

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI ORTAMLARDAN İZOLE EDİLEN MAYALARIN
BİYOKONTROL AJAN OLARAK KULLANIM
POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serap TÜRKOĞLU

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU

Ekim 2020

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun tde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Serap TÜRKOĞLU

01/10/2020



TEŞEKKÜR

Bu tezin baŐlangıç aŐamasından itibaren değerli bilgilerini benimle paylaŐan, laboratuvar çalıŐmamda istediğim tım araç ve ekipmanların temininde bulunan, sorularıma içtenlikle cevap veren ve her tırlı desteğini hissettiğim, danıŐman hoca vasfını hakkıyla yerine getiren Prof. Dr. Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU'na tım samimiyetimle teşekkür ederim.

Lisans eğitimimden sonra ylık lisans eğitimim için de desteğini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca Sakarya ilinde beni misafir eden ÇAKMAK ailesine ve canım arkadaŐım Fatma KARAKAYA'ya çok teşekkür ederim

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLOLAR LİSTESİ	ix
ÖZET	x
SUMMARY	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Biyolojik Kontrol Nedir?	4
2.2. Antagonist Mikroorganizma olarak Mayaların Kullanımı	5
2.3. Antagonist Mayaların Etkinlik Mekanizması	8
2.3.1. Besin ve yer mücadelesi	8
2.3.2. Demir	9
2.3.3. Enzim salgılanması	9
2.3.4. Öldürücü toksin	9
2.3.5. Hiperparasitizm	10
2.3.6. Uyarılmış direnç	10
2.4. Antagonist Mayanın Etkinliğini Belirleyen Parametreler	10
2.4.1. İnokülüm miktarı	10
2.4.2. Besiyeri	11

2.4.3. Sıcaklık	11
2.4.4. Depolama şekli	11
2.5. Elma Çürümesine Karşı Yapılmış Biyokontrol Çalışmaları	11

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1. Materyal	14
3.1.1. Mayaların İzolasyonu	14
3.1.2. Besiyeri	15
3.1.3. Kimyasal maddeler	17
3.1.4. Alet ve ekipmanlar	18
3.2. Yöntem	18
3.2.1. Maya suşlarının izolasyonu ve saflaştırılması	18
3.2.2. Küf suşlarının izolasyonu ve saflaştırılması	19
3.2.3. Maya- küf suşlarının stok kültürlerinin hazırlanması	19
3.2.4. Kağıt disk difüzyon testi	19
3.2.5. İzolatların morfolojik tanısı	19
3.2.6. Biyokimyasal tanı testleri	20
3.2.6.1. Tuza dayanıklılık testi	20
3.2.6.2. Glikozda gelişme	20
3.2.6.3. Karbonhidrat fermantasyonu	20
3.2.6.4. Farklı sıcaklıklarda gelişme	21
3.2.6.5. %1'lik asetik asitte gelişme	21
3.2.6.6. Nişasta oluşumunun belirlenmesi	21
3.2.6.7. Azot asimilasyon testi	21
3.2.6.8. Üreaz aktivitesi	22
3.2.7. Seçilen maya izolatının tanımlanması	22
3.2.8. Deney dizaynı ve istatistik analiz	22
3.2.9. Meyve üzerinde antagonistik aktivite	23
3.2.9.1. Maya suşunun hazırlanması	23
3.2.9.2. Küf suşunun hazırlanması	23
3.2.9.3. Meyvelerin analiz için hazırlanması	23

3.2.9.4. Meyvelere maya ve küf suşlarının inokülasyonu	24
3.2.9.5. Meyve tabaklarının depolanması	24
3.2.9.6. Depolama süresi sonunda elmalara toplam maya/küf analizi yapılması	25
3.2.9.7. Çürüme çaplarının ölçümü	26

BÖLÜM 4.

ARAŞTIRMA BULGULARI	27
4.1. Kağıt Disk Difüzyon Test Sonucu	27
4.2. İzolatların Morfolojik Tanı Sonuçları	29
4.3. Maya İzolatlarının Biyokimyasal Tanı Sonuçları	31
4.4. Seçilen İzolatların Dahil Olduğu Cinslerin Özellikleri	32
4.5. Elma Üzerinde Analizi Yapılacak Maya İzolatının Seçimi ve İdentifikasyonu	34
4.6. Toplam Maya/Küf Sayımı Sonuçlarına Göre Antagonistlik Aktivite	34
4.7. <i>C.albidus</i> Uygulamasının Elma Çürümesine Etkisi	51

BÖLÜM 5.

GENEL SONUÇLAR VE ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	63

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

cm ²	: Santimetrekare
g	: gram
kob	: Koloni oluşturan birim
l	: Litre
log	: Logaritmik birim
mg	: Miligram
ml	: Militre
NaCl	: Sodyum Klorür
OGYE	: Oxytetracyclin-Glucose-Yeast Extract Agar
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
TSA	: Tryptic soy agar
TSB	: Tryptic soy broth

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Meyve-sebzelerde hasat sonrası hastalıkları kontrol etmek amacıyla geliştirilen ve ticari olarak temin edilebilen biyokoruyucu ürünler (Spadaro ve Droby, 2016)	5
Şekil 3.1. Deney tasarımı	24
Şekil 3.2. Meyve konulmuş steril kapların üstten ve yandan görünüşleri	25
Şekil 3.3. İnokule edilen maya ve küflerin petri kaplarında görünümü	26
Şekil 3.4. Yaralanmış bölgelerin etrafında gerçekleşen çürüme bölgelerinden örnekler	26
Şekil 4.1. Bazı maya izolatlarının küfler ile birlikte gelişimi (Ortada maya izolatu, çevresinde küf izolatları)	27
Şekil 4.2. Mayaların görünümü	29
Şekil 4.3. Nişasta üretimi besiyeri görünüşü (Siyah renk oluşumu güçlü nişasta üretimini, kahve renk oluşumu zayıf pozitifliği, renk oluşmayışı ise negatifliği göstermektedir)	31
Şekil 4.4. Üre agarda ekimi yapılan mayaların 2. gün ve 5. gün görünüşleri ...	32
Şekil 4.5. İdentifikasyon sonucunu gösteren rapor	34
Şekil 4.6. %85 (üst) ve %95 (alt) nem değerinde maya kültürü bulunmayan elma üzerinde 4 log kob/g <i>Penicillium expansum</i> küfünün gelişimi	35
Şekil 4.7. %85 (sağ) ve %95 (sol) nem değerinde 4 log kob/g konsantrasyonunda elmaya bulaştırılan mayanın 4 log kob/g <i>Penicillium expansum</i> küfünün gelişimi üzerine etkisi	36
Şekil 4.8. %85 (üst) ve %95 (alt) nem değerinde 7 log kob/g konsantrasyonunda elmaya bulaştırılan mayanın 4 log kob/g <i>Penicillium expansum</i> küfünün gelişimi üzerine etkisi	37

Şekil 4.9. %85(üst) ve %95(alt) nem değerinde 9 log kob/g konsantrasyonunda elmaya bulaştırılan mayanın 4 log kob/g <i>Penicillium expansum</i> küfünün gelişimi üzerine etkisi	39
Şekil 4.10. Maya kültürü uygulanmayan elmalarda 14 gün depolama sonunda %85 ve 95 nem değerlerinde küf sayısında meydana gelen değişimler	40
Şekil 4.11. Dört log kob/g maya inoküle edilen elmalarda 14 gün depolama sonunda %85 ve 95 nem değerlerinde küf sayısında meydana gelen değişimler	41
Şekil 4.12. Yedi log kob/g maya inoküle edilen elmalarda 14 gün depolama sonunda %85 ve 95 nem değerlerinde küf sayısında meydana gelen değişimler	41
Şekil 4.13. Dokuz log kob/g maya inoküle edilen elmalarda 14 gün depolama sonunda %85 ve 95 nem değerlerinde küf sayısında meydana gelen değişimler	42
Şekil 4.14. On dört gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 4 log kob/g maya dozu %85 nem değerlerinde maya sayısındaki değişimler	44
Şekil 4.15. On dört gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 4 log kob/g maya dozunda %95 nem değerinde maya sayısındaki değişimler	44
Şekil 4.16. On dört gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 7 log kob/g maya dozunda %85 nem değerinde maya sayısındaki değişimler	45
Şekil 4.17. On dört gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 7 log kob/g maya dozunda %95 nem değerinde maya sayısındaki değişimler	46
Şekil 4.18. On dört gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 9 log kob/g maya dozunda %85 nem değerinde maya sayısındaki değişimler	47
Şekil 4.19. On dört gün depolama süresince 4 farklı 9 log kob/g maya dozu %95 nem değerlerinde maya sayısındaki değişimler	47
Şekil 4.20. Dört log kob/g maya kültürü uygulanan elmaların 4 farklı sıcaklıkta 14 gün depolanması sonunda %85 ve %95 nem değerlerinde maya sayısında meydana gelen değişimler	48

Şekil 4.21. Yedi log kob/g maya kültürü uygulanan elmaların 4 farklı sıcaklıkta 14 gün depolanması sonunda %85 ve %95 nem değerlerinde maya sayında meydana gelen değişimler	49
Şekil 4.22. Dokuz log kob/g maya kültürü uygulanan elmaların 4 farklı sıcaklıkta 14 gün depolanması sonunda %85 ve %95 nem değerlerinde maya sayında meydana gelen değişimler	50
Şekil 4.23. %85 bağıl nem değerinde elmada meydana gelen çürüme çapları (cm)	51
Şekil 4.24. %95 bağıl nem değerinde elmada meydana gelen çürüme çapları (cm)	52

TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1. İzole edilen maya suşlarının kaynakları ve numaraları	14
Tablo 3.2. Kullanılan kimyasal maddeler	17
Tablo 3.3. Kullanılan alet ve ekipmanlar	18
Tablo 3.4. Analiz için seçilen parametreler	23
Tablo 4.1. Küflere karşı en çok inhibisyon gösteren maya izolatları	27
Tablo 4.2. Antifungal test sonuçları	28
Tablo 4.3. Maya izolatlarının morfolojik sonuçları	29
Tablo 4.4. Maya izolatlarının biyokimyasal tanı sonuçları	31
Tablo 4.5. Küf gelişimine yönelik tek yönlü varyans analiz tablosu	43
Tablo 4.6. <i>Cryptococcus albidus</i> gelişimine yönelik tek yönlü varyans analiz tablosu	51
Tablo 4.7. Çürümeye yönelik tek yönlü varyans analiz tablosu	53

ÖZET

Anahtar kelimeler: Antagonistlik maya, biyokontrol, elma

Hasattan sonra mavi küflenmeye neden olan *Penicillium expansum* patojenik küfünün kontrolü taze meyve endüstrisinde elma için önem arz etmektedir. Bu sebeple hem fungusit kullanımını azaltmak hem de ekonomik kayıpları aza indirmek için alternatif bir yöntem olan antagonist mayaların biyokontrol ajanı olarak kullanımı önerilmektedir.

Bu çalışmada ise farklı meyveler üzerinden izole edilen maya suşlarından antagonist özelliği yüksek maya suşu seçilmiştir. Seçilen *Cryptococcus albidus* suşunun 4 7 ve 9 log kob/g konsantrasyonları elma üzerinde açılan yaklaşık 3 mm çapındaki deliklere inoküle edildi ve 10 dakika bekledikten sonra *P.expansum* küfü (4 log kob/g) inoküle edilmiştir. Elmalar steril kaplarda 4, 10, 15 ve 25 °C ile birlikte %85 ve 95 bağıl nem değerlerinde depolanarak her 7 günde bir maya ve küf sayımı yapılmıştır. Açılan delikler etrafında oluşan çürüme çapı da depolamanın 40. gününde ölçülmüştür. Depolama sonunda yapılan toplam maya/küf analizi sonucuna göre sıcaklık ve nem değeri arttıkça küf miktarında azalma olduğu görülmüştür. Örneğin maya kültürü uygulanmamış elmalarda küf miktarı 8,86 log₁₀ kob/g dozuna kadar çıkarken en yüksek maya dozunda 6,95 log kob/g küf dozuna ulaşmıştır. Bu değerler en düşük sıcaklıkta depolama şartlarında görülürken sıcaklık arttıkça küf gelişimi baskılanmıştır. Uygulanan parametreleri göz önüne aldığımızda depolama zamanı-depolama sıcaklığı ile depolama zamanı-maya sayısının küf inhibisyonunda birlikte etkili olduğu görülmektedir (p<0,05). Depolama sıcaklığı, nem ve depolama zamanının ortak etkileşiminin de yine küf gelişimi üzerine inhibisyon etkisi mevcuttur (p<0,05). Çalışmamızda maya kültürü uygulanmamış elmalara göre 7 ve 9 log kob/g maya kültürü uygulanan elmalarda çürüme çapı 0,5 – 0,7 cm'ye kadar düşüş göstermiştir. *P. expansum* sayısında ve çürüme çapında düşüş gösteren ideal sıcaklık 4-15 °C'de %95 nem değerinde 7-9 log kob/g maya konsantrasyon varlığında görülmüştür.

Analiz sonuçlarına göre seçilen maya suşunun belirlenen parametrelerde *P.expansum* küfü üzerinde in vivo ve in vitro şartlarda antagonistlik etki gösterdiği saptanmıştır.

INVESTIGATION OF THE USAGE POTENTIAL OF YEASTS ISOLATED FROM DIFFERENT ENVIRONMENTS AS A BIOCONTROL AGENT

SUMMARY

Keywords: Antagonistic yeast, biocontrol, apple

The control of *Penicillium expansum* pathogenic mold causing blue mold spoilage on apple is an important problem for apple fruit industry. For this reason, the application of antagonist yeasts, which is an alternative method, is recommended to be used as biocontrol agents in order to reduce the use of fungicides and to minimize economic losses.

In this study, yeast strains with high antagonist properties were selected from *Cryptococcus albidus* strains isolated from different fruits. 4, 7 and 9 log cfu/g of the selected yeast strain were inoculated into approximately 3 mm diameter holes drilled on the apple and *P.expansum* mold (4 log cfu/g) was inoculated after 10 minutes. Apples were stored in sterile containers at 4, 10, 15 and 25 ° C with 85% and 95% relative humidity and yeast and mold were counted every 7 days. The diameter of rot formed around the drilled holes was measured on the 40th day of storage. According to the results of the total yeast mold analysis performed at the end of the storage, it was seen that the amount of mold decreased as the temperature and humidity increased. For example, while the amount of mold in apples without yeast culture was increased up to 8,86 log₁₀ cfu/g, it reached 6.95 log cfu/g mold at the highest yeast dose. While these values are observed in the lowest temperature storage conditions, mold growth is suppressed as the temperature increases. Considering the applied parameters, it is seen that storage time-storage temperature and storage time-yeast amount are effective together in mold inhibition (p<0,05). The interaction of storage temperature, humidity and storage time also has an inhibition effect on mold growth (p<0.05). In our study, the diameter of spoilage decreased to 0.5 - 0.7 cm in 7 and 9 log cfu/g yeast cultured apples compared to the apples without yeast culture. The ideal temperature, which showed a decrease in the count of *P.expansum* and the diameter of rot, was observed in the presence of 7-9 log cfu/g yeast concentration at 95% humidity at 4-15 °C.

According to the analysis results, it was determined that the selected yeast strain had an antagonistic effect on *P.expansum* mold in the determined parameters in vivo and in vitro conditions.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2019 verilerine göre meyve ve sebzelerde hasat sonrası kayıplar %21,6'dır. Yine FAO 2011 raporuna göre her yıl gıdaların %30'unun kaybedildiği ya da israf edildiği tahmin edilmektedir. Hasat sonrası bozulmaya neden olabilecek mikotoksinlerin kaynağı olan küfler (Liu ve ark., 2013) ve zararlılar, hasat sonrası kayıpların % 20-25'inden sorumludur (Sharma ve ark., 2009). Patojenik küfler, ürünlerin kalite ve miktarında önemli kayıplara neden olurken ekonomik olarak da zarara sokarlar. Dahası, küfler gıdaları bozarken toksik etkiye neden olan sekonder metabolitler de üretirler (Pozo-Bayón ve ark., 2012). Örneğin, *Penicillium expansum*, hasattan sonra mavi küflenmeye neden olan ve patulin, sitrin ve chaetoglobosins gibi sekonder metabolitler üreten bir patojendir (Andersen ve ark., 2004). Fungal gelişme taze meyvelerde daha çok bozulmaya neden olduğundan meyve endüstrisinde küf kontrolü çok önemlidir (Ruiz-Moyano ve ark., 2016). Bu amaçla insanların fungusitlerin kullanımını azaltmayı ve küf patojenlerine dirençli ilaçların geliştirilmesini talep ettiğini ve bu sayede alternatif kontrol stratejilerini araştırmak için acil bir ihtiyaç ortaya çıkmıştır (Droby ve ark., 2016).

Hasat öncesi ve hasat sonrası tarımsal ürünlerin yetiştirme, depolama, taşıma, dağıtma ve ürünün işlenmesi sırasında meydana gelebilecek bozulmaları kontrol altına almak için pestisit denilen kimyasal maddeler kullanılır. Bu maddelerin kullanımı sonrasında kalan metabolitler, reaksiyon ürünleri toksikolojik etki gösteren pestisit kalıntılarını oluşturur (Tatlı, 2006). Pestisitler sürekli kullanıldığında bazı zararlılar zamanla bu kimyasal maddelere karşı direnç kazanır. Bunlar biyolojik olarak ayrışmadıklarından buldukları ortamda sürekli kalır ve toprak fauna ve florası zarar görür (Haktanır ve Arcak, 1998). Ayrıca bu pestisitler gıda ile birlikte vücuda alındığında birikerek toksisite gösterir (Gürcan, 2001) ve kronik zehirlenme, akciğer hastalığı, kanser,

beyinde hasar, karaciğer ve böbrekte nefroza neden olur (Tatlı, 2000).

Bu sebeple kullanılan tarımsal ilaçların insan sağlığına ve doğaya verdiği zararlar (Özaktan ve ark., 2010) ve zararlıların fungusitlere karşı gösterdikleri artan dirençleri ile birlikte son yıllarda daha az zarar veren yeni koruma yöntemlerine karşı ilgi artmıştır (Pretscher ve ark., 2018).

Son zamanlarda mayaların taksonomisi, ekolojisi, fizyolojisi, biyokimyası ve moleküler biyolojisinin anlaşılmasındaki son gelişmeler onların gıdalardaki önemini de arttırmıştır (Fleet, 2007). Meyve sebze gibi gıdaların bozulmalarını biyolojik olarak kontrol altına almak için mayaların kullanımı kimyasal fungusitlerin kullanımına karşı alternatif bir çözümdür (Liu ve ark., 2013). Mayaların biyolojik kontrol ajanı olarak kullanımında tercih edilmesinin sebepleri onların üretiminin hızlı ve kolay olması, kullanımını ve etkinliğini düzenleyecek özelliklere sahip olmalarıdır (Pimenta ve ark., 2009) . Mayalar, yüksek inhibitör kapasiteleri, meyve yaralarında hızlı kolonizasyonu (Rosa-Magri ve ark., 2011) , kuru yüzeylere uzun süre kolonize etmelerini sağlayan basit beslenme ihtiyacından ve alerjenik spor üretmemelerinden dolayı meyvelerde hasat sonrası biyokontrol ajanı olarak kullanımları birçok çalışma tarafından önerilmiştir (Fan ve Tian, 2000; El-Tarabily ve Sivasithamparam, 2006).

Biyolojik kontrol ajanlarının uygulama başarısı sıcaklık, nem, mevsim ve diğer birçok çevresel faktöre bağlıdır (Nicot ve ark., 2016; Jijakli, 2011). Genel olarak mayalar, hasattan önce ve sonra baskın olan stresli çevresel koşullara (düşük ve yüksek sıcaklıklar, kuruma, çok çeşitli bağıl nem aralığı, düşük oksijen seviyeleri, pH dalgalanmaları, UV radyasyonu) yüksek tolerans gösterirler ve yaralı meyve dokularında bulunan mikro ortama (yüksek şeker konsantrasyonu, yüksek ozmotik basınç ve düşük pH) özel olarak uyarlanırlar (Spadaro ve Gullino, 2004).

Bu çalışmanın amacı, farklı meyvelerin yüzeylerinden izole edilen mayaların küfler üzerindeki inhibe edici özelliğinin araştırılması, en iyi antagonistik etkiyi gösteren maya suşlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve farklı parametreler göz

önüne alınarak elma üzerinde *Penicillium expansum* küfünün üremesine karşı kullanılan maya kültürünün antagonistik etkisinin araştırılmasıdır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Biyolojik Kontrol Nedir?

Doğal olarak ortamda bulunan yada sonradan ortama ilave edilmiş mikroorganizmalar tarafından fermantasyon sırasında üretilen maddelerin yada metabolitlerin kullanılmasıyla “biyolojik koruma” yada “biyokontrol” terimleri açıklanmaktadır (Salas ve ark., 2017).

Pal ve Gardener’a (2006) göre biyolojik kontrol bir organizma kullanarak başka bir organizmanın yeniden üretilmesi ya da bir veya birden fazla bitki patojeni ve aktivitesini önlemek için ortamda yaşayan ya da sonradan ortama eklenmiş organizmadan faydalanmaktır.

Benzer şekilde Vinale ve ark., (2008) biyolojik kontrolü bitki patojenlerinin olumsuz etkilerini azaltmak ve bitkide olumlu tepkileri artırmak için faydalı organizmaların ve bunlarının genlerinin ve/veya metabolitlerinin kullanılması olarak açıklamıştır.

Antagonist terim olarak ‘anti (muhalif)’ ve ‘against (karşısında)’ kelimelerinden türetilmiştir. Antagonist mikroorganizmalar ise zıt olan, karşıt düşman olarak tanımlanabilir (Ağırman ve ark., 2019).

Son yıllarda antagonistik mikroorganizma olarak kullanılan maya, maya benzeri mantarlar ve bakteriler hasat sonrası yaralanmalarda oluşan istilacı patojenlerin kontrolünde umut verici uygulamalardan biri olmuştur (Janisiewicz ve Korsten, 2002).

2.2. Antagonist Mikroorganizma Olarak Mayaların Kullanımı

Çeşitli mikrobik antagonistler (mayalar ve bakteriler) dünyadaki birçok bilim insanı ve çeşitli ticari şirketler tarafından son 30 yılda önemli araştırmaların odak noktası olmuştur ve birçoğu tanımlanarak ticarileştirilmiştir (Şekil 2.1.) (Droby ve ark., 2009). Biyolojik kontrol için başarılı bir ajan, patojenlere karşı antagonist, iyi bilinen biyolojisi, spesifikliğı, üretme ve uygulama kolaylığı, çevreye karşı güvenli olma gibi çeşitli özellikleri taşımalıdır. Maya, bu özelliklerin tümünü sunabilmekte ve çeşitli biyolojik kontrol protokollerinde kullanılabilir (Pimenta ve ark., 2009).

Ürün Adı	Mikroorganizma	Hedef Patojen	Uygulanan Ürün	Üretici Ülke
Aspire	<i>Candida oleophila</i>	<i>Penicillium expansum</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Rhizopus stolonifer</i>	Turunçgiller Yumuşak çekirdekli meyveler Elma Şeftali	ABD
Candifruit	<i>Candida sake</i>	<i>Penicillium expansum</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Rhizopus stolonifer</i>	Yumuşak çekirdekli meyveler	İspanya
YieldPlus	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Botrytis spp.</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Mucor spp.</i>	Yumuşak çekirdekli meyveler Turunçgiller Elma A Armut	Kanada
BioSave	<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Penicillium expansum</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Mucor piriformis</i> <i>Fusarium sambucinum</i> <i>Geotrichum candidum</i>	Yumuşak çekirdekli meyveler Turunçgiller Patates Kiraz Elma , Armut	ABD

Şekil 2.1. Meyve-sebzelerde hasat sonrası hastalıkları kontrol etmek amacıyla geliştirilen ve ticari olarak temin edilebilen biyokoruyucu ürünler (Spadaro ve Droby, 2016)

Şekil 2.1. (Devamı)

BoniProtect	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Yumuşak	Almanya
		<i>Penicillium expansum</i>	çekirdekli	
		<i>Monilinia fructigena</i>	meyveler	
Shemer	<i>Metschnikowia fructicola</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Üzüm	Hollanda
		<i>Botrytis cinerea</i>	Çilek	
		<i>Penicillium digitatum</i>	Yer elması,	
		<i>Penicillium italicum</i>	Turunçgiller	
		<i>Rhizopus stolonifer</i>	Kayısı Şeftali Biber Havuç	
Nexy	<i>Candida oleophila</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Yumuşak	Fransa
		<i>Penicillium expansum</i>	çekirdekli meyveler	
			Turunçgiller	
			Muz	
Pantovital	<i>Pantoea aglomerans</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Turunçgil	İspanya
		<i>Penicillium digitatum</i>	Yumuşak	
		<i>Penicillium expansum</i>	çekirdekli	
		<i>Rhizopus stolonifer</i>	meyveler	
		<i>Monilinia spp.</i>		
Serenade	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Monilinia fructicola</i>	Üzüm	ABD
		<i>Erwinia amylovora</i>	Elma	
		<i>Phytophthora</i>	Armut	
		<i>infestans</i>	Yerfıstığı	
Avogreen	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Cercospora spp.</i>	Avokado	Güney Afrika
		<i>Colletotrichum spp.</i>		

Maya türlerinin birçok çeşidi bitki kısımlarının yüzeyinde yer alır, bunun en önemli nedeni bitkilerin içerdikleri organik asitler ve basit şekerler gibi besin kaynaklarıdır (Glushakova ve ark., 2007).

Antagonist mayaların bu amaçla kullanma nedenleri aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- Besin ve alan arayışında iyi birer rekabetçidirler (Rosa-Magri ve ark., 2011),

- Patojenlerin hiflerine güçlü bağlanma yoluyla onları parazite ederler,
- Antifungal bileşikler salgılama, konak direncini düşürme, biyofilm oluşturma ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) katılımı gibi çeşitli mekanizmalar ile antagonistik aktiviteden sorumludurlar (Liu ve ark., 2013),
- Aşırı sıcaklık, düşük nem, oksidatif stres, besin eksikliği ve olumsuz pH da dahil olmak üzere, canlılıklarını ve etkililiklerini etkileyebilecek çeşitli stresli durumlara karşı abiyotik stres toleransına sahiptirler (Liu ve ark., 2013),
- Genetik olarak stabildirler,
- Düşük konsantrasyonlarda etkinlik gösterirler,
- Çeşitli meyve ürünleri üzerinde bulunan geniş patojen yelpazesi vardır,
- Fermentörlerde ucuz substratlarda büyüeyebilirler,
- İnsanlarda potansiyel olarak toksik olan metabolit üretimi yoktur,
- En sık kullanılan pestisitlere karşı dirençlidirler,
- Diğer kimyasal ve fiziksel tedavilerle uyumluluk gösterirler (Wisniewski ve Wilson, 1992),
- Antibiyotik ve hücre duvarını bozan enzimler üretirler (El-Tarabily ve Sivasithamparam, 2006).

Bitki büyümesi ve meyve olgunlaşması sırasında ve hasattan sonra, depolama veya manipülasyon sırasında, biyokontrol ajanları kombinasyon halinde veya fungusitlerle (önceden veya sonra) dönüşümlü olarak uygulanabilir (Lima ve ark., 2008).

Farklı maya türleri arasında en sık görülen antagonistik suşlar arasında *Aureobasidium pullulans*, *Candida oleophila*, *Cryptococcus laurentii*, *Metschnikowia pulcherrima* ve *Pichia guilliermondii* olarak raporlanmıştır (Ruiz-Moyano ve ark., 2016).

Birçok çalışma antagonistik mayaların küf türlerine karşı iyi bir etkinliği olduğunu göstermiştir (Wang ve ark., 2010; Manso ve Nunes, 2011; Platania ve ark., 2012; Bautista-Rosales ve ark., 2013; Aloui ve ark., 2015). Örneğin Benli ve Çakmakçı (2003) yaptıkları çalışmada elmalarda hasat sonrası hastalıklara neden olan *Penicillium expansum* ve *Botrytis cinerea* küflerine karşı etkili 13 maya izolatu tanımlanmış ve sınıflandırılmıştır. Test sonuçlarına göre maya izolatlarından üçü *Candida* sp., üçü *Rhodosporeidium* sp., üçü *Hansenula* sp., birer adedi *Debaryomyces* sp., *Rodotorula* sp., *Torulaspore* sp. ve bir tanesi de *Williopsis* sp. genuslarına dahil edilmiştir.

2.3. Antagonist Mayaların Etkinlik Mekanizması

Mayaların biyokontrol ajanları olarak kullanımını değerlendirmek için, mayalar ve mantar patojenleri arasındaki antagonistik etkileşimin anlaşılması gerekmektedir (Fleet ve Balia, 2006).

2.3.1. Besin ve yer mücadelesi

Uygun yer ve besin için rekabet ortamda sınırlı kaynak ve çok sayıda tür çeşitliliği olduğunda önem kazanır (Dhami ve ark., 2016). Karbonhidrat, oksijen ve azot gibi besinler için rekabet, mayaların hasat sonrası fungal patojenlere karşı birincil etki şekli kabul edilmektedir. Eğer antagonist mikroorganizma doğru zamanda ve doğru yerde yeterli miktarda bulunur ve besin kaynaklarını verimli bir şekilde kullanabilirse etkin bir biyolojik kontrol mekanizması oluşturabilir (Spadaro ve Droby, 2016).

2.3.2. Demir

Antagonist mayalar topraktaki suda çözünmeyen Fe⁺³ formunu Fe⁺² formuna indirgeyerek sedefor üretir ve böylece patojenlerin aktivitelerini inhibe etmekte önemli rol oynar (Oberegger ve ark., 2001). Çünkü demir biyolojik kontrol mayaları için önemli besin kaynaklarından biridir (Spadaro ve Droby, 2016). Örneğin *Aureobasidium pullulans* suşunun antimikrobiyal etki gösteren ve fusarin C olarak tanımlanan siderofora sahip olduğu tanımlanmıştır (Wang ve ark., 2009a, b).

2.3.3. Enzim salgılanması

Hücresel bileşenleri parçalayan enzimlerin salgılanması (kitinaz, glukonaz ve proteaz gibi), her çeşit konakçı-patojen etkileşimlerinde ortak bir özelliktir. Genellikle, bu tür enzimler yetersiz besin şartlarında bir av hücrenin besin salgılamasına (örn. karbon kaynakları ve aminoasitler) hizmet ederek patojen hücrenin ölümüne neden olur (Freimoser ve ark., 2019).

2.3.4. Öldürücü toksin

Öldürücü proteinler veya öldürücü toksinler olarak adlandırılan hücre dışı protein toksinlerini salgılama yetenekleri nedeniyle, meyvelerde hasat sonrası çürümeyi kontrol etmek için öldürücü bir fenotip (K⁺) sergileyen mayaların kullanımına yönelik özel bir dikkat gösterilmiştir. Bu proteinler, majör hücre duvarı bileşeni β -1,3-glukanin hidrolizi de dahil olmak üzere, farklı mekanizmalarla diğer maya, küf ve patojenik bakterileri öldürme potansiyeline sahiptir (İzgü ve Altınbay, 2004). Zimosin veya öldürücü faktör olarak adlandırılan toksinler mayanın kendisine etki etmediği bir salgı çeşididir (Komiya ve ark., 1995, 1998; Kimura ve ark., 1995; Golubev, 1998; Guyard ve ark., 2002).

2.3.5. Hiperparasitizm

Antagonistik mikroorganizma konakçısını tanıdıktan sonra hifini ona yönelterek ürettiği enzimlerle patojeni eritirler (Bora ve Özaktan, 1998; Özaktan ve ark., 2010); Bunu glukonaz gibi litik enzimlerini salgılaması ile gerçekleştirirler (Wisniewski ve ark., 1991).

2.3.6. Uyarılmış direnç

Bitkiler doğal bağışıklık sistemine sahiptirler ve böylece mikroorganizmaları tanır ve onlara tepki verirler (Chisholm ve ark., 2006; Jones ve Dangl, 2006). Bazı maya türleri de bu doğal bağışıklık sistemini uyarır ve meyvelerdeki patojenlere karşı direnç göstermesini sağlar (Droby ve ark., 2002; El Ghaouth ve ark., 2003; Hershkovitz ve ark., 2012; Lu ve ark., 2013; Hadwiger ve ark., 2015; Sun ve ark., 2018; De Miccolis Angelini ve ark., 2019). Bu uyarılmış direnç, bitki dokularında fenilalanin, amonyak liyaz, fitoaleksinler, peroksidazlar (Fajardo ve ark., 1998) ve etilen üretimi ile ilgilidir (Droby ve ark., 2002). Örneğin bir çalışmada elma yaralarında, *A. pullulans* varlığının β -1,3-glukanaz, kitinaz ve peroksidaz aktivitesinde geçici artışlara neden olduğu görülmüştür (Ippolito ve ark., 2000).

2.4. Antagonist Mayanın Etkinliğini Belirleyen Parametreler

2.4.1. İnokülüm miktarı

Antagonistik mayanın üretim oranı ve hızı, duyuşal kalitesi ve maliyet-etki ilişkisi göz önüne alındığında birçok çalışmada inokülüm miktarı 10^6 - 10^{10} kob/g'dır (Droby ve ark., 2009; Schwenninger ve ark., 2011; Sharma, 2014). İnokülüm miktarının genelde yüksek tutulması istenir çünkü mayaların gelişme hızı bakterilerden daha düşüktür. Bu sebeple konstantrasyonun yüksek olması kontaminasyon riskini de azaltacaktır (Rodgers, 2001).

2.4.2. Besiyeri

Hızlı, verimli ve ucuz fermantasyon ile seri bir üretim için biyolojik kontrol etkinliği bozmadan biyokütle üretimi sağlayan karbon ve nitrojen kaynakları bulmak gereklidir (Droby ve ark., 2009).

2.4.3. Sıcaklık

Biyokontrol ajanların depolama koşullarında canlılıklarını ve aktivitesini koruması için optimum sıcaklığın korunması istenir (Rodgers, 2001). Yapılmış bir çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* mayasının *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* küfleri üzerindeki etkisi 22, 25 ve 32 °C sıcaklıkta incelenmiştir. Optimum gelişme sıcaklığı 15 – 30 °C olan *S. cerevisiae*'nin küfler üzerindeki en iyi antagonistik etkiyi 22 °C de gösterdiği tespit edilmiştir. Küflerin optimum gelişme sıcaklığı 25 °C – 35 °C olduğundan antagonistik maya bu sıcaklık aralığında inhibisyon etkisini kaybetmeye başlamıştır (Persons ve ark., 2013).

2.4.4. Depolama şekli

Kurutma, kuru ortamda veya yağ süspansiyonu içinde koruma mayaların saklanması tercih edilen yöntemlerdir (Droby ve ark., 2009). Bir antagonist mayanın 6- 24 ay etkili olması istenir. Kültürün saklanma süresi koruyucu ve taşıyıcı maddelerle uzatılabilir (Rodgers 2001).

2.5. Elma Çürümesine Karşı Yapılmış Biyokontrol Çalışmaları

Elma, Türkiye’de ve dünya genelinde hemen hemen tüm insanların damak tadı ve gelir seviyelerine uygun bir meyve olduğundan ticaret alanı geniş ve tüketici talebinin hızlı değişim gösterdiği meyvelerdendir (Bayav, 2007). Türkiye ise elma üreticisi bakımından Çin ve ABD gibi ülkelerin öncü olduğu listede yıldan yıla değişmekle birlikte bazı yıllar beşinci bazı yıllar altıncı olarak yer bulmaktadır (Taşçı, 2017). 2019 verilerine göre Türkiye’de yıllık elma üretimi 3 618 960 tondur (TÜİK, 2019).

Dünyada bulunan 6500 elma çeşidinden 450'si ülkemizde yetişmektedir. Bu çeşitler arasında en verimli olanları Starking, Golden ve Amasya elmasıdır (Aşkın ve ark., 2002). Taze elma meyvesinin %84'ü su iken kalan kısmı vitaminler, mineraller, karbonhidrat, protein ve pektin içerdiğinden insan diyetinde önemli bir yeri vardır (Oğuz ve Karaçayır, 2009).

Isparta'da yapılan bir çalışmada hasat sonrası elmalarda en çok *Penicillium expansum* küfünün neden olduğu “mavi küf” hastalığı, daha sonra *Alternaria alternata* küfünün neden olduğu “yüzeysel çürüklük” ya da “meyve içi siyah çürüklük” ve *Botrytis cinerea* küfünün neden olduğu “kurşuni küf” hastalığının daha yaygın olduğu gösterilmiştir (Özgönen ve Kılıç, 2009).

Penicillium türleri 0-32 °C arasında gelişim gösterirken *P. expansum* en iyi 20 °C de gelişim gösterir. Meyvenin yaralanan kısmında çok fazla sayıda spor ürettiğinden hava akımı ile yayılarak kontaminasyona neden olurlar (Özgönen ve Kılıç, 2009). Meyvenin sahip olduğu hücre duvarı önemli bir bariyer olmasına rağmen *P. expansum* pektin ve hemiselüloz gibi maddeleri parçalayarak bu duvarı aşar yada lentisel denilen yaralardan içeri girerek dokuya zarar verirler (Lahlali ve ark., 2005; Ajayi ve Olasehinde, 2009).

Hasat sonrasında görülen hastalıklara karşı, son 20 yılda bazı bakteri, maya ve fungus kaynaklı mikroorganizmalar biyolojik savaşında etkili bulunmuş ve ticari olarak uygulamada kullanılmaya başlanmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalar daha çok turunçgil, elma, şeftali ve patates üzerinde yoğunlaşmıştır (Yıldız ve ark., 1998; Delen ve ark., 2000; Dündar ve ark., 2001; Kınay ve ark., 2001; 2002).

P. expansum suşundan kaynaklanan hasat sonrası mavi çürüklük hastalığını kontrol etmek için armut yüzeyinden elde edilmiş 6 maya suşu Golden Delicious türü elmaya muamele edilmiş ve *Cryptococcus infirmominiatus* suşu YY6 ve *C. laurentii* suşu HRA5 etkinliğinin ve popülasyonunun daha yüksek olduğu saptanmıştır (Chand-Goyal ve Spotts, 1996).

Elma bitkisinin yaprak, çiçek ve meyve yüzeylerinden izole edilen 123 maya izolatu *P. expansum* ve *B. cinerea* patojenlerine karşı etkisini test etmek için aynı anda meyve yaralarına inokülüm yapılmış ve 22 °C de 7 gün inkübe edilmiştir. Süre sonunda 12 maya izolatının *P. expansum* küfüne, 37 maya izolatının da *B.cinerea* küfüne karşı inhibisyon etkisi bulunmuştur (Benli, 2003).

Meksika’da hasat sonrası mavi küf hastalığını kontrol altına almak için *Deboramycess hanseii*’nin 20 suşu izole edilmiştir. İn vitro denemelerinde 3 suş 2 haftalık depolama sonrasında hastalık oranını %80’e kadar düşürmüştür (Hernández-Montiel ve ark., 2010).

Yine mavi küf çürüklüğüne karşı yapılan pilot bir testte elma yüzeyinden izole edilen *Metschnikowia pulcherrima* ve *C. laurentii* antagonist mayaları bir karışım haline getirilmiştir. Bu karışım önce yalnız daha sonra sodyum bikarbonatın kombinasyonu ile birlikte yine elmalara uygulanmıştır. Meyveler 2005-2006 ve 2006-2007 yılları arasında yaklaşık 6 ay süre ile kontrollü atmosfer şartlarında depolanmıştır. Süre sonunda ilk yıl mavi küf oluşumunda %84-97 oranında düşüş gözlenirken, 2. yıl da %73-82 oranında düşüş gözlenmiştir. Çalışmada antagonist mayaların yalnız yada sodyum bikarbonat ile kombinasyonu mavi çürüklüğün kontrolünde başarılı olduğu saptanmıştır (Janisiewicz ve ark., 2008).

Fitopatojenik funguslara karşı inhibitör etki göstermesi için 38 farklı ortamdaki maya izolatları elde edilmiştir. Mayaların çoğunluğu in vitro ve elma meyvesi üzerindeki analizlerinde fungusları parazite ettiği gözlenmiştir (Pretscher ve ark., 2018).

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Mayaların İzolasyonu

Bu çalışmada Sakarya ilinde bulunan Essen marketten elma, armut ve mandalina meyveleri temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan maya ve küf suşları bu meyvelerin sap ve dip(çanak) kısımlarından izole edilmiştir.

Tablo 3.1. İzole edilen maya suşlarının kaynakları ve numaraları

Maya Suş No	İzole Edildiği Kaynak
EU1	ELMA-UÇ
ES1	ELMA-SAP
EU2	ELMA-UÇ
ES2	ELMA-SAP
AU1	ARMUT-UÇ
AS1	ARMUT-SAP
MU1	MANDALİNA-UÇ
MS1	MANDALİNA-SAP
MU2	MANDALİNA-UÇ
MS2	MANDALİNA-SAP

3.1.2. Besiyeri

Besiyeri 1: Oxytetracycline Glucose Yeast Extract Agar (OGYE)

Hazır dehidre olarak kullanılmış ve tarif edildiği şekilde yapılmıştır. 121 °C'de 15 dk otoklavdan çıktıktan sonra OGY supplement ilave edilmiştir.

Besiyeri 2: Tryptic Soy Agar (TSA)

Hazır dehidre olarak kullanılmış ve tarif edildiği şekilde yapılmıştır. Ek olarak %0,06 yeast extract katılmıştır. 121 °C'de 15 dk otoklavlandıktan sonra petri kaplarına dökülmüştür.

Besiyeri 3: Tryptic Soy Agar (TSA) pH: 4.5

Hazır dehidre olarak kullanılmış ve tarif edildiği şekilde yapılmıştır. Ek olarak %0,06 yeast extract katılmıştır. pH sını ayarlamak için laktik asit kullanılmıştır. 121° C'de 15 dk otoklavlandıktan sonra petri kaplarına dökülmüştür.

Besiyeri 4: Tryptic Soy Broth

Hazır dehidre olarak kullanılmış ve tarif edildiği şekilde yapılmıştır. Test tüplerine yaklaşık 7 ml doldurulmuştur. Otoklava konularak 121° C'de 15 dk sterilize edilmiştir.

Besiyeri 5: Yeast extract agar

Yeast extract	5.0 g
Pepton	10.0 g
Agar	20.0 g
Distile su	1000 ml

121 °C'de 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Besiyeri 6: Glikoz pepton yeast extract agar

Yeast extract	10.0 g
Pepton	20.0 g
Agar	10.0 g
D- glukoz	20.0 g
Distile su	1000 ml

121 °C'de 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Besiyeri 7: Malt Extract Agar

Malt extract	30.0 g
Pepton	3.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000 ml

121° C'de 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Besiyeri 8: Yeast Malt Extract Agar

Malt extract	3.0 g
Yeast extract	3.0 g
Pepton	5.0 g
Dextrose	10.0 g
Agar	20.0 g
Distile su	1000 ml

121 °C'de 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Besiyeri 9: Üre Agar

KH ₂ PO ₄	2.0 g
Pepton	1.0 g
Fenol kırmızısı	0,012.0 g
NaCl	5.0 g
Agar	20.0 g
Distile su	1000 ml
Glikoz (dekstroz)	2.0 g
Üre solüsyonu(%20)	20 ml

* Membran filtre ile steril edilen üre solüsyonu otoklavda 121 °C’de, 15 dk sterilize edilen ortama, steril koşullarda ilave edilmiştir (Atlas, 2004).

Besiyeri 10: Yeast Carbon Base Agar

Yeast Carbon Base	11,7 g
Agar	20.0 g
Distile su	1000 ml

3.1.3. Kimyasal maddeler

Tablo 3.2. Kullanılan kimyasal maddeler

MADDELER	MARKA
NaCl	Merck
Pepton	Merck
Etanol	Tekkim
Asetik Asit	Labkim
Potasyum klorür	Yasin teknik
Potasyum nitrat	Yasin teknik

Tablo 3.2. (Devamı)

MADDELER	MARKA
İyot	Yasin teknik
Potasyum iyodür	Yasin teknik
Gliserol	Sigma- Aldrich
D-glukoz	Merck
Agar- agar	Merck

3.1.4. Alet ve ekipmanlar

Tablo 3.3. Kullanılan alet ve ekipmanlar

Alet , Ekipman	Marka
Hassas Terazı	Radwag WTC2000
Manyetik ısıtıcı	Mtops MS300HS
pH metre	WTW inoLab pH730
Otoklav	WiseClave WAC-80
Etüv	Microtest min
İnkübatör	BINDER KB 115
Steril kabin	TEZSAN
Su banyosu	WiseBath WSB-30
Soğutmalı santrifüj	Hettich Universal 320R
Manyetik ısıtıcı	Mtops MS300HS

3.2. Yöntem

3.2.1. Maya suşlarının izolasyonu ve saflaştırılması

Maya izolasyonunda kullanılacak elma, mandalina ve armut örneklerinden swab yardımı ile alınan kültürler peptonlu su içeren tüpler içine aktarılarak seyreltme işlemi yapılmıştır. Daha sonra seyreltilen her bir örnekten yayma ekim yöntemine göre OGYE agara ekim yapılarak 25 °C'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon

süresi sonunda gelişen maya kolonileri öze yardımıyla alınarak ve tekrardan TSA üzerine tek koloni düşürme tekniğiyle saflaştırılmıştır.

3.2.2. Küf suşlarının izolasyonu ve tanımlanması

Aynı meyvelerden alınan swab örneklerinin OGYE agarda gelişen küf suşları tek koloni düşürme tekniğine göre saflaştırılmıştır. Petriler 25 °C'de 3 gün inkübe edilmiştir.

3.2.3. Maya- küf suşlarının stok kültürlerinin hazırlanması

Farklı maya ve küf suşlarının stok kültürleri hazırlanması için maya ve küf suşları Tryptic Soy Broth içeren tüplere ekim yapılarak, 25 °C'de mayalar 48 saat küfler 72 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra kültürden 850 mikrolitre alınarak ependorf tüplere aktarılmış ve üzerine 150 mikrolitre %87 gliserol çözeltisi ilave edilmiş ve -20 °C'de daha sonra yapılacak tanımlama testleri için depolanmıştır.

3.2.4. Kağıt disk difüzyon testi

Saflaştırdığımız mayaların küfler üzerinde antagonistik özelliğini belirlemek amacıyla kağıt disk difüzyon testi uygulanmıştır. Tryptic Soy Agar (pH:4,5)'ın merkezine yaklaşık 6 mm çapında maya kültürü eklenmiş, etrafında 4 noktaya karşılık gelecek şekilde farklı küf suşları yerleştirilmiştir. 25 °C'de 4 gün inkübe edilerek, mayaların küfler üzerindeki inhibisyon etkisi incelenmiştir.

3.2.5. İzolatların morfolojik tanısı

İzolatların ışık mikroskopunda hücre şekli, tomurcuklanma yapısı incelenmiştir. İzolatların koloni renklerine belirtilmiştir.

3.2.6. Biyokimyasal tanı testleri

3.2.6.1. Tuza dayanıklılık testi

%10 NaCl içeren Glikoz Pepton Yeast Ekstrakt Agar hazırlanarak 7 ml olacak şekilde tüplere dağıtılıp otoklavlanarak sterilize edilmiştir ve yatık şekilde katılaşması sağlanmıştır. Meyvelerden izole edilen maya suşları yatık agar olarak hazırlanan Glikoz Pepton Yeast Extract Agar içeren tüplere çizgi ekim yapılarak, 28 °C’de inkübe edilmiştir. 15 gün süresince gelişimleri izlenmiştir (Lodder, 1970; Şahin ve Öztürk, 1998; Apan, 2007).

3.2.6.2. Glikozda gelişme

% 50 D-glikoz içeren Yeast Extract Agar hazırlanarak 7 ml olacak şekilde tüplere dağıtılıp otoklavlanarak sterilize edilmiştir ve yatık şekilde katılaşması sağlanmıştır. Çizgi ekim yöntem ile maya suşları ekilerek ve 25 °C’de 15 gün inkübasyona bırakılarak gelişimleri izlenmiştir (Apan, 2007).

3.2.6.3. Karbonhidrat fermantasyonu

Maya örneklerinin D-glikoz’u fermente yeteneklerini incelemek amacıyla, % 2 Glikoz ilavesi ile hazırlanan Yeast Extract Broth sıvı besiyerine (durham tüpü bulunan) 1 ml maya örnekleri eklenmiş ve 25 °C’de 15 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince tüplerde bulanıklık ve gaz oluşumu incelenmiştir (Barnett ve ark., 1990, Kurtzman ve Fell, 2000). Değerlendirmede, 7 günde gaz oluşumu gözlenen örnekler (+), 15. gün ve sonrası gaz oluşumu gözlenmeyen örnekler (-) olarak değerlendirilmiştir (Apan, 2007).

3.2.6.4. Farklı sıcaklıklarda gelişme

Maya suşlarından, Yeast Malt Extract Agar'a çizgi ekim yöntemiyle ekim yapıldıktan sonra örnekler 25 °C, 30 °C, 35 °C, 37 °C, 40 °C'de 4 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyondan sonra gelişen maya örnekleri pozitif olarak değerlendirilmiştir (Barnett ve ark., 1990; Mouhammad, 2015).

3.2.6.5. %1'lik asetik asitte gelişme

Sterilize edilen %1'lik asetik asit Malt Extract Agar içine ilave edilerek analize hazır hale getirilmiştir. Çizgi ekim yöntem ile maya suşları ekilerek ve 28 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 15. gününe kadar koloni gelişimleri incelenmiştir (Apan, 2007; Mouhammad, 2015).

3.2.6.6. Maya suşlarının nişasta oluşumu belirlenmesi

Maya suşları Yeast Malt Extract Agar besiyerine ekimi yapılmış ve 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen maya kolonileri üzerine lugol iyot çözeltisi damlatılmıştır (Barnett ve ark., 1990; Mouhammad, 2015). Siyah renk oluşumu güçlü nişasta üretimini, kahve renk oluşumu zayıf pozitifliği, renk oluşumayı ise negatifliği göstermektedir.

3.2.6.7. Mayaların azot asimilasyon testi

Nitratı tek azot kaynağı olarak kullanma kapasitesinin belirlenmesi oldukça önemli bir testtir çünkü türlerin yaklaşık dörtte biri nitratı kullanabilmektedir (Barnett ve ark., 1983, 2000). Bu çalışmada 2 farklı azot kaynağında maya suşlarının gelişimi incelenmiştir. Yeast Carbon Base Agar'a her bir azot kaynağının ilave edilmiş ve 72 saat katı besiyerinde gelişen kolonilerden 0.03 ml maya örneği 2 ml % 0.85 NaCl içeren ortama alınarak besiyerine buradan ekimi yapılmıştır. Her bir azot kaynağı (Nitrat, Pepton(Kontrol)) % 0.5 oranında, sonra filtre ile sterilize edilerek besiyerine ilave edilmiştir (Barnett ve ark., 1990; Mouhammad, 2015).

3.2.6.8. Üreaz aktivitesi

Yeterince vitamin sağlandığında bütün mayalar tek azot kaynağı olarak düşük konsantrasyonlarda üreden yaralanabilmekte ve pepton gibi bir organik azot kaynağı içeren ortamda yüksek konsantrasyonlardaki üreyi amonyağa hidroliz etme yeteneği açısından farklılık göstermektedirler. Bu test için, maya suşu Üre Agar'a inokule edilerek 25°C'de inkübe edilmiştir. Koyu pembe renk oluşumu reaksiyonun pozitif olduğunu göstermektedir (Barnett ve ark., 1983, 2000; Akpınar, 2008).

3.2.9. Seçilen maya izolatının tanımlanması

Mayaların tür düzeyine kadar olan identifikasyonunda esas dayanak noktası, karbonhidrat asimilasyon testidir (Tümbay, 2009). Maya suşlarının karbonhidrat fermentasyon profili, üreticinin talimatlarına göre API 20C AUX test kiti (Biomérieux, Fransa) kullanılarak belirlenmiş ve uygun şekilde tanımlanmıştır (Alakeji, 2015).

3.2.7. Deney dizaynı ve istatistik analiz

Bu çalışmada üç bağımsız deneme yapılmıştır. Her denemede, elmalar tek konsantrasyonda küf ve 3 farklı konsantrasyonda maya ile muamele edilmiştir. Elma örnekleri 4 farklı sıcaklık (4, 10, 15 ve 25 °C) ve 2 farklı bağıl nem (85 ve 95) altında depolanmıştır. İnokülüm oranı, depolama sıcaklığı, depolama nemi ve depolama süresinin maya ve küf büyümesi üzerindeki etkileri bölünmüş parseller tasarımı (split-plot design) ile analiz edilmiştir. Ana parsel faktöründe, inokülüm zamanı (denemeler) engelleyici faktör olarak kabul edilmiş ve süreksiz değişken olarak inokülüm oranı, depolama sıcaklığı ve depolama nemi analiz edilmiştir. Alt parsel faktör için depolama süresi, inokülüm oranının depolama süresi ile etkileşimi, depolama sıcaklığının depolama süresi ile etkileşimi ve depolama neminin depolama süresi ile etkileşimi değişkenler olarak ele alınmıştır. İnokülüm oranı, sıcaklık,deplama nemi ile inokülüm zamanının etkileşimleri hata terimleri olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel analiz JMP

(13.0 sürümü; SAS Institute Inc., Cary, NC, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Veriler varyans analizi (ANOVA) ile analiz edilmiş ve istatistiksel fark Tukey-HSD çoklu karşılaştırma testi yardımıyla $P < 0.05$ düzeyinde belirlenmiştir.

3.2.8. Meyve üzerinde antagonistik aktivite

Farklı maya suşlarının farklı küf suşları üzerinde yapılan test sonuçları üzerine en iyi antagonistik aktivite özelliği gösteren maya EU2.2 suşu olmuştur. Bu suşun *P.expansum* küfüne antifungal etki gösterdiği görülmüştür. Aynı zamanda bu suşun fizyolojik ve biyolojik tanı sonuçları bu maya suşunu seçmemizde etkili olmuştur.

3.2.8.1. Maya suşunun hazırlanması

Seçilen maya suşunun (EU2.2) 200 ml TSB'de 25 °C'de üremesi sağlanmıştır. Bu maya örneğinin peptonlu su içinde 10^6 kob/g, 10^9 kob/g ve 10^{11} kob/ml olacak şekilde dilüsyonları hazırlanmıştır.

3.2.8.2. Küf suşunun hazırlanması

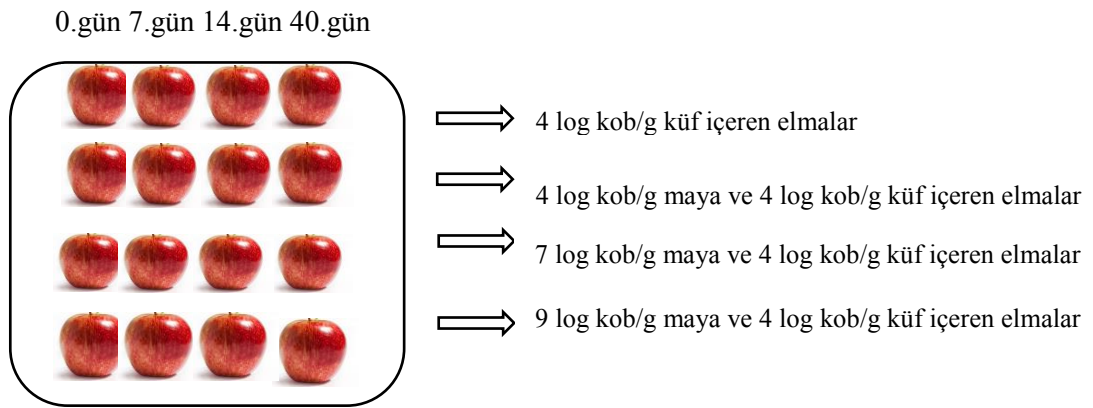
Seçilen küf suşu (*Penicillium expansum*) 200 ml TSB'de 25 °C inkübatörde yetiştirilmiştir. Bu küf örneğinin peptonlu su içinde 10^6 kob/ml dilüsyonları hazırlanmıştır.

3.2.8.3. Meyvelerin analiz için hazırlanması

Meyveler ilk önce dış kirliliğinden arındırılması için çeşme suyu ile yıkandı. Daha sonra % 1'lik klorlu suya batırılıp çıkarılarak sterilize edildikten sonra steril saf su ile durulanıp analiz için hazır hale getirilmiştir.

3.2.8.4. Meyvelere maya ve küf suşlarının inokülasyonu

Elmaların iki kenarından pipet ucu ile yaklaşık 3 mm eninde ve 3 mm çapında delikler açıldıktan sonra deliklere düşük dilüsyondan başlayarak önce 10 µL *Cryptococcus albidus* kültürü inoküle edilmiştir. İnokülümün on dakika kuruması beklendikten sonra 10 µL *Penicillium expansum* küf inoküle edilmiştir. Meyveler steril, kilitli saklama kaplarına açılan delikler yukarıda olacak şekilde yerleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Deney tasarımı

3.2.8.5. Meyve tabaklarının depolanması

Meyveler farklı sıcaklık ve nem koşullarında depolanmışlardır. Tablo 3.4.'de meyvelerin depolama parametreleri verilmiştir. Hazırlanmış meyve kapları içine potasyumun nitratın aşırı doymuş çözeltisi hazırlanıp steril bir beherin içine konularak meyve kapları içinde %95'lik bir nem ortamı oluşturulmuştur. Aynı işlem potasyum klorürün doymuş çözeltisi ile yapılarak %85'lik bir nem ortamı oluşturulmuştur. Meyveler 4, 10, 15 ve 25 °C olmak üzere 4 farklı sıcaklıkta depolanmıştır.



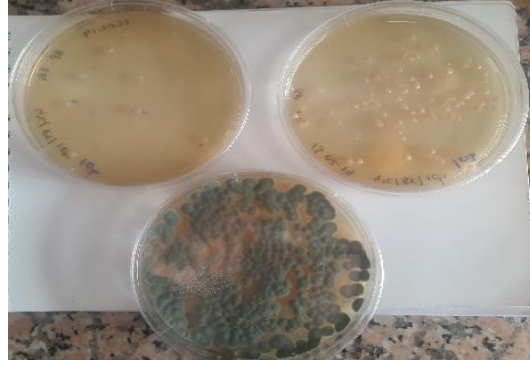
Şekil 3.2. Meyve konulmuş steril kapların üstten ve yandan görünüşleri

Tablo 3.4. Analiz için seçilen parametreler

Maya konsantrasyonu (log kob/g)	Bağıl Nem (%)	Sıcaklık (°C)			
		4	10	15	25
4	85				
	95				
7	85				
	95				
9	85				
	95				

3.2.8.6. Depolama süresi sonunda elmalara toplam maya/küf analizi yapılması

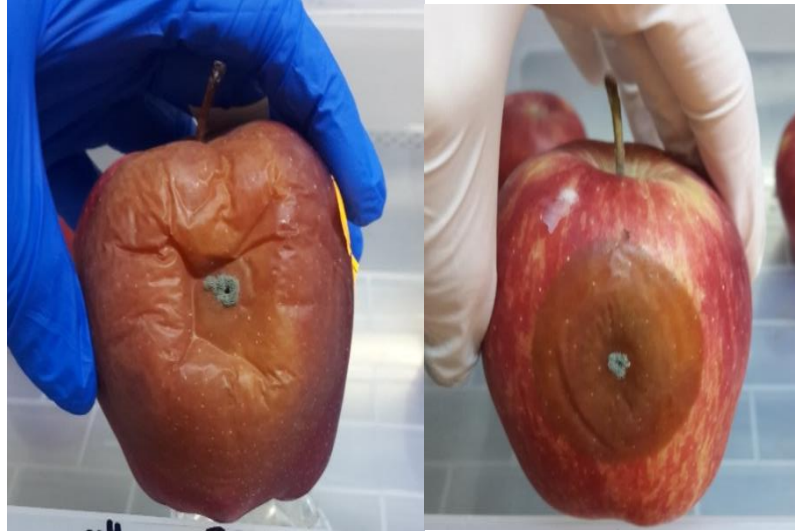
Meyvelerin 0. gün, 7. gün ve 14. gün sonunda toplam maya/küf tayini yapılmıştır. Analiz için meyvenin delinmiş kısmından steril bir bıçak yardımı ile 10 gram parça kesilip stomacher poşet içine konulmuştur. 90 ml peptonlu su ile tamamlanıp, parçalayıcıda (bagmixer) 2 dk boyunca parçalamaya bırakılmıştır. OGYE agar kullanılarak yayma yöntemine göre toplam maya ve küf sayımı yapılmıştır.



Şekil 3.3. İnokule edilen maya ve küflerin petri kaplarında görünümü

3.2.8.7. Çürüme çaplarının ölçümü

40. gün sonunda elma yüzeyinde bozulma nedeniyle oluşan yaraların etrafındaki çürümenin çapı mezüre yardımıyla ölçülmüştür ve cm olarak raporlanmıştır.

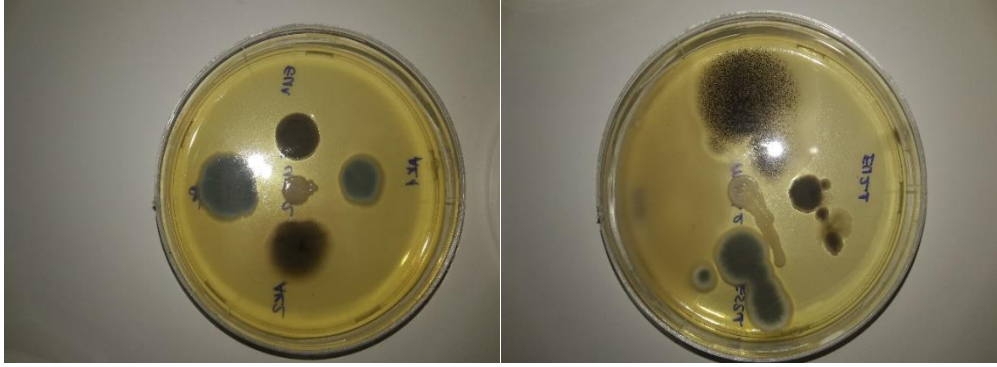


Şekil 3.4. Yaralanmış bölgelerin etrafında gerçekleşen çürüme bölgelerinden örnekler

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Kağıt Disk Difüzyon Test Sonucu

20 maya izolatının 17 küf izolatı üzerindeki test sonuçları Tablo 4.1.'de verilmiştir. Tabloya göre küfler üzerinde en çok inhibisyon etki gösteren 6 maya izolatı seçilmiştir.



Şekil 4.1. Bazı maya izolatlarının küfler ile birlikte gelişimi (Ortada maya izolatı, çevresinde küf izolatları)

Tablo 4.1. Küflere karşı en çok inhibisyon gösteren maya izolatları

Seçilen Maya İzolatları
AU1
EU2.2
MS1.4
MU1.1
MU2.1
MU2.2

Tablo 4.2. Antifungal test sonuçları

MAYA	*P.e.	**Af1 1/7	MU1	MS2	ES1.1	ES1.2	EU1.1	EU1.2	EU1.3	AS1	AS2	AS3	AU1	ES2.1	EU2.1	EU2.2	*** An
EU1.1	-	-	+	T	++	+++	+++	-	-	-	++	-	-	+	T	+	+
EU1.2	+	+	+	+	+	-	++	-	+++	-	++	-	-	-	-	-	++
ES1.1	+++	+++	+	T	++	++	+++	-	T	-	+++	-	-	+++	+++	T	T
ES1.2	+++	+	+	+++	+	+++	+++	-	++	+++	+++	-	-	-	+++	-	+++
EU2.1	+	+	+	++	+	+++	+++	-	++	-	++	++	-	-	+++	-	+++
EU2.2	+++	++	+	+++	+	+	+++	-	+++	+++	+++	-	-	++	++	-	+++
ES2.1	++		T	+++	++	T	++	-	+++		++	-	T	T		-	+++
MS1.1	+++	-	+	T	++	+	+++	-	T	-	+++	-	T	++	+++	T	T
MS1.2	+++	-	+	T	++	++	++	-	T	-	++	-	-	++	-	T	T
MS1.3	++	-	-	T	++	++	++	-	T	T	++	-	-	++	-	T	T
MS1.4	++	+	+	+++	+	-	++	-	+++	-	++	-	-	++	++	-	+++
MU1.1	++	+	+	+++	++	++	++	-	+	++	++	-	-	-	+++	-	+++
MU1.2	++	-	-	T	+	++	+++	+	T	-	++	-	-	++	+++	T	T
MS2.1	++	-	-	T	+	+++	+++	+	+	+++	+++	++	-	++	++	T	T
MU2.1	+++	+	+	+++	+	++	+++	-	+++	++	++	+	-	+++	++	-	+++
MU2.2	++	++	+	++	+	++	++	-	+++	-	++	-	-	+++	++	-	+++
AU1	+++	+	-	T	++	++	+++	-	T	++	+++	-	++	++	++	T	T
AS1	+++	+	-	T	+	+	+++	-	T	-	+++	-	-	++	+++	T	T
AU2	+++	-	-	T	++	++	+++	-	T	-	++	-	-	+++	+++	T	T
AS2	-	+	+	T	+	+++	++	-	T	-	++	-	-	+++	-	T	T

Not. (+++): inhibisyon etkisi çok yüksek (++) : inhibisyon etkisi yüksek (+):inhibisyon etkisi çok az var (-): inhibisyon yok (T): gelişme yok
 *P.e. : *Penicillium expansum* **A.f : *Aspergillus flavus* ***A.n. : *Aspergillus niger*

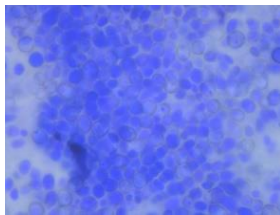
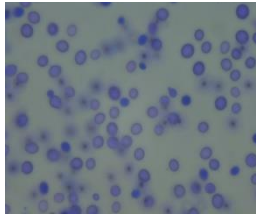
4.2. İzolatların Morfolojik Tanı Sonuçları

En iyi antagonistik özellik gösteren izolatların morfolojik tanıları Tablo 4.2.' de verilmiştir. Bu sonuçlar izolatların tomurcuklanma yapması, hücre şekli maya morfolojisine uygun olduğunu göstermektedir.

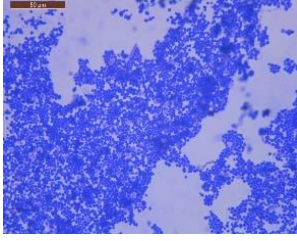
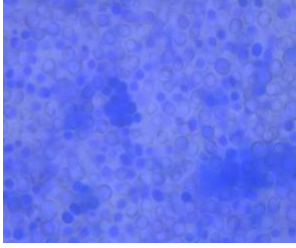
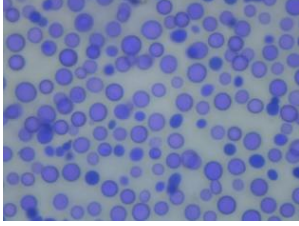
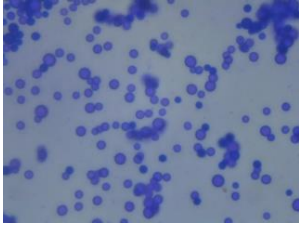


Şekil 4.2. Mayaların görünümü

Tablo 4.3. Maya izolatlarının morfolojik sonuçları

Suş	Mikroskopik Görüntü	Hücre Şekli	Tomurcuklanma	Koloni Rengi
AU1		Yuvarlak	Yok	Pembe
EU2.2		Yuvarlak	Var	Krem

Tablo 4.3. (Devamı)

Suş	Mikroskopik görünüm	Hücre şekli	Tomurcuklanma	Koloni rengi
MS1.4		Yuvarlak	Var	Krem-Beyaz
MU1.1		Yuvarlak	Var	Krem-Beyaz
MU2.1		Yuvarlak	Var	Turuncu- pembe
MU2.2		Yuvarlak	Var	Turuncu- pembe

4.3. Maya İzolatlarının Biyokimyasal Tanı Sonuçları

Mayaların identifikasyonu için kullanılan belli testler yapılmış ve sonuçları Tablo 4.4.'de verilmiştir. Bu sonuçlar izolatların maya suşları olabileceğini doğrulamaktadır.

Tablo 4.2. Maya izolatlarının biyokimyasal tanı sonuçları

Suş	Tuza Dayanıklılık (%10)	%50 Glikozda Gelişme	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme					%1'lik Asetik Asitte Gelişme	Azot Asimilasyon Testi
			25°C	30°C	35°C	37°C	40°C		
AU1	+	+	+	+	+	-	-	-	+
EU2.2	+	+	+	+	+	-	+	-	+
MS1.4	+	+	+	+	+	+	+	-	+
MU1.1	+	+	+	+	+	-	+	-	+
MU2.1	+	+	+	+	+	-	+	-	+
MU2.2	+	+	+	+	+	-	+	-	+

Not: (+): gelişme var (-): gelişme yok (Belirtilen süre dahilinde)

4.3.1. Nişasta analiz sonuçları

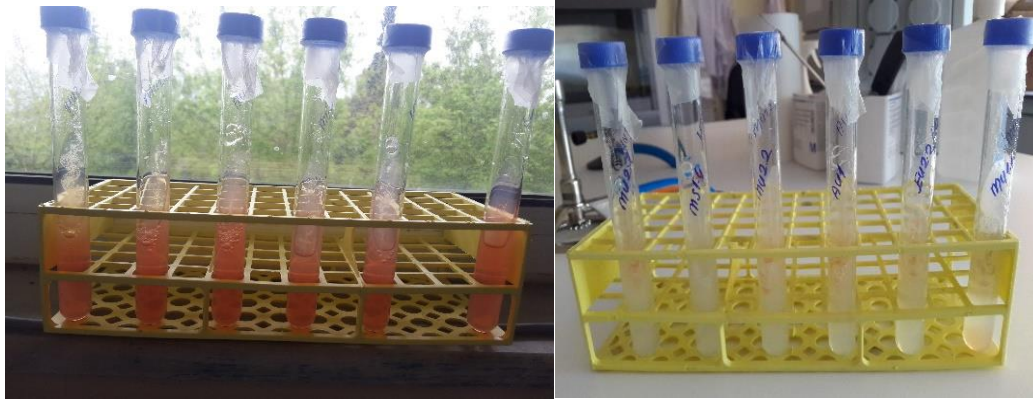
6 maya izolatı üzerinde yapılan analizlerde 5 maya izolatı nişasta üretimi pozitif iken 1 izolatta negatiftir. Pozitif olan izolat EU2.2' dir. Nişasta üretimi maya suşları için tanımlayıcı bir anahtardır.



Şekil 4.3. Nişasta üretimi besiyeri görünüşü. (Siyah renk oluşumu güçlü nişasta üretimini, kahve renk oluşumu zayıf pozitifliği, renk oluşmayı ise negatifliği göstermektedir.)

4.3.2. Üre analiz sonuçları

İnkübasyon sonunda pembe veya turuncudan kırmızıya renk değişimi gözlenen izolatlar üreaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kreger-van Rij, 1984). Analiz sonucunda 6 izolatın hiçbirinin üre hidrolizini gerçekleştirmediği tespit edilmiştir. Maya suşlarının üre hidrolizi negatif çıkabilmektedir.



Şekil 4.4. Üre agarda ekimi yapılan mayaların 2. gün ve 5. gün görüntüleri

4.4. Seçilen İzolatın Dahil Olduğu Cinslerin Özellikleri

Candida spp.

Candida spp. kolonileri katı besiyerinde koyu krem rengi-sarımtırak renkte, solgun, düzgün, parlak veya kuru, buruşuk, pütürlü, mat dokuda görülürken sıvı besiyerinde zar oluşturabilir (Kurtzman ve Fell, 2000). Küresele yakın, oval ve silindirik hücrelere sahip olan ökaryot mikroorganizmalardır. Bu cins mayaların üre hidrolizi negatiftir. Karbonhidrat fermentasyonları pozitif veya negatif olabilmektedir (Barnett ve ark., 1990). Benli ve Çakmakçı (2003) yaptıkları çalışmada karbon kaynağı olarak glikoz ve nişasta kullanımı, üreaz, nitrat, gaz oluşumu testlerini pozitif, glukoz fermantasyonu sonucunu negatif bulmuş, Barnett ve ark., (1983)'nin tablosuna göre mikroorganizmaya *Candida spp.* demiştir. Apan (2007) çalışmasında % 50 glikoz, % 10 NaCl içeren ortamda gelişen izolatın *Candida spp.* cinsine ait olduğunu tespit etmiştir.

Cryptococcus spp.

Cryptococcus cinsinin maya hücreleri küremsi veya oval, üremeleri çoklu tomurcuklanma ile olmaktadır. Sıvı besi ortamında yavaş gelişmekte olup başlangıçta sınırlı bir yüzüğümsü yapı oluşturmaktadırlar. Sıvı besi ortamında zamanla bir tortu üretmektedirler. (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984). Bitki ve toprak ile çilek ve benzeri meyvelerde, deniz balıklarında, karides ve taze sığır kıyımında bulunurlar. (Ayhan, 2000).

Pichia spp.

Katı besiyerindeki koloniler koyu krem rengi-sarımtırak renkte, solgun, düzgün, parlak veya kuru, buruşuk, pütürlü, mat dokuda görülmektedir. Sıvı besiyerinde genellikle zar oluşturmaktadır (Kurtzman ve Fell, 2000). Bu cins mikroorganizmaların üre hidrolizi ve karbonhidrat fermentasyonları negatiftir (Barnett ve ark., 1990). Lodder (1970), Şahin ve Öztürk (1998) ve Kurtzman ve Fell (2000)' in bulduğu sonuçlarına göre % 50 glikoz içeren ortamda gelişmediği halde, % 10 NaCl, % 5 glikoz içeren ortamlarda geliştiği belirlenmiştir. Oval, silindirik hücreleri vardır (Ayhan, 2000). Karbonhidratları ya kuvvetli fermente edemez veya hiç fermente edemezler. Azot kaynaklarından nitrati bazen asimile edebilirlerken bazen de asimile edemezler (Deák, 2007).

Debaryomyces spp.

Askosporlar, küreye benzer, küresel, ovoidal veya mercek biçimindedir (Kurtzman ve Fell, 1998). beyaz renkte, kuru-nemli ve mat yapıda olduğu görülmektedir (Apan, 2007). Sıvı besiyerinde bazen zar oluşturur (Kurtzman ve Fell, 2000). Üre hidrolizi negatiftir. Karbonhidrat fermentasyonları pozitif veya negatif olabilmektedir (Barnett ve ark., 1990). Apan çalışmasında kullandığı izolatın hücrelerin oval ve küre şeklinde, üre hidrolize etme yeteneği değişkenlik gösterirken, % 1' lik asetik asit içeren ortamda gelişme gösteremediği, % 50 glikoz ve % 10 NaCl içeren ortamda geliştiğini tespit etmiş ve bu sonuçları Barnett ve ark. (1990) ve Kurtzman ve Fell (2000)' e göre

incelenmiş ve 40°C sıcaklıkta gelişme hariç sonuçlar uyumlu bulunmuştur. *D. hansenii*'nin optimum büyüme sıcaklığının 20-25 °C olduğu bilinmektedir ama 5-10 °C hatta 0 °C'de de büyüdüğü rapor edilmiştir (Breuer and Harms, 2006).

4.5. Elma Üzerinde Analizi Yapılacak Maya İzolatının Seçimi ve İdentifikasyonu

Altı maya suşu üzerinde biyokimyasal ve morfolojik testler yapılmış bu doğrultuda elma üzerinde uygulanmak üzere en uygun suş EU2.2 seçilmiştir. EU2.2 suşu aralarında bulunan diğer izolatlarla göre daha çok oranda küflere inhibisyon göstermiştir. Ayrıca biyokimyasal tanı sonuçlarına göre yüksek glikoz, tuz ve sıcaklıkta iyi gelişme göstermiştir. Bu faktörler bu izolatın seçiminde de etkili olmuştur.

API 20C AUX V5.0 testine göre seçilen EU2.2 suşunun *Cryptococcus albidus* suşu olduğu tespit edilmiştir.

VERY GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 C AUX V5.0						
Profile	2 7 4 4 2 7 3						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
<i>Cryptococcus albidus</i>	99.7	0.77	GAL	6%			
Next taxon	% ID	T	Tests against				
<i>Cryptococcus laurentii</i>	0.1	0.28	XLT	76%	INO	84%	NAG 92% LAC 99%

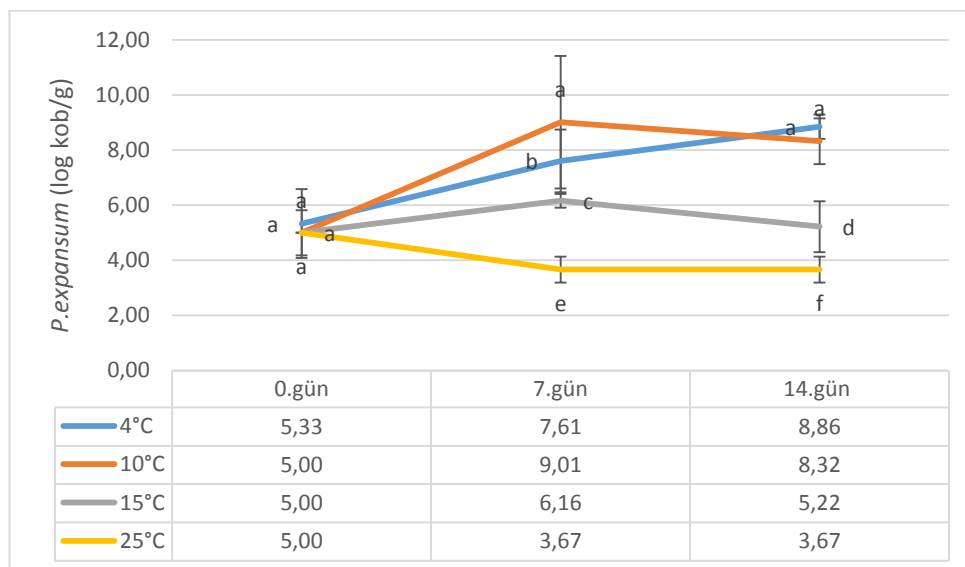
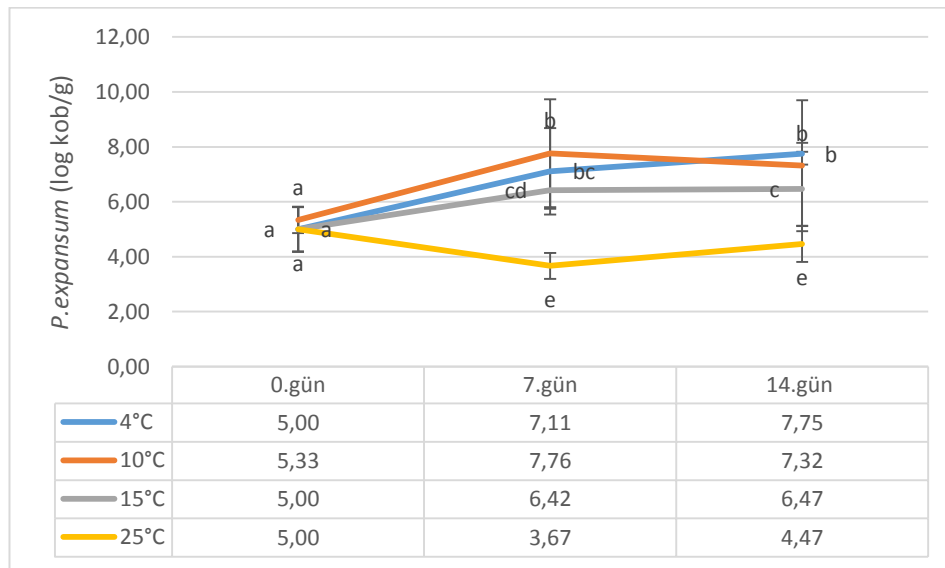
Şekil 4.5. İdentifikasyon sonucunu gösteren rapor

4.6. Toplam maya/küf sayımı sonuçlarına göre antagonistik aktivite

4.6.1. *Penicillium expansum* üremesine sıcaklık ve *Cryptococcus albidus* hücre sayısının zamanla birlikte etkisi

Kontrol grubu (*C.albidus* kültürü uygulanmamış) elmalarda *P. expansum* gelişiminde

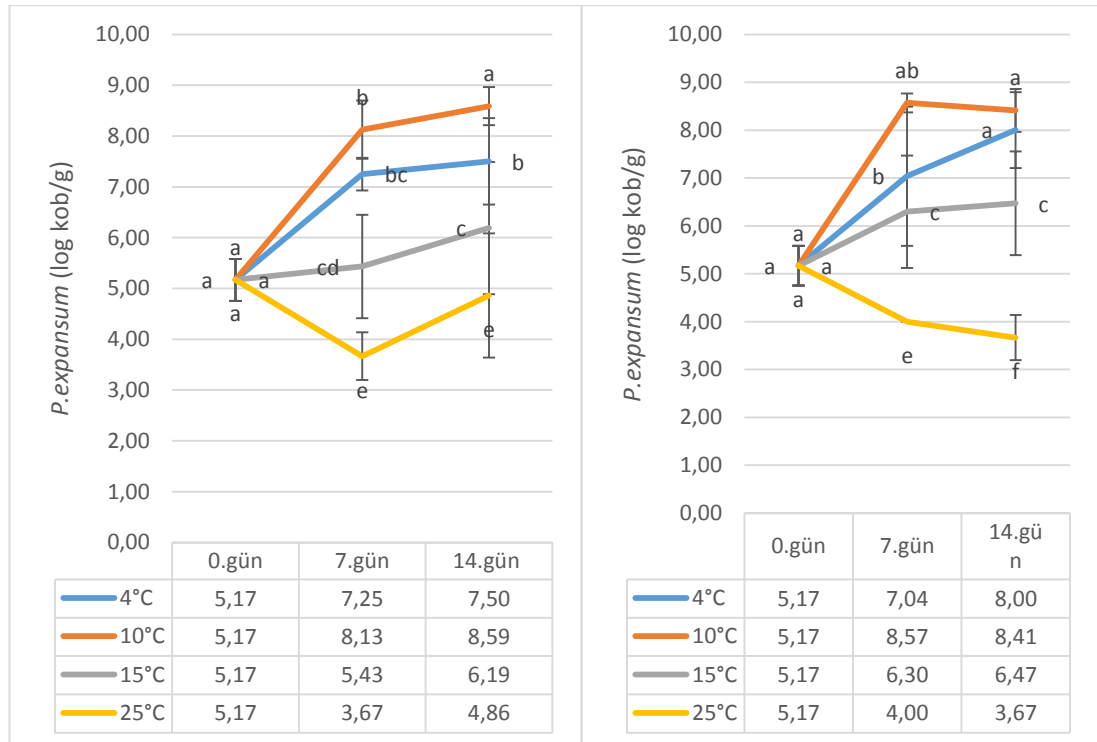
14 gün depolama boyunca test edilen bütün sıcaklıklarda artış görülmüştür. Ancak elma örneklerine artan sayıda *C. albidus* kültürü uygulanması istatistiksel olarak küf üremesini azaltmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.5.). Örneğin, maya kültürü uygulanmamış elmalarda *P.expansum* sayısında depolamanın sonunda 4 ve 10 °C’de sırasıyla 4,86 ve 4,32 log kob/g’a varan artışlar görülürken 7 log kob/g maya kültürü uygulanan elmalarda aynı sıcaklıklarda sırasıyla 3,30 ve 1,28 log kob/g’a varan artışlar görülmektedir.



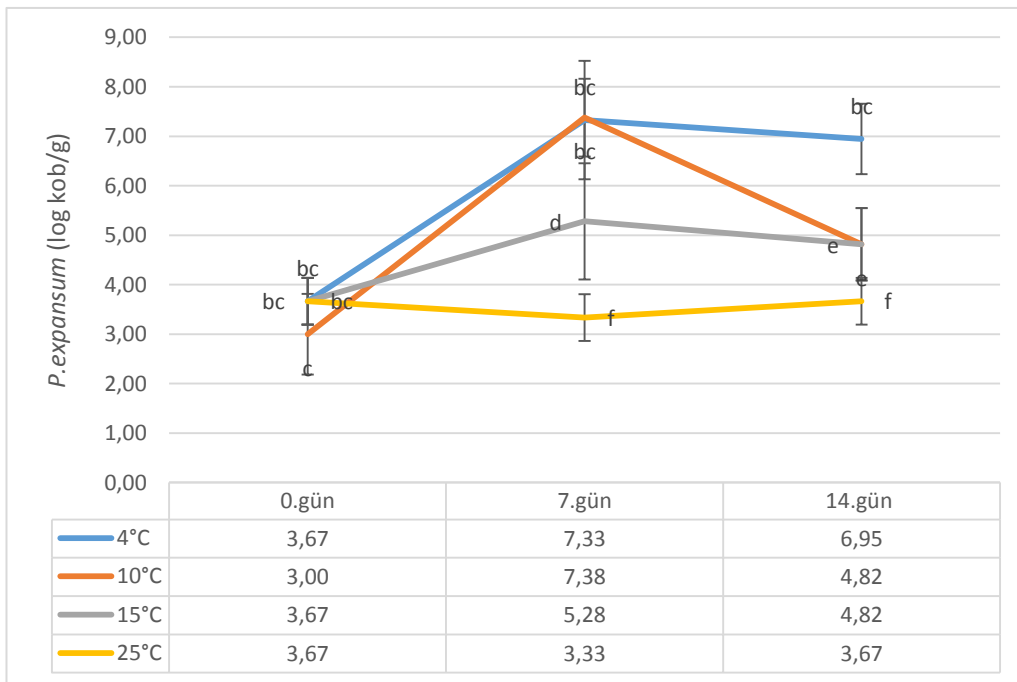
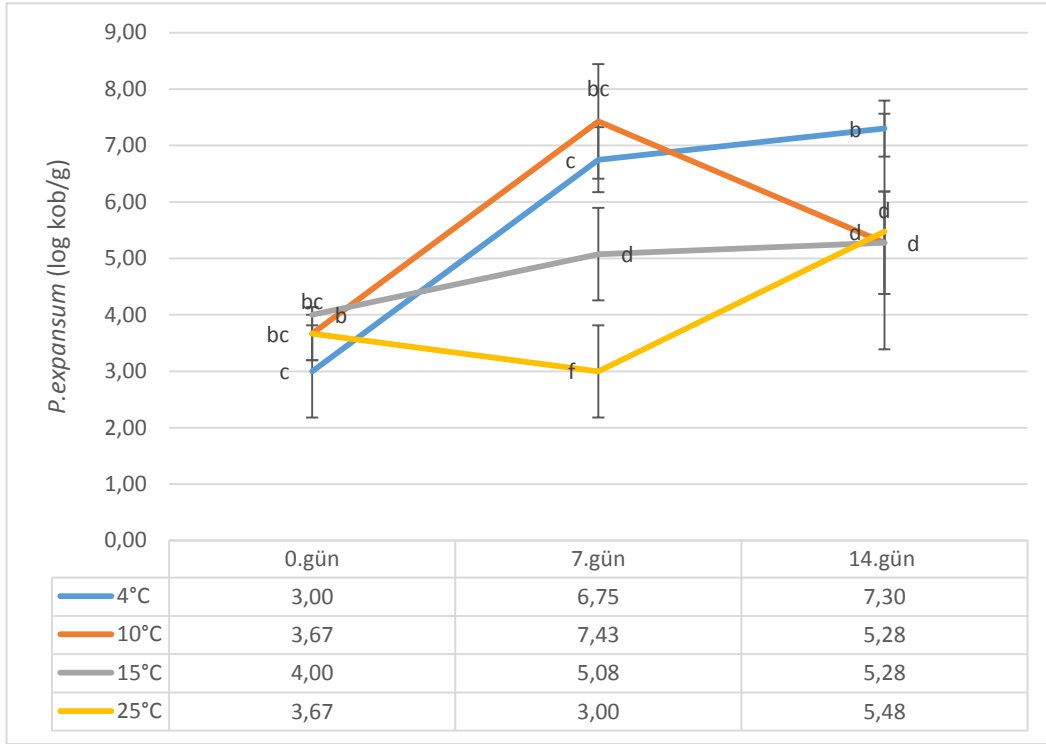
Şekil 4.6. %85 (üst) ve %95 (alt) nem değerinde maya kültürü bulunmayan elmalarda 4 log kob/g *P. expansum* küfünün gelişimi

C. albidus uygulanmayan kontrol grubu elmalarda *P. expansum* en iyi %95 bağıl nem ve 4 °C sıcaklık depolama koşullarında üreyerek 14 gün depolama sonunda 4 log'dan 8,85 log kob/g'a ulaşmıştır (Şekil 4.6.). Depolama sıcaklığı arttıkça elmalarda *P. expansum* üremesi'nde önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$). Örneğin, sıcaklığın 4 °C'den 25 °C'ye artmasıyla elmalarda sayılan *P. expansum* sayısında depolama sonunda %58,64 oranında azalma gözlenmiştir. Depolamanın bağıl neminin %85'den %95'e artışı da yine *P. expansum* üremesini 4 °C'de desteklemişken diğer sıcaklıklarda bu değişim ters etki yapmıştır.

Elmalara 4 log kob/g *C. albidus* uygulanması kontrol grubuna göre *P. expansum* gelişime etkisi %85 nem değerinde sadece 4 °C depolama sıcaklığında istatistiksel olarak fark bulunmuştur (Şekil 4.7.). 4 log kob/g *C. albidus* 'un uygulaması 25 °C'de % 95 nem ortamında 14 gün depolamanın sonunda *P. expansum* gelişimini kontrole göre %8,25 oranında düşürmüştür.



Şekil 4.7. %85 (sağ) ve %95 (sol) nem değerinde 4 log kob/g konsantrasyonunda elmaya bulaştırılan mayanın 4 log kob/g *P. expansum* küfünün gelişimi üzerine etkisi

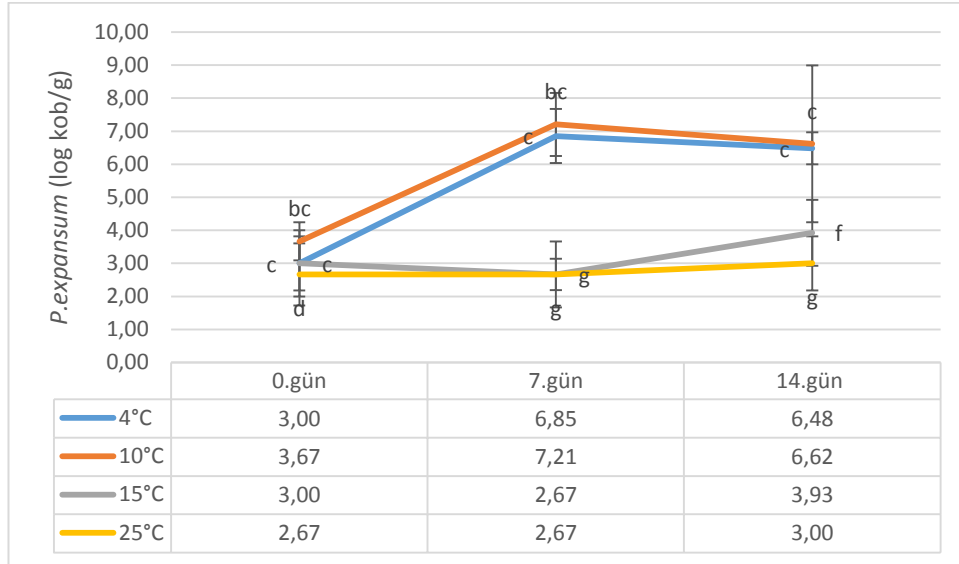
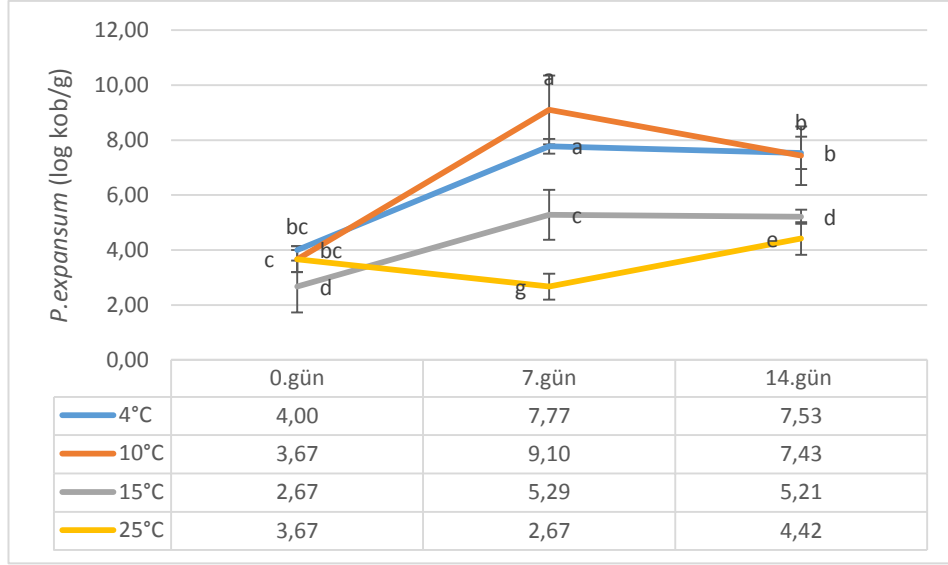


Şekil 4.8. %85(üst) ve %95(alt) nem değerlerinde 7 log kob/g konsantrasyonunda elmaya bulaştırılan mayanın 4 log kob/g *P.expansum* küfünün gelişimi üzerine etkisi

Sıfırıncı günde uygulanan 7 ve 9 log kob/g *C. albidus* elmalarda inoküle edilen 4 log kob/g *P. expansum*'un sayısını yaklaşık 1 log azaltmıştır (Şekil 4.7., Şekil 4.8.). Elmalara 7 veya 9 log kob/g *C. albidus* uygulamasının *P. expansum* üremesine karşı en fazla etkili olduğu depolama sıcaklığı %95 bağıl nemde 4 °C olarak gözlenmiştir (Şekil 4.8., Şekil 4.9.). Bu şartlarda 7 ve 9 log kob/g *C. albidus* inokülasyonu elma örneklerinde *P. expansum* üremesini depolama sonunda kontrole göre sırasıyla %21,54 ve 26,79 oranında baskılamıştır. Bunun yanı sıra, %95 bağıl nem ve 15 °C sıcaklıkta depolanan elmalarda ise sadece 9 log kob/g *C. albidus* uygulamasının *P. expansum* üremesine karşı önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Sonuç olarak maya kültürü uygulanmamış elmalar ile karşılaştırıldığında küf gelişiminin düşmesinde yüksek nem ve yüksek dilüsyon uygulamasının istatistiksel bir önem arz ettiği görülmektedir ($p < 0.05$).

Hong ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada *Trichoderma* spp'nin 3 izolatı (New, Ta291, and 23-E-6) ve *Rhodotorula* spp. (BI-54) izolatını sert çekirdekli meyvelerde kahverengi çürümeye neden olan *Monilinia fructicola* küfüne karşı kullanmıştır. Meyvelerde yaralar açılarak maya ve küf inokülasyonları yapılmıştır. 20 °C'de %95 bağıl nemde *Trichoderma* izolatının 10^7 and 10^8 kob/ml şeftalilerde kahverengi çürümeyi % 63-98, eriklerde ise % 67-100'e kadar düşürmüştür.

Çalışmamızda ise yumuşak çekirdekli bir meyve olan elma üzerinde farklı dilüsyonlarda uygulanan *C. albidus*, 4 log kob/g *P. expansum* konsantrasyonuna karşı kullanılmıştır. Bu dilüsyonlarda biri olan 7 ve 9 log kob/g maya uygulanmış elmalarda küf gelişimi önemli bir düşüş göstermiş, yüksek nem ve sıcaklık artışıyla düşme hızı devam etmiştir. Maya kültürü uygulanmamış elmalar ile karşılaştırdığımızda 7 ve 9 log kob/g maya uygulaması küf gelişimi düşürmede etkili olmuştur.



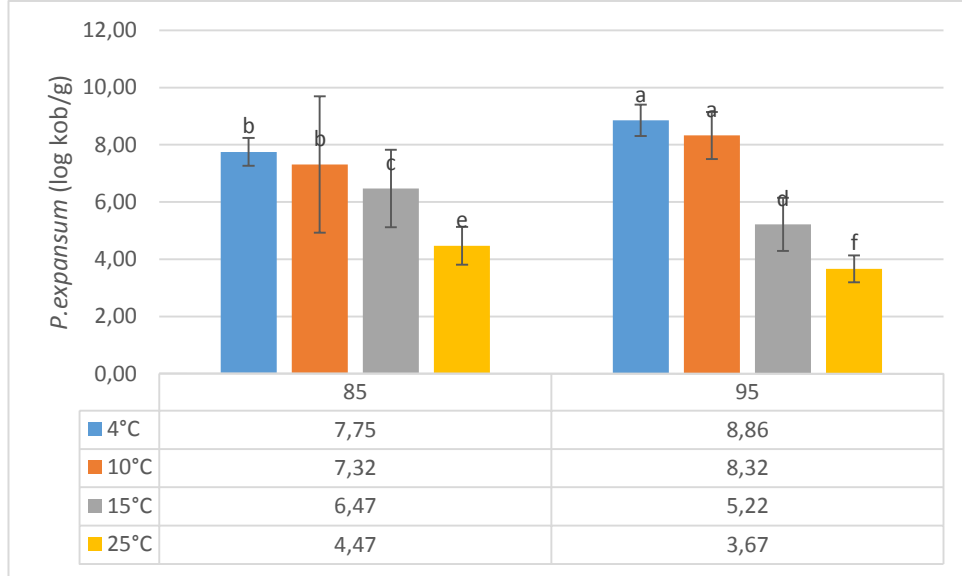
Şekil 4.9. %85(üst) ve %95(alt) nem değerlerinde 9 log kob/g konsantrasyonunda elmaya bulaştırılan mayanın 4 log kob/g *P.expansum* küfünün gelişimi üzerine etkisi

4.6.2. Nem değerlerinin küf gelişimi üzerine etkisi

Çalışmamızda %85 ve 95 nem değerlerinde 4 farklı dilüsyonun küf gelişimi üzerine etkisi ayrı ayrı incelenmiş, her bir dilüsyonda hangi nem değerinde daha düşük küf gelişimi olduğu raporlanmıştır.

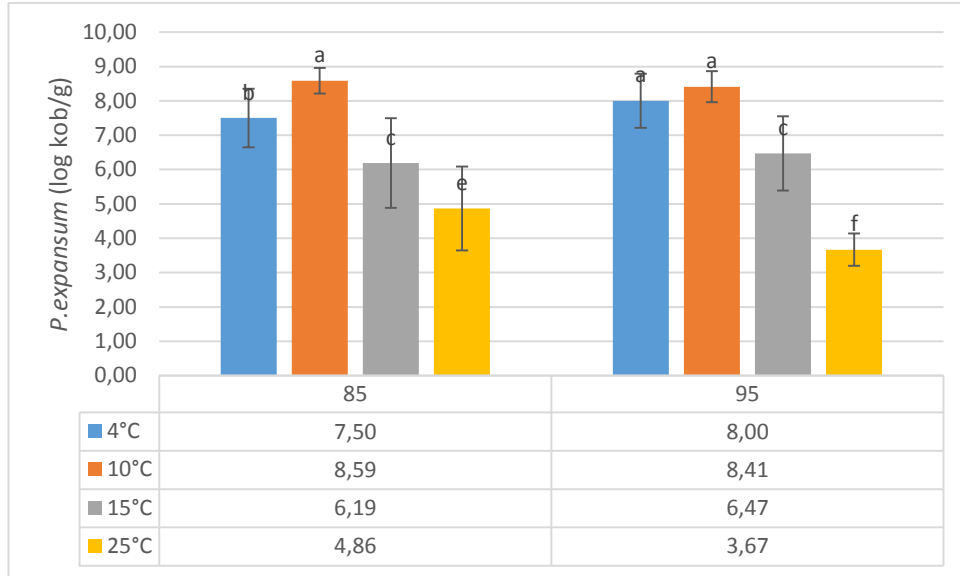
Genel olarak %95 bağıl nem değerinde 4 °C depolama sıcaklığı hariç diğer depolama sıcaklıklarında kontrol grubu elma örneklerinde *P. expansum* üremesi %85 bağıl

nemde depolamaya göre daha fazla gözlenmiştir ($p<0.05$). Örneğin, 14 gün depolamanın sonunda 15 °C'de %85 bağıl nem değerinde elmalarda *P. expansum* sayısı 1,5 log artarken; %95 bağıl nem değerinde ise önemli bir artış gözlenmemiştir ($p<0.05$).



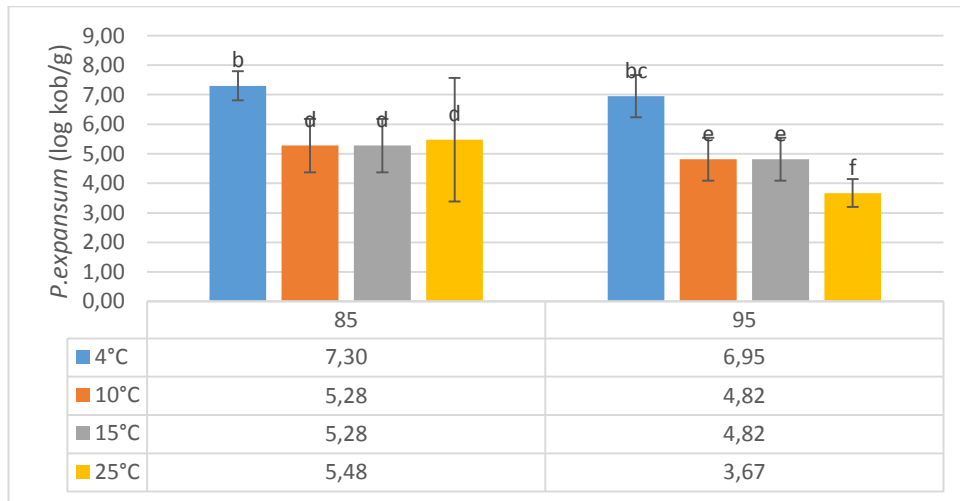
Şekil 4.10. Maya kültürü uygulanmayan elmalarda 14 gün depolama sonunda %85 ve 95 nem değerlerinde küf sayısında meydana gelen değişimler

Dört log kob/g maya uygulaması 25 °C'lerde 14 gün depolanan elmada 4 log kob/g bulaştırılan *P. expansum* sayısını %85 nem değerinde sırasıyla %21,29 artırırken %95 nem değerinde %8,33 oranında azaltmıştır (Şekil 4.11.). Sonuçları incelediğimizde depolama süresinin sonuna geldiğimizde %95 nemin yüksek sıcaklık ile küf gelişimini düşürdüğü görülmektedir.



Şekil 4.11. 4 log kob/g maya inoküle edilen elmalarda 14 gün depolama sonunda %85 ve 95 nem değerlerinde küf sayısında meydana gelen değişimler

Elma üzerine inoküle edilen 7 log kob/g maya konsantrasyonu 4 log kob/g *P. expansum* miktarını 14. gün sonunda %95 nem değerinde %8,33'e varan azalmalar olurken %85 nem değerinde küf miktarı artış göstermiştir (Şekil 4.12.). Dilüsyon oranının ve sıcaklığın yüksek olmasının küf gelişimini düşürmeye yönelik önemli bir etkisi vardır ($p < 0,05$).

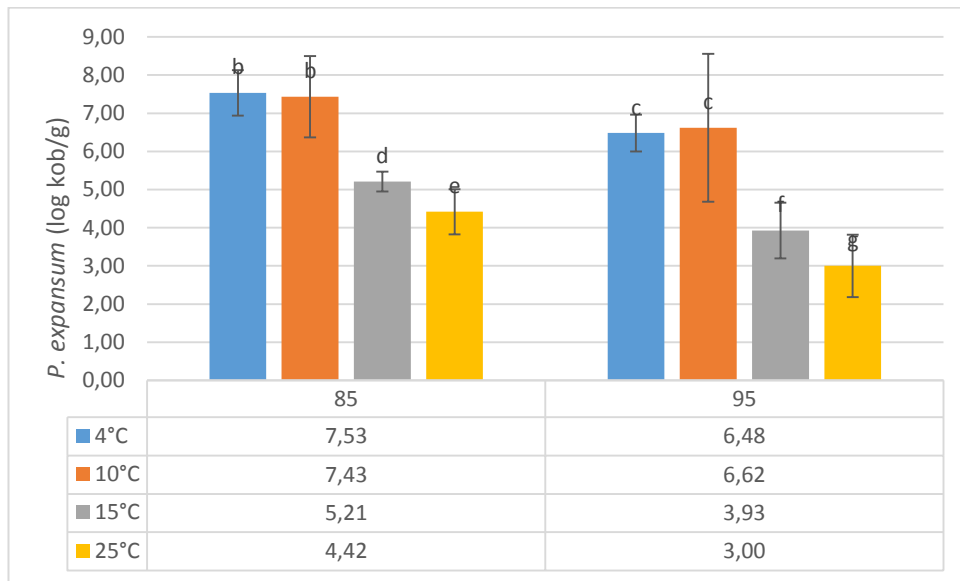


Şekil 4.12. 7 log kob/g maya inoküle edilen elmalarda 14 gün depolama sonunda %85 ve 95 nem değerlerinde küf sayısında meydana gelen değişimler

Elmalara bulaştırılan 9 log kob/g maya kültürü uygulamasında *P. expansum* miktarında %95 nem değerinde 14. günde 15 °C'de %1,75 oranında; 25 °C'de %25

azalma görülürken, %85 nem değerinde ise aynı sıcaklıklarda *P. expansum* miktarı artış göstermiştir (Şekil 4.13.). %95 nem değeri 4 ve 15 °C sıcaklıkta 4 log kob/g küf üremesini engellemeyi başarmıştır.

Genel olarak %95 bağıl nemden farklı olarak %85 bağıl nemde sadece 15 °C’de depolanan elmalarda 7 ve 9 log kob/g hücre sayılarında uygulanan *C. albidus* *P. expansum*’a karşı önemli bir antagonistik etki göstermiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.13. 9 log kob/g maya inoküle edilen elmalarda 14 gün depolama sonunda %85 ve 95 nem değerlerinde küf sayısında meydana gelen değişimler

Uzun süreli düşük sıcaklık depolamalarında meyvenin soğuk nedeniyle büzüşmesini önlemek için %95 ve üzeri bağıl nem kullanılır (Kader, 2005). Bazı çalışmalar %99-100 bağıl nemin küf sporun çimlenmesinde etkili olduğunu göstermiştir (Sitton ve Patterson, 1992). Çalışmamızda ise yüksek nem değerinde depolanan elmalarda uygulanan *C.albidus* kültürünün küf gelişimini %25’e kadar düşürdüğü görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada Golden Delicious türü elmanın yüzeyine açılan yarıya 1×10^6 , 5×10^6 ve 1×10^7 kob/ml oranında maya izolatu (*Metschnikowia andauensis* suş NCYC 3728 (PBC-2)), 10^4 spor/ml oranında *P. expansum* küfünü inoküle edilmiş, 7 gün 20 ± 1 °C’de 80 ± 5 nem koşullarında depolanmıştır (Manso ve Nunes, 2011). Depolama sonunda 1×10^6 kob/ml maya dozu enfekte olmuş yara oranını ve lezyon çapını %38-

54; 5×10^6 kob/ml maya dozu %62-70; 1×10^7 kob/ml maya dozu ise %90-95 oranlarında *P. expansum* küfüne etkili olduğu gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise yüksek dilüsyon miktarı ve yüksek sıcaklık, küf gelişimini %95 bağıl nem koşullarında kontrol altına almayı başarmıştır ($p < 0.05$).

İstatistiksel sonuçlara göre elmada *P. expansum* üremesine kullanılan *C. albidus* sayısı, bağıl nem değerleri, sıcaklık değerleri ve depolama süresi tek başına istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Depolama süresi ile birlikte artan sıcaklık ve uygulanan *C. albidus* sayısı da etkili olurken nem değerleri depolama süresi ile birlikte *P. expansum* üremesine karşı etkileri önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$)(Tablo 4.5.).

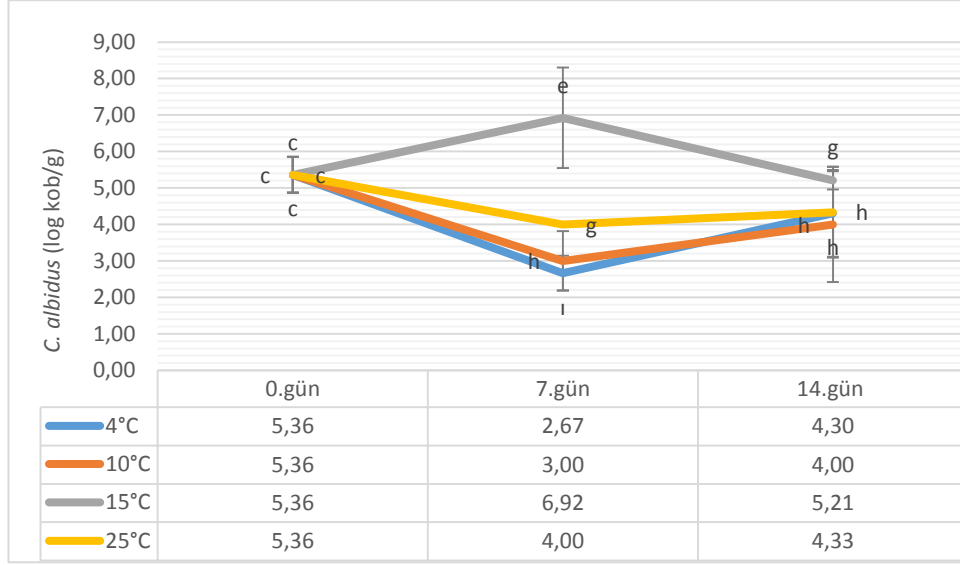
Tablo 4.3. Küf gelişimine yönelik tek yönlü varyans analiz tablosu

Kaynak	Nparm	DF	Karelerin toplamı	F Oranı	Prob > F
Deney	2	2	7,3431	3,3636	0,0363
Dilüsyon	3	3	96,29453	29,4062	<.0001
Sıcaklık	3	3	312,79732	95,5213	<.0001
Nem	1	1	5,52751	5,0639	0,0253
Deney*Dilüsyon&Hariç	0	0	0	.	.
Deney*Sıcaklık&Hariç	0	0	0	.	.
Deney*Nem&Hariç	0	0	0	.	.
Depolama süresi	2	2	191,63908	87,7834	<.0001
Nem*Depolama süresi	2	2	2,03601	0,9326	0,395
Sıcaklık*Depolama süresi	6	6	162,41308	24,7987	<.0001
Dilüsyon*Depolama süresi	6	6	14,73675	2,2501	0,0394
Dilüsyon*Sıcaklık	9	9	27,82327	2,8322	0,0035
Dilüsyon*Nem	3	3	12,27533	3,7486	0,0117
Sıcaklık*Nem	3	3	2,30607	0,7042	0,5503
Dilüsyon*Sıcaklık*Nem	9	9	4,09159	0,4165	0,9257

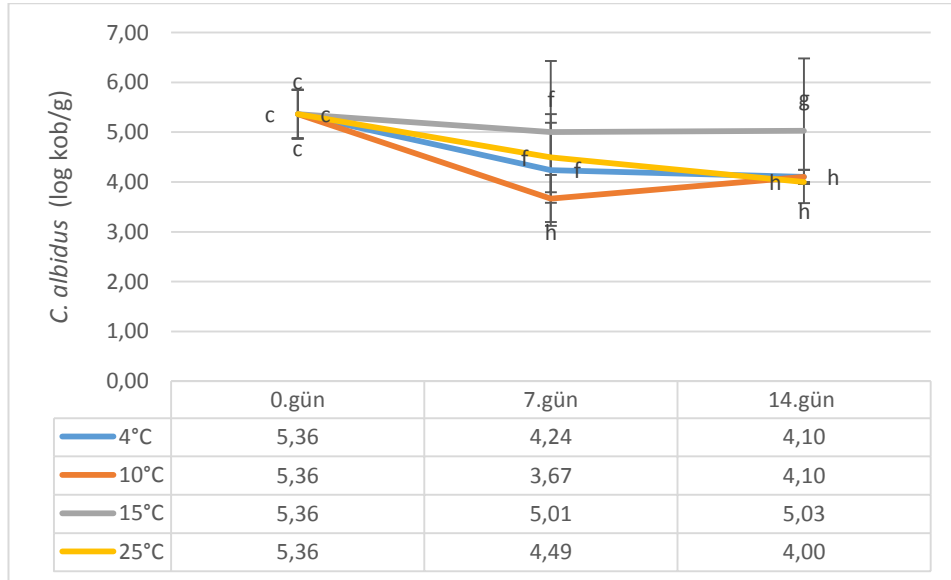
4.6.3. Maya üremesine dilüsyon miktarı ve sıcaklığın etkisi

Patojen ve antagonist besin gereksinimi ve çevre koşulları aynı olan bir ortamda mücadele içine girerler (Lacroix, 2011). Antagonist mayalar ise yüzeye yapışma ve kolonize olma yeteneklerinden ötürü hızlı besin tüketerek yayılmaktadır (Spadaro ve Droby, 2016). Ayrıca antagonist mayalar, patojenin parazitik yolla gelişimini engelleyici etki göstermektedirler (Lacroix, 2011). İnokulum miktarı, kullanılan besiyeri, uygulanan gıdanın kompozisyonu, depolama koşulları, sıcaklık gibi faktörler mayanın etkinliğini belirlemede önem arz etmektedir (Rodgers, 2001; Schwenninger

ve ark., 2011; Sharma ve Tiwari, 2014). Mayanın fermantasyon süresini kısaltarak başka mikroorganizmalar tarafından kontaminasyonunu azaltmak için genellikle yapılan çalışmalarda 6-10 log kob/g aralığında yüksek maya dozu kullanılmıştır (Rodgers, 2001; Droby ve ark., 2009). Çalışmamızda ise 4, 7 ve 9 log kob/g maya dilüsyonları elmalar üzerine uygulanarak maya sayısının etkisi test edilmiştir.

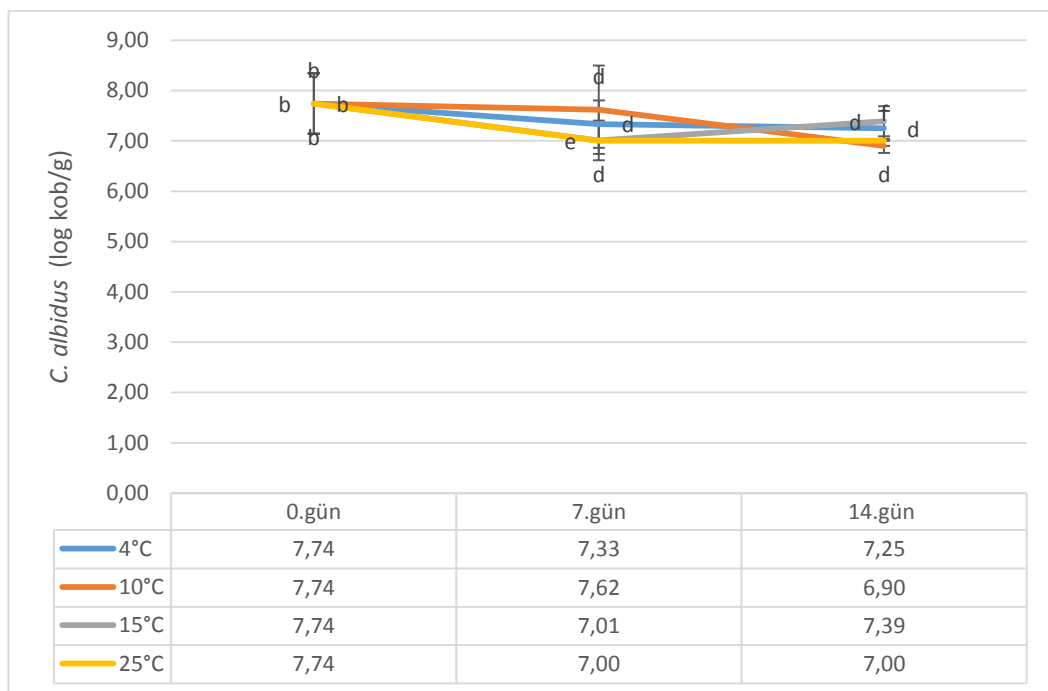


Şekil 4.14. 14 gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 4 log kob/g maya dozunda %85 nem değerinde maya sayısındaki değişimler

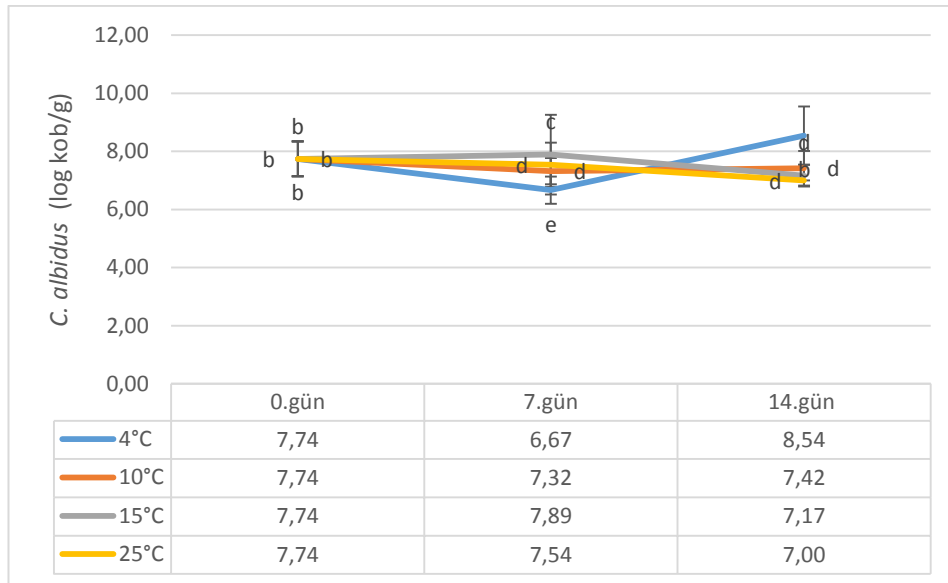


Şekil 4.15. 14 gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 4 log kob/g maya dozunda %95 nem değerinde maya sayısındaki değişimler

Farklı nem ve farklı sıcaklıklarda depolanan elmalarda 4 ve 7 log inoküle edilen *C. albidus* sayısında 14. günün sonunda önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Mayaların 14 gün depolama boyunca canlılıklarını önemli derecede korumuşlardır. Bunun yanı sıra, %85 bağıl nemde ve 25°C depolama şartları 0. günde elmada bulunan 9 log kob/g *C. albidus*'un sayısını 6,6 log kob/g'a düşürmüştür. Diğer sıcaklık ve nem değerlerinde 9 log kob/g inoküle edilen *C. albidus* meyvede canlılığını korumuştur (Şekil 4.18.). Genel olarak, elmalarda *C. albidus*'un en iyi korunduğu depolama şartları ise %95 bağıl nem ve 4°C olarak gözlenmiştir.



Şekil 4.16. 14 gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 7 log kob/g maya dozunda %85 nem değerinde maya sayısındaki değişimler



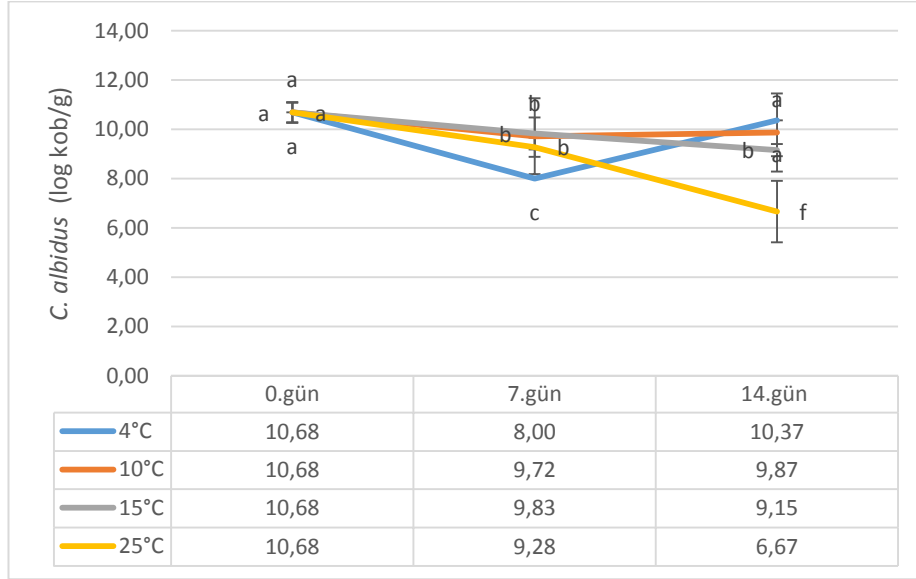
Şekil 4.17. 14 gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 7 log kob/g maya dozunda %95 nem değerinde maya sayısındaki değişimler

Seçilen mayanın besiyeri kullanılarak yapılan biyokimyasal test sonuçlarında yüksek sıcaklıkta da (25, 30 ve 35 °C) hayatta kaldığı gözlenmiştir (Tablo 4.4.). Test sonuçlarına göre elmalar üzerine uygulanan *C. albidus*'un depolama sonunda yüksek konsantrasyon varlığında hemen hemen her sıcaklıkta gelişimini sürdürdüğü gözlenirken düşük sıcaklıkta depolama süresi arttıkça maya konsantrasyonunda azalmalar görülmüştür. Bu veriler altında mayanın elma üzerine inoküle edildiğinde gelişimi için ideal sıcaklığın 15-25 °C olduğu görülmektedir.

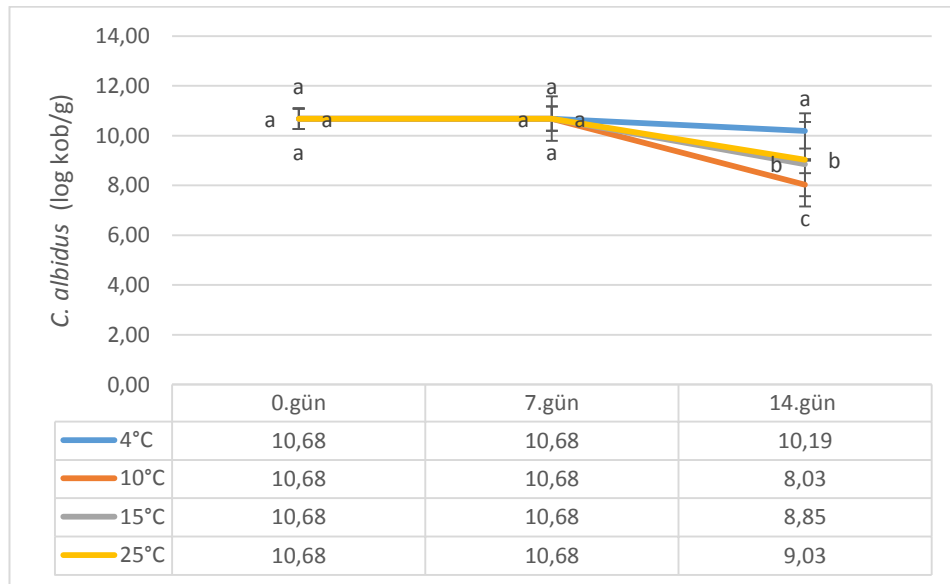
Golden Delicious türü elmalarda *Penicillium expansum* küfünün sebep olduğu mavi çürümeye karşı kendi test sonuçlarına göre en etkili olan *Cryptococcus infirmo-miniatus* suş YY6 ve *C. laurentii* suş HRA5 mayası seçilmiştir. Elmalarda açılan yaralara inoküle edilen bu mayaların dozu $1,6 - 2,4 \times 10^6$ kob/ml, *P. expansum* küfünün dozu ise 5×10^3 kob/ml seçilmiştir. Elmaya yaralarında maya popülasyonu 10 gün içinde 0° C de 1,2 log, 5, 10, ve 20° C de 2 gün depolamada ise 1,4 log artmıştır. (Chand-Goyal ve Spotts 1996).

Bazı raporlar, bir antagonistin popülasyon yoğunluğu ile hasat sonrası biyolojik kontrol tedavisi olarak etkinliği arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermiştir.

(Karabulut ve ark., 2004; Zhang ve ark., 2009). Kontrolü elde etmek için daha düşük aşı dozları kullanma potansiyeli, maliyet açısından çok önemlidir. Pratik bir bakış açısından, mayaların limiti yaklaşık 5×10^7 kob / ml'dir, kontrolü elde etmek maliyet açısından çok önemlidir (Janisiewicz, 1988). Bizim çalışmamızda ise *P.expansum* gelişimini düşürmeyi sağlayan ideal dilüsyonun 7 ve 9 log kob/g olduğu gözlenmiştir.



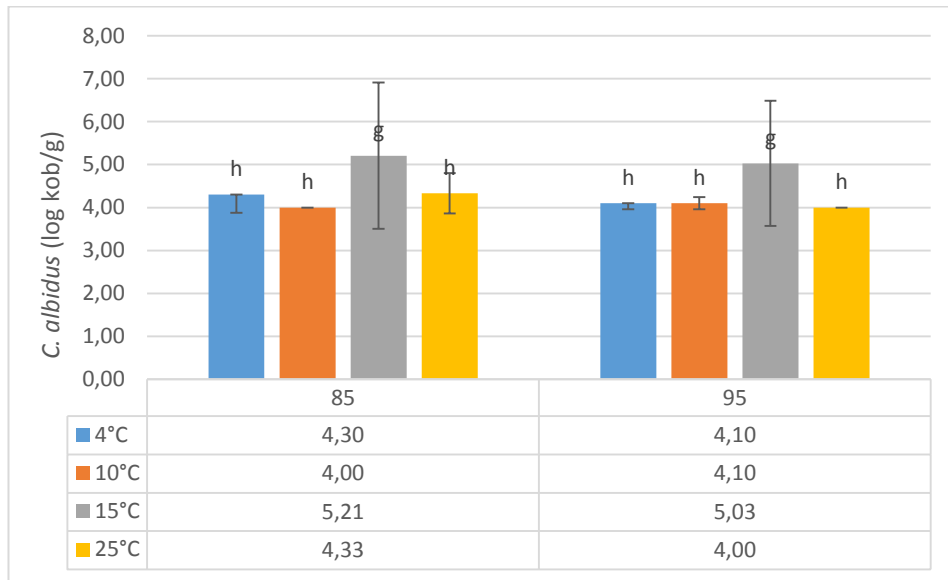
Şekil 4.18. 14 gün depolama süresince 4 farklı sıcaklıkta 9 log kob/g maya dozunda %85 nem değerinde maya sayısındaki değişimler



Şekil 4.19. 14 gün depolama süresince 4 farklı 9 log kob/g maya dozu %95 nem değerlerinde maya sayısındaki değişimler

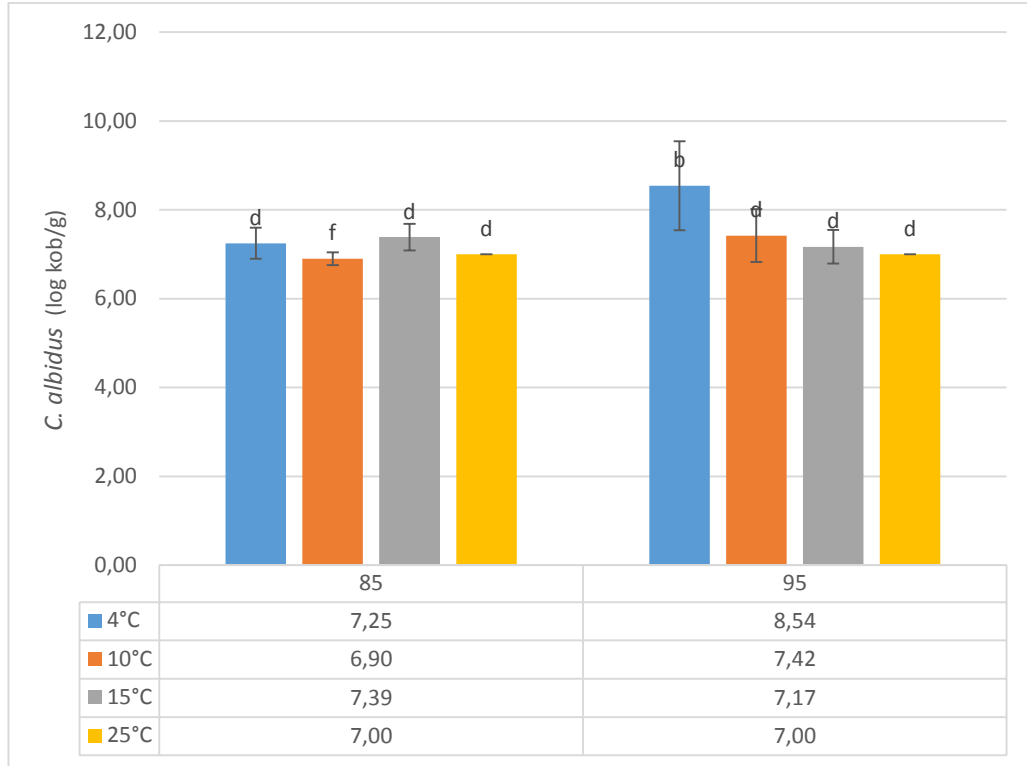
4.6.4. Maya üremesine nemin etkisi

Elma üzerine inoküle edilen 4 log kob/g maya konsantrasyonu 14 gün depolama sonunda 15 °C sıcaklıkta artış göstermiştir (Şekil 4.20.). Bu artış %85 ve 95 nem değerinde de görülmüş ancak bu nem maya sayısında istatistiki olarak bir fark yaratmamıştır ($p>0,05$).



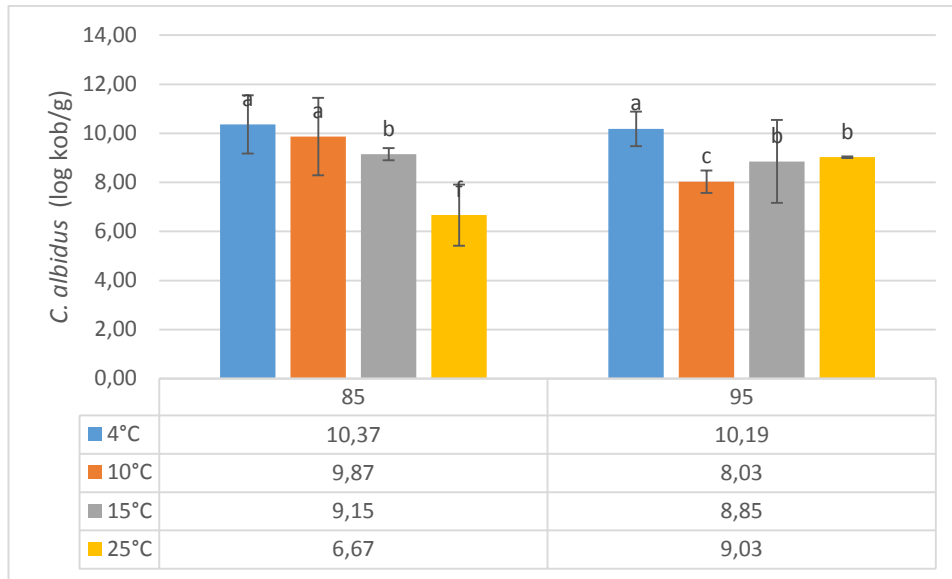
Şekil 4.20. 4 log kob/g maya kültürü uygulanan elmaların 4 farklı sıcaklıkta 14 gün depolanması sonunda %85 ve %95 nem değerlerinde maya sayısında meydana gelen değişim

Elma üzerine inoküle edilen 7 log kob/g *C. albidus* 'un sayısında % 95 nem değerinde 4 °C sıcaklıkta 14 gün depolama sonunda önemli bir artış görülürken, %85 nem değerinde maya sayısında önemli bir değişim gözlenmemiştir ($p<0,05$). Yine nem değerlerinin etkili olduğu bir diğer sıcaklık ise 10 °C olmuştur. Bu sıcaklıkta 14 gün depolama sonunda %85 nem değerinde maya miktarında 0,1 log kob/g azalma görülürken, %95 nem değerinde 0,42 log kob/g artış gözlenmiştir (Şekil 4.21.). Maya sayısındaki değişim 15 ve 25 °C sıcaklıkta her iki nem değerinde de depolandığında önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.21. 7 log kob/g maya kültürü uygulanan elmaların 4 farklı sıcaklıkta 14 gün depolanması sonunda %85 ve %95 nem değerlerinde maya sayında meydana gelen değişimler

Elma üzerine uygulanan 9 log kob/g maya konsantrasyonu 14 gün depolama sonunda 4 °C’de en yüksek miktarına ulaşmıştır. Depolama sonunda 10 °C’de %85 nem değerinde maya miktarı 0,87 log kob/g artarken %95 nem değerinde 0,7 log kob/g artış kaydedilmiştir (Şekil 4.22.). Fakat 25 °C’de tam tersi bir durum gözlenmiştir. % 85 nem değerinde 2,33 log kob/g azalma görülürken, %95 nem değerinde 0,03 log kob/g artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Sonuç olarak, 4 ve 10 °C sıcaklıklarda depolanan elmalarda %95 nem değerinde %85 nem değerine göre 7 log kob/g bulaştırılan maya canlılığını önemli ölçüde korumuştur. Maya sayısı 9 log kob/g’a artınca, sadece 25 °C’de %95 bağıl nem ortamında %85’e göre mayanın sayısı daha fazla bulunmuştur.



Şekil 4.22. 9 log kob/g maya kültürü uygulanan elmaların 4 farklı sıcaklıkta 14 gün depolanması sonunda %85 ve %95 nem değerlerinde maya sayında meydana gelen değişimler

Lahlali ve ark. (2008) hasat sonrası hastalıkların kontrolü için elmalar üzerinde *Pichia anomala* suş K ve *Candida oleophila* suş O biyokontrol ajanlarını kullanmıştır. Test koşulları maya konsantrasyonu $10^4 - 10^8$ kob/ml, 5 – 25 °C sıcaklık ve %75 – 98 bağıl nem olarak seçilmiştir. Box-Behnken modeline göre yapılan tahminlere göre başlangıçta uygulanan maya konsantrasyonunun 10^4 kob/cm² ye ulaşması öngörülmüştür. Elmalar 400 ml'lik 10^4 , $5 \cdot 10^7$ ve 10^8 kob/ml maya içeren süspansiyonlara daldırılmış ve 72 saat 5 - 15 ve 25 °C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Süre sonunda suşların hiçbiri 5 veya 15 °C, %75 bağıl nem varlığında 10^4 kob/cm² ye ulaşamazken %98 bağıl nem ve 25 °C ve başlangıçta uygulanan $5 \cdot 10^7$ kob/ml maya konsantrasyonu ile elma yüzeyinde cm² başına en yüksek yoğunluğa ulaşmıştır. Bu çalışmada Lahlali ve ark. deneylerinde ve model tahminlerinde maya popülasyon yoğunluğunun yüksek nem ve sıcaklık ile arttığını bulmuştur. Farklı olarak, bizim çalışmamızda artan sıcaklık ve nem değerleri başlangıçta uygulanan maya sayısını depolama sonunda önemli ölçüde değiştirmedini göstermiştir ($p < 0,05$).

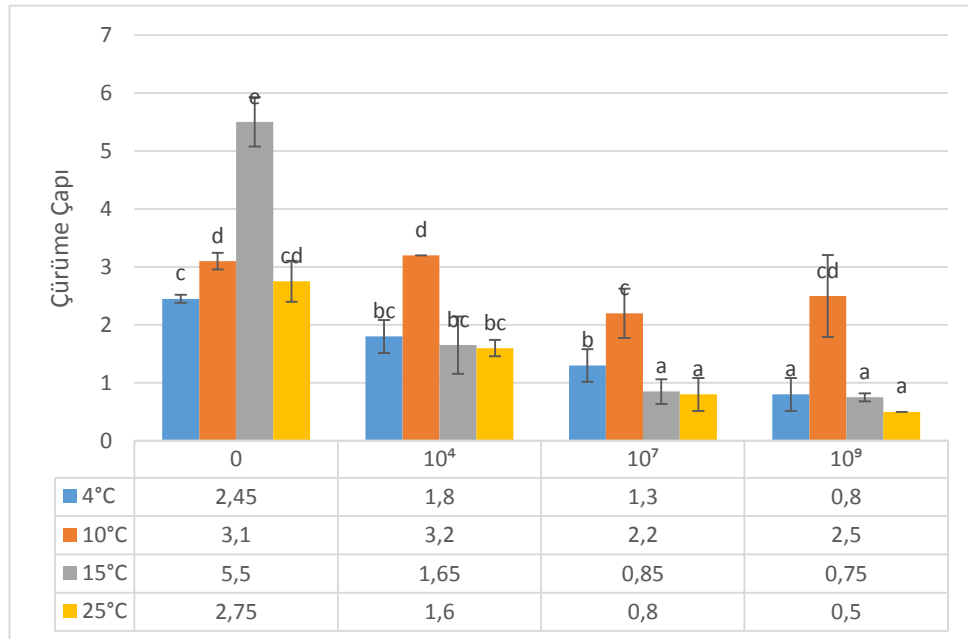
C. albidus canlılığı üzerine depolama süresi, diüsyon sayısı ve sıcaklık değerleri tek başına istatistiki açıdan fark yaratırken, nem değerleri ile birlikte etkili olmamıştır ($p < 0,05$). Yine nem değerlerinin dilüsyon, sıcaklık değerleri ve depolama süresi ile

ikili ilişkisi maya gelişiminde etkili olmamıştır ($p>0,05$). Dilüsyon değerleri ile depolama süresinin ikili etkileşimi ise maya canlılığı üzerinde istatistiki önem yaratmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.6.).

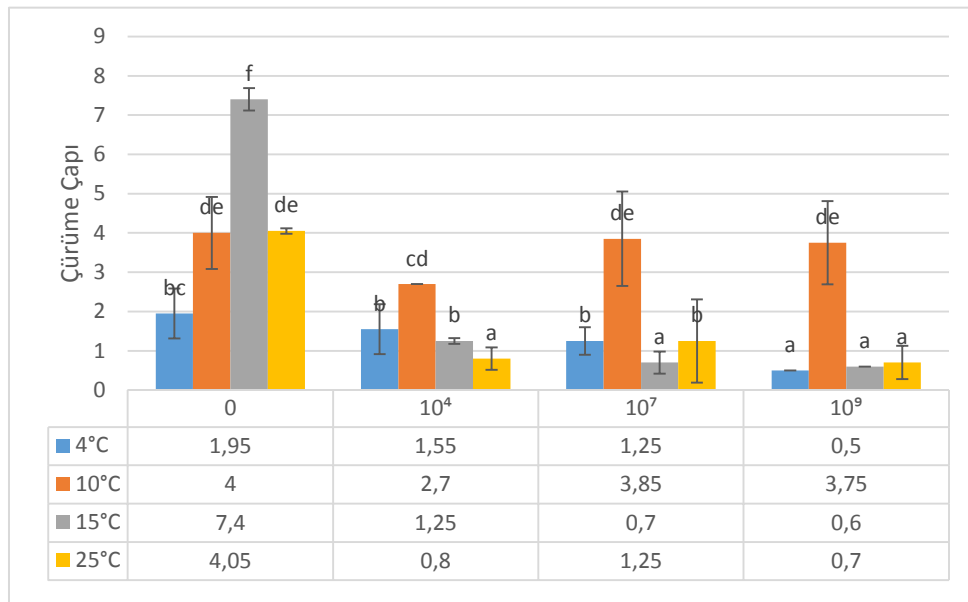
Tablo 4.6. Maya gelişimine yönelik tek yönlü varyans analiz tablosu

Kaynak	Nparam	DF	Kareler toplamı	F oranı	Prob > F
Deney	2	2	5,56351	3,4189	0,035
Dilüsyon	2	2	902,0689	554,3486	<.0001
Sıcaklık	3	3	8,17378	3,3487	0,0204
Nem	1	1	1,43982	1,7696	0,1852
Deney*Dilüsyon&Hariç	0	0	0	.	.
Deney*Sıcaklık&Hariç	0	0	0	.	.
Deney*Nem&Hariç	0	0	0	.	.
Depolama süresi	2	2	45,9992	28,2679	<.0001
Nem*Depolama süresi	4	4	11,25974	3,4597	0,0095
Sıcaklık*Depolama süresi	6	6	13,20711	2,7054	0,0155
Dilüsyon*Depolama süresi	2	2	1,08028	0,6639	0,5162
Dilüsyon*Sıcaklık	6	6	13,69857	2,8061	0,0125
Dilüsyon*Nem	2	2	0,33087	0,2033	0,8162
Sıcaklık*Nem	3	3	4,67892	1,9169	0,1287
Dilüsyon*Sıcaklık*Nem	6	6	5,21855	1,069	0,383

4.7. C. albidus uygulamasının elma çürümesine etkisi



Şekil 4.23. %85 bağıl nem değerinde elmada meydana gelen çürüme çapları(cm)



Şekil 4.24. %95 bağıl nem değerinde elmada meydana gelen çürüme çapları (cm)

Elma üzerine uygulanan 7 ve 9 log kob/g maya kültürü, maya kültürü uygulanmamış elmalara göre 15 °C’de 40 gün depolama sonunda çürümeyi sırasıyla %85 bağıl nemde %84,54 ve 86,36 ve %95 bağıl nemde %90,54 ve 91.39 oranında azaltmıştır (Şekil 4.23., Şekil 4.24.). *C. albidus* sayısı arttıkça elmada görülen çürüme çaplarında azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$). Bütün sıcaklıklarda (10 °C hariç) her iki nem koşullarında depolanan 9 log kob/g maya uygulanan elmaların 0,5 ile 0,8 cm arasında değişen çürüme çapları arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p < 0.05$).

Fiori ve ark., 2008 yılında yaptıkları çalışmada hasat sonrası elmalarda *P. expansum* küfünün neden olduğu çürümeye karşı *Pichia angusta* mayasını 10⁶ kob/ml oranında kullanmış, 8 gün 25 °C’de depolama sonunda çürüme çapının 9,2 mm ile 31,9 mm

arasında değiştiğini ve *P. expansum* küfüne karşı aktivitesinin yetersiz olduğunu vurgulamıştır. Çalışmamızda ise 40 gün depolama süresince maya uygulanan elmalarda çürüme çapları ortalama 5 ile 38,5 mm arasında değişmekte olup kullanılan antagonistik mayanın *P. expansum* küfünün neden olduğu çürümeye karşı önemli bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).

Elma üzerinde meydana gelen çürümeye sadece uygulanan *C. albidus* sayısı ile depolama sıcaklık değerlerinin ikili ilişkisi istatistiksel bir fark yaratmıştır ($p < 0,05$). Tablo 4.7.'ye göre $p > 0,05$ 'den yüksek değerler çürümeye üzerinde etkili olmamıştır.

Tablo 4.7. Çürümeye yönelik tek yönlü varyans analiz tablosu

Kaynak	Nparam	DF	Kareler toplamı	F oranı	Prob > F
Deney	2	2	6,63396	2,6996	0,0751
Dilüsyon	3	3	121,3937	32,9328	<.0001
Sıcaklık	3	3	29,95115	8,1254	0,0001
Nem	1	1	0,0176	0,0143	0,9051
Deney*Dilüsyon&Hariç	0	0	0	.	.
Deney*Sıcaklık&Hariç	0	0	0	.	.
Deney*Nem&Hariç	0	0	0	.	.
Dilüsyon*Sıcaklık	9	9	31,87177	2,8822	0,0066
Dilüsyon*Nem	3	3	1,99281	0,5406	0,6563
Sıcaklık*Nem	3	3	2,17865	0,591	0,6232
Dilüsyon*Sıcaklık*Nem	9	9	8,60594	0,7782	0,6369

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hasat sonrası depolama sırasında elmalarda çürümeye neden olan *Penicillium expansum* meyveyi büyüme mevsiminde veya hasattan sonra yaralar veya lentiseller aracılığıyla enfekte eder (Jones ve Aldwinckle,1991; Kennel,1986 ; Sholberg ve Haag, 1996). Bu amaçla mikrobiyal antagonistler ile depoda meyve çürümesinin biyokontrolü esas olarak kontrollü çevre koşulları altında incelenmiştir (Wisniewski ve Wilson 1992). Biyokontrol ajanlarından yüksek verim almak için bunların hasat sonrası uygulanması gerekir. Çünkü hasat edilen gıdanın depolanması için gereken sıcaklık ve nem kontrol edilebilir olduğundan biyokontrol ajanının uygulanması için iyi bir zemin hazırlar (Spotts ve Sanderson 1994). Bu yüzden çalışmamızda farklı sıcaklık, nem ve depolama sürelerinde analizler yapılmıştır.

C. albidus uygulanmamış kontrol elmalarda inoküle edilen *P. expansum* gelişimi depolama sıcaklığı düşükçe önemli bir şekilde artmıştır ($p<0.05$). Bununla birlikte uygulanan *C. albidus* sayılarındaki artışın *P. expansum* üremesine etkisi sıcaklığa ve neme bağımlı olduğu bulunmuştur. Örneğin, %85 bağıl nem uygulanan depolamada sadece 15 °C'de *C. albidus* küfe karşı antogonistik etki gösterebilmiştir. Bunun yanı sıra %95 bağıl nemde ve 4-15 °C'de depolanan elmalarda artan sayıda *C. albidus* uygulanması küf üremesinide önemli dercede azaltmıştır ($p<0.05$). Mayanın küf üremesine karşı antogonistik etkisi sıcaklık artışı ile düşüş göstermiştir. Küfün 40 günde oluşturduğu çüreme alanı 7 ve 9 log kob/g *C. albidus* uygulaması ile önemli dercede azaldığı görülmüştür. Yine yüksek nem ve düşük sıcaklıkta çüremeye karşı artan maya sayısının etkisi daha fazladır ($p<0.05$). Elmalara uygulanan *C. albidus* depolama boyunca bütün sıcaklıklarda benzer ölçüde canlılığını korumuştur. Sonuç olarak *P. expansum* sayısında düşüş gösteren ideal sıcaklık 4-15 °C'de %95 nem değerinde 7-9 log kob/g maya konsantrasyon varlığında görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Ağırman, B., Akalın, M. N., Erten, H. 2019. Meyve ve sebzelerde hasat sonrası fungal hastalıkların antagonistik mayalar ile biyokontrolü. *Gıda*, 44(1), 31-49.
- Ajayı, A., Olasehinde, I. G. 2009. Studies on the pH and protein content of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) fruits deteriorated by *Aspergillus niger*. *Scientific research and Essay*, 4 (3):185-187.
- Akpınar, O. 2008. Süt ve süt ürünlerinde *Yarrowia lipolytica* izolasyonu ve ürettikleri alkalın proteaz ve ribonükleaz enzimlerinin aktivitelerinin araştırılması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Alakeji, T. P., Banwo, K., Ogunremi, O. R., Sanni, A. I. 2019. Functional properties of yeasts isolated from some Nigerian traditional fermented foods. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 437-441.
- Aloui, H., Licciardello, F., Khwaldia, K., Hamdi, M., Restuccia, C. 2015. Physical properties and antifungal activity of bioactive films containing *Wickerhamomyces anomalus* killer yeast and their application for preservation of oranges and control of postharvest green mold caused by *Penicillium digitatum*. *International Journal of Food Microbiology*, 200, 22-30.
- Andersen, B., Smedsgaard, J., Frisvad, J. C. 2004. *Penicillium expansum*: consistent production of patulin, chaetoglobosins, and other secondary metabolites in culture and their natural occurrence in fruit products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(8), 2421-2428.
- Apan, M., 2007. Beyaz peynir yüzeyinde gelişen mayaların izolasyonu ve identifikasyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 73.
- Aşkın M.A., Demirsoy H., Demirsoy L., Koyuncu F., Koyuncu M.A., Kankaya A., Kepenek K., Yıldırım F., Hallaç F., Dilmaçunal T. 2002. Avrupa birliği ülkelerinde yumuşak çekirdekli meyve türleri tarımı ve yakın gelecekte beklenen gelişmeler, Avrupa Birliğine Uyum Aşamasında Bahçe Bitkileri Tarımı, Ankara, 147-165.
- Atlas, R.M., 2004. *Handbook of Microbiological Media*, 3th Ed., CRC Press, Boca Raton, 2051.
- Ayhan, K. 2000. *Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, (İkinci Baskı), Ankara: Sim Matbaacılık Ltd.

- Barnett, J.A., Payne, R.W. and Yarrow, D., 1983. Yeasts: Characteristics and Identification. Cambridge University Press, Cambridge.
- Barnett, J.A., Payne, R.W. ve Yarrow, D., 1990. Yeasts: Characteristics and Identification. Cambridge University Press, Cambridge, 1002.
- Barnett, J.A., Payne, R.W., Yarrow, D., 2000. Yeasts: Characteristics and Identification, 3th Ed., Cambridge University Press, Cambridge, 1139p
- Bautista-Rosales, P.U., Calderon-Santoyo, M., Servín-Villegas, R., Ochoa-Álvarez, N.A., Ragazzo-Sánchez, J.A., 2013. Action mechanisms of the yeast *Candida fermentati* for the control of the phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides* in mangoes. Biol. Control 65, 293–301.
- Barnett, J.A. 2004. A history of research on yeasts 8: taxonomy. Yeast 21: 1141–1193.
- Bayav, A., 2007. Isparta ilinde elma işletmelerinde yenilikler ve araştırma sonuçlarının benimsenme düzeyleri ve etki değerlendirmeleri. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi A.B.D., Yüksek Lisans Tezi.
- Benli, M. 2003. Hasat sonrası fungal hastalıklarla kimyasal ve biyolojik mücadele. Ortaokul On Line Mikrobiyoloji Dergisi, 1(08), 1-25.
- Benli, M. ve Çakmakçı, L. 2003. Elmalarda hasat sonrası hastalıkların kontrolünde kullanılan mayaların tanımlanması ve sınıflandırılması. Ortaokul On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 1, (1), 30-37
- Breuer, U., Harms, H., 2006. Debaryomyces hansenii-an extremophilic yeast with biotechnological potential, Yeast, 23,415- 437.
- Bora, T. ve H. Özaktan, 1998. Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaş. Prizma Matbaası, İzmir. 205.
- Chand-Goyal, T., Spotts, R A. 1996. Postharvest biological control of blue mold of apple and brown rot of sweet cherry by natural saprophytic yeasts alone or in combination with low doses of fungicides. Biological Control, 6(2), 253-259.
- Chisholm ST, Coaker G, Day B, Staskawicz B.J. 2006. Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. Cell, 124:803–814.
- De Miccolis Angelini R.M., Rotolo C., Gerin D., Abate D., Pollastro S., Faretra F. 2019. Global transcriptome analysis and differentially expressed genes in grapevine after application of the yeast derived defense inducer cerevisane. Pest. Manag. Sci., 75:2020– 2033.
- Deak, T. 2007. Handbook of food spoilage yeasts, New York, USA, CRC Pres, 325.
- Delen, N., Yıldız, M., Yıldız, F., Kınay, P., Tosun, N. 2000. Turuncgil meyvelerinin hasat sonrası hastalıklarının biyolojik kontrolü ve fungusitlerle entegrasyonu üzerinde araştırmalar (Studies on integration of biological and chemical control of postharvest diseases of citrus fruits). Tubitak Tog-Tag 1510 project report, 45.
- Dhami, M.K., Hartwig, T., Fukami, T. 2016. Genetic basis of priority effects: insights from nectar yeast. Proc, Biol. Sci., 1455.

- Droby, S., Vinokur, V., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goldschmidt, E. E., Porat, R. 2002. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. *Phytopathology*, 92(4), 393-399.
- Droby, S., Wisniewski, M., Macarasin, D., Wilson, C. 2009. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? *Postharvest biology and technology*, 52(2), 137-145.
- Droby, S., Wisniewski, M., Teixidó, N., Spadaro, D., Jijakli, M. H. 2016. The science, development, and commercialization of postharvest biocontrol products. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 22-29.
- Dundar, O. ve Gocer, S. 2001. Control of storage rots of washington novel oranges and minneola by a combination of yeast antagonist and thiabendazole, control of storage rots of washington novel oranges and minneola by a combination of yeast antagonist and thiabendazole. 4th Int. Conf. On Postharvest, Eds. R. Ben-Arie and Philosph-Hadas, Acta. Hort. 553, ISHS 2001:399-401.
- El Ghaouth A., Wilson C.L., Wisniewski M. 2003. Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense responses. *Phytopathology*, 93:344–348.
- El-Tarabily, K.A., Sivasithamparam, K., 2006. Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Mycoscience*, 47, 25–35.
- Fajardo, J. E., McCollum, T. G., McDonald, R. E., Mayer, R. T. 1998. Differential induction of proteins in orange flavedo by biologically based elicitors and challenged by *Penicillium digitatum* Sacc. *Biol. Control* 13:143-151.
- Fan, Q., Tian, S.P., 2000. Postharvest biological control of *Rhizopus* rot on nectarine fruit by *Pichia membranefaciens*. *Plant. Dis.* 84, 1212–1216.
- Fiori S., Fadda A., Giobbe S., Berardi E., Migheli Q. 2008. *Pichia angusta* is an Effective Biocontrol Yeast Against Postharvest Decay of Apple Fruit Caused by *Botrytis cinerea* and *Monilia fructicola*. *FEMS Yeast Res*, 8: 961-963.
- Fleet, G. H. 2007. Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety. *Current opinion in biotechnology*, 18(2), 170-175.
- Fleet, G.H., Balia, R., 2006. The public health and probiotic significance of yeasts in foods and beverages. In: Querol, A., Fleet, G.H. (Eds.), *Yeasts in Food and Beverages*. Springer, Heidelberg.
- Freimoser, F. M., Rueda-Mejia, M. P., Tilocca, B., Migheli, Q. 2019. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(10), 154.
- Glushakova, A. M., Yurkov, A. M., Chernov, I.Y. 2007. Massive isolation of anamorphous ascomycete yeasts *Candida oleophila* from plant phyllosphere. *Microbiology*, 76(6), 799-80.
- Golubev, W. I. 1998. Mycocins (Killer Toxins). In: *The Yeasts - A Taxonomic Study*. Elsevier Science B.V., Netherlands, 55-63.

- Guyard, C., Dehecq, E., Tissier, J. P., Polonelli, L., Cas, E. D., Cailliez, J. C., Menozzi, F. D. 2002. Involvement of β -Glucans in the wide-spectrum antimicrobial activity of *Williopsis saturnus* var. *mrakii* MUCL 41968 killer toxin. *Molecular Medicine* 8 (11) : 686–694.
- Gürcan, T. 2001. Tarımsal İlaç Kalıntıları ve Önemi, Dünya Gıda Dergisi, Mayıs, 67-72.
- Hadwiger L. A., McDonel H., Glawe D. 2015. Wild yeast strains as prospective candidates to induce resistance against potato late blight (*Phytophthora infestans*). *Am J Potato Res* 92:379–386.
- Haktanir, K., Arcak, S. 1998. A.Ü.Z.F. Çevre Kirliliği Ders Kitabı. 1503,457.
- Hershkovitz, V., Ben-Dayana, C. L. A. R. I. T. A., Raphael, G., Pasmank-Chor, M. E. T. S. A. D. A., Liu, J. I. A., Belausov, E., ... , Droby, S. 2012. Global changes in gene expression of grapefruit peel tissue in response to the yeast biocontrol agent *Metschnikowia fructicola*. *Molecular plant pathology*, 13(4), 338-349.
- Hong C., Michailides J., Holtz B. A. 1998. Effects of wounding, inoculum density and biological control agents on postharvest brown rot of stone fruits. *Plant Disease*, 82: 1210-1216.
- Ippolito, A., El Ghaouth, A., Wilson, C. L., Wisniewski, M. 2000. Control of postharvest decay of apple fruit by *Aureobasidium pullulans* and induction of defense responses. *Postharvest Biology and Technology*, 19, 265-272.
- Izgü, F., & Altınbay, D. 2004. Isolation and characterization of the K5-type yeast killer protein and its homology with an exo- β -1, 3-glucanase. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 68(3), 685-693.
- Janisiewicz, W. J., Saftner, R. A., Conway, W. S., & Yoder, K. S. 2008. Control of blue mold decay of apple during commercial controlled atmosphere storage with yeast antagonists and sodium bicarbonate. *Postharvest Biology and Technology*, 49(3), 374-378.
- Janisiewicz, W.J., Korsten, L., 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, 411–441.
- Janisiewicz, W.J., Roitman, J., 1988. Biological control of blue mold and gray mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology* 78, 1697–1700.
- Jijakli, M.H. 2011. *Pichia anomala* in biocontrol for apples: 20 years of fundamental research and practical applications. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 99, 93–105.
- Jones J. D., Dangl J. L. 2006. The plant immune system. *Nature* 444:323– 329.
- Jones, A. L., Aldwinckle, H. S. 1991. *Compendium of apple and pear diseases*. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Kader, A. A. 2004. Increasing food availability by reducing postharvest losses of fresh produce. In: V International Postharvest Symposium 682, 2169-2176.
- Karabulut, O. A., Tezcan, H., Daus, A., Cohen, L., Wiess, B., Droby, S., 2004. Control of preharvest and postharvest fruit rot in strawberry by *Metschnikowia fructicola*. *Biocontrol Sci. Technol.* 14, 513–521.

- Kennel, W. 1986. Parasitäre Lagerkrankheiten beim Apfel. *Obst Garten* 3:151-152.
- Kimura, T. Kitamoto N., Ohta Y., Kito Y., Iimura Y. 1995. Structural relationships among killer toxins secreted from the killer strains of the genus *Williopsis*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80(1), 85-87.
- Kinay, P., Yildiz, M., Droby, S., 2002. Biocontrol of *Penicillium* decays with epiphytic yeasts on Satsuma mandarins. *Proc. of the 7th WG Meeting Influence of ağabeyotic and Biotic Factors on Biocontrol Agents*, Kusadasi, IOBC WPRS Bull, 207–210.
- Kinay, P., Yildiz, M., Yildiz, F., Delen, N., Tosun, N., 2001. Control of postharvest *Penicillium* decays on citrus fruits with antagonistic yeasts and chemicals. *Proc. 4th nt. Conf. on Postharvest. Acta Horticulturae*, 553:383–385.
- Komiyama T., Shirai T., Ohta T., Urakami H., Furuichi Y., Ohta Y., Tsukada Y., 1995. Structure and activity of HYI öldürücü toxin from *Hansenula saturnus*. *Biol Pharm Bull.* 18(8):1057-1059.
- Komiyama T., Shirai T., Ohta T., Urakami H., Furuichi Y., Ohta Y., Tsukada Y., 1998. Action properties of HYI öldürücü toxin from *Williopsis saturnus* var. *saturnus* and antibiotics, aculeacin A and papulacandin B. *Biol Pharm Bull.* 21 (10):1013-9.
- Kreger-van Rij NJW. 1984. *The Yeasts a taxonomic study*. Third revised and enlarged edition. Elsevier Sci. Pub. B.V, Amsterdam, Netherlands. 59-92.
- Kurtzman, C.P., Fell, J.W. 1998. *The Yeasts, A Taxonomic Study*. 4th Ed, Elsevier: Amsterdam, 1055p.
- Kurtzman, C.P. ve Fell, J.W. 2000. *The Yeast, A Taxonomic Study*. Third impression, Elsevier Science B.V. The Netherlands., 1055.
- Lacroix C. 2011. Food biopreservation. In: *Protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation*. Wood head publishing, UK.
- Lahlalı, R., Serhını, M.N. And Jikalhim, H., 2005. Development of abiological control method agains postharvest diseases of citrus fruits. *Commun Agric apple. Biol. Sci.* 70: 47-58.
- Leyva Salas, M., Mounier, J., Valence, F., Coton, M., Thierry, A., Coton, E. 2017. Antifungal microbial agents for food biopreservation - a review. *Microorganisms*, 5(3), 37.
- Lima, G., De Curtis, F., De Cicco, V. 2008. Interaction of microbial biocontrol agents and fungicides in the control of postharvest diseases. *Stewart Postharvest Review*, 4, 1-7.
- Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S., Liu, Y. 2013. Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International journal of food microbiology*, 167(2), 153-160.
- Lodder J., 1970. *The Yeasts*. North – Holland Publishing Company, Amsterdam, London, 1385.

- Lu, L., Ye, C., Guo, S., Sheng, K., Shao, L., Zhou, T., ... & Zheng, X. 2013. Preharvest application of antagonistic yeast *Rhodospiridium paludigenum* induced resistance against postharvest diseases in mandarin orange. *Biological control*, 67(2), 130-136.
- Manso T, Nunes C 2011. *Metschnikowia andaunensis* as a New Biocontrol Agent of Fruit Postharvest Diseases. *Postharvest Biology and Technology*, 61: 64-71.
- Mouhammad, F. 2015. Hatay'ın bazı yöresel ürünlerinden mayaların izolasyonu ve izole edilen mayaların bazı probiyotik özelliklerinin araştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans.
- Nicot, P.C., Stewart, A., Bardin, M., Elad, Y. 2016. Biological control and biopesticide suppression of Botrytis-incited diseases. In *Botrytis—The Fungus, the Pathogen and Its Management in Agricultural Systems*. Springer International Publishing: Basel, Switzerland. 165–188.
- Oberegger, H. , Schoeser, M. , Zadra, I. , Abt, B. , Haas, H. 2001. SREA is involved in regulation of siderophore biosynthesis, utilization and uptake in *Aspergillus nidulans*. *Molecular Microbiology*, 41, 1077-1089.
- Oğuz C, Karaçayır H.F. 2009. Türkiye’de elma üretimi, tüketimi, pazar yapısı ve dış ticareti. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, , Konya. 41-49.
- Özaktan, H., Aysan, Y., Yıldız, F., Kınay, P. 2010. Fitopatolojide biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1), 61-78.
- Özgönen H., Kılıç Ç.H. 2009. Isparta ilinde elmalarda sorun olan hasat sonrası hastalıkların ve yaygınlık oranları belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, Konya, 53-60.
- Pal, K. K., Gardener, B. M. 2006. Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*, 2, 1117-1142.
- Persons K., Raines J. M., Rodriguez J. M. 2013. Antagonistic effects of *Saccharomyces cerevisiae* on the growth of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* at varying temperatures. *Mycology*, 4: 1, 38–43.
- Pimenta, R. S., Morais, P. B., Rosa, C. A., Correa, A. 2009. Utilization of yeasts in biological control programs. In: *Yeast biotechnology: diversity and applications*. Springer, Dordrecht. 199-214.
- Platania, C., Restuccia, C., Muccilli, S., Cirvilleri, G., 2012. Efficacy of killer yeasts in the biological control of *Penicillium digitatum* on Tarocco orange fruits (*Citrus sinensis*). *Food Microbiol.* 30, 219–225.
- Pozo-Bayón, M. Á.; Monagas, M.; Bartolomé, B.; Morena-Arribas, M. V. Wine features related to safety and consumer health: An integrated perspective. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2012, 52, 31–54.
- Pretscher, J., Fischkal, T., Branscheidt, S., Jäger, L., Kahl, S., Schlender, M., ... , Claus, H. 2018. Yeasts from different habitats and their potential as biocontrol agents. *Fermentation*, 4(2), 31.

- Rodgers, S. 2001. Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 12(8), 276-284.
- Rosa-Magri, M. M., Tauk-Tornisiello, S. M., Ceccato-Antonini, S. R. 2011. Bioprospection of yeasts as biocontrol agents against phytopathogenic molds. *Brazilian archives of biology and technology*, 54(1), 1-5.
- Ruiz-Moyano, S., Martín, A., Villalobos, M. C., Calle, A., Serradilla, M. J., Cordoba, M. G., Hernandez, A. 2016. Yeasts isolated from figs (*Ficus carica* L.) as biocontrol agents of postharvest fruit diseases. *Food microbiology*, 57, 45-53.
- Schwenninger S. M., Meile L., Lacroix C. 2011. Food biopreservation. Antifungal lactic acid bacteria and propionibacteria for food biopreservation. In: *Protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation*. Wood head publishing, UK. 27-62.
- Sharma N., Tiwari R. 2014. *Biological Controls for Preventing Food Deterioration Strategies for Pre- and Postharvest Management*. Woodhead publishing Wiley Blackwell, UK.
- Sharma, R.R., Singh, D., Singh, R., 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review. *Biol. Control* 50 (3), 205-221.
- Sholberg, P. L., Haag, P. D. 1996. Incidence of postharvest pathogens of stored apples in British Columbia. *Can. J. Plant Pathol.* 18: 81-85.
- Sitton, J. W., Patterson, M. E. 1992. Effect of high-carbon dioxide and low-oxygen controlled atmospheres on postharvest decays of apples. *Plant disease*, 76(10), 992-995.
- Spadaro, D., Gullino, M. L. 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International journal of food microbiology*, 91(2), 185-194.
- Spadaro, D., ve Droby, S. 2016. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science & Technology*, 47, 39-49.
- Spotts, R.A., Sanderson, P.G., 1994. The postharvest environment and biological control. In: Wilson, C.L., Wisniewski, M.E. (Eds.), *Biological Control of Postharvest Diseases-Theory and Practice*. CRC Press, London, 43-56.
- Sun C., Fu D., Lu H., Zhang J., Zheng X., Yu T. 2018. Autoclaved yeast enhances the resistance against *Penicillium expansum* in postharvest pear fruit and its possible mechanisms of action. *Biol Control* 119:51–58.
- Şahin, İ. ve Öztürk, N., 1998. Salamura beyaz peynirlerde bozulmaya neden olan mayaların tanımlanması, Tubitak Proje no: TOKTAG-1582, 47.
- Taşçı, F. 2017. Ürün Raporu, Elma. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü. 978-605-2207-01-7, 20.
- Tatlı, Ö. 2006. Ege Bölgesine Özgü Bazı Yaş Meyve, Sebze ve Kurutulmuş Gıda Ürünlerinde Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Tespiti. Yüksek Lisans Tezi, 2006.

- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001, Erişim Tarihi: 10.06.2020.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., Lorito, M. 2008. Trichodermae plante pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40,1-10.
- Wang W., Chi Z., Liu G., Buzdar M. A., Chi Z., Gu Q. 2009a. Chemical and biological characterization of siderophore produced by the marine-derived *Aureobasidium pullulans* HN6.2 and its antibacterial activity. *Biometals* 22:965–972.
- Wang W. L., Chi Z. M., Chi Z., Li J., Wang X.H. 2009b. *Bioresour Technol.* 100:2639–2641.
- Wisniewski, M. E., Wilson, C. L. 1992. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: recent advances. *HortScience*, 27(2), 94-98.
- Wisniewski, M., Biles, C., Droby, S., McLaughlin, R., Wilson, C., Chalutz, E., 1991. Mode of action of the postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondi*. I. Characterization of the attachment to *Botrytis cinerea*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 39, 245–258.
- Yıldız, M., Kınay, P., Yıldız, F., Delen, N., Tosun, N., 1998. Turuncgillerde *Penicillium* çürükleriyle savaşında epifitik mayaların kullanılma olanakları üzerinde araştırmalar. *Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi bildirileri*, Ankara, 195-199.
- Zhang, D., Spadaro, D., Garibaldi, A., Gullino, M.L., 2009. Selection and evaluation of new antagonists for their efficacy against postharvest brown rot of peaches. *Postharvest Biol. Technol.* 55, 174–181.

ÖZGEÇMİŞ

Serap TÜRKOĞLU, 12.09.1993 tarihinde İstanbul'da doğdu. İlköğretim ve ortaöğretimi İstanbul'da tamamladı. Kadriye Moroğlu Lisesi'nden 2012 yılından mezun oldu. Aynı yıl Bayburt Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne yerleşti ve 2016 yılında lisans eğitimini Mühendislik Fakültesi Birincilik Derecesi ile tamamladı. 2017 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2020 yılında Üretim Sorumlusu/Gıda Mühendisi pozisyonunda iş hayatına başladı.