T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN KÜLTÜR MANTARLARINDA HASTALIĞA SEBEP OLAN BAZI FUNGAL PATOJENLERİN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Şenay TORUN SARI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OCAK 2019

ANTALYA

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN KÜLTÜR MANTARLARINDA HASTALIĞA SEBEP OLAN BAZI FUNGAL PATOJENLERİN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Şenay TORUN SARI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OCAK 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN KÜLTÜR MANTARLARINDA HASTALIĞA SEBEP OLAN BAZI FUNGAL PATOJENLERİN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Şenay TORUN SARI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FYL-2018-3717 nolu proje ile desteklenmiştir.

OCAK 2019

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN KÜLTÜR MANTARLARINDA HASTALIĞA SEBEP OLAN BAZI FUNGAL PATOJENLERİN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Şenay TORUN SARI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 18/01/2019 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hacer SERT (Danışman)

Doç. Dr. Hakan ALLI

Doç. Dr. Hasan AKGÜL

ÖZET

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN KÜLTÜR MANTARLARINDA HASTALIĞA SEBEP OLAN BAZI FUNGAL PATOJENLERİN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Şenay TORUN SARI

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hacer SERT

Ocak 2019; 52 Sayfa

Bu araştırma, kültür mantarlarında hastalığa sebep olan bazı fungal patojenlerin gelişimi üzerine gümüş nanopartiküllerin etki oranını belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Söz konusu fungal patojen örnekleri, Korkuteli ilinin mantar üretim tesislerinden toplanmıştır.

Çalışmada ülkemizde kültür mantarcılığının önemi ve fungal hastalıkların bu sektörde meydana getirdiği önemli ekonomik kayıplar göz önüne alınarak, *Agaricus bisporus* üretiminde 'Örümcek Ağı Hastalığı'na neden olan *Cladobotryum dendroides*, 'Kuru Kabarcık Hastalığı'na neden olan *Verticillium fungicola* ve 'Yaş Kabarcık Hastalığı'na neden olan *Mycogone perniciosa* mikromantarlarının gelişimi üzerine gümüş nanopartiküllerin etkisi incelenmiştir.

Araştırmanın ana materyalini oluşturan üç mikromantar olan *C. dendroides*, *M. perniciosa* ve *V. fungicola* gelişimi üzerine nanopartiküller laboratuvar ortamında, % 0.1, % 0.5, % 1, % 5 ve % 10 oranlarında uygulanmış olup, uygulama sonucunda yapılan sayımlarda üremenin engellendiği ve hücre sayısının azaldığı gözlenmiştir.

Nanopartiküllerle mücadele yöntemi daha önce birçok alanda uygulanmış olmasına rağmen, mikromantarların gelişimi üzerinde daha önce hiç denenmemiştir. Araştırmanın ileride yapılacak olan biyolojik mücadele yöntemlerine ışık tutacağı düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: *Agaricus bisporus*, nanopartikül, mikrofungus, patojen

JÜRİ: Prof. Dr. Hacer SERT

Doç. Dr. Hakan ALLI

Doç. Dr. Hasan AKGÜL

ABSTRACT

THE EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES ON THE DEVELOPMENT OF SOME FUNGAL PATHOGENS THAT CAUSE DISEASE IN CULTURE FUNGI

Şenay TORUN SARI

Master Thesis, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Hacer SERT

January 2019; 52 Pages

This study was carried out to determine the effect of silver nanoparticles on the development of some fungal pathogens causing disease in culture fungi. These fungal pathogen samples were collected from mushroom production facilities in Korkuteli province.

In this study, the effects of silver nanoparticles over the growing of microfungi, such as *Cladobotryum dendroids* causing cobweb disease, *Mycogone perniciosa* causing wet bubble disease, *Verticillium fungicola* causing dry bubble disease in the production area at *Agaricus bisporus* has been researched by considering the importance of mushroom cultivation in our country and the big economical loss which is caused by the fungal diseases in this sector.

In the research, the three microfungi composing the main material of the study *C. dendroides, M. perniciosa* and *V. fungicola* on nanoparticles in laboratory environment % 0.1, % 0.5, % 1, % 5 and % 10 were applied, and as a result of the application of counts, the reproduction is prevented and the number of cells decreased observerved.

Although the method of combating nanoparticles has been applied in many areas, it has never been tried before on the development of microfungi. It is thought that the research will shed light on future biological fighting methods.

KEYWORDS: *Agaricus bisporus,* nanoparticles, microfungi, pathogen

COMMITTEE: Prof. Dr. Hacer SERT

Assc. Prof. Dr. Hakan ALLI

Assc. Prof. Dr. Hasan AKGÜL

ÖNSÖZ

Mantarlar, başta ekosistemde madde döngüsü olmak üzere, gıda endüstrisi, fermantasyon teknolojisi ve ilaç sanayinde büyük bir rol oynarlar. Özellikle kültür mantarlarının her geçen gün öneminin artması hiç şüphesiz sahip olduğu yüksek besin değerinden kaynaklanmaktadır. Protein, vitamin ve mineralce zengin oluşu nedeniyle, sağlıklı beslenmede önemli yer tutan kültür mantarları, gelişmekte olan ülkelerdeki protein açığının kapanmasında da katkıda bulunacak gıdaların başında gelmektedir (Özaktan ve Tüzel 1993).

Ülkemizde birçok mantar türünün kültürü yapılabilmekle beraber, bu sektörde en sık kullanılan ve ticareti yapılan tür *Agaricus bisporus (*Lange*)* Sing'tur. Son yıllarda üretiminde belirgin bir artış gösteren *A.bisporus* yetiştiriciliğinin en büyük sorununun hastalık ve zararlılar olduğu bilinen bir gerçektir (Erkal 1992). Daha önce yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde, kültür mantarı üretim evrelerinde verimi ve kaliteyi etkileyen bakteriyel, viral hastalıklar kadar fungal hastalıkların da önemli olduğu saptanmıştır. Özellikle 'Örümcek Ağı Hastalığı'na sebep olan *Cladobotyum dendroides* Bull. ex Merat, 'Kuru Kabarcık Hastalığı'na sebep olan *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk ve 'Yaş Kabarcık Hastalığı'na sebep olan *Mycogone perniciosa* Magnus gibi bazı mikromantarlar *A.bisporus* yetiştiriciliğinde hastalığa neden olan başlıca türlerdendir (Erkel 1992).

Gümüş nanopartiküller tekstil, boya, kimya, taş, su arıtma, elektronik, sağlık, otomotiv, bilgisayar teknolojisi ve sanayinin birçok kolunda kullanılmaktadır. Ancak literatür taraması sonucunda nanopartiküllerin, kültür mantarlarının yetiştirilmesi esnasında hastalığa neden olan mikromantarların gelişimi üzerindeki etkilerinin henüz araştırılmamış olduğu görülmüştür.

Bu tez çalışmasının, günümüzde gittikçe artan kültür mantarı yetiştiriciliği açısından büyük önem taşıdığı ve ileride yapılacak olan mücadele çalışmalarına ışık tutacağı düşünülmektedir.

Bu konuyu seçmemi öneren, çalışmalarım sırasında her türlü yardımını, tecrübelerini ve çok değerli bilgilerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, bana her konuda destek olan ve kendisini her konuda örnek almaya çalıştığım danışmanım Prof. Dr. Hacer Bakır Sert'e yürekten teşekkürlerimi sunarım. Çalışma süresince Manavgat Turizm Fakültesi Laboratuvarı'nı kullanma olanağını sağlayan Fakülte Yönetimi'ne, akademik ve idari personele, Akdeniz Üniversitesi Kimya Bölümü Sayın Doç. Dr. Murat Akarsu hocama, bu yola beraber başladığım arkadaşlarıma, tez çalışmamın her aşamasında bana hep destek olan tüm aile fertlerine teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..……..……....i
ABSTRACT ..…….....ii
ÖNSÖZ ..…….....iii
AKADEMİK BEYAN …….....vi
SİMGELER VE KISALTMALAR ...……...……..vii
ŞEKİLLER DİZİNİ ..……viii
ÇİZELGELER DİZİNİ ….……...ix
1. GİRİŞ ..……..1
2. KAYNAK TARAMASI ...……3
2.1. Araştırma Konusuyla İlgili Çalışmalar……..... 3
2.2. Araştırma Alanının Genel Özellikleri……..4
2.2.1. İklim……....…5
2.2.2. Sıcaklık ...……6
2.2.3. Yağış……7
2.3. Kültür Mantarı Üretim Koşulları…….....8
2.3.1. Mantar üretim odaları…….…….8
2.3.2. Kompost hazırlama, amacı ve sterilizasyonu ...……..……..…10
2.3.3. Üretim ortamının iklim koşulları .……10
2.3.3.1. Sıcaklık……...10
2.3.3.2. Nem……11
2.3.3.3. Havalandırma…… 11
2.4. Araştırmada Kullanılan Fungal Patojenler……11
2.4.1. *Cladobotryum dendroides* Bull ex. Merat……11
2.4.1.1. Örümcek ağı hastalığına karşı mücadele yöntemleri ……13
2.4.2. *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk …...…...……...13
2.4.2.1. Kuru kabarcık hastalığına karşı mücadele yöntemleri ...…...……15
2.4.3. *Mycogone perniciosa* Magnus ...…….....15

2.4.3.1. Yaş kabarcık hastalığına karşı mücadele yöntemleri ...……...…..17
2.5. Biyolojik Mücadelede Kültür Mantarının Kullanımı ……..18
2.6. Araştırmada Kullanılan Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri ve Kullanım Alanları……..……19
2.7. Gümüş Nanopartiküllerin Özellikleri ve Kullanım Alanları…….....21
2.8. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkileri ..……23
3. MATERYAL VE METOT ..……...25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA …… 27
4.1. *Cladobotryum dendroides* Bulguları ..…….……27
4.2. *Verticillium fungicola* Bulguları ...…….…… 29
4.3. *Mycogone perniciosa* Bulguları ……31
5. SONUÇLAR ..…….35
5.1. AgNP Uygulama Sonuçları……..….35
5.1.1. *Cladobotryum dendrois*'e uygulanan AgNP sonuçları……...…….. 35
5.1.2. *Verticillium fungicola*'ya uygulanan AgNP sonuçları……...…….…36
5.1.3. *Mycogone perniciosa'ya* uygulanan AgNP sonuçları…….…….....36
5.2. İstatistiksel Analiz Sonuçları…….42
5.2.1. *C.dendroides* için uygulanan AgNP istatistik sonuçları…….42
5.2.2. *V. fungicola* için uygulanan AgNP istatistik sonuçları……...44
5.2.3. *M. perniciosa* için uygulanan AgNP istatistik sonuçları ……...45
6. KAYNAKLAR ..……48
ÖZGEÇMİŞ

AKADEMİK BEYAN

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum ‘Gümüş Nanopartiküllerin Kültür Mantarlarında Hastalığa Sebep Olan Bazı Fungal Patojenlerin Gelişimi Üzerine Etkileri’ adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

18/01/2019

Şenay TORUN SARI

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A. : Alan

Ag: Gümüş

Fak. Fakülte

µl : Mikrolitre

NP: Nanopartikül

nm: Nanometre

Kısaltmalar

AÜ: Akdeniz Üniversitesi

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

TEM: Transmisyon Elektron Mikroskobu

D.M.İ.G.M.: Devlet Meteoroloji İstasyonu Genel Müdürlüğü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Korkuteli ilçesinin lokasyonu ……..……5

Şekil 2.2. Sıcaklık, bağıl nem ve yağış dağılımları ……..6

Şekil 2.3. Yıllık ortalama yağışın mevsimlere göre dağılımı ...……..……..8

Şekil 2.4. Mantar üretim odalarından bir görüntü ……...9

Şekil 2.5. Modern bir mantar üretim odası ……9

Şekil 2.6. *A. bisporus* üzerinde örümcek ağı hastalığı …….……12

Şekil 2.7. *A. bisporus* üzerinde kuru kabarcık hastalığı ....……14

Şekil 2.8. *A. bisporus* üzerinde yaş kabarcık hastalığı ……...16

Şekil 2.9. Yaş kabarcık hastalığının farklı koşullardaki belirtileri …….....17

Şekil 2.10. Nanopartiküllere ait elektron mikroskobu görüntüleri……..19

Şekil 2.11. Nanopartikül üretiminde kullanılan yaklaşımlar ……..21

Şekil 2.12. Gümüş iyonlarının antimikrobiyal mekanizması …….23

Şekil 4.1. *C. dendroides*'in *A. bisporus* üzerinde gelişimleri ……28

Şekil 4.2. *V. fungicola*'nın *A. bisporus* üzerinde gelişimleri ..……30

Şekil 4.3. *M. perniciosa*'nın *A. bisporus* üzerinde gelişimleri ..…….32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Korkuteli ilçesinde maksimum, minumum ve ortalama sıcaklık değerleri…….. 7

Çizelge 2.2. Korkuteli'nde *yıllık* ortalama yağışın aylara dağılımı …….7

Çizelge 4.1. Uygulama öncesi *C. dendroides*'in hücre sayımı …… 27

Çizelge 4.2. *C. dendroides*'e AgNP uygulamaları ..……29

Çizelge 4.3. Uygulama öncesi *V. fungicola*'nın hücre sayımı ..……..29

Çizelge 4.4. *V. fungicola*'ya AgNP uygulamaları ..…… 31

Çizelge 4.5. Uygulama öncesi *M. perniciosa*'nın hücre sayımı ..……31

Çizelge 4.6. *M. perniciosa*'ya AgNP uygulamaları ……33

Çizelge 5.1. *Cladobotryum dendroides'*ingelişimi üzerine AgNP'lerin etki oranları ..…….35

Çizelge 5.2. *Verticillium fungicola*'nın gelişimi üzerine AgNP'lerin etki oranları 36

Çizelge 5.3. *Mycogone perniciosa*'nın gelişimi üzerine AgNP'lerin etki oranları 37

Çizelge 5.4. AgNP'lerin hücre sayısına etkileri (2 haftalık kültür)…..……37

Çizelge 5.5. AgNP'lerin hücre sayısına etkileri (20 günlük kültür) ……38

Çizelge 5.6. AgNP'lerin hücre sayısına etkileri (1 aylık kültür) …….……38

Çizelge 5.7. AgNP'lerin hücre sayısına etkileri (35 günlük kültür) …….39

Çizelge 5.8. AgNP'lerin hücre sayısına etkileri (2 aylık kültür) ……40

Çizelge 5.9. AgNP'lerin hücre sayısına etkileri (75 günlük kültür) ……41

Çizelge 5.10. *C.dendroides*'e ait varyans analizi sonuçları……...42

Çizelge 5.11. *C.dendroides*'e konsantrasyon oranlarının etkisi ….……..43

Çizelge 5.12. *C.dendroides*'in gelişimine kültür zamanlarının etkisi ……43

Çizelge 5.13. *V.fungicola*'ya ait varyans analizi sonuçları……..44

Çizelge 5.14. *V. fungicola'ya* AgNP konsantrasyon oranlarının etkisi……..…….44

Çizelge 5.15. *V. fungicola*'nın gelişimine kültür zamanlarının etkisi……..45

Çizelge 5.16. *M. perniciosa*'ya ait varyans analizi sonuçları……...45

Çizelge 5.17. *M. perniciosa'*ya AgNP konsantrasyon oranlarının etkisi ……....46

Çizelge 5.18. *M. perniciosa'*nın gelişimine kültür zamanlarının etkisi……...46

1. GİRİŞ

Mantarlar, başta ekosistemde madde döngüsü olmak üzere, gıda endüstrisi, fermantasyon teknolojisi ve ilaç sanayinde büyük bir rol oynarlar. Özellikle kültür mantarlarının her geçen gün önemini arttırması hiç şüphesiz sahip olduğu yüksek besin değerinden kaynaklanmaktadır. Protein, vitamin ve mineralce zengin oluşu nedeniyle, sağlıklı beslenmede önemli yer tutan kültür mantarları, gelişmekte olan ülkelerdeki protein açığının kapanmasında da katkıda bulunacak gıdaların başında gelmektedir (Özaktan ve Tüzel 1993).

Diğer taraftan bitki, insan, hayvan ve kendi türlerinin patojeni olmaları nedeniyle araştırmacıların yoğun olarak ilgisini çekmektedirler. Biyolojik zenginliklerimiz arasında önemli bir yeri olan mantarların, bilimsel olarak araştırılıp incelenmeleri ile onlardan daha çok yararlanma veya patojen etkilerinden korunma sağlanabilecektir (Basım ve Öztürk 2017).

Ülkemizde birçok mantar türünün kültürü yapılabilmekle beraber, bu sektörde en sık kullanılan ve ticareti yapılan tür *Agaricus bisporus* (Lange) Sing'tur. Son yıllarda üretiminde belirgin bir artış gösteren *A.bisporus* yetiştiriciliğinin en büyük sorununun hastalık ve zararlılar olduğu bilinen bir gerçektir. Daha önce yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde, kültür mantarı üretim evrelerinde, verimi ve kaliteyi etkileyen bakteriyel, viral hastalıklar kadar fungal hastalıkların da önemli olduğu saptanmıştır. Özellikle 'Örümcek Ağı Hastalığı'na neden olan *Cladobotryum dendroides* Bull. ex Merat, 'Kuru Kabarcık Hastalığı'na neden olan *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk ve 'Yaş Kabarcık Hastalığı'na neden olan *Mycogone perniciosa* Magnus gibi bazı mikromantarlar *A. bisporus* yetiştiriciliğinde karşılaşılan başlıca fungal patojenlerdendir (Erkel 1992).

C. dendroides'in sebep olduğu 'Örümcek Ağı Hastalığı', örtü toprağı üzerinde hızla gelişir ve yoluna çıkan değişik boyuttaki mantar şapkalarını ya örter ya da üzerinde sarımsı kahverengi lekeler oluşturur. Böylece mantarların kitlesel ölümüne veya yumuşayıp çürümesine neden olur (Özaktan ve Tüzel 1993).

V. fungicola'nın neden olduğu 'Kuru Kabarcık Hastalığı', kültür mantarının şapkasında biçim bozuklukları ve kahverengi lekeler oluşturmaktadır. Bu bozukluklardan soğan başı biçimindeki gelişim *Verticillium* için tipiktir. Çoğu kez sap, şapkadan ayırt edilemeyecek kadar kalınlaşabilir, sapta çizgi çatlamalar oluşabilir. *Verticillium* kompostta değil, örtü toprağında bulunur. Kuru kabarcık hastalığı yaklaşık 10°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda gelişme gösterir. Havanın nemi fungusun gelişimini hızlandırır (Özaktan ve Tüzel 1993).

M. perniciosa'nın sebep olduğu 'Islak Kabarcık Hastalığı', genç mantar yapılarını enfekte eder. Bunun sonucunda mantarlar tamamen deforme olur. Birkaç gün sonra sarılan genç mantarlar yumuşak bir miselyum yumağına dönüşür. Bu yumağın içinden yer yer kahverengi renkli bir akıntı çıkar. Bu hastalık sadece örtü toprağında görülür (Özaktan ve Tüzel 1993).

Ülkemizde, kültür mantarı hastalık ve zararlılarına karşı ruhsatlandırılmış bir adet Prochloraz etken maddeli kimyasal ilaç mevcuttur. Prochlaz, kültür mantarı yetiştiriciliğinde karşılaşılan birçok fungal kökenli hastalıkta kullanıldığı gibi örümcek ağı hastalığının tedavisinde de kullanılabilmektedir.

Kültür mantarı yetiştiriciliğinin üretim alanı ve kapasite olarak gelişmesine paralel yetiştiricilik süresince hastalık ve zararlılar ile karşılaşma ihtimali de artmıştır. Bu denli değerli özellikle gıda olarak fazlaca tercih edilen bu ürünün yetiştirilmesinde karşılaşılan hastalık ve zararlılar ile mücadele ise maalesef kontrolsüz bir şekilde yapılmaktadır.

Kültür mantarı üretiminde, hastalıkların ortaya çıkışından sonra mücadele son derece güç olmaktadır. Kültür mantarı üretim evrelerinde fungal hastalıkların kontrolünde tarım ilacı kullanımı dikkatli yapılmalı ve insan sağlığına en az zararlı, dekompozisyon süresi kısa kimyasallara yer verilmelidir. Ancak en doğrusu kimyasal madde kullanılmadan yapılabilecek mücadele yöntemlerini hayata geçirebilmektir. Bu nedenle nanopartiküllerin kültür mantarlarında enfeksiyona neden olan fungal patojenlere olan etkilerini incelediğimiz bu çalışmanın insan ve çevre sağlığı açısından son derece önemli olan biyolojik mücadele çalışmalarına ışık tutacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Araştırma Konusuyla İlgili Çalışmalar

Türkiye'de yaklaşık 25 yıllık bir geçmişi olan ve son yıllarda üretiminde belirgin bir artış gözlenen kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) yetiştiriciliğinin en büyük sorununun hastalık ve zararlılar olduğu bilinen bir gerçektir (Erkel 1992). Daha önce yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde nanopartiküllerin fungusların gelişimi üzerindeki etkilerini inceleyen hiçbir çalışmaya rastlanmamış olup, kültür mantarı yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara yol açan hastalıklarla ilgili genel anlamda bazı araştırmaların yapılmış olduğu görülmüştür (Fermor vd. 1991; Goodin 2002; Khanna vd. 2002; Munjal vd.1989; Nair ve Fahy 1976; Oliver vd. 1978; Romaine ve Wayne 2009).

Makrofungusların doğrudan besin olarak kullanımlarının yanı sıra toksik olmayan ilaçların, diyet ürünlerinin, bazı kozmetik ürünlerin eldesinde de kullanım potansiyeli bilinmektedir (Bilay vd. 2000). Araştırmalar sonucunda mantarın alternatif tıp olarak bilinen alanda da kullanıldığı; aneminin tedavisinde, şeker ve kolesterolü düşürmede etkili olduğunu görülmektedir (Melikoğlu vd. 1976; Tokita vd. 1972). Bazı mikrofungus türlerinin, özellikle *C. dendroides, M. perniciosa* ve *V. fungicola,* kültür mantarlarında sebep olduğu hastalıklar bu mantarların üretiminde ve dolayısıyla ekonomide büyük kayıplara sebep olmaktadır (Sert 2008).

C. dendroides'in meydana getirmiş olduğu örümcek ağı hastalığı'nın morfolojik ve genetik karakterizasyonu (Mckay vd. 1999) ile *C. dendroides*'te benzimidazol direnci (Mckay vd. 1998) ve fungisit direnci (Grogan ve Gaze 2000) makaleleri *C. dendroides* ile ilgili yapılmış olan çalışmalardan başlıcalarıdır. Bu mantar türü ile ilgili ülkemizde de hastalığın tanımlanması ve biyolojik mücadele konularında bazı araştırmalar yapılmıştır (Bora vd. 2004; Yıldız ve Bora 1994) .

Islak kabarcık hastalığına neden olan *Mycogone perniciosa* ve kuru kabarcık hastalığına neden olan *Verticillium fungicola* ile ilgili hastalıkların tanımlanması ve biyolojik mücadele konularında yurtiçinde ve yurtdışında yapılmış olan çalışmalar mevcuttur. Fakat bu çalışmaların sayılarının oldukça az olduğu görülmektedir (Bhatt 2000; Bora vd. 1996; Özaktan ve Tüzel 1993; Bora ve Özaktan 2000).

Örneğin kahverengi benek hastalığı (*Pseudomonas tolaasii*) kontrolünde yaygın olarak sodyum hipoklorit ile mantar üretim sürecinde sulama yapılması değişken sonuçlar verebilmektedir. Son yıllarda alternatif bir kontrol yöntemi olarak *P. tolaasii*'ye karşı antagonistik bakterilerin kullanıldığı biyolojik kontrol çalışmalarından olumlu sonuçlar alındığı bilinmektedir (Nair ve Fahy 1976; Oliver vd. 1978; Munjal vd. 1989; Khanna vd. 1990; Fermor vd. 1991).

Diğer bir araştırma ise virüslerin sebep olduğu, mantar hastalığına karşı yapılan gen aktarım yoludur. Bilindiği gibi günümüzde gen aktarımı ile virüslere karşı dayanıklı bitki elde etme çalışmaları büyük bir hızla sürmektedir. Kültür mantarlarında da bu yönde çalışmalar devam etmekte olup özellikle *A. bisporus*'a gen aktarımıyla ilgili uygun ve oldukça etkili yöntemler geliştirilmiştir (Romaine ve Goodin 2002).

Bunların dışında mantar enfeksiyonlarının sıklığının ve öneminin artması, antifungal maddelerin sıklıkla kullanılmasına olanak sağlamıştır. Tedavideki yaklaşımlarım düzenlenmesinde, alternatif ilaçların arayışında ve gözlenen direnç sorunu nedeniyle standart antifungal duyarlılık yöntemlerinin önemi artmıştır. Ancak mantar hastalıklarının tedavilerinde bu testlerle ilgili sorunlar tam anlamıyla yanıtlanamamıştır (Wayne 2009).

Çalışmalar incelendiğinde, Türkiye'de makromantarlarda hastalık yapan fungal patojenlere yönelik çok az sayıda araştırma bulunması ve nanopartiküllerle mücadele yöntemi birçok alanda uygulanmış olmasına rağmen nanopartiküllerin kültür mantarlarında hastalığa neden olan fungal patojenlerin gelişimine yönelik hiçbir araştırmanın yapılmamış olması, yapmış olduğumuz araştırmanın özgün değerini arttırmaktadır. Bu çalışmayla, *A. bisporus* üzerinde hastalığa neden olan mikromantarlardan *C. dendroides, M. perniciosa* ve *V. fungicola'*nın gelişimine gümüş nanopartiküllerin etkisi araştırılmış olup çalışmanın literatüre çok önemli bir katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

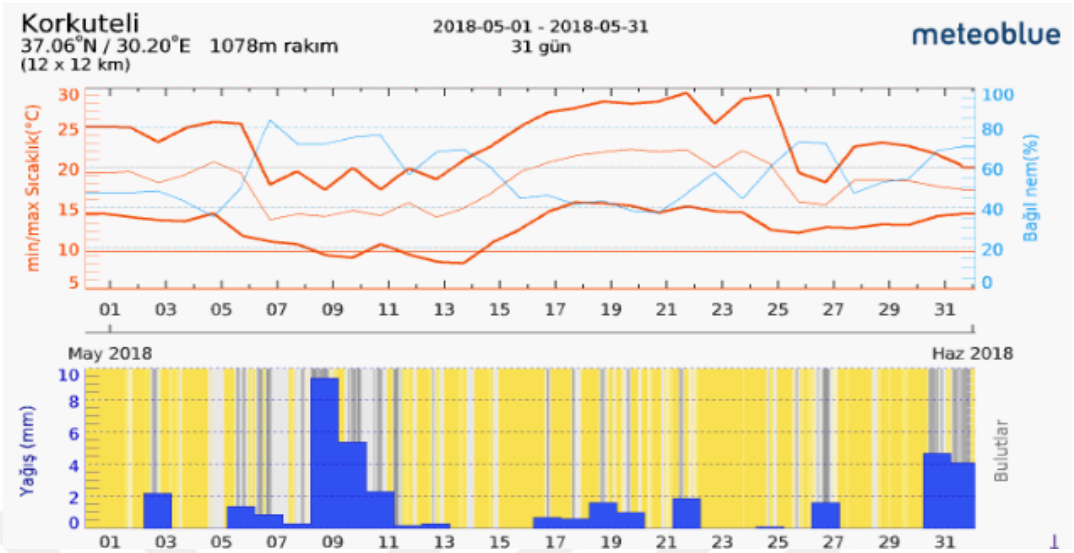
2.2. Araştırma Alanının Genel Özellikleri

Korkuteli Akdeniz bölgesinde yer alan bir ilçedir. Antalya merkezden 63 km kuzeybatıda ve iç kesimde yer almaktadır. İklim farklılıkları Korkuteli ilçesinin ekonomik faaliyetlerini değiştirecek şekilde rol oynamaktadır. Turizm, seracılık, tarım ve hayvancılık gelişmemiştir. Bu durum, halkı farklı ekonomik arayışlara yöneltmiştir. İlçe köyünde, bir üretici tarafından deneme amaçlı mantar üretimi yapılmış, sonrasında kompost üretim tesisleri açılmıştır. Tüm bunlar mantar yetiştiriciliğinin yaygınlaşmasında önemli bir rol oynamıştır. Mantar yetiştiriciliği ilçe ve köylerindeki halk tarafından benimsenmiş, üretimde devamlılık sağlanmış, 1990'lı yılların başından itibaren de hızla yaygınlaşmıştır. Çünkü mantar yetiştiriciliği, uygun koşullar sağlandığında yıl boyu üretimi yapılabilen karlı bir ekonomik faaliyettir (Demir ve Uzun 1998). Türkiye'de bilimsel anlamda ilk defa 1960'ta Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde kültür mantarı yetiştiriciliği yapılmıştır.

Şekil 2.1. Korkuteli ilçesinin lokasyonu (Anonim 1)

2.2.1. İklim

Kültür mantarı sıcaklık ve nemin kontrol altında tutulduğu, oksijenin bol olduğu kapalı mekanlarda gerçekleştirilir. Korkuteli ilçesinde ortalama sıcaklık ve nem değerleri incelendiğinde mantarın yetişme süresince gerekli olan değerlere paralellik sağladığı görülür. İlçenin genelinde Göller Yöresi karasal iklimi hüküm sürer. Yazlar serin, kışlar soğuk ve kar yağışlı geçer. Antalya merkez sınırı ve çevrelerinde Akdeniz iklimi hakimdir. Yükselti ve karasallığın etkisiyle yaz mevsimi daha serin ve kısa, kış mevsimi ise daha soğuk ve uzundur. Deniz etkisi az olduğu için bağıl nem oranı, kıyı kesimlere göre daha azdır. Korkuteli'nin iklim özelliklerini ortaya koyarken, Korkuteli ilçe meteoroloji istasyonu ve D.M.İ.G.M.'nin uzun yıllara ait rasat bilgilerinden yararlanılmaktadır (Kadıoğlu 2015).



Şekil 2.2. Sıcaklık, bağıl nem ve yağış dağılımları (Korkuteli Meteoroloji İstasyonu)

Bu verilerin 30 yılın üzerindeki rasatları kapsıyor olması verilerin güvenilirliğini arttırmaktadır. Korkuteli ilçesinin iklim özelliklerinin ortaya çıkmasında planeter ve coğrafi faktörlerin etkili olduğu Şekil 2. 2'de görülmektedir. Korkuteli iklimi üzerinde etkili olan diğer coğrafi faktör, orografik unsurlardır. Asıl Akdeniz İklimi bölgesinin hemen gerisinde dik yamaçlı yüksek dağlar uzanır. İşte bu iki çukur yer (Akdeniz kıyı boyu alçak bölgesi ile İç Anadolu düzlükleri alanı) arasındaki yüksek dağlık yerler farklı iklim özelliği gösterirler. Bu dağların Akdeniz'e dönük yamaçları kışın bol yağış alır. Ancak bu yağışlar daha ziyade kar şeklindedir. Yükseltinin de etkisiyle ilçede kar yağışları görülmektedir. Dağların zirvelerine doğru kar yağışının arttığı da bilinmektedir. Yazın ise az da olsa yağmur yağışı görülür. Bu dağlık yerlerde, yüksekliğin verdiği bir özellikle, bunaltıcı yaz sıcakları ve mevsimin kuraklığı hafiflemiştir. Bu dağlar sahil insanlarının yazın çok aradığı serin ve nemlice, ormanlık yaylalardır. Burada yükseklik oranına göre, kışlar sert yaşanmaktadır. Yine burada kıyı boyunun makileri ve buralara uymuş kültür bitkileri yerine, çam ormanları ve yüksek çayırlar yer tutmuştur. Bu iklime 'Akdeniz yakını dağ iklimi' ve 'göller yöresi iklimi' denilmiştir (İzbırak 2001).

2.2.2. Sıcaklık

Korkuteli Meteoroloji İstasyonu rasatlarına göre ortalama sıcaklıklar kışın 2.5 ^{0}C, yazın 20.6 °C'nin altına inmez. Bununla birlikte kışın sıcaklıklar gece saatlerinde ortalamanın altında, yazın gündüz saatlerinde ortalamanın üstündedir. Maksimum sıcaklıklar yaz mevsiminde 83.7 gün 25 °C'ye ve üstüne çıkar. Nisan ve Ekim döneminde 30 °C'yi geçer. Rasat süresince ölçülen en düşük sıcaklık -16.2 °C olup Ocak ayında görülmüştür (Çizelge 2.1). Kışın 13.5 gün minimum sıcaklıklar -5 °C'ye ve altına düşer. Maksimum ve ortalama sıcaklıklar Akdeniz ve Ege bölgesinin kıyı kesimine göre daha düşük, minimum sıcaklıklar iç bölgelere göre daha yüksektir. Bu

özellik Korkuteli'nde mantar yetiştiriciliğini kolaylaştırmakta, ısıtma soğutma maliyetlerini düşürmektedir.

Çizelge 2.1. Korkuteli ilçesinde maksimum, minumum ve ortalama sıcaklık değerler (D.M.İ.G.M.)

Tablo 1: Korkuteli'nde maksimum, minimum ve ortalama sıcaklıklar (°C)

Aylar	O	Ş	M	N	M	H	T	A	E	E	K	A
Ort. Sıc.	2.5	3.4	6.6	10.7	15.7	20.6	23.8	23.3	19	13.5	7.7	4
Mak. Sıc.	18	20.8	27	30.4	32.9	38	39.9	39.2	37.4	32	26.4	22.1
Min. Sıc.	16.2	13.4	14.4	-7.2	0.6	5.1	9.4	9.8	1.9	-2.7	-9.8	11.4

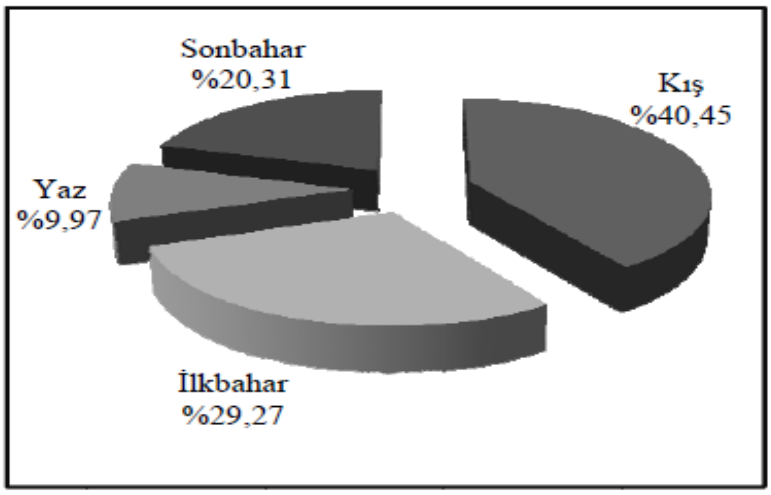
2.2.3. Yağış

Korkuteli'nin bağıl nem oranlarına göre yaz aylarında yağışa uzak, kış aylarında ise yağışa yakın olduğu görülmektedir.

Çizelge 2.2. Korkuteli'nde yıllık ortalama yağışın aylara dağılımı

Aylar	O	Ş	M	N	M	H	T	A	E	Ek	K	A	Y.O.
(mm)	59,3	43,7	41,3	39,1	38,5	23,6	9,6	7,3	10,4	30,8	41,3	61,3	406,1

Devlet Meteoroloji İstasyonu Genel Müdürlüğü (2007)'nden alınan verilere göre; Korkuteli'nde yıllık ortalama yağış 406,1 mm'lik değere sahiptir. Yağışın aylara dağılışına bakıldığında, en fazla yağış ortalama 61,3 mm ile Aralık ayında görülmüştür. Çizelge 2.2' de görüldüğü gibi en az yağış ortalama 7,3 mm değerle ağustos ayına aittir (Anonim 2).



Şekil 2.3. Yıllık ortalama yağışın mevsimlere göre dağılımı (D.M.İ.G.M)

D. M. İ. G. M.'nden alınan verilere göre Korkuteli ilçesinin yağışın mevsimlere dağılışına baktığımız zaman en fazla yağış 164,3 mm'lik değerle kış mevsiminde görülürken, en az yağış 40,5 mm'lik değerle yaz mevsimine aittir (Şekil 2.3).

2.3. Kültür Mantarı Üretim Koşulları

2.3.1. Mantar üretim odaları

Doğada kendiliğinden yetişen mantarlar, uygun ısı, nem, besi ortamı ve havalandırma gibi gerekli koşullar sağlandığında yıl boyu üretilebilmektedir. Yıl boyu üretim açısından mantar için optimum gelişme sıcaklığının sağlanması gerekir.

Kültür mantarı yetiştiriciliğinde değişik şekil ve yapılarda binalar kullanılmaktadır. Mantarın ticari üretim yerleri iklim koşullarının kısmen veya tamamen kontrol edilebildiği kapalı yerlerdir. Bunların bir kısmı mağara gibi doğal, bir kısmı ise bodrum gibi yapay barınaklardır (Günay 1995). Doğal barınaklarda ısıtma ve soğutmadan dolayı sınırlı bir üretim yapılırken, yapay barınaklarda böyle bir sorun çözülebildiğinden yıl boyu üretim yapılabilir. Mantar depolarındaki duvarlar ve tavan neme karşı yalıtkan olmalıdır (Griensven 1988). Korkuteli'nde üretim yapay barınaklarda yapılmaktadır. Bunlar evlerin bitişiğinde, yakınında, bodrum veya zemin katında yer alır. Çoğu ahır, samanlık ve kümesten döndürülmüş depolardır. Bu dönüştürülen depolar dışında sadece mantar yetiştirmek amacıyla yapılan depolar (Şekil 2.4) ve modern mantar işletmeleri de (Şekil 2.5) mantar yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır.

Şekil 2.4. Mantar üretim odalarından bir görüntü

Modern bir işletmede; hangar ve depo, kompost hazırlama platformu, kompost pastörizasyon odası, misel ekim odası, misel ön gelişme odası, örtü toprağı pastörizasyon odası, üretim odaları ve diğer yardımcı birimler bulunması gereken başlıca birimlerdir.

Şekil 2.5. Modern bir mantar üretim odası (Eren vd. 2016)

2.3.2. Kompost hazırlama, amacı ve sterilizasyonu

Mantar yetiştiriciliğinde organik maddece zengin bitkisel kaynaklı materyallerin belirli yöntemlerle parçalanması işlemine kompostlaştırma, hazırlanan ortama ise kompost adı verilir (Anonim 3).

Kültür mantarı, organik maddece zengin bitkisel atıkların kimyasal değişime uğratılarak hazırlandığı bir materyal içinde ve kapalı mekanlarda yetiştirilir (Erkel 2000). Hazırlanan bu ortam kompost olarak bilinir ve özel kompost tesislerinde üretilir. Kompost üretimi için daha çok alçı, tavuk gübresi, buğday sapı ve kireç kullanılmaktadır. Kompost, misel gelişimi için uygun bir ortam yaratır ve rakip organizmaların istediği besin yerine mantar beslenmesi için gerekli besin oluşturur. Kompost üretildikten sonra zararlı bakterilerden arındırılır ve otomatik ekim işlemine tabi tutulur (Anonim 4).

Kompost hazırlığının amacı, fermentasyon işlemiyle kompost bileşimini oluşturan ham materyallerdeki besinlerin mantarlar tarafından alınabilir forma dönüştürülebilmesidir. Kültür mantarı yetiştiriciliğinde at gübresi sentetik kompost hazırlama yöntemleri kullanılmaktadır (Anonim 3).

Kompost içindeki mantar misellerine rakip olabilecek hastalık ve zararlıları yok etmek amacıyla uygulanan işleme sterilizasyon denir. Kompostun sterilizasyonu buharla ve kimyasal yollarla yapılmaktadır (Özdemir 2010).

2.3.3. Üretim ortamının iklim koşulları

Kültür mantarı üretim odalarının iklim koşulları, üretimi etkileyen en önemli faktörlerdendir. Kültür mantarı yetiştiriciliğinde yüksek verim ve kaliteli ürün elde etmek için gerekli başlıca iklim koşulları; sıcaklık, nem ve havalandırmadır.

2.3.3.1. Sıcaklık

Üretim odalarındaki yastık sıcaklığı 24°C , oda sıcaklığı ise 22 C^0'de tutulmalıdır. Bu sıcaklıklar, örtü toprağı serildikten sonra misellerin toprağa tutunup gelişmesini sağlar. Örtü toprağı serilirken soya unu gibi katkı maddeleri sıcaklığın yükselmesine sebep olabileceğinden dolayı, sıcaklıklar sık sık kontrol edilmelidir. Miseller toprak içinde gelişmeye başladığında, sıcaklık yavaş yavaş düşürülmelidir. Örtü toprağı serildikten yaklaşık on gün sonra kompost sıcaklığı 18-20 ^{0}C, oda sıcaklığı ise 15-17 ^{0}C olacak şekilde ayarlanmalıdır. Örtü toprağı serildikten sonra yeterli sıcaklık sağlanamazsa, misellerin toprak içindeki gelişimleri yavaşlar. Mantar gelişimi gecikir ancak kalite oldukça yüksektir (Anonim 3).

2.3.3.2. Nem

Kültür mantarı gelişim evrelerinin tümünde % 75-90 arası yüksek neme ihtiyaç duyar. Misel ön gelişme odasında nem oranı daha yüksektir. Bu aşama bittikten sonra nemin azaltılması gelişimin yavaşlamaması için gereklidir.

2.3.3.3. Havalandırma

Mantar üretim odalarında yeterli havalandırma sağlanamazsa, hastalık ve zararlıların gelişimi için uygun ortamlar oluşabilir.

2.4. Araştırmada Kullanılan Fungal Patojenler

2.4.1. *Cladobotryum dendroides* Bull. ex Merat

Örümcek ağı hastalığı, mantar yetiştiriciliğinde önemli ürün kayıplarına neden olan hastalıklardandır ve hastalığa *Cladobotryum dendroides* adlı fungal patojen neden olmaktadır (Howard vd. 1994; Grogan ve Gaze 2000). Hasattan sonra kalan mantar atıkları ve ölü mantar gövdeleri hastalığa büyük ölçüde sebep olmaktadır. En karakteristik belirtisi, örtü toprağı ile mantar taslakları üzerinde yoğun bir ağ görünümü oluşturmasıdır (Fletcher vd. 1989).

C. dendroides toprak patojeni fungustur. Konidiosporları *Verticillium* benzeri, saydam, 2 veya 4 hücrelidir. Çok sayıda oluşan bu konidiosporlar hava akımları ve sulama esnasında yayılan su damlaları ile çevreye yayılır. İnsan, böcek ve sinekle taşınabildiği gibi havalandırma sırasında üretim tesisine girebilir. Eski örtü toprağı veya kompost tekrar tekrar örtü toprağı olarak kullanılıyorsa ve yeterince dezenfekte edilmiyorsa bulaşma gerçekleşebilir. Tesis içerisinde görüldüğünde gerekli önlemler alınmazsa kısa sürede hızla yayılır. Örtü toprağının fazla ıslak ve nemin üretim odalarında çok fazla olması hastalığı tetikler.

Hastalığın ilk belirtileri örtü toprağı üzerinde dağınık küçük yamalar şeklinde gözlenir. Sonra hızla yayılır ve tüm mantarları sarar. Enfekte olan mantarlar kabarık miselyum tabakasıyla kaplanır. Genç tomurcuklar yumuşak bir dokuya indirgenir. Fungusun toprak yüzeyindeki görüntüsü; beyaz, yünsü ve örümcek ağı dokusundadır (Şekil 2. 6 a; b). Konukçusu sadece kültür mantarlarıdır (Anonim 5).

(a)

(b)

Şekil 2.6. a; b. *A. bisporus* üzerinde örümcek ağı hastalığı

2.4.1.1. Örümcek ağı hastalığı ile mücadele yöntemleri

a) Kültürel yöntemler: Örtü toprağının dezenfeksiyonu ya da pastörizasyonu öncelikli önlem olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca mantar şapkalarının üzerinin ıslak bırakılmaması ve hava oransal neminin %85 in üzerinde sürekli olarak tutulmaması gözetilmelidir. Her sulamadan sonra mantar yüzeylerinin ıslak kalmaması için düzenli havalandırma yapılmalı, oda sıcaklığı üretim döneminde 18 ^{0}C üzerine çıkarılmamalıdır. Üretim dönemi boyunca ve sonunda kompost, toprak ve artık mantar parçaları işletmeden uzaklaştırılmalıdır. Yetiştirme dönemi sonunda üretim odaları, 12 saat 70 ^{0}C'de sıcaklığa tabi tutulmalıdır (Anonim 5).

b) Kimyasal Mücadele: Yığın ve yüzey uygulaması şeklinde örtü toprağı ilaçlanır. Yığın ilaçlamasında örtü toprağı örtme işleminden önce, toprak kaynaklı bulaşıcılar hedeflenir. Yüzey ilaçlamasında ise örtü toprağı serildikten veya ilk mantar taslakları çıktıktan sonra koruyuculuk veya hastalık belirtisinin ortadan kaldırılması istenir. Kullanılacak bitki koruma örnekleri, bakanlık tarafından yayınlanmış olan ' Bitki Koruma Ürünleri' tavsiye edilen ürün ve dozlarda kullanılmalıdır (Anonim 5).

2.4.2. *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk

Kuru kabarcık hastalığı, yemeklik kültür mantarı yetiştiriciliğinde önemli kayıplara neden olan fungal hastalıklardan biridir. Bu hastalığa neden olan mikromantar *Verticillium fungicola*'dır (Wuest ve Bengston 1982).

'Kuru kabarcık Hastalığı'na sebep olan *Verticillium fungicola,* kültür mantarında beyaz, pamuksu koloni oluşturur. Vertisillat dallanma bu tür için karakteristiktir. Konidioforlar üzerinde konidiumlar oluşmaktadır. Toprak kökenli olan bu fungal patojen, 20 °C üzerinde cok hızlı kolonize olabilmektedir. Mantar sinekleri, patojen sporlarını taşıyarak hastalığın şiddetini ve yoğunluğunu arttırmaktadırlar (Van Griensven 1988).

(a)

(b)

Şekil 2.7. a; b) *A. bisporus* üzerinde kuru kabarcık hastalığı

Hastalık özellikle örtü toprağının serilmesinden sonra ortaya çıkarsa zarar oldukça artmaktadır. Geç enfeksiyonlarda hastalıklı mantarların şapkasında açık kahverengi, yüzeysel ve düzensiz lekeler oluşmaktadır. Erken enfeksiyonda yani sap ve şapkanın farklılaşmadığı dönemde ortaya çıkarsa, gelişmekte olan primordiumlarda şapka büyümesi bozulmakta ve mantar taslakları birleşerek, 3-25 mm çapında top gibi

bir kitle oluşturmaktadır (Şekil 2.7). Şiddetli enfeksiyonda ise şapka yapısında düzensiz oluşumlar görülmektedir (Wuest ve Benston 1982; Fletcher vd. 1989).

2.4.2.1. Kuru kabarcık hastalığı ile mücadele yöntemleri

a) Kültürel Önlemler: Üretim odasının sıcaklığının birkaç gün süreyle 12-13^{0}C e düşürülmesi hastalığı baskı altına alabilir. Sinek akar gibi zararlıların kontrol altında tutulmasının hastalığın yayılmasını yavaşlatacağı akıldan çıkarılmamalıdır**.** Hastalığın kontrolünde hijyenik tedbirlerin mutlaka alınması gerekmektedir. Kapı girişlerine % 2'lik formaldehit solüsyonu ile ıslatılmış sünger veya çuval konulmalı, çalışma alanları ve odalar her gün temizlenmeli, üretim yerlerine giren hava uygun spor filtreleri ile filtrelenmelidir. Misel ekimi ve ürünleri toplamada kullanılan makine ve aletler oda değişiminde % 2'lik formaldehit ile dezenfekte edilmelidir. Her sulamadan sonra mantar yüzeylerinin ıslak kalmaması için düzenli havalandırma yapılmalı, oda sıcaklığı üretim döneminde 18 ^{0}C' ın üzerine çıkarılmamalıdır. Üretim dönemi boyunca ve sonunda kompost, toprak ve artık mantar parçaları işletmeden uzaklaştırılmalıdır. Yetiştirme dönemi sonunda üretim odaları, 12 saat 70 ^{0}C sıcaklığa tabi tutulmalıdır (Anonim 5).

b) Kimyasal Mücadele: Ülkemizde bu hastalığa karşı kullanılabilecek ruhsatlı bir preparat bulunmamaktadır. Bu nedenle kimyasal mücadele önerilmemektedir.

2.4.3. *Mycogone perniciosa* Magnus

Yemeklik kültür mantarı yetiştiriciliğinde çok sıklıkla rastlanan ve büyük zararlara yol açan yaş kabarcık hastalığına neden olan fungal hastalık etmenidir. Yaş kabarcık hastalığı 1888 yılından bu yana üretimde önemli ekonomik kayıplara yol açan ve mantarlarda ciddi deformasyonlara neden olur. Bu hastalık etmeni yemeklik mantarlarda ciddi şekil bozukluğuna neden olduğu için pazar değerinin kaybolmasına yol açmaktadır (Dielemann-Van Zaayen 1976).

Şekil 2.8. *A. bisporus* üzerinde yaş kabarcık hastalığı

M. perniciosa etmeni iki tip spor oluşturmaktadır. *Verticillium'*da olduğu gibi üçlü dallanma gösteren konidioforlarda tek hücreli şeffaf konidiosporlar oluşur. Bazılarında ikili dallanma gösteren konidioforların uçtaki hücresi koyu renkli, dikenli ve daha büyüktür. Alt hücre ise saydam ve daha küçük iki hücreli konidiospordan oluşur. Tesis ortamında havada sporları bulunabilir. Düşük pH derecelerine daha dayanıklı olan *M. perniciosa,* toprakta spor veya miselyum halinde bulunur. Etmen, hem örtü toprağında ve üstünde gelişebilir. Toprak içinde oluşan biçimsiz şapkaların çevresinde önceleri beyaz sonraları açık kahverengiye dönen pamuksu bir misel yumağı oluşur. Biçimsiz şapka oluşumu belirtisinden başka örtü toprağı üzerinde fungusun beyaz kabarık miselyal gelişmeleri dikkat çeker. İşletmelerde en çok rastlanan ve büyük ürün kayıplarına yol açan bir hastalıktır. Hastalığın ilk belirtilerinde mantar şapkası, karnabahara benzeyen şekilsiz mantar kitlelerine oluşur. Yüksek nem koşullarında bu kitlelerin üzeri kahverengi sıvı damlacık ile kaplanır. Islak, yumuşak bir görüntü oluşur ve kötü bir koku yayar. Hastalıklı mantar gövdesinin tamamı önce beyaz misellerle, daha sonra ise kahverengi misellerle kaplanarak çürüme meydana gelmektedir (Sharma ve Kumar 2000). *A. bisporus* türleri ise bu hastalığa karşı oldukça hassastırlar (Umar vd. 2000).

(a) **(b)**

Şekil 2.9. Yaş kabarcık hastalığının farklı koşullardaki belirtileri **a)** Başlangıç evresi **b)** Yüksek nem koşullarında enfeksiyonun durumu

2.4.3.1. Yaş kabarcık hastalığı ile mücadele yöntemleri

a) Kültürel Önlemler: Toprak örtmeden hemen sonra formaldehit solüsyonu ile yastık yüzeyleri ilaçlanmalı, çalışma alanları ve odalar her gün temizlenmeli, üretim yerlerine giren hava uygun spor filtreleri ile filtrelenmelidir. Misel ekimi ve ürünleri toplamada kullanılan makine ve aletler oda değişiminde % 2'lik formaldehit ile dezenfekte edilmelidir. Her sulamadan sonra mantar yüzeylerinin ıslak kalmaması için düzenli havalandırma yapılmalı, oda sıcaklığı üretim döneminde 18 ^{0}C üzerine çıkarılmamalıdır. Üretim dönemi boyunca ve sonunda kompost, toprak ve artık mantar parçaları işletmeden uzaklaştırılmalıdır. Yetiştirme dönemi sonunda üretim odaları, 12 saat 70 ^{0}C'de sıcaklığa tabi tutulmalıdır (Anonim 3).

b) Kimyasal Mücadele: İlaçlanacak örtü toprağı formaldehitle dezenfekte edilmiş beton bir zemin üzerine yığılır. Yeterli büyüklükte beton bir zemin yoksa dezenfekte edilmiş naylon örtü üzerinde ilaçlama yapılabilir. Büyük ölçüde hijyenik önlemlere başvurulur. Bunun dışında Benomyl Carbendazim gibi ilaçlar mücadelede kullanılmaktadır ancak ruhsatlandırılmamıştır.

2.5. Biyolojik Mücadelenin Kültür Mantarında Kullanımı

Son yıllarda tüketici bilincinin giderek artmasıyla güvenli olduğu garanti edilebilen ürünler tercih edilmeye başlanmıştır. Bu ürünler için ülkemizde 'İyi Tarım Uygulamaları', dünyada ise 'GlobalGap' uygulamaları artmıştır. İyi Tarım uygulamaları kapsamında kültür mantarı, ilk olarak 2009 yılında sertifikalandırılarak üretilmeye başlanmıştır. Bu kapsamda mantar üretiminde yetiştiricilik tamamen kayıt altına alınarak, ürün sağlığı ve tüketici güveni sağlanmaya çalışılmaktadır (Eren vd. 2012).

Kültür mantarındaki gelişim ve üretim miktarının artması beraberinde bazı sıkıntıları da getirmiştir. Özellikle üretimde karşılaşılan hastalık ve zararlılar ile mücadelede kullanılan pestisitlerin büyük bir çoğunluğunun ruhsatlı olmaması; ilaçların uygun doz ve sürede uygulanmaması üründe ciddi ilaç kalıntılarına neden olmaktadır. 12-13 Mayıs 2014 tarihlerinde gerçekleşen '1. Yemeklik Kültür Mantar Çalıştay'ında konu ciddi bir şekilde masaya yatırılmıştır (Eren 2018).

Ülkemizde kültür mantarı hastalık ve zararlılarına karşı ruhsatlandırılmış bir adet kimyasal ilaç bulunmaktadır. Prochloraz adı verilen *C. dendroides*'in sebep olduğu 'Örümcek Ağı Hastalığı'na karşı ruhsatlandırılmıştır (Eren 2018).

Gelişmiş ülkelerde bitkisel üretimde kullanılan kimyasalların oranında hızlı bir azalış vardır. Özellikle eğitim seviyesinin yüksek olduğu toplumlarda, kimyasal ilaçlarla muamaele görmemiş tarımsal ürünler tercih edilmektedir. Doğal veya organik olarak adlandırılan bu üretimde, ürüne ruhsatlı kimyasal ilaç yok denecek kadar az olup, mücadele sadece biyolojik preparatlar ile gerçekleştirilmektedir (Eren 2018).

Biyolojik preparatlar, hastalık ve zararlıların kontrolünün yanında, misel gelişimini ve ürünü arttırmak için de kullanılabilmektedir. Yapılan ön denemelerde *Pseudomonas fluorescens* ile muamele edilen örtü topraklarında örümcek ağı ve kuru kabarcık hastalıklarına karşı olumlu sonuçlar vermiştir (Berendsen vd. 2012).

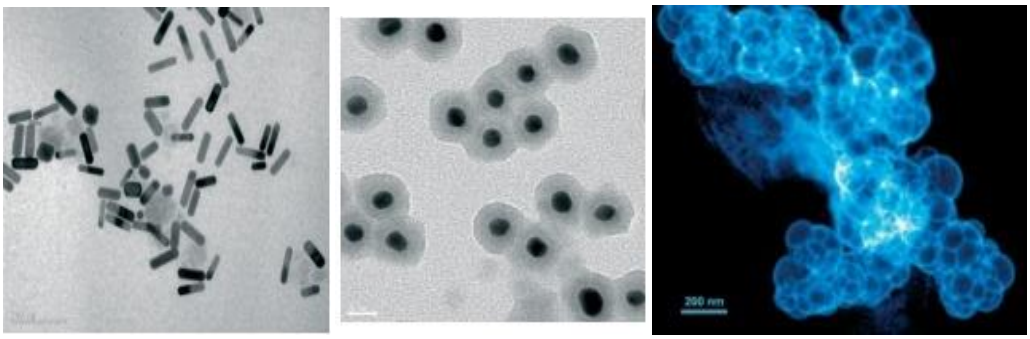
İnsan sağlığı ve beslenmenin öneminin her geçen gün arttığı günümüzde, kimyasal ilaçlar yerine biyolojik preparatların gündemde olması önemli bir durumdur. Ülkemizde son yıllarda kültür mantarı üretiminde karşılaşılan hastalık ve zararlılar ile ilgili biyolojik mücadele çalışmalara başlanmış olup, mantar sineğine karşı 2 farklı biyolojik preparat ruhsatlandırılmıştır. Örümcek Ağı Hastalığına karşı etkili olan bir biyolojik preparat da ruhsatlandırılma aşamasındadır ve bu konudaki çalışmalar yeterli olmayıp devam etmektedir.

2.6. Araştırmada Kullanılan Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri ve Kullanım Alanları

Nanoteknoloji; atomsal, moleküler yapılar düzeyinde fonksiyonel materyallerin, cihazların ve sistemlerin geliştirilmesidir. Özellikle son 20 yılda nanoteknolojik gelişmelerde hızlı bir artış gözlenmekte ve bu alandaki yatırımlar günden güne artmaktadır. Nanoteknolojinin gelişmesi ile birlikte nanokristal, nanopartikül, nanotüp gibi nano boyutlu malzemelerin üretilebilmesi sağlanabilmektedir. Son yıllarda büyük önem kazanan NP'ler, nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır. Çevreye ve insan sağlığına olan etkileri ve riskleri ile ilgili çok az bilgi olmasına rağmen, mühendislik nanopartikülleri çok çeşitli ticari ürünlerin bileşimine entegre edilmiş durumdadır. Ürün kaplamaları, biyomedikal uygulamalar, mücevhercilik, elektrokimyasal sensör ve biyosensör uygulamaları, tıp ve daha pek çok alanda kullanılabilmektedir (Tunca 2015).

Nanopartiküllerin pek çok endüstriyel alanda sıkça kullanılmaya başlanması, nanopartikül sentezlenmesinin de önemini arttırmaktadır. Mühendislik yöntemleri ile üretilebilen nanopartiküller doğal yollarla da oluşabilmektedir. NP'ler doğada hazır olarak bulunduğundan nanoteknolojinin de gelişmesiyle beraber her ortamda kullanılabilir bir hal almıştır.

Nanopartiküllerin boyutu 1-100 nm arasında değişmektedir. Küçük boyutları nedeniyle NP'ler, benzersiz fizikokimyasal ve morfolojik özelliklere sahiptir. Bu benzersiz özellikleri nanomateryalleri diğer ticari malzemelere göre daha önemli kılmaktadır. Herhangi bir maddeye dışarıdan mekaniksel ya da kimyasal uygulamalarla enerji verilerek, maddenin nanoboyuta parçalanması sağlanabilmekte olup, NP sentezi için pek çok farklı yöntem geliştirilmiştir (Tunca 2015).



(a) **(b)** **(c)**

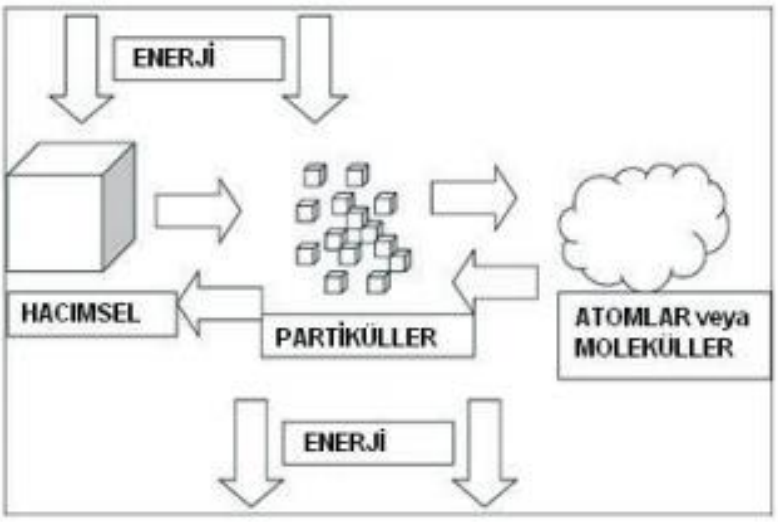
Şekil 2.10. Nanopartiküllere ait elektron mikroskobu görüntüleri **a)** altın nanoçubuklar **b)** altın çekirdek-silika kabuk nanopartiküller **c)** iç boşluklu platin nanopartiküller (Gürmen ve Ebin 2008)

Nanopartiküllerin sentezinde bilinen metotların 17.yüzyıldan önce ortaya konulduğu, eski Hinduların romatoid artrit hastalığı tedavisinde kullanılan "Suvarna bhasma" isimli ilacın içeriğinde altın nanopartiküllerin kullanıldığı rapor edilmiştir. Hinduların altın nanopartikülleri yukarıdan aşağı yöntemi yani biyolojik yöntemle ürettiği, Micheal Faraday'ın ise 1857 yılında ilk kimyasal yöntemi deneyen kişi olduğu bilinmektedir (Reddy 2006).

Nanopartiküllerin üretiminde kullanılan yöntemler üzerine; yukarıdan aşağı 'top down' ve aşağıdan yukarı 'bottom up' olarak adlandırılan iki ana yaklaşım bulunmakta (Ravichandran 2010) olup, bu iki yaklaşım şöyle açıklanabilir:

Yukarıdan aşağıya (top down) yaklaşımı; yukarıdan aşağıya yaklaşımına dahil olan yöntemlerde hacimsel malzemeye dışarıdan mekaniksel veya kimyasal işlemler ile enerji verilmesi sonucunda malzemenin nano boyuta kadar inebilecek küçük parçalara ayrılması esasına dayanmaktadır. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı ile çalışan yöntemlere verilebilecek en genel örnekler; mekanik öğütme ve aşındırma olabilir. Bu tekniklerde klasik öğütme işlemlerinden çok daha fazla enerji tüketimi gerçekleştiğinden yüksek enerjili öğütme veya yüksek hız değirmenleri olarak da adlandırılmaktadırlar. Bu yaklaşımda mikro düzeye ulaşmak için daha büyük malzemelerden üretime başlanır. Kuru öğütme yöntemiyle buğdayın un haline getirilmesi ve böylece su tutma yeteneğinin artması bu yaklaşıma iyi bir örnek olarak gösterilebilir (Shibata 2009). Yapılan bir çalışmada yeşil çay partiküllerinin 1000 nm'ye kadar küçültülmesi ile yeşil çayda sindirim ve absorbsiyonunun kolaylaştığı, bunun sonucunda oksijeni uzaklaştıran enzimlerin faaliyetlerinin arttığı, daha bilimsel bir ifade ile antioksidan etkinin arttığı bildirilmiştir (Machado vd. 2013).

Aşağıdan yukarıya (bottom-up) yaklaşımında ise; yöntemin esası atomlar veya moleküller ile organik veya inorganik yapı inşa etmeye dayanmaktadır. Nano yapıları birleştirmek için doğadaki kuvvetlerden ve DNA gibi biyolojik sistemlerin kendi kendine birleşme özelliğinden yararlanılarak karbon nanotüplerin kontrolü sağlanabilmektedir. Bu yöntemin uygulanma nedeni, atomik veya moleküler boyuttaki yapıları kimyasal reaksiyonlar ile büyüterek partikül oluşumunun gerçekleştirilmesi olarak tanımlanmaktadır. Nanometal ve alaşımlarının üretiminde kullanılan ilk yöntem olan gaz yoğunlaştırma tekniği aşağıdan yukarıya yaklaşımıyla çalışmaktadır. Kimyasal buhar kaplama, kimyasal buhar yoğunlaştırma, sol jel ve sprey piroliz yöntemleri de bu yaklaşımın en çok bilinen diğer üyeleridir (Wolfgang 2007; Zaki 2007).



Şekil 2.11. Nanopartikül üretiminde kullanılan yaklaşımlar (Wolfgang 2007)

Nanopartiküllerin çözelti ortamında sentezi için fiziksel ve kimyasal olarak birçok klasik yöntem eskiden beri uygulanmakta olup, günümüzde ise daha ucuz, çevre dostu, toksik etki yaratmayan biyolojik yöntemlerin yer aldığı 'yeşil nanoteknoloji' ön plana çıkmaktadır (Bar vd. 2009). Aynı zamanda klasik yöntemler içerisinde de çeşitli metotlar geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları elektrokimyasal sentez, ters misel/mikroemülsiyon metot, hidrotermal sentez, sonokimyasal çöktürme, kimyasal indirgenme gibi tekniklerdir. Bu çalışmaların çoğunda elde edilen nanoyapıların belirli bir büyüklüğe ve morfolojiye sahip olmaları hedeflenmektedir. Klasik sentez yöntemleri ile nanopartiküllerin istenilen büyüklük ve morfolojide sentezlenebilmeleri mümkün olmasına rağmen bu yöntemlerin sahip oldukları dezavantajlar nedeniyle yeşil nanoteknoloji ile daha ekonomik, basit ve toksik madde içermeyen yöntemler araştırılmaktadır (Çağlar 2016).

2.7. Gümüş Nanopartiküllerin Özellikleri ve Kullanım Alanları

Gümüş, tarihte çeşitli yöntemlerle cevherlerinden ayrılarak elde edilmiştir. En eski yöntemlerden birisi, kurşunla karıştırma yöntemidir. Bu yöntemde gümüşün cevherleri veya saf olmayan gümüş ürünleri kurşun veya kurşun filizleriyle basit bir fırında eritilerek kurşungümüş karışımı elde edilir. Buradan da kolay bir şekilde saf gümüş elde edilmesi mümkündür. Diğer bir yöntem de, amalgama metodudur. Bu yöntemde de çamur haline getirilen gümüş cevherleri, tuz ve civayla muamele edilerek elementel seviyede gümüş elde edilir. Gümüş; öz, Arjantit (Ag_2S) ve boynuz gümüş (AgCl) dahil olmak üzere cevherlerden ortaya çıkar. Ticari olarak gümüş % 99,999 saflığa kadar bulunabilir (Anonymous 1).

Çeşitli metotlar ile üretilen nanopartiküller karakterizasyonu tekniklerindeki gelişmelerle ve buluşlarla birlikte nano yapıların atom boyutuna kadar görülmesi mümkün olmuştur. Elde edilen nano yapıdaki malzemelerin optik, mekanik ve elektron yapıları gibi özellikleri birçok karakterizasyon yöntemi sayesinde incelenebilmektedir. Bu yöntemler; TEM, SEM, XRD, UV-VIS görünür bölge absorbsiyon spektroskopisi, FTIR, parçacık boyutu analizi yöntemleridir.

Nanometre boyutunda bulunan magnetik partiküller teknolojik uygulamalarda aşırı ilgi çekmişlerdir ve makro boyuttaki malzemelerden oldukça farklı, benzersiz magnetik özelliklere sahiptirler. Kritik boyutun altındaki partiküller, süpermagnetik malzemeler ve makro boyuttaki malzemeler gibi büyük alanlara etki etmelerinin aksine tek alan üzerine etki ederler (Y.L.N. Murthy vd. 2009). Metal nanopartiküller modern kimya, fizik, teknoloji ve biyomühendislik için önemli hedefler oluşturmuşlardır. Gümüş nanopartiküllerin üretimi ve karakterizasyonu temel bilimler ve nanoteknoloji için büyük önem kazanmıştır. Gümüş bilindiği gibi anti bakteriyeldir, virüs ve bakteriler için zehir etkisi göstermektedir. Klinik denemelerde ilaçlarda kullanılan gümüş nanopartiküllerin herhangi bir etkisi görülmemiştir (D.C. Tien vd. 2008).

Antik çağa bakıldığında su ve sütün içine gümüş paralar atılarak oda sıcaklığında raf ömrünün uzatıldığı gümüş kap ve aletler kullanılarak gıda muhafazasında başarı sağlandığı görülmüştür. Rus MIR uzay istasyonunda ve NASA uzay mekiğinde kullanılan sularda gümüşün antimikrobiyal ajan olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Silver 2003).

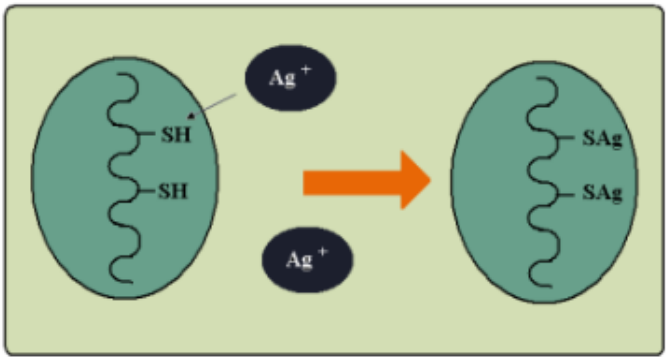
Gümüşün; su dezenfeksiyonunda, yanıkların ve kronik ülserlerin tedavisinde kullanımının MÖ 1000'li yıllara kadar uzandığı bilinmektedir. Literatürde, 1800'lü yıllarda gümüşün göz damlası olarak kullanıldığı daha sonra penisilinin bulunmasıyla beraber kullanımının azaldığı ancak 1960'lı yıllarda % 0,5'lik gümüş nitrat çözeltisinin yanık tedavisinde tekrar yaygın olarak kullanılmaya başlandığı bildirilmektedir (Rai vd. 2009). 1968 yılında gümüş, nitrat sülfonomidle kombine edilerek, gümüş sülfadiazin krem elde edilmiştir. Bu krem pekçok mikroorganizmaya etkili olması nedeniyle yanık tedavisinde kullanılmıştır.

Literatürde gümüş sülfadiazinin; *E. coli, S. aeurus, Klesiella sp*. ve *Pseudomonas sp*. gibi bakterilere karşı etkin olduğu ayrıca antifungal ve antiviral etkinliklere de sahip olduğu bildirilmektedir (Rai vd. 2009).

2.8. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkileri

Son yıllarda çok sayıda mikroorganizmaların tekli ya da çoklu antibiyotik direnci geliştirmeleri ve sürdürülebilir sağlık koşullarının ekonomik olarak sağlanması amacıyla çok sayıda araştırıcı yeni ve etkili antimikrobiyal ajanlarına dayanıklılık geliştiremeyecek teknoloji arayışına girmiştir.

Gümüş; antibakteriyel, antifungal ve antiviral özellikleri ile geniş spektrumlu bir antimikrobiyal madde olarak yüzyıllardır pek çok alanda güvenle kullanılmaktadır. Bakır, çinko, titanyum, altın gibi diğer metal iyonlarının da antimikrobiyal özellikte oldukları bilinmektedir. Bu yüzden bakterilere, virüslere ve diğer ökaryotik mikroorganizmalara karşı en iyi etkinliği gümüş göstermektedir (Duncan 2011). Gümüşün mikroorganizmaları öldürme mekanizması halen çok net açıklanamamaktadır. Metalik gümüşün, gümüş iyonlarının ve gümüş nanopartiküllerinin bakteri hücresinde meydana getirdiği morfolojik ve yapısal değişiklikler incelenerek mekanizma daha net anlaşılmaya çalışılmaktadır. Bir teoriye göre; gümüşün bakteri hücre duvarına ve hücre zarına bağlandığı, tiol (-SH) gruplarındaki proteinlerle etkileşime girerek onları etkisiz hale getirdiği ve zar geçirgenliğini düşürerek hidrojen katyonuyla yer değiştirdiği böylece bakteri hücrelerinin ölümüne neden olduğu bildirilmektedir (Duncan 2011).



Şekil 2.12. Gümüş iyonlarının antimikrobiyal mekanizması (Güler 2016)

Gümüş; Ag0, Ag+1, Ag+2 ve Ag+3 olmak üzere 4 ayrı formda kullanılabilmektedir. Ag+2, Ag+3sulu ortamda kararsız formda bulunurken Ag+ iyonları serbest haldeki formlarıdır (Wijnhoven 2009). Partikül büyüklüğünün 10 nm'den küçük olması, yüzey alanının daha da genişlemesi sebebiyleantifungal etkileşimin artması ile sonuçlanmaktadır. Ag+ 'nın antimikrobiyal etki mekanizması; uygulandığı mikroorganizma hücresi tarafından iyonların emilimi, hücre içerisinde birikimi, sitoplazma zarının büzüşmesi veya sitoplazmanın hücre duvarı tarafından kendine çekilmesi şeklinde açıklanmaktadır. Bu sayede DNA moleküllerinin zarar gördüğü ve Ag+'nın infiltrasyonu sebebiyle hücrelerin çoğalma yeteneklerini kaybettiği bildirilmektedir. Ag+'nın, proteinlerin -SH bağlarına etki ettiği ve inaktive olmasına

neden olduğu kanıtlanmıştır (Feng vd. 2000). Ayrıca, gümüş yığınlarının, oksijen ilave edilmiş solüsyonlarda mikroorganizmaların oksidasyonunda katalizör görevi yaptığı bildirilmiştir (Cho vd.2005). Kim ve arkadaşları, E. coli'ye karşı AgNP'lerin 3.3 nm ile 6.6 nm, arasında olan tahmin edilebilir MIC değerleri ve çoğalma inhibisyonu etkisini, derişime bağımlı olduğunu gözlemişlerdir. Ancak S. aureus için, Ag nanopartiküllerin daha yüksek derişimde bile hafif bir büyüme önleyici etki gösterdiği belirlenmiş ve bu durum, kontrol (gentamisin) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir inhibisyon etkisi olmadığı görülmüştür. S. aureus'a karşı Ag nanopartiküllerin MIC değeri 33 nm'den fazla olarak tahmin edilmiştir. Ayrıca, bir kontrol aracı olarak kullanılan ve Ag nanopartiküllerinin olmadığı çözeltide hiçbir antimikrobiyal aktivite olmadığı gözlenmiştir. Böylece antimikrobiyal aktiviteyi doğrudan yansıtan, durumun Ag nanopartiküller ile ilgili olduğu belirlenmiştir. Ag nanopartiküllerin belirli bir büyüme önleyici etkisinin olup olmadığını belirlemek için, nanoboyutlu metal bir kontrol olarak, altın (Au), nanotanecikleri (~ 30 nm) kullanılmıştır. Ayrıca altın (Au) nanopartiküller deneysel koşullarda, çeşitli mikroorganizmalarakarşı hiçbir büyüme önleyici etkisini göstermediği aynı araştırmacılar tarafından saptanmıştır (Beykaya ve Çağlar 2016).

Antimikrobiyal özelliği ile dikkat çeken gümüş nanopartiküllerin üretiminde çeşitli mikroorganizma türleri kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. Gümüş, antimikrobiyal madde olarak birçok önemli avantaja sahiptir. Bu avantajlar;gümüşün çok geniş spektrumlu bir antibiyotik olması, gümüşte bakteri direncinin neredeyse hiç bulunmaması ve daha önce belirtildiği üzere düşük derişimde toksik olmamasıdır (Rai vd. 2009). Metal nanotanecikler sahip oldukları özellikler sayesinde günümüzde özellikle gümüş nanopartiküller elektronik, malzeme bilimi, nanotıp gibi yeni teknolojilerde geniş kullanım alanına sahip olmakta ve bilim adamlarının ilgisini çekmektedir (Bar vd. 2009).

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmayı oluşturan fungal patojenler tarafından enfekte edilmiş kültür mantarı (*Agaricus bisporus)* örnekleri, 2018 yılında farklı zaman dilimlerinde Antalya ili, Korkuteli ilçesinde bulunan mantar üretim tesislerindentemin edilmiştir. Makroskobik görüntülerine bakılarak üretim odalarından toplanan örnekler, steril petri kaplarına konularak laboratuvara getirilmiştir. Toplama sırasında patojen üç mikromantar türünün etkilediği, *A. bisporus* türünün tesis odalarında genel görünümüne ait fotoğraflar çekilmiştir. Örnekler uygun şartlarda muhafaza edilerek teşhis işlemleri yapılmıştır.

Çalışma konusunu oluşturan fungal patojenlerin (*C. dendroides, V. fungicola, M. perniciosa*) teşhisinde öncelikli olarak makroskobik özellikler belirlenmiştir. Daha sonra kazıma, kesit alma ve ezme preparat yöntemleri kullanılarak mikroskobik özellikleri belirlenmiştir. Teşhisler sırasında mikrometrik objeli ışık mikroskobu ve stereo mikroskop kullanılmıştır. Teşhis sırasında 'Dematiaceous Hyphomycetes (Ellis 2001a), 'More Dematiaceous Hyphomycetes' (Ellis 2001b) gibi Türkiye'de ve Avrupa'da yayımlanmış olan çalışmalardan ve https://www.gbif.org/ ve https://www.sciencedirect.com/ internet sitelerinden yararlanılmıştır.

Konukçu mantarların (*A. bisporus*) enfekte olmuş kısımlarından, patojen mikromantarlar izole edilerek Malt extract Agar besiyerinde üremeye bırakılmıştır. Saf kültür elde edilene kadar kültüre alma işlemi tekrarlanmıştır. Elde edilen saf kültürlerden *C. dendroides, V. fungicola* ve *M. perniciosa* örnekleri MeA besiyerlerine ekilerek, oda sıcaklığında bir hafta inkübasyona bırakılmıştır. Gelişimi tamamlanan mikromantarlar saf kültüre alınarak aynı tip besiyerinde bir haftalık ikinci bir inkübasyon periyoduna daha bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası, besiyeri üzerinden steril bistüri ile kazınarak alınan koloniler, %1'lik Tween80 çözeltisiyle 6 ml Tween 80 ile 2 mm koloni kesiti alınarak süspansiyon oluşturulmuştur. Oluşturulan süspansiyondan sporlar toplanıp steril tüplere aktarılmıştır. Tüplerden alınan sporlar Thoma lamında sayılarak 10^6 spor/ml olacak şekilde kaydedilmiştir. Daha sonra bu solüsyondan 1'er ml alınarak, önceden hazırlanan MeA içeren petri kaplarına aktarılmış ve steril drigalski spatülü ile sporların besiyeri yüzeyine tamamen yayılması sağlanmıştır. AgNP ile hazırlanan farklı dozlardaki çözeltilerden (% 0.1, % 0.5, % 1, % 5, % 10) besiyeri üzerine çukur açılarak 50'şer µl pipetleme yapılmıştır. Pipetleme işlemleri bittikten sonra 28 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol uygulaması için her örnekten birer tane AgNP uygulaması yapılmadan ayrılmıştır. AgNP'lerin etki denemeleri değerlendirilirken, mikromantarların türleri göz önünde bulundurulmuş ve hangi türe hangi nanopartikülün ne kadar etkili olduğu tespit edilmiştir. Teşhis işlemleri ve tüm laboratuvar çalışmaları Akdeniz Üniversitesi Manavgat Turizm Fakültesi Laboratuvarı'nda yapılmış olup muhafaza edilmektedir.

Yapılan çalışma sonuçları aynı zamanda istatistiksel hesaplamalarla da değerlendirilmeye alınmıştır. Elde edilen sonuçlarda anlamlı çıkan durumlarda ikili karşılaştırmalar Duncan Testi ile değerlendirilmiştir. Değerlendirmede, tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde değerleri ile sunulmuştur. İkiden fazla grubun sayısal verileri arasındaki farkın analizinde genel doğrusal modeller kullanılmıştır. Analizler SAS 9.4 programı ile yapılmıştır. $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada *A. bisporus* üzerinde örümcek ağı hastalığına neden olan *C. dendroides*, kuru kabarcık hastalığına sebep olan *V. fungicola* ve yaş kabarcık hastalığına neden olan *M. perniciosa* patojenlerinin gelişimi üzerine % 0.1, % 0.5, % 1, % 5 ve % 10 dozlarındaki gümüş nanopartiküllerin etkileri incelenmiştir. Çalışmada öncelikle mikromantar türleri teşhis edilerek saf kültüre alınmış ve gümüş nanopartiküller zengin besiyerinde (MeA, PDA) yetiştirilip, ardından etki ettiği oranlar ve hücre sayıları tespit edilmiştir. Üç mikrofungusa uygulanan farklı dozlardaki AgNP' ler, belirtilen oranlarda funguslara uygulanarak, bu patojen mikrofungusların gelişimini engellediği ve hücre sayılarını azalttığı görülmüştür.

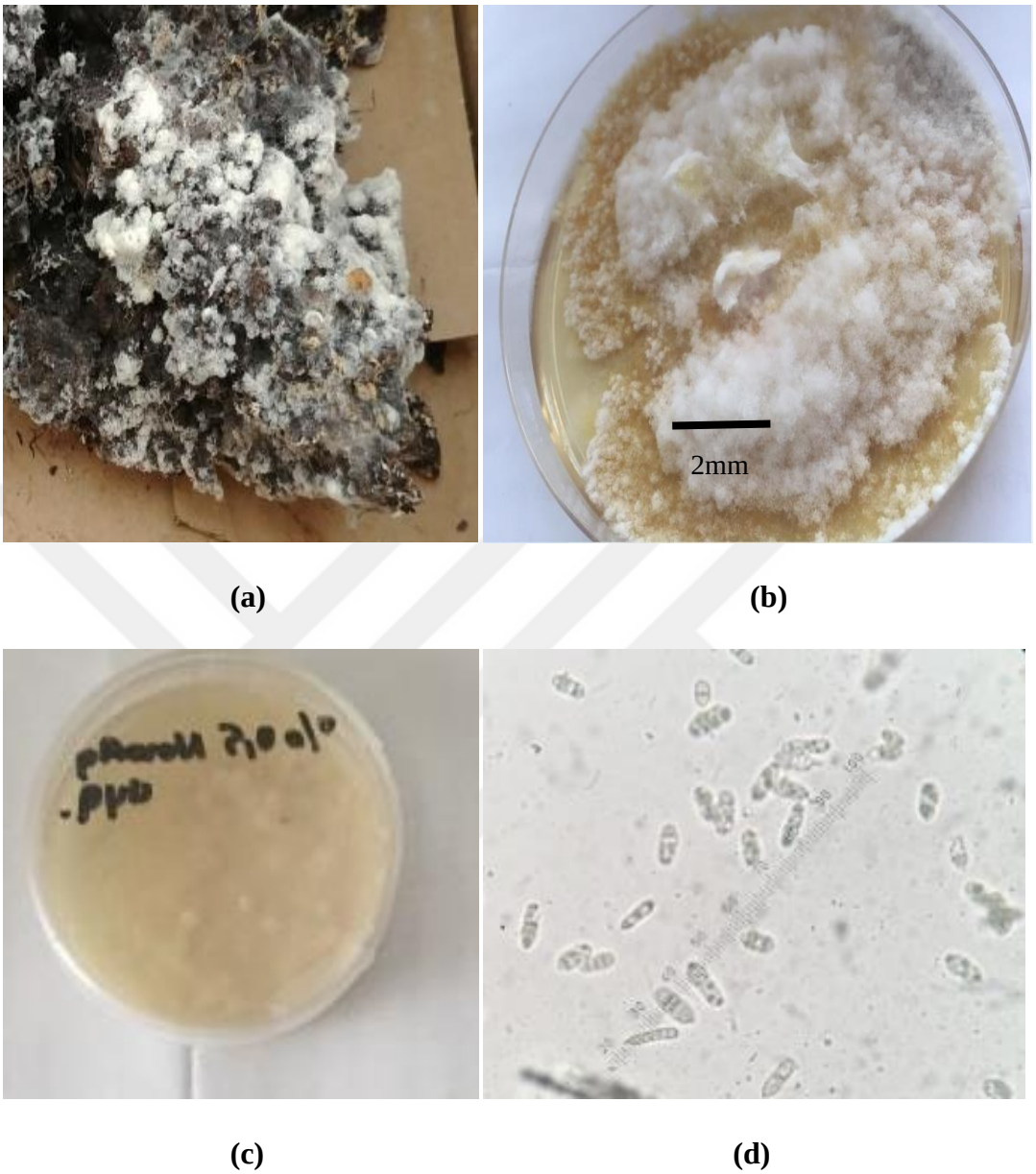
4.1. *Cladobotryum dendroides* Bull. ex Merat

Agaricus bisporus üzerinde 'Örümcek Ağı Hastalığı'na neden olan *Cladobotryum dendroides* türünün teşhisi yapıldıktan ve laboratuvarda kültüre alınma işlemi tamamlandıktan sonra saf kültürden alınan 1 mm koloni örneği, 6 ml % 1'lik Tween80 çözeltisi ile karıştırılmış ve Thoma lamında hücre sayımı yapılmıştır. AgNP çözeltileri uygulanmadan önce *C. dendroides*'in hücre sayımı Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Uygulama öncesi *C.dendroides'in* hücre sayısı

	1.Sayım	2.Sayım	3.Sayım
Cladobotryum dendroides	510×10^3	526×10^3	642×10^3

Çizelgede görüldüğü gibi *C. dendroides'*in Thoma lamında uygulama öncesi ilk sayım 510×10^3 spor/ml olarak hesaplanmıştır. Hata oranını en aza indirme amacıyla yapılan 2. ve 3. sayımlarda sırasıyla; 526×10^3 spor/ml ve 642×10^3 spor/ml olarak kaydedilmiştir. AgNP uygulamaları için örneklerin alınan kesitine ve oranına dikkat edilmiştir.



Şekil 4.1. *C. dendroides*'e ait görüntüler **a)** *C. dendroides'*in *A. bisporus* üzerinde gelişimi; **b)** *C. dendroides* (MeA) **c)** *C.dendroides* (AgNP uygulaması sonrası); **d)** *C.dendroides* sporları (40×)

C. dendroides saf kültüre alınıp hücre sayımı gerçekleştirildikten sonra; % 0.1, % 0.5, % 1, % 5 ve % 10 olmak üzere 5 farklı oranda AgNP çözeltileri uygulanarak 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası AgNP'lerin etki oranları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *Cladobotryum dendroides'*e AgNP uygulamaları

	Cladobotryum dendroides		
Yüzde Oranı	1. UYGULAMA	2. UYGULAMA	3. UYGULAMA
0.1 %	502×10^3	516×10^3	634×10^3
0.5 %	496×10^3	492×10^3	636×10^3
1,00%	476×10^3	484×10^3	602×10^3
5,00%	382×10^3	324×10^3	590×10^3
10,00%	248×10^3	284×10^3	576×10^3

Uygulama öncesi 1. sayımda 510×10^3 spor/ml olan *C. dendroides* sporları uygulama sonrası % 0.1'lik dozda 502×10^3, % 0.5'lik dozda 496×10^3, % 1'lik dozda 476×10^3 , % 5'lik dozda 382×10^3 ve % 10'luk dozda 248×10^3 spor/ml olarak tespit edilmiştir.

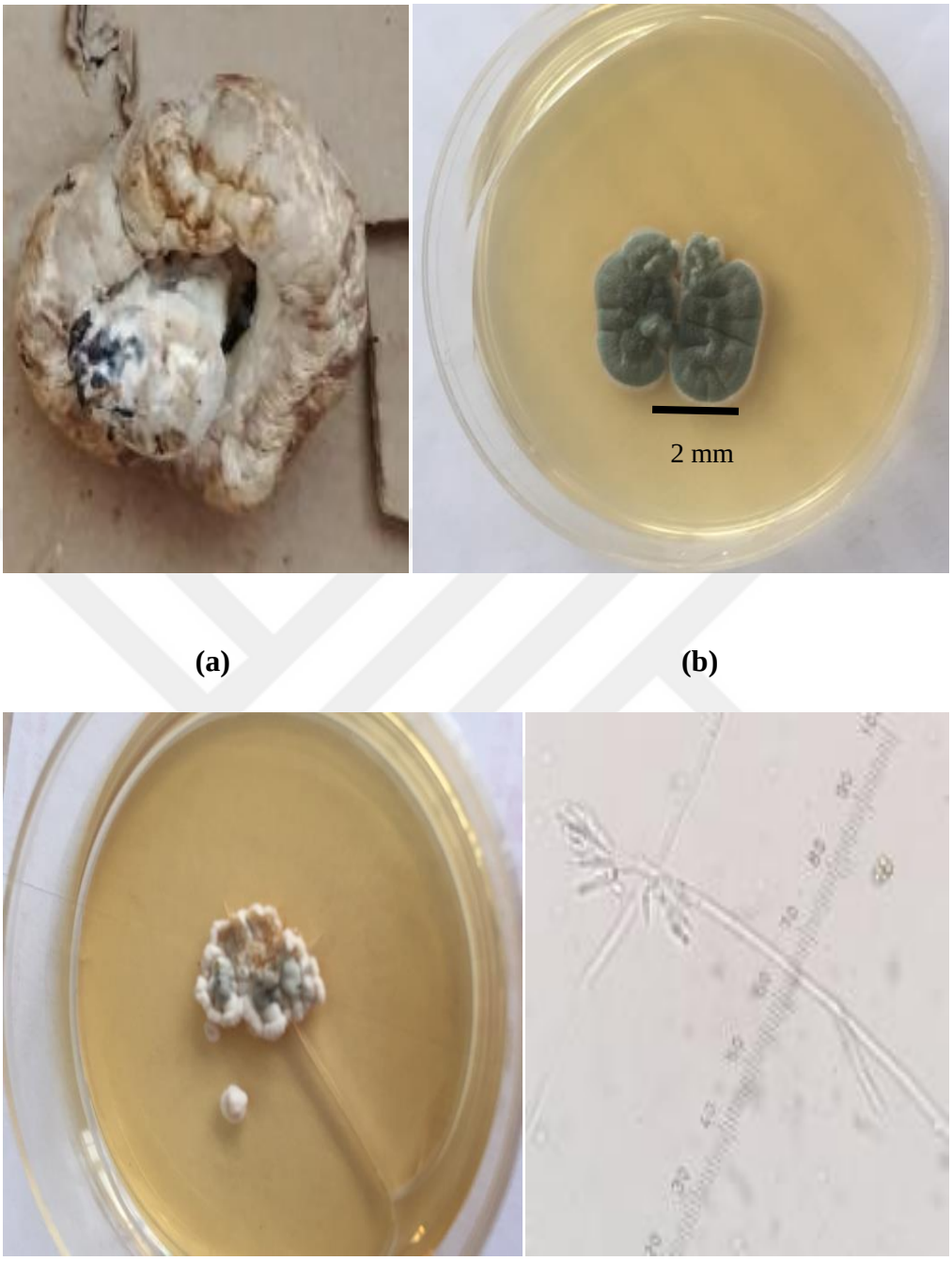
4.2. *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk

Agaricus bisporus üzerinde 'Kuru Kabarcık Hastalığı'na sebep olan *Verticillium fungicola* türünün makroskobik görüntüsü incelenmiş, teşhisi yapılmış ve saf kültürü hazırlanmıştır. Saf kültürden alınan yaklaşık 2 mm koloni örneği, 6 ml % 1'lik Tween80 çözeltisi ile karıştırılmış ve thoma lamında hücre sayımı yapılmıştır. AgNP çözeltileri uygulanmadan önce *C. dendroides*'in hücre sayımı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

Çizelge 4.3. Uygulama öncesi *V. fungicola'*nın hücre sayımı

	1.Sayım	2.Sayım	3.Sayım
Verticillium fungicola	814×10^3	726×10^3	794×10^3

Çizelge 4.3'te *V. fungicola'nın* thoma lamında uygulama öncesi ilk sayımı 814×10^3 spor/ml olarak hesaplanmıştır. Yanlışlık oranını en aza indirme açısından yapılan 2. ve 3. sayımlarda sırasıyla; 726×10^3 spor/ml ve 794×10^3 spor/ml olarak kaydedilmiştir. AgNP uygulamaları için örneklerin alınan kesitine ve oranına dikkat edilmiştir.



Şekil 4.2. *V. fungicola*'ya ait görüntüler **a)** *V. fungicola*'nın *A. bisporus* üzerinde gelişimi; **b)** *V. fungicola*'nın MeA besiyerinde saf kültürü; **c)** AgNP uygulamalı *V. fungicola* gelişimi; **d)** *V. fungicola* sporlarının mikroskobik görüntüsü (40×)

V. fungicola saf kültüre alınıp hücre sayımı gerçekleştirildikten sonra; % 0.1, % 0.5, % 1, % 5 ve % 10 olmak üzere 5 farklı oranda AgNP çözeltileri uygulanarak 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası AgNP'lerin etki oranları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. *Verticillium fungicola'ya* AgNP uygulamaları

	Verticillium fungicola		
Yüzde Oranı	1. UYGULAMA	2. UYGULAMA	3. UYGULAMA
0.1 %	808×10^3	710×10^3	800×10^3
0.5 %	804×10^3	712×10^3	790×10^3
1,00%	790×10^3	698×10^3	692×10^3
5,00%	642×10^3	690×10^3	586×10^3
10,00%	420×10^3	600×10^3	488×10^3

Verticillium fungicola thoma lamında sayımı yapıldıktan sonra farklı dozlarda hazırlanan AgNP solüsyonları ile 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Uygulama öncesi 1. sayımda 814×10^3 spor/ml olarak sayılan *V. fungicola* sporları uygulama sonrası % 0.1'lik dozda 808×10^3, % 0.5'lik dozda 804×10^3, % 1'lik dozda 790×10^3 , % 5'lik dozda 642×10^3 ve % 10'luk dozda 420×10^3 spor/ml olarak hesaplanmıştır.

4.3. *Mycogone perniciosa* Magnus

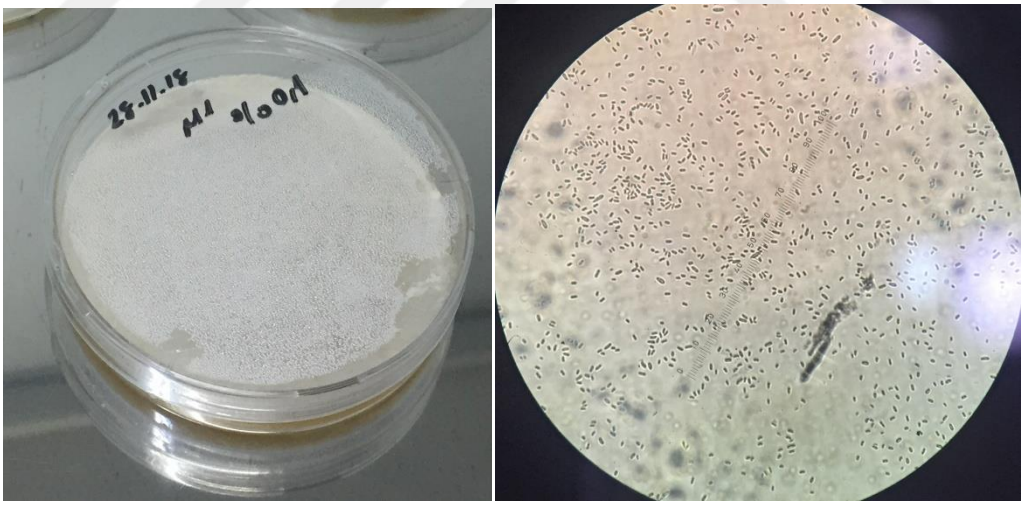
Agaricus bisporus üzerinde 'Islak Kabarcık Hastalığı'na neden olan *Mycogone perniciosa* türünün makroskobik görüntüsü incelenmiş, teşhisi yapılmış ve saf kültürü hazırlanmıştır. Saf kültürden alınan yaklaşık 3 mm'lik kesitten koloni, 6 ml % 1'lik Tween80 çözeltisi ile karıştırılmış ve thoma lamında hücre sayımı yapılmıştır. AgNP çözeltileri uygulanmadan önce *M. perniciosa*'nın hücre sayımı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

Çizelge 4.5. AgNP uygulaması öncesi *M. perniciosa*'nın hücre sayısı

	1.Sayım	2.Sayım	3.Sayım
Mycogone perniciosa	570×10^3	986×10^3	1158×10^3

Çizelgede *M. perniciosa'nın* thoma lamında uygulama öncesi ilk sayımı 570×10^3 spor/ml olarak hesaplanmıştır. Hata oranını en aza indirme açısından yapılan 2. ve 3. sayımlarda sırasıyla; 986×10^3 spor/ml ve 1158×10^3 spor/ml olarak kaydedilmiştir. AgNP uygulamaları için örneklerin alınan kesitine ve oranına dikkat edilmiştir.

(a) **(b)**



(c) **(d)**

Şekil 4.3. *M. perniciosa*'ya ait görüntüler **a)** *M. perniciosa'*nın *A. bisporus* üzerinde gelişimi; **b)** *M. perniciosa*'nın MeA besiyerinde saf kültürü; **c)** AgNP uygulamalı *M. perniciosa* gelişimi; **d)** M. *perniciosa* sporları (40×)

M. perniciosa'nın saf kültüre alınıp hücre sayımı gerçekleştirildikten sonra; % 0,1, % 0,5, % 1, % 5 ve % 10 olmak üzere 5 farklı oranda AgNP çözeltileri uygulanarak 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası AgNP'lerin etki oranları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. *Mycogone perniciosa'ya* AgNP uygulamaları

	Mycogone perniciosa		
Yüzde oranı	1. UYGULAMA	2. UYGULAMA	3. UYGULAMA
0.1 %	572×10^3	980×10^3	1150×10^3
0.5 %	570×10^3	972×10^3	1110×10^3
1,00 %	570×10^3	974×10^3	1002×10^3
5,00 %	558×10^3	920×10^3	802×10^3
10,00 %	550×10^3	908×10^3	640×10^3

Mycogone perniciosa'nin thoma lamında sayımı yapıldıktan sonra farklı dozlarda hazırlanan AgNP solüsyonları ile 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Uygulama öncesi 1. sayımda 570×10^3 spor/ml olarak sayılan *M. perniciosa* sporları uygulama sonrası % 0.1'lik dozda 572×10^3, % 0.5'lik dozda 570×10^3, % 1'lik dozda 570×10^3 , % 5'lik dozda 558×10^3 ve % 10'luk dozda 550×10^3 spor/ml olarak tespit edilmiştir.

AgNP'lerin, *A. bisporus* üzerinde fungal hastalıklara sebep olan *C. dendroides, M. perniciosa* ve *V. fungicola*'nın kültür örneklerinde gelişimi üzerinde yüksek oranda etkili olduğu ve gelişimlerini baskıladığı ilk kez bu çalışmayla gözlenmiştir.

Kültür mantarı üretim odalarında fungal hastalıkların kontrolünde kimyasal ilaç kullanımı en son başvurulan yöntem olmalı ve insan sağlığı açısından kalıntı süresi kısa, bekleme süresi az olan ruhsatlı preparatlar kullanılmalıdır. Çünkü fungal hastalıklara atılan ilaçların büyük çoğunluğunun etki süresi uzun ve etkili ilaçlar olup mantar üzerinde kalıntı bırakabilmektedir (Basım ve Basım 2008). Bu durum insan sağlığı açısından riskli bir boyutta olup, kanser gibi hastalıklara zemin hazırlayabilmektedir. Bu nedenle kimyasal mücadele yerine biyolojik mücadele yöntemlerinin kullanılması fazla ilaç kullanımının önüne geçebilecektir (Öztürk ve Basım 2017).

Gümüş nanopartiküllerin kültür mantarlarında hastalığa sebep olan üç fungal patojenin gelişimi üzerine etkisini incelediğimiz bu çalışma biyolojik mücadele konusunda destekleyici sonuçlar göstermiştir. Böylece mantar üreticileri için kimyasal ilaç kullanmadan, belli oranlardaki AgNP'ler ile, bu üç patojen mikromantarın *Agaricus bisporus* üzerinde gelişimleri, uygun yüzdelerde engellenebilecektir.

5. SONUÇLAR

Yapılan çalışmada, kültür mantarı üretiminde karşılaşılan örümcek ağı hastalığı, kuru kabarcık hastalığı ve ıslak kabarcık hastalığına sebep olan sırasıyla; *C. dendroides, V. fungicola* ve *M. perniciosa* patojen mikromantarları üzerine % 0.1, % 0.5, % 1, % 5 ve % 10 oranlarında AgNP çözeltisi uygulanmış; uygulama öncesi ve sonrası yapılan sayım işlemlerine göre patojen fungusların farklı oranlarda hücre sayısının azaldığı tespit edilmiştir. Uygulanan AgNP dozları ve gelişimi etkileme oranları *C. dendroides* için Çizelge 5. 1'de, *V. fungicola* için Çizelge 5. 2'de ve *M. perniciosa* için Çizelge 5. 3'te gösterilmiştir.

5.1. AgNP Uygulama Sonuçları

5.1.1. *Cladobotryum dendroides* için AgNP uygulaması sonuçları

Cladobotryum dendroides için yapılan sayımlardan farklı yüzdeler elde edilmiştir. 1. sayım (35 günlük kültür) sonuçlarına göre 5 farklı dozda uygulanan AgNP çözeltilerinden % 0,1 uygulamada % 1,56, % 0,5 uygulamada % 2,74, % 1 uygulamada % 6,66, % 5 uygulamada 25,09 ve % 10 uygulamada % 51,37 oranında; 2. sayım (2 aylık kültür) sonuçlarına göre, % 0,1 uygulamada % 1,90, % 0,5 uygulamada % 6,46, % 1 uygulamada % 7,98, % 5 uygulamada 38,40 ve % 10 uygulamada % 46 oranında; 3. sayım (75 günlük kültür) sonuçlarına göre ise, % 0,1 uygulamada % 1,24, % 0,5 uygulamada % 0,93, % 1 uygulamada % 6,23, % 5 uygulamada % 8,09 ve % 10 uygulamada % 10,28 oranında gelişimin azaldığı görülmektedir (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1. *Cladobotryum dendroides'*in gelişimi üzerine AgNP'lerin etki oranları

C. dendroides	**% 0,1**	**% 0,5**	**% 1**	**% 5**	**% 10**
35 günlük kültür	% 1,56	% 2,74	% 6,66	% 25,09	% 51,37
2 aylık kültür	% 1,90	% 6,46	% 7,98	% 38,40	% 46
75 günlük kültür	% 1,24	% 0,93	% 6,23	% 8,09	% 10,28

Hata payını en aza indirmek ve kontrolü sağlama açısından, *C. dendroides'*in farklı gelişim evrelerinden örnek alınarak yapılan üç sayım sonucu incelendiğinde, AgNP'lerin 35 günlük ve 2 aylık kültür örneklerinde gelişimi daha büyük oranda etkilediği, 75 günlük kültür örneklerinde ise etki oranının düştüğü gözlenmiştir.

5.1.2. *Verticillium fungicola'*ya AgNP uygulama sonuçları

Verticillium fungicola için yapılan sayımlardan farklı yüzdeler elde edilmiştir. 35 günlük kültür sonuçlarına göre 5 farklı dozda uygulanan AgNP çözeltilerinden % 0,1 uygulamada % -0,73, % 0,5 uygulamada % 1,22, % 1 uygulamada % 2,94, % 5 uygulamada 21,13 ve % 10 uygulamada % 48,40 oranında; 2 aylık kültür sonuçlarına göre, % 0,1 uygulamada % 2,20, % 0,5 uygulamada % 1,92, % 1 uygulamada % 3,85, % 5 uygulamada 4,95 ve % 10 uygulamada % 17,35 oranında; 75 günlük kültür sonuçlarına göre ise; % 0,1 uygulamada % -0,75, % 0,5 uygulamada % 0,50, % 1 uygulamada % 12,84, % 5 uygulamada 26,19 ve % 10 uygulamada % 38,53 oranında gelişimin azaldığı görülmektedir (Çizelge 5.2).

Çizelge 5.2. *Verticillium fungicola*'nın gelişimi üzerine AgNP'lerin etki oranları

V. fungicola	**% 0,1**	**% 0,5**	**% 1**	**% 5**	**% 10**
35 günlük kültür	% 0,73	% 1,22	% 2,94	% 21,13	% 48,40
2 aylık kültür	% 2,20	% 1,92	% 3,85	% 4,95	% 17,35
75 günlük kültür	% -0,75	% 0,50	% 12,84	% 26,19	% 38,53

*V. fungicola'*nın saf kültüründen farklı zamanlarda alınan örneklerle tespit edilen spor sayılarına göre; AgNP'lerin bu patojenin gelişimine etkisinin 2 aylık kültürde yapılan sayımda daha az olduğu gözlenmiştir.

5.1.3. *Mycogone perniciosa'*ya AgNP uygulama sonuçları

Mycogone perniciosa için yapılan sayımlardan farklı yüzdeler elde edilmiştir. 2 haftalık kültür sonuçlarına göre 5 farklı dozda uygulanan AgNP çözeltilerinden % 0,1 uygulamada % -0,35, % 0,5 uygulamada % 0, % 1 uygulamada % 0, % 5 uygulamada 2,10 ve % 10 uygulamada % 3,50 oranında; 20 günlük kültür sonuçlarına göre, % 0,1 uygulamada % 0,60, % 0,5 uygulamada % 1,41, % 1 uygulamada % 1,21, % 5 uygulamada % 6,69 ve % 10 uygulamada % 7,91 oranında; 1 aylık kültür sonuçlarına göre ise, % 0,1 uygulamada % 0,69, % 0,5 uygulamada % 4,14, % 1 uygulamada % 13,47, % 5 uygulamada 30,74 ve % 10 uygulamada % 44,73 oranında gelişimin azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 5.3).

Çizelge 5.3. *Mycogone perniciosa*'nın gelişimi üzerine AgNP'lerin etki oranları

M. perniciosa	**% 0,1**	**% 0,5**	**% 1**	**% 5**	**% 10**
2 haftalık	% -0,35	% 0	% 0	% 2,10	% 3,50
20 günlük	% 0,60	% 1,41	% 1,21	% 6,69	% 7,91
1 aylık	% 0,69	% 4,14	% 13,47	% 30,74	% 44,73

*M. perniciosa'*nın gelişimi üzerine AgNP'lerin etkisi, kültürün ekimden yaklaşık 4 hafta sonra alınan kültürde ortaya çıkmıştır. Saf kültürün ilk haftalarında AgNP'lerin etkisi bazı oranlarda hiç gözlenmemiştir. Bazı oranlarda ise uygulanan AgNP çözeltisi, *M. perniciosa*'nın gelişimini arttırmıştır. 1 aylık kültürde gelişimin daha çok baskılandığı gözlenmiştir.

Çizelge 5.4. AgNP'lerin Hücre Sayısına Etkileri (2 haftalık kültür)

Mikromantar Türü	**Uygulanan AgNP Oranı**	**Azalan Hücre Sayısı**
Mycogone perniciosa	% 0,1	+ 2
	% 0,5	Değişim yok
	% 1	Değişim yok
	% 5	12
	% 10	20

Yaş Kabarcık Hastalığı'na sebep olan *M. perniciosa*'nın 2 haftalık kültür örneğine uygulanan AgNP dozları ve sonuçları incelendiğinde; çok büyük bir etki olmadığı gözlenmiştir. Hatta uygulanan % 0,1'lik oranındaki AgNP çözeltisinin, *M. perniciosa* sporlarının sayısını az da olsa hücre sayısını arttırdığı tespit edilmiştir (Çizelge 5.4).

Çizelge 5.5. AgNP'lerin Hücre Sayısına Etkileri (20 günlük kültür)

Mikromantar Türü	Uygulanan AgNP Oranı	Azalan Hücre Sayısı
Mycogone perniciosa	% 0,1	6
	% 0,5	14
	% 1	12
	% 5	66
	% 10	78

Çizelge 5.6. AgNP'lerin Hücre Sayısına Etkileri (1 aylık kültür)

Mikromantar Türü	Uygulanan AgNP Oranı	Azalan Hücre Sayısı
Mycogone perniciosa	% 0,1	8
	% 0,5	48
	% 1	156
	% 5	356
	% 10	518

Mycogone perniciosa'nın 20 günlük ve 1 aylık kültür örneklerine uygulanan farklı dozlardaki AgNP çözeltisi incelendiğinde, 1 aylık kültürde daha olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu durumda *M. perniciosa* sporlarının gelişimi arttıkça uygulanan her dozdaki AgNP çözeltilerinin de gelişim üzerine azaltıcı yönde etkisi olacaktır (Çizelge 5.6).

Çizelge 5.7. AgNP'lerin Hücre Sayısına Etkileri (35 günlük kültürler)

Mikromantar türü	**Uygulanan AgNP Oranı**	**Azalan Hücre sayısı**
Cladobotryum dendroides	% 0,1	8
	% 0,5	14
	% 1	34
	% 5	128
	% 10	262
Verticillium fungicola	% 0,1	16
	% 0,5	14
	% 1	28
	% 5	36
	% 10	126

C. dendroides ve *V. fungicola* patojenleri için 35 günlük kültür örneklerine uygulanan AgNP'lerin etkileri incelendiğinde; her iki patojen için de % 10 dozunda uygulanan AgNP çözeltisi, hücre sayısını büyük oranda azaltmıştır (Çizelge 5.7). Bu durumda yetiştirme döneminde uygulanacak bu dozdaki AgNP çözeltileri, örümcek ağı ve kuru kabarcık hastalığını büyük oranda engelleyecektir.

Çizelge 5.8. AgNP'lerin Hücre Sayısına Etkileri (2 aylık kültür)

Mikromantar türü	**Uygulanan AgNP Oranı**	**Azalan Hücre sayısı**
Cladobotryum dendroides	% 0,1	10
	% 0,5	34
	% 1	42
	% 5	202
	% 10	242
Verticillium fungicola	% 0,1	+6
	% 0,5	4
	% 1	102
	% 5	208
	% 10	306

C. dendroides ve *V. fungicola* patojenleri için iki aylık kültür örneklerine uyguulanan AgNP'lerin etkileri incelendiğinde; her iki patojen için de % 10 dozunda uygulanan AgNP çözeltisi, hücre sayısını büyük oranda azaltmıştır. Ancak *V. fungicola* için % 0.1'lik AgNP çözeltisinin hücre sayısını arttırdığı kaydedilmiştir (Çizelge 5.8). 75 günlük kültür örneklerine uygulanan AgNP oranları ve sonuçları incelendiğinde de benzer durum gözlenmiş fakat herhangi bir dozdaki AgNP çözeltisi hücre sayısını arttırmamıştır (Çizelge 5.9). Bu durumda yetiştirme döneminde uygulanacak bu dozdaki AgNP çözeltileri, örümcek ağı ve kuru kabarcık hastalığını büyük oranda engelleyecektir.

Çizelge 5.9. AgNP'lerin Hücre Sayısına Etkileri (75 günlük kültür)

Mikromantar türü	**Uygulanan AgNP Oranı**	**Azalan Hücre Sayısı**
Cladobotryum dendroides	% 0,1	8
	% 0,5	14
	% 1	34
	% 5	128
	% 10	262
Verticillium fungicola	% 0,1	6
	% 0,5	10
	% 1	24
	% 5	172
	% 10	394

5.2. İstatistiksel Analiz Sonuçları

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda; *Cladobotryum dendroides*, *Verticillium fungicola* ve *Mycogone perniciosa* türleri üzerine uygulanan belirli zaman ve oranlardaki AgNP uygulanmasında anlamlı farklar bulunmuştur. Bu farkların hangi zaman dilimindeki kültüre, hangi AgNP oranınından kaynaklandığını bulmak için Duncan testi yapılmıştır. Bu teste göre her tür için %10 oranında uygulanan AgNP oranının daha etkili olduğu görülmüştür. Yani uygulanan AgNP konsantrasyon oranı arttıkça gelişimi baskılama oranının arttığı, dolayısıyla bu fungal patojenlerin *Agaricus bisporus* üzerinde hastalığa sebep olma oranını azalttığı tespit edilmiştir.

5.2.1. *Cladobotryum dendroides* için uygulanan AgNP istatistik sonuçları

Çizelge 5.10. *C.dendroides*'e ait varyans analizi sonuçları

Kaynak	DF	Kareler Toplamı	Ortalama kare	F Değeri	Pr > F
Örnek	14	10890.93025	777.92359	287.40	<.0001
Hata	30	81.20387	2.70680		
Düzeltilmiş Toplam	44	10972.13412			
Kaynak	**DF**	**Tip III SS**	**Ortalama Kare**	**F Değeri**	**Pr>F**
Konsantrasyon	4	7292.891187	1823.222797	673.57	<.0001
Zaman	2	1514.057560	757.028780	279.68	<.0001
kons*zaman	8	2083.981507	260.497688	96.24	<.0001

Çizelge 5.11. *C.dendroides*'e AgNP konsantrasyon oranlarının etkisi

Duncan Gruplandırması	**Anlam**	**N**	**Konsantrasyon**
A	34.4833	9	5
B	22.1878	9	4
C	6.7111	9	3
D	3.2911	9	2
E	1.4867	9	1

Çizelge 5.12'de yapılan Duncan Çoklu testi ile elde edilen sonuçlara göre; aynı harfle gösterilen örnekler önemli ölçüde farklı değildir. Değerlendirme sonucunda AgNP'lerin *C.*dendroides'e etki oranının 5. konsantrasyonda (%10) en fazla olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 5.12. *C.dendroides*'in gelişimine kültür zamanlarının etkisi

Duncan Gruplandırılması	**Anlam**	**N**	**Zaman**
A	18.8773	15	2
B	16.4713	15	1
C	5.5473	15	3

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, *Cladobotryum dendroides* için gümüş nanopartiküllerin iki aylık günlük kültür üzerindeki gelişimlerine % 10'luk konsantrasyon oranının daha etkili olduğu görülmektedir.

5.2.2. *Verticillium fungicola* için uygulanan AgNP istatistik sonuçları

Çizelge 5.13. *V.fungicola*'ya ait varyans analizi sonuçları

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Ortalama kare	F Değeri	Pr > F
Örnek	14	8530.908191	609.350585	242.34	<.0001
Hata	30	75.434533	2.514484		
Düzeltilmiş Toplam	44	8606.342724			

Kaynak	DF	Tip III SS	Mean Square	F Değeri	Pr > F
Konsantrasyon	4	6729.139791	1682.284948	669.04	<.0001
Zaman	2	670.637258	335.318629	133.35	<.0001
kons*zaman	8	1131.131142	141.391393	56.23	<.0001

Çizelge 5.14. *V. fungicola'ya* AgNP konsantrasyon oranlarının etkisi

Duncan Gruplandırılması	**Anlam**	**N**	**Konsantrasyon**
A	33.4111	9	5
B	15.8800	9	4
C	5.7433	9	3
D	1.2056	9	2
D			
D	1.0456	9	1

Çizelge 5.14'te görüldüğü gibi Duncan Çoklu testi ile elde edilen sonuçlara göre; aynı harfle gösterilen örnekler önemli ölçüde farklı değildir. Değerlendirme sonucunda gümüş AgNP'lerin *V.fungicola'*ya etki oranının 5. konsantrasyonda (%10) en fazla olduğu tespit edilmiştir. Konsantrasyon oranı azaldıkça etki oranının azaldığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 5.15. *V. fungicola*'nın gelişimine kültür zamanlarının etkisi

Duncan Gruplandırılması	**Anlam**	**N**	**Zaman**
A	14.5227	15	3
A			
A	13.8367	15	1
B	6.0120	15	2

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, *Verticillium fungicola* için gümüş nanopartiküllerin 75 günlük kültür (3.zaman) üzerindeki gelişimlerine % 10'luk konsantrasyon oranının daha etkili olduğu görülmektedir. Aynı harfle gösterilen gruplar önemli ölçüde farklılık göstermemektedir.

5.2.3. *Mycogone perniciosa* için uygulanan AgNP istatistik sonuçları

Çizelge 5.16. *M. perniciosa*'ya ait varyans analizi sonuçları

Kaynak	**DF**	**Kareler Toplamı**	**Ortalama Kare**	**F Değeri**	**Pr > F**
Örnek	14	6760.843080	482.917363	491.35	<.0001
Hata	30	29.485200	0.982840		
Düzeltilmiş Toplam	44	6790.328280			

Kaynak	**DF**	**Tip III SS**	**Ortalama Kare**	**F Değeri**	**Pr > F**
konsantrasyon	4	2128.234636	532.058659	541.35	<.0001
zaman	2	2544.453453	1272.226727	1294.44	<.0001
kons*zaman	8	2088.154991	261.019374	265.58	<.0001

Çizelge 5.17. *M. perniciosa'*ya AgNP konsantrasyon oranlarının etkisi

Duncan Gruplandırılması	**Anlam**	**N**	**Konsantrasyon**
A	18.1433	9	5
B	13.4422	9	4
C	4.7611	9	3
D	1.7467	9	2
E	0.6033	9	1

Çizelge 5.17'de görüldüğü gibi Duncan Çoklu testi ile elde edilen sonuçlara göre; aynı harfle gösterilen örnekler önemli ölçüde farklı değildir. Değerlendirme sonucunda gümüş AgNP'lerin *M. perniciosa'*ya etki oranının 5. konsantrasyonda (%10) en fazla olduğu görülmüştür. Konsantrasyon oranı azaldıkça etki oranının azaldığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 5.18. *M. perniciosa'*nın gelişimine kültür zamanlarının etkisi

Duncan Gruplandırılması	**Anlam**	**N**	**Zaman**
A	18.2907	15	3
B	3.6113	15	2
C	1.3160	15	1

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, *Mycogone perniciosa* için gümüş nanopartiküllerin 3. zaman (1 aylık kültür) üzerindeki gelişimlerine % 10'luk konsantrasyon oranının daha etkili olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak; ‘Gümüş Nanopartiküllerin Kültür Mantarında Hastalığa Sebep olan Bazı Fungal Patojenlerin Gelişimi Üzerine Etkileri’ adlı yüksek lisans tezi ile, farklı dozlarda uygulanan AgNP çözeltilerinin; örümcek ağı hastalığına neden olan *C. dendroides*, kuru kabarcık hastalığına neden olan *V. fungicola* ve ıslak kabarcık hastalığına neden olan *M. perniciosa* fungal patojenlerinin, *A.bisporus*’un gelişimini etkilediği gözlenmiştir. % 0.1, % 0.5, % 1, % 5 ve % 10 oranlarında uygulanan AgNP’ler hücre sayısını azaltmıştır. % 10 konsantrasyonda yapılan uygulamanın en iyi etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. *A. bisporus* yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplar meydana getiren bu fungal patojenlerin neden olduğu hastalıklar ile mücadelede, uygun dozlardaki AgNP uygulaması olumlu sonuç vermiştir. Bu tez çalışması ileride yapılacak olan biyolojik mücadele araştırmalarına ışık tutacaktır.

7. KAYNAKLAR

Bar, H., Bhui, D.K., Sahoo, G.P., Sarkar, P., De, S.P., Misra, A. 2009. Green synthesis of Silver Nanoparticles Using Latex of Jatropla curas. Colloids Surfaces A. Physicochem. Eng. Aspects, b339, 134-139.

Basım, E., Basım, H. ve Öztürk, N. 2017. Yemeklik Kültür Mantarında (*Agaricus bisporus (* J.Lge) Imbach) Yaygın Görülen Mikrobiyal Hastalıklar, Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi (2017) 21(1): 112-125.

Berendsen, R. L., Kalkhove S. I. C., Lugones L. G., Baars J.J.P., Wösten H.A.B. and Bakker P.A.H.M. 2012. Effecet of flurescens Pseudomonas spp. Isolated from mushroom cultures on Lecanicillium fungicola. Biological Control 63, p:210.

Bhatt, G. 2000. 'An Empirical Examination of the Effects of Information Systems Integration on Business Process Improvement', International Journal of Operations and Production Management, (20:11), pp. 1331 - 1359.

Bilay, V.T., Solomko EF, & Buchalo A.S. 2000. Growth of edible andmedicinal mushrooms on commercial agar media. In: van Griensven LJLD (ed.) Science and Cultivation of Edible Fungi, pp. 779-780. Rotterdam, Brookfi eld: A.A. Balkema Press.

Bora, T. ve Yıldız, M. 1994. Preliminary investigation on the fungal and bacterial diseases of cultivated mushroom (*Agaricus bisporus)* in Turkiye. 9th Congress of Mediterrian phytopathological Union, Kusadasi,18-24 September, 1994: 449-451.

Bora, T., Özaktan, H.& Toros, S. 1996. Kültür mantarı hastalıkları, zararlıları ve savaşımı. İstanbul, Afa Matbaacılık, S:137.

Bora, T. and Ozaktan, H. 2000. Biological control of some important mushroom diseases in Turkey by fluorescent Pseudomonas. In: Science and cultivation of edible fungi. Proceedings of 15th International Congress (Van Griensven, ed.) A.A. Balkema Publishers, Netherlands. Pp: 689-693.

Cho, N.K., Seo, D.S., Lee, J.K., 2005. Preparation and stabilization of silver colloids protected by surfactant. Mater. Forum. 29, 394-396.

Çağlar, A. ve Beykaya, M. 2016. Bitkisel Özütler Kullanılarak Gümüş-Nanopartikül (AgNP) Sentezlenmesi ve Antimikrobiyal Etkinlikleri Üzerine Bir Araştırma, AKÜ FEMÜBİD 16 035403 631-641.

Demir, Y. ve Uzun, A. 1998. Karadeniz Bölgesi Kültür Mantarı (*Agaricus bisporus)* Yetiştiriciliğinin Mevcut Durumu, Sorunları ve Üretim Tesislerinin İyileştirilmesine Yönelik Öneriler, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 22: 273-279.

Dielemann-Van Zaayen, A., 1976. Diseases and pests of mushrooms. III. Fungus diseases. 1. Literature and research. 933-943.

D.C. Tien, C.Y., Liao, J. C., Huang, K.H., Tseng, J.K., Lung, T.T., Tsung, W.S., Kao, T.H. 2008; Novel technique forpreparing a nanosilver water suspension by the arc-discharge method.

Duncan, T.V., 2011. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. J colloid interface Sci 363 (1): 1-9.

Ellis, MB. 2001a. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey, England, 608 p.

Ellis, MB. 2001b. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey, England, 507 p.

Eren, E., Öztekin, G.B., Tüzel, Y. 2016. Türkiye'de Orta ve Büyük Ölçekli Mantar İşletmelerinin Değerlendirilmesi. Türk Tarım-Gıda, Bilim ve Teknoloji Dergisi 4 (3); 230-238.

Eren, E., Çetin, M., Pekşen, A., 2012. 'Kültür Mantarı Yetiştiriciliğinde İyi Tarım Uygulamaları. IX. Yemeklik Mantar Kongresi, 18 - 20 Ekim 2012, Denizli, Türkiye. S: 135 -141.

Eren, E. ve Pekşen, A., 2016. Türkiye'de Kültür Mantarı Sektörünün Durumu ve Geleceğine Bakış. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 4 (3): 189-196.

Erkel, I. 1992. Dünya'da ve Türkiye'de kültür mantarcılığının durumu. Türkiye 4. Yemeklik Mantar Kongresi, Cilt 1: 1-8, Yalova.

Feng, Q.L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, J.O. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and *Staphylococcus aureus*. J Biomed Mater Res 52: 662-668.

Fermor, T.R., M.B. Henry, J.S., Fenlon, M.J. Glenister, S.P. Lincoln 1991. Development and application of biocontrol system for bacterial blotch of the cultivated mushroom, crop protection (10): 271-278.

Fletcher, J.T. 1989. Mushrooms: Pest and Disease Control. Intercept, Undover, 174 p.

Grogan H.M. and Gaze R.H., 2000. Fungicide resistance among *Cladobotryum spp*. causal agents of cob web disease of edible mushroom *Agaricus bisporus*. Mycological Research, 104 (3): 357-364.

Günay, A. 1995. Mantar Yetiştiriciliği. İlke Kitap ve Yayınevi, Birinci Baskı, Ankara.

Gürmen, S. ve Ebin, B. 2008. Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri-1, Metalurji Dergisi No:150

Howard, R.J., Garland, J.A., Seaman W.L., 1994. Chapter 26. Mushrooms. Diseases and pests of vejetable crops in Canada: an illustrated compendium, pp. 363-379.

Kadıoğlu, Y., 2015. A New Economic Branch of Activitiy Developing in Korkuteli: Mushroom Cultivation.

Khanna, P.K., Oliver, J.M., Samson, R.S.& Guillaumes J. 1990. Isolation, characterization and screening of antagonists of *Pseudomonas tolaasii* for biological control. Indian Phytopathology, 43, 352-360.

Khanna, A.K., Rizvi, F., Chander, R. 2002. Lipid lowering activity of phyllanthus niruri in hyperlipernic rats. Journal Ethnopharmacol 82 (1): 19-22.

Machado, S., Pinto, S.L., Grosso, J.P., Albergaria, J.T., Delerue-Matos, C. 2013. Green production of zero valent iron nanoparticles using tree leaf extracts. The Science of the Total Environment. 445-446: 1-8.

Mckay, G.J., Egan, D., Morris, E., Scott, C., Brown A.E. 1999. Genetic and morphological characterization of Cladobotryum species causing cobweb disease of mushrooms. Appl. Environ. Microbiol. 65: 606-610.

Mckay, G.J., Egan, D., Morris, E., Brown, A.E. 1998. Identification of benzimidazole resistance in Cladobotryum dendroides using a PCR-based method. Mycol. Res. 102: 671-676.

Melikoğlu, G., Namsal , H., Uzun, G., Kiriş, S., 1976. Yemeklik mantarın beslenmemizdeki önemi ve memleket ekonomisine katkısı. Türkiye 1. Yemeklik Mantar Kongresi, Ankara.

Munjal, A., Khanna P.K. & Gorcha H.S. 1989. In vitro chemical and biological control of bacterial blotch of *Agaricus bisporus*. Mushroom Science, XII: 667-677.

Murthy, Y.L.N., Kondalo rao, T. 2009. Nano crystalline powders of Nicuferrite and NiCuZn ferrite prepared from citrate gel-method: synthesis and characterization., Journal of Chemistry and chemical Engineering ISSN1934-7735, USA.

Nair, N.G. and Fahy, P.C. 1976. Commercial Application of Biological Control of Mushroom Bacteriol Blotch. Aust, J. Agric. Res., (27): 415-422.

Noyan, C.O. 2014. Psychogenic Polydipsia Responding to Oxcarbazepne: A case Presantation. S:11 C:2 pp:7 23-728.

Oliver, J.M., Martin, D. & Guillaumes, J. 1978. Study of Bacterial disease of mushroom CCaps. Proc. 4th Int. Cong. Plan Path. Bact. Angers: 903-916.

Özaktan, H., Tüzel, Y. 1993. Kültür Mantarı Yetiştiriciliği ve Hastalıkları, TB:17.

Özdemir, C. 2010. Mantar Yetiştiriciliği, T.C. Samsun Valiliği İl Tarım Müdürlüğü, Çiftçi Eğitimi Yayın Şubesi, Samsun.

Öztürk, N.,Basım, E., Basım, H. 2017. Yemeklik Kültür Mantarında (Agaricus bisporus (J. Lge) Imbach) Yaygın Görülen Mikrobiyal Hastalıklar. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 21 (1), 112-125.

Rai, M.K., Yadav, A.P., Gade, A.K. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimikrobials. Biotech Adv 27 (1): 76-82.

Ravichandran, R. 2010. Nanotechnology applications in food and food processing: Innovative Green Approaches, Opportunities and Uncertainities for Global Market. Int. J. Green Nanotechnology, Physics and Chemistry, 1: P: 72-96.

Reddy, 2006. 'Gold Nanoparticles: Synthesis and Applications', 1791, references there in Michael Faraday, Philosophical Transaction of the Royal Society, 1857.

Romaine, C.P. and Goodin, M.M. 2002. Unraveling the viral complex associated with la France disease of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*, in dsRNA Genetic elements, Tavantzis ,S.M (Ed.). Boca Raton, FL, CRC press, pp. 237-257.

Sert, HB., 2008. Additions to rust and smut fungi of Turkey.

Sharma, S.R. and Kumar S., 2000. Studies on the wet bubble disease of white buton mushrooms (*Agaricus bisporus*) caused by *Mycogone perniciosa*. Mushroom Science, 15: 569-576.

Shibata, N. 2009. The Cell Wall Galactomannan Antigen From Malassezia Furfur and Malassezia Detection has Diagonostic Potential. Microbiology 3420-3429.

Silver, S. 2003. Bacterial silver resistance: moleculer biology and uses and misuses of silver compounds. FEMS, Microbiol. Rev. 27(2-3): 341-353.

Tokita, F., Shibukawa, N., Yasumato, T., Kaneda, T. 1972. Isolation and chemical structure of the plasmacholestrol reducing subtance from shitake mushroom, Mushroom Science, 8: 783-788.

Tunca, E. 2015. Nanoteknolojinin Temeli Nanopartiküller ve Nanopartiküllerin Fitoremediasyonu, Ordu Üniv. Bil. Tek. Derg., Cilt:5, Sayı:2, 23-34 / Ordu Univ. J. Sci. Tech., Vol:5, No: 2, 23-34.

Umar, M.H., Geels F. P., Van Griensven L. J. L.D., 2000. Pathology and pathogenesis of *Mycogone perniciosa* infection in *Agaricus bisporus.* Mushroom Science, XVÇ 561.568.

Van Griensven, L.J.L.D. 1988. History and development. In: The Cultivation of Mushrooms (Van Griensven, L.J.L.D., ed.), pp. 11-28.

Wayne, P.A 2009. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibilitiy Testing of Yeasts, Approved Guideline-2nd Edition, CLSI Document M44-A2, New York.

Wijnhoven, S.W.P. 2009. Nano-silver a rewiev of available data and knowledge gaps in human and enviromental risk assessment. Nanotoxicology 3, 109-138.

Wolfgang, L. 2007. Bottom-up Methods For Making Nanotechnology Products.

Wuest, P.J. and Bengston, G.D. 1982. Penn State Handbook for Commercial Mushroom Growers, Special Publication, College Of Agricultural Sciences, 129.

Zaki, A. 2007. Processing and Synthesis Techniques for the Preparation of Nanomaterials.

Anonim 1: www.marmaracografya.com Son Erişim Tarihi: 26.11.2018

Anonim 2: www.mgm.gov.tr Son Erişim Tarihi: 20.07.2018

Anonim 3: www.megeb.meb.gov.tr Son Erişim Tarihi: 24.11.2018

Anonim 4: www.tarımgen.tr Son Erişim Tarihi: 15.11.2018

Anonim 5: www.bku.tarim.gov.tr Son Erişim Tarihi: 23.10.2018

Anonymous 1: www.chemistry.about Son Erişim Tarihi: 20.09.2018

ÖZGEÇMİŞ

ŞENAY TORUN SARI

senay_torun@hotmail.com

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2013-2019	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2006-2011	Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İzmir

İŞ TECRÜBESİ

2018-	Özel Manavgat Fark Koleji, Manavgat/ANTALYA (Fen Bilimleri Öğretmenliği)
2011- 2014	Akdeniz Fark Dershanesi, Manavgat/ANTALYA (Fen Bilimleri Öğretmenliği)

ESERLER

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Sert, H., Torun Sarı, Ş. and Tığlı, G. (2015). Biodeteriotation of Monuments by Fungi. I.Ulusal Turizm ve Mikrobiyal Gıda Güvenliği Kongresi. (Özet Poster)

2-Torun Sarı, Ş. ve Sert, H. (2017). Ekoturizm. II. Uluslararası Turizm ve MikrobiyalGıda Güvenliği Kongresi. (Özet Poster)