



YEREL BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ RİZOBAKTERİLERİNİN

BEYAZ ÇÜRÜKLÜK HASTALIK ETMENİ

***Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary**

ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

MEHMET BAYRAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR

Nisan - 2021

Her hakkı saklıdır

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YEREL BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ RİZOBAKTERİLERİNİN BEYAZ
ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary
ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

MEHMET BAYRAM

TOKAT
Nisan - 2021

Her hakkı saklıdır



Bu tez çalışması;

**Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2019/24 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YEREL BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ RİZOBAKTERİLERİNİN BEYAZ ÇÜRÜKLÜK HASTALIK ETMENİ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

MEHMET BAYRAM

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

(TEZ DANIŞMANI:DR. ÖĞR. ÜYESİ SABRİYE BELGÜZAR)

Bu çalışma, Tokat ili domates üretim alanlarında toprak rizosfer bölgesinden elde edilen, fosforu çözme ve azotu indirgeme yetenekleri yüksek olan rizobakteri izolatlarının beyaz çürüklük hastalık etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada *Pseudomonas* cinsine ait 10 adet rizobakteri izolatu kullanılmıştır. Yapılan *in vitro* çalışmada, bakteriyel izolatlar *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimini %65.5-88.26 arasında değişen oranlarda engellemiştir. Miselyum gelişimi üzerinde yüksek engelleme oranına sahip olan izolatlar aynı zamanda patojen fungusun sklerotlarının canlılığı üzerinde de etkili olmuştur. Beş bakteri izolatu *S. sclerotiorum*'un sklerotlarının canlılığını kaybetmesine neden olmuştur. *In vitro* çalışmalar sonucu patojen fungus üzerinde yüksek etkiye sahip olan bakteriyel izolatlardan seçim yapılmış, sera koşullarında saksı çalışmaları yürütülmüştür. Saksı çalışmalarında beyaz çürüklük hastalığı üzerinde en etkili uygulama *Pseudomonas chlororaphis* (R-7) uygulaması ve *Pseudomonas brassicacearum*+*Pseudomonas chlororaphis* (R-3+R-7) ikili uygulamasında görülmüştür. Bunun aksine, rizobakteri izolatlarının hıyar bitkisinde bitki gelişimi üzerinde etkili olmadığı da yapılan saksı çalışması ile belirlenmiştir. Bu çalışma sonuçları, kullanılan bakteriyel izolatların *S. sclerotiorum*'un biyolojik kontrolünde kullanılabileceğini göstermiştir. Buna ilaveten *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda beyaz çürüklük hastalığı üzerinde en yüksek etkiye sahip olan rizobakteri izolatlarının üretici seralarındaki performanslarının da belirlenmesi gerekmektedir.

2021, 63 SAYFA

ANAHTAR KELİMELER: Beyaz çürüklük hastalığı, *Sclerotinia sclerotiorum*, biyolojik mücadele, rizobakteri.

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION OF EFFECTS OF LOCAL PLANT GROWTH PROMITING RHIZOBACTERIA ON WHITE MOLD DISEASE AGENT

[*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary]

MEHMET BAYRAM

TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

(SUPERVISOR: ASST. PROF. DR. SABRİYE BELGÜZAR)

This study was carried out to determine the effects of rhizobacteria isolates, which were obtained from the soil rhizosphere in tomato production areas of Tokat and have the strong abilities to dissolve phosphorus and reduce nitrogen, on the white mold disease agent *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. In the study, ten rhizobacteria isolates of the genus *Pseudomonas* were used. In the *in vitro* study, the tested bacterial isolates suppressed the mycelial growth of *S. sclerotiorum* by 65.49-88.25%. Isolates with a high inhibition rate on mycelial growth were also effective on the viability of the sclerotia of the pathogenic fungus. Five bacterial isolates caused complete loss of sclerotia viability. According to the result of the *in vitro* studies, bacterial isolates with strong effects on the pathogenic fungus were selected and assayed in pot studies under greenhouse conditions. In pot studies, single treatments with *Pseudomonas chlororaphis* (R-7) and the dual treatments with *Pseudomonas brassicacearum* + *Pseudomonas chlororaphis* (R-3 + R-7) were the most effective against white mold disease. On the contrary, it was determined by pot study that bacterial isolates were not effective on plant growth in cucumber. The results of this study show that these rhizobacteria can be used in the biological control of *S. sclerotiorum*. In addition to the *in vitro* and *in vivo* studies, it is necessary to determine the performances of rhizobacteria isolates, which had the highest effect on white mold disease, in greenhouses and field conditions.

2021, 63 pages.

KEYWORDS: White mold disease, *Sclerotinia sclerotiorum*, biological control, rhizobacteria.

ÖNSÖZ

Tarla bitkileri ve sebzelerde beyaz çürüklük hastalığına sebep olan *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, toprak kaynaklı patojenler içerisinde olup, konukçu bitkilerde önemli kayıplara neden olmaktadır. Hastalık etmeni, toprakta, bulaşık bitki artıklarında sklerotium veya misel olarak uzun yıllar canlı kalabilmektedir. Sklerotiumların uzun yıllar canlı kalması veya hepsinin aynı zamanda çimlenmemesi, yapılan kimyasal uygulamalar sonucu patojenlerin dayanıklılık kazanması gibi sebeplerden dolayı hastalık etmeni ile mücadelede zorluklar yaşanmaktadır. Toprak kaynaklı hastalıklar ile mücadele kapsamında biyolojik mücadele önemli bir yer tutmaktadır. Biyolojik mücadelede kullanılan mikroorganizmalar içerisinde yer alan antagonistik bakteriler-rizobakteriler toprak kökenli patojenlere direk etkileri ile hastalık etmenlerini başarılı bir şekilde baskılamaktadır. Yürütülen bu çalışma ile, antagonistik bakteri izolatlarının beyaz çürüklük hastalığına karşı biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları başarılı bir şekilde ortaya konmuştur.

Yüksek lisans tezim boyunca bilgilerini paylaşan, çalışmalarımnda yardımcı olan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR'a minnettarım.

Özellikle *Sclerotinia sclerotiorum* hastalık etmeni hakkında benimle bilgilerini paylaşan, denemeler konusunda yol gösteren Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Yusuf YANAR'a, fungus izolatının temininde ve denemelerde yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim.

MEHMET BAYRAM

5 Nisan 2021

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary hakkında genel bilgiler	5
2.2 Beyaz Çürüklük Hastalığının Biyolojik Mücadelesine Yönelik Yapılan Çalışmalar	10
3. MATERİYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1 Materyal	16
3.1.1 Çalışmada kullanılan rizobakteri izolatları.....	16
3.1.2 Çalışmada kullanılan patojen fungus.....	16
3.1.3 Çalışmada kullanılan besi yerleri	17
3.1.4 Çalışmada kullanılan hıyar fidesi	17
3.2 Yöntem	18
3.2.1 <i>In vitro</i> çalışmalar	18
3.2.2 <i>In vivo</i> çalışmalar	22
3.3 İstatistiki Analizler.....	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1 <i>In vitro</i> çalışmalar	29
4.1.1 Rizobakterilerin <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'un miselyum gelişimine etkisi.....	29
4.2 <i>In vivo</i> çalışma	34
4.2.1 Rizobakteri izolatlarının hıyarda beyaz çürüklük hastalığı üzerine etkisi.....	34
4.2.2 Rizobakteri izolatlarının hıyar bitkisinde bitki gelişimine olan etkisi.....	38
5. SONUÇ.....	42
6. KAYNAKLAR	43

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açık
%	Yüzde
+	Artı
°C	Santigrat derece
-	Eksi
G	Gram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
p	Olası hata miktarı
rpm	Dakikadaki devir sayısı
v	Hacim
µl	Mikrolitre

Kısaltmalar	Açıklama
BTH	Benzothiadiazole
FAO	Food and Agriculture Organization
INA	2,6-dichloroisonicotinic asit
LB	Luria Bertani Broth
MALDI-TOF MS	Matrix Asisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight
NA	Nutrient Agar
NaCl	Sodyum klorür
NK	Negatif Kontrol
PDA	Potato Dextrose Agar
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
PK	Pozitif Kontrol
pv.	Pathovar
spp.	Alttürler
subsp.	Subspecies (alt tür)

TSA

TÜİK

var.

Tryptic Soy Agar

Türkiye İstatistik Kurumu

Varyete



ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> yaşam döngüsü.....	7
Şekil 2.2.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> hıyar meyvesinde yapmış olduğu beyaz çürüklük.....	8
Şekil 2.3.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> bitki gövdesinin içinde ve dışında oluşturduğu sklerotiumlar.....	9
Şekil 2.4.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> hıyar bitkisinde yaprak ve gövdede oluşturduğu belirtiler.....	9
Şekil 2.5.	Çimlenen sklerottan meydana gelen apotheciumlar.....	10
Şekil 3.1.	Rizobakteri izolatlarının besi yerinin uç kısmına halka şeklinde çizilmesi.....	20
Şekil 3.2.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'dan alınan 5 mm'lik diskin besi yerine yerleştirilmesi.....	20
Şekil 3.3.	Sklerotların %2'lik sodyum hipoklorit ile yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulması.....	21
Şekil 3.4.	Sklerotların 10 ml LB besi yeri ile hazırlanan bakteri süspansiyonları içerisine konulması.....	22
Şekil 3.5.	Bakteri solüsyonlarından çıkarılan sklerotların PDA besi yerine aktarılması.....	22
Şekil 3.6.	Uygulama yapılan rizobakteri izolat süspansiyonu.....	24
Şekil 3.7.	Hazırlanan rizobakteri izolat solüsyonlarının fidelere uygulanması	25
Şekil 3.8.	Süspansiyona daldırılan fidelerin şaşırtılması.....	25
Şekil 3.9.	Fidelere 5 mm çapında yaralar açılması.....	26
Şekil 3.10.	Açılan yaralara 0.5 ml bakteri solüsyonunun uygulanması.....	26

	<u>Sayfa</u>
Şeikl 3.11. Açılan yaralara 5 mm çapındaki patojenin yerleştirilmesi.....	27
Şekil 3.12 İnokule edilen yerlerin nemli pamuk ile kapatılması.....	27
Şekil 3.13. Hazırlanan rizobakteri izolat solüsyonlarının fidelere uygulanması	28
Şekil 3.14. Saksı çalışmasından genel bir görüntü.....	29
Şekil 3.15. Deneme sonunda bitkilerde yapılan değerlendirmeler (bitki boyu, gövde çapı, dal ve meyve sayısı, bitki yaş ve kuru ağırlığı alınması).....	29
Şekil 4.1. R-6 kodlu <i>Pseudomonas thivervalensis</i> izolatının <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> patojeni üzerindeki miselyumu egellemesi.....	31
Şekil 4.2. R-8 kodlu <i>Pseudomonas</i> sp. izolatının <i>S. sclerotiorum</i> patojeni üzerindeki miselyumu engellemesi.....	31
Şekil 4.3. R-5 kodlu <i>Pseudomonas koreensis</i> izolatının sklerot üzerindeki etkisi (misel gelişimi görülmüştür).....	33
Şekil 4.4. R-3 kodlu <i>Pseudomonas brassicacearum</i> izolatın sklerot üzerindeki etkisi.....	34
Şekil 4.5. R-3+R-6+R-7 kodlu kombine edilen rizobakteri izolatlarının <i>S. sclerotiorum</i> patojenine karşı etkisinin NK ve PK ile karşılaştırılması.....	35
Şekil 4.6. R-3+R-6 kodlu kombine edilen rizobakteri izolatlarının <i>S. sclerotiorum</i> patojenine karşı etkisinin NK ve PK ile karşılaştırılması.....	37
Şekil 4.7. R-7 kodlu <i>Pseudomonas chlororaphis</i> izolatın <i>S. sclerotiorum</i> patojenine karşı etkisinin NK ve PK ile karşılaştırılması.....	37
Şekil 4.8. Rizobakteri izolatlarının uygulandığı hıyar bitkilerinin görünümü..	41
Şekil 4.9. Deneme sonunda bitki ağırlık ölçümlerinin yapılması.....	42
Şekil 4.10. Deneme sonrası bitkilerin değerlendirilme aşaması.....	42

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan rizobakterilerin kodları ve bilimsel adları.....	16
Çizelge 3.2. Saksı çalışmasında yapılan uygulamalar.....	24
Çizelge 4.1. Rizobakteri izolatlarının <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'un miselyum gelişimine etkisi.....	30
Çizelge 4.2. Rizobakterilerin <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'un sklerot canlılığı üzerine etkisi.....	33
Çizelge 4.3. Rizobakterilerin hıyar bitkisinde beyaz çürüklük hastalığı üzerine etkisi.....	35
Çizelge 4.4. Rizobakteri izolatlarının hıyar bitkisinde bitki gelişimine olan etkisi.....	39

1. GİRİŞ

Hıyar (*Cucumis sativus* L.), diğer bir ismi ile salatalık, kabakgiller familyasından bir bitki türü olup, hıyar ismi bitkinin meyvesine verilen addır. Anavatanının Kuzey Hindistan olduğu düşünülen bitkinin yetiştiriciliği, çok eski dönemlerden beri yaygın olarak yapılmaktadır. Üretim miktarı olarak Çin ve Rusya'dan sonra Türkiye üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2018). Türkiye'de 1 916 645 ton hıyar üretimi yapılmaktadır (TÜİK, 2019). Bu üretimin %44'ü Akdeniz bölgesinden elde edilirken, Akdeniz bölgesini sırasıyla Ege (%11), Marmara (%9.8) ve Karadeniz (%9) bölgeleri takip etmektedir. Özellikle seralarda turfanda yetiştirilen hıyar, pazarda oldukça yüksek fiyatlardan satılmaktadır.

Hıyar üretiminin 168 202 tonluk kısmı üretim kayıplarından dolayı yok olmaktadır (TÜİK, 2019). Kayıpları en aza indirebilmek için zararlı ve hastalıklara karşı mücadelede birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunlar fiziksel mücadele, kültürel mücadele, mekanik mücadele, kimyasal ve biyolojik mücadele yöntemleridir. Bu mücadele yöntemleri içinde daha çok kullanılan kimyasal mücadeledir. Çünkü kolay olması, çabuk, kesin ve gözle görülebilir sonuçlar vermesi gibi özelliklere sahiptir. Ancak bu özelliklerinin yanı sıra pestisitlerin sürekli kullanılması ve talimatlara uygun olmayan dozlarda kullanılması sonucu çevre kirlenmesi, doğal dengenin bozulması, hastalık ve zararlıların ilaçlara direnç kazanması, üretimi yapılan gıda ürünlerinde kalıntı sorunu gibi birçok sorun ortaya çıkmaktadır (Delen ve Tosun, 1997). Bu nedenle son yıllarda pestisit kullanımından kaçınılmaya çalışılmış ve biyolojik mücadele yöntemlerine daha fazla önem verilmeye başlanmıştır.

Bitkilerde toprak kökenli patojenlerin sebep olduğu bitki hastalıkları solgunluk, beyaz çürüklük, kök çürüklüğü, çökerten gibi fungal hastalıklardır. Bu hastalıklara karşı şimdiye kadar genellikle kimyasal mücadele yöntemi kullanılmaktadır. Kimyasal ilaçların etkileri ve özellikle patojenin dayanıklı formlarının ortaya çıkmasından dolayı toprak kökenli hastalık etmenlerinin mücadelesinde kimyasal bileşikler önemini yitirmiştir ve bu konuda biyolojik mücadele ile ilgili çalışmalar önem kazanmaktadır.

Hıyar bitkisinde verim kaybına sebep olan birçok hastalık bulunmakta olup, bu hastalıklardan birisi de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary'nin neden olduğu beyaz çürüklük hastalığıdır. Beyaz çürüklük hastalığı, plastik seracılığın yapıldığı turfanda üretim alanlarında hıyar, domates ve patlıcan bitkilerinde bitki çeşidine ve ortam koşullarına bağlı olarak yüksek düzeyde ürün kayıplarına neden olmaktadır (Aksay ve ark., 1991).

Özellikle ılıman bölgelerde yaygın olarak görülen beyaz çürüklük hastalığı çok geniş konukçu dizisine sahiptir (Ferreira ve Boley, 2002). *S. sclerotiorum* sebzelerin hemen hemen hepsinde hastalık oluşturabilmektedir. İklim koşulları uygun olduğunda sebze ekimi yapılan tüm alanlarda görülebilir. Özellikle nemli bölgelerde fidelerin tamamen çürümesine neden olur. Beyaz çürüklük hastalığı bitkinin yaprak ve sürgünlerinde solgunluk ve özellikle bitkinin kök ve kök boğazında ıslak çürüklük yapar. Hastalık ilerledikçe de kök boğazı kısmında beyazımsı pamuk şeklinde bir misel tabakası oluşturur zamanla bu yapı yumak halini alır ve kahverengileşerek vejetatif dinlenme yapısı olan sklerotlara dönüşür (Anonim, 2008).

Ülkemizde yapılan bazı çalışmalar sonucu beyaz çürüklük hastalığı çeşitli oranlarda İzmir, Manisa ve Aydın'da marullarda (Yıldız, 1970), Trakya Bölgesi'nde ve Çukurova Bölgesi'nde ayçiçeğinde (Yücer, 1980; Çınar ve Biçici, 1982), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde hıyar, domates ve patlıcanlarda (Aksay ve ark., 1991), Tokat ve Amasya'da hıyarlarda (Onaran ve Yanar, 2004), Hatay, Adana, Mersin ve Antalya seralarında domateslerde (Tok ve Kurt, 2007), Erzurum ili Pasinler ilçesinde ayçiçeği tarlalarında (Tozlu ve Demir, 2008) ve Antalya ili seralarında hıyarlarda (Onaran, 2009) belirlenmiştir.

Hastalık etmeni, toprakta, bulaşık bitki artıklarında sklerotium olarak veya misel olarak kışlarlar. İlkbaharda sklerotlar çimlenerek, apotheciumlar, ascus ve ascosporlar oluşur. Ascosporlar apotheciumlardan havaya fırlatılmakta ve bitki ile temas ederek çimlenip enfeksiyon başlanmaktadır (Agrios, 1997). Yapılan çalışmalar sonucu, hastalık etmeninin sklerotiumlarının toprakta 5 yıldan daha uzun süre canlı kalabildiği (Adams ve Ayers, 1979) ve hastalığın oluşmasında çevre şartlarının etkisinin önemli olduğu belirtilmiştir.

Beyaz çürüklük hastalığı ile mücadelede, kültürel önlemler, fiziksel mücadele, toprak ve yeşil aksam ilaçlamaları şeklinde kimyasal mücadele uygulamaları yapılsa da (Anonim, 2008) bazı çeşitlerin patojene karşı dayanıklılık göstermesi, sklerotiumların uzun yıllar canlı kalması veya hepsinin aynı zamanda çimlenmemesi, yapılan kimyasal uygulamalar sonucu patojenlerin dayanıklılık kazanması gibi sebeplerden dolayı hastalık etmeni ile mücadelede zorluklar yaşanmaktadır. Bundan dolayı hastalık ile mücadeleye alternatif olarak farklı yöntemler araştırılmaktadır. Hastalığa karşı bitki gelişimini teşvik eden rizobakterilerin kullanılması da bu yöntemler içerisinde yer almaktadır. Bitki büyüme düzenleyici veya bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR) bitki köklerinin bulunduğu toprak rizosferinde yoğun olarak bulunan ve toprakta fizyokimyasal aktiviteleri gerçekleştiren mikroorganizmalardır. PGPR'lar bitki kökleri ile yakın ilişki içerisinde ve bitkinin gelişimini olumlu yönde etkilerler. PGPR'ların bitkiler üzerinde direkt ve indirekt etkileri vardır. PGPR'lar farklı bakteri cinsleri içerisinde yer alabilir. Özellikle *Pseudomonas* cinsi en etkili rizobakterilerdir. *Pseudomonas* cinsi bakterileri toprak rizosferinde hızlı bir şekilde çoğalırlar ve köke yayılırlar. Buna ilaveten bitkiyi strese koruyarak, bitki kök ve boy gelişimini teşvik eder, verimi artırır ve hastalık etmenlerine karşı da bitkileri korurlar (İmriz ve ark., 2014).

Biyolojik mücadele kapsamında kullanılan mikroorganizmalar içerisinde yer alan rizobakteriler kök yüzeyine kolonize olan ve kök çevresindeki toprakla yakın ilişkide bulunan bakterilerdir. Bu bakterilerin en önemli özellikleri bitki büyümesini geliştirmeleri, bitkiyi strese korumaları ve patojenlerin gelişimini baskılamalarıdır (Kloepper ve ark., 1980). Bu bakteriler çeşitli mekanizmaları kullanarak, patojenlerin gelişimini engellerler (Cattelan ve ark., 1999; Çetinkaya-Yıldız, 2007).

Rizosferde yaşayan bazı bakterilerin farklı etki mekanizmaları ile bitki gelişimini birçok yönden desteklediği yapılan araştırmalar sonucu ortaya konulmuştur. Bitkiye sağladıkları pek çok yarardan dolayı "Probiyotik Rizobakteriler" olarak da bilinmektedir (Ram ve ark., 2013). Bu bakteriler bitki gelişimini doğrudan veya dolaylı biçimde etkiler. Çevredeki bazı besinlerin artması veya bakteri tarafından bir bileşiğin sentezlenmesi PGPR'ın doğrudan etkisidir. Azotu fiske ederek bitkinin kullanımına imkân sağlar, siderofor ve indolasetik asit gibi birçok bitki hormonlarını sentezler. Fosfatı toprakta

çözerek kullanışlı hale getirir, böylece bitkide büyüme artışı sağlayarak, hastalıklar da engellenir (James ve ark., 2002).

Toprak kökenli patojenlere karşı biyo-kontrol ajanı olma potansiyeline sahip bu bakterilerin direk etkileri ile hastalık etmenlerini başarılı bir şekilde baskılamaktadır. PGPR'lar bitkinin kök ve yeşil aksam büyümesini desteklemekte, köklenmeyi artırmakta, çevresinde bulunan su ve besinden daha fazla faydalanmasını sağlamaktadır. Bu şekilde bitkiler çevresel etkilere daha az etkilenmekte ve kökler daha hızlı gelişmektedir. Böylece özellikle funguslar gelişmek için yeterli zaman bulamayacağından patojenlerin zararı minimize edilmektedir (Mao ve ark., 1997; Shakir ve ark., 2012).

Sclerotinia sclerotiorum'un biyolojik mücadelesine yönelik çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan birçok çalışma bulunmaktadır (Zizzerini ve Tosi, 1985; Bogdanova ve ark., 1986; Turhan ve Grossmann, 1986; Inbar ve ark., 1996; Aksay ve ark., 1991; Tuncer ve Damdere, 1997; Thaning ve ark. 2001; Masri ve ark., 2002; Kamensky ve ark., 2003; Mansour ve ark., 2008; El-Kafrawy, 2008; Onaran ve Yanar, 2011; Tozlu ve Demirci, 2011; Rostami ve ark., 2013; Tozlu ve ark., 2016, Abdeljalil ve ark., 2016; Helmy, 2016; Mun ve ark., 2019). Antagonistik bakteri türlerinden özellikle *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus* sklerotlarda çimlenmeyi azaltmakta ve hifte ölümlere neden olmaktadır (Zizzerini ve ark., 1987). Benzer şekilde, *Pseudomonas putida* ve *P. fluorescens* türlerinin *S. sclerotiorum*'un oluşturduğu zararı azalttığı (Expert ve Digat; 1995), *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerinin hastalık gelişimini %75,3 oranında engellediği belirlenmiştir (Soylu ve ark., 2006). *In vivo* koşullar altında da *Burkholderia cepacia*, *Serratia plymuthica* türleri (Onaran ve Yanar, 2011), *B. subtilis*, *Serratia* sp., *P. fluorescens* (Helmy, 2016; El-Kafrawy, 2008), *P. chlororaphis* PA-23 (Savchuck, 2002) türlerinin önemli ölçüde hastalık gelişimini azalttığı ifade edilmiştir. Aynı zamanda yapılan çalışmalarda *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. amyloliquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *P. fluorescens* izolatlarının bitki gelişimini olumlu yönde etkilediği de belirlenmiştir (El-Kafrawy, 2008; Abdeljalil ve ark., 2016).

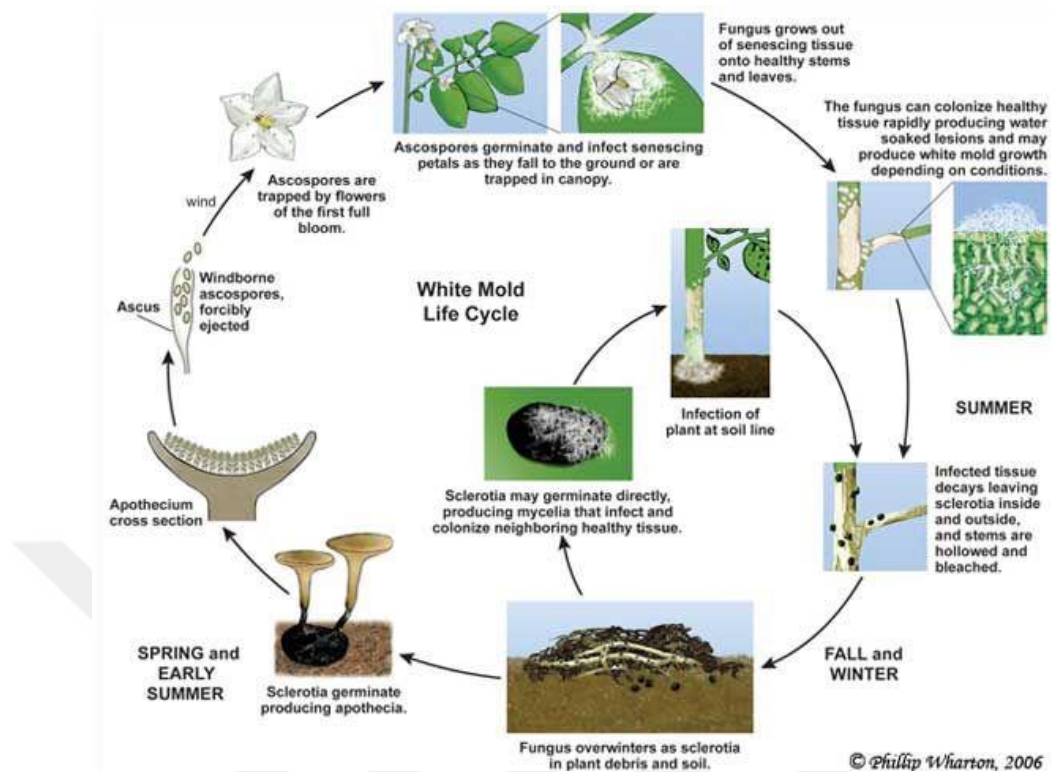
Yapılan bu çalışma ile, domates üretim alanlarından elde edilen, fosfatı indirgeme ve azotu bağlama özellikleri yüksek olan rizobakteri izolatlarının hıyarlarda beyaz çürüklük hastalığına sebep olan *Sclerotinia sclerotiorum*'a olan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary hakkında genel bilgiler

Hıyarda beyaz çürüklük veya gövde çürüklüğü hastalığını oluşturan toprak kaynaklı bir patojen olan *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, Discomycetes sınıfının Helotiales takımının Sclerotiniaceae familyasına girmekte olup (Melzer ve ark., 1997), fungus 1837 yılında Libert tarafından *Peziza sclerotiorum* olarak adlandırılmıştır. Daha sonra 1884 yılında De Bary tarafından "Uluslararası Botanik Adlandırma Kuralları" ile *S. sclerotiorum* olarak değiştirilmiştir.

Sclerotinia sclerotiorum hastalık etmeni bol miktarda misel vermekte ve sonrada bu miseller yumruklar halinde bir araya gelerek sklerotları oluşturmaktadır. Etmenler değişik iriliklerde ve düzensiz şekillerde koyu kahve ve siyah renkte çevre koşullarına dayanıklı sert sklerotları ile kolayca tanınmaktadır. Etmen genellikle konukçunun kök kısmına veya toprak seviyesindeki gövdesine saldırır. Lezyonlar gövde üzerinde gelişir ve giderek kök boğazını sarar konukçu bitki solar ve ölür. Bunun yanı sıra üretmiş olduğu askospor ile de yeşil aksamı doğrudan enfekte edilebilir. Özellikle nemli ortamlarda fidelerin tamamen çürümesine neden olabilirler. Gelişmiş bitkilerde önce kök boğazı ve toprağa yakın olan alt yapraklarda çıkar. Hastalığın ilerlemesi ile kök boğazında bol miktarda ve pamuk beyazlığında bir misel tabakası oluşur. Zamanla yumaklar şeklinde toplanan misel tabakaları önce kirli beyaz renkte ve yapışkan bir halde iken daha sonra havanı etkisi ile koyu kahverenginden siyaha değişen renkler alarak sert bir tohum şekline dönüşür ve kurumuş bitki artıkları ile birlikte toprağa karışırlar sebzelerin hemen hepsinde hastalık oluşturabilir (Şekil 2.1) (Anonim, 2008).



Şekil 2.1. *Sclerotinia sclerotiorum* yaşam döngüsü (Anonim, 2020)

Sclerotinia sclerotiorum türünün sebep olduğu belirtiler, konukçuya veya konukçunun enfekteli bölümüne ve çevre koşullarına bağlı olarak farklılaşmakta olup, patojenin neden olduğu hastalıklar pamuklu çürüklük, beyaz küf, sulu yumuşak çürüklük, gövde çürüklüğü ve taç çürüklüğü gibi çeşitli isimlerle tanınmaktadır (Şekil 2.2) (Agrios, 1997). Hastalığın en belirgin ve tipik belirtileri enfekteli bitkiler üzerinde büyük ve bir araya toplanmış dinlenme yapısının görülmesidir ya da sklerotiumlardan beyaz tüylü misellerin gelişmesidir (Şekil 2.3). Patojen tarafından hastalandırılan bitkilerin gövdelerinin

tabanında açık veya koyu kahverengi lezyonlar oluşur, zamanla bu lezyonlar beyaz pamuksu fungal miselyumlar tarafından kaplanır. Enfeksiyonun erken dönemlerinde enfekteli bitkiler kolay fark edilemeyebilir. Fungusun tamamının bitki gövdesini sarması halinde, yapraklar tazeliğini kaybeder, sarkar ve ölür (Şekil 2.4). Bazı durumlarda da enfeksiyonun yapraklarda başlayıp, daha sonra yapraktan gövdeye doğru yayılarak, fungus sklerotiumunun gövdenin içinde veya gövdenin dış kısmında geliştiği belirlenmiştir. Bu patojenler toksik oksalik asit üreterek hücre ölümlerine sebep olmaktadır (Venette, 1998).



Şekil 2.2. *Sclerotinia sclerotiorum* hıyar meyvesinde yapmış olduğu beyaz çürüklük (Onaran, 2009)



Şekil 2.3. *Sclerotinia sclerotiorum* bitki gövdesinin içinde ve dışında oluşturduğu sklerotiumlar (Onaran, 2009)



Şekil 2.4. *Sclerotinia sclerotiorum* hıyar bitkisinde yaprak ve gövdede oluşturduğu belirtiler (Onaran, 2009)

Sclerotinia sclerotiorum'un oluşturmuş olduğu sklerotlar üzerinde fincana şekline benzeyen apotheciumlar bulunmaktadır, bunların üzerinde ise ascus adı verilen yapıların bulunması ve bu ascusların içlerinde 8 adet ascospor bulunmaktadır (Dorrance ve Lipps,

2002) (Şekil 2.2). Ziman (1997) tarafından yapılan çalışmada scan elektron microscop tekniği ile sklerotiumların kabuk tabaka sayısı ve ascusdaki ascosporların boyutları ölçülmüş ve *S. sclerotiorum* türünün diğer *Sclerotinia* türlerinden farklı olarak sklerotium kabuğunun sadece iki tabaka küresel hücreden oluştuğu belirtilmiştir.



Şekil 2.5. Çimlenen sklerottan meydana gelen apotheciumlar (Anonim, 2008)

Beyaz çürüklük hastalığı ile mücadelede, en az 5 yıllık ekim nöbeti, sklerotların ve hasta bitkilerin toplanarak imha edilmesi, seralarda havalandırmanın iyi yapılması, sık ekimden kaçınılması gibi kültürel önlemler alınmaktadır. Ayrıca solarizasyon, tavuk ve sığır gübresi kullanımı şeklinde fiziksel mücadele, toprak ve yeşil aksam ilaçlamaları şeklinde kimyasal mücadele uygulamaları yapılmaktadır (Anonim, 2008). Ancak, hastalık ile mücadelede toprakta uzun süre yaşayabilen sklerotlardan dolayı ve özellikle de hava enfeksiyonuna neden olan ascosporlardan dolayı zorluklar yaşanmaktadır. Bu yüzden mücadelede kültürel önlemlerin çok önemli yeri vardır. *S. sclerotiorum* kısa mesafelere yayılımı kültürel uygulamalar esnasında sklerotiumların dağılması ile olmaktadır.

Kültürel önlemler içerisinde ürün rotasyonu patojen fungus üretim alanında ciddi bir problem olmadan önce başlatıldığında oldukça etkili olmaktadır. Petrenkova (1994) tarafından Ukrayna’da yapılan bir çalışmada ayçiçeği-nadas-kışlık buğday-mısır münavebede sklerotiumların canlılık oranının en aza indiğini gözlemlenmiştir. Buna ilaveten, 2 yıldan uzun süre rotasyonu, ekimin ertelenmesi, potasyum gübresinin artırılması ve fungusit kullanımı şeklinde entegre bir uygulamada beyaz çürüklüğün kontrolünde önemli bir başarı sağlamaktadır (Hua ve ark., 1994). Topraktaki sklerot yoğunluğunu azaltmada etkin mücadele tekniklerinden birisi de solarizasyondur.

Solarizasyon uygulanan topraklarda sklerotium canlılığı önemli oranda düşmektedir (Yanar, 2005). Bunlara ilaveten, hastalığa alternatif konukçu olan yabancı otlar ile mücadele oldukça önemlidir (Agrios, 1997).

2.2 Beyaz Çürüklük Hastalığının Biyolojik Mücadelesine Yönelik Yapılan Çalışmalar

Toprak kökenli patojenlerden biri olan *S. sclerotiorum* 'a karşı mücadelede, kültürel önlemlerin ve kimyasal mücadelenin yetersiz kalmasından dolayı biyolojik mücadele yöntemleri üzerinde yapılan araştırmalar kaçınılmaz olmuştur (Fernando ve ark., 2005). Toprak patojenlerine karşı kullanılan etkili mücadele yöntemleri değerlendirildiğinde, biyolojik mücadele yöntemlerinin de en az kimyasal mücadele kadar başarılı olduğu tespit edilmiş ve hatta bazı araştırma sonuçlarına göre kimyasal mücadele yöntemlerinden daha başarılı sonuçlar elde edildiği belirtilmiştir. (Oldaç ve ark., 2002; Johansson ve ark., 2003). Antagonist bakterilerin biyolojik kontrol ajanları olarak alternatif mücadele yöntemleri arasında *S. sclerotiorum*'a karşı kullanılması neredeyse 30 yıldan uzun bir süredir devam etmektedir.

Zazzerini ve Tosi (1985) tarafından yapılan çalışmada, İtalya'daki topraklardan izole edilen mantar ve bakterilerin *S. sclerotiorum*'a karşı antagonistik etkileri araştırılmıştır. Sera denemesi şeklinde yürütülen çalışmada, sterilize edilmiş toprak ve sterilize edilmemiş toprak kullanılmıştır. Etkinliği testlenen mantarlar toprağa karıştırılmış, bakteriler ise tohum kaplaması olarak uygulanmıştır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre, *Trichoderma viride* ile Iprodione kullanılarak yapılan uygulama ve *T. viride* ile *Bacillus subtilis* ve *Coniothyrium minitatis* uygulamaları ayçiçeğinde solgunluğu önemli ölçüde azaltmıştır.

Turhan ve Grossmann (1986), tarafından yapılan çalışmada ise, Modifiye edilmiş agar-ring metodu kullanılarak Türkiye'deki toprak örneklerinden elde edilen antibiyotik etkiye sahip 300 Actinomycetes'in *S. sclerotiorum*'a olan etkileri araştırılmış olup, biyolojik etkinliği incelenen test izolatlarının %90'ından daha fazlasının *S. sclerotiorum*'un gelişimini azalttığı belirtilmiştir.

Zazzerini ve ark. (1987), *Bacillus subtilis* ve *B. cereus* bakterilerinin ayçiçeği bitkisinde topraktaki sklerotlardan miselyum oluşumu üzerinde etkili olduğunu ve apikal hifte ölümler meydana getirdiğini belirtmiştir. Aynı zamanda sklerotiumların çimlenmesinde de azalma olduğu belirtilmiştir.

Aksay ve ark., (1991) tarafından yapılan çalışmada, topraktan izole ettikleri 134 mikroorganizmayı sebzelerde önemli miktarda ürün kaybına neden olan *S. sclerotiorum*'a karşı denemişlerdir. Laboratuvar ve saksı çalışmaları şeklinde yürütülen çalışmalarda antagonistik etki gösteren 4 *Pseudomonas* bakteri izolatu belirlenmiştir. Ayrıca 2 *Streptomyces* bakteri izolatının da sklerotların tahribinde etkili olduğu belirlenmiştir.

Huang ve ark., (1993) tarafından yapılan çalışma sonucunda da *Bacillus cereus* alf-87A'nın ırkının kuru bezelye üzerine püskürtülmesi ile *S. sclerotiorum* enfeksiyonunu azalttığı bildirilmiştir.

Expert ve Digat (1995) ise, *S. sclerotiorum*'a karşı fasulye tohumları ekilmeden önce tohumların *Pseudomonas putida* veya *P. fluorescens* bakteriyel süspansiyonu (1×10^9 ünite/ml) ile ıslatılmasının patajenin oluşturacağı erken zararı engellediğini belirtmiştir.

Tahining ve ark. (2001), *S. sclerotiorum*'un eşeyssel gelişimini önlemeye yönelik yaptıkları çalışmada, 300 bakteri izolatından dokuzunun önemli seviyede patojenin gelişimini engellediğini belirtmiştir. *Serratia plymuthica* izolatu yüksek konsantrasyonlarda apothecial oluşumunu tamamen bastırmıştır. Aynı zamanda askosporların çimlenmesini ve *S. sclerotiorum* hiflerinin büyümesini önemli derecede engellediği belirtilmiştir.

Tozlu (2003) tarafından yapılan çalışmada Erzurum ili Pasinler Ovası'nda ayçiçeğinde gövde çürüklüğü hastalığına sebep olan *S. sclerotiorum* ve *S. minor* patojenlerinin kontrolünde bakteri izolatlarının etkilerine bakılmıştır. Yürütülen çalışma sonuçlarına göre, *in vitro* *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. lentimorbus*, *B. subtilis*, *Enterobacter pyrinus*, *Stenotrophomonas maltophila* ve *Staphylococcus cohnii-cohnii* izolatlarının gövde çürüklüğü hastalık etmenleri *S. sclerotiorum* ve *S. minor*'a karşı ümitvar biyolojik mücadele ajanı olarak etkili olduğu belirlenmiştir. *In vivo* testlerde kullanılan

bakterilerden ise *Bacillus lenthimorbus* ve *Enterobacter pyrinus*'un *S. sclerotiorum*'un oluşturduğu hastalık gelişiminin tamamen engellendiği görülmüştür.

Tekin (2004), Hatay ilinin farklı biber ekim alanlarında yetiştirilen bitkilerin rizosferlerinden izole ettikleri 72 bakteri izolatını *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora capsici*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* ve *Sclerotinia sclerotiorum* toprak kökenli fungal etmenlerine karşı denemişlerdir. *In vitro* ve *in vivo* koşullarda y r t len çalışmada, kullanılan izolatların bakteri süspansiyonları sklerot çimlenmesini önemli ölçüde engellerken, bu izolatlara ait kültür filtratları da fungusların miselyal gelişimini üzerinde etkili olmuştur. *In vitro* koşullarda *S. sclerotiorum*'a karşı en yüksek antagonist potansiyele sahip olan FP6 ve B3 izolatlarının *in vivo* koşullarda etkinliği, yapay olarak bulaştırılmış topraklarda araştırılmıştır. FP6 ve B3 izolatı ile muamele edilmiş tohumların ekildiği bulaşık topraklarda hastalık çıkışı, sırasıyla %73 ve %79 gibi yüksek bir düzeyde engellenmiştir. Yapılan 30 günlük gözlem sonucunda, her iki izolatın hastalık çıkışını engellemeleri yanı sıra, hastalığın olmadığı topraklarda bitki büyümesini kontrol uygulamalarına oranla önemli düzeyde teşvik ettiği belirlenmiştir.

Soylu ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada, Hatay'ın Amik ovasının farklı bölgelerinden aldıkları toprak örneklerinden seçici besi yerleri kullanarak 113 bakteri izolatı elde etmişlerdir. Bu izolatların toprak kökenli bitki patojeni olan iki önemli fungus *S. sclerotiorum* ve *Rhizoctonia solani*'ye karşı etkileri araştırılmıştır. Yapılan testlemeler sonucunda, *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp. izolatlarından AKB50 ve AFP104 kodlu izolatlar *S. sclerotiorum* ve *Rhizoctonia solani*'nin hif gelişimini sırasıyla %75.3 ve %83.3 oranında engellemiştir.

Bacillus amyloliquefaciens izolatı *in vivo* ve *in vitro* koşullarında yapılan biyolojik mücadele çalışmalarında, *S. sclerotiorum* ile inokule edilen domates, patlıcan ve kabak tohumlarında *B. amyloliquefaciens*'in %80'in üzerinde sklerot üretimini ve gelişimini engellediği ve aynı zamanda antibiyosis yoluyla etki gösterdiği gözlenmiştir (Mansour ve ark., 2008).

Yılmaz ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, k kbakteri izolatı *Lysobacter enzymogenes* C3R5 izolatının bitki gelişimini teşvik etmesinin yanı sıra domateste sorun

olan *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* ve *Sclerotinia sclerotiorum* toprak kökenli fungal hastalık etmenlerine karşı etkinliği ve etki mekanizmalarının karakterizasyonu araştırılmıştır. *In vitro* denemelerde *L. enzymogenes* C3R5 izolatı ve kültür filtratı fungal etmenlerin miselyal gelişimlerini önemli düzeyde engelleyerek antagonizm göstermiştir. Antagonist izolatla fungusların birlikte kültüre alındığı PDA besi yerlerinde gelişen miseller üzerinde yapılan mikroskopik gözlemlerde ise, fungus hiflerinde kıvrılma, kararma, sitoplazmik içeriklerde pıhtılaşma, vakuolleşme, sitoplazmik boşalma ve hücre duvarlarında erimeler gibi morfolojik bakımdan oldukça önemli anormallikler gözlenmiştir. *In vivo* çalışmalarda antagonist izolatın farklı uygulamalarının (tohumu kaplama, yaprak yüzeyine püskürtme ve fidelerin köklerini bakteri süspansiyonu içine daldırma) bitki büyümesi üzerine etkinliğinin yanı sıra bitkilerde hastalık çıkışı üzerine olan etkinlikleri araştırılmış olup *L. enzymogenes* C3R5 izolatı kontrol ile karşılaştırıldığında bitki gelişimini teşvik etmezken, hastalıkların bitkilerde çıkışını önemli düzeyde engellediği belirlenmiştir.

Zhang ve Xue (2010) tarafından yürütülmüş olan bir çalışmada *Bacillus subtilis* SB24 izolatının Soya fasulyesi beyaz çürüklüğe neden olan *Sclerotinia sclerotiorum* üzerine etkisi belirlenmiştir. Çalışmada laboratuvar denemelerinde patojenin misel gelişimini %50 ile 75 oranında azaltmış ve sklerot oluşumunu %90 oranında engellediği kaydedilmiştir, tarla denemelerinde kullanılmış olan hücre süspansiyonu ve sıvı kültür preparatları hastalık şiddetini %45 ile 90 oranında azaltmıştır.

Soylu (2011) yürütülen çalışmada da marul (*Lactuca sativa* L.) bitkisinde *S. sclerotiorum* tarafından oluşturulan beyaz çürüklük hastalığına karşı topraktan elde edilen bakteri izolatlarının etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada farklı türlere ait bitki büyümesini teşvik eden kök bakteri (PGPR) izolatları (*Bacillus pumilus* T4, *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a, *Pseudomonas fluorescens* WCS417r ve *Pseudomonas putida* 89B-61) kullanılmıştır. *In vitro* ve *in vivo* koşullarda yürütülen çalışmada, *in vitro* ikili test denemelerinde, PGPR izolatları fungusların miselyal gelişimi üzerinde etkili olamamıştır. Fakat *in vivo* koşullarda ise PGPR izolatları marul bitkisinin daha sağlıklı bir şekilde gelişmesini sağlamış ve uygulama yapılmış bitkilerde hastalık oluşumu önemli düzeyde engellenmiştir.

Onaran ve Yanar (2011), tarafından yürütölmüş olan çalışmada ise, 23 bakteri izolatı *S. sclerotiorum* 'a karşı test edilmiştir. Bakteriyel izolatların *in vivo* ve *in vitro* testlerde (*Serratia plymuthica*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas flourocens*, *Pseudomonas putida*, *Paenibacillus macerans*, *Pantoea aglomerans* ve *Burkholderia pyronicia*) *S. sclerotiorum* 'un misel büyümesini tamamen inhibe ettiğı ve sklerotların canlılığında önemli ölçüde azalmaya neden olduğı belirtilmiştir.

Ji (2013) tarafından yürütölen çalışmada, *B. amyloliquefaciens* izolatının *in vitro* koşullarda *S. sclerotiorum* 'un misel büyümesinin ve sklerot oluşumunun inhibe edildiğı bildirilmiştir. Rostami ve ark. (2013) tarafından yürütölen çalışmada ise salatalık rizosferinden izole edilen *B. amyloliquefaciens* 'in, *S. sclerotiorum* 'un misel büyümesini %72 oranında engellediğı bildirilmiştir.

Kanola bitkisinde, kök çürüklük etmeni *S. sclerotiorum* 'a *Bacillus cereus* (SC-1 ve P-1) ve *Bacillus subtilis* (W-67) antagonistik izolatları denemiş olup, *in vitro* testlerde misel gelişimi önemli derecede azalırken, sklerot çimlenmesi tamamen inhibe edilmiştir. Bakteri uygulamaları sera saksı denemesinde yüksek oranda sklerotlar ölümü sağlanmıştır. Aynı zamanda bakteriyel solüsyonların spreyle uygulanmasında da hastalık oranı önemli ölçüde azaltılmış ve kotiledonlarda, saplarda da daha yüksek kontrol etkinliğı sağlanmıştır. Yürütölen çalışma sonuçlarına göre, *B. cereus* SC-1 uygulamasının kontrolle karşılaştırıldığında (%20,0-29,8) *S. sclerotiorum* kök çürüklüğü hastalık oranını (%6,5-9,3) önemli ölçüde engellediğı belirtilmiş ve biyolojik kontrol ajan potansiyeline sahip olduğı kaydedilmiştir (Kamal ve ark., 2015).

Kırmızı lahanada üzerinde yapılan bir çalışmada *S. sclerotiorum* 'a karşı *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* ve *Bacillus pumilus* bakteriyel izolatlar kullanılmıştır. Yürütölen saksı denemelerinde beyaz çürüklük hastalığı üzerinde %42,64-79,41 arasında değişen oranlarda engelleme tespit edilmiş olup, özellikle de *B. subtilis* 'in bazı (TV-17C, TV-12H ve TV-6F) kültürlerinin *S. sclerotiorum* 'un biyokontrolünde biyolojik ajan olarak kullanılabileceğı belirtilmiştir (Tozlu ve ark., 2016).

Hardal bitkisi üzerinde yürütülmüş olan bir çalışmada *S. sclerotiorum*'a karşı *Bacillus* izolatları kullanılmıştır. Çalışmanın *in vitro* kısmındaki deneme aşamalarında misel büyümeyi önemli ölçüde azalttığı ve sklerot oluşumunu baskıladığı kaydedilmiştir. Tohum bakterizasyonu yapılan hardal fidelerinin hastalığa karşı %98 oranında büyük bir koruma sağlamıştır. Bitkiye yapraklardan uygulanan izolatlar patojenin gelişimini %90 oranında azaltmıştır. Bunun yanı sıra tohum çimlenmesini ve bitki gelişimini teşvik ettiğide düşünülmektedir (Rahman ve ark., 2016).

Sağlıklı domates bitkilerinin köklerinin etrafındaki rizosferden izole edilen 25 rizobakteriyel tür (*Bacillus amyloliquefaciens*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Chryseobacterium jejuense* ve *Klebsiella pneumoniae*'ya ait farklı sayıda türler) *S. sclerotiorum*'a karşı denenmiş olup *in vitro* ve *in vivo* koşullarda yürütülen çalışmalarda hastalık şiddetinde %72-100 azalma tespit edilmiş olup, aynı zamanda bitki boyunda %52-67 gibi yüksek oranda bir artış görülmüştür (Ouhaibi-Ben Abdeljalil ve ark., 2016).

Vinodkumar ve ark., (2017) tarafından yürütülmüş olan çalışmada ise karanfil, pamuk, zerdeçal ve muz gibi farklı bitkilerin rizosferinden izole edilen *Bacillus* türlerinin *S. sclerotiorum*'un gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır. *B. amyloliquefaciens*'in VB7 ırkı *in vitro* koşullarda miseliyal büyümesini %45 oranında engellemiş olup, sklerot üretimi %100 oranında inhibe edilmiştir.

Waheda ve ark. (2018) tarafından Bangladeş 'te yürütülmüş olan bir çalışmada ise, şifalı bitkilerin rizosferinden izole edilen endofitik bakterilerin *S. sclerotiorum*'a karşı etkileri değerlendirilmiştir. *B. amyloliquefaciens* ve *B. subtilis* izolatları salatalık ve pirinç fideleri üzerinde büyümeyi teşvik ederken, *S. sclerotiorum*'un gelişmesini önemli ölçüde inhibe etmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışmada kullanılan rizobakteri izolatları

Çalışmada Tokat ili domates üretim alanlarından izole edilerek, biyokimyasal testler ve MALDI-TOF tekniği ile tanısı yapılan, fosfatı indirgeme ve azotu bağlama özellikleri yüksek olan 10 adet rizobakteri izolatı kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan rizobakterilerin kodları ve bilimsel adları

İzolat kodu	İzolatın bilimsel adı
R-1	<i>Pseudomonas kilonensis</i>
R-2	<i>Pseudomonas monteilii</i>
R-3	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>
R-4	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>
R-5	<i>Pseudomonas koreensis</i>
R-6	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>
R-7	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
R-8	<i>Pseudomonas sp.</i>
R-9	<i>Pseudomonas sp.</i>
R-10	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>

3.1.2 Çalışmada kullanılan patojen fungus

Çalışmada kullanılan *Sclerotinia sclerotiorum* kültürü Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN (Akdeniz Üniversitesi, Kumluca Meslek Yüksekokulu)'dan temin edilmiştir. Patojen fungus hıyar bitkisinin enfekteli dokularından izole edilmiştir.

3.1.3 Çalışmada kullanılan besi yerleri

-Tryptic Soy Agar (TSA)

Tryptic Soy Agar	40 g
Saf su	1000 ml

-Nutrient Agar (NA)

Nutrient Agar	20 g
Saf su	1000 ml

-King B Besi Yeri (King ve ark., 1954)

Proteose peptone	20 g
Gliserin	10 ml
Di-potassium hydrogen phosphate (K ₂ HPO ₄)	1.5 g
Magnesium sulfate heptahydrate (MgSO ₄ .7H ₂ O)	1.5 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml

-Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato Dextrose Agar	40 g
Saf su	1000 ml

-Luria Bertani Broth (LB)

Tryptone	10 g
Yeast ekstrakt	5 g
Sodyum klorür (NaCl)	10 g
Saf su	1000 ml

3.1.4 Çalışmada kullanılan hıyar fidesi

Saksı çalışmalarında Tokat ilinde yaygın olarak kullanılan Dörtel F1 çeşidi hıyar fidesi kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 *In vitro* çalışmalar

Rizobakterilerin *Sclerotinia sclerotiorum* 'un miselyum gelişimine etkisinin belirlenmesi

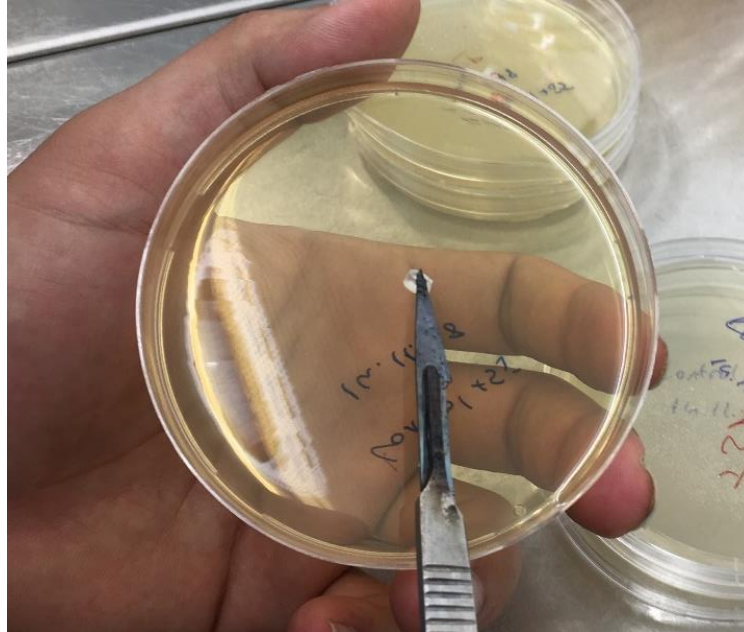
Çalışmada besi yeri olarak Tryptic Soy Agar (TSA) kullanılmıştır. 24 saat geliştirilen rizobakteri izolatları 90 mm çaplı petri kaplarındaki besi yerinin uç kısmına halka şeklinde çizilmiştir (Şekil 3.1). Daha sonra besi yerinin merkezine patojen fungus *S. sclerotiorum*'dan alınan 5 mm çaplı miselyum disk yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). Kontrol olarak bakteri izolatlarının çizilmediği besi yerlerine sadece patojen fungus yerleştirilmiştir. Parafilm ile kapatılan petriler 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol grubundaki fungus petriyi kapladığı zaman deneme sonlandırılmıştır. Deneme sonunda kontrol grubundaki ve rizobakteri uygulaması yapılan petrilerdeki miselyum gelişimleri ölçülmüştür (Tozlu ve ark., 2016; Kotan, 2017). Miselyum ölçümleri kıyaslanarak % engelleme oranları hesaplanmıştır (Mari ve ark., 1996). Deneme beş tekerrürlü olarak kurulup, iki kez tekrarlanmıştır.

$$I (\%) = [(C - T) / (C)] \times 100$$

I: Engelleme oranı (%); C: Kontroldeki patojenin miselyum gelişimi T: Bakteri uygulamasındaki miselyum gelişimi



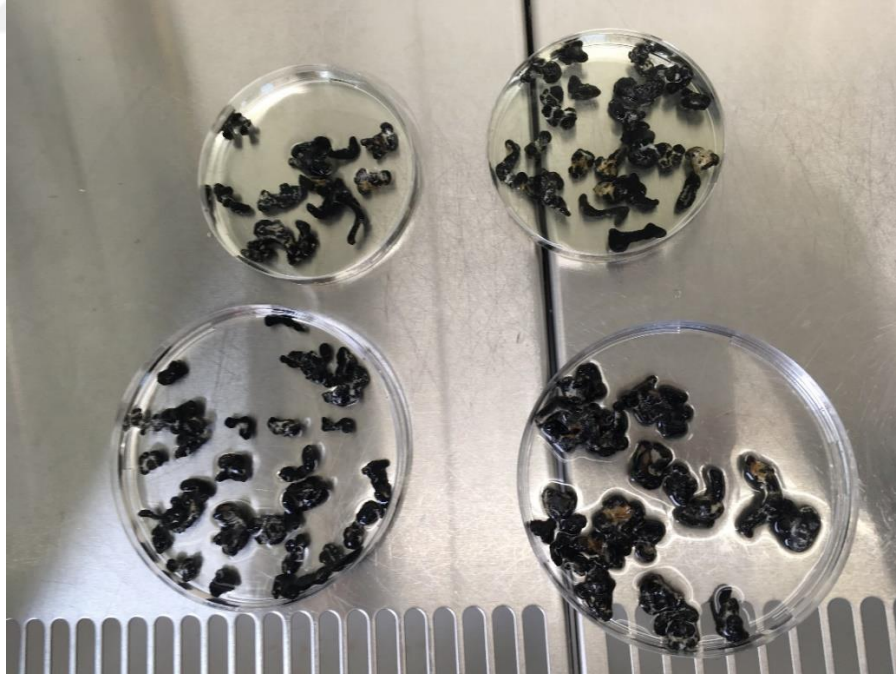
Şekil 3.1. Rizobakteri izolatlarının besi yerinin uç kısmına halka şeklinde çizilmesi



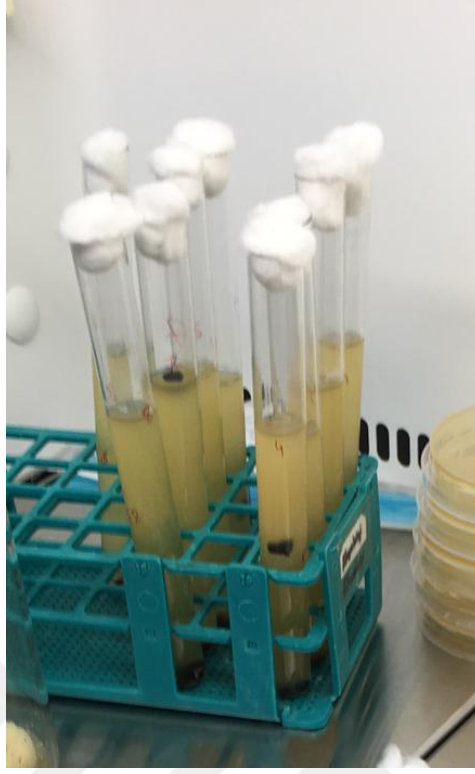
Şekil 3.2. *Sclerotinia sclerotiorum*'dan alınan 5 mm diskin besi yerine yerleştirilmesi

Rizobakterilerin *Sclerotinia sclerotiorum* 'un sklerot çimlenmesine etkisinin belirlenmesi

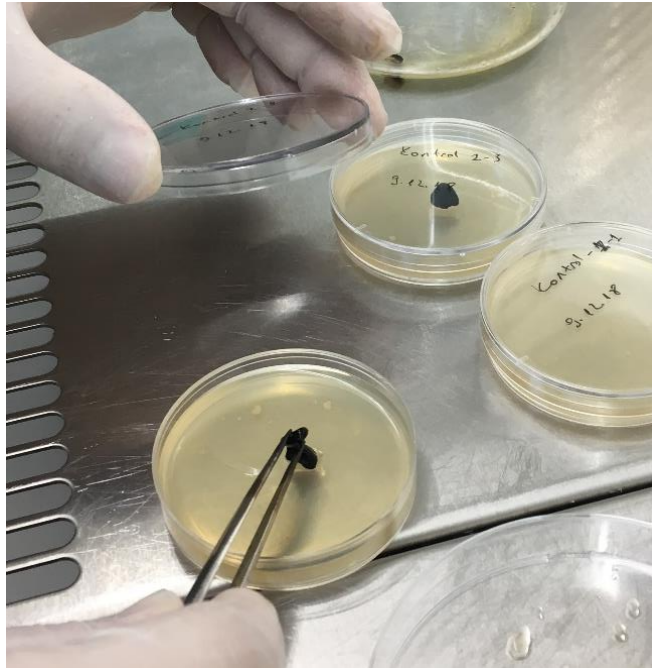
Sclerotinia sclerotiorum'un Potato Dextrose Agar (PDA) besi yerinde 10 günlük süreyle geliştirilen sklerotları önce %2'lik sodyum hipoklorit içerisine daldırılmış, daha sonra 3 kez steril distile sudan geçirilerek yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulmuştur (Şekil 3.3). Yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulan sklerotlar 10 ml Luria Bertani Broth (LB) besi yeri ile hazırlanan 1×10^8 hücre/ml yoğunluğundaki bakteri süspansiyonları içerisine konulmuştur (Şekil 3.4). Her bir rizobakteri izolatu için 5 sklerot kullanılmış olup, uygulama yapılan erlenmayerler 24 saat 175 rpm'de çalkalanmıştır. Rizobakteri uygulaması yapılan sklerotlar bistüri ile ikiye bölünerek PDA besi yerine aktarılmış ve 5 gün 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.5). İnkübasyon süresi sonunda çimlenen sklerotlar canlı olarak kabul edilmiş ve miselyum gelişimleri kaydedilmiştir. Kontrol olarak bakteri izolatının olmadığı LB besi yerine 5 adet sklerot konulmuştur. 3 tekerrürlü olarak kurulan deneme 2 kez tekrarlanmıştır. Rizobakteri izolatları, kontrol grubu ile kıyaslama yapılarak sklerotların canlılık oranları ve miselyum gelişimlerine etkisi belirlenmiştir (Abdeljalil ve ark., 2016).



Şekil 3.3. Sklerotların %2'lik sodyum hipoklorit ile yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulması



Şekil 3.4. Sklerotların 10 ml LB besi yeri ile hazırlanan bakteri süspansiyonları içerisine konulması



Şekil 3.5. Bakteri solüsyonlarından çıkarılan sklerotların PDA besi yerine aktarılması

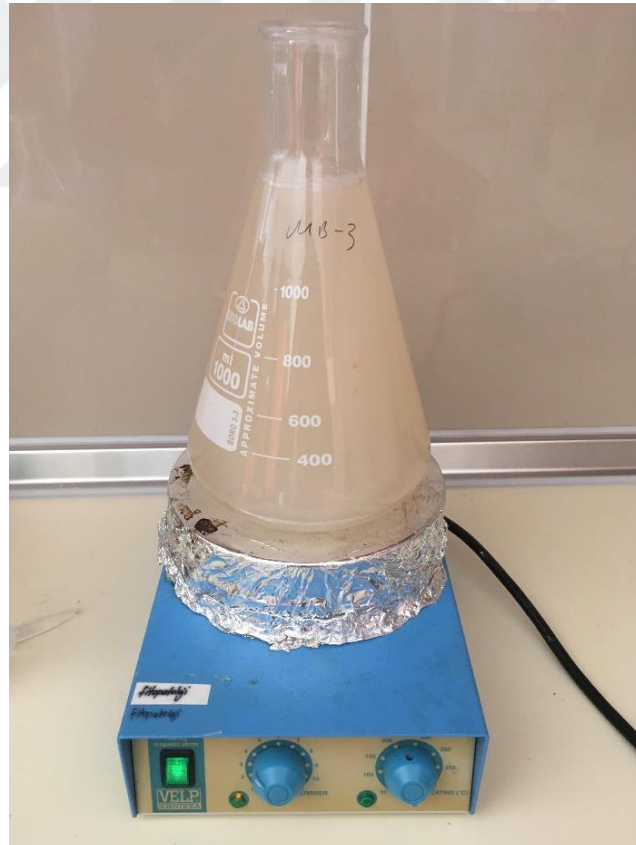
3.2.2 *In vivo* alışmalar

Rizobakterileri izolatlarının hıyarda beyaz ürüklük hastalığı üzerine etkisinin belirlenmesi

In vitro testler sonucu hastalık etmeni üzerinde en yüksek etkiye sahip olan 3 rizobakteri izolatı ile tekli, ikili ve üçlü kombinasyonlar halinde saksı çalışması yürütölmüştür (izelge 3.2). Çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Merkezi, Bitki Koruma Bölümü hastalık serasında Dörtel F1 fide çeşidi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. King B besi yerine çizgi ekimi yapılan bakteri izolatları 28 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen bakteri izolatları tuzlu su (0.85% NaCl) içerisinde çözölmüş, spektrofotometre kullanılarak 600 nm’de 1×10^8 hücre/ml yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanmıştır (şekil 3.6). Hazırlanan süspansiyon içerisine hıyar fideleri daldırılarak 1 saat bekletilmiş ve bakterilerin kolonizasyonu sağlanmıştır (şekil 3.7). Daha sonra uygulama yapılan fideler steril toprak, torf ve perlit (1:1:0,5) bulunan saksılara şaşırılmıştır (şekil 3.8). Fideler saksılara aktarıldıktan 7 gün sonra bitki gövdesinde topraktan 4 cm yukarıda, 5 mm çapında yara açılmıştır (şekil 3.9). 1×10^8 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan bakteri süspansiyonundan açılan yaralara 0,5 ml pipet yardımıyla uygulanmıştır (şekil 3.10). Uygulamadan hemen sonra *S. sclerotiorum*’un 5 mm çapındaki miselyum diski açılan yaraya yerleştirilmiştir (şekil 3.11). İnokule edilen nokta nemli pamuk ile sarılarak kapatılmıştır (şekil 3.12). Pozitif kontrol bitkileri yalnızca *S. sclerotiorum* ile inokule edilmiştir (Tozlu ve ark., 2016). Negatif kontrol grubu olarak bitkilere sadece saf su, ilaçlı kontrol grubu olarak da bitkilere Metalaxyl-M+Fludioxonil etkili maddeli ilaç firmanın önerdiği dozda uygulanmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 10 tekerrürlü olarak 2 kez kurulmuştur. Uygulamadan 7 gün sonra kontrol grubundaki ve uygulama yapılan gruptaki ölü ve canlı bitki sayımı yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Saksı çalışmasında yapılan uygulamalar

Kodlar	Uygulamalar
PK	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> uygulaması
NK	Saf su uygulaması
İK	Metalaxyl-M+Fludioxonil uygulaması
R-3	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>
R-6	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>
R-7	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
R-3+R-6	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> + <i>Pseudomonas thivervalensis</i>
R-3+R-7	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> + <i>Pseudomonas chlororaphis</i>
R-6+R-7	<i>Pseudomonas thivervalensis</i> + <i>Pseudomonas chlororaphis</i>
R-3+R-6+R-7	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> + <i>Pseudomonas thivervalensis</i> + <i>Pseudomonas chlororaphis</i>



Şekil 3.6. Uygulama yapılan rizobakteri izolat süspansiyonu



Şekil 3.7. Hazırlanan rizobakteri izolat solüsyonlarının fidelere uygulanması



Şekil 3.8. Süspansiyona daldırılan fidelerin şaşırtılması



Şekil 3.9. Fidelere 5 mm çapında yaraların açılması



Şekil 3.10. Açılan yaralara 0.5 ml bakteri solüsyonunun uygulanması



Şekil 3.11. Açılan yaralara 5 mm çapındaki patojenin yerleştirilmesi



Şekil 3.12. İnokule edilen yerlerin nemli pamuk ile kapatılması

Rizobakteri izolatlarının hıyar bitkisinde bitki gelişimine etkisinin belirlenmesi

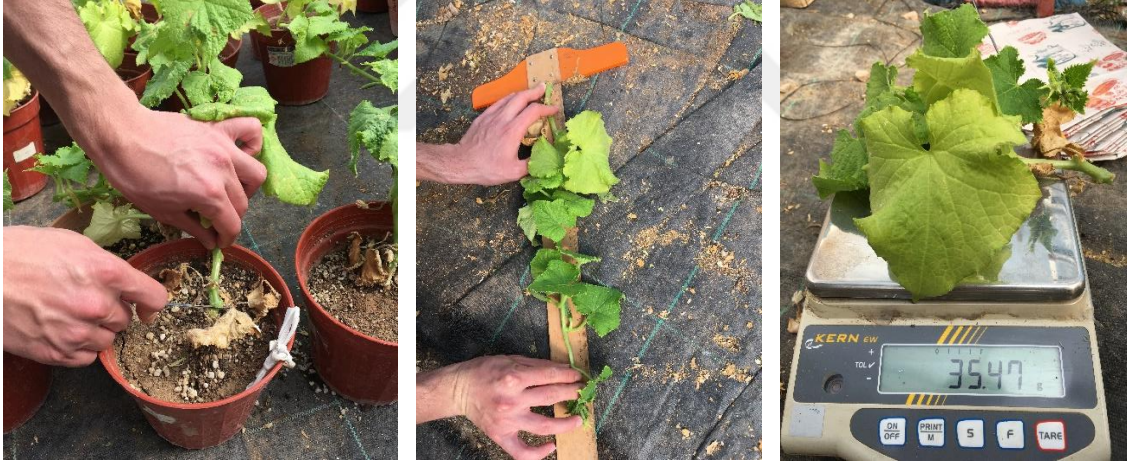
Rizobakteri izolatlarının beyaz çürüklük hastalığı üzerine etkisinin yanında hıyar bitkisinde gelişime olan etkilerini belirlemek amacıyla da saksı çalışması yürütülmüştür. Hastalığa etkinlik çalışmasında belirtildiği gibi, çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Merkezi, Bitki Koruma Bölümü hastalık serasında Dörtel F1 fide çeşidi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın bu kısmında da Çizelge 3.2’de verilen uygulamalar (PK uygulaması hariç) yapılmıştır. King B besi yerinde 25°C’de 48 saat geliştirilen rizobakteri izolatlarının yoğunluğu saline buffer (%0,85 NaCl) ile spektrofotometre kullanılarak 600 nm dalga boyunda 0.5 absorbans değerine ayarlanmıştır. Hazırlanan uygulama süspansiyonları içerisine hıyar fidelerinin kökleri 1 saat daldırılarak köklere bakterilerin kolonizasyonu sağlanmıştır (Şekil 3.13). Uygulama yapılan bitkiler steril toprak, torf ve perlit (1:1:0,5 v/v) karışımı olan saksılara şaşırtılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 10 tekerrürlü olarak 2 kez kurulmuştur (Şekil 3.14). Günlük bakım-sulama işlemleri takip edilmiş ve yaklaşık 2 ay sonra deneme sonlandırılmıştır. Deneme alanındaki tüm bitkilerde bitki boyu, gövde çapı, meyve sayısı, bitki yaş ve kuru ağırlığı, kök yaş ve kuru ağırlığı alınmıştır (Şekil 3.15).



Şekil 3.13. Hazırlanan rizobakteri izolat solüsyonlarının fidelere uygulanması



Şekil 3.14. Saksı çalışmasından genel bir görüntü



Şekil 3.15. Deneme sonunda bitkilerde yapılan değerlendirmeler (bitki boyu, gövde çapı, dal ve meyve sayısı, bitki yaş ve kuru ağırlığı alınması)

3.3 İstatistiki Analizler

Çalışma sonucunda elde edilen veriler, SPSS istatistik 25 paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile $p \leq 0.05$ önem düzeyinde belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 *In vitro* çalışmalar

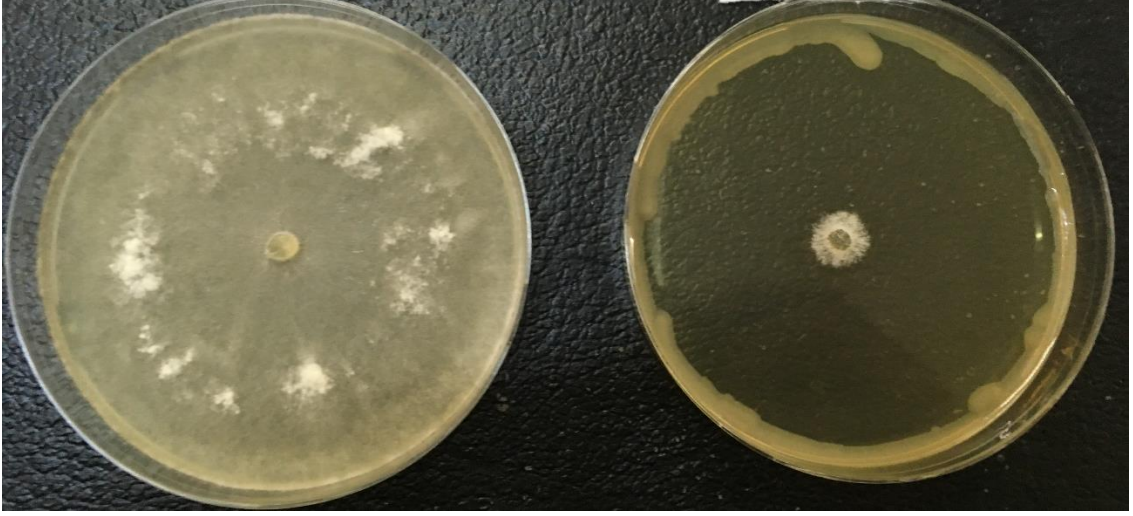
4.1.1 Rizobakterilerin *Sclerotinia sclerotiorum*'un miselyum gelişimine etkisi

Çalışmanın bu kısmında rizobakterilerin *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimi üzerine olan etkisine bakılmıştır. Yapılan çalışmada, testlenen 10 adet rizobakteri izolatu patojen fungus *S. sclerotiorum* üzerinde %65.49-88.25 arasında değişen oranlarda bir engelleyici etki göstermiştir. Çizelge 4.1'de görüldüğü üzere, bütün bakteri izolatlarının fungus üzerindeki etkisinin kontrolden farklı grupta yer aldığı ve istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Patojen fungus üzerinde en yüksek etki R-6 kodlu *Pseudomonas thivervalensis* izolatında %88.25 belirlenmiştir (Şekil 4.1). Patojen fungus üzerinde en az etkiye sahip olan ise R-8 kodlu *Pseudomonas* sp. izolatıdır (Şekil 4.2). Testlenen bakteri izolatlarının hepsi patojen fungusun miselyum gelişimi üzerinde %60'dan fazla engelleyici etki göstermiştir.

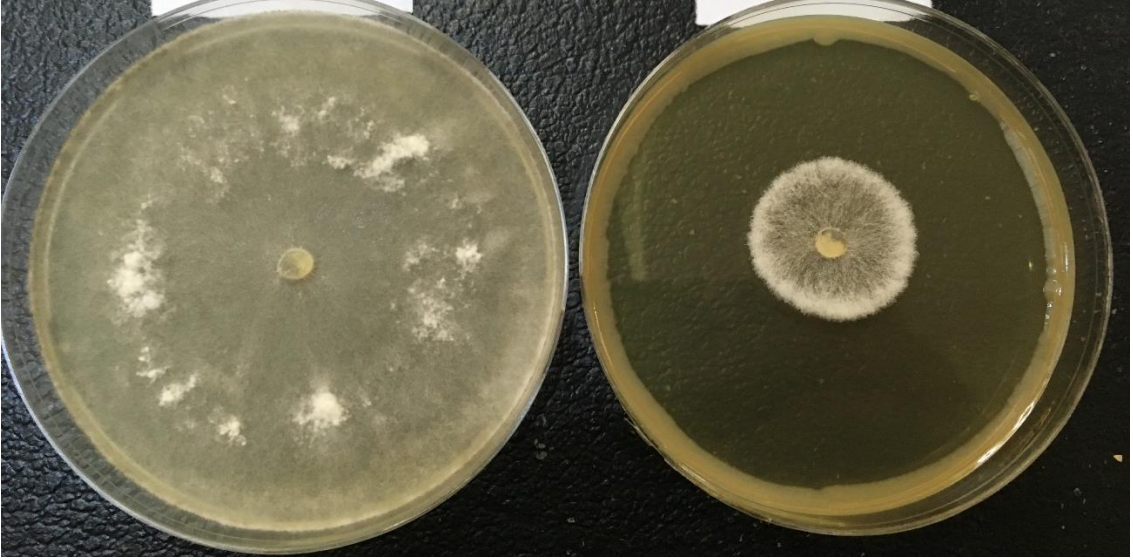
Çizelge 4.1. Rizobakteri izolatlarının *Sclerotinia sclerotiorum*'un miselyum gelişimine etkisi

Kodlar	Uygulamalar	Miselyum gelişimi (mm)	Ortalama Etki oranı (%)
K	Kontrol	90 a*	0 f
R-1	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	23,81 cd	73,54 cd
R-2	<i>Pseudomonas monteilii</i>	13,46 ef	85,04 ab
R-3	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	10,85 f	87,93 a
R-4	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	12,40 ef	86,31 ab
R-5	<i>Pseudomonas koreensis</i>	15,27 e	83,03 b
R-6	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	10,56 f	88,25 a
R-7	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	14,71 ef	83,64 ab
R-8	<i>Pseudomonas</i> sp.	31,05 b	65,49 e
R-9	<i>Pseudomonas</i> sp.	25,86 c	71,26 d
R-10	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	20,03 d	77,73 c

*Aynı sütun içerisinde ortalamalar yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).



Şekil 4.1. R-6 kodlu *Pseudomonas thivervalensis* izolatının *Sclerotinia sclerotiorum* patojeni üzerindeki miselyum gelişimini engellemesi



Şekil 4.2. R-8 kodlu *Pseudomonas* sp. izolatının *S. sclerotiorum* patojeni üzerindeki miselyum gelişimini engellemesi

Yapılan *in vitro* çalışmaya benzer şekilde çeşitli araştırmacılar tarafından birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. El-Kafrawy (2008) yaptığı çalışmada *S. sclerotiorum*'un radyal gelişimi üzerinde *Pseudomonas fluorescens*'in %69.26 oranında antagonistik etkiye sahip olduğunu ve sclerot oluşumu üzerinde önemli ölçüde baskılayıcı etki gösterdiğini belirtmiştir. Helmy (2016) tarafından yapılan çalışmada da özellikle *Streptomyces* sp.,

Pseudomonas fluorescens ve *Bacillus subtilis* (Bs1) *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimini sırasıyla %72.2, 68.0, 62.22 oranında azaltmıştır. Soylu ve ark. (2006) ikili petri kültür testi ile 113 adet bakteri izolatının *S. sclerotiorum*'a karşı antagonistik potansiyelini incelemiş ve *Pseudomonas* spp. AFP104 izolatının patojen fungus üzerinde %83.3 oranında etkili olduğunu belirtmiştir. Aktan (2018) tarafından yapılan benzer bir çalışmada da, ikili kültür testlemeleri ile 46 bakteri izolatının *S. sclerotiorum*'un misel gelişimi üzerine olan etkileri incelenmiştir. Yürütülen denemede özellikle *Bacillus* spp bağlı izolatlar hastalık etmeninin misel gelişimini etkili bir şekilde engellediği tespit edilmiştir. Yapılan çalışma ile hastalık etmeninin misel gelişimini engelleyen izolatların çoğunluğunun epifit kökenli olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlar arasında en yüksek etki %79.58 engelleme oranı ile *Bacillus cereus* izolatında görülmüştür. *B. cereus*'u takiben ikinci sırada %74.58 oran ile *Pseudomonas chlororapsis* ssp. *aurantiaca* izolatı yer almıştır. Bizim yaptığımız petri denemelerinde de *Pseudomonas chlororaphis* izolatı %83,64 ortalama etki oranı patojen fungus üzerinde yüksek bir etki göstermiştir.

S. sclerotiorum ile yapılan biyolojik çalışmalarına benzer şekilde, Gökçe (2013) yaptığı çalışmada *Bipolaris sorokiniana* patojen fungusuna karşı antagonistik bakteri izolatlarını denemiştir. Antifungal özellikleri bakımından test edilen toplam 25 farklı türe ait 212 izolattan en etkili olan izolatların içinde *Pseudomonas* sp. türleri yer almıştır. Türler patojen fungus üzerinde %35.72 ile %85.72 arasında değişen oranlarda engelleme zonu oluşturmuştur.

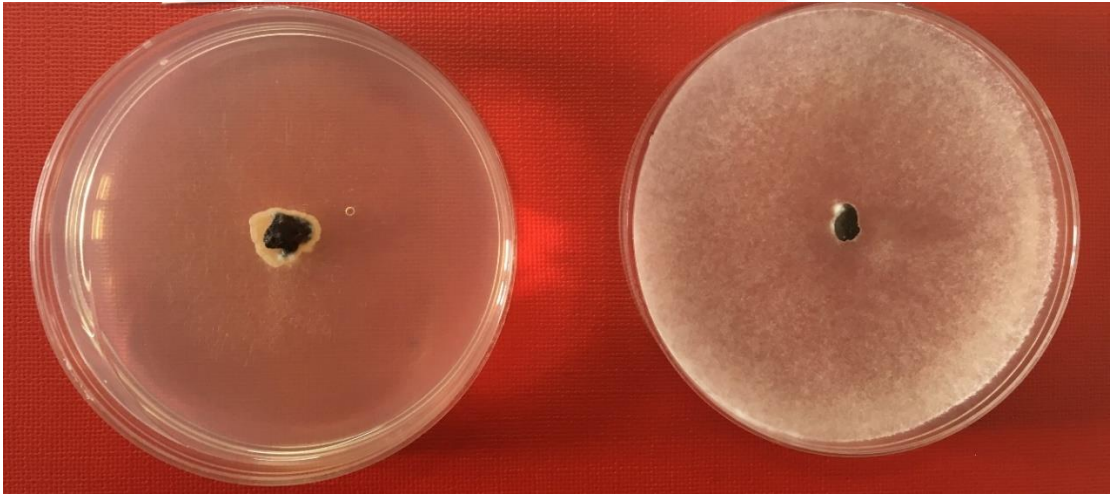
4.1.2. Rizobakterilerin *Sclerotinia sclerotiorum*'un sklerot çimlenmesine etkisi

Çalışmanın bu kısmında ise, bakteri izolatlarının sklerot canlılığı üzerindeki etkisine bakılmıştır. Yapılan test sonucuna göre, 5 izolat (R-1, R-2, R-4, R-5, R8) ile muamele edilen sklerotlarda canlılık devam ederken (Şekil 4.3), 5 izolat da (R-3, R-6, R-7, R-9, R-10) sklerot ölümü gerçekleşmiştir (Şekil 4.4). Miselyum gelişimi üzerinde yüksek etkiye sahip olan izolatlar aynı şekilde sklerotlar üzerinde de etkili olmuştur. Buna ilaveten, canlılığını kaybetmeyen sklerotlardan R2, R4 ve R5 kodlu antagonistlerle muamele edilenlerin miselyum gelişiminin de önemli düzeyde baskılandığı da görülmüştür. Bu durum söz konusu antagonistlerin fungustatik etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Çizelge 4.2).

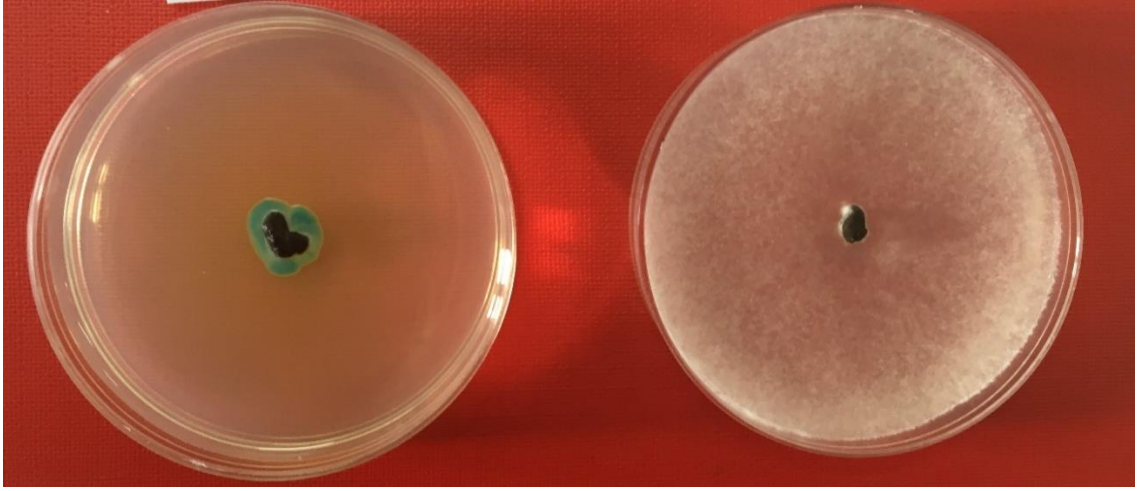
Çizelge 4.2. Rizobakterilerin *Sclerotinia sclerotiorum*'un sklerot canlılığı üzerine etkisi

Kodlar	Uygulamalar	Sklerot canlılığı	Miselyum gelişimi (mm)
K	Kontrol	Canlı	60 a*
R-1	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	Canlı	53,09 b
R-2	<i>Pseudomonas monteilii</i>	Canlı	21,25 d
R-3	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	Ölü	0 f
R-4	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	Canlı	14,27 e
R-5	<i>Pseudomonas koreensis</i>	Canlı	26,38 cd
R-6	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	Ölü	0 f
R-7	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Ölü	0 f
R-8	<i>Pseudomonas sp.</i>	Canlı	32,39 c
R-9	<i>Pseudomonas sp.</i>	Ölü	0 f
R-10	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	Ölü	0 f

*Aynı sütun içerisinde ortalamalar yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).



Şekil 4.3. R-5 kodlu *Pseudomonas koreensis* izolatının sklerot üzerindeki etkisi (misel gelişimi görülmüştür)



Şekil 4.4. R-3 kodlu *Pseudomonas brassicacearum* izolatın sklerot üzerindeki etkisi

Yapılan diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlar yürüttüğümüz çalışmayı destekler niteliktedir. Benzer şekilde, Onaran ve Yanar (2011) tarafından yapılan çalışmada da testlenen 23 izolattan 12 tanesinin sklerotlarda ölüm sağladığı, özellikle *Pseudomonas* cinsinden *P. putida* ve *P. fluorescens*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus pumilis* izolatlarının sklerotlar üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda ise *Bacillus* türlerinin ham ekstraktlarının *S. sclerotiorum*'da misel büyümesini ve sklerotial formunu inhibe ettiği belirtilmiştir (Bardin ve Huang, 2001; Huang ve ark., 2002; Boland, 2004; Fernando ve ark., 2005; Onaran, 2009; Bonaldi ve ark., 2014; Ji, 2013; Ouhaibi-Ben Abdeljalil ve ark., 2016; Vinodkumar ve ark., 2017).

Koçak (2019) tarafından yürütülen başka bir çalışmada ise *Bacillus* sp. türlerinin uygulandığı sklerotlarda ölümlerin görüldüğü ve misel gelişiminin ise hiç olmadığı sadece *Brevibacterium frigoritolerans* adlı bakteri izolatının uygulandığı sklerotta misel gelişiminin olduğu belirtilmiştir. *Pseudomonas* cinsine ait olan R-10 kodlu *Pseudomonas thivervalensis*, R-9 kodlu *Pseudomonas* sp., R-7 kodlu *Pseudomonas chlororaphis*, R-6 kodlu *Pseudomonas thivervalensis* ve R-3 kodlu *Pseudomonas brassicacearum* sklerotlar üzerinde öldürücü etkiye sahip olup, diğer *Pseudomonas* türlerinde ise ölüm görülmemiştir. Şekil 4.4'de görüldüğü üzere sklerotun etrafındaki yeşil renkli bakteri gelişiminin, bakterilerin ortama bıraktıkları metabolitlerin *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimini engelleyerek sklerotların canlılığını kaybetmesine neden olduğu düşünülmektedir.

4.2 *In vivo* çalışma

4.2.1 Rizobakterileri izolatlarının hıyarda beyaz çürüklük hastalığı üzerine etkisi

In vitro çalışmalar sonucu *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimi ve sclerot canlılığı üzerinde yüksek etkiye sahip olan üç izolat (R-3, R-6 ve R-7) ile *in vivo* testler yürütülmüştür. Üç izolatın tekli, ikili ve üçlü kombinasyonları kullanılmıştır. Sera koşullarında yapılan saksı çalışmasında uygulamaların değerlendirilmesinde ölü/canlı bitki sayımı yapılmıştır. Çalışma sonucuna göre, sadece patojen fungusun uygulandığı pozitif kontrol bitkilerinde %100 ölüm gerçekleşirken, negatif kontrol ve ilaçlı kontrol uygulamalarında bitki ölümü olmamıştır (%0). R-3 tekli uygulaması ve R-3+R-6+R-7 üçlü kombinasyon uygulamasında 10 bitkiden 5'inde ölüm (%50) gerçekleşmiştir (Şekil 4.5). R-6 tekli uygulaması ve R-3+R-6, R-6+R-7 ikili kombinasyon uygulamalarında ise 10 bitkiden 6'sında ölüm (%60) gerçekleşmiştir (Şekil 4.6). Uygulamalar içerisinde en yüksek etki R-7 tekli uygulaması ve R-3+R-7 ikili uygulamasında görülmüştür (Şekil 4.7). Her iki uygulamada da 10 bitkiden 2'sinde ölüm gerçekleşirken, 8'inin canlı olduğu, herhangi bir hastalık belirtisi ve ölüm olmadığı görülmüştür. Bu iki uygulamada da hastalığın %80 oranında baskılandığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Rizobakterilerin hıyar bitkisinde beyaz çürüklük hastalığı üzerine etkisi

Kodlar	Uygulamalar	Ölü Bitki Sayısı (adet)	Canlı Bitki Sayısı (adet)	Etki oranı (%)
PK	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> uygulaması	10	0	0
NK	Saf su uygulaması	0	10	100
İK	Metalaxyl-M+Fludioxonil uygulaması	0	10	100
R-3	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	5	5	50
R-6	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	6	4	40
R-7	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	2	8	80
R-3+R-6	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> + <i>Pseudomonas thivervalensis</i>	6	4	40
R-3+R-7	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> + <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	2	8	80
R-6+R-7	<i>Pseudomonas thivervalensis</i> + <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	6	4	40
R-3+R-6+R-7	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> + <i>Pseudomonas thivervalensis</i> + <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	5	5	50



Şekil 4.5. R-3+R-6+R-7 kodlu kombine edilen rizobakteri izolatlarının *S. sclerotiorum* patojenine karşı etkisinin NK ve PK ile karşılaştırılması



Şekil 4.6. R-3+R-6 kodlu kombine edilen rizobakteri izolatlarının *S. sclerotiorum* patojenine karşı etkisinin NK ve PK ile karşılaştırılması



Şekil 4.7. R-7 kodlu *Pseudomonas chlororaphis* izolatın *S. sclerotiorum* patojenine karşı etkisinin NK ve PK ile karşılaştırılması

Beyaz çürüklük hastalığının biyolojik kontrolüne yönelik yapılan daha önceki çalışmalarda çok sayıda antagonistik bakterinin kısmen veya tamamen hastalığı engellediği belirlenmiştir. Bu çalışmada olduğu gibi, sera koşullarında Onaran ve Yanar (2011) tarafından yapılan çalışmada da testlenen bakteri izolatları beyaz çürüklük hastalığı üzerinde %43.20-89.22 arasında değişen oranlarda etkili olmuştur. Çalışma sonucuna göre, en etkili izolatın *Burkholderia cepacia* olduğu belirtilmiştir. Aynı şekilde, Helmy (2016) tarafından sera koşullarında bakteri süspansiyonuna fidelerin daldırılması işleminden bir hafta sonra patojen fungusun uygulanması şeklinde yapılan çalışmada da *Bacillus subtilis*, *B. thuringiensis* ve *Streptomyces* sp. hastalık şiddetini %100 oranında engellemiştir.

Antagonistik bakteriler ile muamele edilen topraklara hıyar fidelerinin dikimiyle yapılan bir sera çalışmasında ise, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas fluorescens* türlerinin beyaz çürüklük hastalığını sırasıyla %95-100 ve %85-90 oranlarında engellediği belirlenmiştir (El-Kafrawy, 2008).

Hıyar bitkisinin dışında, kanola bitkisinde *S. sclerotiorum*'un biyolojik kontrolüne yönelik sera ve arazi koşullarında yapılan bir çalışmada da *P. chlororaphis* (PA-23), *Pseudomonas* sp. (DF-41), *B. amyloliquefaciens* (BS6) fungusit uygulaması ile kıyaslandığında önemli ölçüde hastalığı baskılamıştır. Patojenin inokule edildiği bitkilerde gövde çürüklük oranı %20-75 arasında değişirken, *P. chlororaphis* uygulamasında bu oran %5.0-29.6 arasında değişmiştir (Fernando et al., 2007). Buna ilaveten, Savchuck ve Fernando (2004), 10^4 - 10^8 cfu ml⁻¹ yoğunluktaki *P. chlororaphis* ve *P. brassicacearum* uygulamasının askospor çimlenmesi üzerinde de yüksek oranda etkili olduğunu vurgulamışlardır.

S. sclerotiorum'a karşı antagonistik bakteriler konukçu bitki üzerinde sistemik dayanıklılığı etkilemektedir. *Pseudomonas* spp., pyoluteorin, pyrrolnitrin, phenazines, siderophores, cyanide, 2,4-diacetylphloroglucinol gibi çok sayıda antimikrobiyal bileşen (Compant et al., 2005) ve cellulose, chitinase, proteases, beta-glucanase gibi enzimler (Hernandez-Leon et al., 2015) üretmektedir. Benzer şekilde, *in vitro* koşullarda *S. sclerotiorum*'u engelleyen *Pseudomonas* spp. DF200 ve DF209 bakteri izolatları benzothiazole, cyclohexanol, n-decanal, dimethyl trisulfide, 2-ethyl 1-hexanol, nonanal antifungal organik uçucu bileşenleri üretir. Arazide ise bakteriler sclerotların carpogenik

çimlenmesini ve ascosporların ortaya çıkışını engeller (Fernando et al., 2004). Mevcut çalışmada kullanılan *Pseudomonas brassicacearum*'un *S. sclerotiorum*'u baskılamada hydrogen cyanide (HCN), protease, alginate, sclerocin ve lipopeptide moleküllerini, 2,4-diacetylphloroglucinol ve cyanide gibi antifungal bileşenlerini kullandığı rapor edilmiştir (Berry et al., 2010; 2014; Ortet et al., 2011; Loewen et al., 2014).

Yine bu çalışmada kullanılan *P. chlororaphis*, *S. sclerotiorum* baskılamada, sclerot ve spor çimlenmesini engellemede, hyphal lysis, vacuolation ve protoplast leakage'e neden olan önemli bir biyokontrol ajanı olup, phenazine-1-carboxylic acid, 2-hydroxyphenazine ve pyrrolnitrin (PRN) gibi antibiyotikleri ürettiği rapor edilmiştir (Savchuck, 2002; Fernando et al., 2007; Zhang et al., 2004; Zhang, 2004; Selin et al., 2010).

4.2.2 Rizobakteri izolatlarının hıyar bitkisinde bitki gelişimine olan etkisi

Çalışmanın bu kısmında, patojen fungus ile enfekteli olmayan sadece rizobakteriler ile muamele görmüş hıyar bitkilerinde rizobakterilerin bitki gelişimi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Rizobakterilerin bitki gelişimi üzerine etki çalışmaları hastalık etmenine olan etki çalışmaları ile aynı dönemde ve aynı koşullar altında yürütülmüştür. Bitkilerde bakım, sulama işlemleri günlük takip edilmiş ve 70 gün sonra deneme sonlandırılmıştır. Denemeler sonlandırılırken bitki boyu ve gövde çapı ölçülmüş, meyve sayılmış, bitkinin yaş ve kuru ağırlığı, köklerin yaş ve kuru ağırlıkları alınmıştır. Çalışmaya ait veriler Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Rizobakterilerin uygulandığı bitkilerde 32.35-40.30 cm aralığında bitki boyu ölçülmüştür. Yapılan uygulamaların kontrol bitkisinden farklı olmadığı rizobakterilerin bitki boyu gelişiminde etkili olmadığı görülmüştür. Gövde çapına olan etkisi incelendiğinde de, en yüksek gelişim R-7 uygulamasında (3.35 cm) görülmüştür. Negatif kontrol bitkisinden daha düşük etki gösteren uygulamalarda olduğu tespit edilmiştir. Rizobakterilerin meyve sayısına etkisi ise, diğer parametrelere göre daha yüksek görülmüştür. Uygulamalarda 9-12 adet meyve hasat edilirken, NK'dan daha yüksek olduğu görülmüştür. Bitki yaş ve kuru ağırlığında R-3 uygulaması kontrol bitkilerinden daha yüksek bir ağırlık göstermiştir. Diğer uygulamalarda kontrolden farklı olmadığı görülmüştür. Kök yaş ağırlığında ise R-6+R-7 ikili uygulamada kontrolden daha yüksek

olduğu ve istatistiki olarak da farklı bir grupta olduğu belirlenmiştir. Kök kuru ağırlığında ise yapılan uygulamaların istatistiki olarak önemsiz olduğu ve böylece kontrol ile aynı grupta yer aldıkları görülmüştür (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Rizobakteri izolatlarının hıyar bitkisinde bitki gelişimine olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)	Gövde çapı (cm)	Meyve sayısı (adet)	Bitki yaş ağırlık (g)	Bitki kuru ağırlık (g)	Kök yaş ağırlık (g)	Kök kuru ağırlık (g)
NK	37,50 ab*	3,10 bc	9,4 a	29,98 bc	4,46 ab	8,85 ab	0,61 ab
R-3	40,30 ab	2,85 abc	10,70 ab	31,43 c	5,64 b	9,12 ab	0,72 ab
R-6	37,05 ab	2,80 ab	12,00 b	27,92 abc	4,47 ab	9,34 ab	0,64 ab
R-7	37,35 ab	3,35 c	11,90 b	29,21 abc	5,63 b	10,52 ab	0,78 ab
R-3+R-6	36,35 ab	3,20 bc	10,30 ab	27,69 abc	4,70 ab	8,56 ab	0,49 a
R-3+R-7	33,75 ab	3,20 bc	9,7 ab	25,25 ab	4,37 a	10,61 ab	0,67 ab
R-6+R-7	32,35 b	2,55 a	10,00 ab	24,84 a	4,16 a	11,39 b	0,7 ab
R-3+R-6+R-7	36,80 ab	2,95 abc	11,10 ab	28,09 abc	5,24 b	8,05 a	0,54 a

*Aynı sütun içerisinde ortalamalar yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).

Çalışmanın bu kısmı ile ilgili rizobakterilerin hıyar bitkisinde bitki gelişimine yönelik olarak beklenen sonuçlar elde edilememiştir. Yukarıda da belirtildiği üzere kullanılan bakteriyel izolatların hıyar bitki gelişimi üzerinde etkin olmadıkları görülmüştür. Diğer çalışmalar incelendiğinde ise, kullandığımız bakteriyel izolatlar dışında bazı rizobakterilerin/antagonistik bakteriyel izolatların bitki gelişiminde olumlu etki yaptığı görülmüştür. Elkafrawy (2008), 4 adet *Trichoderma*, 2 adet *Gliocladium* izolatı ve *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* bakteriyel izolatlarının hıyar bitkisinde bitki gelişimine olan etkilerine bakmıştır. Yürütülen sera çalışmasında, *G. virens*, *B. subtilis* ve *T. hamatum*'un bitki boy gelişiminde daha etkili oldukları, çiçek sayısını %50'den %87'ye yükselttikleri ve meyve verimini artırdıkları görülmüştür. Rostami ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, 7 adet *Bacillus amyloliquefaciens* izolatının hıyar bitkisinde gövde ve kök uzunluğunu, bitki gelişimini ve kök ağırlığını önemli ölçüde artırdığını belirtmişlerdir. Çalışmada bakterilerin kök bölgesinde yoğun bir şekilde kolonize olduğu belirtilmiştir. Diğer yapılan bir çalışmada da *Bacillus subtilis* (Bs2) ve *Serratia* sp.'nin hıyarda kök ve sürgün uzunluğunu kontrole göre önemli ölçüde artırdığı belirtilmiştir (Helmy, 2016).

Biyolojik kontrol ajanları bitki gelişimini ürettikleri bitki hormonlarından ve vitaminlerinden dolayı artırırılar bu şekilde de bitki de kök boyu uzar ve verim artar. Aynı zamanda minerallerin translokasyonunda ve alınımında da uygun forma dönüştürülür. Çok sayıda mikroorganizma bitkide kök, sürgün ve verimde önemli ölçüde artış sağlayan Indol-3-asetik-asit (IAA), fitohormon, giberalik asit üretirler (Haggag ve Wafaa, 1997; Green ve ark., 2001). Bitki kök çevresini, kök yüzeyini habitat edinen bu bakteriler yoğun bir şekilde kök bölgesine kolonize olarak, topraktaki fizyokimyasal aktiviteleri gerçekleştirirler. Rizobakterilerin etki mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte, tarımsal üretimde biyotik ve abiyotik faktörlere karşı kullanımına yönelik son yıllarda çalışmalar yoğun bir şekilde artmaktadır. *In vitro*, *in vivo* denemeler şeklinde yürütülen bu çalışmalarda, kullanılan rizobakteriler veya antagonistik bakteriyel izolatlar hastalığı baskılamada veya bitki gelişimini artırmada aynı etkiyi göstermeyebilirler. *In vitro* denemelerde yüksek etki gösteren bakteriye izolatlar her zaman en etkili biyolojik mücadele elemanı olamayabilir (Weller, 1998; Bennett ve ark., 1999). Yürüttüğümüz bu çalışmada da, *S. sclerotiorum* hastalık etmeninin miselyum gelişimi ve sklerot canlılığı üzerinde etkili olan bakteriyel izolatlar hıyar bitkisinde bitki gelişimi üzerinde etkili olamamıştır. Çalışmanın bu kısmı ile ilgili olarak bakterilerin kök bölgesinde yeterince kolonize olamadığı veya yeterli yoğunlukta olmadığı düşünülmektedir.



Şekil 4.8. Rizobakteri izolatlarının uygulandığı hıyar bitkilerinin görünümü



Şekil 4.9. Deneme sonunda bitki ağırlık ölçümlerinin yapılması



Şekil 4.10. Deneme sonrası bitkilerin değerlendirilme aşaması

5. SONUÇ

Günümüzde bitkisel üretimde kalitenin ve verimin artırılması ve tarımsal ilaçların kullanımının azaltılması için biyolojik mücadele kapsamında bitki hastalıklarına karşı antagonistik bakterilerin ve/veya bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerin kullanılmaları önemli araştırma konularından birisidir. Bitki hastalıklarının baskılanması ve sağlıklı bitki gelişiminin sağlanması açısından bu bakteriler ile yapılan çalışmalar ümit vericidir. Beyaz çürüklük hastalığı ile mücadelede, özellikle kültürel önlemler, fiziksel ve kimyasal mücadele yapılsa da dayanıklılık problemleri ve sklerotiumların uzun yıllar canlı kalması gibi sebeplerden dolayı hastalık etmeni ile mücadelede zorluklar yaşanmaktadır. Sonuç olarak, bu çalışma ile, antagonistik bakteri izolatlarının beyaz çürüklük hastalığına karşı biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları ortaya konmuştur. Bu bağlamda, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar sonucu etmen üzerinde etkili bulunan R-7 kodlu izolatın ve R-3+R-7 kodlu ikili kombinasyonun üretici seralarındaki performanslarının da belirlenmesi gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abdeljalil, N. O. B., Vallance, S., Gerbore, J., Rey, P. ve Daami-Remadi, M., 2016. Bio-suppression Of *Sclerotinia* Stem Rot Of Tomato and Bbiostimulation of Plant Growth Using Tomato-associated Rhizobacteria. *Journal of Plant Pathology ve Microbiology*, 7:2.
- Adams, P. B. and Ayers, W. A., 1979. Ecology of *Sclerotinia* Species. *Phytopathology*, 69, 896-899.
- Agrios, G. N., 1997. *Plant Pathology*. Academic Pres, California, 635 p.
- Aksay, A., Biçici, M. ve Çinar, O., 1991. Beyaz Çürüklük Etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary'a Karşı Antagonistlerin Belirlenmesi. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6 (2), 55-62.
- Aktan, Z.C., 2018. Badem Ağaçlarında Sorun Olan Toprak Kökenli Fungal Hastalık Etmenlerine Karşı Antagonist ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Bakterilerin *In Vitro* Etkinliklerinin Belirlenmesi. (Yükseklisans Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Hatay.
- AL-Masri, M. I., Ali-Shtayeh, M. S., Elad, Y., Sharon, A., Tudzynski, P., Barakat, R. (2002): Effect of plant growth regulators on white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) on bean and cucumber. – *Journal Phytopathology* 150: 481-487.
- Anonim, 2008. Ziraî Mücadele Teknik Talimatları, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ankara, s.73-77.
- Anonim, 2020. Michigan Potato Diseases- White Mold of Potato Plant Diseases, Plant Patology Fungi. <https://www.pinterest.cl/pin/60517188722067732/> (22.10.2020).
- Bardin S.D. and Huang, H.C. 2001. Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada. *Can. J. Plant Pathol*, 23: 88–98.
- Bernett, S.J., Singleton, I. ve Reyder, M., 1999. Spatial variation in population of *Pseudomonas corrugata* 2140 and *Pseudomonads* on take-all diseased and healthy root systems of wheat. *Soil Biology Biochemistry*, 31, 633-636.
- Berry C, Fernando WGD, Loewen PC, de Kievit TR (2010), Lipopeptides are essential for *Pseudomonas* sp. DF41 biocontrol of *Sclerotinia Sclerotiorum*. *Biol Control* 55: 211-218.
- Bogdanova, V. N., Karadzhova, L. V. ve Klimenko, T. F., 1986. Use of *Coniothyrium minitans* Cambell as a Hyperparasite in Controlling the Pathogen of White Rot of Sunflower. *Sel's Kokhozyaistvennaya Biologia*, 5, 80-84.
- Boland, G.J., 2004, Fungal viruses, hypovirulence, and biological control of *Sclerotinia* species. *Can. J. Plant Pathol.*, 26: 6–18.
- Bonaldi, M., Kunova, A., Saracchi, M., Sardi, P. and Cortesi, P. 2014. Streptomycetes as biological control agents against basal drop. *Acta Horticulturae*, Volume 1044:313-318.
- Cattelan, A.J., Hartel, P.G. ve Fuhrmann, J.J., 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:1670–1680.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C. and Barka, E. A., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects, *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (9), 4951-4959.

- Çetinkaya-Yıldız, R., 2007. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.)'nin Tanılanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler İle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması. (Doktora Tezi), Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Adana.
- Çınar, A. ve Biçici M., 1982. Çukurova'da ayçiçeği parsellerinde görülen tabla çürüklüğü ile kök boğazı ve gövde yanıklığı hastalıklarının etiyolojisi ve önemi. III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri (12-15 Ekim, 1982), Adana, 68-79.
- Delen, N., Tosun, N., 1997. Türkiye'de Pestisit Kullanımının Toksikolojik Değerlendirilmesi. II. Ulusal Toksikoloji Kongresi, 3-6 Nisan 1997, Antalya
- Dillard, H.R. and Cobb, A.C., 1995. Relationship between leaf injury and colonization of cabbage by *Sclerotinia sclerotiorum*. Crop Protection 14(8):677-682.
- Dorrance, A. E. and Lipps, P. E., 2002. Sclerotinia white mold of soybean, (online) Available at. <http://ohioline.osu.edu/act-fact/0045.html> (22.10.2020).
- Elkafrawy, A. (2008): biological control of white rot of cucumber caused by *Sclerotinia sclerotiorum* under greenhouse conditions. – Journal of Agricultural Research 6(1).
- Expert, J. M. ve Digat, B., 1995. Biocontrol of Sclerotinia wilt of sunflower by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* strains, Can. J. Microbiol., 41:685-691.
- FAO, 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data> (20.10.2020).
- Fernando, W.D.G., Nakkeeran, S., Zhang, Y., and Savchuk, S. 2007. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on canola petals. Crop. Prot. 26: 100-107.
- Fernando, W.G. D, Ramarathnam, R., Krishnamoorthy, A. S. and Sarah, C. S., 2004. Identification and Use of Potential Bacterial Organic Antifungal Volatiles in Biocontrol. Soil Biology and Biochemistry, Volume 37, Issue 5, Pages 955-964.
- Fernando, W.G. D., Ramarathnam, R. and Krishnamoorthy, A. S. 2005. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. Soil Biol. Biochem. 37, 955–964. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.10.021.
- Ferreira, S. A. and Boley, R. A., 2002. *Sclerotinia sclerotiorum*. (online) Available at. http://www.extento.hawaii.edu/kbase/Crop/Type/s_scler.htm (20.10.2020).
- Gökçe, A.Y., 2013. Buğday Kök Çürüklüğüne Neden Olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Fungusunun Pggpr ve Biyoajan Bakterileri Kullanılarak Kontrollü Koşullarda Biyolojik Mücadele İmkânlarının Araştırılması. (Yükseklisans Tezi), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Erzurum.
- Haggag, M.E., Wafaa (1997), New approaches for controlling soil borne fungi infecting cucumber plant under greenhouse conditions Ph.D. Thesis, Fac. Of Agric., Ain Shams Univ., Egypt. 168 pp.
- Helmy, K. G. (2016): Screening potential of some bacterial species and *Trichoderma harzianum* against *Sclerotinia sclerotiorum* on cucumber. – Journal of Plant Protection and Pathology 7(12): 867-872.
- Hernandez-Leon, R., Rojas-Solis, D., Contreras-Perez. M., Orozco-Mosqueda, M. C., Macias-Rodriguez, L. L., Reyes-de la Cruz, H., Valencia-Cantero, E., Santoyo, G. (2015): Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. – Biological Control 81: 83-92.

- Hua, Z. F., Li, X. M., Li, Y., Li, H., Zhang, G. J., Zhang, J. H., Wang, C. B. and Lu, Y. X., 1994. Study on Integrated Control of *Sclerotinia sclerotiorum* of Sunf- lower in Jilin Province. *Acta Phytophylacica Sinica*, 21, 127-134.
- Huang, H.C. 2002. Screening sunflower for resistance to *Sclerotinia* wilt. *Plant Pathol. Bull.* 11: 15–18.
- Huang, H.C., Kokko, E.G.I., Yanke, J., Phillippe, R.C. 1993. Bacterial suppression of basal pod rot and end rot of dry peas caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Microbiol.* 39, 227–233.
- Inbar, J., Mendenez A. and Chet, I., 1996. Hyphal interaction between *Trichoderma harziconim* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control. *Soil Biology and Biochemistry*, 28, 757-763.
- İmriz, G., Özdemir, F., Topal, İ., Ercan, B., Taş, N., Yakışır, E. ve Okur, O., 2014. Bitkisel Üretimde Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rizobakteri (Pgpr)'Ler ve Etki Mekanizmaları, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 12(2):1-19.
- James, E.K., Gyaneshwar, P., Mathan, N., Barraquio, W.L., Reddy, P.M., Iannetta, P.P.M., Olivares, F.L., ve Ladha, J.K., 2002. Infection and colonization of rice seedlings by the plant growthpromoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae* Z67. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 15(9):894-906
- Ji, S. H. 2013. Biocontrol Activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against fungal plant diseases. *Mycobiology* 41, 234–242.
- Johansson P.M., Johnsson L., Gerhardson B. 2003. Suppression of wheat-seedling diseases caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale* using bacterial seed treatment. *Plant Pathology*, 52, 219–227.
- Kamal M.M., Lindbeck K.D., Savocchia S., Ash G.J. 2015. Biological control of *Sclerotinia* stem rot of canola using antagonistic bacteria. *Plant Pathol*, 64:1375-1384.
- Kamensky M, Ovadis M, Chet I, Chernin L (2003), Soil-borne strain IC14 of *Serratia plymuthica* with multiple mechanisms of antifungal activity provides biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* diseases. *Soil Biol Biochem* 35: 323-331.
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M. ve Schroth, M.N., 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growthpromoting rhizobacteria. *Nature*, 286:885-886.
- Koçak, R., 2019. Konya, Karaman ve Aksaray illeri Ayçiçek Ekiliş Alanlarındaki Beyaz Çürüklük (*Sclerotinia Sclerotiorum* (Lib.) De Bary) Hastalığının Durumu ve Biyolojik Mücadelesi. (Doktora Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi, Konya.
- Kotan, R., 2017. 6th Entomopathogens and Microbial Control Congress, 14-16 September, 2017, Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey. Çağrılı bildiri.
- Loewen, P. C., Switala, J., Fernando, W. G. D., de Kievit, T. (2014): Genome sequence of *Pseudomonas brassicacearum* DF41. – *Genome Announcements* 2(3): e00390-14: 1-2.
- Mansour, T., A., Nida, Y., A., Patrice, S. 2008. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*, *Crop Protection*, 27(10), 1354-1359.

- Mao W., Lewis J. A., Hebbar P. K., Lamsden R. D. 1997. Seed treatment with a fungal or bacterial antagonist for reducing corn damping-off caused by species of *Pythium* and *Fusarium* . Plant Dis 81:450–454.
- Mari, M., Guizzardi M. ve Pratella G.C., 1996. Biological Control of gray mould in pears by antagonistic bacteria. Biological Control, 7: 30-37.
- Melzer, M. S., Smith, E. A. and Boland, G. J., 1997. Index of Plant Hosts of *Sclerotinia minor*. Can. Journal of Plant Pathol., 19, 272-280.
- Mun, B-G., Lee, W-H, Kang, S-M, Lee, S-U, Lee, S-M., Lee, D-Y, Shahid, M., Yun, B-W, Lee, I-J. (2019): *Streptomyces* sp. LH4 promotes plant growth and resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in cucumber via modulation of enzymatic and defense pathways. – Plant Soil. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-0441-4>.
- Nelson, B., 1998. Biology of *Sclerotinia*. Proceedings of The Sclerotinia Workshop. (online) Available at <http://www.ndsu.plantpathologydept.edu>
- Oldaç S., G. Ülke & Mirik M. 2002. Domates bakteriyel leke hastalığına (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*). Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, Erzurum.
- Onaran A, Yanar Y. 2011. Screening bacterial species for antagonistic activities against the *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary causal agent of cucumber white mold disease. Afr J Biotechnol 10: 2223-2229.
- Onaran, A., 2009. Antalya ilinde Seralarda Yetiştirilen Hıyarlarda Görülen Beyaz Çürüklük Etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary’un Yaygınlığı, Tanılanması, Miselyum Uyumluluk Grupları, Patojenitesi ve Biyolojik Kontrolü Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat. s.96.
- Onaran, A., Yanar, Y., 2004. “Tokat ve Amasya Yöresinde Seralarda Hıyarlarda Görülen Beyaz Çürüklük Etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary’un Yaygınlığı ve Miselyum Uyumluluk Gruplarının Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar.” Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi. 27-29 Ağustos, 2007, Isparta, s. 283.
- Ortet, P., Brakat, M., Lalaouna, D., Fochesato, S., Barbe, V., Vacheria, B., Santaella, C., Heulin, T., Achouak, W. (2011): Complete genome sequence of a beneficial plant root-associated bacterium *Pseudomonas brassicacearum*. – Journal of Bacteriology 193: 3146-3147.
- Ouhaibi-Ben Abdeljalil N., Vallance J., Gerbore J., Rey P., Daami-Remadi M. 2016. Bio-suppression of *Sclerotinia* stem rot of tomato and biostimulation of plant growth using tomato-associated rhizobacteria. J Plant Pathol Microbiol, 7:2.
- Petrenkova, V. P. 1994, Survival of sclerotia of the causal agent of white rot. Zashchita Rostenii Moskva., 4: 20.
- Purdy, L. H., 1979. *Sclerotinia sclerotiorum* history, Diseases and Symptomatology, Host Range, Geographic Distribution, and Impact. Phytopathology, 69, 875-880.
- Rahman, M. M. E., Hossain, D. M., Suzuki, K., Shiiya, A., Suzuki, K., Dey, T. K. 2016. Suppressive effects of *Bacillus* spp. on mycelia, apothecia and sclerotia formation of *Sclerotinia sclerotiorum* and potential as biological control of white mold on mustard. Aust. Plant Pathol. 45:103.
- Ram, R.L., Maji, C. ve Bindroo, B.B., 2013. Role of PGPR in different crops an overview. Indian J. Seric. 52(1): 1-13.
- Rostami S., Maleki M., Shahriari D. 2013. The use of *Bacillus amyloliquefaciens* to control of *Sclerotinia* Stem Rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of cucumber. Intl J Farm & Alli Sci 2: 965-970.

- Savchuk, S. and Fernando, G. D. (2002), Microscopic and greenhouse evaluation of biological control of *S. sclerotiorum* on canola. Can. J. Plant. Pathol. Vol. 24/149-156.
- Savchuk, S., Fernando, W. G. D. (2004): Effect of timing of application and population dynamics on the degree of biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* by bacterial antagonists. – FEMS Microbiology Ecology 49: 379-388.
- Selin, C., Habibiban, R., Poritsanos, N., Athukorala, S. N. P., Fernando, D., de Kievit, T. R. (2010): Phenazines are not essential for *Pseudomonas chlororaphis* PA23 Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum*, but do play a role in biofilm formation. – FEMS Microbiology Ecology 71: 73-83.
- Shakir, M.A., Bano, A. ve Arshad, M., 2012. Rhizosphere bacteria containing ACCdeaminase conferred drought tolerance in wheat grown under semiarid climate. Soil Environ., 31 (1):108-112.
- Soylu, S., 2011. Marul (*Lactuca sativa* L.) Bitkisinde Beyaz Çürüklük Hastalığına (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary) Karşı Kök Bakterilerinin Kullanım Olanakları.
https://arastirma.tarimorman.gov.tr/alata/Belgeler/alatarim/alatarim020_2011_12.pdf#page=32 (30.10.2020).
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, G. ve Ekici, Ö.K., 2006. Antagonistic Potentials of Rhizosphere-Associated Bacterial Isolates Against Soil-Borne Diseases of Tomato and Pepper Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. Pakistan Journal of Biological Sciences 8, 43-48.
- Tekin, Ş., 2004. Farklı Biber Ekim Alanlarında Yetiştirilen Bitkilerin Rizosferlerinden İzole Edilen Antagonist Bakterilerin Bazı Fungal Patojenlerin Gelişimi Üzerine Etkinlikleri. (Yüksek Lisans Tezi), Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst, Hatay.
- Thaning, C., Welch, C. J., Borowicz, J. J., Hedman, R. ve Gerhardson, B., 2001. Suppression of *Sclerotinia sclerotiorum* Apothecial Formation by The Soil Bacterium *Serratia plymuthica* Identification of a Chlorinated Macrolide as One of The Causal Agents. Soil Biologyand Biochemistry Volume; 33, Issues; 12-13, Pages; 1817-1826,
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071701001092> (30.10.2020).
- Tok, F.M. ve Kurt, Ş., 2007. Akdeniz Bölgesi Örtü Altı Domates Bitkilerinden Elde Edilen *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary İzolatlarının Miselyal Uyum Grubu (MUG) ve Patojenite Yöntemleriyle Karakterizasyonu, Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi 27-29 Ağustos, 2007, Isparta, s. 284.
- Tozlu, E. ve Demirci, E., 2011. Ayçiçeğinde *Sclerotinia sclerotiorum* ve *S. minor* 'a Karşı Potansiyel Biyokontrol Organizmaların Belirlenmesi. Anadolu Tarım Bilim. Derg., 26(2): 101-106.
- Tozlu, E., 2003. Pasinler Ovasında Ayçiçeğinde Gövde Çürüklüğü Hastalığını Oluşturan *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary ve *Sclerotinia minor* Jagger'ın Yayılışı, Tanılanması, Patojeniteleri ve Biyolojik Kontrolü. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı. s. 36-44, Erzurum.
- Tozlu, E., Mohammadi, P., Kotan, M., S., Nadaroğlu, H. ve Kotan, R., 2016. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, the Causal Agent of White

- Mould Disease in Red Cabbeg by Some Bacteria. Bitki Koruma Bilimi. Vol. 52 Sayı 3, p188-198.
- Tuncer, F. E. ve Dandere, H., 1997. Antalya İli Seralarında Sebzelerde Zarar Yapan Beyaz Çürüklük (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary) Hastalığının Biyolojik Mücadele Olanakları Üzerinde Araştırmalar (Sonuc Raporu). <http://www.tagem.gov.tr/projeler/97/bsag/bsagl8.html>.
- Turhan, G., F. Grossmann. 1986, Investigation of a Great Number of Actinomycete Isolates on Their Antagonistic Effects Against Soil Borne Fungal Plant Pathogens by an Improved Method. Journal of Phytopathology 116:238-243.
- TÜİK 2019 Türkiye İstatistik Kurumu <https://data.tuik.gov.tr/tr/main-category-sub-categories-sub-components2/#> (20.10.2020).
- Venette, J., 1998. *Sclerotinia* Spore Formation, Transport and Infection. Proceedings of *Sclerotinia* Workshop. (online) Available at www.ndsu.plantpathologydept.edu (22.10.2020).
- Vinodkumar S., Nakkeeran S., Renukadevi P and Malathi V. G. 2017. Biocontrol Potentials of Antimicrobial Peptide Producing *Bacillus* Species: Multifaceted Antagonists for the Management of Stem Rot of Carnation Caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. Front. Microbiol. 8:446. doi: 10.3389/fmicb.2017.00446.
- Waheda Rahman Ansary, Ferdous Rezwan Khan Prince, Effi Haque, Farzana Sultana, Helen M. West, Mahbubur Rahman, Abdul Mojid Mondol, Abdul Mannan Akanda, Mahfuz Rahman, Michele L. Clarke, Tofazzal Islam. 2018. Endophytic *Bacillus* spp. from medicinal plants inhibit mycelial growth of *Sclerotinia sclerotiorum* and promote plant growth. Zeitschrift für Naturforschung C. A Journal of Biosciences. 73 (5-6), 247 – 256.
- Weller, D.M., 1988. Biological control of Soilborne Plant Pathogens in the Rhizosphere with Bacteria. Phytopathology, 26: 379-407.
- Yanar, Y., 2005. Tokat İklim Koşullarında *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary'un Sclerotium Canlılığı Üzerine Solarizasyonun Etkisi. GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi, 2005, 22 (1), 15-19.
- Yıldız, M., 1970. İzmir, Manisa ve Aydın İllerinde Marullara zarar yapan *Sclerotinia* türleri, Taksonomileri, yayılışları, zarar dereceleri ve patojeniteleri üzerine araştırmalar. E.Ü. Zira. Fak. Dergisi., seri A. (1): 223-235.
- Yılmaz, İ., Ekici, Ö, K. ve Soylu S., 2009. Domates Bitkilerinde Sorun Olan Toprak Kökenli Fungal Hastalık Etmenleri ile Mücadelede Kökbakterisi *Lysobacter enzymogenes*'in Kullanılma Potansiyelinin Belirlenmesi. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 10-15 Temmuz 2009, Van, https://www.researchgate.net/profile/Natalija-Atanasova-Pancevska/publication/319877046_Characterization_of_An_Antimicrobial_Extract_From_Tomato_Leaves_Obtained_by_Freeze-Drying_Effective_on_A_Tomato_Pathogen_Fusarium_spp_Karakterizasyonu/links/59bf8d6e458515e9cfd50a66/Characterization-of-An-Antimicrobial-Extract-From-Tomato-Leaves-Obtained-by-Freeze-Drying-Effective-on-A-Tomato-Pathogen-Fusarium-spp-Karakterizasyonu.pdf (30.10.2020).
- Yücer, M. M., 1980. Trakya bölgesinde ayiceklerinde görülen hastalıkların oranı, fungal etmenleri ve etmenlerin patojenitesi üzerinde araştırmalar. İstanbul Böl. Zir. Müc. Araş. Enst. Md. Eserleri Serisi, 14, Ankara, 96 s.
- Yücer, M.M. 2007, Ruhsatlı Tarım İlaçları 2007. Hasad Yayıncılık.

- Zazzerini A., Tosi, L. ve Rossi, S., 1987. Antagonistic Effect of *Bacillus* spp. on *Sclerotinia sclerotiorum* Sclerotia. *Phytopathol Mediterr*, 26, 185-187.
- Zazzerini, A. ve Tosi, L., 1985. Observations on The Antagonistic Activity of Some Fungi and Bacteria Against *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) De Bary. *Difesa-delepiante*, 8, 2, 163-168.
- Zhang J. X., Xue A. G., 2010. Biocontrol of *Sclerotinia* stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of soybean using novel *Bacillus subtilis* strain SB24 under control conditions. *Plant Pathol.* 59, 382–391.
- Zhang Y. (2004): Biocontrol of *Sclerotinia* stem rot of canola by bacterial antagonists and study of biocontrol mechanisms involved. [Master Thesis.] Winnipeg, University of Manitoba.
- Zhang Y.-H., Goa H.-L., Ma G.-Z., Li S.-D. (2004): Mycoparasitism of *Gliocladium roseum* 67-1 on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 34: 211–214.
- Ziman, L., 1997. Microanatomy of The fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. *Biologia*, 52, 3,389-394.