



ARAŞTIRMA MAKALESİ/RESEARCH ARTICLE

DOMATESLERDE DON ZARARI SONUCU OLUŞMUŞ NEKROTİK YAPRAK DOKULARININ *BOTRYTIS CINEREA*'YA KARŞI *CLADOSPORIUM SPHAEROSPERMUM* PENZ. İLE KORUNMASI

Fahri YİĞİT¹

ÖZ

Bu çalışmada sera koşullarında saprofitik fungus olan *Cladosporium sphaerospermum* ile dondan zarar görmüş genç yaprakların kolonizasyonu ile kurşuni küf hastalığının biyolojik kontrolü araştırılmıştır. Yapay olarak oluşturulmuş nekroze yaprak yoluyla tespit edilmiş olan biyolojik ajan don olayından bir gün sonra 10^8 spor/ml konsantrasyonunda uygulanmıştır. Uygulamadan 10 gün sonra *B. cinerea* ile kolonize edilmiş ve edilmemiş olan nekroze yapraklar sayılmıştır. Kontrol ve muameleli bitkilerden elde edilen veriler değerlendirilmiş ve *C. sphaerospermum*'un nekroze olmuş taze domates yapraklarının patojen tarafından kolonizasyonunu %50.52 oranında engellemiştir.

Anahtar Kelimeler: *Cladosporium sphaerospermum*, Domates, *Botrytis cinerea*, Don zararı

PROTECTION OF THE NECROTIC LEAF TISSUES OCCURRING AFTER FROST DAMAGE AGAINST *BOTRYTIS CINEREA SPHAEROSPERMUM* BY *CLADOSPORIUM* IN TOMATO

ABSTRACT

In this study, biological control of grey mold caused by *B. cinerea* was investigated in greenhouse conditions by colonisation of frost damaged young leaves with a saprophytic fungus, *Cladosporium sphaerospermum*. Bio-control agent, which was isolated through artificially induced necrotic leaf tissues, was sprayed to plants one day after frost at 10^8 conidia/ml. Ten days after treatment, colonized and non-colonized leaves by *B. cinerea* were counted. Based on the data obtained from treated and control plants, it was found that *C. sphaerospermum* inhibited the colonisation by %50.52.

Key words: *Cladosporium sphaerospermum*, Tomato, *Botrytis cinerea*, Frost damage

¹ Muğla Üniv. Fethiye A.S.M.K. Meslek Yüksekokulu, Seracılık ve Süs Bitk. Yetiştir. Programı Fethiye, Muğla.
Fax: (252) 6128432; E-posta: fyigit@mu.edu.tr

1. GİRİŞ

Mersin ilinden batıya doğru uzanan Akdeniz kıyı sahillerinde, seracılık önemli bir sektör haline gelmiştir. Kültür bitkisi olarak da domates, birinci sırayı almaktadır. Seraların hemen hemen tamamı aile işletmeciliği şeklindedir. Bu nedenle kurulan seraların çoğu yeterli teknik özelliklere sahip değildir. Özellikle plastik seralarda görülen yetersiz havalandırma ve sera yüksekliğinin düşük olması önemli sorundur. Seraların büyük çoğunluğu rüzgar tehlikesinden dolayı alçaktır. Bu nedenle yılda birkaç kez gerçekleşen don olayında özellikle sera çatısına yakın yaprakların tamamında veya yaprak kenarlarındaki dokularda nekrozis oluşmaktadır. Üreticilerin de seraların ısıtmasına, yakıttan tasarruf yapmak düşüncesiyle ısının iyice düşmesinden sonra başlamaları, bu zararın oluşmasının en önemli nedenlerinden biridir. Soğuk hava kütesinin yavaş yavaş yukardan aşağıya doğru inmesi sonucu özellikle bitkilerin en üst genç yaprakları alt yapraklara göre daha fazla zarar görmektedir. Bunlar taze ve genç olmaları nedeniyle düşük sıcaklığa karşı daha duyarlıdır. Donan zarar görmüş en uç yapraklarda, don olayından yaklaşık 7-10 gün sonra yaprak kenarlarından yaprak ayasına doğru ilerleyen nekrozlar ortaya çıkar. Şunu da ifade etmek gerekir bu tür belirtiler genellikle yeterli derecede ısıtılmayan plastik seralarda ortaya çıkmaktadır.

Seralarda ciddi ürün kaybına neden olan önemli patojenlerden biri *Botrytis cinerea*'dır. Özellikle sera içi nemin yüksek olduğu koşullarda bitkilerde herhangi bir nedenle meydana gelen yaralar ve nekrotik dokular, bu patojen için önemli giriş noktalarıdır. Patojen bu alanları rahatlıkla kolonize ederek ciddi inokulum kaynağı oluşturmaktadır. Bu patojen için giriş noktalarının saprofit mikroorganizmalarla patojenden önce kolonize edilmesi hastalıkla mücadelede önemli stratejilerden biridir. *B. cinerea*'nın inokulum potansiyelini ve enfeksiyonunu biyolojik olarak baskı altına alınmasında bir çok mekanizma bulunmaktadır. Bunlarda en önemlisi saprofitik çekişme ve antibiyosistir. Patojen, filloferde biyokontrol ajanlarının aktif gelişmesinden ve bunların ürettiği antibiyotiklerden oldukça etkilenmektedir (Elad, 1996). Yapılan bir araştırmada *B. cinerea* ile mücadelede saprofit, külemelerle mücadelede ise hiperparazitik mikroorganizmaların kullanılmasının, biyolojik kontrolde en iyi yaklaşım olduğu ortaya konulmuştur (Elad, vd., 1996). Bu hiperparazitlerden biri de *Trichoderma* türleridir. Özellikle saprofitik ve hiperparazitik özelliği ile bilinen bu antagonist, domateste ana gövde üzerinde yaprakların koparıldığı noktadaki *B. cinerea* enfeksiyonunu %50-60 oranında azaltmıştır (Neill, vd., 1996). Yine *T. harzianum*'un T39 nolu izolatu bu bitkide tek başına uygulanmış kurşunu küf hastalığı %31-82 oranlarında azalmıştır. Aynı çalışmada bu fungusun farklı fungusitlerle birlikte uygulanmasında iyi sonuçlar alınarak kimyasal ilaçlama miktarında %50 azalma görülmüştür (Elad vd., 1995). Bunun yanında antibiyosis yoluyla etkili olabilecek biyolojik ajanlar da bu patojenin biyolojik mücadelesinde kullanılmıştır (Akutsu, vd., 1993; Mc Quilken,

vd., 1994; Utkhede ve Mathur, 2002). Bunlardan bazıları tek başına, bazıları ise fungusitlerle birlikte uygulanmıştır. Fungusitlerle birlikte uygulanması sonucu hem kimyasal ilaç kullanımında bir azalma hem de hastalıkla mücadelede daha iyi başarı sağlanmıştır (Yıldız ve Yıldız, 1991; Elad vd., 1997).

Bu fungusun en önemli özelliklerinden biri kimyasallara karşı kısa sürede dayanıklılık sağlaması ve yoğun bir şekilde sporulasyona geçmesidir. Fungusun bu özelliğinden dolayı, kimyasal mücadeleye alternatif bir mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi veya bu mücadele yönteminin etkinliğini artırıcı bir önlem geliştirilmesi gerekir. Bu yöntemlerden en önemlisi de biyolojik mücadeledir. Çalışmanın amacı da patojen için enfeksiyon noktalarının bir başka saprofitik fungus tarafından kolonize edilerek patojenin bitki dokusuna girmesini engellemektir. Böylece enfeksiyona açık alanlar hem patojene karşı korunmuş olacak hem de patojenin sekonder yayılması engellenecektir.

2. MATERYAL VE METOD

Çalışmada kullanılan biyolojik kontrol ajanı olan saprofitik fungusu (*Cladosporium sphaerospermum*) tespit etmek amacıyla aynı büyüklükte ve yaşta 20 adet domates yaprağı koparılmış ve kanarları ezilerek sera içinde farklı yerlere asılı bir şekilde bırakılmıştır. Burada yaprak kenarlarının ezilmesinin nedeni ise doku içerisindeki öz suyun dışarı çıkarak buralara isabet edecek sporların çimlenmesini teşvik etmektir. Bir hafta sonra yapılan kontrolde iki domates yaprağının diğerlerine göre daha fazla kolonize edildiği görülmüş ve bu yapraklardan yapılan izolasyonlarda her iki fungusun da aynı tür olduğu tespit edilmiştir. Diğer yapraklarda kolonizasyonun zayıf veya birden fazla saprofit tarafından kolonize edildiği görülmüştür. Burada aynı saprofit türünün veya cinsinin daha yoğun olarak bulunduğu yapraklar tercih edilmiştir. Yine araştırmacı tarafından uygulanan bu metot ile kolonizasyon yeteneği üstün olan saprofitlerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Patates Dekstroz Agar üzerinde saflaştırılan fungus +3 derecede saklanmıştır. Don olayı gerçekleştikten bir gün sonra fungusun konidiosporları %0.5 Tween içeren steril saf su ve spatül yardımıyla ayrı bir erlende stok spor süspansiyonu (5.2×10^{10} konidi/mL) şeklinde hazırlanmıştır. Sonra bu spor süspansiyonunun konsantrasyonu 10^8 spor/ml şeklinde ayarlanarak (Eden vd., 1996) don olayından bir gün sonra ortalama her birinde yaklaşık 27 bitkinin bulunduğu toplam 15 dikim sırasına uygulanmıştır. Aynı yöndeki 15 dikim sırası ise kontrol olarak değerlendirilmiştir. Deneme süresince bu bitkiler üzerinde *B. cinerea*'ya karşı her hangi bir kimyasal mücadele yapılmamıştır.

Don olayından 10 gün sonra hem kontrol hem de muameleli bitkilerindeki *B. cinerea* tarafından kolonize edilmiş ve edilmemiş nekroze yapraklar sayılarak yüzdeleri bulunmuştur. Muameleli ve kontrolde bulunan hastalık yüzdelерinin Abbott formülüne uyarlanması sonucu saprofit fungusun koruyuculuğu tespit edilmiştir. Daha sonra bu biyolojik ajanı olarak kullanılan bu

fungus Prof. Dr. Gülay TURHAN (E.Ü. Ziraat Fakültesi, Bornova-İzmir) tarafında teşhis edilerek *Cladosporium sphaerospermum* olduğu tespit edilmiştir. Çalışma 2002-2003 üretim sezonunda Muğla ili Fethiye ilçesi çiftçi seralarında yürütülmüştür.

3. SONUÇ VE TARTIŞMA

Biyolojik kontrol ajanı olarak düşünülen saprofitik *Cladosporium sphaerospermum*'un uygulanmasından 10 gün sonra kontrol olarak seçilen domates bitkilerinin en üst taze yapraklarının incelenmesi sonucu toplam 354 adet genç yaprakta don zararı sonucu nekrotik belirti tespit edilmiştir. Bunlardan 112 tanesinin *B. cinerea* ile enfekteli olduğu görülmüştür. Bu verilere göre nekroze yaprakların %31.63'ünün *B. cinerea* ile enfekteli olduğu görülmektedir. Muameleli bitkilerde ise toplam 345 adet nekrotik semptom gözlenen taze yaprak sayılmış ve bunların 54'ü *B. cinerea* ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla yaprakların %15.65'i patojen tarafından enfekte edilmiştir. Kontrol ve muameleli domates bitkilerindeki enfeksiyon oranları karşılaştırıldığında saprofit *C. sphaerospermum*'un, nekroze olmuş geç yaprakları *B. cinerea*'ya karşı %50.52 oranında korumuştur. Diğer bir ifadeyle patojen fungus tarafından bu ölü dokuların kolonizasyonu önemli derecede engellenmiştir.

Kurşuni küf, domateste en önemli hastalıklardan biridir. Patojenin polifag oluşu ve fungusitlere karşı kısa sürede dayanıklılık sağlaması nedeniyle üzerinde en çok çalışılan hastalık olma özelliğini taşımaktadır. Kolonize ettiği bitki dokuları üzerinde yoğun sporulasyona geçmesi nedeniyle sera içinde kısa sürede inokulum kaynağının artmasına neden olmaktadır. Bitkiler üzerinde, iklim koşullarının uygun olmadığı dönemlerde açılan yaralar ve her hangi bir nedenle nekroze olmuş bitki dokuları bu fungusun en önemli giriş noktalarıdır. Özellikle de ölmek üzere olan dokular kısa sürede bu patojen tarafından kolonize edilerek buradan sağlıklı dokulara doğru patojenin yayılması gerçekleşmektedir. Hastalıkla mücadelede temel prensiplerden biri, sera içinde enfeksiyon kaynaklarının azaltılması ve sporulasyonun baskı altına alınmasıdır. *B. cinerea*'ya karşı zambak üzerinde yapılan bir çalışmada, yapay olarak oluşturulmuş nekroze yaprak dokuları üzerinde *Ulacladium atrum*, patojenin sporulasyonunu 21 gün sonra %73, nekrotik yaprak kolonizasyonunu %51 oranında azaltmıştır (Elmer ve Kohl, 1998). Yine aynı bitkide, yaprakların üzerinde *B. cinerea*'nın sporulasyonunu baskı altına alma amacıyla yapılan çalışmada aynı antagonist patojenin konidioforlarınca yaprak yüzeyini kaplama oranını %80-96 oranında azaltmıştır (Kohl vd., 1995b). Soğanda yapılan bir çalışmada bitkilerdeki nekrotik yaprak dokularının uzaklaştırılması sonucu hem *B. cinerea*'nın sporulasyonu baskı altına alınmış hem de hastalığın epidemisi geciktirilmiştir (Kohl, vd., 1995a). Bu çalışmalardan da görüldüğü gibi patojenle biyolojik kontrol stratejilerinden en önemlisi, enfeksiyon noktalarının patojenden önce biyokontrol ajanı tarafından kolonize edilerek patojenin bitki dokularına yerleşmesini engellemektir. Bu yolla biyolojik kontrol mekanizmalarından besin ve yer reka-

beti ön plana çıkarılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan saprofitik fungusun *in vitro*'da *B. cinerea*'ya karşı antagonistik etkisinin olup olmadığı araştırılmış ve PDA (Patates-Dekstroz-Agar) besi ortamı üzerinde antagonistik bir etki görülmemiştir. Dolayısıyla elde edilen bu başarının besin ve yer rekabetinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu biyokontrol mekanizmasında fillofere yerleşmiş ve o habitata adapte olmuş saprofitik mikroorganizmalar daha fazla önem kazanmaktadır. Elad vd. (1994) tarafından, fasulye ve domates bitkilerinde *B. cinerea*'nın sporulasyonunu ve enfeksiyon şiddetini azaltmak amacıyla yapılan çalışmada 60 saprofitik mikroorganizma denenmiş ve izolatlardan *Xanthomonas maltophila*, *Bacillus pumilis*, *Lactobacillus* sp., *Pseudomonas* sp. ve *Gliocladium catenulatum* başarılı bulunmuştur. Filloferde yoğun bir şekilde bulunabilen saprofitlerden biri de *Cladosporium* türleridir. Bu fungus *B. cinerea*'ya karşı çeşitli bitkilerde denenmiş ve başarılı bulunmuştur. Gülde yapılan bir çalışmada 4 *Cladosporium* izolatu (FR88, 133, Fp139, 157), bakla bitkisinde ise *Cladosporium cladosporioides*'in MB2.F45 izolatu *B. cinerea* enfeksiyonunu önemli ölçüde azaltmıştır (Jackson vd., 1997; Moradi vd., 1999). MB.2F45 izolatının spor süspansiyonu patojenden iki gün önce veya aynı anda verilmesi sonucunda hastalıkta sırasıyla %54 ve %74 azalma görülmüştür. Eden vd., (1996) tarafından yapılan çalışmada yine aynı fungus türü serada *B. cinerea*'nın domateslerde gövde enfeksiyonunu %80-100'den %0-10'a varan oranlarda azaltmıştır.

Bu yapılan çalışmalardan da görüldüğü gibi bitki yüzeyinde mikrobiyal çeşitliliğin, miktarının ve aktivitesinin artırılmasının bitki hastalıklarının biyolojik mücadelesinde oldukça önemli olduğu görülmektedir. Bu alternatif yöntemde, dayanıklılık problemi olmaması ve etki süresinin uzun olması, biyolojik savaşımın denli önemli olduğu ortaya konmaktadır. Sera koşullarında nekroze olmuş bitki kısımları sera içinde oluşan nem ve çiğ nedeniyle uzun süre nemli ve ıslak kalmaktadır. Dolayısıyla bu kısımlarda fungusitin etkinliği azalmakta ve kısa sürmektedir. Bu nedenle bu noktalar patojene rahatlıkla kolonize edilebilmektedir. Özellikle bu çalışmada olduğu gibi, dokuların genç olması bu işlemi hem kolaylaştırmakta hem de hızlandırmaktadır. Nekroze olmuş dokuların kolay enfekte edilmesinin diğer bir nedeni de bu bölgelerde bitkinin doğal savunma mekanizmasının aktif olmayışıdır. Bu nedenle böyle dokuların enfeksiyonlardan en iyi koruma yöntemlerinden biri de bu çalışmada olduğu gibi saprofitik mikroorganizmaların bitki yüzeyine pülverize edilmesidir. Bu biyolojik ajanlar sayesinde enfeksiyonun engellenmesiyle birlikte patojenin sporulasyonunun da belli oranda baskı altına alınmasıyla sera içinde inokulum kaynağı azaltılacaktır. Bu tür etkin saprofitik biyokontrol ajanların çeşitli fungusitlere karşı dayanıklılığı artırılarak fungusitlerle birlikte uygulanması hem kullanılan ilacın etkinliğini arttıracak hem de ilaç kullanımında tasarruf sağlanacaktır.

KAYNAKÇA

- Akutsu, K., Hirata, A., Yamamoto, M., Mirayae, K., Okuyama, S. ve Hibi, T. (1993). Growth inhibition of *Botrytis* spp. by *Serratia marcescens* B2 isolated from tomato phylloplane. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 59 (1), 18-25.
- Eden, M.A., Hill, R.A. ve Stewart, A. (1996). Biological control of *Botrytis* stem infection of green house tomatoes. *Plant Pathology* 45 (2), 276-284.
- Elad, Y. (1996). Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. *European Journal of Plant Pathology* 102(8), 719-732.
- Elad, Y., Gullino, M.L., Shtieberg, D. ve Aloï, C. (1995). Managing *Botrytis cinerea* on tomatoes in greenhouses in the Mediterranean. *Crop Protection* 14 (2), 105-109.
- Elad, Y., Kohl, J. ve Fokkema, N.J. (1994). Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. *European Journal of Pathology* 100 (5), 315-336.
- Elad, Y., Malathrakis, N.E. ve Dik, A.J. (1996). Biological control of *Botrytis* incited diseases and powdery m87 ildews in greenhouse crops. *Crop Protection* 15 (3), 229-240.
- Elad, Y., Shtienberg, D., Albajes, R. ve Carnero, A. (1997). Integrated management of foliar diseases in greenhouse vegetables according to principles of a decision support system-Greenman. Integrated control in protected crops "mediterranean climate". Proceedings of the meeting at tanerife, canary islands, 3-6 November 1997. *Bulletin-OILB-SROP* 20 (4), 71-76.
- Elmer, P.A.G. ve Kohl, J. (1998). The survival and saprophytic competitive ability of the *Botrytis* spp. antagonist *Ulacladium atrum* in lily canopies. *European Journal of Plant Pathology* 104 (5), 435-447.
- Jackson, A.J., Walters, D.R. ve Marshall, G. (1997). Antagonistic interactions between the foliar pathogen *Botrytis fabae* and isolates of *Penicillium brevicompactum* and *Cladosporium cladosporioides* on faba beans. *Biological Control* 8 (2), 97-106.
- Kohl, J., Molhoek, W.M.L., Plas, C.H. van der, Fokkema, N.J. ve Van der Plas, C.H. (1995a). Suppression of sporulation of *Botrytis* spp. as a valid biocontrol strategy. *European Journal of Plant Pathology* 101 (3), 251-259.
- Kohl, J., Molhoek, W.M.L., Plas, C.H. van der, Fokkema, N.J. ve Van der Plas, C.H. (1995b). Effect of *Ulacladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. *Phytopathology* 85 (4), 393-401.
- McQuilken, M.P., Whipps, J.M. ve Lynch, J.M. (1994). Effects of water extracts of a composted manure-straw mixture on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 10 (1), 20-26.
- Morandi, M.A.B., Maffia, L.A. ve Tatagiba, J.S. (1999). Pathogenicity of *Cladosporium* spp., potential biocontrol agents of *Botrytis cinerea* to rose plants. *Summa Phytopathologica* 25 (4), 367-369.
- Neill, T.M., Niv, A., Elad, Y. ve Shtienberg, D. (1996). Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato stem wounds with *Trichoderma harzianum*. *European Journal of Plant Pathology* 102 (7), 635-643.
- Utkhede, R.S. ve Mathur, S. (2002). Biological control of stem canker of greenhouse tomatoes caused by *Botrytis cinerea*. *Canadian Journal of Microbiology* 48 (6), 550-554.
- Yıldız, F. ve Yıldız, M. (1991). Kurşuni küf (*Botrytis cinerea*) Hastalığı ile Savaşmada Antagonist ve Fungisit Etkileşimleri Üzerinde Araştırmalar. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi 7-11 Ekim 1991, İzmir



Fahri Yiğit, 1967 tarihinde Fethiye'de (Muğla) doğdu. 1986 yılında E.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümüne girdi ve 1990 yılında lisans, 1993'te yüksek lisans, 1998 yılında doktora eğitimini tamamladı. 1999 yılında S.Ü. Ziraat Fakültesinde Yardımcı doçentliğe atandı. Muğla Üniversitesinde halen bu görevi sürdürmektedir.