

***Cladosporium herbarum* ve *Fusarium* sp.'nin Gelişimlerine Bikarbonatların Etkisi**

Çiğdem Küçük¹, Merih Kıvanç¹, Engin Kınacı², Gülcan Kınacı²

Özet

Tarım ürünlerinde ve özellikle, depolanan ürünlerde yaygın olarak bulunan *Cladosporium herbarum* ve *Fusarium* sp. hem ürünlerde hem de insan sağlığında olumsuz etkilere sahiptir. Sodyum bikarbonat (NaHCO₃) ve potasyum bikarbonat (KHCO₃)'ın farklı dozlarının *Cladosporium herbarum* ve *Fusarium* sp.'nin misel gelişimlerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmada, her iki kimyasalın 0.2 g/100 ml'lik dozlarının *Cladosporium herbarum* ve *Fusarium* sp.'nin misel ağırlıklarını önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. *Cladosporium herbarum* ve *Fusarium* sp.'nin gelişiminin engellenmesinde NaHCO₃ ve KHCO₃ antifungal olarak kullanılabileceği önerilmektedir.

Giriş

Toprak orijinli çeşitli patojenlerin insanlar için önemli gıdalar olan birçok kültür bitkisini hastalandırdıkları, buna ek olarak insan sağlığını tehlikeye sokabilecek toksinler ürettikleri bilinmektedir.

Fasulye bitkisel bir protein kaynağı olarak Türk halkının beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Eskişehir ili, hem iklim özellikleri hem de sulama alan potansiyeli sayesinde önde gelen bir fasulye üreticisidir.

Bu ilde yetiştirilen kuru fasulye tohumlarından *Cladosporium herbarum*, *C. sporangiosum*, *Penicillium piceum*, *P. ubrum*, *P. frequentans*, *P. camemberti*, *Aspergillus terricola*, *A. carneus*, *Gliocladium roseum*, Beyaz küf, Steril küf, *Alternaria alternata* (FR.), *Fusarium* sp., *Trichoderma harzianum* Rifaii, *Stachybotrys* sp., izole edilmiştir (1).

Fusarium türleri, tarımsal ürünlerde *Fusarium* solgunluğu olarak bilinen fungal hastalıklara neden olmaktadır. *Fusarium* ile bulaşık tohum kullanımı sonucu, gelişen bitki bir süre sonra sararıp solmakta ve toplam üründe azalmalar meydana gelmektedir. *Fusarium* 'un kontrolü oldukça zordur ve kullanılan kimyasal ilaçlar çevre

¹ Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Eskişehir

² Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Eskişehir. Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: ekinaci@ogu.edu.tr

kiriliği yaratmaktadır. (2). Kanada ve Tayvan'da yetiştirilen kuru fasulye tohumlarından da *Alternaria alternaria*, *A. solani*, *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Gliocladium virens*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma* sp., *T. harzianum*, *Mucor* sp., *Penicillium* türleri, *Cladosporium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus stolonifer* izole edilmiş ve izole edilen *Fusarium* türlerinden de *Fusarium* toksinleri belirlenmiştir (3).

Cladosporium türlerinin de fasulye patojen olduğu ve fasulye tohumlarından izole edildiği bildirilmiştir (1, 3). Bu patojenik funguslar da, insan sağlığını tehlikeye sokabilecek toksin üretebilmektedirler (4). Aşurelik buğday, mısır, yulaf gevreği gibi tarımsal ürünlerde değişen dozlarda toksinlerin varlığı belirlenmiştir (5). Yaygın olarak kullanılan benzoat ve sorbat gibi küf inhibitörleri 6'dan düşük pH'da etkili olabilmekte ve nötr veya alkalik pH değerlerinde genellikle etkisiz olabilmektedir (6). Süt ve süt ürünlerinde bakterilerin inhibisyonunda karbonatların kullanımı son yıllarda artmıştır (6-8). Yapılan çalışmalarda sodyum bikarbonatların (NaHCO_3), limon ve portakalda yeşil küfün (*Penicillium digitatum* ve *P. italicum*) kontrolünde etkili olduğu belirlenmiştir (9).

Bu çalışmada, sodyum bikarbonat ve potasyum bikarbonatın 0.1'den 0.3 g/100ml'e kadar artan dozlarının, kuru fasulye tohumlarından izole edilen *Cladosporium herbarum* ve *Fusarium* sp.'nin misel gelişmelerine olan etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Cladosporium herbarum ve *Fusarium* sp. fasulye tohumlarından izole edilmiştir (1). Mikroorganizmalar, Patates Dekstrozu Agar (PDA, Merck) çalışma boyunca stoklanmıştır. 10 gün boyunca PDA'da geliştirilen mikroorganizmaların sporları Tween 80 ile toplanmış ve spor sayısı Thoma lamı ile 10^8 spor/ml'e ayarlanarak solüsyonları hazırlanmıştır.

500 ml'lik erlenlerin her birinde hazırlanan 100 ml'lik Czapek Dox Broth (Merck) steril edildikten sonra sodyum bikarbonat ile potasyum bikarbonat 0, 0.1, 0.2 ve 0.3 g/100 ml olacak şekilde ayrı ayrı erlenlere ilave edilmiştir (10). Mikroorganizmaların ayarlanan spor solüsyonlarından 1'er ml her bir erlene inokule edilmiştir. Beş gün boyunca gelişmeye bırakılan erlenlerde miseller filtre kağıdı ile toplanarak, steril distile su ile yıkanmıştır. Miseller 80 °C'lik etüvde 1 gece kurutulmuştur. Örneklerin pH'sı ise pH metre ile ölçülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Czapek Dox Broth'da *Fusarium* sp. ve *C. herbarum* 'un misel gelişmelerine farklı dozları uygulanan sodyum bikarbonat ve potasyum bikarbonatların etkileri Tablo 1 ve 2'de verilmiştir. Her iki uygulamanın bütün dozları, uygulandıkları her iki fungusun misel kuru ağırlıklarında azalma meydana getirmiştir. Dozlar kendi aralarında değerlendirildiğinde, her iki uygulamada da %2'lik dozun en etkili sonucu verdiği görülmektedir. Bu dozun iki farklı fungustaki etkisi de birbirine çok yakın olarak belirlenmiştir. Uygulamaların, funguslara etki bakımından birbirlerinden farkları çok az olmakla birlikte, her iki uygulamanın da *C. herbarum* 'a etkisi daha fazla bulunmuştur. Tablo 1. *Cladosporium herbarum* ve *Fusarium* sp. misel gelişimine NaHCO_3 'ün etkisi

NaHCO ₃	Misel ağırlığı (g/l)			
Dozları (g/100 ml)	<i>C. herbarum</i>		<i>Fusarium sp.</i>	
0	0.481		0.560	
0.1	0.417		0.0520	
% Azalış	13.3		7.1	
0.2	0.027		0.036	
% Azalış	94.4		93	
0.3	0.044		0.045	
% Azalış	91		92	
ANNOVA				
	SD	KT	KO	F
Blok	1	0.000005	0.000005	
Küf	1	0.011	0.011	55**
Doz	3	0.84	0.28	1405.4**
Küf x Doz	3	0.006	0.003	15**
Hata	7	0.001	0.0002	

** : %1 düzeyinde önemli

Tablo 2. *Cladosporium herbarum* ve *Fusarium sp.* gelişimine KHCO₃ etkisi

NaHCO ₃	Misel ağırlığı (g/l)			
Dozları (g/100 ml)	<i>C. herbarum</i>	<i>Fusarium sp.</i>		
0	0.445	0.520		
0.1	0.370	0.489		
% Azalış	20.2	6		
0.2	0.021	0.037		
% Azalış	95	93		
0.3	0.034	0.034		
% Azalış	92	93		
ANNOVA				
	SD	KT	KO	F
Blok	1	0.00017	0.00017	
Küf	1	0.011	0.011	594.5**
Doz	3	0.727	0.2423	13097.2**
Küf x Doz	3	0.0089	0.00298	160.67**
Hata	7	0.00013	0.000019	

** : %1 düzeyinde önemli

Uygulamalar birbiri ile kıyaslandığında, potasyum bikarbonatın etkisinin, sodyum bikarbonata göre daha fazla olduğu görülmüştür. Hang ve Woodams (10), domateste solgunluk hastalığı etmeni olan *Fusarium oxysporum* ile yaptıkları bir çalışmada, ortamda ayrı ayrı olarak sodyum bikarbonat ve potasyum bikarbonat eklemeyle, fungusun misel gelişmesinde azalma olduğunu saptamışlardır.

Her iki fungusun sodyum bikarbonat ve potasyum bikarbonat içermeyen Czapek Dox brothta 72 saat içinde gelişmeleri belirlenirken, ortama 0.1'den 0.3 g/100 ml artan dozlarda sodyum bikarbonat ve potasyum bikarbonat ilavelerinde ise, funguslar 120 saatte gelişme göstermişlerdir. Bu yüzden verilen sonuçlar 120 saatlik sonuçlardır.

Tseng ve ark (3) tarafından yapılan çalışmada, kuru fasulye tohumlarından *Fusarium culmarum*, *Fusarium moniliforme*, *F. solani* ve *Fusarium* spp. izole edilmiştir. İzole edilen *Fusarium* türlerinin kuru fasulye tohumlarında *Fusarium* toksinleri oluşturdukları belirlenmiştir (3). Depolanan ürünlerde, ortam uygun olduğu zaman küflerin oluşturduğu mikotoksinler önemli zararlara neden olmaktadır (2, 5).

Günümüzde yaklaşık 300 farklı mikotoksinin varlığı bilinmekte ve bu toksinlerin çoğunun *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium* ve *Rhizopus* gibi küf cinslerinden sentezlendiği bilinmektedir (3, 4, 5). Küflenmiş ürünlerin tüketilmesi çeşitli zehirlenmelere neden olmaktadır (3, 4). *Fusarium* türleri ile bulaşmış ürünlerde DAS (diasetoksirifenol), DON (deteoksinivalenol), T-2 (T-2 toksin), FB₁ (fumosinin B₁) gibi toksinlerin olduğu bildirilmiştir (3). Toksinlerin oluşturduğu zehirlenmeler sonucu kemik iliği zarar görmekte, diyare, baş dönmesi, sara, kas çekilmesi görülmektedir. *Cladosporium* cinsinden olan küf türleri de zehirlenmelere neden olmaktadır (1, 3).

Varyans analizleri sonuçları da, funguslar, dozlar ve 'fungus x doz' interaksyonu bakımından istatistik anlamda (%1 düzeyinde) önemli farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, misel gelişmesine ait ortalama değerleri de doğrulamaktadır.

İki fungus için sodyum bikarbonat uygulamasında 0.95-1 arasında değişen bir varyasyon saptanmış, sodyum bikarbonat ile misel gelişimi arasında önemli ve olumsuz bir korelasyon belirlenmiştir (Tablo 3). Ortalama, her bir gram sodyum bikarbonat ilavesi, her iki fungusun misel kuru ağırlığında 2.5 gram/100 ml azalma meydana getirmiştir.

Tablo 3. NaHCO₃ ve KHCO₃ uygulaması (x) ile misel gelişimi arasındaki ilişkiler

	$a = \bar{y} - b\bar{x}$	R	r
NaHCO ₃			
<i>C. herbarum</i>	0.51 – 2.5x	0.95	-0.98
<i>Fusarium</i> sp.	0.7 – 2.5x	1	-1
KHCO ₃			
<i>C. herbarum</i>	0.46 – 1.6x	0.85	-.092
<i>Fusarium</i> sp.	0.6 – 1.9x	0.82	-0,90

Potasyum bikarbonat uygulaması için saptanan varyasyon, sodyum bikarbonat için saptanandan daha düşük olup, 0.82-0.85 arasında meydana gelmiştir. Potasyum bikarbonat ile misel gelişimi arasındaki korelasyon da önemli ve olumsuzdur. Potasyum bikarbonat uygulamasının her bir gramı, *C. herbarum* da misel kuru ağırlığını 1.6 g/l; *Fusarium* da ise 1.9 g/l azaltmıştır.

Bu çalışma, hem potasyum bikarbonatın hem de sodyum bikarbonatın, fungus gelişmesini oldukça etkili bir şekilde engelleyebildiğini, ancak kullanılacak doz seçimim önemli, olduğunu göstermektedir. Tarım ürünlerinde, özellikle depolanan ürünlerde meydana gelen küflerin ve sonuçta bunların hem ürünlerde hem de insan sağlığında meydana getirebilecekleri olumsuz sonuçların engellenmesinde antifungal olarak kullanılabilecek kimyasallardan olan bu iki ürün, bu çalışmanın sonuçlarından görüldüğü gibi fasulyede meydana gelen *C. herbarum* ve *Fusarium* türlerinin misel gelişimini kontrol etmekte başarı ile kullanılabilir. Uygulamanın en yüksek düzeyde etkili olması için her iki kimyasalda %2 dozda kullanılmalıdır.

Kaynaklar

1. Küçük, Ç., Kıvanç, M., Çakır, S., Hasenekoğlu, İ. 2005. Eskişehir ilinde kuru fasulye tohumlarından izole edilen funguslar. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi. 03(07), 1-4
2. Küçük, Ç. *Tichoderma harzianum* ile Toprak kökenli Bazı Bitli Patojenlerinin Kontrolü. A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü 80 s. (Yayınlanmamış).
3. Tseng, T.C., Tu, J.C., Tzean, S.S. 1995. Mycoflora and mycotoxin in dry bean (*Phaseolus vulgaris*) produced in Taiwan and Ontario, Canada. Bot. Buu. Acad. Sic. 36, 229 –234
4. Ruiz, J.A., Bentabol, A., Gallego, C., Angulo, R., Jodral, M. 1996. Mycoflora and aflatoxin producing strains of *Aspergillus flavus* in greenhouse cultivated green beans (*Phaseolus vulgaris*). J. Food Protection 59 (4), 433-435.
5. Karagözlü, N., Karapınar, M., 2000. Bazı tahıl ve ürünlerinde okratoksin- A ve fungal kontaminasyon. Turk J Biol. 24, 561-572.
6. Taylor, D.P., Ogden, L.V. 2002. Carbonation of viscous fluids. Carbon dioxide holding capacity and rate of to saturation of stimulated yogurt. Journal of food science. 67, 1032-1035
7. Momtville, T.J., Goldstein, P.K. 1987. Sodium bicarbonate reduces viability of *Aspergillus parasiticus* in czapek's agar and inhibits the formation of aflatoxins B2 and G2. Applied and Environmental Microbiology. 53, 2303-2307.
8. Jay, J.M. 200. Modern food microbiology (6th ed.) Gaetherburg, MD: Aspen Publishers, Inc.
9. Smilanick, J.L., Margosan, D.A., Mlikota, F., Usall, J., Michael, I.F. 1999. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and influence of commercial postharvest practices and their efficacy. Plant disease. 83, 139-145.
10. Hang, Y.D., Woodams, E.E. 2003. Control of by baking soda. Lebensn-Wiss. U-Technol. 36, 803-805.