

İN-VİTRO KOŞULLARDA MÜŞKÜLE ÜZÜMÜNDEN İZOLE EDİLEN *BOTRYTIS CINEREA* Pers.'NİN GELİŞMESİNİN GAMMA RADYASYONU İLE ENGELLENMESİ

Osman TIRYAKI¹

Ö Z E T

Müşküle üzümünden izole edilen *Botrytis cinerea* izolatu PDA (Patates-Dekstroz-Agar) ortamında 7 gün süreyle geliştirilmiştir. 0, 1, 2, 3, 4 ve 5 kGy'lik dozlarda ¹³⁷Cs gamma kaynağında (3.13 krad/dak) ışınlanmıştır. Işınlamadan sonra inokulum alınarak taze ortamlara aktarılmıştır. 23°C de 4 saat inkübe edildikten sonra pratikteki uygulamalara paralel olarak 3-4°C de gelişmeye bırakılmıştır. üçer gün aralıklarla ölçümler yapılmıştır.

Sonuç olarak 3 kGy'lik gamma radyasyonu dozunda miseliyal gelişme 23 gün geciktirilmiştir. 4 ve 5 kGy'lik dozlarda 32 gün süren ölçümler süresince hiçbir miseliyal gelişme gözlenmemiştir. Oysa ışınlanmamış kültürde, gelişme ışınlamadan sonra ikinci günde başlamıştır.

G İ R İ Ş

Ülkemizde depolamaya alınan meyvelerde patojenlerin oluşturduğu kayıplar çok önemlidir. Özellikle Müşküle üzümünün tarlada ve depoda en önemli problemi *Botrytis cinerea* Pers.dir (Özhendekçi, 1977). Depo çürüklüğü oluşturan mikroorganizmalar, özellikle funguslar, sadece muhafazaya alınan ürünü kalite ve kantite yönünden etkilemekle kalmaz, aynı zamanda insan sağlığı için olumsuz etkiler yapar, zehirlenmelere neden olan, kanserler oluşturan mikotoksinleri oluşturmaktadır. Fungusların oluşturduğu mikotoksinlerin radyasyonla azaltılması veya mikotoksin oluşturma yeteneğinin değiştirilmesi de önemlidir (Adams et al., 1976).

Bugüne kadar yapılan çeşitli araştırmalarda ışınlamanın patojenlerin engellenmesinde kimyasallara göre daha fazla etki yaptığı, daha derinlere nüfuz ettiği açıklanmıştır. Işınlamanın etkisi fungusun gelişmesinin tamamen engellenmesi şeklinde olmayıp, çeşitli derecelerde fungusun gelişmesinin geciktirilmesi şeklindedir. Ayrıca fungusu tamamen yok etmek için gereken dozlar üründe onarılamayacak zararlar oluşturmaktadır. Bu tür çalışmalarda sadece verilen toplam doz değil aynı zamanda doz oranının ya da ışınlama kaynağının gücü de önemlidir. Düşük sıcaklıkta depolama ve kimyasal yüzey dezenfektanları sadece kısmi çürümeleri engellemektedir. Kimyasal preparatların - özellikle yüksek dozlarda ve sık sık kullanmanın - olumsuz etkilerinin tartışıldığı günümüzde bu önemli bir olaydır. Özellikle ışınlamanın düşük ısı, sıcak su muamelesi ve düşük dozlarda kimyasallarla kombine edilmesinde beklenen sonuç

¹ Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Ankara Nükleer Tarım Araştırma Enstitüsü 06105 Sarayköy - ANKARA. Yazının Yayın ve Yönetim Kurulu'na geliş tarihi (Received): 04.04.1990

daha iyi olmaktadır (Beraha 1964, Beraha et al 1957, Beraha et al 1961, Matthee ve Potgieter 1965, Sommer et al 1967).

Birçok araştırmada konukçular için gereken gamma radyasyonu dozlarının kültür ortamları için gereken dozlardan daha fazla olduğu belirtilmiştir (Beraha, 1960). Ayrıca FAO IAEA WHO Ekspertler Komitesi 10 kGy'e kadar ışınlanmış ürünlerin insanlar tarafından tüketiminde besin değeri toksikolojik ve mikrobiyolojik yönden güvenilir olduğu açıklamış ve bu sınıra 1983 de Codex Genel Standardına aktarılmıştır (Anonymous, 1987).

Bu araştırmalara Bursa-İzmit bölgesinin karakteristik çeşidi olan Müşküle üzümünden izole edilen *B. cinerea*'nin gelişmesini engelleyen gamma radyasyonu dozunun bulunması amaç edinilmiştir. Deneme, in-vitro koşullarda PDA ortamında, Ankara Nükleer Tarım Araştırma Merkezi Bitki Koruma Bölümün'de 15.11.1988 - 17.12.1988 tarihleri arasındaki 1 aylık sürede gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE METOT

İzmit'deki bağlardan getirilen Müşküle üzümlelerinden izole edilen *Botrytis cinerea* Pers. İzolatı iklim dolabında ($23 \pm 0.5^\circ\text{C}$ de 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık periyotta, 20 watt'lık 1 adet yakın ultraviyole ışık tüpünün 45 cm yükseklikten aydınlattığı 60x60 cm ebadındaki raflarda) üretilmiştir. Patojenisite testi yapılarak patojenin tipik belirtileri gözlemlenmiştir.

Patojenisitesi tesbit edilen *B. cinerea* PDA (Patates Dekstroz Agar) da 7 gün süreyle geliştirilmiştir. Daha sonra her dozdan 1 petri olmak üzere Lalahan Nükleer Hayvan Sağlığı ve Araştırma Merkezi'nde bulunan 3.13 krad/dak gücündeki ^{137}CS gamma irradyatöründe 0,1,2,3,4,ve 5 kGy'lik dozlarda ışınlanmıştır.

Işınlamadan sonra her dozdan 4 adet olmak üzere, 6 mm çapında, misel ve spor içeren inokulumlar alınarak taze PDA ortamına ters bir şekilde -miseller ortamla temas edecek şekilde- konmuştur. Daha sonra kültürler 23°C de 4 saat inkube edildikten sonra in-vivo koşullarındaki depolama sıcaklığına paralel olarak $3-4^\circ\text{C}$ deki buzdolabında gelişmeye bırakılmıştır (Nelson et al. 1959, Barkai-Golan et al., 1967).

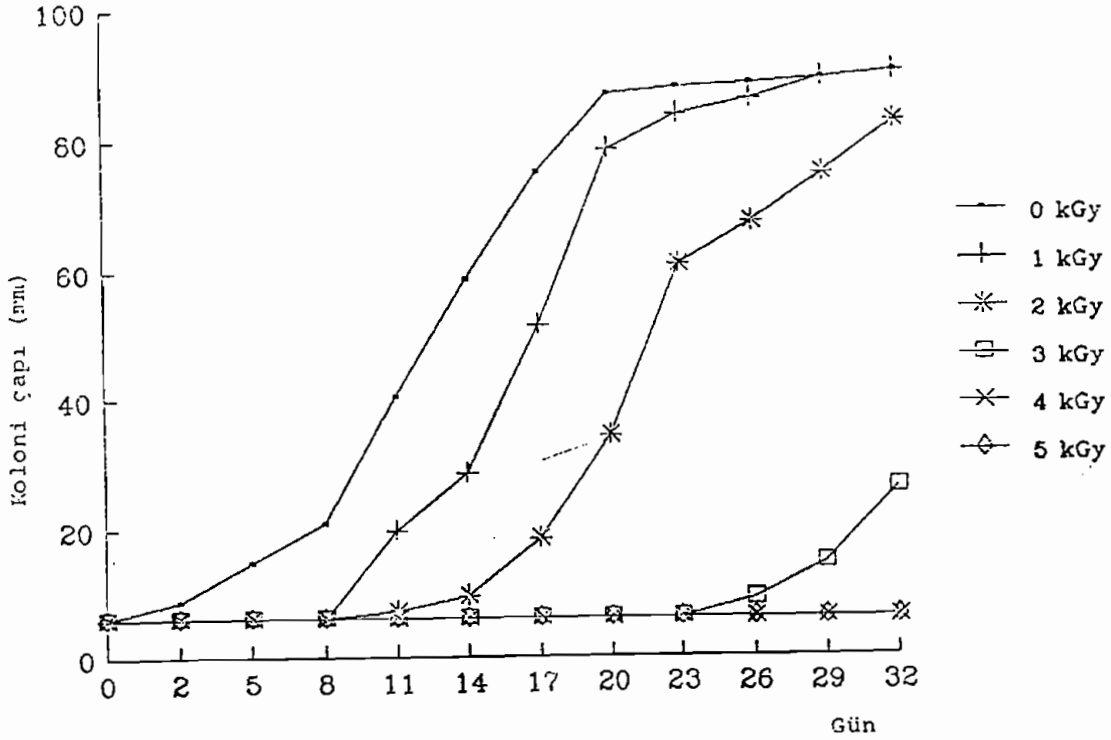
Gözlemler üçer gün aralıklarla radyal miseliyal gelişme çapları ölçülerek yapılmıştır. İstatistiksel analizler 4 ölçümün ortalaması alınarak Basit Varyans ve Duncan ($P=5\%$) ile yapılmıştır.

SONUÇLAR

Ölçümler sonucu elde edilen ortalama radyal miseliyal gelişme çapları mm olarak Çizelge 1 ve Şekil 1'de görülmektedir. 6 mm inokulumun kendi başlangıç çapıdır. Işınlanmamış kontrol örneklerinde miseliyal gelişme ışınlamanın ikinci gününde baş-

lamıştır. 1 ve 2 kGy'lik dozlarda 11. güne kadar gelişme olmamıştır. Daha sonra az bir farkla kontrol örneklerine paralel olarak gelişme devam etmiştir. 32. günde 1 kGy de petri tamamen kaplandığı halde 2 kGy de gelişme 82.50 mm olmuş, gösterdiği farklılıkta istatistiksel olarak önemli çıkmıştır.

Üç kGy de ise miselyal gelişme 23 gün ertelenmiştir. 4 ve 5 kGy lik dozlarda 32 günlük gözlemler periyodunda hiç bir gelişme olmamıştır. Bu gelişme farklılığı da önemli bulunmuştur. Yine 3 kGy de miselyal gelişme diğer dozlardan farklı bulunmuştur (Çizelge 1).



ŞEKİL 1. Işınlamadan sonra geçen günlerde ortalama koloni çapları (mm).

ÇİZELGE 1. Işınlamadan sonra geçen günlerdeki ortalama koloni çapları (mm) ve istatistiksel analiz sonuçları

DOZ (kGy)	I ş ı n l a m a d a n S o n r a G e ç e n G ü n l e r											
	0	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32
0	6.00 a*	8.75 a	14.75 a	20.75 a	40.25 a	58.50 a	74.75 a	86.75 a	87.75 a	88.25 a	89.00 a	90.00 a
1	6.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 b	19.50 b	28.50 b	51.25 b	78.25 a	83.50 a	85.75 a	89.00 a	90.00 a
2	6.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 b	7.25 c	9.50 c	18.25 c	34.25 b	60.50 b	67.00 b	74.50 b	82.50 b
3	6.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 b	6.00 c	6.00 c	6.00 d	6.00 c	6.00 c	9.00 c	14.50 c	26.00 c
4	6.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 b	6.00 c	6.00 c	6.00 d	6.00 c	6.00 c	6.00 c	6.00 d	6.00 d
5	6.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 b	6.00 c	6.00 c	6.00 d	6.00 c	6.00 c	6.00 c	6.00 d	6.00 d

* Farklı harfleri taşıyan değerler arasında % 5 düzeyinde önemli fark vardır.

TARTIŞMA VE KANI

Beraha et al. (1960), bu çeşit araştırmalarda konukçular için gereken lethal gamma radyasyonu dozlarının kültür ortamları için gereken dozlardan fazla olduğuna dikkati çekerek, *B. cinerea*'nin miseliyal gelişmesine lethal radyasyon dozlarını Tochinai ve Czapek kültür ortamında 0.95-1.86 (x100000 rad) üzüm ve çilek konukçusunda ise 2.74-4.56 (x100000 rad) olarak bulmuşlardır. Bu araştırmada ise PDA kültür ortamında 3-4 °C de 3 kGy lik gamma radyasyonu dozu 32 günlük gözlemler periyodunda miseliyal gelişmeyi engellemede en uygun doz olarak bulunmuştur.

Barkai-Golan et al. (1967) tarafından PDA kültür ortamında 23°C de yapılan bir araştırmada da; 100 krad miseliyal gelişmeyi engellemede etkili olamamış, 200 krad 2-3 gün inkübasyon periyodunu uzatmış, 300 krad ise inokulumu inaktive ederek 8 günlük deneme süresince hiçbir miseliyal gelişme olmamıştır.

SUMMARY

INHIBITION OF *BOTRYTIS CINEREA* PERS., WHICH WAS ISOLATED FROM MÜŞKÜLE GRAPE, WITH GAMMA RADIATION IN THE IN-VITRO CONDITIONS

Botrytis cinerea isolated from Müşküle grape, seven days old cultures grown on PDA (Potato-dextrose-agar) were used, as source of inocula. Cultures irradiated with doses of 0, 1, 2, 3, 4 and 5 kGy in ¹³⁷Cs gamma source at a dose rate of 3.13 krad/min.

The inocula (6 mm diameter) were taken from the irradiated and non-irradiated cultures that contained mycelia and spores. These inocula were resown on to fresh PDA, and incubated at 23°C for 4 hours. And the rate of radial growth of the colonies measured at 3 days interval during incubation at 3-4°C, four replicate determinations on PDA were made.

Mycelial growth is inhibited 23 days with 3 kGy. Doses of 4 and 5 kGy didn't observe mycelial growth during the whole 32 days experimental period, whereas non-irradiated control petri dishes mycelial growth has started 2 days after irradiation.

LİTERATÜR

- ADAMS, K.B., M.T.WU and D.K.SALUNKHE, 1976. Effects of gamma radiation on growth and patulin production of *Penicillium expansum* and *P. patulum*. Env. and Exp. Botany **16**: 189-193.
- BARKAI—GOLAN, R., N. TEMKIN—GORODEISKI and R.S. KAHAN, 1967. Effect of gamma irradiation on development of fungi, *B. cinerea* and *R. nigricans* causing rot in strawberry fruits. Food Irr. **8** (1-2): 34-36.
- BERAHA, L., 1964. Influence of gamma radiation dose rate on decay of citrus, pears, peaches, and on *P. expansum* and *B. cinerea* In-vitro. Phytopathology **54** (7): 755-759.
- _____, G.B.RAMSEY, M.A.SMITH and W.R.WRIGHT, 1957. Gamma radiation for possible control of postharvest diseases of apples, strawberries, grapes and peaches. Phytopathol (Abs) **47**:4
- _____, 1960. Gamma radiation dose reponse some decay pathogens. Phytopathology **50**:474-476.
- _____, and J HEILIG MAN, 1961. Gamma radiation in the control of decay in strawberries, grapes and apples. Food Techn. **15** (2): 94-98
- MATTHEE, F.N., L.POTGIETER, 1965. The use of gamma rays in the storage of fresh fruit and potatoes. (Abstr.), Nuclear Science Abstracts **10** (7) 11635.
- NELSON, K.E., E.C. MAXIE and W.EUKEL, 1959. Some studies in the use of ionizing radiation to control *Botrytis* rot in table grapes and strawberries, Phytopathology **49**: 475-480.
- ÖZHENDEKÇİ, N., 1977 Müşküle üzümü bağlarında kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.) hastalığını yapan etmenin biyolojisi ve savaşı üzerinde araştırmalar. Uzmanlık Tezi, İstanbul Bölge Zirai Müc. Araşt. Enst. Yayınları Teknik Bülten No:12.
- SOMMER, N.F., R.J.FORTLAGE, P.M.BUCKELEY and E.C.MAXIE, 1967. Radiation heat-synergism for inactivation of market disease fungi of stone fruits. Phytopathol. **57** (4): 428-433.