonize olamadığı görülmüştür. Daha yüksek sıcaklıklar hem *Fusarium moniliforme* (30°C'de 40-60 saat) hem de *A. niger*'in (35 °C'de 44 saat) belirtilerinin ortaya çıkış süresini (latent periyot) kısaltmıştır. Yabani erkek incirlerden elde edilen *F. moniliforme* izolatları, kültüre alınmış incirlerden elde edilen izolatlara göre 30°C sıcaklıkta daha kısa latent periyoduna (40 saat) sahip olduğu görülmüştür. Farklı sıcaklıklarda izolatların lezyon büyüklüklerinde de istatistiksel olarak farklılıklar görülmüştür. Buna karşın her sıcaklıkta yabani erkek incirlerden alınan izolatların, kültür incirlerinden alınan izolatlara göre daha büyük lezyonlar oluşturduğu ve daha fazla sporulasyon gösterdiği belirlenmiştir. *A. niger* için optimum kolonizasyonun 35°C olduğu tesbit edilmiştir. *F. moniliforme*'nin oluşturduğu lezyon genişlikleri 25 °C ve altındaki sıcaklıklarda 30 ve 35°C sıcaklıklara göre daha büyük iken, *A. niger*'in en büyük lezyon genişliği 30 ve 35 °C sıcaklıklarda görülmüştür. 30 ve 35 °C sıcaklık derecelerinde *A. niger*'in oluşturduğu lezyonun genişleme oranı herhangi bir *F. moniliforme* izolatının genişleme oranınının 2 katı olmuştur. *A. niger* için 30°C altındaki sıcaklıkların uygun olmaması nedeniyle, bu hastalığın genellikle erkek incirde nadiren, buna karşın dişi incirde yaygın olarak görüldüğü de belirtilmektedir (Subbarao ve Michailides, 1995).

Subbarao ve Michailides (1996) İncir İç Çürüklüğü hastalığı'na neden olan *F. moniliforme* ile Siyah Çürüklük etmeni *A. niger* infeksiyonlarına karşı incirlerin duyarlılığını haftalık aralıklarla toplanan incirlerde değerlendirmiştir. Gerek erkek

incir gerekse Sarılop incirlerinin olgunlaşmadan 7 hafta öncesine kadar İç Çürüklüğü enfeksiyonlarına dayanıklı olduğu, buna karşın Siyah Çürüklüğün Sarılop incirlerinin yaralandığı herhangi bir zamanda oluşabileceği bildirilmiştir. Çalışmada incirin gelişimi sırasındaki bazı morfolojik ve fizyolojik faktörlerin her iki patojen üzerine etkileri araştırılmış ve hem erkek incir hem de Sarılop için fenolojik skalalar oluşturulmuştur. Ayrıca incir sütü ve farklı karbon kaynaklarının konidi çimlenmesi, çim tüpü uzunluğu ve her iki patojenin miseliyal gelişimine etkisi araştırılmıştır. İncir sütünün İç Çürüklük etmenine karşı her üç parametrede de etkili olurken, *Aspergillus* üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır. Denemeye alınan karbon kaynaklarından laktoz, mannoz, maltoz ve nişastanın *F. moniliforme*'nin gelişimini diğer karbon kaynaklarından daha fazla teşvik ettiği ortaya konulmuştur. *A. niger*'in fruktoz, mannoz ve maltoz ilave edilmiş ortamda gelişimi denemeye alınan diğer şekerlerden daha iyi olmuştur. İncirde bulunan iki şeker olan glukoz ve fruktoz ele alındığında *F. moniliforme* her iki şekerde de en iyi şekilde gelişirken, *A. niger*'in en iyi fruktozda geliştiği bildirilmiştir. Ortama %9, 18, 36, 54 ve 72 oranında glukoz veya fruktoz ilave edildiğinde, her iki patojenin miseliyal gelişimi değerlendirilmiştir. *A. niger*'in miseliyal gelişimi ortama % 36'ya varan oranlarda fruktoz ilavesiyle artmış, *F. moniliforme*'nin gelişimi ise % 18 fruktoza kadar artış göstermiştir. Glukoz konsantrasyonu ele alındığında *F. moniliforme* ve *A. niger*'in miseliyal gelişiminin sırasıyla % 9 ve % 18'den daha yüksek konsantrasyonlarda azaldığı belirtilmiştir.

Michailides vd. (1996), İncir İç Çürüklüğü ile mücadele konusunu ayrıntılı olarak değerlendirmiş ve bu konuda yürütülecek mücadeleyi; kültürel önlemler, kimyasal ve biyolojik mücadele başlıkları altında değerlendirmiştir. Kültürel önlemler aşağıdaki 5 aşamalı bir uygulama olarak önerilmiştir.

1-Mart ayında arılar çıkmadan önce bahçede tüm kış ürünü boğa meyveleri elle veya vurularak ağaç altına serilen örtüye düşürülür.

2-Tüm hasat edilen kış ürünü meyveleri (boğa) yeterli havalandırmaya sahip olan bir oda da 10°C de saklanır ve gelişmekte olan ilek meyveleri için kullanılır. Bu işlem aşağıdaki birbirini takip eden 3 uygulama ile tamamlanır.

3-İncirler yarıya bölünerek püskürtme ya da 10 dak. daldırma şeklinde ruhsatlı bir fungusit ile ilaçlanır.

4-Hastalıktan arı kış ürünü ilaçlı yarım boğa meyveleri (ağaç başı 30-40 incir yarısı) küçük kağıt torbalara yerleştirilerek periyodik olarak erkek incirler ağaçlar üzerine asılır.

5-Gerektiğinde 3-4 deki adımlar tekrarlanmalıdır. Serin, yağışlı havalarda arı çıkışı azaldığı gibi ilek meyvelerinin de alıcılığı azalmaktadır. Ancak sıcak havalarda bu oran yükselmektedir.

Michailides vd. (1996), İncir İç Çürüklüğü hastalığına karşı Kaliforniya'da eyalet yasalarınca da teşvik edilen erkek incirlerin eyalet çapında temizlenmesi şeklinde önerdikleri programın uygulanmasına rağmen İncir İç Çürüklüğü hastalığı'nın hala Kaliforniya yetiştiricileri için bir sorun olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılara göre sanitasyon işlevleri veya meyvelerin yok edilmesi sadece kış ürünü erkek incirlerde hastalığı azaltmaktadır. Sarılop incirler içinde birkaç erkek incir ağacının bulunduğu bahçelerde ise arı olgunlaşması ve çıkışından önce ilek meyveleri toplanması ya da yok edilmesi önerilmektedir. Michailides vd. (1996), İncir İç Çürüklüğü ile kimyasal mücadele konusunda; 70 yıl öncesine dayalı kültürel yöntemlerin önerildiği, hasat edilen kış ürünü boğa meyvelerinin uygun fungusit çözeltilisine daldırılması veya fungusit püskürtülmesi şeklinde bir temizleme programı oluşturulduğu ve bu uygulamalar sonrası çıkan ilek arılarının temiz ve döyledikleri yaz meyvelerinde İç Çürüklüğü hastalığı'nın daha az görüldüğünü bildirmektedir. ABD'de incir üreticileri başlangıçta kış ürünü erkek incirleri (boğa) Puratized adı verilen civalı kimyasallar ile ilaçlamışlardır. Ancak daha sonra ABD Çevre Koruma Örgütü (EPA) tarafından civalı fungusitler yasaklanmış, yetiştiriciler kış meyvelerini ikiye ayırdıktan sonra benomyl, chlorothalonil, dicloran ve potasyum sorbat ile püskürtme veya daldırma yöntemini uygulamışlardır. Bu uygulama kış meyvelerinde *F. moniliforme*, *Rhizopus* ve *Alternaria* bulunma oranını azaltmıştır. Ancak, bu çalışmaların hiçbirinde erkek incirlerden çıkan ilek arıları temizlenememiştir. 1980'li yılların sonlarından itibaren incir yetiştiricileri benomyl ile bir ya da diğer iki fungusitin veya dört fungusitin kombinasyonunu, fungusitlerin penetrasyonunu arttıran yüzey aktif maddeler ile karıştırarak kullanmışlardır. Ancak, 1987 de yapılan bir sürveye göre kültür ve erkek incirlerden (özellikle kış ürünü incirler) izole edilen *Fusarium* izolatlarının % 8 den %100 e değişen oranda 1 µg benomyl'e, %4 den % 48 arasında değişen oranda da 4 µg benomyle dayanıklı olduğunu saptamışlardır. İlek arıları ortaya çıkmaya başlamadan önce erkek incirlere püskürtme yöntemiyle fungusit uygulanması ilkbaharda ilek meyvelerinde İç Çürüklüğü bulunma oranını

önemli derecede azalırken (%35-50) yaz meyvelerindeki hastalık seviyesinde hiçbir değişim görülmemiştir. Ancak kış ürünü erkek incir meyvelerinin kesilen yaraları yüzeyi yukarı bakacak şekilde yerleştirilerek yüzeylerine fungusit püskürtülmesi arılarda ve ilek meyvelerindeki bulaşmayı daldırma yöntemine göre daha fazla azaltmıştır. 1987 ile 1992 yılları arasında araştırmacılar kış ürünü erkek incir meyvelerine çeşitli fungusit solüsyonları uygulanmış ve uygulanan fungusitlere göre farklı sonuçlar alınmıştır. Tozlaşmadan önce ağaçlara püskürtülen çeşitli fungusit uygulamalarından ise birbiri ile tutarsız sonuçların alındığı bildirilmiştir.

Sarılop incirlerde (*Ficus carica* cv. Calimyrna) tozlaşma ilkbahar ürünü erkek incirlerde (ilek) yaşamını sürdüren küçük simbiyotik bir arı *Blastophaga psenes*, tarafından sağlanmaktadır. Bu arılar Kaliforniya'da yenilebilir incirlerde İç Çürüklüğüne neden olan özellikle *Fusarium verticillioides* (önceden *F. moniliforme*) ve diğer *Fusarium* spp. propagüllerini taşımaktadır. İncir İç Çürüklüğü hastalığının yayılışı 1989-1995 yılları arasında bir deneysel ve 4 ticari Sarılop incir bahçesinde yürütülen çalışmada incelenmiştir. İncir İç Çürüklüğü'nün bulunuşu ağaç tacının < 2m yukarisından veya aşağısından, ağacın güney ve kuzeyinden, tacın direkt güneş ışınlarına maruz kalan dış ve gölgede olan iç kısımlarından toplanan meyvelerde aynı oranda olduğu gözlenmiştir. İlek arı kaynağı olan erkek incir ağacından 3.5-10 m uzaklıkta yer alan incir ağaçlarında 48-63 m mesafedekilere oranla daha çok arı yakalanmıştır. Ayrıca erkek incir ağacından 9-12.7 m uzaklıktaki meyvelere 18-38,2 m uzaklıktaki 2. veya 3. durumdaki ağaçlardaki meyvelerden daha fazla arı girdiği tesbit edilmiştir. İç Çürüklüğü hastalığı kaynak erkek incir ağacından uzaklaştıkça azalmış ve bu azalmanın diğer yönlere oranla güneye doğru daha hızlı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca hastalık taşıyan arılar kaynaktan uzaklaştıkça azalmış bu azalma güney yönde daha fazla olmuştur. Ticari Sarılop bahçesinde 3 yıl boyunca yapılan çalışmada İncir İç Çürüklüğü hastalığı ikincil bir yayılma göstermediği dikkati çekmiştir. İncir İç Çürüklüğü hastalığı vektörü dikkate alındığında çok sayıda döngü (3 veya 4) görülmekle birlikte Sarıloplarda tek döngülü bir hastalık olduğu bilinmektedir. Çünkü tozlayıcı ilek arıları yakınlarında alıcı durumdaki Sarılop ağaçlarının bulunması halinde kaynağa yakın kalmayı tercih etmeleri nedeniyle ticari Sarılop bahçelerinde sadece 50 metreden kısa mesafedeki Sarılop ağaçları hastalıktan etkilenmektedir (Michailides ve Morgan, 1998).

Michailides vd. (2005) tarafından 2000 ve 2001 yıllarında yürütülen bir çalışmada, Fresno bölgesinden toplanan boğa meyveleri ikiye kesilerek daldırma ve püskürtme yöntemi kullanarak 5 farklı uygulamanın (1-sanitasyona tabi tutulan kontrol meyveleri, 2-thiophanate-methyl+chlorothalonil+dichloran+ %5,25 NaOCl karışımından oluşan ticari standart fungusit, 3-azoxystrobin, 4-tebuconazole, 5-fludioxonil) İncir İç Çürüklüğü'ne etkileri araştırılmıştır. Buna göre 2000 yılında yapılan testlerde kullanılan tüm yeni fungusitlerin, İç Çürüklüğü hastalığı'nı uygulama görmeyen kontrol meyvelerine göre azalttığı, ancak hiçbirisinin standart ticari preparat olan thiophanate-methyl + chlorothalonil + dichloran+ %5,25 NaOCl kombinasyonu kadar performans göstermediğini belirtmişlerdir. Azoxystrobin dışında, denemeye alınan diğer fungusitlerin, genel olarak daldırma yönteminde sprey uygulamasına göre daha etkin olduğu, her iki yöntemde İç Çürüklüğü hastalık yoğunluğunun %39 ile %50 arasında değiştiği belirtilmiştir. Yine aynı çalışma kapsamında 2001 yılında farklı 3 deneme kurulmuştur. Birinci denemede, boğa meyveleri yine Fresno Bölgesinden toplanmış ve meyveler kesilerek daldırma yöntemi uygulanmıştır. Bu uygulamada 2000 yılındaki uygulamalara ilave olarak, cyprodinil+ fludioxonil karışımı propiconazole ve sanitasyona tabi tutulmayan meyveler kontrol olarak kullanılmıştır. Uygulama gören boğa meyvelerine 2000 yılında belirtildiği gibi PDA damlatılmış ve 4 gün sonra İç Çürüklüğü ve diğer fungal etmenler yönünden değerlendirilmiştir. Bu deneme sonucunda Roeding 3 erkek incir çeşidine ait boğa meyvelerine uygulanan tüm fungusit uygulamaları standart ticari fungusit (thiophanate-methyl + chlorothalonil + dichloran) ile birlikte İç Çürüklüğü oranını düşürmüş, tebuconazole ve propiconazole burada en etkili iki fungusit olmuştur. Bu denemede sanitasyona tabi tutulan kontrol meyvelerdeki hastalık oranı sanitasyona tabi tutulmamış kontrol meyvelerindeki hastalık oranı ile benzer bulunmuştur. Bununla beraber Stanford çeşidine ait boğa meyvelerine fungusitler uygulandıktan sonra torbalar içerisindeki ilek meyvelerini tozlamak için kullanıldığında azoxystobin ve tebuconazole uygulamaları iç çürüklüğünü önlemede en etkili fungusitler olarak bulunmuştur. Bu denemede standart ticari preparat uygulaması yine en az hastalık oranına sahip uygulama olmuştur. Bununla birlikte bu denemede sanitasyonun kullanılması en az yeni fungusitler (tebuconazole ve fludioxonil) kadar veya onlardan daha etkili olduğu da tespit edilmiştir. Fungusitlerin ilek arılarının *F. moniliforme* ile bulaşıklılığına etkisinin değerlendirildiği çalışmada, tebuconazole ve fludioxonil'in hastalığın taşınmasını büyük ölçüde azalttığı diğer yeni fungusitlerin sadece Stanford erkek incirlerinin kullanıldığı denemede hastalığı

azalttığı, sanitasyon uygulamasının sanitasyona tabi tutulmayanlara oranla ilek arılarındaki *F. moniliforme*'yi %50 azalttığı görülmüştür. Ayrıca standart ticari preparat uygulamasının bir kez daha en etkili uygulama olduğu da vurgulanmıştır. İkinci denemede, Kaliforniya'nın Orosi bölgesinde bulunan erkek incir bahçesinde, boğa meyvelerinden ilek arısı çıkışlarından önce, ağaçlar iki defa (22 ve 29 mart) yukarıda adı geçen aynı fungusitlerle ilaçlanmış, her uygulamaya ait tesadüfi olarak toplanan olgunlaşmış ilek meyveleri agar damlatma yöntemi ile İç Çürüklüğü ve diğer hastalıklar açısından incelenmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda standart ticari ilaç preparatının (thiophanate-methyl+chlorothalonil+dicloran) ilek meyvelerinde İç Çürüklüğü oranının önemli oranda düşmesine neden olan tek uygulama olduğu bildirilmiştir. Bu denemede ağaçlara uygulanan yeni fungusitlerin (tebuconazole ve fludioxonil), ilek meyvelerindeki iç çürüklüğünün uygulama yapılmayan kontrole göre çok az azalttığı da belirtilmiştir. Üçüncü denemede ise, Kaliforniya'nın Madera bölgesinde Sarılop ağaçları ileklemeden hemen önce tebuconazole ve fludioxonil ile ilaçlanmıştır. Daha sonra ilekleme bitimine yakın ikinci ilaçlama yapılmıştır. Meyveler olgunlaşmadan önce yeşilken toplanarak agar-damlatma yöntemine göre, ayrıca kuru meyvelerde mikroskop altında hastalık açısından incelenmişlerdir. Değerlendirmeler sonucunda tebuconazole ve fludioxonil'in olgunlaşmamış incirlerdeki *F. moniliforme*'nin bulunma oranını ya da kuru incirde İç Çürüklüğü ve Siyah Çürüklük hastalıklarının oranını azaltmadığı belirlenmiş ve halen Sarılop ağaçlarının ilaçlanarak İç Çürüklüğü ve Siyah Çürüklük Hastalıklarından koruyacak yeni bir fungusit olmadığı da vurgulanmıştır.

İtalya'da Pembe Çürüklük ve Yumuşak Çürüklük olarak adlandırılan İncir İç Çürüklüğü hastalığı incirlerde yaygın ve önemli bir hastalık olarak bilinmektedir. Hastalık *F. verticillioides*, *F. solani*, *F. dimerum*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. lactis*, and *F. ramigenum* türleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çürük incirlerden izole edilen *Fusarium* türlerinin hepsi otoklav edilmiş mısır danelerinde düşük seviyede fusarik asit ürettiği, bu türlerden sadece bir *F. subglutinans* izolatının yüksek oranda mikotoksin ürettiği belirtilmiştir. Ayrıca *F. subglutinans* and *F. proliferatum*'un bir ırkı beauvercin (BEA) ve fusaproliferin (FUP) ürettiği saptanmıştır. *F. proliferatum*'un tüm izolatlarının ise fumonisin ürettiği rapor edilmiştir (Moretti vd. 2000).

İtalya'nın Apulia bölgesinden toplanan 87 çürük incir meyvesinde yürütülen bir survey çalışmasında Moretti vd. (2010) izole ettikleri 126 *Fusarium* türünden

69'unu *F. ramigenum*, 49'unu *F. solani*, 5 tanesi de *F. proliferatum* olarak tanımlanmışlar, kalan 3 tanesinin ise türü belirlenememiştir. *F. ramigenum* türlerinin tanınması translation elongation factor-1 alpha geninin baz dizilerinin analizi ile doğrulandığı çalışmada aynı zamanda izolatların toksin oluşturma özellikleri de belirlenmiştir. Bu analizlere göre 69 *F. ramigenum* türüne ait izolatların 37'sinde fusarik asit (FA), 30'unda beauvericin (BEA), 60'ında fumonisin B1 (FB1) ve fumonisin B2 (FB2) ve 2 izolatta da fusaproliferin (FUP) belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen 5 *F. proliferatum*'un izolatında düşük seviyede FA, 2 sinde BEA, 1 tanesinde FB1 ve FB2, 1 tanesinde FUP ürettiği belirlenmiştir. Çalışmada 30 *F. solani* izolatından 13'ünde FA'nın varlığı saptanmıştır. İncir meyvelerinde yapılan patojenisite testlerinde her 3 türün de patojen olduğu ancak bunlardan, *F. ramigenum*'un yüksek virülense sahip olduğu belirtilmiştir.

İncir İç Çürüklüğü hastalığı'na karşı az da olsa biyolojik mücadele çalışmaları da yürütülmüştür. Özellikle Michailides vd. (1993), 1990 ve 1991 yıllarında incir meyvelerinden izole ettikleri *Paecilomyces lilacinus* (Tom) R. A. Samson isimli fungusu biyolojik ajan olarak, *Fusarium* spp'nin neden olduğu incir iç çürüklüğü ve *Aspergillus niger*'in neden olduğu Siyah Çürüklük hastalığı'na karşı denemişlerdir. *P. lilacinus*' un biyolojik ajan olarak kullanıldığı çalışmada, 1990 yılında İç Çürüklüğü'nü %35-61, Siyah Çürüklüğü ise %52-100 oranında düşürdüğü tesbit edilmiştir, 1991 yılında ise biyokontrol ajanının söz konusu hastalıklara karşı karşılaştırma olarak kullanılan fungisit kombinasyonundan daha etkin olduğu ve hastalığı %50 den yüksek oranda azalttığı ifade edilmiştir. Bu nedenlerle *Paecilomyces lilacinus*' un incir meyvelerinde önemli iki hastalık etmenine karşı biyolojik ajan olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Michailides vd. (1996)'nın İncir İç Çürüklüğü konusunda yaptıkları derlemede gerek erkek gerekse yenilebilir incir meyvelerinin fungus, maya ve bakterilerden oluşan bir mikrofloraya sahip olduğuna değinmişlerdir. Araştırmacılar *Fusarium* spp. dahil benzer mikrofloranın Sarılop ve erkek incir meyveleri, sürgün, yaprak ve yaprak sapından sıklıkla izole edildiğini belirtmişlerdir. Aynı mikroorganizmalar genellikle incir'in ostiol kısmından izole edilmiştir. Bu mikroflora içinde *P. lilacinus* genellikle ölü arı vücudunda, meyve içinde ve ostiolde bulunmuştur. Bu fungusun incirlerde çürümeye neden olmadığı fakat ölü arılarda kolonize olarak *F. moniliforme*'nin gelişimini engellediği belirtilmiştir. Ayrıca *P. lilacinus* ilkbaharda erkek ağaçlar üzerine tozlaşmadan önce püskürtüldüğünde ilek meyvelerinde İç Çürüklüğü'nü azalttığı ancak yaz aylarında Sarılop incir

meyvelerine püskürtüldüğü zaman kuru koşullar nedeni ile etkili olmadığı ifade edilmiştir. *P. lilacinus* ile yürütülen biyolojik mücadele çalışmalarında erkek incirlerde *Fusarium* spp. ile bulaşıklılık durumuna göre İç Çürüklüğü hastalığı'nı %55-60 oranında azalttığı saptanmıştır. Biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan *P. lilacinus* ile enjekte edilen ilek meyvelerindeki arılarda bu fungusun bulunma oranının %45-58 arasında değiştiği ve bulaşıklık oranının enjekte edilmemiş erkek meyvelerden çok daha yüksek oranda olduğu belirtilmiştir. İlek arılarının erkek incir ağaçlarının yüzeyinden *P. lilacinus* konidilerini toplayarak ilek meyvelerine taşıdığı, daha sonra ebe meyvelerinde ve Sarılop incirlerde İç Çürüklüğü hastalığını azalttığı belirtilmiştir. *P. lilacinus* erkek incir bahçelerinde uygulanması öncesi %1-2 oranında bulunmasına rağmen, uygulamadan sonra bu oranın %5-10'a yükseldiği tespit edilmiştir. Ayrıca, steril arılara *P. lilacinus* ve *F. moniliforme* birlikte inokule edildiğinde *F. moniliforme*'nin sporulasyonunda altı kat azalma saptanmıştır. *F. moniliforme*'nin gelişmesi için ilk besin kaynağı olan ölü arıların vücudunun *P. lilacinus* ile kaplanması ve *F. moniliforme*'nin büyümesini önemli ölçüde azaltmış olması incirlerde İç Çürüklüğü hastalığı'nın da azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (Michailides vd. (1996).

Fusarium türlerinin incir dışındaki konukçularda neden olduğu hastalıklara karşı da etkin biyolojik mücadele çalışmaları da yapılmıştır. Bunlardan hububatlarda Başak Yanıklığı'na neden olan *Fusarium culmorum* trikotesen ve deoxynivalenol (DON) mikotoksini üreten önemli bir patojendir. Bu hastalığa karşı bir *Pseudomonas fluorescens* ırkı (MKB 158) kitosan (kitinin deasetillenmiş türevi) ile birlikte uygulandığında buğday ve arpada *F. culmorum*'un sebep olduğu hastalığı önemli düzeyde azaltmıştır. Sera ve tarla koşulları altında yapılan denemelerde, ticari olarak temin edilen yengeçden üretilmiş kitosan ile uygulama sonrası hastalığın buğday ve arpada %74 oranında azaldığı bildirilmiştir (Khan ve Doohan, 2009).

İncir İç Çürüklüğü'ne neden olan *Fusarium moniliforme*, aynı zamanda mısırlarda fakültatif bir endofit olarak bulunmakta ve saprofitik fazında fumonosin adı verilen mikotoksin üretmektedir. Fungus vertikal ve horizontal olarak tohum ve bitki artıkları ile gelecek ürünlere taşınabilmektedir. Fungusun horizontal olarak dışarıdan bulaşmasına karşı fungusit uygulamaları ile mücadele edilebilmektedir. Ancak fungus endofitik fazda bulunduğu vertikal taşınmada fungusitler ile tohum ilaçlamalarından sonuç alınamamaktadır. Bu etmene karşı biyolojik mücadelede endofitik bir bakteri olan *Bacillus subtilis* ile fungusun endofitik fazında etkin bir

mücadele yapılabilir. Ayrıca bakterinin yanısıra etmenin hasat sonrası bulaşmalarına karşı *Trichoderma* sp. ile etkin bir kontrol sağlanabilmektedir (Bacon vd. 2001).

Fusarium verticillioides, aynı zamanda mısırı infekte eden tohum yoluyla bulaşan önemli bir patojendir. Bu fungus insan ve hayvanlar için potansiyel zehir olan bir mikotoksin (fumonisin) üretir. *Fusarium verticillioides* kolonizasyonu ve sistemik kontaminasyonu gıda güvenliği araştırmalarında öncelikli bir alan haline gelmiştir (Cavaglieri vd. 2005). Bu araştırmada iki bakteri izolatının *Arthrobacter globiformis* (RC5) ve *Azotobacter armeniacus* (RC2), *in vitro*'da *Fusarium verticillioides*'in gelişimi ve fumonisin B1 üretimine etkisi ve sera koşullarında *F. verticillioides*'in kök kolonizasyonu üzerine bakteriyel inokulum düzeylerinin etkileri araştırılmıştır. Her iki bakteri izolatu tek başına ya da bir karışım olarak *in vitro* ortamda fumonisin B1'in oluşumunu baskılamış ve *F. verticillioides*'in gelişimi üzerinde önemli bir etki göstermiştir. Sera koşulları altında ise sadece *Azotobacter armeniacus* toprağa 10^6 ve 10^7 cfu/g düzeyinde uygulandığında *F. verticillioides*'in kök kolonizasyonunda önemli bir azalma saptanmıştır.

F. moniliforme aynı zamanda çeltikte "bakanae" olarak bilinen çok önemli bir hastalığa neden olmaktadır. Bu hastalığa karşı bakteriyel antagonistlerin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 440 bakteriyel izolattan 113 tanesi patojenin miseliyal gelişimini engellediği saptanmış ve antagonistlerin bazılarının aynı zamanda tohum çimlenmesini engellediği, bazılarının ise gelişmeyi teşvik ettiği bildirilmiştir (Rosales ve Mew, 1997).

İncirlerde yoğun olarak bulunan bakteri türlerinden birisi de *Serratia* cinsine aittir. *Serratia* türleri içinde pigment oluşturmayan yada kırmızı veya yeşil renkli pigment oluşturan bakteriler erkek incirlerden, ilek arılarından ve Sarılop meyvelerinden izole edilebilmektedir. Bu türlerin çoğunluğunu *S. marcescens* (biotip A1b) ve *S. ficaria* oluşturmaktadır. Bunlardan *Serratia ficaria* Kaliforniya, Tunus, Fransa, Sicilya ve Yunanistan'da incirlerden en çok izole edilen türlerin başında gelmektedir (Grimont ve Grimont, 2005).

623 bitki örneğinde *Serratia* türlerinin varlığının incelendiği bir çalışmada; toplam 167 *Serratia* ırkı izole edilmiş tür ve biyogrupları belirlenmiştir. İncir ve hindistan cevizinde ise oldukça üniform ve karakteristik *Serratia* populasyonları bulunmuştur. Kaliforniya, Tunus ve Fransa'dan toplanan incir meyvelerinden

Serratia ficaria elde edilmiş, ayrıca incirde *S. marcescens*'in çeşitli biyotipleri de bulunmuştur. Hindistan cevizini meyvelerinde ise sadece *S. marinorubra* bulunmuş, hindistan cevizi ve incir dışındaki bitkilerden, izole edilen 8 *Serratia* türü içinde de *S. liquefaciens* ve *S. proteamaculans*'in daha sıklıkla izole edildiği belirtilmiştir (Grimont vd. 1981).

Türkiye’de Yapılan Çalışmalar

İncir İç Çürüklüğü hastalığı ile ilgili olarak ülkemizdeki ilk kayıt Bremer (1948) tarafından yapılmış *F. moniliforme*, *F. solani* ve diğer bazı fungusların incirde çürümeye neden olduğu belirtilmiştir. Özar vd. (1986), 1981 ve 1984 yılları arasında İzmir ve Aydın illerinde kurutmalık incir meyvelerinde *Aspergillus niger*'in % 98, *Mucor* ve *Rhizopus* spp'nin %90.4, *Penicillium* spp. %26,9, *F. moniliforme* %23,8), *Alternaria* spp. nin %22,2 ve *Aspergillus* türlerinin % 20,6 oranlarında bulunduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada ilek arılarından *F. moniliforme* ve *A. niger*, ekşilik böcekleri ve sirke sineklerinden başta *A. niger* olmak üzere *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* sp. ve *Fusarium* sp. fungusları izole edilmiştir.

Yorgancı (2003) tez çalışmasında, 2001 ve 2003 yıllarında incir bölgelerinden alınan ilek, ebe, boğa ve sarılop örneklerinin tamamında mikrobiyolojik analizler yapmış ve ilek meyvelerinin küf miktarı açısından riskli olduğu, kuru sarılop meyvelerindeki küf miktarının yaş meyveye göre daha fazla olduğu, İlek meyvelerinde Okratoksin-A'nın bulunmadığını bildirmiştir.

Benlioğlu vd. (2004), Aydın İli'nde 1999-2003 tarihleri arasında yaptıkları çalışmada; Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü (E.İ.A.E) erkek incir koleksiyon bahçesinde çeşitlere göre ilek meyvelerinin *Fusarium* spp. ile bulaşıklılık oranının %10-90, ebe meyvelerinin %20-100, boğa meyvelerinin ise %70-95 arasında değiştiğini, Aydın İli' ne ait bazı ilçelerde boğa meyvelerinde bulaşıklılık oranının ise %50-85 arasında bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonunda İncir İç Çürüklüğü hastalığı'na neden olan etmenlerin *Fusarium moniliforme* ve *F. solani* olduğu bildirilmiştir.

Aydın İli'nde 2005 yılında kuru incir ihraç eden 23 incir işletmesinden ihracat kapasitesine göre 1-24 arasında değişen sayılarda tesadüfe göre alınan toplam 97 partide (UV taramasından geçmiş) yapılan analizlerde; ortalama fungal bulaşıklılık

oranı *A. niger* için %8.36, *A. flavus*, *A. parasiticus* için 0.55, *Fusarium* spp. için %3.86, *Penicillium* spp. için %2.62, *Cladosporium* spp. için %0.64 ve *Alternaria* spp. için de %0.44 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen 56 *Fusarium* spp. izolatının 49'u *Fusarium moniliforme* olarak tanılanmıştır (Benlioğlu vd. 2007).

Yıldız vd. (2008), 2000-2001 yıllarında Aydın ili'nde Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsünde bulunan 10 farklı dişi incir çeşidinde İncir İç Çürüklüğü hastalığı'na neden olan *Fusarium* türlerinin bulunma oranlarını saptamak amacıyla yürüttükleri çalışmada, dişi incir çeşidinin her birinden tesadüfi olarak 30 incir meyvesi toplamış ve bu meyvelerden 284 *Fusarium* spp. izolatu elde etmişlerdir. Elde edilen patojenik *Fusarium* izolatlarından 196'sı *F. verticillioides* (önceki ismi *F. moniliforme*) ve 48'i *F. solani* olarak tanılanmıştır. *F. verticillioides* izolatlarının % 11.7'si virulent, %41.3'ü yüksek oranda virulent olarak tespit edilirken, bu oranlar *F. solani* için sırasıyla %22.9 ve %29.2 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çeşit önemli olmaksızın *F. solani* izolatlarının virülensinin *F. verticillioides*'e göre önemli oranda daha yüksek olduğu da bulunmuştur. İki yıllık çalışmalar sonucunda, patojenik *Fusarium* izolatlarının Bursa Siyahı çeşidinde %19.7, Sultan Selim'de %15.2, Morgüz'de %13.5, Beyaz Orak'da %12.7, Siyah incir'de %9.8, Yeşilgüz'de %9, Sarılop'ta %7.4, Siyah Orak'ta %5.7, Horasan'da %4.5 ve Sarı Zeybek'te %2.5 oranlarında bulunduğu belirlenmiştir.

İncir İç Çürüklüğü hastalığı'na karşı etkili olan fungusit ve fungusit karışımlarını laboratuvar ve doğa koşullarında belirlemek amacıyla ele alınan bir doktora çalışmasında Aydın İli'nde Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü'nde (E.İ.A.E.) erkek incir koleksiyon bahçesinde 2005-2008 yılları süresince boğa meyvelerinde hastalık ve *Fusarium* spp.'nin bulunma oranları saptanmıştır (Doğan, 2009). Temiz ilek meyvesi elde etmek amacıyla fungusit süspansiyonlarına daldırılan boğa meyvelerinde *Fusarium* spp.'nin bulunma oranları incelenmiştir. Ayrıca fungusit karışımlarına daldırılan boğa meyveleri erkek incir dallarına asılarak bu meyvelerden çıkan ilek arılarının ilek meyvesine girmesi sağlanmış ve bu ilek meyveleri tozlanmayı sağlamak üzere, tül kafesler içine alınan dallarda Sarılop meyve ağaçlarına asılarak dişi incirlerde iç çürüklüğüne etkileri incelenmiştir. Denemeye alınan fungusitlerin ED₅₀ değerleri de ayrıca belirlenmiştir. Sonuç olarak, 2005-2008 yıllarında boğa meyvelerinde *Fusarium* spp.'nin bulunma oranları sırasıyla %57.4, 64.7, 40.3 ve 30.3 olarak bulunmuştur. Üç yıl süresince boğa meyvelerinin fungusit solüsyonuna (thiophanate-methyl, thiophanate-methyl

+ chlorothalonil, cyprodinil, fludioxonil, cyprodinil + fludioxonil, prokloraz, tebuconazole) daldırılmasıyla yapılan laboratuvar denemelerinde, prokloraz *Fusarium* spp. azaltılmasında en etkili fungusit olmuştur. Uygulama yapılan boğa meyvelerinden çıkan *Blastophaga psenes*'de *Fusarium* spp. 'nin bulunma oranı üç yıl süresince, tüm uygulamalarda değişken sonuçlar vermiş, burada kesin bir etkiden söz etmek mümkün olmamıştır. E.İ.A.E. incir bahçesinde uygulama görmüş boğa meyvelerinden elde edilen ilekler ile döllenmiş Sarılop incirlerinde *Fusarium* spp.'nin azaltılmasına yönelik 2006-2008 yılları arasında yapılan çalışmalarda, en etkili fungusit uygulamaları prokloraz (100ml/100 l) ve tebuconazole (240g/100 l)'den elde edilmiştir. Sarılop meyvelerinden yapılan izolasyonlardan elde edilen 120 *Fusarium* spp. izolatının %80'inin *Fusarium verticilloides*, %20'sinin *Fusarium solani* olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu izolatların büyük bir kısmının oldukça virulent olduğu da belirlenmiştir.

Doğan ve Benlioğlu (2011) İncir İç Çürüklüğü belirtisi gösteren boğa meyvelerinde yürüttüğü çalışmalarda meyve kesitlerinden izolasyonlar sonucu yapılan değerlendirme sonrası bulaşıklık oranlarının 2005, 2006, 2007 ve 2008 yıllarında sırasıyla 57.4, 64.7, 40.3 ve 30.3 olduğunu belirtmişlerdir. 2005 yılında hastalık belirtisi gösteren boğa meyvelerinin %64'ünden, 2006 yılında %91'inden, 2007 ve 2008 yıllarında %68'inden *Fusarium* spp. izole edilmiştir.

Ülkemizde İncir İç Çürüklüğü ile ilgili araştırmalar dikkate alındığında son yıllarda özellikle ihracatımız ve insan sağlığı açısından çok önemli olan mikotoksinler ile ilgili pek çok çalışmanın yürütüldüğü dikkati çekmektedir. Bu çalışmalar özetle;

Şenyuva vd. (2008) 50 bulaşık incir meyvesini UV ışık altında ayrı ayrı sıralayarak fungus ve mikotoksin varlığını belirlemek için analiz etmiştir. Çalışma sonunda 49 örnekte Aflatoksin B1 (0.7 ile 222 ng/g), 32 incir üzerinde de 0.4 ile 1710 ng/g düzeyinde Okratoksin (OTA) saptanmıştır.

Karbancıoğlu ve Heperkan (2009) 2003-2004 yıllarında Ege Bölgesindeki 7 farklı ilçeden 155 kuru incir örneğinde mikotoksin kontaminasyonunu inceledikleri çalışmada. 115 örneğin 86'sında fumonisin B1 (FB1) bulaşıklığı saptanmıştır.

Köseoğlu (2008)'un "Sarılop İncir (*Ficus carica* L.) çeşidinin kurutulmuş meyvelerinde fumonisin varlığının araştırılması" başlıklı doktora çalışmasında

Ülkemiz incir yetiştiriciliğinde önemli bir paya sahip olan sarılop incir eşidinde Büyük ve Küçük Menderes Havzası'nı temsil eden hurda (H) ve kaliteli (A) kuru incir örneklerinde, *Fusarium* spp.'nin mikotoksinlerinden biri olan fumonisin varlığı araştırılmıştır. İncir örneklerinde fumonisin B1 ve B2 flouresan dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazı ile (HPLC) analiz edilmiştir. Analiz edilen 262 kuru incir örneğinin %66,7'sinde mikotoksin tespit edilmiştir. Kaliteli incir sınıfına (A sınıfı) dahil olan örneklerin %70'nin, hurda sınıfına (H sınıfı) dahil olan örneklerin %62'sinin fumonisin ile bulaşık olduğu ortaya konmuştur.

İmamoğlu (2008) doktora çalışmasında incir ve ekirdeksiz üzümlerde özellikle hasat öncesi periyotta mikotoksin oluşumunun azaltılmasına yönelik biyokontrol amacıyla kitosanaz aktivitesi yüksek olan *Bacillus* izolatlarının belirlenmesini amaçlanmıştır. Çalışmada çeşitli kaynaklardan yapılan izolasyon çalışmaları sonunda 508 tane *Bacillus* izolatı elde edilmiştir. Kitosanaz aktivitesi ile enzimatik indeks değerine göre seçilen toplam 18 *Bacillus* izolatının *Aspergillus niger* EGE-KL-213, *Aspergillus foetidus* EGE-KL-211, *Aspergillus ochraceus* EGE-K-217 ve *Fusarium solani* KCTC 6328 test kflerine karşı antagonistik özellikleri incelenmiş ve hepsinde antagonistik aktivite saptanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Aydın ili Bozdoğan ve Nazilli ilçelerinden alınan boğa ve Sarılop incir meyveleri ile Erbeyli İncir Araştırma İstasyonu erkek incir koleksiyon bahçesindeki Kaba, Karaerkek, Çakın, Yanako-2, Kıbrıslı, Mordemirtaş, Hamza, Taşlık ve Karabulut erkek incir çeşitlerine ait ağaçlardan alınan boğa meyveleri bu çalışmanın bitkisel materyalini oluşturmuştur. İncir meyvelerinden izole edilen gram pozitif ve gram negatif bakteri türleri ve yine incir meyvelerinden izole edilen *Fusarium* türleri çalışmanın mikrobiyal materyalini oluşturmuştur.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fungus Çalışmaları

Fungal etmenlerin izolasyonu ve saklanması: Laboratuvara getirilen erkek ve Sarılop incir meyveleri %2'lik NaOCl solüsyonunda 3 dakika bekletildikten sonra steril saf su ile durulanmış ve steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuştur. Kuruyan bu meyveler alevden geçirilmiş ve soğutulmuş steril bir bıçakla uzunlamasına kesilip makroskopik olarak incelenmiş hastalık belirtisi gösterenlerden steril bir pens ile küçük parçalar alınarak patates dekstroz agar (PDA) besiyerine ekim yapılmıştır. Petriler 23-24°C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası besiyerinde gelişen funguslar koloni şekli ve konidi yapısı dikkate alınarak incelenmiş *Fusarium* spp. olabileceği saptanan izolatlar PDA besiyerine saflaştırılmıştır. Saflaştırılan kültürler mikroskopik ve koloni karakteristikleri açısından incelenerek (Leslie ve Summerell, 2006) *Fusarium* spp. olarak tanılanmış ve Fong vd. (2000)'de belirtilen yöntemle göre steril kurutma kağıtları üzerinde +4 °C de saklanmıştır.

Funguslarda tek spor sayımı ve tek spor izolatu elde edilişi: Saflaştırılarak +4°C de saklanan fungus kültürleri PDA besiyerinde 48-72 saatlik süreyle geliştirildikten sonra tek spor eldesi çalışmalarına başlanmıştır. Bunun için fungus kolonisi üzerine mikropipetle 0.5-1 ml steril su konulmuştur. Koloninin yüzeyi sporların suya geçmesi için steril öze yardımıyla hafifçe karıştırılmıştır. Besiyerinden mikropipet ile alınan spor süspansiyonundan steril tween 80 içeren (% 0.05) damıtık su ile 1/10 seyreltme serisi hazırlanmış ve mikroskopta kan sayım aleti ile süspansiyonların mililitresindeki konidi sayısı belirlenmiştir. Konidi

süspansiyonu mililitresinde 1000 spor olacak şekilde ayarlanmış ve bu süspansiyondan 100 µl alınarak %1'lik su agarı bagetle ekim yapılmıştır. Yirmidört saat içinde besiyerleri mikroskopta incelenmiş ve tek spordan geliştiği gözlenen koloninin bulunduğu kısım mantar delici ile alınarak PDA besiyerine saflaştırılmıştır. Besiyerleri 24-25°C de inkubatörde geliştirildikten sonra kurutma kağıtları üzerinde geliştirilerek daha önce belirtilen yöntemle göre +4°C buzdolabında saklanmıştır.

Funguslarda Patojenisite testleri: *Fusarium* spp' e ait tek spor izolatlarının ilek arısı girmemiş boğa veya ilek meyvelerine inokulasyonu şeklinde yapılmıştır. Bunun için doğadan toplanan erkek incir meyveleri %1'lik NaOCl ile 3 dak. yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulup, steril su ile durulandıktan sonra kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuştur. Meyveler içine 1 x 1 cm lik gözleri olan steril tel elek yerleştirilmiş ve dibinde perlit bulunan otoklav edilmiş steril plastik kutulara yerleştirilmiştir (Şekil 3.1). Daha sonra 48-72 saatlik *Fusarium* spp. kültürlerinden mantar delici yardımıyla koloni kenarından alınan 0.5 cm çaplı agar plakları meyve üzerine konarak inokule edilmiştir. Her bir kaba, nispi nemi arttırmak üzere 200 ml damıtılmış su ilave edilmiştir. İnokule edilen meyveler 25°C'de 5 gün karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda lezyon büyüklükleri (en ve boy) ölçülmüştür. Lezyon boyutları aşağıda belirtilen skalaya göre; 0 mm²-patojenik olmayan, 1-50 mm² az virulent, 51-150 mm² orta derece virulent, 151-300 mm² virulent ve >300 mm² yüksek derecede virulent olarak değerlendirilmiştir (Moretti vd. 2010).



Şekil 3.1. Patojenisite testlerinin yapıldığı içinde tel kafes ve perlit bulunan plastik kutuya yerleştirilmiş boğa meyvelerin görünümü.

Fungal etmenlerin tanınması: *Fusarium* izolatlarının ön tanınması besiyerinde koloni gelişimi, havai miselyum, pigmentasyon gibi makroskopik ve konidiofor, makrokonidi ve mikrokonidi gibi mikroskopik özelliklerine dayanarak Nelson vd. (1983)'na göre yapılmıştır. *Fusarium* spp. olduğu belirlenen izolatların tek spor kültürlerinden DNA ekstraksiyonu yapılarak rDNA (ITS bölgesi) ve translation elongation factor 1- α (*tef-1 a*) genlerine ait baz dizileri esas alınarak moleküler yöntemler ile tanılamalar doğrulanmıştır. Bu amaçla öncelikle rDNA'a özgü evrensel ITS1/4 (White vd. 1990) daha sonra da *tef-1*'e özgü ef1/ef2 primerleri kullanılmıştır (O'Donnell vd. 1998).

Tek spor izolatlarından genomik DNA Cenis (1992)'e göre elde edilmiştir. Bu amaçla -80°C de saklanan fungal misel kitlesi içeren örnekler oda sıcaklığında çözündükten sonra her tüpe 300 μ l extraction buffer [200 mM Tris-HCl pH 8,5 250mM NaCl, 25 mM EDTA ve % 0,5 sodium dodecyl sulfate (SDS)] konularak 5 dakika homojenize edilmiştir. Tüpler 37°C'de gece boyu bekletildikten sonra her tüpe 150 μ l 3M sodium asetat (pH 5,2) eklenmiş ve karışım 10 dk 20 °C'de bekletilmiştir. Tüpler 13.000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildikten sonra supernatant yeni bir tüpe aktarılıp, üzerine eşit miktarda isopropanol ilave edilmiştir. Daha sonra 13.000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek DNA pellet haline getirilmiştir. Pellet % 70 ethanol ile yıkandıktan sonra 13.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant dökülerek tüpler steril kurutma kağıtları üzerinde ters çevrilerek steril kabin içinde 20 dk kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra 100 μ l T₁₀E₁ tamponunda (10mM Tris- Cl pH 8.0 +1mM EDTA) çözülmüş ve -20°C'de saklanmıştır.

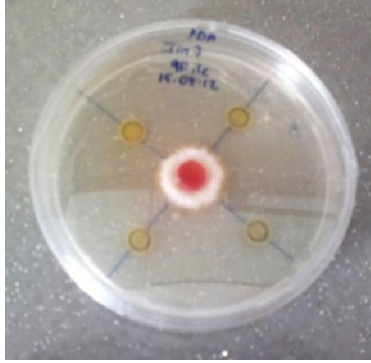
PCR analizi 40 μ l' lik hacim içinde, 10 x PCR tamponu (50mM KCl, 20mM Tris-HCl (pH 8.4), 2mM MgCl₂, 200 μ M deoxynucleoside triphosphates (dNTPs), 2 μ M primerler, 2U Taq polymerase (Fermentas) ve 4 μ l kalıp DNA örneği kullanılarak Eppendorph Mastercycler® Personal Thermocycler'da gerçekleştirilmiştir. DNA amplifikasyonu için PCR koşulları ITS1/4 için 55°C (White vd,1990), ef1/ef2 için 53°C (O'Donnell vd.1998) olacak şekilde 35 döngü ((94 °C 5 s, 55 veya 53°C 10 s, 72 °C 20 s) ve son olarak da 72°C'de 5 dakikada 1 döngü yapılarak yürütülmüştür. Elde edilen PCR ürünleri % 1.5 agaroz jelde yürütüldükten sonra etidyum bromür (%0.1) ile boyanarak UV transilliminator yardımı ile görüntülenmiştir. Her *Fusarium* spp. izolatına özgü PCR ürünü Macrogen (Kore) firmasına gönderilerek baz dizileri belirlenmiş daha sonra Gen Bankasındaki BLASTn programı yardımıyla benzerlik analizi yapılarak fungal izolatlar tanınmıştır.

3.2.2. Bakteri Çalışmaları

Bakterilerin izolasyonu ve saklanması: Laboratuara getirilen erkek ve Sarılop incir meyveleri %2'lik NaOCl solüsyonunda 3 dakika bekletildikten sonra steril saf su ile durulanmış ve steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuştur. Kuruyan bu meyveler alevden geçirilen bir bıçak ile uzunlamasına kesilmiş ve makroskobik olarak incelendikten sonra meyvelerden steril bir pens yardımıyla ostiole yakın yerden küçük bir parça alınmış içerisinde 5ml steril saf su olan cam tüpler içine konularak tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Oluşan süspansiyondan mikropipet yardımı ile 100µl alınıp King B besi ortamına baget ile ekim yapılmıştır. Süspansiyonlar endospor oluşturan gram pozitif bakterilerin izolasyonu için daha sonra 80°C'de 15 dakika ısı uygulamasına tabi tutulmuş ve her solüsyondan 100 µl alınıp baget ile besiyerine ekim yapılmıştır. Petriler 23-24 °C'de 2-3 gün inkübasyon sonrası King B besiyerinde saflaştırılmış ve %15-20 gliserin ve nutrient broth bulunan cryo tüplerde -80°C de saklanmıştır.

Tütünde aşırı duyarlılık testi: Bu test bakterilerin 24 saatlik nutrient agarda (NA) geliştirilen kültürlerinden 10^8 hücre/ml (McFarland 1) yoğunluğunda hazırlanmış bakteri süspansiyonlarının iklim odasında White Burley çeşidi tütün bitkisi yapraklarına enjekte edilerek yürütülmüştür. Yapraklarda 24-48 saat içerisinde inokulasyon noktasında derimsi, açık kahverengi nekroz belirtisi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Klement, 1963). Bu çalışmalarda *Pseudomonas syringae* pv *tomato* izolatu (Pt Denizli) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Bakterilerin *in vitro* antifungal aktivitelerinin saptanması: İzole edilen bakterilerin patojen *Fusarium* izolatlarına *in-vitro*'da engelleme zonu testleri ikili kültür yöntemine göre yapılmıştır. Testlenecek olan fungusu ait 1cm'lik agar plağı mantar delici yardımıyla çıkarılıp içerisinde PDA besiyeri bulunan petri kabının tam orta noktasına gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Daha sonra nutrient agar besiyerinde geliştirilen 24-48 saat'lik bakteri kültürlerinin steril su içindeki (10^8 hücre/ml, Macfarland-1) süspansiyonları hazırlanmış ve petri merkezinden eşit uzaklıktaki 4 ayrı noktaya mikropipetle 10 µl olacak şekilde ekim yapılmıştır (Şekil 3.2). Denemelerde kontrol amacıyla 4 ayrı noktaya da 10 µl steril su damlatılmıştır. Besiyerleri 24 °C de 7 gün boyunca inkübe edildikten sonra engelleme zonları ölçülerek Yüzde engelleme = $[\text{Kontrolde fungal koloni çapı} - \text{Bakteri ekili petrideki koloni çapı}] / \text{Kontrol petrideki koloni çapı}] \times 100$ formül yardımı ile yüzde engellemeler hesaplanmıştır..



Şekil 3.2. İkili kültür testleri için fungus ve bakteri ekimi yapılmış PDA besiyeri.

Antagonistik bakterilerin ilek arısına etkileri: İkili kültür testlerinde etkili bulunan (yaklaşık % 50 nin üzerinde engelleme zonu oluşturan 20 bakteri izolatu) antagonist bakterilerin (BB7-B4, Iin8, KB-1b-2, Fin7, Kaba-ilek B2 kuzey, BEB-10-B2T, Boğa-in1, Yanako ilek B2 batı, BEB-10-B2, KB-3B-2, Kaba-ilek B4 doğu, Kıbrıslı-ilek B1 Doğu, BEB-7T, BEB-1 B1, BEB-6 B1, Iin18, Yanako-ilek B1 kuzey, BEB-10 B1T, BEB-1 B2, BB7-B3,) ilek arısı çıkışına etkileri ilek arıcıklarının doğada boğa meyvelerinden çıkmaya başladığı (17/Nisan/2013) dönemde koparılmış meyveler kullanılarak testlenmiştir. Bunun için 24 saatlik kültürlerinden hazırlanan bakteri solüsyonları (10^9 hücre/ml) kapağında delik açılarak tülbent yapıştırılmış olan plastik kafeslerdeki (Şekil 3.3) boğa meyvelerine (her izolat için 3 meyve) ostiolden insülin şırıngası ile 100 µl verilerek uygulanmıştır. Kontrol amacıyla steril su kullanılmıştır. Kapakları kapatılan plastik kutular iklim odasında (24 ± 1 °C) 7 gün bekletilmiş ve bu süre sonunda kapaklar açılarak çıkan ilek arıcıkları sayılmıştır.



Şekil 3.3. Antagonist bakteri izolatlarının ilek arısının meyveden çıkışına etkisini belirlemek için boğa meyvelerinin bulunduğu kapağına tülbent yapıştırılmış plastik kutuların görünümü.

Antagonistik bakterilerin incir İç Çürüklüğüne etkileri: İlek arı çıkışına etkileri belirlenen 20 antagonist bakteri izolatı (BB7-B4, Iin8, KB-1b-2, Fin7, Kaba-ilek B2 kuzey, BEB-10-B2T, Boğa-in1, Yanako ilek B2 batı, BEB-10-B2, KB-3B-2, Kaba-ilek B4 doğu, Kıbrıslı-ilek B1 Doğu, BEB-7T, BEB-1 B1, BEB-6 B1, Iin18, KB 4b-2, BEB-10 B1T, BEB-1 B2, BB7-B3) Bozdoğan, Kızıldere ve Erbeyli İncir Araştırma İstasyonu erkek incir koleksiyon bahçesinden 24/11/2011 tarihinde toplanan erkek incir (boğa ve ilek) meyvelerinde İç Çürüklüğü hastalığına etkinlikleri araştırılmıştır. Bunun için koparılmış meyveler antagonist bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden hazırlanan bakteri süspansiyonlarına (10^9 hücre/ml) her uygulama için 3 meyve olacak şekilde 15 dakika süreyle daldırılmıştır. Bu denemelerde karşılaştırma ilacı olarak prokloraz (EC450) etkili maddeli Sportak (Bayer) ilacı kullanılmıştır. Bunun için ilek meyveleri fungusit süspansiyonlarına (1 litre suya 1 ml fungusit) 10 dakika süreyle daldırılmış ve steril kurutma kağıdında kurutulmuştur. Kontrol amacıyla steril su kullanılmıştır. Uygulama sonrası meyveler kuruduktan sonra patojenisite testlerinde olduğu gibi (KB1F *Fusarium verticillioides* izolatının 48-72 saatlik kültürü ile) inokule edilmiştir. İnokule edilen meyveler tel ızgaralar üzerinde nemli koşullarda iklim odasında inkube edilmiştir. İnokulasyondan 5-7 gün sonra meyveler incelenmiş ve lezyon çapları ölçülerek daha önce anlatıldığı şekilde değerlendirilmiştir.

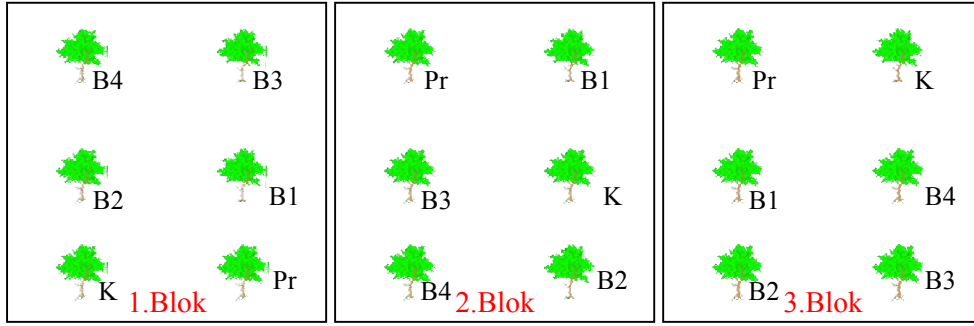
Bakterilerin tanılanması: *In vitro* ve meyve testlerinde etkili bulunan ve ilek arısına etkisiz olan bakteriler moleküler yöntem ile tanılanmıştır. Moleküler tanılama 16S rDNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltması ve baz dizilerinin belirlenerek gen bankasında analizi ile yapılmıştır.

Bakteriyel genomik DNA eldesinde Benlioğlu vd. (1998) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Bunun için 24 saatlik kültürlerden hazırlanan bakteri süspansiyonu ($OD_{620}=0,230$) içeren eppendorf tüpler 10.000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatantlar dökülmüştür. Pelletler üzerine 200 µl T₁₀E₁ (Tris-Cl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8.0) tamponu ile tekrar süspansiyon edilmiş ve 10.000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Pellet üzerine 200 µl lizis tamponu (0.01 M Tris-Cl (pH 8.0), 25 mM EDTA (pH 8.0), % 1.25 SDS) ilave edilmiştir. Pellet çözdürüldükten sonra 37°C'de gece boyu inkübe edilmiştir. Daha sonra 100 µl 7.5 M amonyum asetat ilave edilmiş ve tüpler 14.800 g'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar steril yeni eppendorf tüplere aktararak üzerine 300 µl isopropanol ilave edilmiş ve -20 °C'de 1 saat tutulmuştur. 14.800 g'de 25 dakika santrifüj edildikten sonra pelletler 600 µl % 70'lik etanol ile yıkanmıştır. Tüpler steril filtre kağıtları üzerinde ters çevrilerek 30 dakika kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra DNA 100 µl T₁₀E₁ tamponunda çözünerek -20 °C'e stoklanmıştır.

16S rDNA genlerini polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltmak amacıyla 27f (Weisburg vd, 1991) ve Univ-1390R (Zheng vd. 1996) primerleri kullanılmıştır. Her izolat için 40 µl PCR karışımı (10 x PCR tamponu 4 µl, MgCl₂ 2.4 µl, dNTP (herbirinden 10 mM) 0.8 µl, Primer 27f/1390R 0.4'er µl, Taq DNA polimeraz (Fermentas) 0.4 µl, kalıp DNA 4 µl, MQ su 27.6 µl) şeklinde hazırlanmıştır. Bakteriyel izolatlara özgü 16S rDNA parçaları PCR döngüleri 94 °C'de 3 dakika, 35 döngü (94 °C 5 s, 53°C 10 s, 72 °C 20 s) ve 72 °C'de 5 dakika son uzama safhası olmak üzere Eppendorph Mastercycler® Personal Thermocycler'da çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri % 1 agaroz jel elektroforezde yürütülmüş ve gel % 0.1 etidyum bromür ile boyanmıştır. PCR örnekleri sekans analizi için Macrogen (Kore) firmasına gönderilmiş ve saptanan diziler gen bankasından BLASTn analizi yapılarak bakteriyel izolatlar tanılanmıştır.

3.2.3. Bahçe Denemeleri

Denemeler Nazilli ilçesi Kızıldere köyünde 3 ve 5 yaşlı incir ağaçlarından kurulu bir bahçede yürütülmüştür. Deneme için arazi enine 3 bloğa ayrılmış ve her blokta mümkün olduğu kadar aynı boydaki incir ağaçları (6 adet) seçilmiştir. Her blokta karakterlerin dağılımı kura çekilerek yapılmış aşağıdaki örnekte (Şekil 3.4) gösterilen deneme planına göre ağaçlar yağlı boya ile işaretlenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.4. Nazilli Kızıldere köyünde İncir bahçesinde kurulan deneme planı (K-kontrol, Pr-prokloraz karşılaştırma ilacı, B1, B2, B3 ve B4 bakteri uygulamaları)

Yörede ileklerden arıcık çıkış zamanı dikkate alınarak uçuş başlamadan önce (19 Mayıs 2013) önceden işaretlenmiş incir ağaçlarının üzeri gözenek çapı ilek arıcıklarının giriş çıkışına engel olabilecek özellikte ve ağaç boylarına uygun ölçülerde çadır şeklinde dikilmiş tül örtülerle örtülmüştür (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Nazilli Kızıldere köyünde incir bahçesinde kurulan denemede ağaçların işaretlenmesi ve tül örtüler ile ağaçların örtülmesi (19,Mayıs,2013).

Yörede ilekleme zamanı dikkate alınarak Bozdoğan ilçesinde bir erkek incir bahçesinden 5 ağaçtan (Kaba ilek) toplam 150 adet ilek meyvesi toplanmıştır. Meyvelerde İç Çürüklüğü hastalığının varlığı ve *Fusarium* spp ile bulaşıklık durumunu belirlemek için tesadüfe göre 100 tanesi alınmış ve %70 etil alkolle yüzey dezenfeksiyonu yapılarak steril bıçakla kesilip görsel olarak İç Çürüklüğü belirtisi yönünden değerlendirilmiştir (11.06.2013). İlek meyvelerinde görsel olarak hastalık oranı %32 bulunmuştur. Görsel inceleme sonrası ilek meyvelerinin kalan bir yarısı patojenisite testlerinde olduğu gibi steril ızgara bulunan plastik kutulara yerleştirilmiş ve her meyvenin kesit yüzeyinde orta kısmına mikropipet ile 100µl otoklav edilmiş ve 45 °C ye kadar soğutulmuş asitleştirilmiş PDA kullanılarak agar damlatma tekniği (Michailides vd, 1994) ile incelenmiştir (Şekil 3.6). Meyveler 24±1 °C de iklim odasında 3-5 gün inkube edilmiş (11.06.2013) ve daha sonra agar parçaları incelenerek *Fusarium* spp ile yüzde bulaşıklılık belirlenmiştir. Agar drop tekniğine göre bulaşıklık oranı % 50 olarak bulunmuştur (16.06.2013).



Şekil 3.6. Bahçe denemelerinde kullanılan ilek meyvelerinin kesilerek incelenmesi ve *Fusarium* spp. bulaşıklılığının saptanması için agar damlatma yöntemi.

Deneme bahçesinde daha önceden işaretlenmiş ve tülle kapatılmış olan incir ağaçlarına testlenmiş olan erkek incirler kullanılarak bakteri ve fungusit uygulamaları yapıldıktan sonra her bir ağaca 2 adet ilek meyvesi olacak şekilde file içine konarak ağaçlara asılmıştır (12.06.2013).

Bakteri uygulamaları için daha önceki çalışmalarda İç Çürüklüğü hastalığı'na etkili bulunan ve ilek çıkışını engellemediği saptanan izolatlar içinden seçilen 4 bakteri izolatı [BB7-B4 (**B1**), Boğa-in1 (**B2**), Kaba-ilek B2 kuzey (**B3**), BEB-10-B2T (**B4**)] kullanılmıştır. Bu amaçla 24 saatlik kültürlerden hazırlanan bakteri süspansiyonları ($\sim 10^9$ hücre/ml) ilek meyvelerinin her birine 100 μ l olacak şekilde 12.06.2013 tarihinde şırınga ile ostiolden inokule edilmiştir (Şekil 3.7). Kontrol parsellerde asılacak ilek meyvelerine herhangi bir uygulama yapılmamış sadece steril su enjekte edilmiştir. Karşılaştırma amacıyla fungusit olarak prokloraz (EC 450) etkili maddeli Sportak (Bayer) ilacı kullanılmıştır (Doğan ve Benlioğlu, 2009). Bunun için ilek meyveleri fungusit solüsyonuna (1 litre suya 1ml fungusit) 10 dakika süreyle daldırılmıştır. Daha sonra fungusit süspansiyonundan çıkarılan meyveler steril kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuş ve denemede kullanılmıştır. İlekleme süreci 05.07.2013 tarihinde tamamlanmış ve bu tarihte ağaçlardaki tül çadırlar açılmıştır.



Şekil 3.7. Bahçe denemelerinde ileklemede kullanılan erkek incir meyvelerine şırınga ile bakteri uygulaması ve ilekleme (12.06.2013).

Sayım ve değerlendirmeler için 05.08.2013 tarihinde her ağacın 4 bir yönünden 25'er meyve olmak üzere 100 meyve toplanmıştır. Toplanan meyveler dış yüzeyine bakılarak ve sonra bıçakla iç kısmı kesilerek İç Çürüklüğü yönünden incelenmiştir. Sayım sonucunda hastalıklı görülen meyvelerden asitleştirilmiş (%25 lik süt asidinden 1 litre PDA ya 2.5 ml ilave edilmiş) PDA besiyeri kullanılarak izolasyon yapılmıştır (Şekil 3.8). Besiyerinde gelişen funguslar

saflaştırıldıktan sonra stoklanarak daha önce belirtilen yöntemler kullanılarak tanımlamaları yapılmıştır.

Bahçe denemelerinde ekşilik böceklerine karşı Nisan ayının ilk haftasından itibaren ilekleme zamanına kadar hazır ekşilik böceği tuzakları asılmıştır. Tuzaklar Erbeyli İncir Araştırma İstasyonundan temin edilmiştir. Tuzaklar ilekleme işlemi bittikten sonra tekrar asılmıştır. Bahçede diğer yetiştiricilik işlemleri (gübreleme vb.) üretici koşullarında yapılmıştır. Bahçede herhangi bir pestisit kullanılmamıştır.



Şekil 3.8. Laboratuvara getirilen hastalıklı sarılop incir meyvelerinden fungal etmenlerin izolasyonu.

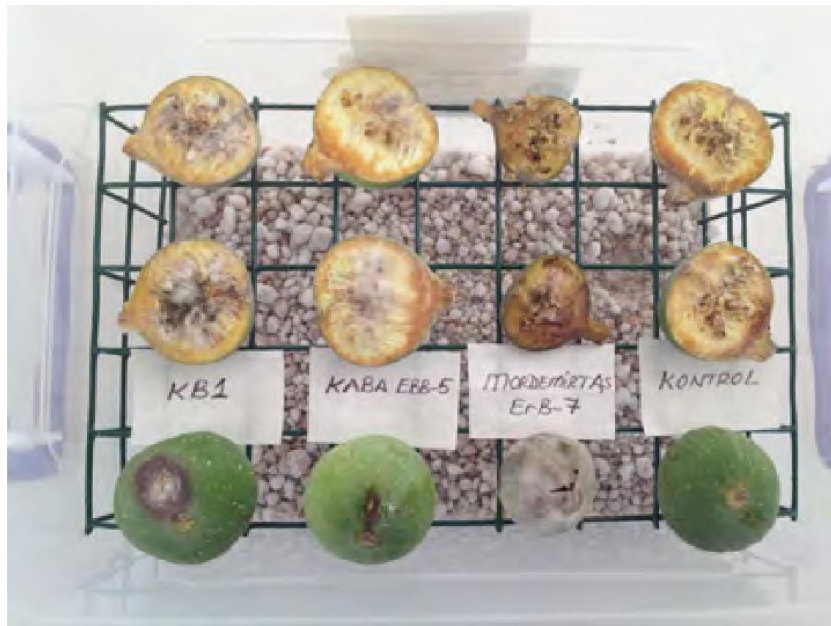
3.2.4. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Denemelerde yürütülen laboratuvar çalışmaları tesadüf parselleri deneme desenine göre antagonist bakterilerin belirlenmesi çalışmaları 4 tekerrürlü, patojenisite testleri 2 tekerrürlü, antagonist bakterilerin ilek arısına ve koparılmış meyvelerde İncir İç Çürüklüğü'ne etkinlik denemeleri 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Bahçe denemeleri tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Denemelerde elde edilen veriler JMP 5.0 (SAS Institute, Cary, NC, ABD) istatistik programı yardımıyla % 5 olasılık dikkate alınarak tek yönlü varyans analizi yapılmış, ortalamalar Asgari Önemli Fark testi (LSD) ile karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Fungus Çalışmaları

Tez çalışmasında İç Çürüklüğü'ne neden olan *Fusarium* türlerini belirlemek ve bakteriyel antagonistlerin etkinliğini saptamak amacıyla ilek üretiminin yoğun olarak yapıldığı Bozdoğan ilçesinden, ayrıca Nazilli ve Erbeyli İncir Araştırma İstasyonu koleksiyon bahçesinden erkek incir (Boğa ve İlek) ve Sarılop meyvelerinden yapılan izolasyonlar sonrası 57 *Fusarium* izolatu elde edilmiştir. Yapılan patojenisite testleri sonrası 37 izolat patojen bulunmuştur. Bu izolatlardan KB1, Kaba Erb-5 ve Mordemirtaş Erb-7 izolatlarının patojenisite sonuçları Şekil 4.1 de verilmiştir. Tüm izolatların patojenisite sonuçları Çizelge 4.1'de özetlenmiştir. Çizelge 4.1 incelendiğinde Boğa meyvelerinden izole edilen *Fusarium* türlerinin virülensi lezyon alanı olarak 2,40 mm² ile 64,98 mm² arasında değişirken Sarılop meyvelerinden izole edilenlerin virülensi 10,1 mm²- 25,3 mm² arasında bulunmuştur. Çalışmada sadece bir ilek meyvesinden patojen *Fusarium* elde edilmiş ve oluşturduğu lezyon alanı 8,75 mm² olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Erkek incir meyvelerinde yapılan patojenisite testi sonrası soldan itibaren KB1F, Kaba Erb-5, Mordemirtaş Erb-7 kodlu *Fusarium* izolatlarının meyve dışında ve içinde oluşturduğu belirtiler. En sağda kontrol meyvelerinin görünümü

Çizelge 4.1. Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen funguslar ve virülens değerleri

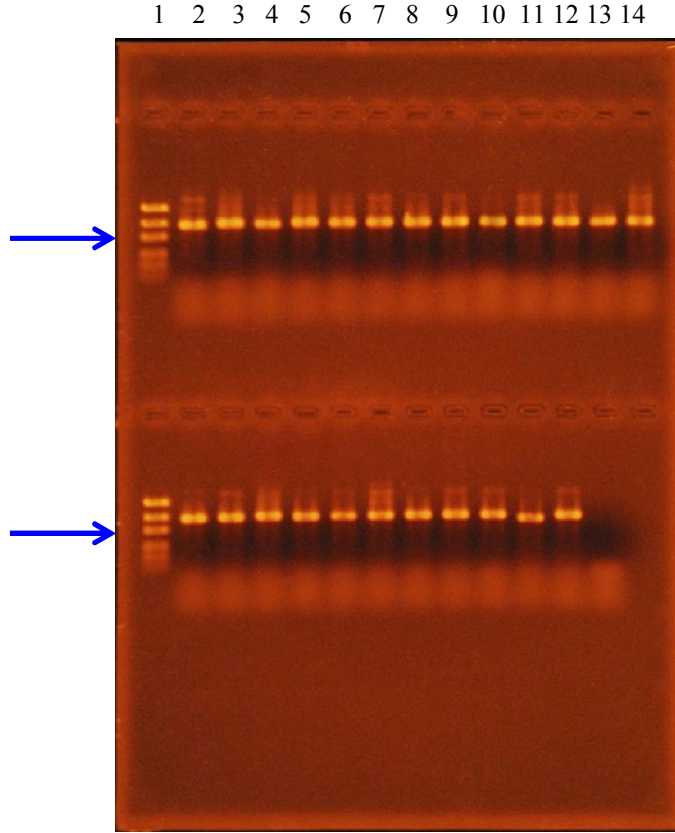
Sayı	İzolatlar	Alındığı Yer	Meyve türü	Lezyon alanı * (mm ²)
1	KB1F	Kızıldere	Boğa	64.98 a
2	BEB-9	Bozdoğan	Boğa	47.80 ab
3	BB9F	Bozdoğan	Boğa	46.65 ab
4	BB10F	Bozdoğan	Boğa	36.95 bc
5	Kaba ErB-6 F1	Bozdoğan	Boğa	27.00 bcd
6	Sarılop-8	Erbeyli	Boğa	25.60 bcd
7	Mordemirtaş ErB-7 F1	Kızıldere	Sarılop	25.30 bcd
8	BEB-12	Erbeyli	Boğa	23.80 bcd
9	Mordemirtaş ErB5 F1	Erbeyli	Boğa	19.95 cd
10	BB2F	Kızıldere	Sarılop	19.15 cd
11	Sarılop-7	Bozdoğan	Boğa	16.30 cd
12	Kıbrıslı 2 F1	Bozdoğan	Boğa	14.90 cd
13	BEB-13	Bozdoğan	Boğa	14.45 cd
14	Kaba ErB-5 F1	Kızıldere	Boğa	13.20 cd
15	Hamza ErB-15 F1	Erbeyli	Boğa	12.80 cd
16	BB3F	Kızıldere	Sarılop	11.75 cd
17	Kaba ErB-8 F1	Erbeyli	Boğa	10.80 cd
18	KB7F	Kızıldere	Sarılop	10.10 d
19	Kıbrıslı 3 F1	Erbeyli	Boğa	9.75 d
20	Sarılop-11	Erbeyli	Boğa	9.65 d
21	Çakın 1 ErB-4 F2	Bozdoğan	Boğa	9.60 cd
22	Karabulut ErB-2 F1	Kızıldere	Boğa	9.55 d
23	Sarılop-14-1	Bozdoğan	Boğa	9.30 d
24	Mordemirtaş ErB-8 F1	Kızıldere	Boğa	9.05 d
25	Çakın 1 ErB3 F1	Erbeyli	Boğa	8.85 d
26	BB13F-2	Erbeyli	İlek	8.75 d
27	Kıbrıslı 1 Doğu Boğa	Bozdoğan	Boğa	8.70 cd
28	KB4F	Bozdoğan	Boğa	8.65 d
29	BB5F	Erbeyli	Boğa	7.55 d
30	KB3F	Erbeyli	Boğa	7.50 d
31	Hamza ilek F1	Erbeyli	Boğa	7.40 d
32	BB11F	Erbeyli	Boğa	7.15 d
33	BB13F-1	Kızıldere	Boğa	7.05 d
34	KB5F	Erbeyli	Boğa	4.55 d
35	BB14F	Bozdoğan	Boğa	4.20 d
36	Yanako-2 ErB-12F1	Erbeyli	Boğa	4.00 d
37	BB12F	Bozdoğan	Boğa	2.40 d

* 2 tekrerrüt ortalamasıdır sütun içinde aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur (P<0,05) tek yönlü varyans analizi (Ek-1), LSD testi

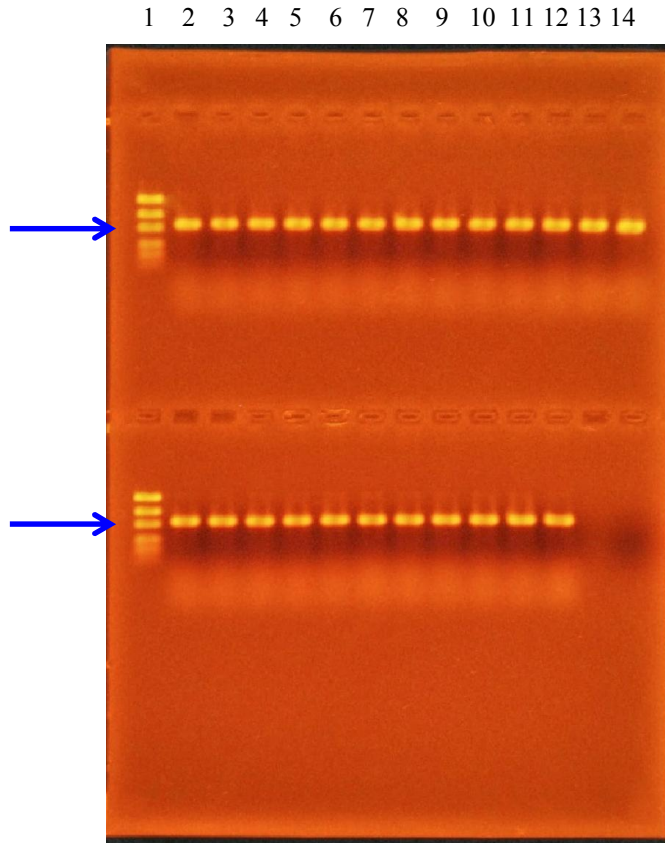
Çizelge 4.2. Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen ve patojen bulunan 37 *Fusarium* spp. izolatının *tef-1a* genine özgü ef1/ef2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLASTn analiz sonuçları

Sayı	İzolat No	DNA ng/ml	PCR ef1/ef2 ~700 bp	Maks. Benzerlik	Taksonomik sonuç
1	KB1F	114	+	99	<i>F. verticillioides</i>
2	BEB9	91	+	98	<i>F. proliferatum</i>
3	BB9F	121	+	100	<i>F. solani</i>
4	BB10F	61	+	99	<i>F. solani</i>
5	BB2F	173	+	99	<i>F. solani</i>
6	Kaba ErB6F1	19	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
7	Sarılop8	306	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
8	Mordemirtaş ErB7F1	68	+	99	<i>F. verticillioides</i>
9	Fig4	36	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
10	Sarılop7	78	+	99	<i>F. solani</i>
11	BEB13	44	+	99	<i>F. verticillioides</i>
12	BEB12	99	+	99	<i>F. proliferatum</i>
13	BB3F	96	+	99	<i>F. solani</i>
14	KB7F	54	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
15	Fig1	57	+	98	<i>F. proliferatum</i>
16	Sarılop11	96	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
17	Karabulut ErB2F1	71	+	98	<i>F. proliferatum</i>
18	Sarılop14/1	328	+	98	<i>F. solani</i>
19	Mordemirtaş ErB8F1	71	+	99	<i>F. verticillioides</i>
20	Fig3	38	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
21	BB13F1	172	+	99	<i>F. solani</i>
22	KB4F	85	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
23	BB5F	74	+	99	<i>F. proliferatum</i>
24	KB3F	45	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
25	Kıbrıslı 2F1	43	+	-	<i>F. solani</i>
26	Fig2	64	+	98	<i>F. verticillioides</i>
27	BB11F	30	+	97	<i>F. solani</i>
28	BB13F2	98	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
29	Kaba ErB5F1	47	+	98	<i>F. verticillioides</i>
30	Hamza ErB15F1	20	+	98	<i>F. verticillioides</i>
31	Kaba ErB8F1	52	+	99	<i>F. verticillioides</i>
32	Fig6	10	+	98	<i>F. solani</i>
33	KB5F	83	+	93	<i>F. solani</i>
34	Fig8	36	+	98	<i>F. solani</i>
35	BB14F	33	+	-	<i>Fusarium</i> sp.
36	Yanako ErB12F1	2	+	98	<i>F. verticillioides</i>
37	BB12F	740	+	99	<i>F. solani</i>

Bahçe denemelerinden önce izole edilen 37 *Fusarium* etmeni öncelikle ITS1 ve ITS4 primerleri ile çoğaltılmış (Şekil 4.2) ve elde edilen PCR ürünleri baz dizileri Gen Bankasında BLASTn ile analiz edilerek *Fusarium* cinsine ait olduğu saptanmıştır. Daha sonra *Fusarium* izolatları *tef-1a* genine özgü ef1/ef2 primerleri ile çoğaltılıp (Şekil 4.3) baz dizileri belirlendikten sonra yapılan BLASTn analizinde belirlenen *Fusarium* türleri Çizelge 4.2 de verilmiştir.



Şekil 4.2. Üstte ve altta ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 baz çiftini göstermektedir. 2-KB-1F, 3-BEB-9, 4-BB9F, 5-BB10F, 6-Kaba ErB-6 F1,7 Sarılop-8, 8-Mordemirtaş ErB-7 F1, 9-BEB-12, 10-Mordemirtaş ErB5 F1, 11 BB2F, 12-Sarılop-7, 13-Kıbrıslı 2 F1, 14-BEB; Altta 2-Kaba ErB-5 F1, 3-Hamza ErB-15 F1, 4-BB3F, 5-Kaba ErB-8 F1, 6-KB-7F, 7-Kıbrıslı 3 F1, 8-Sarılop-11, 9-Çakın 1 ErB-4 F2, 10-Karabulut ErB-2 F1, 11-Sarılop-14-1, 12-Mordemirtaş ErB-8 F1, 13-su



Şekil 4.3. Üstte ve altta ef1/ef2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 baz çiftini göstermektedir. 2-BB11F, 3-BB13F1, 4-BB13F2, 5-BB14F, 6-BB3F, 7-BB5F, 8-BEB12, 9-BEB13, 10-Fig1, 11-Fig2, 12-Fig3 , 13-Fig4, 14-Fig6; Altta 2-Fig8, 3-Hamza ErB15F1, 4-Kaba ErB5F1, 5-Kaba ErB8F1, 6-Karabulut ErB2F1, 7-KB3F, 8-KB4F, 9-KB5F, 10-KB7F, 11-Kıbrıslı 2F1, 12-Mordemirtaş ErB8F1, 13-su

Çizelge 4.2 de görüleceği gibi Gen Bankası veri tabanında BLASTn analizi sonrasında değerlendirilen İç Çürüklüğü etmenleri *Fusarium verticillioides*, *Fusarium solani*, *Fusarium proliferatum* ve *Fusarium* sp. olarak bulunmuştur. Testlenen 37 *Fusarium* izolatından 9'u *F. verticillioides*, 13'ü *F. solani*, 10'u *Fusarium* sp. ve 5 tanesi de *F. proliferatum* olarak tanılanmıştır. Moretti vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada İtalya'da Apulia bölgesinde incir alanlarından izole ettiği 126 *Fusarium* türünden 69'unu *Fusarium ramigenum*, 49'unu *Fusarium solani*, 5 tanesi de *Fusarium proliferatum* olarak tanılamışlar, kalan 3 tanesinin ise türünü belirleyememişlerdir. Subbarao ve Michailides (1993) İç Çürüklüğü hastalığı belirtisi gösteren kültüre alınmış ve yabancı erkek incirlerden toplam 62 izolat elde etmişler ve bunlardan 1 izolat *F. dimerum*, 7 izolat *F. solani* ve 54 izolat ise *F. moniliforme* olarak tanılamışlardır. Yıldız vd. (2008) 2000-2001 yıllarında Aydın ilinde Erbeyli İncir Araştırma İstasyonunda bulunan 10 farklı dişi incir çeşidinde İncir İç Çürüklüğü hastalığı'na neden olan 284 *Fusarium* spp. izolatı elde etmişlerdir. Elde edilen patojenik *Fusarium* izolatlarından 196'sı *F. verticillioides* ve 48'i *F. solani* olarak tanılanmıştır. Çalışmalarımızda *Fusarium ramigenum* ve *Fusarium dimerum*'a rastlanmamış, daha önce bölgemizde yapılan çalışmalara paralel olarak *F. verticillioides*, *F. solani* saptanmış, ayrıca *Fusarium proliferatumun*'da İç Çürüklüğü etmeni olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen fungusların virülensliklerine göre sınıflandırılması (Moretti vd. 2010)

Fusarium türleri	Lezyon alanı ve izolat sayısı		
	0 mm ²	1-50 mm ²	51-150 mm ²
<i>F.solani</i>		13	-
<i>Fusarium</i> sp.		10	-
<i>F. verticilloides</i>		8	1
<i>F. proliferatum</i>		5	-
Toplam izolat	20	36	1

Çizelge 4.3'deki lezyon büyüklüklerinin değerlendirildiği skalaya göre bahçe denemesinden önce elde edilen toplam 57 adet fungal izolattan, lezyon büyüklüğü 0 mm² olan 20 fungus patojen bulunmamıştır, Kalan 36 etmenin oluşturduğu lezyon alanları, 1-50 mm² arasında kalmış ve az virulent olarak değerlendirilmiştir. Geride kalan 1 *Fusarium* izolatu da 51- 150 mm² arasında lezyon oluşturarak orta derecede virulent olduğu tespit edilmiştir. Az virulent olan fungus türleri *Fusarium solani*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* ve *Fusarium* sp. dir. Orta derecede virulent olan fungus türü ise *Fusarium verticillioides* olarak bulunmuştur.

Subbarao ve Michailides (1993) kültüre alınmış ve yabani incirlerde hastalık belirtisi gösteren toplam 62 izolattan *Fusarium dimerum* izolatının orta derecede virulent, *Fusarium solani* izolatlarının virulent veya yüksek derecede virulent, *Fusarium moniliforme* izolatlarının yaklaşık %11'i avirulent, %67'si zayıf ya da orta derecede virulent, %22'sinin ise virulent ya da yüksek derecede virulent olduğunu tespit etmişlerdir.

Moretti vd. (2010) İtalya'nın Apulia bölgesinden toplamış oldukları 87 çürük incir meyvesinden elde ettikleri 126 *Fusarium* izolatından *Fusarium ramigenum*, *Fusarium solani* ve *Fusarium proliferatum* türlerini saptamışlardır. Her 3 türün de de patojen olduğu fakat virülensi en yüksek olan türün *Fusarium ramigenum* olduğu belirtilmiştir.

2000-2001 yıllarında Yıldız vd. (2008) Aydın İlinde Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsünde bulunan 10 farklı dişi incir çeşidinin 30 incir meyvesinden 284 *Fusarium* izolatu elde edilmiş elde edilen türlerden *F. verticillioides* izolatının %11.7'si virulent, %41.3'ü yüksek oranda virulent bulunurken bu oranlar *F. solani*

için sırasıyla %22.9 ve %29.2 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çeşit önemli olmaksızın *F. solani* izolatlarının virülensinin *F. verticillioides*'e göre önemli oranda daha yüksek olduğu da bulunmuştur.

Benlioğlu vd. (2004) Aydın İli'nde 1999-2003 tarihleri arasında yaptıkları çalışmada Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü erkek incir koleksiyon bahçesinde çeşitlere göre ilek meyvelerinde *Fusarium* spp. ile bulaşıklık oranı %10-90, ebe meyvelerinin %20-100, boğa meyvelerinin ise % 70-95 arasında değiştiğini, Aydın ili'ne ait bazı ilçelerde boğa meyvelerindeki bulaşıklığın %50-85 arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Benlioğlu vd. (2007) Aydın ilinde 2005 yılında 23 incir işletmesinden tesadüfe göre alınan toplam 97 örnekte yapılan analizde ortalama fungal bulaşıklık oranları *A. niger* %8.36, *A. flavus*, *A. parasiticus* için % 0.55, *Fusarium* spp. için de %0.44 olarak bulunmuştur.

4.2. Bakteri Çalışmaları

Çizelge 4.4. Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen bakterilerin ikili kültür sonuçları

Sayı	İzolatlar	Alındığı Yer	Meyve Türü	% Engelleme*		
				BB9F	BB10F	KB1F
1	BB7-B4	Bozdoğan	Boğa	94,03	91,30	68,29
2	İin8	Erbeyli	İlek	85,75	75,71	71,95
3	KB-1b-2	Kızıldere	Boğa	84,55	84,23	70,73
4	Fin7	Erbeyli	İlek	84,48	79,78	63,41
5	Kaba-ilek B2 kuzey	Erbeyli	İlek	78,26	77,94	67,68
6	BEB-10-B2T	Bozdoğan	Boğa	74,22	72,15	59,15
7	Boğa-in1	Sultanhisar	Boğa	73,45	74,29	73,17
8	Yanako ilek B2 batı	Erbeyli	İlek	73,11	73,48	60,98
9	BEB-10-B2	Bozdoğan	Boğa	72,44	70,35	56,10
10	KB-3B-2	Kızıldere	Boğa	71,82	71,35	58,54
11	Kaba-ilek B4 doğu	Erbeyli	İlek	71,43	71,33	73,17
12	Kıbrıslı-ilek B1 Doğu	Erbeyli	İlek	69,83	69,57	52,54
13	BEB-7T	Bozdoğan	Boğa	62,67	60,02	60,98
14	Fin6	Germencik	İlek	62,07	55,06	6,49
15	BEB-1 B1	Bozdoğan	Boğa	60,89	59,57	66,10
16	BEB-6 B1	Bozdoğan	Boğa	60,89	59,57	22,03
17	İin18	Erbeyli	İlek	60,34	61,80	52,54
18	Yanako ilek B1 kuzey	Erbeyli	İlek	59,42	60,29	3,46
19	BEB-10 B1T	Bozdoğan	Boğa	59,11	58,22	34,32
20	Yanako ilek B1T Kuzey M	Erbeyli	İlek	56,30	56,57	7,32
21	BEB-11B1	Bozdoğan	Boğa	53,78	55,53	28,81
22	BEB-7B1	Bozdoğan	Boğa	53,78	54,63	55,93
23	Karaerkek B2 ilek D	Erbeyli	İlek	52,94	52,62	52,12
24	Kıbrıslı Boğa 1	Erbeyli	Boğa	52,94	51,07	52,97
25	BEB-1 B2	Bozdoğan	Boğa	52,89	53,01	62,71
26	BB7-B3	Bozdoğan	Boğa	52,24	55,80	57,32
27	Yanako ilek B1T Kuzey	Erbeyli	İlek	52,10	53,22	7,32
28	Çakın iz B1 Güney	Erbeyli	İlek	50,86	52,17	29,66
29	KB 4b-2	Kızıldere	Boğa	50,00	49,73	50,00
30	KB-4bT1	Kızıldere	Boğa	50,00	47,12	41,46
31	Ser2	Karacasu	Sarılop	49,29	36,09	37,29
32	BB7-B1T	Bozdoğan	Boğa	49,25	52,90	56,44
33	ÜB1 B1	Üniv.Bahçe	Boğa	48,67	0,00	50,65
34	Ser1	Karacasu	Sarılop	46,92	35,50	5,08
35	ÜB4T	Üniv.Bahçe	Boğa	46,02	14,29	46,75
36	Ser3	Karacasu	Sarılop	45,97	33,73	13,14
37	İin1	Erbeyli	İlek	44,08	62,13	52,54
38	Ser5	Karacasu	Sarılop	44,08	31,95	34,32
39	Ser4	Karacasu	Sarılop	43,13	31,36	30,51
40	Yanako ilek B1 Doğu	Erbeyli	İlek	42,03	39,34	29,44
41	Hamza ilek B2 Batı	Erbeyli	İlek	38,66	39,40	38,56

42	Karaerkek B3 ilek Batı	Erbeyli	İlek	37,93	36,43	12,29
43	ÜB7-B1 BATI	Üniv.Bahçe	Boğa	29,58	56,52	12,80
44	Kıbrıslı İlek B3 2 Güney	Erbeyli	İlek	28,99	28,31	13,42
45	Çakın ilek B1 Doğu	Erbeyli	İlek	27,73	26,35	11,26
46	Taşlık ilek B1 1 Batı	Erbeyli	İlek	27,54	26,47	12,99
47	ÜB7-B2 BATI	Üniv.Bahçe	Boğa	23,94	55,12	23,17
48	BEB-6B2T	Bozdoğan	Boğa	22,67	24,71	26,27
49	BEB-10B3T	Bozdoğan	Boğa	20,89	26,33	8,90
50	İin13	Erbeyli	İlek	20,69	16,85	28,81
51	BB9-B1	Bozdoğan	Boğa	19,40	21,74	45,54
52	BB7-B1	Bozdoğan	Boğa	15,22	17,39	42,57
53	Hamza ilek B3 2 Kuzey	Erbeyli	İlek	15,22	13,38	0,00
54	BB7-B5	Bozdoğan	Boğa	14,93	18,12	65,35
55	BB7-B2	Bozdoğan	Boğa	14,63	15,94	56,44
56	BB7-B2T	Bozdoğan	Boğa	14,48	15,94	53,47
57	Hamza ilek B1Tgüney	Erbeyli	İlek	14,29	16,31	13,98
58	Kıbrıslı ilek B2 Batı	Erbeyli	İlek	13,04	11,76	0,00
59	Hamza ilek B3 1 Kuzey	Erbeyli	İlek	13,04	10,29	0,00
60	Kıbrıslı İlek B3 1 Güney	Erbeyli	İlek	13,04	10,29	0,00
61	Taşlık B3 İlek kuzey	Erbeyli	İlek	13,03	10,30	11,86
62	ÜB1-B2	Üniv.Bahçe	Boğa	12,68	52,31	14,63
63	İin9	Erbeyli	İlek	12,39	0,00	13,98
64	BB18-1B	Bozdoğan	Boğa	11,94	11,59	20,79
65	BB1-İZ	Bozdoğan	Boğa	11,94	11,59	8,91
66	Kaba ilek B3 Güney	Erbeyli	İlek	11,59	11,18	0,00
67	Hamza ilek B1 Güney	Erbeyli	İlek	11,59	8,82	0,00
68	İin10	Erbeyli	İlek	11,50	0,00	16,10
69	BS3	Erbeyli	Sarılop	11,06	20,00	15,25
70	IS6	Erbeyli	İlek	11,06	17,14	15,25
71	Yanako ilek B3 Güney	Erbeyli	İlek	10,87	10,66	0,00
72	Boğain2	Sultanhisar	Boğa	10,62	0,00	13,98
73	Fin2	Karacasu	Sarılop	10,34	39,33	10,82
74	İin16	Erbeyli	İlek	10,34	30,34	4,24
75	Fin7	Karacasu	Sarılop	10,34	28,09	40,25
76	Karaerkek B1 ilek Güney	Erbeyli	İlek	10,34	11,74	15,25
77	Fin4	Karacasu	Sarılop	10,34	7,87	11,26
78	Taşlık ilek B1 2 Batı	Erbeyli	İlek	10,14	10,29	0,00
79	IS4	Sultanhisar	İlek	9,73	17,14	12,71
80	BS1	Erbeyli	Sarılop	9,73	2,86	13,14
81	IS1	Sultanhisar	İlek	8,85	17,14	12,71
82	Hamza ilek B2 TBatı	Erbeyli	İlek	8,70	8,82	8,91
83	Bin4	Sultanhisar	Boğa	8,62	3,37	7,36
84	İlekin1	Sultanhisar	İlek	7,96	0,00	11,02
85	BEB-14B1	Bozdoğan	Boğa	7,56	5,66	5,93
86	Fin-9	Karacasu	Sarılop	7,11	26,63	11,86
87	ilekin3	Sultanhisar	İlek	7,08	0,00	5,93
88	Fin8	Karacasu	Sarılop	6,90	28,09	14,41
89	Fin3	Karacasu	Sarılop	6,90	26,40	6,49

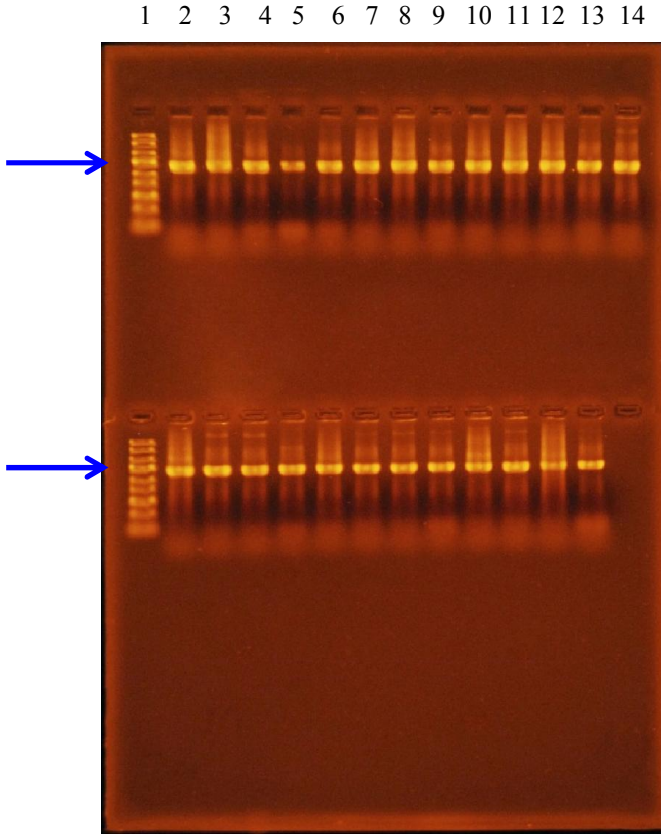
90	BEB-11B1T	Bozdoğan	Boğa	6,67	5,66	35,17
91	BEB-15B	Bozdoğan	Boğa	6,67	5,21	11,02
92	Kıbrıslı 2 Boğa BB kuzey	Erbeyli	Boğa	6,30	4,72	6,36
93	İin 6	Erbeyli	İlek	6,19	2,86	6,78
94	İin15	Erbeyli	İlek	6,16	28,99	22,03
95	Kaba ilek B1 Batı	Erbeyli	İlek	5,88	2,83	4,24
96	BEB-12B1	Bozdoğan	Boğa	5,78	4,76	11,26
97	BEB-10B1	Bozdoğan	Boğa	5,78	4,76	28,81
98	IS5	Sultanhisar	İlek	5,31	14,29	8,90
99	İin14	Erbeyli	İlek	5,17	7,87	11,26
100	BEB-11B2T	Bozdoğan	Boğa	4,89	3,86	42,37
101	BEB-6B1T	Bozdoğan	Boğa	4,89	2,70	15,25
102	BB6-3İZ	Bozdoğan	Boğa	4,63	8,84	18,81
103	Fin1	Karacasu	Sarılop	4,31	26,97	3,03
104	IS2	Erbeyli	Sarılop	4,27	27,81	13,42
105	Boğain3	Sultanhisar	Boğa	3,98	2,86	8,05
106	İin5	Erbeyli	İlek	3,98	1,43	7,20
107	KB-2bT	Kızıldere	Boğa	3,64	3,33	10,17
108	KB-4bT-2	Kızıldere	Boğa	3,64	2,52	8,90
109	Kıbrıslı ilek B2 T Batı	Erbeyli	İlek	3,45	3,48	20,34
110	İin 4	Erbeyli	İlek	2,84	2,96	5,25
111	KB-1b-1	Kızıldere	Boğa	2,73	2,43	8,47
112	İin11	Erbeyli	İlek	1,90	24,85	10,39
113	KB-3b-1	Kızıldere	Boğa	1,82	2,43	8,05
114	KB-1bT	Kızıldere	Boğa	1,82	1,80	7,63
115	Kıbrıslı Boğa 2 B2 Kuzey	Erbeyli	Boğa	1,72	1,22	13,56
116	İin17	Erbeyli	İlek	1,72	5,62	0,85
117	İlekin2	Sultanhisar	İlek	1,33	2,86	3,81
118	Yanako ilek B2 T Batı	Erbeyli	İlek	1,09	0,00	15,35
119	KB-4b-1	Kızıldere	Boğa	0,91	0,90	5,93
120	ilek-in-1-2	Sultanhisar	İlek	0,88	0,00	3,46
121	Kaba ilek B4 Tdoğu	Erbeyli	İlek	0,84	0,00	0,42
122	BB9-İZ	Bozdoğan	Boğa	0,30	2,46	12,87
123	Fin5	Karacasu	Sarılop	0,00	10,11	0,87
124	KB-3bT	Kızıldere	Boğa	0,00	0,00	5,93
125	BS4	Erbeyli	Sarılop	0,00	17,14	2,12
126	BB11-B1	Bozdoğan	Boğa	0,00	0,00	16,83
127	BB4-B2	Bozdoğan	Boğa	0,00	0,43	17,82
128	BB6-B1	Bozdoğan	Boğa	0,00	1,01	65,35
129	KB-2b	Kızıldere	Boğa	0,00	0,00	5,08
130	BB11-B2	Bozdoğan	Boğa	0,00	0,00	18,81
131	BS6	Erbeyli	Sarılop	0,00	8,57	0,00
132	BB8-B1	Bozdoğan	Boğa	0,00	0,00	14,85
133	BB6-2İZ	Bozdoğan	Boğa	0,00	0,00	24,75
134	BB9-B2	Bozdoğan	Boğa	0,00	0,00	20,79
135	BB4-B1	Bozdoğan	Boğa	0,00	0,00	17,82
136	BB7-B3T	Bozdoğan	Boğa	0,00	0,00	12,87
137	BS2	Erbeyli	Sarılop	4,27	31,46	13,42

138	Fin9	Karacasu	Sarılop	7,11	31,46	11,86
Korelasyon (BB9F / BB10F)				r= +0.91		
Korelasyon (BB9F / KB1F)				r= +0.72		
Korelasyon (BB10F / KB1F)				r= +0.67		

* 4 tekerrür ortalamasıdır.

Denemelerde izole edilen bakteriler 3 farklı *Fusarium* izolatına karşı ikili kültür testleri ile testlenmiş ve hesaplanan engelleme oranları Çizelge 4.4 de verilmiştir. Çizelgedeki veriler dikkate alındığında BB9F kodlu *Fusarium* izolatına karşı 30 izolat (BB7-B4, Iin8, KB-1b-2, Fin7, Kaba-ilek B2 kuzey, BEB-10-B2T, Boğain1, Yanako ilek B2 batı, BEB-10-B2, KB-3B-2, Kaba-ilek B4 doğu, Kıbrıslı-ilek B1 Doğu, BEB-7T, Fin6, BEB-1 B1, BEB-6 B1, Iin18, Yanako-ilek B1 kuzey, BEB-10 B1T, BEB-1 B2, Yanako ilek B1T Kuzey M, BEB11-B1, BEB-7B1, Karaerkek B2 ilek D, Kıbrıslı Boğa 1, BB7-B3, Yanako ilek B1T Kuzey, Çakın iz B1 Güney, KB 4b-2, KB-4bT1) %50 nin üzerinde engelleme zonu oluşturmuştur. BB10F kodlu *Fusarium* izolatına karşı yukarıdaki bakterilerden ilk 28'i dışında 5 izolat (BB7-B1T, Iin12, ÜB7-B1 BATI, ÜB7-B2 BATI, ÜB1-B2) daha %50'nin üzerinde engelleme zonu oluşturmuştur. KB1F kodlu izolata karşı ise 30 izolattan 9'u hariç %50'nin üzerinde engelleme zonu oluşturmuştur. Bunların dışında ise diğer izolatlardan 7 tanesinin de KB1F ye karşı engelleme zonu oluşturduğu görülmüştür. Yapılan moleküler testlerde BB9F ve BB10F izolatları *Fusarium solani*, KB1F izolatı *Fusarium verticillioides* olarak tanılanmıştır. Farklı izolat ve farklı türler olmakla birlikte aynı antagonistik bakteriler benzer oranda engelleme zonu oluşturmuşlardır. Testlenen 138 bakteri izolatının 3 *Fusarium* izolatına karşı elde edilen engelleme zonları dikkate alınarak yapılan korelasyon analizinde istatistiki olarak önemli bir ilişki saptanmıştır. Bu pozitif ilişki aynı tür olan BB9F ve BB10F arasında $r=0.9$, farklı tür olan BB9F-KB1F, BB10F-KB1F arasında sırasıyla $r=0.72$ ve $r=0.67$ olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.5 de erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen 30 bakteri izolatının DNA miktarları 21.4 ile 750 ng/ml arasında değişmektedir. Evrensel 16S rDNA primerleri kullanılarak yaklaşık 1470 bp 16S rDNA gen parçası PCR ile çoğaltılmıştır (Şekil 4.4). Elde edilen PCR ürünlerini baz dizileri belirlendikten sonra Gen Bankasındaki veriler ile yapılan BLASTn analizi sonrası 30 bakteri izolatının 19'u *Pseudomonas* sp., 4'ü *Serratia* sp., 2'si *Pantoea* sp., 3'ü *Serratia marcescens*, ve 2'si *Paenibacillus* sp olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4 Üstte ve altta 27F/1390R primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 1500 baz çiftini göstermektedir. 2-BB7-B4, 3-BB7-B2, 4-BB7-B2T, 5-BB7-B3, 6-BB7-B5, 7-BEB-10-B2, 8-BEB-10-B2T, 9-BEB-11B1, 10-BEB-1 B1, 11-BEB-1 B2, 12-BEB-6 B1, 13-BEB-7B1, 14-BEB-7T; Altta 2-Çakm iz B1 Güney, 3-Fin7, 4-Iin1, 5-Iin18, 6-Iin8, 7-Kaba-ilek B4 doğu, 8-KB-1b-2, 9-KB-3B-2, 10-KB 4b-2, 11-Kıbrıslı-ilek B1 Doğu, 12-ÜB1 B1, 13-Yanako-ilek B1 kuzey, 14-su

Çizelge 4.5 Erkek ve Sarılop incir meyvelerinden izole edilen yüzde ellinin üzerinde engelleme zonu oluşturan 30 bakteri izolatının 16s rDNA geni sekans analizine göre gen bankasında (NCBI) yapılan BLASTn analiz sonuçları

Sayı	İzolat No	DNA Miktarı (ng/ml)	PCR 27F/139R 1500 bp	Max. Benzerlik	Taksonomik Sonuçlar
1	BB7-B4	75	+	99	<i>Pseudomonas</i> sp.
2	İin8	189	+	100	<i>Pseudomonas</i> sp.
3	KB-1b-2	173	+	99	<i>Pseudomonas</i> sp.
4	Fin7	127	+	72	<i>Serratia marcescens</i>
5	Kaba-ilek B2 kuzey	83	+		<i>Serratia</i> sp.
6	BEB-10-B2T	171	+	100	<i>Pseudomonas</i> spp
7	Boğa-in1	157	+		<i>Pantoea</i> sp.
8	Yanako ilek B2 batı	110	+		<i>Pseudomonas</i> sp.
9	BEB-10-B2	87	+	100	<i>Pseudomonas</i> sp.
10	KB-3B-2	96	+	97	<i>Pseudomonas</i> sp.
11	Kaba-ilek B4 doğu	85	+	98	<i>Pseudomonas</i> sp.
12	Kıbrıslı-ilek B1 Doğu	114	+	100	<i>Pseudomonas</i> sp.
13	BEB-7T	103	+	100	<i>Paenibacillus</i> sp.
14	BEB-1 B1	97	+	82	<i>Pseudomonas</i> sp.
15	BEB-6 B1	124	+	66	<i>Serratia</i> sp.
16	İin18	123	+	100	<i>Pseudomonas</i> sp.
17	BEB-10 B1T	109	+		<i>Paenibacillus</i> sp.
18	Yanako-ilek B1 kuzey	102	+	65	<i>Serratia</i> sp.
19	BB7-B3	79	+	100	<i>Pseudomonas</i> sp.
20	BEB-1 B2	21	+	98	<i>Pseudomonas</i> sp.
21	BEB11-B1	134	+	98	<i>Serratia marcescens</i>
22	BEB-7B1	141	+	99	<i>Pseudomonas</i> sp.
23	Kıbrıslı Boğa 1	96	+		<i>Pantoea</i> sp.
24	İin1	39	+	100	<i>Pseudomonas</i> sp.
25	Çakın iz B1 Güney	298	+	97	<i>Serratia marcessens</i>
26	KB-4b-2	321	+	100	<i>Pseudomonas</i> sp.
27	ÜB1 B1	538	+	100	<i>Serratia</i> sp.
28	BB7-B5	750	+	100	<i>Pseuodomonas</i> sp.
29	BB7-B2	80	+	79	<i>Pseuodomonas</i> sp.
30	BB7-B2T	92	+	80	<i>Pseuodomonas</i> sp.

Grimont ve Grimont, (2005) yaptıkları çalışmada İncirlerde yoğun olarak bulunan bakteri türünün *Serratia* cinsine ait olduğunu *Serratia* türleri içinde pigment oluşturmayan ya da kırmızı veya yeşil renkli pigment oluşturan bakterilerin erkek incir, ilek arıları ve sarılop meyvelerinden izole edilebildiğini bildirmişlerdir. Bu türlerin çoğunluğunu *Serratia marcescens* ve *S. ficaria*'nın oluşturduğunu belirtmişlerdir.

623 bitki örneğinde *Serratia* türlerinin varlığının sistematik olarak incelendiği bir çalışmada Grimont vd, (1981) 167 *Serratia* ırkı izole etmiş tür ve biyogruplarını belirlemişlerdir. İncir ve hindistan cevizinde oldukça uniform ve karakteristik *Serratia* populasyonları bulmuşlardır. ABD Kaliforniya, Tunus ve Fransa'dan toplanan incir meyvelerinin bir çoğunda *Serratia ficaria* izole edilmiş, ayrıca incirde *S. marcescens*'in çeşitli biyotipleri de bulunmuştur.

İmamoğlu (2008), incir ve çekirdeksiz üzümde hasat öncesi mikotoksin oluşumunun azaltılmasına yönelik kitosinaz aktivitesi yüksek olan *Bacillus* izolatlarının belirlenmesi amacıyla çeşitli kaynaklardan yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda 508 tane *Bacillus* izolatu elde etmiştir. *Aspergillus niger* EGE-KL-213, *Aspergillus foetidus* EGE-KL-211, *Aspergillus ochraceus* EGE-K-217 ve *Fusarium solani* KCTC 6328 test küflerine karşı kitosinaz aktivitesi ve enzimatik indeks değerine göre seçilen 18 *Bacillus* izolatınının antagonistik özelliklerini incelemiş ve hepsinde antagonist aktivite saptamıştır.

Fusarium verticillioides, İncirde İç Çürüklüğü hastalığının yanı sıra mısırı infekte eden tohum yoluyla bulaşan önemli bir patojendir. Cavaglieri vd. (2005) *Fusarium verticillioides*'in gelişimi, fumonisin B1 üretimine etkisi ve sera koşullarında *Fusarium verticillioides*'in kök kolonizasyonu üzerine *Arthrobacter globiformis* (RC5) ve *Azotobacter armeniacus* (RC2)'un bakteriyel inokulum düzeylerinin etkilerini araştırmışlardır. Her iki bakteri izolatu tek başına ya da karışım olarak *in vitro* ortamda fumonisin B1'in oluşumunu baskılamış ve *Fusarium verticillioides*'in gelişimi üzerinde önemli bir etki göstermiştir. Sera koşullarında ise sadece *Azotobacter armeniacus* toprağa 10^6 ve 10^7 cfu/g düzeyinde uygulandığında *Fusarium verticillioides*'in kök kolonizasyonunda önemli bir azalma saptanmıştır.

Rosales ve Mew, (1997) *Fusarium moniliforme*'nin çeltikte bakteriyel antagonistlerin etkisini araştırdıkları çalışmada 440 bakteriyel izolattan 113 tanesinin patojenin miseliyal gelişimini engellediğini saptamışlar ve antagonistlerin bazılarının aynı zamanda tohum çimlenmesini engellediğini, bazılarının ise gelişmeyi teşvik ettiğini bildirmişlerdir.

Çalışmalarda in vitro testlerde yüksek engelleme zonu oluşturan 20 antagonistik bakteri izolatının ilek meyvelerindeki arı çıkışına olan etkileri Çizelge 4.6 da özetlenmiştir. İlek meyvelerinde en fazla ilek arısı çıkışı BB7-B3 bakterisi uygulamasında olmuştur. Sadece su uygulaması yapılan kontrol ilek meyvelerinde ortalama 81.67 adet arı çıkışı saptanırken 5 bakteri (Kaba-ilek B2 kuzey, İin18, BB7-B4, Boğa-in1, Kıbrıslı-ilek B1 Doğu) izolatu uygulamasında sırasıyla ortalama 131.33, 105.00, 101.00, 92.00, 82.00 adet arı çıkışı belirlenmiştir. Testlenen antagonist bakteriler içerisinde 7 bakteri izolatu da kontrol ile aynı grupta yer alan ancak kontrolden daha az sayıda ortalama arı çıkışı sağlamıştır. Denemelerde en az arı çıkışı BEB 1-B2, Fin 7, Yanako ilek B1 Kuzey, İin8, Kaba İlek B4 Doğu, BEB10 B1T ve Yanako ilek B2 batı bakteri uygulamalarından elde edilmiştir.

Çizelge 4.6. Antagonist bakterilerin (20 adet) ilek arı çıkışına etkileri

İzolat No	Arı sayısı*
BB7-B3	388.50 a
Kaba-ilek B2 kuzey	131.33 b
İin18	105.00 bc
BB7-B4	101.00 bc
Boğa-in1	92.00 bc
Kıbrıslı-ilek B1 Doğu	82.00 bc
Kontrol	81.67 bc
KB-1b-2	81.00 bc
BEB-10-B2	79.67 bc
BEB-10-B2T	73.33 bc
BEB-6 B1	61.50 bc
BEB-1 B1	50.67 bc
KB-3B-2	39.33 bc
BEB-7T	31.00 bc
BEB-1 B2	26.00 c
Fin7	22.33 c
Yanako-ilek B1 kuzey	22.00 c
İin8	20.33 c
Kaba-ilek B4 doğu	18.67 c
BEB-10 B1T	16.50 c
Yanako ilek B2 batı	10,67 c

* 3 tekrerr ortalamasıdır s ütun içinde aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur (P<0,05) tek yönlü varyans analizi (Ek-2), LSD testi.

Bahçe denemelerinde en uygun antagonist bakteri izolatını belirlemek amacıyla en virulent *Fusarium* izolatına (KB1F, *Fusarium verticilloides*) karşı 20 bakterinin etkinliği meyvelerde patojenisite testleriyle incelenmiştir. Bakteri süspansiyonuna daldırılan ilek meyvelerine agar diskleri konrak yapılan çalışmada elde edilen bulgular Çizelge 4.7 de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Antagonist bakterilerin (20 adet) koparılmış ilek incir meyvelerinde İncir İç Çürüklüğü etmeni *Fusarium verticilliodies*'e (KB1F)' etkileri

İzolat No	Lezyon alanı (mm ²)	Yüzde etki
Boğa-in1	0.61 a	99.06
Prokloraz	0.63 a	99.03
Kaba-ilek B4 doğu	0.76 ab	98.83
KB-1b-2	1.55 abc	97.61
Iin8	1.58 abc	97.57
BB7-B4	1.98 abc	96.95
Kaba-ilek B2 kuzey	2.44 abcd	96.24
Fin7	2.80 abcd	95.69
BEB-1 B1	2.85 abcd	95.61
Yanako ilek B2 batı	3.12 abcd	95.19
BEB-7T	3.38 bcde	94.79
BEB-10-B2T	4.19 cdef	93.55
KB-3B-2	4.89 defg	92.47
BEB-10-B2	5.96 efg	90.82
Yanako –ilek B1 kuzey	6.18 fg	90.48
BEB-1 B2	6.84 fg	89.46
Kıbrıslı-ilek B1 Doğu	7.20 g	88.91
Iin18	7.43 g	88.56
BEB-10 B1T	13.12 h	79.79
BEB-6 B1	23.91 ı	63.17
BB7-B3	24.42 ı	62.38
KONTROL	64.92 j	

* 3 tekerrür ortalamasıdır sütun içinde aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur (P<0,05) tek yönlü varyans analizi (Ek-3), LSD testi.

Çizelge 4.7 değerlendirildiğinde Boğa-in1 ve prokloraz en düşük lezyon alanı (0.61-0.63mm²) ile ayrı bir grup oluşturmuştur. Bu bakterileri sırasıyla Kaba-ilek B4 doğu, KB-1b-2, Iin8, BB7-B4, Kaba-ilek B2 kuzey, Fin7, BEB-1 B1 ve Yanako ilek B2 batı izlemiştir. Antagonist bakteriler incir meyvelerine uygulandığında genel olarak *Fusarium verticilliodies*'i (KB1F) engellediği ve bu etkinin %79 ile 99 arasında değiştiği saptanmıştır. En düşük etkiler ise BB7-B3, BEB-6 B1, BEB-10 B1T uygulamalarından alınmıştır. Koparılmış meyvelerde

KB1F *Fusarium verticillioides*'e karşı en yüksek etki gösteren bakteri izolatlarının (Boğa-in1,) *in vitro* koşullarda fungusun miselyal gelişimini etkileme oranları da %60,98 ile %73,17 arasında bulunmuştur (Çizelge 4.4). Bu izolatlardan arı çıkışına etkisiz olan izolatlar ise Boğa-in1, KB-1b-2, BB7-B4, Kaba-ilek B2 kuzey ve BEB-1 B1 olduğu dikkati çekmiştir (Çizelge 4.6). Tüm bu veriler değerlendirilerek Boğa-in1, BB7-B4, Kaba-ilek B2 kuzey ve BEB-10-B2T izolatlarının doğada yürütülecek bahçe denemelerinde kullanılmasına karar verilmiştir.

Michailides vd. (2005) tarafından 2000 ve 2001 yıllarında yürüttükleri bir çalışmada, boğa meyveleri ikiye kesilerek daldırma ve püskürtme yöntemi kullanarak 5 farklı (1-sanitasyona tabi tutulan kontrol meyveleri, 2-thiophanatemethyl+ chlorothalonil+dichloran+ %5,25 NaOCl karışımından oluşan ticari standart fungusit, 3-azoxystrobin, 4-tebuconazole, 5-fludioxonil) uygulamanın İncir İç Çürüklüğü'ne etkileri araştırılmıştır. Buna göre 2000 yılında yapılan testlerde kullanılan tüm yeni fungusitlerin, İç Çürüklüğü hastalığı'nı uygulama görmeyen kontrol meyvelerine göre azalttığı, ancak hiçbirisinin standart ticari preparat olan thiophanate-methyl + chlorothalonil + dichloran+ %5,25 NaOCl kombinasyonu kadar performans göstermediğini belirtmişlerdir. Azoxystrobin dışında, denemeye alınan diğer fungusitlerin, genel olarak daldırma yönteminde sprey uygulamasına göre daha etkin olduğu, her iki yöntemde İç Çürüklüğü hastalık yoğunluğunun %39 ile %50 arasında değiştiği belirtilmiştir. Aynı çalışma kapsamında 2001 yılında farklı 3 deneme kurulmuştur. Yaptıkları 3 çalışmadan birincisi laboratuvar denemesi olup diğer ikisinin de ise bahçe denemesi yapılmıştır. Birinci denemede, boğa meyveleri yine kesilerek daldırma yöntemi uygulanmıştır. Bu uygulamada 2000 yılındaki uygulamalara ilave olarak, cyprodinil+ fludioxonil karışımı propiconazole ve sanitasyona tabi tutulmayan meyveler kontrol olarak kullanılmıştır. Bu deneme sonucunda Roeding 3 erkek incir çeşidine ait boğa meyvelerine uygulanan tüm fungusit uygulamaları standart ticari fungusit (thiophanate-methyl + chlorothalonil + dichloron) ile birlikte İç Çürüklüğü oranını düşürmüştür, tebuconazole ve propiconazole burada en etkili iki fungusit olmuştur. Sanitasyona tabi tutulan kontrol meyvelerdeki hastalık oranı, sanitasyona tabi tutulmamış kontrol meyvelerindeki hastalık oranı ile benzer bulunmuştur. Standart ticari preparat uygulaması yine en az hastalık oranına sahip uygulama olmuştur. Bununla birlikte bu denemede sanitasyonun kullanılması en

az yeni fungusitler (tebuconazole ve fludioxonil) kadar veya onlardan daha etkili olduğu da tespit edilmiştir.

Doğan (2009), Temiz ilek meyvesi elde etmek amacıyla üç yıl süresince boğa meyvelerinin fungusit solüsyonuna (thiophanate-methyl, thiophanate-methyl + chlorothalonil, cyprodinil, fludioxonil, cyprodinil + fludioxonil, prokloraz, tebuconazole) daldırılmasıyla yapılan laboratuvar denemelerinde, prokloraz *Fusarium spp.*'nin azaltılmasında en etkili fungusit olarak saptanmıştır.

4.3. Bahçe Denemeleri

Bahçe denemelerinde 11.06.2013 tarihinde ilekleme amacıyla Aydın İli Bozdoğan İlçesi erkek incir bahçesinden 5 ayrı ağaçtan toplam 150 ilek meyvesi toplanmıştır. Bu meyvelerden 100 adedi steril bir bıçakla kesilerek yapılan görsel incelemede %32'sinin hastalık belirtisi gösterdiği belirlenmiştir. İncelenen 100 meyve yarısında agar-damlatma tekniği ile testlenme sonrasında bulaşıklılık oranı %50 bulunmuştur. Bu meyvelerden alınan 3 adet hastalıklı ilek meyvesinde izolasyon ve tanı çalışmaları yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.8 de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Deneme bahçesinde kullanılan ilek meyvelerinden izole edilen funguslar ve patojenisite sonuçları

İzolat No	Tür	Karakter	Lezyon alanı mm ^{2*}
Fs 9/7	<i>F. proliferatum</i>	Agar-drop ilek 8	3,65
Fs 9/8	<i>F. solani</i>	Agar-drop ilek 5	7,10
Fs 9/9	<i>F. solani</i>	Agar-drop ilek 1	2,55

Bu şekilde incelenen ilek meyveleri tesadüfi olarak 4 antagonist bakteri, karşılaştırma ilacı olan prokloraz etkili maddeli Sportak fungusiti ve kontrol olarak su uygulamalarından sonra 12.06.2013 tarihinde ağaçlara (her ağaca 2 adet) asılmış ve ağaçlar tekrar tülle kapatılmıştır. Sarılop incirlerin olgunlaşma başlangıcından itibaren 5.08.2013 - 4.09.2013 tarihleri arasında 5 defa bahçede olgunlaşan incir meyveleri incelenmiş ve hastalıklı olanlar kaydedilerek yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen bulgular Çizelge 4.9 ve 4.10 da verilmiştir. Şekil 4.4 de deneme bahçesinde Sarılop çeşiti incir ağacında sağlıklı ve hastalıklı meyveleri, Şekil 4.5 de deneme bahçesinden toplanan hastalıklı ve sağlıklı incir meyve kesitlerinin fotoğrafı görülmektedir.



Şekil 4.5. Deneme bahçesinde uygulamalardan sonra 5.8.2014 tarihinde yapılan sayımlarda kontrol parsellerden birindeki incir ağacında hastalıklı ve sağlıklı Sarılop meyvelerinin görünümü



Şekil 4.6. Deneme bahçesinde uygulamalardan sonra 5.8.2014 tarihinde yapılan sayımlarda bakteri uygulanmış parsellerden alınan sağlıklı (solda) ve kontrol uygulamalarda alınan hastalıklı (sağda) meyvelerin görünümü

Çizelge 4.9. Deneme bahçesinde yapılan çalışmalarda sarılop ve ilek incir meyvelerinden izole edilen funguslar ve patojenisite sonuçları

İzolot No	Türler	Blok	Karakter	Lezyon alanı (mm ²)
Fs 8/17	<i>F. proliferatum</i>	II	B2	3.80
Fs 8/13	<i>F. proliferatum</i>	II	Tülsüz	4.25
Fs 8/15	<i>F. proliferatum</i>	II	Kontrol	4.40
Fs 9/3	<i>F. proliferatum</i>	III	B1	4.95
Fs 8/12	<i>F. proliferatum</i>	II	Tülsüz	5.25
Fs 9/1	<i>F. proliferatum</i>	III	Tülsüz	5.25
Fs 8/14	<i>F. proliferatum</i>	II	Tülsüz	6.45
Fs 8/16	<i>F. proliferatum</i>	II	Kontrol	6.75
Fs 9/4	<i>F. proliferatum</i>	III	B2	30.2
Fs 8/18	<i>F. solani</i>	II	B3	3.55
Fs 8/20	<i>F. solani</i>	II	B3	4.35
Fs8/4	<i>F. solani</i>	I	Kontrol	4.65
Fs 8/10	<i>F. solani</i>	I	B1	4.70
Fs 8/23	<i>F. solani</i>	III	Tülsüz	4.70
Fs 8/24	<i>F. solani</i>	III	Tülsüz	5.40
Fs 8/22	<i>F. solani</i>	III	Tülsüz	5.75
Fs 8/19	<i>F. solani</i>	II	B3	6.35
Fs 8/9	<i>F. solani</i>	I	B3	6.46
Fs 8/7	<i>F. solani</i>	I	B2	7.55
Fs8/5	<i>F. solani</i>	I	Kontrol	9.45
Fs 9/2	<i>F. solani</i>	III	Tülsüz	10.00
Fs 8/8	<i>F. solani</i>	III	B3	10.15
Fs 8/21	<i>F. solani</i>	II	B3	22.35
Fs 8/6	<i>F. solani</i>	I	Kontrol	52.90
Fs 9/6	<i>Fusarium sp.</i>	III	B1	6.60
Fs8/3	<i>Fusarium sp.</i>	I	Kontrol	8.00
Fs 8/11	<i>Fusarium sp.</i>	II	Tülsüz	8.60
Fs 9/5	<i>Fusarium sp.</i>	III	B3	9.25

* 2 tekrerrir ortalamasıdır

Bahçe denemesi sonrasında tanılama yapılan fungusların lezyon alanları sırasıyla *Fusarium proliferatum* 3.80-30.2 mm², *Fusarium solani* 3.55-52.90 mm², *Fusarium sp.* 6.60-9.25 mm² arasında değişmektedir. Virülensliği en yüksek olan Fs 8/6= *Fusarium solani* olarak tanılanmış (1. Blok Kontrol 3) lezyon alanı 52,9 mm² dir. Daha sonra Fs 9/4= *Fusarium proliferatum* (3. Blok B2-6) lezyon alanı 30,2 mm² ve Fs 8/21= *Fusarium solani* (2. Blok B3-6) lezyon alanı 22,35 mm² olarak bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Bahçe denemelerinde ilek ve sarılop meyvelerinden izole edilen ve patojen bulunan 31 *Fusarium* spp. izolatına ait DNA miktarları ve sekans sonrası elde edilen veriler Çizelge 4.10 de verilmiştir. DNA miktarları 17 ng/ml ile 382 ng/ml arasında değişmiş ve toplam 31 *Fusarium* izolatından 15'i *Fusarium solani*, 9'u *Fusarium proliferatum* ve 4'ü *Fusarium* sp. olarak tanılanmıştır.

Çizelge 4.10. Bahçe denemelerinde ilek ve Sarılop meyvelerinden izole edilen ve patojen bulunan 31 *Fusarium* spp. izolatının *tef-1α* genine özgü ef1/ef2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLASTn analiz sonuçları

Sayı	İzolat No	DNA ng/ml	PCR EF-1/ 2 ~700 bp	Maks. Benzerlik	Taksonomik sonuç
1	Fs8/3	65	+	76	<i>Fusarium</i> sp.
2	Fs8/4	163	+	96	<i>F. solani</i>
3	Fs8/5	172	+	98	<i>F. solani</i>
4	Fs 8/6	151	+	98	<i>F. solani</i>
5	Fs 8/7	70	+	99	<i>F. solani</i>
6	Fs 8/8	174	+	99	<i>F. solani</i>
7	Fs 8/9	52	+	99	<i>F. solani</i>
8	Fs 8/10	173	+	86	<i>F. solani</i>
9	Fs 8/11	381	+	98	<i>Fusarium</i> sp.
10	Fs 8/12	32	+	99	<i>F. proliferatum</i>
11	Fs 8/13	46	+	99	<i>F. proliferatum</i>
12	Fs 8/14	97	+	99	<i>F. proliferatum</i>
13	Fs 8/15	18	+	99	<i>F. proliferatum</i>
14	Fs 8/16	26	+	99	<i>F. proliferatum</i>
15	Fs 8/17	177	+	99	<i>F. proliferatum</i>
16	Fs 8/18	158	+	99	<i>F.solani</i>
17	Fs 8/19	206	+	90	<i>F.solani</i>
18	Fs 8/20	176	+	96	<i>F.solani</i>
19	Fs 8/21	187	+	98	<i>F.solani</i>
20	Fs 8/22	107	+	93	<i>F.solani</i>
21	Fs 8/23	17	+	98	<i>F.solani</i>
22	Fs 8/24	75	+	98	<i>F.solani</i>
23	Fs 9/1	124	+	99	<i>F. proliferatum</i>
24	Fs 9/2	45	+	99	<i>F.solani</i>
25	Fs 9/3	370	+	99	<i>F. proliferatum</i>
26	Fs 9/4	142	+	99	<i>F. proliferatum</i>
27	Fs 9/5	364	+	92	<i>Fusarium</i> sp.
28	Fs 9/6	382	+	98	<i>Fusarium</i> sp.
29	Fs 9/7	162	+	98	<i>F. proliferatum</i>
30	Fs 9/8	42	+	99	<i>F.solani</i>
31	Fs 9/9	189	+	93	<i>F.solani</i>

İlek meyvelerine bakteri ve prokloraz fungusiti uygulanarak yürütülen bahçe denemelerinde elde edilen bulgular Çizelge 4.11 de özetlenmiştir. Veriler incelendiğinde en yüksek hastalık meyve oranı %14.75 ile hiç bir uygulama yapılmayan üretici koşulları olarak adlandırılan deneme parsellerinden elde edilmiştir. Üretici koşullarında daha yüksek oranda iç çürüklüğü saptanmasının nedeni bahçede bulunan erkek incir ağacından çıkan ilek arılarının doğal koşullarda incir meyvelerini döllemiş olmasından kaynaklanmaktadır. Tülle kapatılan ve ağaç başına 2 adet ilek meyvesi asılan kontrol parsellerde hastalıklı meyve oranı ise % 6.5 olarak saptanmıştır. Hastalıklı meyve oranları analiz edildiğinde üretici koşulları ayrı bir grup oluşturmuş, bakteri uygulamaları fungusiti uygulaması ile aynı grupta yer almıştır. Denemede en az hastalıklı meyve oranı %1.82 ile BB7-B4 bakteri uygulamasından elde edilmiştir. BB7-B4 bakterisinin ilek meyvelerine ostiolden 100µl enjekte edildiğinde tülle kapatılan ağaçlardaki kontrole göre %72, tülle kapatılmamış üretici koşullarındaki kontrole % 87,66 oranında hastalığı azalttığı görülmüştür. Denemede kullanılmış olduğumuz bakteri uygulamalarının etkisi % 42.77-72.00 arasında değişmiştir. Bu oranlar üretici koşullarındaki kontrole göre değerlendirildiğinde daha da yükselerek %74.78-87.66 arasında değişmiştir.

Çizelge 4.11. Nazilli ilçesi Kızıldere köyünde 5 yaşlı Sarılop çeşidi incir bahçesinde ilek meyvelerine 4 antagonist bakteri ve prokloraz fungusiti uygulandıktan sonra yapılan ilekleme sonrası Sarılop meyvelerinde İç Çürüklüğü bulunma oranı ve uygulamaların yüzde etkinlikleri

Uygulamalar	Ortalama % Hastalıklı Meyve*		Yüzde etki **	
	1	2	1	2
B1 (BB7-B4) <i>Pseudomonas sp</i>	1.82	a	72.00	87.66
B2 (Boğa-in-1) <i>Pantoea sp.</i>	2.39	ab	63.23	83.80
B3 (Kaba-ilek-B2) <i>Serratia sp.</i>	3.07	ab	52.77	79.19
B4 (BEB-10-B2T) <i>Pseudomonas sp.</i>	3.72	ab	42.77	74.78
Prokloraz (1 ml)	4.27	ab	34.31	71.05
Kontrol (su)	6.50	b		
Üretici Koşulları (Kontrol)	14.75	c		

* 3 tekrerr ortalamasıdır sütun içinde aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur (P<0,05) tek yönlü varyans analizi (Ek-4), LSD testi.

** Yüzde etki 1 ve 2 sırasıyla denemede sadece su uygulanmış ve tülle örtülmüş kontrole ve üretici koşullarında doğal olarak tozlanan incir ağaçlarında saptanan yüzde hastalık oranlarına göre hesaplanmıştır.

Çizelge 4.11 deki veriler incelendiğinde en yüksek hastalık meyve oranı %14.75 ile hiç bir uygulama yapılmayan üretici koşulları olarak adlandırılan deneme parsellerinde bulunmuştur. Üretici koşullarında daha yüksek oranda İç Çürüklüğü saptanmasının nedeni bahçede bulunan erkek incir ağacından çıkan ilek arılarının doğal koşullarda incir meyvelerini döllemiş olmasından kaynaklanmaktadır. Tülle kapatılan ve ağaç başına 2 adet ilek meyvesi asılan kontrol parsellerde hastalıklı meyve oranı daha düşük olarak % 6.5 olarak saptanmıştır. Hastalıklı meyve oranları analiz edildiğinde üretici koşulları ayrı bir grup oluşturmuş, bakteri uygulamaları fungusit uygulaması ile aynı grupta yer almıştır. Denemede en az hastalıklı meyve oranı %1.82 ile BB7-B4 bakteri uygulamasından elde edilmiştir. BB7-B4 bakterisinin tülle kapatılan ağaçlarda ilek meyvelerine ostiolden 100µl enjekte edildiğinde hastalığı %72 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Bu sonuç üretici koşullarındaki incir ağaçlarında saptanan İç Çürüklüğü oranı ile karşılaştırılırsa etki % 87,66'dır. Denemelerde fungusit uygulaması diğer araştırmacılar tarafından çok daha farklı olarak ilek meyvesine enjekte edilerek kullanılmıştır. Denemede kullanmış olduğumuz bakteri uygulamaları fungusit kadar etkili olmuş ve yüzde etkileri hiç uygulama yapılmayan kontrole göre % 42.77-72.00 arasında değişmiştir. Bu oranlar üretici koşullarındaki kontrole göre değerlendirildiğinde daha da yükselerek %74.78-87.66 arasında değişmiştir.

Michailides vd. (1993), İncir meyvesinin iç kısmında doğal olarak bulunan *Paecilomyces lilacinus*'un gelişimi ve sporulasyonunun etkilerini araştırdığı çalışmada fungusun biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilmesi için yüksek nemin gerektiği bildirmiş ve *Paecilomyces lilacinus*'un spor süspansiyonunu mart ortasında ilek meyvelerine püskürttüğünde İç Çürüklüğü hastalığı'nın uygulama yapılmayan ağaçlara göre %50 oranında azaldığını saptamıştır. Konuyla ilgili tek biyolojik mücadele çalışması olan bu kaynak ile bulgularımız karşılaştırıldığında kontrole göre %72 üretici koşullarına göre %87,66'a varan oldukça yüksek etki elde edilmiştir.

Michailides vd. (2005), yaptıkları ikinci denemede, Kaliforniya'nın Orosi bölgesinde bulunan erkek incir bahçesinde, boğa meyvelerinden ilek arısı çıkışlarından önce, ağaçlar iki defa (22 ve 29 mart) yukarıda adı geçen aynı fungusitlerle ilaçlanmış, her uygulamaya ait tesadüfi olarak toplanan olgunlaşmış ilek meyveleri agar-damlatma yöntemi ile İç Çürüklüğü ve diğer hastalıklar açısından incelenmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda standart ticari ilaç preparatının (thiophanate-methyl+chlorothalonil+ dicloran) ilek meyvelerinde İç

Çürüklüğü oranının önemli oranda düşmesine neden olan tek uygulama olduğu bildirilmiştir. Bu denemede ağaçlara uygulanan yeni fungusitlerin (tebuconazole ve fludioxonil), ilek meyvelerindeki İç Çürüklüğü'nün uygulama yapılmayan kontrole göre çok az azalttığı da belirtilmiştir. Üçüncü denemede ise, Kaliforniya'nın Madera bölgesinde Sarılop ağaçları ileklemeden hemen önce tebuconazole ve fludioxonil ile ilaçlanmıştır. Daha sonra ilekleme bitimine yakın ikinci ilaçlama yapılmıştır. Meyveler olgunlaşmadan önce yeşilken toplanarak agar-damlatma yöntemine göre, ayrıca kuru meyvelerde mikroskop altında hastalık açısından incelenmişlerdir. Değerlendirmeler sonucunda tebuconazole ve fludioxonil'in olgunlaşmamış incirlerdeki *F. moniliforme*'nin bulunma oranını ya da kuru incirde iç çürüklüğü ve siyah çürüklük hastalıklarının oranını azaltmadığı belirlenmiş ve halen Sarılop ağaçlarının ilaçlanarak İç Çürüklüğü ve Siyah Çürüklük Hastalıklarından koruyacak yeni bir fungusit olmadığı da vurgulanmıştır.

Doğan (2009), 2006-2008 yılları arasında E.İ.A.E. incir bahçesinde uygulama görmüş boğa meyvelerinden elde edilen ilekler ile döllenmiş Sarılop incirlerinde *Fusarium* spp.'nin azaltılmasına yönelik yaptığı fungusit denemeleri çalışmasında, en etkili fungusit uygulamalarını prokloraz (100ml/100l) ve tebuconazole (240g/100l)'den elde etmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Türkiye incir üretim alanı ve meyve üretim miktarı yönünden dünya sıralamasında birinci durumdadır. Tüm Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de incir meyvelerinin en önemli hastalıklarından birisi *Fusarium* cinsine ait fungus türlerinin neden olduğu, Kahverengi Çürüklük, Yumuşak Çürüklük, Pembe Çürüklük olarak da adlandırılan “İç Çürüklük” hastalığıdır. Hastalık incir meyvesinin pazar değerini düşürerek kalite ve kantite kaybına yol açması yanısıra *Fusarium* türlerinin üretmiş olduğu mikotoksinler nedeni ile insan sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Hastalık ülkemizde erkek incir meyveleri (ilek) ile dölleme gereksinimi duyan ve bu yolla hastalanan en önemli sofralık ve kurutmalık incir çeşitlerimizde (Bursa Siyahı ve Sarılop) görülmektedir. Bu çalışma ile İç Çürüklüğü’ne neden olan *Fusarium* türlerine karşı incir meyvelerinden izole edilmiş olan antagonistik bakteriler ile biyolojik mücadele amaçlanmıştır. Dünya literatürü incelendiğinde incir meyvelerinde adı geçen hastalığa karşı ABD’de yapılmış olan *Paecilomyces* fungusu ile biyolojik mücadele çalışması dışında hastalığın biyolojik mücadelesi konusunda başka bir kaynağa rastlanılmamıştır. Bu nedenle mevcut bilgilerimize göre çalışma incir İç Çürüklüğüne karşı antagonist bakteriler ile Dünya’da ilk çalışma niteliğinde olup özgün bir araştırmadır. Bahçe denemesinde uygulanan antagonist bakterilerden en etkili bakteri *Pseudomonas* sp. (B1) olup %72 oranında hastalığı engellemiştir. Antagonist bakterilerin hastalığı engellemesi gerek incir üreticisine gerekse Dünya’da birinci sırada olan ülkemiz ihracatına önemli bir katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Sonuçlar ayrıca hastalık etmeni *Fusarium* türlerinin ürettiği mikotoksinler dikkate alındığında insan sağlığı açısından da yararlı olacağını göstermektedir. Antagonist bakterilerin biyolojik mücadelede doğrudan ileklere uygulama tek yıllık bahçe denemeleri sonunda bu bakterilerden ve uygulama şeklinde oldukça iyi sonuçlar alınmıştır. Ancak bu çalışmaların tekrarlanması ve farklı alanlarda uygulanması gerekmektedir. Yapılan bu çalışmalar uygulayıcı kuruluşlara ve bu konuda çalışanlara kaynak olabilecek niteliktedir. Bilindiği gibi organik incir üretimimiz azımsanmayacak düzeyde olup pestisit içermeyen çevre dostu bu uygulamanın pratiğe aktarılmasıyla organik incir üretiminde de önemli katkıları olabilecektir.

KAYNAKLAR

- Aksoy, U., 1981. Akça, Göklop ve Sarılop İncir Çeşitlerinde Meyve Gelişmesi, Olgunlaşması ve Depolanması Üzerine Araştırmalar. E.Ü.Z.F. Dergisi. 20(1): 235-241
- Aksoy, U., Can, H.Z., Hepaksoy, S., Şahin, N. 2001. İncir Yetiştiriciliği. TÜBİTAK TARP (Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi) Yayınları, İzmir.
- Aksoy, U., Can, H.Z., Hepaksoy, S., Şahin, N. 2007. Türk Sultanları Ege Kuru Meyve ve Mamulleri İhracatçıları birliği s. 139.
- Anonim, 2008. <http://www.egebirlilik.org.tr>/Erişim Tarihi:15.09.2008
- Anonim, 2012. <http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> Erişim Tarihi: 14.09.2012.
- Anonim, 2013. <http://www.egebirlilik.org.tr>/Erişim Tarihi:10.09.2013
- Anonim, 2013. <http://www.tarim.gov.tr/> Erişim Tarihi:10.09.2013
- Bacon, C.W., Yates, I. E., Hinton, D. M., and Meredith, F., 2001, **Environmental Health Perspectives**,109:325-332.
- Benlioğlu, K., De Boer, S.H. , Ward, L., 1998. Sensitive detection of the Blackleg pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* by PCR. **Journal of Turkish Phytopathology**, 27:9-17.
- Benlioğlu, S., Akşit, T, Yıldız, A., Zeybekoğlu, N., Şahin, N., Öncüer, C., 2004. İncir Meyve Bahçelerinde İç Çürüklüğü Hastalığı (*Fusarium* spp.) Üzerinde Çalışmalar. TÜBİTAK, TARP-2436 no'lu proje sonuç raporu.
- Benlioğlu, S., Yıldız, A., ve Başpınar, N. 2007. Aydın İli'nden İhraç Edilen Kuru İncirlerde Fungal Bulaşıklılık, II. Bitki Koruma Kongresi, 27-29 Ağustos 2007, Isparta.
- Bremer, H. 1948. Türkiye Fitopatolojisi. Cilt II, Kısım I, Güney Matbaacılık ve Gazetecilik, T.A.O., 237 pp.
- Cavaglieri L.R., Andrés L., Ibáñez M., and Etcheverry, M.G., 2005a. Rhizobacteria and their potential to control *Fusarium verticillioides*: effect of maize bacterisation and inoculum density, **Antonie van Leeuwenhoek**, 87:179–187

- Cavaglieri LR, Andrés L, Ibáñez M, Etcheverry M.G., 2005b. Rhizobacteria and their potential to control *Fusarium verticillioides*: effect of maize bacterisation and inoculum density. **Antonie Van Leeuwenhoek**. 2005 Apr;87(3):179-87.
- Cenis, J.L., 1992. Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. **Nucleic Acide Research**, 20(9):2380.
- Çalışkan, O., 2003. Bazı İncir Çeşit ve Tiplerinin Dörtüyl Koşullarındaki Fenolojik, Morfolojik ve Meyve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, (Basılmamış), Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 180s.
- Çobanoğlu, F., 2004. Türkiye ve Avrupa Birliği (AB) arasındaki tarım ürünleri ticaretinin gelişimi, önemi, taze ve kuru incir ticareti açısından değerlendirilmesi. **Anadolu Journal of AARI**, 14(2): 139-159.
- Doğan, Ö., Benlioğlu, S. 2009. Erkek İncir Meyvelerindeki İncir İç Çürüklüğü Hastalığı ve Bazı Fungisitlerin Boğa Meyvelerindeki *Fusarium* spp. Bulaşıklığı Üzerine Etkinliklerinin Belirlenmesi. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 15-18 Temmuz, Van. Syf. 134.
- Doğan, Ö., ve Benlioğlu, S., 2011. Erkek incirlerin boğa meyvelerinde incir iç çürüklüğü hastalığının bulunma oranlarının belirlenmesi. **Bitki Koruma Bülteni**, 51(3):277-285.
- FAOSTATT, 2012. FAO Tarımsal Üretim İstatistikleri (www.fao.org/statistics). Erişim tarihi 17.09.2012.
- Fong, Y. K., Anuar, S., Lim, H. P., Tham, F. Y., & Sanderson, F. R., 2000. A modified filter paper technique for long-term preservation of some fungal cultures. **Mycologist**, 14(3):127-130.
- Grimont, P. A.D., Grimont, F., and Starr, M.P., 1981. Serratia Species Isolated from Plants, **Current Microbiology**, 5:317-322.
- Grimont, F., Grimont, P.A.D., 2005. Genus XXXIV. Serratia Bizio 1823, 288AL. In: Garrity, G.M. (Ed.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Ed. Volume two: the Proteobacteria, Part B: the Gammaproteobacteria. **Springer**, New York, pp. 799–811.
- Şenyuva, H. Z., Gilbert, J., Samson, R. A., Özcan, S., Öztürkoğlu, Ş., and Önal, D., 2008. Occurrence of fungi and their mycotoxins in individual Turkish dried figs. **World Mycotoxin Journal**, 1(1): 79-86
- İmamoğlu, Ö., 2008. Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen *Bacillus* sp. İzolatlarının Kitosanaz Aktivitesinin ve Antifungal Etkisinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 211s.

- Karbancioglu-Güler F, Heperkan, D., 2009. Natural occurrence of fumonisin B1 in dried figs as an unexpected hazard. **Food and Chemical Toxicology**, 47:289–292.
- Khan, M. R. and Doohan, F.M., 2009. Comparison of the efficacy of chitosan with that of a fluorescent pseudomonad for the control of Fusarium head blight disease of cereals and associated mycotoxin contamination of grain, **Biological Control** 48:48–54.
- Kislev, M.E., Hartmann, A., Bar-Yosef, O., 2006. Early domesticated fig in the Jordan Valley. **Science** 312: 1372–1374.
- Klement, Z. 1963. Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic pseudomonads. **Nature**, 199:299-300.
- Köseoğlu, İ. 2008. Sarılop İncir (*Ficus Carica* L.) Çeşidinin Kurutulmuş Meyvelerinde Fumonisin Varlığının Araştırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 213s.
- Lansky, E.P., Paavilainen, H.M., Pawlus, A. D., and Newman, R. A., 2008. *Ficus* spp. (fig): Ethnobotany and potential as anticancer and anti-inflammatory agents. **Journal of Ethnopharmacology** 119:195-213.
- Michailides, T.J., Subbarao, K.V., Morgan, D.P. 1993. Biocontrol of Fig Endosepsis and “Smut” in Calimyrna Figs by Using *Paecilomyces lilacinus*. 6th **International Congress of Plant Pathologist**, July 28-Aug. 6., Montreal, Canada.
- Michailides, T. J. and Morgan, D. P. 1994b. Dynamics of *Blastophaga psenes* populations, availability of caprifigs, and fig endosepsis caused by *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, 84:1254-1263
- Michailides, T. J., Morgan, D. P., and Klamm, R. 1994a. Comparison of three methods for determining fig endosepsis caused by *Fusarium moniliforme* and other molds in caprifigs and Calimyrna figs. **Plant Disease**. 78:44-50.
- Michailides, T.J., Morgan, D.P., Subbarao, K.V., 1996. Fig Endosepsis. An old disease stil a dilemma for California growers. **Plant Disease**. Vol: 80(8):828-841.
- Michailides, T. J., and Morgan, D. P. 1998. Spread of endosepsis in Calimyrna fig orchards. **Phytopathology**, 88:637-647.
- Michailides, T.J., Morgan, D.P., Felts, D. and Doster, M.A. 2005. Control of Decay in Caprifigs and Calimyrna Figs with Fungicides. 3rd International Symposium on Fig, 2005, Portugal.

- Moretti A, Ferracane R, Ritieni A, Frisullo S, Lops A and Logrieco A (2000) *Fusarium* species from fig in Apulia: Biological and toxicological characterisation. **Mitt Biol Bundesanst Land-Forstwirtsch.** 377: 31–32.
- Moretti, A., Ferracane, L., Somma, S., Ricci, V., Mule, G., Susca, A., Ritieni, A., Logrieco, A. 2010. Identification, mycotoxin risk and pathogenicity of *Fusarium* species associated with fig endosepsis in Apulia, Italy, **Food Additives & Contaminants: Part A**, 27:5, 718-728
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A., and Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification the Pennsylvania State university Press. University Park and London.193pp.
- O'Donnell K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., and Ploetz, R. C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:2044–2049.
- Özar, A.İ., Önder, P., Sarıbay, A., Özkut, S., Gündoğdu, M., Azeri, T., Arınç, Y., Emir, T., Genç, H. 1986. Ege Bölgesinde Görülen Hastalık ve Zararlılarla Savaşım Olanaklarının Saptanması ve Geliştirilmesi Üzerinde Araştırmalar. **Doğa, Türkiye Tarım ve Ormanlık Dergisi**, 10 (2):263-277.
- Özbek, S., 1978. Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 128. Ders Kitabı, Adana
- Rosales, A. M., and Mew, T. W. 1997. Suppression of *Fusarium moniliforme* in Rice by Rice- Associated Antagonistic Bacteria. **Plant Disease.** 81:49-52.
- Subbarao, K. V. and Michailides, T. J., 1992. A Reevaluation of *Fusarium moniliforme* var. *fici*, The Causal Agent of Fig Endosepsis, **Mycological Research**, 96 (9):766-768.
- Subbarao, K. V., and Michailides, T. J. 1993. Virulence of *Fusarium* species Causing Fig Endosepsis in Cultivated and Wild Caprifigs. **Phytopathology**, 83:527-533.
- Subbarao, K. V, and Michailides, T.J., 1995. Effects of temperature on isolates of *Fusarium moniliforme* causing fig endosepsis and *Aspergillus niger* causing smut. **Phytopathology**, 85:662-668
- Subbarao, K. V., and Michailides, T. J. 1996. Development of phenological scales for figs and their relative susceptibilities to endosepsis and smut. **Plant Disease**, 80:1015-1021

- Ülkümen, L., Özbek, S., İleri, M.1948. İncir ve Hastalıkları (kitabı). Yüksek Ziraat Enstitüsü Basımevi, 200 s. Ankara.
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Lane, D.J. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. **Journal of Bacteriology**, 173:697.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, in: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White (Eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, San Diego, CA, 1990, pp. 315–322. 85 (2003) 15–25.
- Yıldız, A., Benlioğlu, S., Sarıbyık, D. 2008. Fig Endosepsis in Some Cultivated Varieties. J. **Phytopathology**. Doi:10.1111/j.439-0434.2008.01402.
- Yorgancı, A. 2003. İncir Üretiminde Temiz Erkek İncir (İlek) Meyvesi Elde Edilmesi Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmamış), no:501.01.02., 74s, İzmir.
- Zheng, D.E., Alm, E.W., Stahl, D.A., Raskin, L. 1996. Characterization of universal small-subunit rRNA hybridization probes for quantitative molecular microbial ecology study. **Applied and Environmental Microbiology**, 62:4504

EKLER**Ek-1**

Çizelge 4.1 Varyans Analiz Tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Prob > F
İzolatlar	36	13232.891	367.580	2.3858	0.0084*
Hata	30	4622.086	154.070		
C. Toplam	66	17854.977			

Ek-2

Çizelge 4.6 Varyans Analiz Tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Prob > F
Bakteri Adı	21	292242.92	13916.3	3.6062	0.0003*
Error	39	150502.17	3859.0		
C. Total	60	442745.08			

Ek-3

Çizelge 4.7 Varyans Analiz Tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Prob > F
Bakteriler	21	12667.417	603.210	232.2218	<.0001*
Error	44	114.293	2.598		
C. Total	65	12781.710			

Ek-4

Çizelge 4.11 Varyans Analiz Tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Prob > F
Karakterler	6	359.33726	59.8895	8.8226	0.0008*
Bloklar	2	33.50720	16.7536	2.4681	0.1265
Hata	12	81.45820	6.7882		
C. Toplam	20	474.30266			

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ümran Aksu Çatalık

Doğum Yeri ve Tarihi : Nazilli/ 06.11.1985

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi / Bitki Koruma Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı / Fitopatoloji (Bakteriyoloji) Bölümü

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Makaleler

-SCI

-Diğer

b) Bildiriler

-Uluslararası

-Ulusal

c) Katıldığı Projeler: İncir İç Çürüklüğüne (Fusarium spp.) Karşı Antagonist Bakteriler İle Biyolojik Mücadele

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü Nazilli-AYDIN/2011

İLETİŞİM

E-posta Adresi : umranaksu85@gmail.com

