

ID: 92

Identification of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* spp. on Onion Plant (*Allium cepa* L.) Growing in Hatay, Amasya and Tokat Provinces Using MALDI-TOF Mass Spectrometry

Merve Kara*, Emine Mine Soylu

Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 31034 Antakya, Hatay, Turkey

Abstract

Plant fungal disease agents cause significant yield and quality losses in onion growing areas. In addition to yield losses, they cause negative effects that reduce the quality and export potential of the product, resulting in significant economic losses during harvest, post-harvest, processing and marketing stages. In recent years, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) has emerged as a rapid, cost-effective, reproducible, and powerful technique for identifying microorganisms, and its impact on microbiological diagnosis has transformed workflow in equipped laboratories. In this study, proteomic analyzes were performed on *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species isolated from onion growing areas in Hatay, Amasya, and Tokat provinces. After extraction of mycelium from single spore cultures of the isolates with ethanol-formic acid, the spectra of the individual fungal isolates were determined using the Flex control software program. These spectra were compared with Maldi Biotyper Real-Time Classification (RTC) and identification was performed. Of 519 different fungal isolates, 435 representative fungal isolates (83.8%) were identified by MALDI TOF MS. Eighty-four fungal isolates could not be identified because they were not in a satisfactory range of purity and identification. Of the 435 isolates, 269 (61.8%) were identified as *Fusarium* spp., 80 isolates (18.4%) were identified as *Alternaria* spp., 60 isolates (13.8%) as *Aspergillus* spp., and 26 isolates (6.0%) as *Penicillium* spp. Among the fungal isolates, 72.5% of the *Fusarium* isolates, 78.8% of the *Alternaria* isolates, 90.0% of the *Aspergillus* isolates and 84.6% of the *Penicillium* isolates were identified as "highly probable" species with score values between 2,000-3,000 (green color). The results clearly demonstrate that MALDI TOF MS biotyping may be used as a highly reliable and economical diagnostic method for routine diagnosis of diseases caused by *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species.

Keywords: *Onion, disease agent, MALDI-TOF MS, diagnosis*

*This study was supported by Hatay Mustafa Kemal University Scientific Research Projects Commission (HMKU BAP-18.D.001 project).

Hatay, Amasya ve Tokat İllerinde Yetişen Soğan Bitkisinde (*Allium cepa* L.) Görülen *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* Türlerinin MALDI-TOF Kütle Spektrometresi Kullanılarak Tanınması

Özet

Soğan tarımının yapıldığı alanlarda fungal hastalık etmenleri önemli verim ve kalite kaybına neden olmaktadır. Bu hastalık etmenleri verimdeki azalmanın yanında hasat sırasında, hasat sonrası, işleme ve pazarlama aşamalarında önemli ölçüde ekonomik kayıplara sebep olan ürünün kalite ve ihracat potansiyelini düşüren olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Son yıllarda Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS), mikroorganizmaların tanınmasında, hızlı, ucuz, tekrarlanabilir güçlü bir teknik olarak ortaya çıkmış olup, mikrobiyolojik tanılamamadaki etkisi donanımlı laboratuvarlardaki iş akışını değiştirmiştir. Bu çalışmada Hatay, Amasya ve Tokat illerinde soğan yetiştirilen alanlardan izole edilmiş olan *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türlerinin proteomik analizleri yapılmıştır. Bu amaçla, izolatların tek spor kültürlerinden elde edilen miselyumların etanol-formik asit ile ekstraksiyonundan sonra cihazın Flex kontrol yazılım programı ile spektrumları alınmıştır. Bu spektrumlar, Maldi Biotyper Real-Time Classification (RTC) ile karşılaştırılarak tanı işlemi gerçekleştirilmiştir. Temsili olarak seçilen 519 farklı fungal izolattan 435 adedinin MALDI TOF MS cihazı ile teşhisi (%83.8) yapılmıştır. 84 fungal izolattın ise sonucu tatmin eden saflık ve tanılama spektrumunda olmadığı için teşhisi yapılamamıştır. Tür tanınması yapılan 435 izolattan 269'u (%61.8) *Fusarium* spp., 80'i (%18.4) *Alternaria* spp., 60'ı (%13.8) *Aspergillus* spp., ve 26'sı (%6.0) *Penicillium* spp. ait olduğu belirlenmiştir. *Fusarium* cinsine ait izolatların %72.5'i, *Alternaria* cinsinin %78.8'i, *Aspergillus* cinsinin %90.0'ı ve *Penicillium* cinsine ait olan izolatların %84.6'sı 2.000-3.000 (yeşil renk) arası skor değerleri ile "yüksek olası" tür olarak teşhis edilmişlerdir. Elde edilen sonuçlar MALDI TOF MS biyotiplemesinin, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türlerinin yol açtığı hastalıkların rutin tanısı için oldukça güvenilir ve ekonomik bir tanılama yöntemi olarak kullanılabileceğini açıkça göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Soğan, hastalık etmeni, MALDI-TOF MS, tanılama*

