



**DOMATESTE ERKEN YANIKLIK ETMENİ  
*Alternaria solani* (Ell. & Mart.) L.R. JONES AND  
GROUT'UN BİYOLOJİK MÜCADELE  
İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI**

**Esra ÇAMLICA**

**Yüksek Lisans Tezi  
Bitki Koruma Anabilim Dalı  
Fitopatoloji Bilim Dalı  
Yrd. Doç. Dr. Elif TOZLU**

**2017**

**Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOMATESTE ERKEN YANIKLIK ETMENİ  
*Alternaria solani* (Ell. & Mart.) L.R. JONES AND GROUT'UN  
BİYOLOJİK MÜCADELE İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI

Esra ÇAMLICA

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI  
Fitopatoloji Bilim Dalı

ERZURUM  
2017

Her Hakkı Saklıdır



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU


DOMATESTE ERKEN YANIKLIK ETMENİ  
*Alternaria solani* (ELL. & MART.) L.R. JONES AND GROUT'UN  
BİYOLOJİK MÜCADELE İMKANLARININ ARAŞTIRILMASI

Yrd. Doç. Dr. Elif TOZLU danışmanlığında, Esra ÇAMLICA tarafından hazırlanan bu çalışma 23/10/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı – Fitopatoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (3/0)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Recep KOTAN

İmza : 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Elif TOZLU

İmza : 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ

İmza : 

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 02/11/2017 tarih ve 43/29 nolu kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Cavit KAZAZ  
Enstitü Müdürü

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### **DOMATESTE ERKEN YANIKLIK ETMENİ *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) L.R. JONES AND GROUT'UN BİYOLOJİK MÜCADELE İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI**

Esra ÇAMLICA

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı  
Fitopatoloji Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Elif TOZLU

Domates fidelerinde önemli verim kayıplarına neden olan erken yanıklık etmeni *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) L.R. Jones and Grout toprakta uzun süre canlı kalabilmesi ve geniş konukçu çevresine sahip olmasından dolayı rotasyonla kontrolü zor olan bir etmendir. Bitki hastalıkları ile mücadelede kullanılan kimyasal ilaçların ise çevre, insan ve hayvan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri, dayanıklılık ve kalıntı probleminin ortaya çıkmasına ilişkin kaygılar, bilim adamlarını kimyasal mücadeleye alternatif yeni, daha ekonomik ve etkin mücadele yöntemleri keşfetme arayışına itmiştir. Bu bağlamda akla gelen yaklaşımlardan birisi de mikrobiyal biyoajanların hastalık ve zararlıların kontrolünde kullanılmasıdır. Bu nedenle, patojene karşı biyolojik mücadele ajanlarının belirlenerek etkin kullanımının sağlanması oldukça önemlidir. Bu çalışmada; domates fidelerinde hastalık yapan erken yanıklık hastalığına karşı biyolojik mücadele ajanı olabilecek fungus ve bakteri izolatları belirlenmiştir. Çalışmada daha önce yapılan farklı çalışmalarda; yabani ve kültür bitkilerinin toprak altı veya toprak üstü aksamlarından izole edilerek, Microbial Identification System (MIS)'ine göre tanılanmış olan (3 adedi *Bacillus subtilis*, 1 adedi *B. pumilus*, 1 adedi *Pseudomonas fluorescens*, 2 adedi *Pantoea agglomerans*, 2 adedi *B. megaterium*, 1 adedi *B. cereus*, 1 adedi *Paenibacillus polymxa*, 1 adedi *B. sphaericus*, 1 adet *B. thuringiensis* türlerine ait izolatlar) toplam 13 adet biyoajan bakteri ve yine daha önce yapılan çalışmalarda etkililiği farklı bitki patojenlerine test edilerek moleküler sistemde tanılanmış olan *Tricoderma harzianum* türüne ait toplam 2 fungus izolatu kullanılmıştır. Bu bakterilerin ve fungusların patojene karşı etkililiği in vitro şartlarda test edilmiş ve en etkili sonuç veren 6 bakteri ve 1 fungus izolatının etkililiği in vivo şartlarda da belirlenmiştir. Bu amaçla 3 tekerrürlü olarak kurulan saksı denemelerinde 3'er saksıya sadece patojen fungus izolatu, 3'er saksıya sadece biyoajan bakteri ve biyoajan fungus izolatu ve 3'er saksıya da patojen fungus ve biyoajan bakteri ve biyoajan fungus izolatu birlikte uygulanmıştır. Yapılan çalışmanın sonucunda *B. amyloliquefaciens* türüne ait 2 izolatın ve *T. harzianum*'un 1 izolatının *Alternaria solani*'ye karşı mücadelede in vivo şartlardada etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *T. harzianum* izolatının bitki gelişimi üzerinde olumlu etki yaptığı da belirlenmiştir. Sonuç olarak; en etkili bulunan 2 bakteri ve 1 fungus izolatının domates yetiştiriciliğinde *A. solani*'nin kontrolünde biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

**2017, 71 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Biyolojik mücadele, domates, PGPR, erken yanıklık, *Alternaria solani*

## ABSTRACT

Master Thesis

### THE INVESTIGATION OF BIOLOGICAL CONTROL POSSIBILITY OF TOMATO EARLY BLIGHT *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) L.R. JONES AND GROUT

Esra ÇAMLICA

Atatürk University  
Natural Sciences Institute  
Department of Plant Protection  
Department of Phytopathology

Supervisor: Assist. Prof. Dr.Elif TOZLU

Early blight *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) L.R. Jones and Grout. causing important yield losses in tomato field is a difficult to be controlled by rotation as it can survive for a long time in the soil and it has wide host environment. Concerns about the adverse effects of environment, human and animal health, the endurance and the problem of residuals on chemical used in the controlling against plant diseases have prompted scientists to seek new, more economical and effective ways of alternative methods to chemical control. One approach that comes to mind in this context is the use of microbial bioassays to control diseases and pests. For this reason, it is very vital to decide the biological controlling agents against the pathogen and to offer effective uses. This study tries to determine of fungus and bacterial isolates that can be as biological control agents against. This study used the data in the previous studies; a total of 13 bioassay bacteria identified according to the Microbial Identification System (MIS), isolated from underground or overland parts of wild and cultivated plants, and also tested for effectiveness in previously conducted studies on different plant pathogens and detected in the molecular system a total of 2 isolates of *Trichoderma harzianum* were used. The effectiveness of these bacteria and fungi against pathogens has been tested in vitro conditions and the effectiveness of 6 most effective bacteria and 1 fungus is determined in vivo conditions. For this purpose, 3 potted plants were constructed with 3 repetitions, 3 pots were isolated only as pathogenic fungus isolate, 3 pots were only bioassay bacteria and bioassay fungus isolates and 3 pots were pathogenic fungus and bioassay bacteria and bioassay fungus isolate. As a result of the study, 2 isolates belonging to the *Bacillus amyloliquefaciens* strain and 1 isolate of *T. harzianum* has been found effective against *A. solani* in vivo. It has also been determined that *T. harzianum* isolate has a positive effect on plant growth. As a result; it is identified that the application of 2 bacteria, 1 fungus isolate, which is most effective, can be used as a biocontrol agent in the control of *A. solani* in tomato production.

**2017, 71 pages**

**Keywords:** Biological control, tomato, PGPR, early blight, *Alternaria solani*

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarımın her aőamasını özenle takip eden, fikirleri ve düşünceleri ile daima bana yol gösteren danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Elif TOZLU'ya, bakteri kültür koleksiyonunu kullanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Recep KOTAN'a, bakterilerin kitinaz testlerini yapmamda yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ'ye, çalıőmalarımda yardımcı olan Sayın Arő. Gör. Nasibe TEKİNER'e, yine çalıőmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Zir. Müh. Gökhan ERARSLAN'a, PRJ2016/241 nolu proje kapsamında çalıőmaya maddi olarak destek sağlayan Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)'ne ve tez süresince maddi-manevi destekleriyle her zaman yanımda olan aileme, göstermiő oldukları sabır ve anlayıőlarından dolayı teşekkür ederim.

**Esra ÇAMLICA**

**Ekim, 2017**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>4</b>
<b>3. MATERYAL ve METOD.....</b>	<b>16</b>
3.1. Materyal.....	16
3.1.1. Yararlanılan cihazlar .....	16
3.1.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanışı.....	17
3.1.3. Çalışmada kullanılan patojen fungus .....	18
3.1.4. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan bakteriler.....	18
3.1.5. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan funguslar.....	20
3.1.6. Çalışmada kullanılan bitki çeşidi .....	20
3.2. Metod.....	20
3.2.1. Patojen fungus izolasyonu.....	20
3.2.2. Patojen fungus izolatlarının patojenite testi .....	21
3.2.3. Patojen fungusun tanılanması.....	21
3.2.3.a. Patojen fungusun makroskopik ve mikroskopik tanısı.....	21
3.2.3.b. Patojen fungusun moleküler tanısı .....	22
3.2.4. Potansiyel biyoajan bakterilerin tanısı .....	23
3.2.4.a. Potansiyel biyoajan bakterilerin morfolojik özellikleri .....	23
3.2.4.b. Potansiyel biyoajan bakterilerin biyokimyasal testlerle bazı özelliklerinin belirlenmesi .....	23
3.2.4.c. İn vitro'da etkili bulunan bakterilerin moleküler tanısı .....	24
3.2.5. Biyolojik mücadele çalışmaları .....	25
3.2.5.a. İn vitro testler.....	25

3.2.5.b. İn vivo testler .....	27
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>30</b>
4.1. <i>Alternaria solani</i> 'nin Oluşturduğu Hastalık Belirtileri .....	30
4.2. Patojen Fungus İzolatlarının Patojenite Testi .....	31
4.3. Patojen Fungusun Tanılanması .....	32
4.3.1. <i>A. solani</i> 'nin ET 66 izolatının morfolojik tanısı .....	32
4.3.1.a. <i>A. solani</i> 'nin ET 66 izolatının makroskobik özellikleri .....	32
4.3.2. <i>A. solani</i> 'nin ET 66 izolatının mikroskobik özellikleri .....	33
4.3.3. <i>A. solani</i> 'nin moleküler tanısı .....	34
4.4. Potansiyel Biyoajan Bakteri ve Fungus İzolatlarının Tanısı .....	35
4.4.1. Potansiyel biyoajan bakteri izolatlarının tanısı .....	35
4.4.1.a. Potansiyel biyoajan bakterilerin biyokimyasal testlerle bazı özelliklerinin belirlenmesi .....	37
4.4.1.b. İn vivo'da en etkili bulunan bakterilerin moleküler tanı sonuçları .....	37
4.4.2. Potansiyel biyoajan fungus izolatlarının tanısı .....	39
4.4.2.a. Potansiyel biyoajan fungus izolatlarının morfolojik tanısı .....	39
4.5. Biyolojik Mücadele Çalışmaları .....	40
4.5.1. İn vivo testler .....	40
4.5.2. İn vitro testler .....	43
4.5.2.a. Saksı denemeleri .....	43
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>54</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>61</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>72</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
da	Dekar
dH <sub>2</sub> O	Distile su
dk	Dakika
g	Gram
HR	Hipersensitif Reaksion
kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan bakteri sayısı
L	Litre
LB	Luria Broth
mg	Miligram
MIS	Microbial İdentification System
ml	Mililitre
N	Azot
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
P	Fosfat
PDA	Patato Dekstrose Agar
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacter
sa	Saat
sdH <sub>2</sub> O	Steril ve distil su
sH <sub>2</sub> O	Steril su
sn	Saniye
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Patojen fungus miselinin radyal gelişiminin ölçülmesi .....	26
Şekil 4.1. Patojen fungusun gövdede oluşturduğu lezyon .....	30
Şekil 4.2. Patojen fungusun izole edildiği erken yanıklık simptomsu görülen hastalıklı domates gövde örneği.....	31
Şekil 4.3. Patojenite testinin hastalıktan etkilenmiş bitkileri.....	32
Şekil 4.4. <i>A. solani</i> 'nin PDA'da gelişimi.....	33
Şekil 4.5. <i>A. solani</i> ET 66 izolatının (sağ: petrideki gelişimin mikroskop görüntüsü (40X), sol: petrideki gelişimin mikroskop görüntüsü (10X) mikroskopik görüntüsü.....	34
Şekil 4.6. İn vitroda etkili bulunan bakteri izolatlarının NA besi ortamındaki gelişimleri.....	36
Şekil 4.7. Farklı besiyerlerinde <i>T. harzianum</i> ET4 ve ET 14 izolatlarının gelişimi (sağ: petri görüntüsü, sol: petrideki gelişimin mikroskop görüntüsü (40X) .....	39
Şekil 4.8. İn vitro petri denemelerinde <i>A. solani</i> ET 66 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri izolatlarının etkinlikleri.....	42
Şekil 4.9. İn vitro petri denemelerinde <i>A. solani</i> ET 66patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan fungus izolatlarının etkinlikleri.....	43
Şekil 4.10. Uygulamaların bitki büyütme kabini görüntüsü .....	45
Şekil 4.11. ET 4 uygulamasının günlere göre görünümü .....	47
Şekil 4.12. FD-49 uygulamasının günlere göre görünüm.....	48
Şekil 4.13. TV-17C uygulamasının günlere göre görünümü .....	49
Şekil 4.14. TV-6F uygulamasının günlere göre görünümü .....	50
Şekil 4.15. TV-12H uygulamasının günlere göre görünümü.....	51
Şekil 4.16. TV-87A uygulamasının günlere göre görünümü.....	52
Şekil 4.17. TV-67C uygulamasının günlere göre görünümü.....	53

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada elde edilen patojen fungus izolatları .....	18
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan bakteri izolatları .....	19
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan fungus izolatları .....	20
Çizelge 3.4. İn vivo çalışması deneme planı.....	27
Çizelge 4.1. <i>A. solani</i> ET 66 izolatının koloni görünüşü .....	33
Çizelge 4.2. <i>A. solani</i> ET 66 izolatının moleküler tanısı, benzerlik indeksi ve erişim numarası .....	34
Çizelge 4.3. <i>A. solani</i> 'nin ET 66 izolatının kısmi 18S ribosomal RNA, ITS1, 5.8S ribosomal RNA, ITS 2, kısmi 28S ribosomal RNA sekansı .....	35
Çizelge 4.4. <i>A. solani</i> 'nin ET 66 izolatının sekans yapısı .....	35
Çizelge 4.5. Çalışmada kullanılan bakterilerin koloni şekilleri, renkleri ve kamçı durumları .....	35
Çizelge 4.6. Çalışmada kullanılan biyoajan bakterilerin biyokimyasal testleri.....	37
Çizelge 4.7. İn vivo'da en etkili bulunan bakterilerin moleküler tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri .....	38
Çizelge 4.8. TV-12H'nin ITS1+5.8S rDNA+ITS2 sekansı.....	38
Çizelge 4.9. TV-17C'nin ITS1+5.8S rDNA+ITS2 sekansı .....	38
Çizelge 4.10. İn vitro petri denemelerinde <i>A. solani</i> ET 66 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri izolatlarının etkililiği .....	40
Çizelge 4.11. İn vitro petri denemelerinde <i>A. solani</i> ET 66 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan fungal izolatların hiperparazitik etkileri .....	42
Çizelge 4.12. Uygulamaların domates bitkisinde domates erken yanıklık hastalık şiddeti üzerine etkisi .....	44

## 1. GİRİŞ

Domates sistematik olarak *Tubiflore (Personatae)* takımına bağlı *Solanaceae* familyasının *Lycopersicon* cinsine (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ait ılıman iklimlerde yıllık, tropikal iklimlerde ise çok yıllık kültür bitkisidir. Peru ve Ekvatorun yer aldığı Güney Amerika ülkelerinde ilk kez keşfedilmiş, Meksikalılar tarafından da kültüre alınmıştır. Yeni Dünyanın keşfinden sonra ise Amerika'dan Avrupa'ya ve Dünyanın diğer bölgelerine yayılmıştır. Ülkemizde ise 1900'lü yılların başlarında Adana'da yetiştirilmeye başlanmıştır (Anonim 2016).

Domates Dünya'da ve Türkiye'de en çok üretilip tüketilen tarım ürünü olması nedeniyle insan beslenmesinde vazgeçilmez ürünlerin başında gelir. Türkiye bugün domates üretim miktarı ve kalitesi ile pek çok ülkeyi geride bırakarak ilk dört arasına girmeyi başarmıştır. Domates Karadeniz Bölgemizin yoğun yağış alan yerleri dışında ülkemizin hemen her tarafında yetiştirilebilen bir sebzedir. Ülkemizde ekonomik olarak önemli bir yer tutan domates özellikle Marmara, Ege, Akdeniz Bölgelerimizde ve son yıllarda Tokat yöresinde geniş alanlarda yetiştirilmektedir (Eşiyok 2012).

2017 verilerine göre Dünya'da yıllık domates üretimi yaklaşık 170 milyon ton' dur. Dünya domates üretiminde Çin, Hindistan ve ABD'den sonra 4. sırada yer alan Türkiye Dünya'da taze domates üretiminin yaklaşık %7'sini karşılamaktadır (FAO 2014; TÜİK 2014). Bu üretim miktarı ile yıllık toplam sebze üretiminin yaklaşık %30'unu domates oluşturmaktadır. Ülkemizde üretilen toplam domates miktarının yaklaşık %85'i açık tarla koşullarında %15'i ise serada yapılmaktadır. Bu üretim miktarı ile ülkemiz sebze üretimi içinde domates ilk sırada yer almaktadır (Eşiyok 2012).

Türkiye'de ise 12.615.000 ton domates üretilmekte ve bunun 8.170.000 tonu sofralık, 4.445.000 tonu ise salçalık üretimi içermektedir (TÜİK 2016). Örtüaltı sebze yetiştiriciliği, birim alandan yüksek verim ve gelir elde edilmesi ve aynı zamanda bitkisel üretimi yılın her mevsimine yayarak yıl içerisinde düzenli bir iş gücü kullanımı

sağlaması nedeniyle tarım sektörümüz içerisinde önemli bir yere sahiptir. Örtüaltı sebze yetiştiriciliğinde ilk sırada domates bulunmaktadır. Toplam domates üretimimizin yaklaşık %27'si (3.399.100 ton), örtüaltında gerçekleştirilmektedir. Domates üretim miktarının toplam örtüaltı sebzeçiliği içindeki payı %53,5'tir. Örtüaltı domates üretiminin %77,6'sı Akdeniz Bölgesi'nde bulunan örtüaltı sistemlerinden elde edilmektedir. Antalya, bu üretimin %62,5'ini karşılamaktadır. Örtüaltı domates üretimi, toplam 259.709 da alanda yapılmaktadır. Üretim alanının %5,6'sı alçak plastik tünel (14.644 da), %6,1'i yüksek plastik tünel (15.765 da), % 68,5'i plastik sera (177.937 da) ve %19,8'i cam sera (51.363 da) alanlarından oluşmaktadır. Üretim büyük kısmı plastik sera (%71) ve cam seralardan (%21) elde edilmektedir (TÜİK, 2016; Kandemir vd 2016).

Ülkemizin iklim şartlarının domates yetiştirilmesi için elverişli oluşu ve domatesi işleyecek sanayinin hızla kurulmuş olması, domates üretim miktarını artırmış, domatesten elde edilen işlenmiş domates ürünlerini çeşitlendirmiştir. Dünyada ve ülkemizde sağlıklı beslenmeye eğilim, taze sebze tüketiminin talep artışı ve ekonomik hayatta hazır gıdaya yönelik, işlenmiş sebze ve domates talebini de artırmıştır. İşlenmiş ürünlerin muhafazasının uzun ve katma değerini fazla oluşu özellikle yaş meyve sebze gibi çabuk bozulabilen ve taze muhafazası mümkün olmayan ürünlerin pazarlanması açısından önemlidir (Varol 2008). Ülkemiz son yıllarda nitelikli ürün satın alan Japonya, Kanada, ABD ve AB ülkeleri pazarlarına mal satabilecek bir üretim miktarı ve kalitesine ulaşmıştır (Eşiyok 2012).

Diğer kültür bitkilerinde de olduğu gibi domateste de üretim miktarı ve kalite kaybına neden olan önemli fitopatolojik sorunlarla karşılaşmaktadır. Domateste bakteriyel ve viral hastalık etmenlerinin beraberinde pek çok fungal etmen de hastalık yapmaktadır (Yiğit 1993). Fungal hastalıklar ekonomik açıdan önemli olan domates tarımını sınırlandırıcı faktörlerin başında gelmektedir (Orhan ve Biçici 2012). Tarımda ana hedef, sadece birim alandan alınan ürün çokluğu değil, ayrıca sürdürülebilir tarım tekniklerine elverişli ürün yetiştirmektir. Bunu gerçekleştirebilmek ise; sağlıklı tohum ve fide kullanımı, toprağın iyi bir şekilde işlenmesi, sulama, gübreleme, budama gibi

birçok tarımsal faaliyetlerin uygun yapılmasıyla mümkündür. Ayrıca bu tekniklerin yanı sıra ürünlerde kalite ve kantite bakımından önemli kayıplarına neden olan hastalık, zararlı ve yabancı otlar ile bilinçli bir mücadele yöntemiyle mümkündür.

Domateste birçok hastalık bulunmaktadır ve bunların en önemlilerinden olan erken yanıklık hastalığı etmeni, *Alternaria* cinsi fungusların mücadelesinde de kimyasalların kullanımı basit ve başarılı gibi görülsede insan ve çevre üzerinde bıraktığı kalıcı etkilerinin neden olduğu zararlar mutlaka dikkate alınmalıdır. Hastalık etmenlerinin mücadelesinde kimyasalların kullanılması sonucunda; hastalık ve zararlıların kimyasallara karşı dayanıklılığın artması, potansiyel hastalık etmenlerinin ekonomik olarak zararlı hale gelmesi ve doğal düşmanların zarar görmesinden dolayı doğal dengenin bozulması gibi önemli sorunlarla karşı karşıya kalınmıştır. Bunların yanı sıra hayvan ve insan sağlığının tehdit edilmesi, gıda maddelerindeki kimyasal kalıntıları, çevre kirliliği ve ilaç fiyatlarındaki artış da eklenince, kimyasal mücadeleye alternatif çevre dostu ve daha ekonomik mücadele yöntemlerinin kullanımını zorunlu hale getirmiştir. Bu yöntemlerden çevre dostu, ucuz, sürdürülebilir ve en ümit verici olanı biyolojik mücadeledir. Birçok hastalığın biyolojik mücadelesine yönelik önemli çalışmalar yapılmış ve etkili sonuçlar alınmıştır. Zaman içerisinde pek çok ülkede bunların preparat haline getirilip kullanılmaya başlanması biyolojik mücadele çalışmalarının ürünlerini verdiğinin en güzel kanıtıdır. Ayrıca, üretici ve tüketicilerin bilinçlenmesi, organik ürünlere artan eğilimlerde göz önüne alındığında entegre mücadele içinde biyolojik mücadelenin yerinin giderek artacağı aşikardır (Uygun vd 2010).

Yapılan bu çalışmada da hem dünyada hem de ülkemizde domates fidelerinde önemli verim kayıplarına neden olan erken yanıklık hastalığı etmeni *A. solani*' ye karşı biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılabilecek çevre dostu, insan ve diğer canlıların sağlığını tehdit etmeyen ümitvar biyolojik mücadele ajanı fungus ve bakteri izolatlarının kullanılabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi domateste de önemli fitopatolojik sorunlarla karşılaşmaktadır. Domateste bakteriyel ve viral hastalık etmenlerinin yanı sıra pek çok fungal etmen hastalık yapmaktadır (Yiğit 1993).

Domateste görülen fungal hastalıklar; kurşuni küf [*Botrytis cinerea* Fr. (teleomorph: *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel], mildiyö [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary], yaprak küfü [*Cladosporium fulvum* (syn. *Passolara fulva*)], erken yanıklık [*Alternaria solani* (Ell. & Mart.) L.R. Jones and Groul], külleme [*Leveillula taurica* (lev.) Arnaud], beyaz çürüklük [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)], *Septoria* leke hastalığı [*Septoria apiicola* Speg. (Gabrielson & Grogan. 1964), *S. lycopersici* var. *malagutii*], kök boğazı yanıklığı [*Phytophthora capsici* Leonian] ve fidelerde kök çürüklüğü-çökerten (*Phythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Sclerotinia* türleri)'dir. Bakteriyel hastalıklar; bakteriyel kanser ve solgunluk [(*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (syn. *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* (S.) Jen)], bakteriyel benek [*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Y.D. & W.] bakteriyel leke [*Xanthomonas axonopodis* pv. *Vesicatoria* (L. R. Jones)], bakteriyel solgunluk [*Ralstonia solanacearum* (Smith 1986, Yabuuchi 1995)], stolbur (*Phytoplasma* türleri) ve öz (gövde) nekrozu hastalığı [*Pseudomonas corrugata* (Roberts & Scarlett), *P. fluorescens*, *P. Viridiflava* (Burkholder 1930), *P. Cichorii* (Swingle) Stapp], *P. Mediterranea* (Catara et al. 2002; Sutra et al. 1997), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Berg. et al. *E. carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall) Dyeve *E. chrysanthemi* Burkholder et al.]'dir. Viral hastalıklar ise; lekeli solgunluk (*Tomato spotted wilt tospovirus*) ve domates mozayik virüs hastalığı (*Tomato mosaic tobamovirus*)'dır (Anonim 2016).

Birçok kültür bitkisinde hastalık oluşturan ve domateste verim kaybına neden olan en önemli fungal etmenler arasında yer alan *Alternaria* cinsi, domateslerde başlıca 3 farklı hastalığa neden olmaktadır. Bu hastalıklar *A. solani*'nin neden olduğu erken yanıklık hastalığı, *A. alternata* f. sp. *lycopersici* Keissl. & mdashi'nin neden olduğu sap kanseri

(Koike *et al.* 2010) ve son yıllarda rapor edilen *A. alternata*'nın neden olduğu *Alternaria* yaprak yanıklığıdır (Akhtar *et al.* 2004).

*Alternaria* cinsi Deuteromycotina alt bölümüne bağlı Hyphomycetes sınıfında yer alan Hyphomycetales takımına ait bitki patojenleridir (Döken vd 2005).

*Alternaria*'nın fakültatif saprofit bir türü olan *A. solani* konidileri 3 veya 5 enine, bazen de boyuna bölmelere sahiptir. Konidinin uç kısmında kısa bir gaga bulunmaktadır. Konidiler 3–5 adetten oluşan kısa zincirler oluşturmakta ve konidiler 18–50 x 7–18 µm boyundadır (Koike *et al.* 2010).

*A. solani*'nin neden olduğu erken yanıklık hastalığı, domates bitkisinde gelişmenin her devresinde ve hemen hemen bitkinin tüm organlarında hastalığa neden olmaktadır. Dünya'da ve Türkiye'de minimum %10 ürün kaybına neden olan etmen ölü bitki dokularını kullanmakta, başta domates ve patates gibi Solanaceae familyası bitkilerini, sebzeleri (özellikle fasulye), süs bitkilerini (karanfil) ve meyve türlerini (elma, portakal) enfekte etmekte, fakat ekonomik olarak en fazla Solanaceae familyasına ait bitkilerde kayba neden olmaktadır (Agrios 1988). *A. solani*'nin neden olduğu erken yanıklık hastalığı tüm dünyada domates yetiştirilen alanlarda görülen ve önemli kayıplara neden olan bir hastalıktır. Patojen domatesin yaprak, gövde, meyve, kök ve kök boğazında belirtiler oluşturmaktadır. Hastalık belirtileri ilk olarak yaşlı yapraklar üzerinde küçük, dairesel, kahverengimsi siyah lezyonlar şeklinde görülmektedir. Hastalık ilerledikçe lekeler genişleyip daha geniş çaplara ulaşmaktadır. Hastalığın ileri dönemlerinde yaprak lekeleri üzerinde konsantrik halkalar görülmektedir. Şiddetli enfeksiyonlarda yaprakların dökülmesiyle meyveler açıkta kalarak güneş yanıklığına neden olmaktadır. Hastalık gelişiminde en önemli evre olan yaprak yanıklığı evresinde önlem alınmadığı takdirde ciddi ürün kayıplarına neden olmaktadır (Foolad *et al.* 2000; Koike *et al.* 2010). Sap ve gövde enfeksiyonlarında ise başlangıçta küçük, kahverengi, dokuya batık lezyonlar oluşmaktadır. Lezyonlar zamanla genişleyip uzayarak oval, konsantrik halkalar içeren bir şekle dönüşmektedir. Sap ve gövde lezyonları tüm sapı ve gövdeyi sararak bitki ölümüne neden olmaktadır. Meyvedeki enfeksiyon hem yeşil hem de

olgunluk döneminde görülmektedir. Lekeler dokuya batık, koyu kahverengimsi siyah, dairesel ve tipik konsantrik halkalar şeklindedir. Patojen domateste tohum kaynaklıdır ve fidelerde de hastalık oluşturmaktadır (Koike *et al.* 2010).

Domateste varlığı tespit edilen bir diğer hastalık *A. alternata*'nın neden olduğu *Alternaria* yaprak yanıklığıdır. Etmenin konidileri açık veya sarımsı kahverengi konidiler, 20-63 x 9-18 boyutunda, 3 veya 5 enine, ara sıra boyuna bölmelere sahip olduğu belirlenmiştir (Koike *et al.* 2010). Konidileri uzun zincirli olup kısa konik veya silindirik, açık renkli kuyruğa sahiptir. Kuyruğun konidi uzunluğu 1/3'ünden daha kısa olup, konidilerinin 3-7 enine ve birkaç boyuna bölmesinin olduğu belirtilmiştir (Akhtar *et al.* 2004).

Hastalık belirtileri alt yapraklarda sararma ve kahverengileşme şeklinde başlayıp yüksek nem varlığında üst yapraklara doğru yaprak uçlarından gelişerek ilerlemektedir. Şiddetli enfeksiyonlarda lezyonlar giderek genişlemekte ve yaprak yanıklığına neden olmaktadır. Çok nemli koşullarda yanık yaprak kısımlarında koyu renkli sporlarla kaplı konsantrik halkalar oluşmaktadır. İklim koşulları uygun olduğunda etmen yaprak dökülmesine, çiçeklenmeden önce ortaya çıkar ise de önemli verim kayıplarına yol açmaktadır. Meyvede ise batık siyah lezyonlar şeklinde belirtiler göstermektedir. Lekeler genişleyerek meyve içerisine işleyen dokuya batık dairesel veya oval şekilli lezyonlar oluşturmaktadır. Etmen çevre koşullarının uygun olmasıyla meyvelerde önemli kayıplara neden olmaktadır (Pearson and Hall 1975; Akhtar *et al.* 2004).

*A. alternata* f. sp. *lycopersici* ise sadece domateste sap kanseri oluşturan ve konidilerinin rengi açık zeytuni kahverengiden koyu kahverengiye kadar değişen bir fungusdur. Konidileri 3 veya 5 enine bölmelere sahiptir. Konidinin uç kısmında aynı zamanda kısa bir kuyruk bulunmaktadır. Konidiler 3-5 adetten oluşan kısa zincirler oluşturur ve 18-50 x 7-18 µm boyutlarındadır (Koike *et al.* 2010). Patojen bitkinin saplarında ve gövde üzerinde koyu kahverengi ve siyah, geniş ve düzensiz kanserlere neden olmaktadır. Kanserlerin kenarlarında karakteristik olarak açık ve koyu kahverengi, konsantrik zonlar oluşmaktadır. Kanserler zamanla ilerler ve tüm gövdeyi

çepeçevre sararak sapın veya tüm bitkinin ölümüne neden olurlar. Kanserlerin altındaki iletim demetleri ve öz dokuları kahverengi çizgiler şeklinde belirtiler göstermektedir. Enfekteli yapraklar üzerinde öncelikle damarlar arasında koyu kahverengi, siyahımsı düzensiz lekeler oluşturmaktadır. Hastalıklı bitkiler bodurlaşır. Meyvedeki belirtiler ise daima yeşil, olgunlaşmamış meyvelerde başlar ve çevresinde konsantrik halkaları olan kahverengi, dairesel veya oval batık lezyonlar şeklinde görülmektedir.

Bitki hastalıkları tarım ürünlerinin verim ve kalitesini azaltmakta, aynı zamanda tarıma dayalı üretime olumsuz etkide bulunmaktadır. Bütün bu olumsuzlukların en aza indirilmesi veya tamamen ortadan kaldırılması için hastalık etmenleri ile mücadele edilmesi gerekmektedir. *A. solani* erken yanıklık hastalığına karşı mücadelede de diğer etmenlerle mücadelede olduğu gibi kültürel önlemler önemli yer tutmaktadır. Bu etmenle mücadelede aşırı yağmurlama sulamadan kaçınılması, aşırı yağışlı dönemlerden hemen sonra sık ekimden kaçınılarak bitkilerin toprak yüzeyini tamamen örtmesinin önlenmesi ve hava sirkülasyonu sağlanması tavsiye edilmektedir. Yapılan bir çalışmada hastalık etmeni ile kültürel mücadelede farklı azot ve potasyumlu gübrelerin hastalık şiddeti üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmış, domates bitkisinde hastalık şiddetini azaltıcı en önemli uygulamanın  $KNO_3$  olduğu tespit edilmiştir (Öktüren vd 2005).

Domateste erken yanıklık hastalığına karşı dayanıklı domates çeşitlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar da yapılmaktadır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada; *A. solani* hastalığına duyarlılığı az bazı domates çeşitlerinin varlığını ortaya koymak için 31 domates çeşidi seradan ve tarladan elde edilmiş, virülansı yüksek *A. solani* izolatına karşı dayanıklılığını saptamak amacıyla test edilmiştir. Bu *A. solani* izolatı, domates çeşitlerinde %30–100 oranında hastalık oluşturmuştur. *A. solani*' ye karşı dayanıklı olduğu bildirilen Sunny ve XPH 5074 domates çeşitlerinin, sera izolatı tarafından sırasıyla %100 ve %55 oranlarında, aynı çeşitlerin tarla izolatı ile ise, sırasıyla %40 ve %70 oranlarında hastalandırıldığı görülmüştür. *Alternaria* sap kanserine tolerant olduğu bildirilen Luxor ve Maxim PS domates çeşitlerinin her ikisinin de sera izolatı tarafından %60, tarla izolatı tarafından da sırasıyla %70 ve %55 oranında hastalandırıldığı saptanmıştır. B-2274, C. Mejorado, Eurovite çeşitleri sera ve

tarla domates yetiştiriciliği, XPH 5205 sera, SC 2121, Marbi, Sunny çeşitleri de tarla domates yetiştiriciliğinde üreticiye önerilebilecek çeşitler olarak belirlenmiştir (Ünsal, 2010). 1992 yılı ilkbahar ve sonbahar yetiştirme dönemlerinde Antalya'da yürütülmüş bir başka çalışmada ise Argus F domates çeşidi ilkbahar yetiştirme döneminde ultraviyole+infrared absorberi (UVA+IRA) katkılı (260-330 nm dalga boyları arasındaki ışık geçirgenliği %3, görülebilir bölgede ışık geçirgenliği %52) ve katkısız polietilen film ile örtülü iki serada yetiştirilmiştir. Her iki serada da *Alternaria* yaprak lekesi hastalığı görülmüş ve yetiştirme dönemi sonunda UVA, UVA+IRA ve katkısız polietilen seralarda sırasıyla %3.7, 6.1 ve 7.5 olarak ölçülmüştür (Çığışar ve Momol 1995).

*Alternaria* hastalığının kimyasal mücadelesine yönelik çalışmalar da yapılmış Karahan ve Maden (1978), yapay inokülasyonla hastalığın çıkışını sağladıkları denemede, Polyoxin WP'yi Dithane M-22 ile birlikte denemişler, birer hafta arayla yapılan 4 ilaçlamada Polyoxin %74.89 oranında, Dithane M-22 ise %67.13 oranında etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. *Alternaria* etmeninin kontrolünde klasik yöntemlerden olan pestisit kullanımında karşılaşılan teknik sorunlar, insan ve çevreye olumsuz etkileri nedeniyle hastalık etmeninin kontrolü bu yöntemle istenilen düzeyde sağlanamamaktadır. Ayrıca yoğun tarım uygulamalarında aşırı kimyasal ilaç ve gübre kullanımı; tarımsal üretim sistemlerinin sürdürülebilirliğini riske atmakta, doğal kaynakların insan sağlığını tehdit eder boyutlarda kirlenmesine, patojen ve zararlı etmenlerde ilaçlara karşı dayanıklılık riskinin oluşmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle tarımsal üretimde verimliliğin artırılması, toprakların fiziksel ve kimyasal yapısının iyileştirilmesi, insan sağlığının korunması ve çevre kirliliğinin önlenmesine katkıda bulunacak biyolojik ürünlerin (biyopestisit ve mikrobiyal gübre) kullanımının gerekli olduğu artık bilinmektedir. Toprak ve su kaynaklarına daha az zarar veren, tarımsal kimyasallara daha az bağımlı olan çevre dostu stratejilerin kullanılmasına ve sürdürülebilir tarım uygulamalarının yaygınlaştırılmasına duyulan ihtiyaç küresel boyutlardadır. Bunun yanısıra sürdürülebilir tarım uygulamalarının anahtar elementlerinden birisi de, bitki korumada alternatif mücadele yöntemlerinin kullanımınıdır (Szekeres 2006).

Bu bağlamda, *A. alternata*'ya karşı mücadelede bitkisel ekstraktlar da uygulanmıştır. *Cicuta virosa* L. var. *latisca* Celak'dan ve dereotu tohumu *Anethum graveolens* L.'den elde edilen esansiyal yağların *A. alternata*'ya karşı antifungal etkisi in vitro ve in vivo olarak test edilmiş ve çalışmada bu ürünlerin bitkilerde çürümeyi kontrol etmede potansiyel olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (İmamoğlu 2011).

Bir başka çalışmada beş esans yağın (kekik, adaçayı, hindistan cevizi, eucaptus ve Cassia) önleyici etkileri, in vitro olarak farklı konsantrasyonlarda (100-500 ppm) denenmiş ve Cassia yağı ve kekik yağının *A. alternata*'ya karşı anti-fungal etkinlik gösterdiği, Cassia yağının 300-500 ppm'de *A. alternata*'nın büyümesini tamamen engellediği tespit edilmiştir (Feng and Zheng 2007).

Latha *et al.* (2009) domates erken yanıklık hastalığı etmeninin misel artışını azaltmak için 20 farklı bitki türü ekstratını test etmişler ve in vitro çalışmalarda Zimmu yaprak ekstratının (*Allium cepa* L. x *Allium sativum* L.) *A. solani* misel büyümesini engellemede (%87) en yüksek inhibisyonu gösterdiğini belirtmişlerdir.

Alternatif olabilecek diğer bir mücadele yöntemi ise doğal ve genetiği değiştirilmiş organizmalar ve ürettikleri metabolitlerle patojen ve zararlıların yok edilmesi veya popülasyonlarının baskı altına alınmasıdır. Bu mücadele yöntemi Biyolojik Mücadele olarak tanımlanmakta ve antibiyosis, hiperparazitizm, rekabet, hipovirulens, uyarılmış dayanıklılık ve çapraz koruma gibi farklı mekanizmaları içermektedir (Kotan 2002a).

Bu mekanizmalar tanımlanacak olunursa:

Antibiyosis, bir organizmanın diğerini, ürettiği antibiyotik olarak isimlendirilen metabolitlerle engellemesi veya yıkıma uğratmasıdır (Özaktan vd 2010).

Hiperparazitizm ise primer bir parazit üzerinde sekonder bir parazitin etkisi olup, antagonistin konukçusunu tanıdıktan sonra hifini direk olarak konukçusuna yöneltmesidir. Antagonist konukçusuna ulaştığında hifleri konukçu hifin etrafında

kıvrılır, kanca oluşturarak konukçusuna tutunur. Antagonistin hifleri, patojenin hiflerine sarılarak gelişir. Ayrıca bu dönemde antagonist ürettiği enzimlerle de patojeni eritir. Funguslardan *Trichoderma* ve *Gliocladium* türleri ile bakterilerden *Bacillus* ve bazı floresan *Pseudomonas* türleri antibiyotik ve benzeri metabolitler salgılayarak patojenin gelişimini engelleyebilmektedir (Bora 2002).

İki veya daha fazla mikroorganizmanın aynı maddeye gereksinim duyup sadece birinin kullanıp diğerlerinin yararlanmasını engellemesi rekabet olarak tanımlanmaktadır. Rekabet; besin, oksijen ve yer için olabilmektedir (Harman 2000). Rekabetçi olarak ön plana çıkan antagonistler floresan *Pseudomonas*'lar ve *Trichoderma* türleridir. Özellikle floresan *Pseudomonas*'lar iyi rekabetçi özellikleri ile bitki hastalıklarıyla biyolojik savaşta çok fazla kullanım alanı bulmuşlardır (Bora 2002).

Uyarılmış dayanıklılık, bitkilerdeki bağışıklık sistemini çeşitli biyotik ve abiyotik uyarıcılarla (elisatörler) uyararak harekete geçirme prensibine dayanır. Bu uyarıcılar virüslüğü azaltılmış veya yok edilmiş bir patojen veya zararsız bir mikroorganizma olabildiği gibi çeşitli kimyasallar (etilen, UV ışınları, bazı sentetik bileşikler, bazı herbisitler ve fungusitler, salisilik asit, jasmonoik asit ve indol asetik asit) da olabilir. Bunlar gerçek bir patojen gibi davranarak konukçu bitkinin savunma sistemini duyarlı hale getirir ve böylece konukçu bitkinin sonradan gelecek patojen saldırılarına karşı hazır duruma gelmesine neden olurlar. Sonuçta bitki sadece bir hastalık etmenine değil pek çok etmene karşı bağışıklık sistemini harekete geçirmiş olur (Özaktan vd 2010).

Çapraz korumada ise uyarılmış dayanıklılıkta olduğu gibi bitkinin içinde oluşan bir biyolojik mücadele mekanizmasıdır. Çapraz koruma; birinci organizma (antagonist) tarafından konukçu dokusu içinde ikinci oraganizmanın (virüsent patojen) antibiyosis, yer ve besin için rekabet, hifsel interferens ya da parazitizm gibi mekanizmalardan birisi ya da bunların kombinasyonu ile önlenmesini içermektedir (Özaktan vd 2010).

Bitki hastalıkları ile mücadelede hastalık etmenlerine karşı fungus ve bakteriler kullanılarak biyolojik mücadele çalışmaları yapılmış ve etkili sonuçlar alınmıştır.

Kullanılan etmenler içerisinde ise fungusların tür bakımından fazla olmaları, konukçularının iyi bilinmesi, birçok fungus türünün suni besi ortamlarında kolaylıkla geliştirilebilmesi ve ticari üretim için uygun olmaları gibi avantajları biyolojik mücadele açısından bu etmen grubunun önemini artırmıştır (Eken ve Demirci 1997).

Bitki hastalıklarıyla mücadelede biyoajan fungusların önemi de oldukça büyüktür. Yapılan bir çalışmada; Flood and Ress (1986), *Aurebasidium pullulans* (de Bary) G. Arnaud 'nın *A. solani*'ye indirekt yoldan antagonistik etki gösterdiğini belirtmiştir. Yine, domates yapraklarına *A. pullulans*'ın kültür filtratının *A. solani*'den önce verilmesiyle konukçu tarafından *A. pullulans*'a karşı oluşturulan toksik bileşiklerin *A. solani*'nin gelişimini dengelediği tespit edilmiştir (Yiğit 1993). Hiperparazitler üzerinde yapılan çalışmada *Ampelomces quisqualis* Ces'in *A. solani* üzerinde de parazitik olduğu tespit edilmiştir (Yiğit 1993).

Brame and Flood (1983) tarafından yürütülmüş bir çalışmada, iki adet *A. pullulans* izolatının, *A. solani*'ye karşı antagonistik etkileri incelenmiş, bir izolatın diğer izolata göre in vitro testlerde daha antagonist olduğu, fakat domates yaprak yüzeyinde her iki izolatın da patojene karşı benzer etkiler gösterdiği, iki günlük *A. pullulans* inkubasyonunun, *A. solani* enfeksiyonunu ve gelişimini düşürdüğünü belirtilmiştir.

Özellikle toprak kaynaklı bitki patojenlerinin biyolojik kontrolünde *Trichoderma* spp. birçok fungal bitki patojenine karşı en umut verici biyolojik kontrol etmenleri arasında yer almaktadır. *Trichoderma harzianum* Rifai kitinaz,  $\beta$ -1-3 glükanaazlar ve  $\beta$ -1-4 glükanaazların üretimi, antibiyotikler, rekabet, inorganik bitki besinlerinin çözünürlüğü, patojen enzimlerinin inaktif hale getirilmesi ve dayanıklılığın teşvik edilmesi (Elad and Kapat 1999; Harman 2006) ve buna ilaveten toprak kaynaklı fungal patojenleri baskılayan uçucu olan metabolitlerin ve uçucu olmayan antibiyotiklerin üretimi, yer ve besin bakımından rekabet gibi etkileri ile antagonizm mekanizmaları da dahil olmak üzere birden fazla etki mekanizmasına sahiptir (Altomare *et al.* 1999; Harman *et al.* 2004; Akrami 2015). Ayrıca *Trichoderma* türleri bitki kök yüzeylerine kolonize olarak bitki metabolizmasında da değişikliklere neden oldukları yapılan çalışmalarda ortaya

konulmuştur (Howel 2003; Kleifeld and Chet 1992). Bitki patojenlerinin gelişimlerini engelleyerek hastalığı azaltması, hormon benzeri metabolitler üretmesi, toprak veya organik maddeden besinleri çözebilmesiyle bitki gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar (Kleifeld and Chet 1992; Vinale *et al.* 2006).

*Trichoderma* türleri en çok çalışılan biyokontrol mikroorganizmalardır (Harman *et al.* 2004). *Trichoderma* cinsine ait *T. hamatum* (Bonord) Bainier (Parmar *et al.* 2015), *T. harzianum* (Inbar *et al.* 1996; Grondona *et al.* 1997; Elad 2000; Sallam *et al.* 2008; Figueirêdo *et al.* 2010; Asran-Amal *et al.* 2010; Sharma 2011; Agarwal *et al.* 2011; Sundaramoorthy and Balabaskar 2013; Ali and Nadarajah 2014; Altınok ve Erdoğan 2015; Parmar *et al.* 2015; Valenzuela *et al.* 2015; Akrami 2015; Basumataray *et al.* 2015; Bae *et al.* 2016; Barari 2016; Saravanakumar *et al.* 2016), *T. koningii* Oudem (Parmar *et al.* 2015), *T. pseudokoningii* Rifai (Parmar *et al.* 2015), *T. viride* Pers (John *et al.* 2010; Parmar *et al.* 2015) ve *T. virens* (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) (Parmar *et al.* 2015) gibi bazı türler oldukça başarılı sonuçlar vermiştir.

*T. harzianum*'un *Fusarium oxysporum* Schldl. (Grodona *et al.* 1997; Hjeljord *et al.* 2000; Cotxarrera *et al.* 2002; Verma 2007; Sallam *et al.* 2008; John *et al.* 2010; Akrami 2015; Altınok ve Erdoğan 2015; Saravanakumar *et al.* 2016), *A. alternata* (Verma 2007; Roco and Perez 2001), *S. sclerotiorum* (Ghisalberti and Sivasithamparam 1991; Inbar *et al.* 1996; Elad 2000; Verma 2007; Figueiredo *et al.* 2010), *F. solani* (Rajo *et al.* 2007; Haggag and Gamal 2012; Akrami *et al.* 2012; Akrami 2015) ve *Geotrichum candidum* Link (De-Matos 1983) gibi farklı patojenlerin kontrolünde etkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.

Yapılan bir çalışmada; *Tricoderma* T-115D'nin *A. solani*'ye karşı antagonistik mekanizması incelenmiş ve kullanılan *Tricoderma* izolatının *A. solani*'yi baskıladığı tespit edilmiştir (Li-hui *et al.* 2010).

Biyolojik mücadele kullanılan *T. viride*'nin farklı yaprak dokusu hastalıklarında antagonistik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. *Fusarium* ve *Alternaria* patojenlerine

karşı etkililiği tespit edilen *T. viride*'nin inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir (Puluputuri *et al.* 2014).

Ülkemizde domates erken yanıklık hastalığına karşı fungal biyoajanların test edildiği bir çalışmada T-22 Planter (*T. harzianum* AGZ 400, 8g/ 1kg tohum) ve Trichodex (*T. harzianum* 1x10<sup>8</sup>, 10g/m<sup>2</sup> fidesiz toprağa) isimli ruhsatlı biyolojik fungusitler test edilmiştir (Harman 2000).

*Verticillium psalliotae* Treschew' nin *A. solani*'ye karşı biyolojik mücadelede kullanımı ile ilgili çalışma yapılmıştır. Çalışmada antagonistik özelliği olan *V. psalliotae*'nin *A. solani* sporlarını parazitlediği tespit edilmiştir. Hastalığa karşı antagonist uygulamasının saksı denemelerinde %100, sera denemelerinde ise %43.4 koruyuculuk sağladığı belirlenmiştir (Yiğit 1993).

Turhan ve Hayat (1994) tarafından in vitro şartlarda yapılan bir diğer çalışmada; *Clonostachys* sp. ve *Sesquicillium* sp. izolatlarının *A. solani*'nin gelişimini antibiyosis yoluyla engellediği ortaya konulmuş ve her iki cinsinde etmenin biyolojik mücadelesinde başarılı sonuç vermesi dünyada ilk olarak kaydedilmiştir. Aynı araştırmacılar *V. tenerum* Nees'un da farklı funguslara ve bazı *Alternaria* türlerine karşı mikoparazitik özelliği olan bir antagonist olduğunu belirtmişlerdir.

Tarımda kimyasal pestisitlere alternatif olarak kullanılabilen faydalı mikroorganizmalar içerisinde bakteriler de çok önemli bir yer tutmaktadır. Yapılan araştırmalarda normal bir tarım toprağının santimetre küpünde ortalama 90 milyon bakteri, 4 milyon aktinomiset, 200 bin fungus, 30 bin alg, 5 bin protozoa ve 30 adet nematot olduğu belirtilmektedir (McMillan 2007). Bitkilerin kök rizosferi bölgelerinde bulunan bu bakterilere "Bitki Gelişimini Teşvik Eden (Plant Growth Promoting Bacteria=PGPB) Bakteriler" adı verilmektedir. Bu bakteriler daha çok *Acinetobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*,

*Serratia* ve *Xanthomonas* cinslerine aittir (Vessey 2003; akmakçı 2005; akmakçı vd 2014). PGPR bakterilerinin antibiyotik, enzim ve fungusit gibi bileşikler sentezleyerek veya rekabet gibi mekanizmalarla patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiği de bilinmektedir (Dobbelaere *et al.* 2002; Dey *et al.* 2004).

Son yıllarda, dünyada olduğu gibi Türkiye’de de biyolojik mücadelede bakteri kullanımı ile ilgili çalışmaların sayısı her geçen gün artmakta olup (Bora 2002); zararlıların (Yaman vd 1999; Yaman ve Demirbağ 2000; Yaman vd 2000; Yaman vd 2002; Aksoy ve Mennan 2004; Aksoy vd 2008), bakteriyel hastalıkların (Kotan 1997; Kotan 1998; Aysan vd 1999; Aysan ve ınar 2002; Kotan 2002a; Oldaç vd 2002; Özaktan ve Gezen 2002; Aysan vd 2003; Kotan *et al.* 2004; Kotan ve Sahin 2006; Özaktan ve Bora 2006; Özaktan vd 2009), fungal hastalıkların (Basım ve Katırcıoğlu 1990; Bora vd 1995; Kotan *et al.* 1999; Eşitken *et al.* 2002; Kotan vd 2002b; Soylu vd 2002; Bora vd 2004; Baysal *et al.* 2008; Kotan *et al.* 2009a; Yazıcı vd 2009; Yıldız vd 2009) ve virüs hastalıklarının (Aksoy ve Yılmaz 2008) kontrolüne yönelik pek çok biyolojik mücadele çalışması da yapılmıştır.

*A. solani* ile mücadelede de bakteriyel ajanların kullanımı ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada *P. fluorescens* (Pfl ve Py15) ve *Bacillus subtilis* [(Ehrenberg) Cohn 1872] (Bs16) test edilmiş ve *A. solani*’nin kontrolü için kullanılabilir oldukları belirlenmiştir (Latha *et al.* 2009). Erken yanıklık hastalığına karşı biyolojik mücadelede bitki gelişimini teşvik eden florasan *Pseudomonas* türlerinin farklı ürünlerde (domates, pamuk, hıyar, tatlı mısır, bezelye, soya fasulyesi vb.) kullanılabilirliği yapılan farklı çalışmalar da ortaya konulmuştur (Aşkın 2008).

Roberto Lanna Filho *et al.* (2010) tarafından yapılan çalışmada; domates bitkilerine ilk önce epifitik bakteriler, benzankolyum klorür ve PBS tamponu, dört gün sonra *A. Solani* ve *X. vesicatoria* aşlanmıştır. *Paenibacillus macerans* (Schardinger 1905) ve *Bacillus pumilis* Meyer and Gottheil (1901) epifitik bakterileri *X. vesicatoria* ve *A. solani* etmenlerine karşı in vitro ve in vivo şartlarda test edilmiş ve epifitik bakterilerin hastalık etmenlerini %70 inhibe ettiği belirtilmiştir.

Sharma (2006) tarafından yapılan bir başka çalışmada; topraktan izole edilen *B. subtilis* UK-9 ırkı, hardal bitkisinde *Alternaria* yaprak lekesi hastalığına karşı biyolojik kontrol aktivitesi bakımından incelenmiştir. Kültür ortamında bakteriler tarafından üretilen antifungal metabolitlerin, vejetatif hücre ve sporların morfolojik olarak değişimlerine, bozulmalarına ve hücre duvarlarının eriyip kaybolmalarına neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca antagonistin yapraklarda spor çimlenmesini ve bitki testlerinde patojenin hastalık oranını azalttığı, aynı zamanda bitki gelişimini teşvik ettiği de belirlenmiştir.

Yürütülen bir diğer çalışmada; farklı mekanizmaları kullanarak etkili olan 23 ve 44 nolu patojen olmayan *Pseudomonas* izolatlarının, tarla koşullarında ortaya çıkan domateste kök çürüklüğü (*Sclerotonia minör* Jagger) ve yaprak yanıklığı (*A. solani*) hastalıklarına karşı koruma sağladığı tespit edilmiş, ayrıca 44 nolu izolatın domateste verim artışı sağladığı da belirtilmiştir (Aşkın ve Katırcıoğlu 2008).

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Yararlanılan cihazlar

Çalışma esnasında aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır.

- Sterilizatör (Nüve, TÜRKİYE, FN 500, SN 303–3051)
- Otoklav (Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)
- İnkübatör (Nüve, TÜRKİYE, ES 500, SN 03–0591)
- Mikroskop (Olympus, JAPAN, B x 50, ODO4368)
- Hematolojik çalkalayıcı (GERMANY, GEL–3025, SN 10365703 F)
- Steril kabin (LABCAIRE)
- Çalkalayıcı (Thermoshake, Gerhard, GERMANY, SN 4002319)
- Su banyosu (Nüve, TÜRKİYE, ST–402, SN 02–0138)
- Otomatik pipetler (Eppendorf, GERMANY)
- Magnetik karıştırıcı (Nüve, TÜRKİYE, MK–418, SN 05–1083)
- pH metre (Hana, PORTUGAL, HI 9321, SN 396202)
- Derin dondurucu (Nuair, U. S. A, -86 Ultralow Freezer, SN P07K–476316-PK)
- Hassas terazi (Scaltec, GERMANY, SPB42, SN SPB42–90908239)
- Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)
- Saf su cihazı (Ateks, 7x35, Eu)
- Mini karıştırıcı (IKA, U.S.A., M51, SN 03017581)
- İklimlendirme odası (Digital ayarlanabilir oda)
- Toprak sterilizatörü

### 3.1.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanışı

Araştırma süresince kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanışı aşağıdaki bilgilerde verilmiştir:

**PDA (PatatoDekstroz Agar):** Hassas terazide 39g PDA (Difco) tartılarak 1L dH<sub>2</sub>O içerisine aktarılmış ve hazırlanan besiyeri otoklavda 121°C’de 15 dk steril edilerek soğumaya bırakılmıştır. Besiyeri 45°C’ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (20 ml). Genel besiyeri olup fungusların geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

**NA (Nutrient Agar):** 23 g NA (Difco) 1 L dH<sub>2</sub>O içinde çözülecek pH 7,0’a ayarlanarak 121°C’de 15 dk steril edilecek ve 45°C’ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılacaktır (Lelliot and Stead 1987). Genel besiyeri olup bakterilerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

**NB (Nutrient Broth):** Hassas terazide 8 g NB besiyeri tartılarak (Difco) 1L dH<sub>2</sub>O içerisine eklenecek ve hazırlanan besiyeri otoklavda 121°C’de 15 dk steril edildikten sonra soğumaya bırakılacaktır (Lelliot and Stead 1987). Hazırlanan bu besiyeri genel besiyeri olup bakterilerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

**TSB (Tryptic Soy Broth):** Hassas terazide 30 g TSBbesiyeri tartılarak (Difco) 1L dH<sub>2</sub>O içerisine eklenecek hazırlanan besiyeri otoklavda 121°C’de 15 dk steril edildikten sonra soğumaya bırakılacaktır (Klement *et al.*1990). Hazırlanan bu besiyeri genel besiyeri olup bakterilerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

**Stok Besiyeri:** 0,65 g LB karışımına gliserol eklendikten sonra son hacim saf su ile 100 ml’ye tamamlanmıştır. Otoklavda steril edildikten sonra aseptik şartlarda 2 ml’lik eppendorf tüplerine 900 µl olarak dağıtılmıştır. Bakteri stok kültürü hazırlarken kullanılmıştır.

**%70'lik Etil Alkol:** 70 ml etil alkol, sdH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanarak solüsyon hazırlanmış ve hazırlanan çözeti -20°C'de muhafaza edilmiştir. Dezenfektasyon amacı ile kullanılmıştır.

### 3.1.3. Çalışmada kullanılan patojen fungus

Erzurum İli, Uzundere İlçesi'nde bulunan domates alanlarından toplanan erken yanıklık simptomsu sergileyen bitkilerden elde edilen *A. solani* izolatları çalışmanın materyalini oluşturmuştur (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Çalışmada elde edilen patojen fungus izolatları

İzolat	İzole edildiği bitki	Lokasyon
ET 65	Domates	Uzundere
ET 66	Domates	Uzundere
ET 67	Domates	Uzundere
ET 68	Domates	Uzundere
ET 69	Domates	Uzundere

### 3.1.4. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan bakteriler

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde Mikroorganizma Kültür Koleksiyonunda bulunan ve çoğunun daha önce yürütülmüş çalışmalarda fosfat çözme, azot fiksasyonu, hormon ve amino asit üretimi yönünden test edildiği ve birçok bakteriyel ve fungal bitki patojenine ve zararlıya karşı biyoajan olarak ve farklı bitki türlerinde de bitki büyüme ajanı olarak kullanılabilirlikleri test edilmiş olan bakteriler içerisinde belirlenen 13 bakteri izolatı (Kotan 1998; Kotan 2002a; Kotan vd 2002b; Karagöz 2009; Kotan *et al.* 2009b; Erman vd 2010) çalışmanın bakteri materyalini oluşturmuştur (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2.** Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan bakteri izolatları

İzolat	İzole edildiği materyal	MIS Tanısı	B	N	P	HR	Kaynak
TV-87A	Şeker pancarı	<i>Bacillus megaterium</i> de Bary 1884	0.467	+	-	-	Erman <i>et al.</i> 2010
TV-12H	Buğday	<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg) Cohn 1872	0.744	+	-	-	Mohammadi <i>et al.</i> 2017
TV-67C	Ahududu	<i>Bacillus pumilus</i> Meyer and Gottheil 1901	0.630	-	-	-	Erman <i>et al.</i> 2010
TV-17C	Ahududu	<i>Bacillus subtilis</i>	0.677	+	+	-	Çakmaccı <i>et al.</i> 2010
TV-6F	Buğday	<i>Bacillus subtilis</i>	0.831	+	-	-	Çakmaccı <i>et al.</i> 2010
FDG-37	Toprak	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Biotip F	0.222	+	+	-	Karagöz <i>et al.</i> 2016
Brts-B	Toprak	<i>Pantoea agglomerans</i> (Beijerinck)	0.788		+	-	Kotan <i>et al.</i> 2005
FD-49	<i>Culex</i> sp.	<i>Bacillus sphaericus</i> Neide 1904	0.680	+		-	Dadaşoğlu <i>et al.</i> 2013
RK-92	Armut	<i>Pantoea agglomerans</i> Beijerinck 1988	0.889	+	+	-	Kotan <i>et al.</i> 2005
TV-91C	Buğday	<i>Bacillus megaterium</i>	0.474	+	+	-	Çiğ <i>et al.</i> 2014
TV-12E	Buğday	<i>Paenibacillus polymyxa</i> Prazmowski 1880	0.551	+	+	-	Erman <i>et al.</i> 2010
BAB-410	<i>Ricania simulans</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> Berliner 1915	0.620			-	Göktürk <i>et al.</i> 2017
TV-125A	Salep	<i>Bacillus cereus</i> GS subgroup A	0.297			-	Çiğ <i>et al.</i> 2014

**B\*:** Benzerlik oranı, **N:** Azot fiksasyonu, **P:** Potasyum çözünürlüğü, **HR:** Aşırı duyarlılık,

### 3.1.5. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan funguslar

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde Mikroorganizma Kültür Koleksiyonunda bulunan, daha önce başka patojenler üzerinde etkililiği test edilmiş ve moleküler analizi yapılmış olan (Tozlu *et al.* 2017a) potansiyel biyoajan fungus izolatları kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

**Çizelge 3.3.** Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan fungus izolatları

İzolat	İzole edildiği materyal	ITS tanı sonucu	B*	Erişim numarası*	Kaynak
ET 4	At kestanesi	<i>Trichoderma harzianum</i>	87	KT897696	Tozlu <i>et al.</i> 2017a
ET 14	Sarı çam	<i>Trichoderma harzianum</i>	97	LN864822	Tozlu <i>et al.</i> 2017a

B\*: Benzerlik oranı, \*GenBank

### 3.1.6. Çalışmada kullanılan bitki çeşidi

Saksı denemelerinde test bitkisi olarak Güney Tohum firmasına ait Sylviana ticari isimli domates çeşidi kullanılmıştır.

## 3.2. Metod

### 3.2.1. Patojen fungus izolasyonu

Erzurum İli Uzundere İlçesi'nde bulunan seralara 2016 yılında gidilerek hastalıklı domates bitkileri toplanmıştır. Laboratuara getirilen ve buzdolabında 5°C'de tutulan örnekler buradan alınarak musluk suyunda yıkandıktan sonra laminar kabinde gövdenin enfekteli kısmından alınan 1 cm'lik parçalar 3 dakika musluk suyunda yıkanmış, sonra %1'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) içerisinde 1-2 dk yüzeysel olarak dezenfekte edilip, steril su ile durulanmış, ardından 5 dk kurutulduktan sonra PDA içeren petrilere yerleştirilerek, 20-25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Doku parçasından 4-5 gün içerisinde gelişen kolonilerin uç kısmından alınan 4 mm çapındaki misel diskler PDA

içeren petrilere aktarılarak saf kültürler elde edilmiştir. Bu izolatlar daha sonra PDA içeren test tüplerine aktarılarak, çalışmanın bundan sonraki aşamalarında kullanılmak üzere +4°C’de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.2. Patojen fungus izolatlarının patojenite testi**

Bu amaçla Sylviana çeşidi domates bitkisi kullanılmıştır. Organik maddece zengin torf ve perlitin eşit hacimde karışımı bulunan plastik saksılara fideler dikilmiş ve bu fideler 24°C’de 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyotta bitki büyütme kabininde tutulmuştur. Sürvey sonucunda elde edilen ve PDA’da 7-10 gün geliştirilen 5 izolatın aktif olarak gelişen bölümlerinden alınan 4 mm çapındaki misel diskler, 3-5 yapraklı döneme gelen domates fidelerinin gövdelerine topraktan 5 cm yukarıda açılan yaralara mikropipet yardımıyla 30µl steril su verildikten sonra yerleştirilmiştir. Kontrol olarak kullanılan bitkilerde ise açılan yaralara aynı şekilde steril su verildikten sonra steril PDA diskleri inokule edilmiştir. Uygulama yapılan bitkiler 25°C sıcaklık ve yüksek nem elde etmek amacıyla 24 saat süreyle ıslak polietilen torba içerisinde bekletilmiştir. İnokulasyondan bir gün sonra fideler nem çemberinden alınarak günlük symptom gelişimi bakımından incelenmiştir. İnokulasyondan 14 gün sonra hastalık belirtisi görülen kısımlardan re-izolasyon yapılarak izolatlar tekrar elde edilmiş ve böylece Koch Postulatları tamamlanmıştır.

### **3.2.3. Patojen fungusun tanılanması**

#### **3.2.3.a. Patojen fungusun makroskobik ve mikroskobik tanısı**

Patojenite testi sonucunda en virülans olduğu tespit edilen ET 66 izolatı PDA’da geliştirilmiş, kolonilerinin kültürel ve morfolojik özellikleri dikkate alınarak Hasenekoğlu (1991)’na göre tanısı yapılmıştır. Tanısı yapılan fungus kültürü PDA içeren test tüplerine aktarılarak ilerideki çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C’de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.3.b. Patojen fungusun moleküler tanısı

ET 66 izolatının moleküler karakterizasyonu 18S-ITS1-5.8SITS2- 28S bölgesi hedeflenerek gerçekleştirildi. ET66, 50 ml patates dextrose broth (PDB) besiyerinde 25°C'de, 100 rpm de, 48 saat geliştirildi. İnkübasyon süresinin sonunda elde edilen yaklaşık 200 mg taze biyokütle, homojenizasyona tabi tutulduktan sonra ticari bir DNA izolasyon kiti ile firma tarafından sağlanan protokole göre DNA ekstraksiyonu yapıldı. İzole edilen DNA'lar bütünlüğü ve saflığı açısından %0,8'lik agaroz jelde 75 V'da 60 dk boyunca yürütülerek değerlendirildi.

Ardından mikrofungusların moleküler tanılmasında yaygın olarak kullanılan ITS1-5.8s-ITS2 ribozomal DNA bölgesini hedef alan ITS1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3') ve ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.* 1990) primerleri kullanılarak çoğaltım yapıldı. Bu amaçla, ITS bölgesinin amplifikasyonu için, her iki primerden 2 µl, 5 µl 10x Taq buffer ve 2.5 U (0.5 µl) Taq DNA polimeraz, 2 µl dNTP, 3 µl magnezyum klorür, 4.5 µl kalıp DNA ve 31 µl steril dH2O ile son hacim 50 µl olacak şekilde tamamlandı. PCR döngüsü; başlangıç denatürasyonu için 95°C'de 2 dk, denatürasyon için 94°C'de 1 dk, bağlanma safhası için 55°C'de 2 dk, uzama için 72°C de 3 dk 35 döngü olarak ve son uzama ise 72°C'de 10 dk olarak programlandı.

PCR ürünleri %1 lik agaroz jelde, 1X TAE tamponu içinde DNA markırı ile 80 V'da 50 dk boyunca yürütülerek değerlendirildikten sonra PureLink™ Quick PCR purification kit ile saflaştırılarak ticari bir firma (REFGEN) aracılığıyla her iki primer ile DNA dizi analizi yaptırıldı. Elde edilen sekans verileri BioEdit programı ile birleştirildikten sonra BLASTN 2.2.26+ programı kullanılarak, GenBank'ta ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) (Zhang *et al.* 2000) olan türlerle karşılaştırılarak ve sekans verilerinin girişi gerçekleştirildi.

### 3.2.4. Potansiyel biyoajan bakterilerin tanısı

#### 3.2.4.a. Potansiyel biyoajan bakterilerin morfolojik özellikleri

İn vitro şartlarda patojene karşı etkililiği test edilen 13 biyoajan izolatu NA'da geliştirilerek koloni yapısı ve koloni rengi belirlenmiştir (Kotan 1998; Kotan 2002a; Kotan vd 2002b; Karagöz 2009; Kotan *et al.* 2009b; Erman vd 2010).

#### 3.2.4.b. Potansiyel biyoajan bakterilerin biyokimyasal testlerle bazı özelliklerinin belirlenmesi

**Potasyum Hidroksit Testi (KOH):** Yeni hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan lam üzerine bir damla damlatılarak, bakterilerin 48 saatlik kültüründen platin özeyle alınarak solüsyona dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. 15-20 saniye sonra öze solüsyondan çıkarıldığında viskoz, yapışkanimsi bir sünmenin oluşup oluşmamasına bakılarak değerlendirme yapılmıştır. Sünmenin oluşmaması durumunda sonuç gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Sands 1990).

**Katalaz Testi:** Katalaz enzimin varlığını veya yokluğunu belirlemek için bakteri izolatları YDC ortamında geliştirilmiştir. 24-48 saatlik bakteri kültüründen bir öze alınıp ve üzerine 1 damla hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ilave edildikten sonra kabarcık oluşumu katalaz pozitif, oluşmaması ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.* 1990).

**Oksidaz Testi:** Oksidaz testi için %1 tetra-methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren diskler kullanılmıştır. Bu diskler 1 damla sdH<sub>2</sub>O ile doyurulduktan sonra üzerleri 24-48 saatlik bakteri ile kaplanmıştır. Gözlemlenen mavimsi-mor renk, değişiminin oluşması pozitif, oluşmaması ise negatif olarak kabul edilmiştir (Klement *et al.* 1990).

**Kolloidal Kitin Testi:** Kitinaz aktiviteleri kolloidal kitinli ortamda hidroliz zonunun milimetre cinsinden ölçülmesi ile belirlendi. Kolloidal kitin Örtücü (2012)'nün tarif ettiği şekilde hazırlandı. Lee *et al.* 1990'nın kullandığı sıvı kitinaz üretim ortamına %1,5 agar ilave edilerek hazırlanan katı besiyerlerine bir öze dolusu bakteri çizgi şeklinde inoküle edildi. Ardından petriyerler 30°C'de 2 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda ölçümler mm cinsinden yapılarak kaydedildi.

### 3.2.4.c. İn vitro'da en etkili bulunan bakterilerin moleküler tanısı

TV-12 H ve TV-17 C izolatlarının moleküler karakterizasyonu 16S bölgesi hedeflenerek gerçekleştirildi. İzolatlar 50 ml LB besiyerinde 25°C de, 100 rpm de, 24 saat geliştirildi. Ardından ticari bir DNA izolasyon kiti ile firma tarafından sağlanan protokole göre DNA ekstraksiyonu yapıldı. İzole edilen DNA'lar bütünlüğü ve saflığı açısından %0,8'lik agaroz jelde 75 V'da 60 dk boyunca yürütülerek değerlendirildi.

Ardından bakterilerin moleküler tanılmasında barkod olarak kullanılan bölgeyi hedef alan 27F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) ve 907R (CCGTCAATTCMTTTRAGTTT) (Chandler *et al.* 2011) primerleri kullanılarak çoğaltım yapıldı. Bu amaçla, OTU bölgesinin amplifikasyonu için, her iki primerden 1 µl, 5 µl 10x Taq buffer ve 0.5 µl Taq DNA polimeraz, 1 µl dNTP, 4 µl magnezyum klorür, 3 µl kalıp DNA ve 34.5 µl steril dH<sub>2</sub>O ile son hacim 50 µl olacak şekilde tamamlandı. PCR döngüsü; başlangıç denatürasyonu için 95°C'de 2 dk, denatürasyon için 94°C'de 1 dk, bağlanma safhası için 53°C'de 1 dk, uzama için 72°C de 1.5 dk 30 döngü olarak ve son uzama ise 72°C'de 10 dk olarak programlandı.

PCR ürünleri %1 lik agaroz jelde, 1X TAE tamponu içinde DNA markırı ile 80 V'da 50 dk boyunca yürütülerek değerlendirildikten sonra PureLink™ Quick PCR purification kit ile saflaştırılarak ticari bir firma (REFGEN) aracılığıyla her iki primer ile DNA dizi analizi yaptırıldı. Elde edilen sekans verileri BioEdit programı ile birleştirildikten sonra BLASTN 2.2.26+ programı kullanılarak, GenBank'ta ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) (Zhang *et al.* 2000) olan türlerle karşılaştırılarak ve sekans verilerinin girişi gerçekleştirildi.

### 3.2.5. Biyolojik mücadele çalışmaları

#### 3.2.5.a. İn vitro testler

Daha önce farklı çalışmalarda etkililiği test edilmiş biyoajan bakterilerin fitopatojen fungus üzerine etkisini belirlemek için fitopatojen fungusun ET 66 izolatının gelişmekte olan 4-5 günlük kültüründen 4 mm çapında disk alınarak PDA içeren petrilerin ortasına yerleştirilmiştir. Test edilmek istenen biyoajan bakteri izolatları ise NA içeren petrilere geliştirildikten sonra 24 saatlik kültüründen alınarak petrinin kenar kısmına eküvyon çubukla çizilmiş ve bir hafta süre ile 25°C'de karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır (Tozlu *et al.* 2017b).

Antibiyosis etkileşimde biyoajanların patojen fungus hifinin gelişimini engellendiği bölgenin (inhibisyon zonu) çapı mm olarak ölçülmüş, bakteriyel biyokontrol ajanının fitopatojen fungus kolonisinin gelişimini yüzde engellenme oranı Mari *et al.* (1996)'ın belirttiği radyal gelişmenin engelleme yüzdesi formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır. Çalışmada her bir bakteriyel izolat için 3'er petri kullanılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

$$\% \text{ Engelleme} = \frac{(C-T)}{(C-M)} \times 100$$

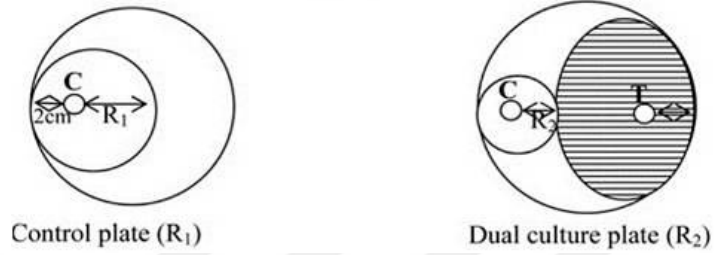
C: Kontrol uygulamasında patojenin koloni çapı

M: Misel diskin çapı (6 mm)

T: Bakteri uygulamasında patojenin koloni çapı

Biyoajan fungus izolatları ET 4 ve ET 14'ün patojen fungus üzerine etkisini belirlemek için ise, bu izolatların 4 mm çapındaki misel diskleri PDA içeren petrilere patojen fungus izolatı ET 66 ile aralarında 5 cm uzaklık olacak şekilde karşılıklı olarak yerleştirilerek inkübasyona bırakılmıştır.

Fungal biyokontrol ajanlarının hiperparazitik etkisini belirlemede ise kontrol petrideki patojenin yarıçapı ( $R_1$ ) ve biyoajan ve patojen ekilen petrideki patojenin yarıçapı ( $R_2$ ) ölçülerek Skidmore ve Dickinson (1976)'a göre radyal gelişimin yüzde engellenmesi hesaplanmıştır.



**Şekil 3.1.** Patojen fungus miselinin radyal gelişiminin ölçülmesi

$$\text{Yüzde engelleme oranı (\%)} (\text{YEO}) = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

$R_1$  = Kontrol petrideki patojen fungus miselinin yarıçapı

$R_2$  = İkili kültür petrideki patojen fungus miselinin yarıçapı (ET 4 veya ET 14 ve patojen fungus)

YEO  $\leq$  %50 : Az

%50 < YEO  $\leq$  60 : Orta

%60 < YEO  $\leq$  %75 : Yüksek

YEO > %75 : Çok yüksek

Böylece, muhtemel biyoajan bakteri ve fungusların patojen fungusu antibiyosis ve hiperparazitizm etkileşim ile kontrol edip etmediği belirlenmiştir (Skidmore and Dickinson 1976; Marie *et al.* 1996).

### 3.2.5.b. İn vivo testler

#### 1. Saksı toprağının hazırlanması

Saksı denemelerinde; organik madde yönünden zengin torf ve perlit eşit hacimlerde karıştırılarak elde edilen karışım bitki geliştirme ortamı olarak kullanılmıştır. Bu karışımdan 1 litrelik plastik saksılara eşit ölçülerde doldurulmuştur.

#### 2. Saksı denemeleri

İn vitro şartlarda etkili bulunan bakteri ve fungus izolatlarının patojene karşı etkinliğinin bitki üzerinde test edilmesi amacıyla iklim odasında 3'er tekerrürlü olarak patojenite testinde de kullanılmış olan Sylviana çeşidi domates bitkileri ile saksı denemesi kurulmuştur. 3'er saksıya sadece patojen fungus izolatu, 3'er saksıya sadece biyoajan bakteri veya biyoajan fungus izolatu ve 3'er saksıya da patojen fungus ve biyoajan bakteri veya biyoajan fungus izolatu birlikte ve 3 saksıya da steril su uygulanmıştır (Çizelge 3.4).

**Çizelge 3.4.** İn vivo çalışması deneme planı

Sayı	Uygulamalar
1	*Kontrol 1 (Sadece biyoajan)
2	Kontrol 2 (Sıvı taşıyıcı NB veya steril su)
3	Kontrol 3 (Sadece patojen)
4	ET 66+TV-87A
5	ET 66+TV-17C
6	ET 66+TV-12H
7	ET 66+TV-6F
8	ET 66+TV-67C
9	ET 66+FD-49
10	ET 66+ET 4

\*Kontrol 1: Sadece biyoajan, Kontrol 2: Sıvı taşıyıcı NB veya steril su, Kontrol 3: Sadece patojen

Potansiyel biyoajan funguslar PDA'da yaklaşık olarak bir hafta geliştirilmiş ve spor oluşturması sağlanmış, daha sonra spor oluşturan fungusun geliştiği PDA içeren

petrilere steril su dökülerek cam pipetle fungus sporları toplanmış, oluşan süspansiyon behere alınmış ve daha sonra mikropipetle homojen olarak karıştırıldıktan sonra hemositometre ile  $1 \times 10^6$  konidi/ml spor konsantrasyonuna ayarlanmıştır. İnokulasyon öncesi domates fidelerinin gövdesinde açılan yaralı kısma hazırlanan  $1 \times 10^6$  konidi/ml fungus süspansiyonu mikropipet yardımıyla 30µl olacak şekilde uygulanmış, PDA'da geliştirilen patojen fungusun uç kısmından alınan misel disk açılan yaraya yerleştirilmiş ve gövde parafilmle sarılmıştır. Fungus süspansiyonu uygulanırken süspansiyona bir damla Tween 20 ilave edilerek sporların homojen dağılması sağlanmıştır.

Biyojan bakteri uygulamasında da NA'ya çizgi ekim yapılan bakteriler  $28^\circ\text{C}$ 'de 48 saat inkubasyona bırakıldıktan sonra NB'ye aktarılmış ve yatay çalkalayıcıda inkubasyona bırakılmış ve daha sonra elde edilen bakteri süspansiyonun konsantrasyonu  $1 \times 10^8$  kob/ml'ye ayarlanmıştır. Bu amaçla spektrofotometrik olarak süspansiyonun absorbansı 600 nm'de 0.1'e ayarlanarak kullanılmıştır. Biyoajan fungus uygulamasında olduğu gibi domates fidelerinin gövdesinde açılan yaralı kısma biyoajan bakteriden hazırlanan  $1 \times 10^8$  kob/ml bakteri süspansiyonundan 30µl mikropipet yardımıyla verilmiş, PDA'da geliştirilen patojen fungusun uç kısmından alınan misel disk açılan yaraya yerleştirilmiş ve gövde parafilmle sarılmıştır.

Çalışmada negatif kontrol olarak bakteri uygulamalarında bakteri solusyonunun geliştirildiği steril NB besiyeri, fungus uygulamasında ise steril su; pozitif kontrol olarak ise sadece patojen fungus kullanılmıştır. Bitkiler 1 hafta süreyle gözlenmiştir.

### **3. Saksı denemelerinin sonuçlarının alınması**

Hastalık belirtileri oluşuncaya kadar bitkiler 1 hafta süreyle günlük olarak incelenmiştir. Hastalıklı bitkilerin değerlendirilmesi bitkinin belirti durumuna göre "Pamuk solgunluk yaprak değerlendirme skalası (Anonim 2017a)" modifiye edilerek elde edilen 0-5 skalasına göre yapılmıştır.

0-5 Skalası:

- 0 Hiç hastalık yok
- 1 Bitkilerin %1-25'inde hastalık belirtisi görülmekte
- 2 Bitkilerin %26-49'unda hastalık belirtisi görülmekte
- 3 Bitkilerin %50-75'inde hastalık belirtisi görülmekte
- 4 Bitkilerin %76-97'sinde hastalık belirtisi görülmekte
- 5 Bitkinin tamamında ölüm görülmekte

#### **4. Sonuçların analiz edilmesi**

Elde edilen in vitro testi sonuçları ile ilgili değerler JUMP istatistik programında varyans analizine (ANOVA) göre değerlendirilmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. *Alternaria solani*'nin Oluşturduğu Hastalık Belirtileri

Hastalık simptomsu, domates gövdesinden baŐlamakta, düzensiz Şekilli açık ve koyu kahverengi iç içe geçmiş halkalar Şeklinde lezyonlar oluşturmaktadır. Gövdede oluşan genellikle oval Şekilli lekeler yapraklarda olduğu gibi konsantrik halkalar Şeklinde de görölmektedir. Kuru havalarda bu lekelerin üzerinde çatlamlar meydana gelmektedir. Nemli ve yağışlı havalarda ise bu yanıklıklar üzerinde siyah bir küf tabakası oluşmaktadır (Şekil 4.1; 4.2).



Şekil 4.1. Patojen fungusun gövdede oluşturduğu lezyon (Anonim 2017b)



**Şekil 4.2.** Patojen fungusun izole edildiği erken yanıklık simptome görülen hastalıklı domates gövde örneği

#### **4.2. Patojen Fungus İzolatlarının Patojenite Testi**

Sürvey çalışması sonucunda elde edilen 5 izolat ile Güney Tohumculuk'tan teminedilen Sylvania domates çeşidi kullanılarak patojenite testi yapılmıştır. İnokulasyon yapılan bitkilerin yapraklarında üçüncü günden itibaren solgunluk görülmeye başlanmıştır. İzolatlar içerisinde ET 66'nın 7 gün sonra bitkileri tamamen öldürdüğü ve oldukça virüent olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3). Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında ET 66 izolatı kullanılmıştır.



Şekil 4.3. Patojenite testinin hastalıktan etkilenmiş bitkileri

#### 4.3. Patojen Fungusun Tanılanması

##### 4.3.1. *A. solani*'nin ET 66 izolatının morfolojik tanısı

*A. solani* kolonileri makroskobik ve mikroskobik özellikleri dikkate alınarak morfolojik olarak tanılanmıştır.

##### 4.3.1.a. *A. solani*'nin ET 66 izolatının makroskobik özellikleri

*A. solani* kolonileri 25°C'de PDA'da 10 günde 8 cm çapa ulaşmaktadır. Miselleri sütlü kahverengi ve pamuksu şekildedir (Şekil 4.4, Çizelge 4.1).



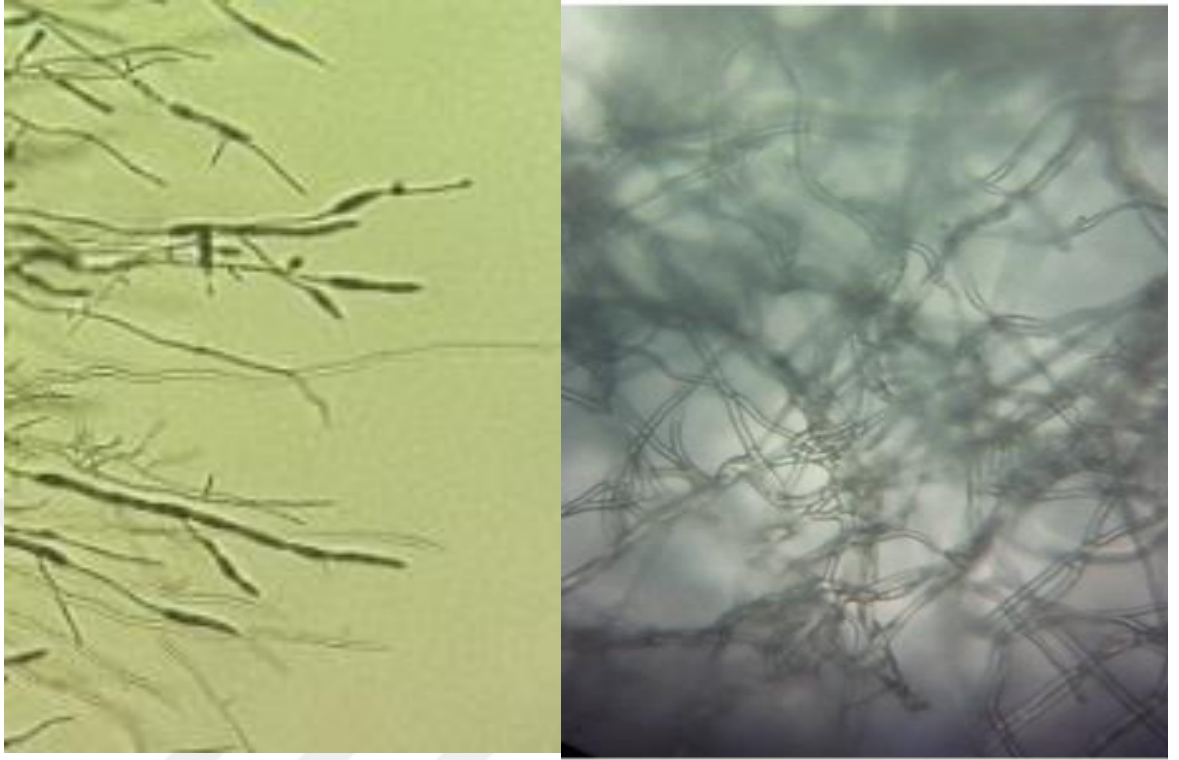
**Şekil 4.4.** *A. solani*'nin PDA'da gelişimi

**Çizelge 4.1.** *A. solani* ET 66 izolatının koloni görünüşü

Koloni görünüşü				
Büyüme şekli	Renk	Şekil	Yapısı	Koloni çapı (cm) / gün
Yuvarlak	Sütlükahverengi	Yuvarlak	Pamuksu	8cm/10 gün

#### 4.3.2. *A. solani*'nin ET 66 izolatının mikroskopik özellikleri

*A. solani* konidileri genellikle tek, düz veya hafifçe dalgalı, oblong veya elipsoidal, gaga konidi boyu kadar bazen daha uzun, konidi rengi açık zeytuni kahverengiden koyu kahverengiye kadar değişkenlik gösteren yapıda, düz çeperli ve uca doğru incelen yapıdadır. Konidiyoforlar tek veya küçük gruplar halinde gelişmekte, düz veya dalgalı, bölmeli, oldukça soluk kahverengi veya zeytinimsi kahverengidir (Koike *et. al.* 2010; Hasenekoğlu 1991) (Şekil 4.5).



**Şekil 4.5.** *A. solani* ET 66 izolatının (sağ: petrideki gelişimin mikroskop görüntüsü (40X), sol: petrideki gelişimin mikroskop görüntüsü (10X) mikroskopik görüntüsü

#### 4.3.3. *A. solani*'nin moleküler tanısı

İzolasyonlar sonucu elde edilen patojen fungus izolatının moleküler teşhisi yapılmış ve yapılan tanı sonucunda ET 66 patojen izolatı%99 benzerlikle *A. solani* olarak tanılanmıştır (Çizelge 4.2). ET 66 izolatının sekansı Çizelge 4.3'te, sekans yapısı ise Çizelge 4.4'te verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** *A. solani* ET 66 izolatının moleküler tanısı, benzerlik indeksi ve erişim numarası

İzole edildiği bitki	ITS tanılama sonucu	Tanısı (%)	Erişim numarası*
Domates	<i>Alternaria solani</i>	99	MG273689

\*GenBank

**Çizelge 4.3.** *A. solani*'nin ET 66 izolatının kısmi 18S ribosomal RNA, ITS1, 5.8S ribosomal RNA, ITS 2, kısmi 28S ribosomal RNA sekansı

1	AGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCA
53	TTACACAAATATGAAGGCGGGCTGGCACCTCCCGGGGTGGCCAGCCTTGCTGA
106	ATTATTCCACCCGTGTCTTTTGCCTACTTCTTGTTCCTTGGTGGGCTCGCCAC
161	CACAAGGACCAACCCATAAACCTTTTTGCAATGGCAATCAGCGTCAGTAACAA
214	TGTAATAATTTACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAG
268	AACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCG
321	AATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGA
375	GCGTCATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGCGTCTTTTTGTCTCCCT
430	TGCGGGAGACTCGCCTTAAAGTCATTGGCAGCCGGCCTACTGGTTTCGGAGCG
483	CAGCACAAGTCGCGCTCTTCCAGCCCCAAGGTCTAGCATCCACCAAGCCTT
537	TTTTCAACTTTGACCTCGGATCAGGTAGGA

**Çizelge 4.4.** *A. solani*'nin ET 66 izolatının sekans yapısı

1	54	rRNA	18S ribosomal RNA
55	224	misc RNA	ITS 1
225	383	rRNA	5.8S ribosomal RNA
384	544	misc RNA	ITS 2
545	566	rRNA	28S ribosomal RNA

#### 4.4. Potansiyel Biyoajan Bakteri ve Fungus İzolatlarının Tanısı

##### 4.4.1. Potansiyel biyoajan bakteri izolatlarının tanısı

Bakteriler morfolojik ve moleküler olarak tanılanmıştır. Bakteri izolatlarının koloni şekilleri ve renkleri Çizelge 4.5'te verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Çalışmada kullanılan bakterilerin koloni şekilleri, renkleri ve kamçı durumları

İzolat*	Koloni rengi	Hücre şekli	Kamçı durumu
TV-87A	Krem	Elipsoit	Peritrik
TV-12H	Krem	Elipsoit	Peritrik
TV-67C	Krem	Silindirik	Peritrik
TV-17C	Krem	Elipsoit	Peritrik
TV-6F	Krem	Elipsoit	Peritrik
FD-49	Turuncu	Yuvarlak	Peritrik
FDG-37	Krem	Çubuk	Multiple
Brts-B	Sarı	Çubuk	Peritrik

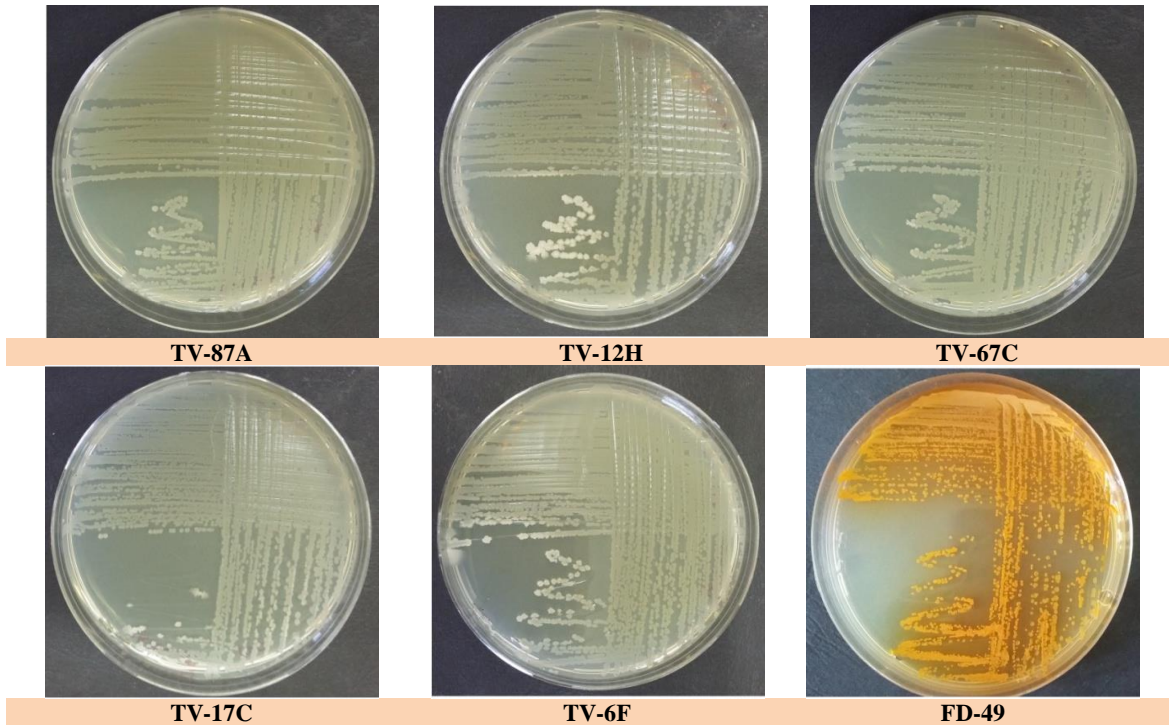
Çizelge 4.5. (devam)

<b>RK-92</b>	Sarı	Çubuk	Peritrik
<b>TV-91C</b>	Krem	Elipsoit	Peritrik
<b>TV-12E</b>	Beyaz	Çubuk	Peritrik
<b>BAB-410</b>	Krem	Elipsoit	Peritrik
<b>TV-125A</b>	Krem	Elipsoit	Peritrik

\*Bakteriler NA besiyerinde geliştirilmiştir.

Bakteri izolatlarından FD-49 turuncu, Brts-B ve RK-92 sarı, TV-12E beyaz renk koloni oluştururken, diğer izolatlar ise krem renginde koloni oluşturmuşlardır. TV-67C silindirik, FD-49 yuvarlak,FDG-37, Brts-B, RK-92 ve TV-12E çubuk şeklinde, diğerlerinin ise elipsoit koloni yapısı oluşturduğu belirlenmiştir. Uygulamada kullanılan FDG-37 bakterisinin multiple, diğer bakterilerin ise kamçı durumunun peritrik olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5)

Çalışmada in vitro şartlarda etkili olduğu tespit edilen ve in vivo şartlarda etkililiği test edilmek üzere aktarılan 6 bakteri izolatının NA'daki gelişimleri ise Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. İn vitroda etkili bulunan bakteri izolatlarının NA besi ortamındaki gelişimleri

#### 4.4.1.a. Potansiyel biyoajan bakterilerin biyokimyasal testlerle bazı özelliklerinin belirlenmesi

Elde edilen bakteriyel izolatların biyokimyasal test sonuçları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

**Çizelge 4.6.** Çalışmada kullanılan biyoajan bakterilerin biyokimyasal testleri

İzolat	KOH	Katalaz	Oksidaz	Kitinaz
TV-87A	-	+	-	-
TV-12H	-	+	-	-
TV-67C	-	+	-	-
TV-17C	-	+	-	-
TV-6F	-	+	-	-
FD-49	-	+	-	-
FDG-37	+	+	-	-
Brts-B	+	+	-	-
RK-92	+	+	-	-
TV-91C	-	+	+	-
TV-12E	-	+	-	-
BAB-410	-	+	-	+
TV-125A	-	+	-	-

Pozitif: +, Negatif:-

Çalışmada kullanılan TV-87A, TV-12H, TV-67C, TV-17C, TV-6F, TV-91C, TV-12E ve TV-125A bakteri izolatları gram pozitifken, FDG-37, Brts-B, RK-92 bakteri izolatları negatif çıkmıştır. Oksidaz testi ise sadece TV-91C bakteri izolatu pozitif, diğer izolatların hepsi negatiftir. Kitin testleri BAB-410 bakteri izolatu pozitifken diğerleri negatif çıkmıştır. Çalışmada kullanılan etkili bakterilerin hepsinin katalaz testi sonuçları ise gram pozitif çıkmıştır (Çizelge 4.6).

#### 4.4.1.b. İn vivo’da en etkili bulunan bakterilerin moleküler tanı sonuçları

Hem in vitroda hem de in vivo’da etkili olan 2 biyoajan bakteri izolatının saf kültürlerinden moleküler tanı yapılmıştır, moleküler tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri Çizelge 4.7’de verilmiştir.

**Çizelge 4.7.** İn vivo’da en etkili bulunan bakterilerin moleküler tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri

İzolat	İzole edildiği materyal	ITS tanı sonucu	Benzerlik indeksi	Erişim numarası*
TV-12H	Buğday	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	97	KY773617
TV-17C	Ahududu	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	96	JQ765436

\*GenBank

Yapılan çalışmada in vitro ve in vivo çalışmalarda en etkili bulunan bakteri izolatlarından TV-12H %97, TV-17C ise %96 benzerlik indeksi ile *B. amyloliquefaciens* olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). Bakteri izolatlarının sekans sonuçları Çizelge 4.8 ve 4.9’da verilmiştir.

**Çizelge 4.8.** TV-12H’in ITS1+5.8S rDNA+ITS2 sekansı

```

1GGGAGCTGGGCGGCTGCCTATAATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGTCCCTGATGTTA
65GCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAAC
128CGGGGCTAATACCGGATGGTTGTCTGAACCGCATGGTTCACACATAAAAGGTGGCTTCGGCT AC
192CACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTATCTAGTTGGTGAG GTAACGGCTCACCAAGGCGACGA
256TGCCTAGCCGACCTGAAAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACG
319G GAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAATGGACGAAAAGTCTGACGGAGCAACGCCCGTGAGT
383GATGAAGGTTTTCCGATC GTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAAATAGGGC
447GGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCTGCGGTAATAC
511GTAGGTGGCA AGCGTTGTCCAGAATTATTGGGCGTAAAAGGACTCGCAGGCGGTTCTTAAGTC
575TGATGTGAAAAGACTCCGGCTCATCCAGGGGAGAGTCAATAGAAAAGTGGGAACTTGAGTGCAGA
638AG AGGAGAGTGGAGTTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGG
701CGAACGCGACTCTCTGGTC TGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTGGGGGAGCGCAGGAT
766TAGATACACTGGTAGTCCACGCCGTACACGTAGAGTGTAAAGTGTAGGGGGTCTCCCTTTT
824TGTGTCGCGAG CTAACGCATTAAGCCTTCCGCTGGGAGATACCGGTGCA AATACAC

```

**Çizelge 4.9.** TV-17C’ninITS1+5.8S rDNA+ITS2 sekansı

```

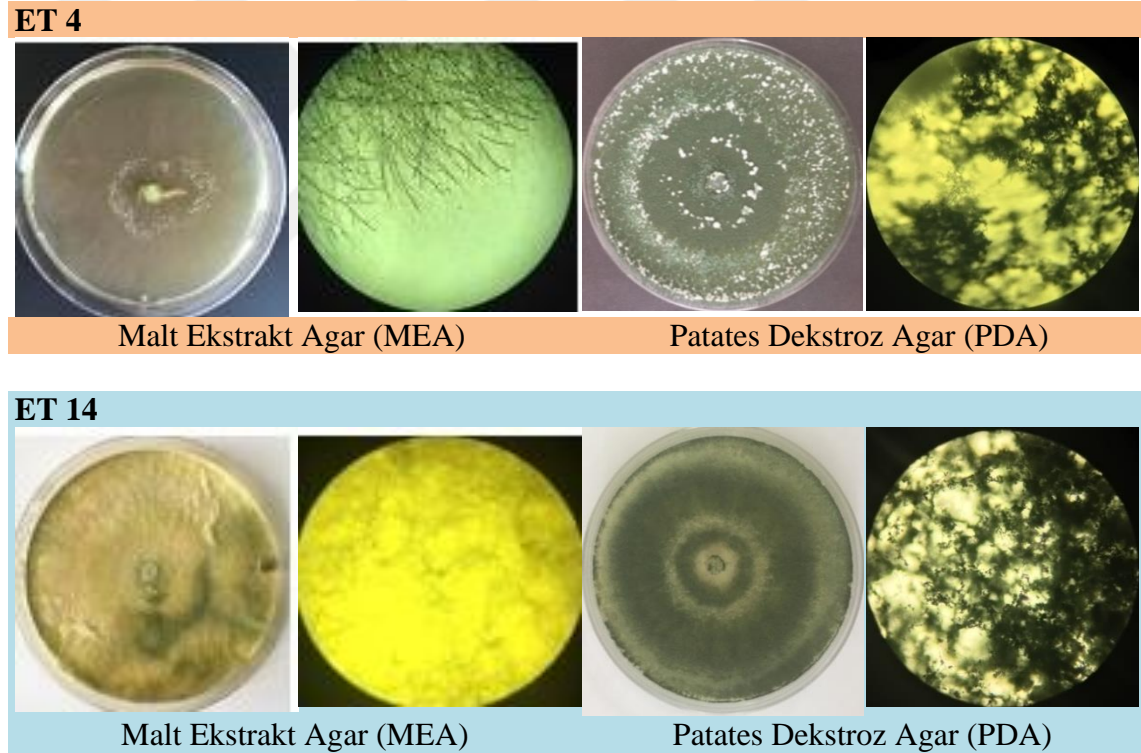
1AGGAGACTGGGCGGCTGTGCCTATAATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGTCCCTGATG
65TTAGCGGCGGACGGGT GAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAA
129ACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTCTGAACCGCATGGTTCACACATAAAAGGTGGCTTCGGCT
193ACCACTTA CAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGA
256CGATGCGTAGCCGACCTGAAAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCC
319TA CGGGAGGACAGCAGTAGGGAATCTCCGCAATGGACGAAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCG
381TGAGTGATGAAGGTTTTCCG ATCGTAAAGCTCTGTGCTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAA
444TAGGGCGGACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG
507GTAATACGTAGGTA GCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTC
570TCAAGTCTGATGTGAAAAGACTCCGGCTCAACCGGGGAGAGTCATTGGAAAAGTGGGAACTTGA
633GTGCAGAA GAGGAGAGTGGAGTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAAC
695ACCAGTGGCGAACGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTGGGGAGCG
758AAAC ATGATTAGATACCCTGATAGTCCACGCCGTACACGATGAGTGTACGTGTTAGGGTTCT
822CTCTCTTTATGTGCTGGCG CTAACGCATTAGCACTTCCGCTGGGAAGTACGGTGCAGAAATA
825CAC

```

#### 4.4.2. Potansiyel biyoajan fungus izolatlarının tanısı

##### 4.4.2.a. Potansiyel biyoajan fungus izolatlarının morfolojik tanısı

Farklı besi ortamlarına ekim yapılan biyoajan fungus izolatları en iyi PDA' da gelişim göstermiştir. Hızlı gelişen kolonilerinde konidilerin geliştiği yerlerin beyazımsı yeşil, daha sonra donuk yeşil renk aldığı, hiflerin bölmeli ve konidioforların çok dallı olduğu görülmüştür. *T. harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının gelişimleri Şekil 4.7'de verilmiştir.



**Şekil 4.7.** Farklı besiyerlerinde *T. harzianum* ET4 ve ET 14 izolatlarının gelişimi (sağ: petri görüntüsü, sol: petrideki gelişimin mikroskop görüntüsü (40X) (Tozlu *et al.* 2017a)

## 4.5. Biyolojik Mücadele Çalışmaları

### 4.5.1. İn vivo testler

Daha önce yapılan çalışmalarda farklı patojenlere karşı test edilmiş ve etkililiği belirlenmiş olan 13 bakteri ve 2 fungal izolat bu çalışmada da ET 66 izolatı *A. solani*'ye karşı in vitro şartlarda test edilmiştir. Test sonuçları Çizelge 4.10 ve Şekil 4.8'de verilmiştir.

**Çizelge 4.10.** İn vitro petri denemelerinde *A. solani* ET 66 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri izolatlarının etkililiği

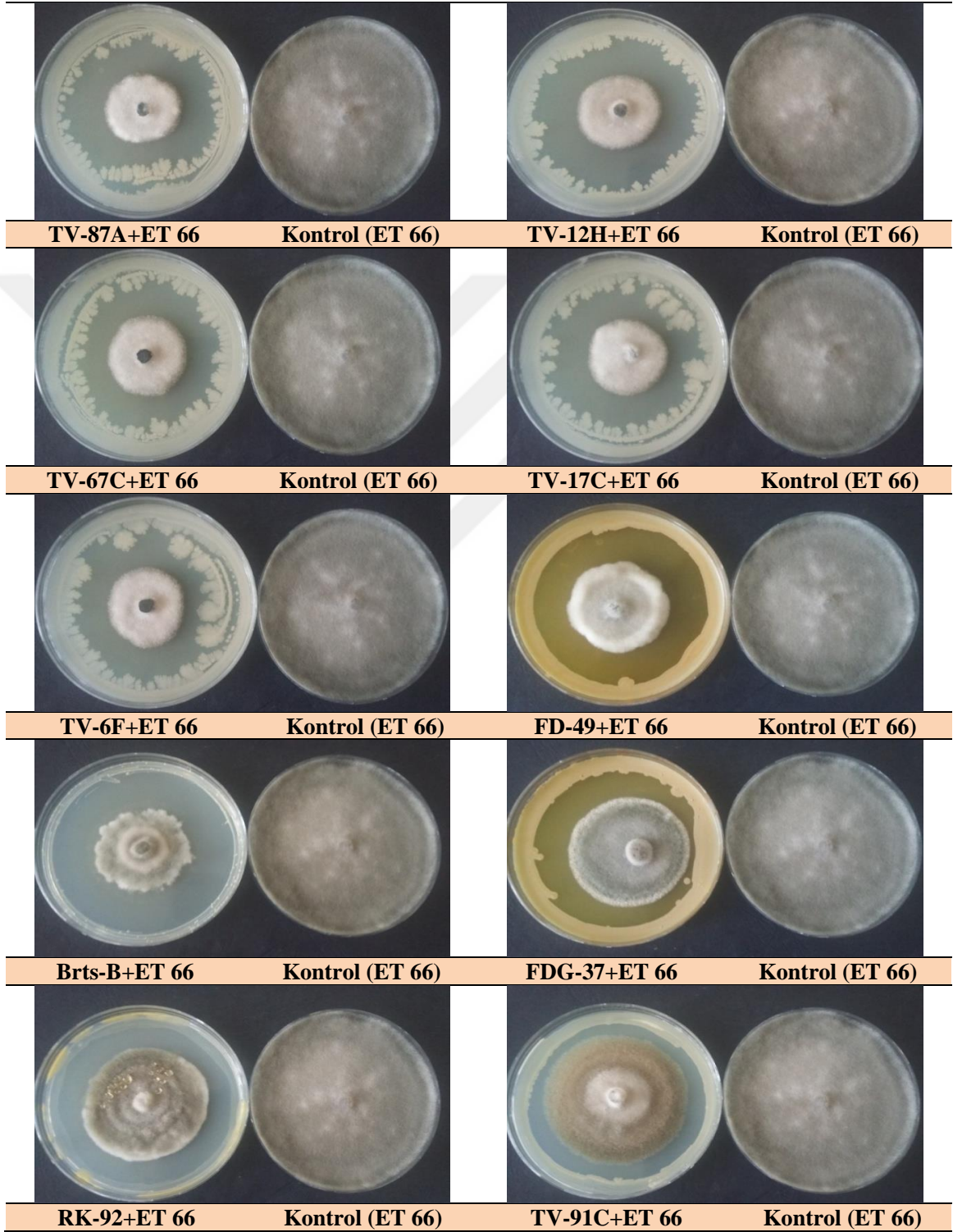
Uygulama	Koloni Çapı (mm)	Yüzde engelleme oranı (%)
TV-87A	2,95 <b>H</b>	72.00 <b>A</b>
TV-12H	3,15 <b>G</b>	68.20 <b>B</b>
TV-67C	3,20 <b>G</b>	69.00 <b>B</b>
TV-17C	3,20 <b>G</b>	69.00 <b>B</b>
TV-6F	3,20 <b>G</b>	69.00 <b>B</b>
FD-49	4,05 <b>F</b>	58.90 <b>C</b>
Brts-B	5,00 <b>E</b>	47.60 <b>D</b>
FDG-37	5,05 <b>DE</b>	47.00 <b>DE</b>
RK-92	5,20 <b>D</b>	45.20 <b>E</b>
TV-91C	6,05 <b>C</b>	35.10 <b>F</b>
TV-125A	7,70 <b>B</b>	15.40 <b>G</b>
BAB-410	7,75 <b>B</b>	14.80 <b>G</b>
TV-12E	9,00 <b>A</b>	0,00 <b>H</b>
Kontrol	8,83 <b>A</b>	0.00 <b>H</b>
<b>CV</b>	<b>2.07</b>	<b>2.92</b>
<b>LSD</b>	<b>0.18</b>	<b>2.14</b>

\* Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0.01).

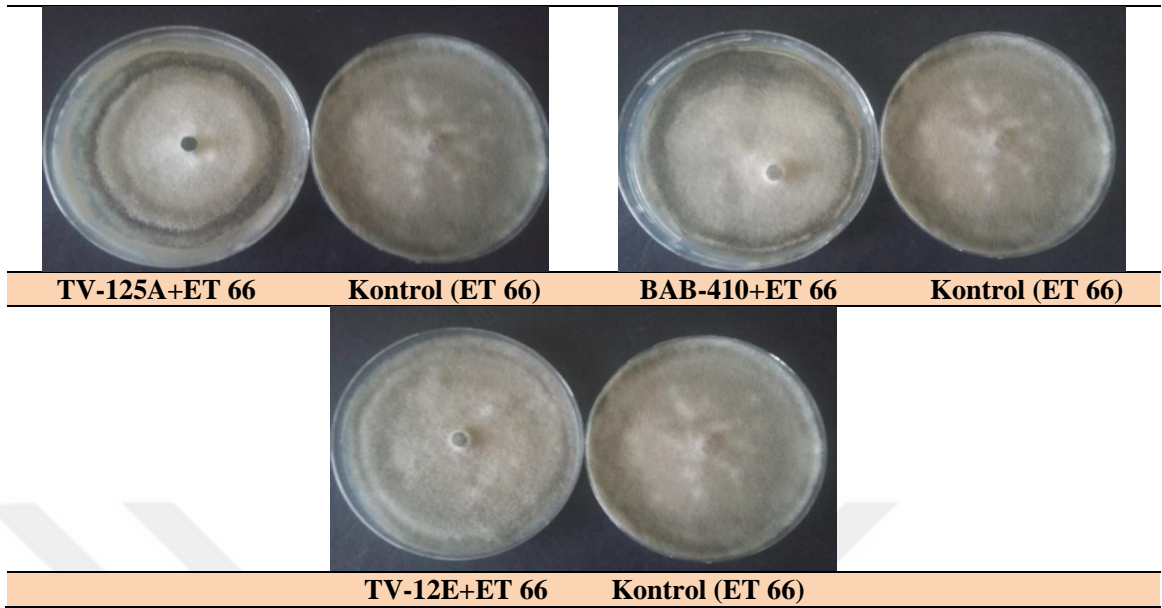
İN vitro da test edilen toplam 13 bakteriden 12'si az veya çok oranda *A. solani* ET 66 izolatına karşı etkililik göstermiştir. Koloni çaplarına bakıldığında en düşük koloni çapı TV-87A izolatında (2.95 mm), en yüksek koloni çapı ise TV-12E izolatında (9.00 mm) görülmüştür (Çizelge 4.10, Şekil 4.8).

En yüksek etkililiği gösteren TV-87A bakteriyel izolatı %72.00 oranında patojen

fungusun gelişimini engellerken, en düşük etki görülen TV-12E izolatı ise %0.0 ile kontrol ile aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.10, Şekil 4.8).



Şekil 4.8. (devam)



**Şekil 4.8.** İn vitro petri denemelerinde *A. solani* ET 66 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri izolatlarının etkinlikleri

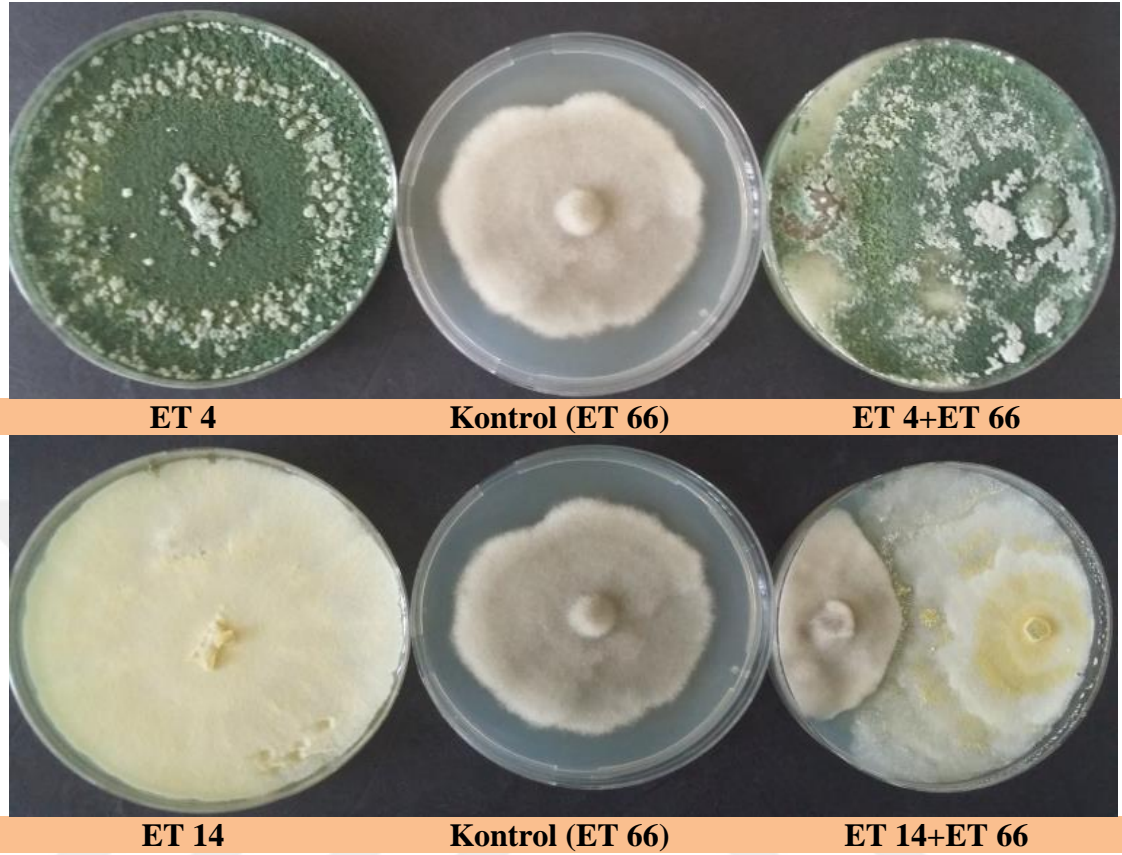
Etkililiği test edilen fungal biyoajanların hiperparazitik seviyeleri ise Çizelge 4.11’de verilmiştir

**Çizelge 4.11.** İn vitro petri denemelerinde *A. solani* ET 66 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan fungal izolatların hiperparazitik etkileri

Uygulama	YEO (%)	HS
ET 4	60	++
ET 14	48	+

**Yüzde Engelleme Oranı (%)**, **HS:**Hiperparazitik seviye, +: Az, ++: Orta, +++: Yüksek, ++++: Çok yüksek, -: Etkisiz

Yapılan çalışmada hiperparazitik etki ET 4’de %60, ET 14’de ise %48 olmuştur (Çizelge 4.11). ET 4 izolatının hiperparazitik etkisinin patojen izolatında orta, ET 14 izolatının ise az olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.11, Şekil 4.9).



**Şekil 4.9.** İn vitro petri denemelerinde *A. solani* ET 66 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan fungus izolatlarının etkinlikleri

#### 4.5.2. İn vitro testler

##### 4.5.2.a. Saksı denemeleri

Ümitvar biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılan fungus ve bakterileri izolatlarının in vivo testi sonucunda oluşturdukları belirtiler değerlendirilmiş ve Çizelge 4.12’de verilmiştir.

**Çizelge 4.12.** Uygulamaların domates bitkisinde domates erken yanıklık hastalık şiddeti üzerine etkisi

Uygulamalar		Skala değerleri (0-5 skalası)	
		7. gün	
*Kontrol 1	FD-49	0,20	A
	TV-87A	0,20	A
	TV-6F	0,40	A
	ET 4	0,40	A
	TV-12H	0,60	A
	TV-17C	0,60	A
	TV-TV67C	0,63	A
	Kontrol 2	0,20	A
Kontrol 3	5,00	F**	
ET 4+ET 66	2,00	B	
FD-49+ET 66	3,20	C	
TV-17C+ET 66	3,40	C	
TV-6F+ET 66	3,80	CD	
TV-12H+ET 66	3,80	CD	
TV-87A+ET 66	4,60	DE	
TV-67C+ET 66	4,80	DE	

\*Kontrol 1: Sadece patojen, Kontrol 2: Sadece biyoajan, Kontrol 3: Sıvı taşıyıcı (NB veya steril su)

\*\* Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0.01).

Yapılan çalışmada kontrol 1 uygulaması ve kontrol 2'nin uygulandığı saksılarda en az oranda simptome rastlanılmış ve istatistiki olarak bu uygulamalar aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.12). Biyoajan bakteri ve fungus izolatları ile patojenin birlikte uygulandığı saksılarda ise en az simptom ET 4 fungal izolatla birlikte patojenin uygulandığı saksılarda (2.00) görülmüştür. Bu uygulamayı FD-49 (3.20) ve TV-17C (3.40), TV-6F (3.80), TV-12H (3.80), TV-87A (4.60) ve TV-67C (4.80) bakteriyel izolatların patojenle birlikte uygulandığı saksılar takip etmiştir. En fazla deformasyon ise, sadece patojen uygulaması olan ET 66'nın tek başına uygulandığı saksılarda tespit edilmiştir (Çizelge 4.12).

Çalışmada in vitro şartlarda etkililiği fazla olan FD-49, TV-87A, TV-6F, TV-12H, TV-17C ve TV-67C bakteriyel izolatların ve ET 4 fungal izolatının etkililiği in vivo şartlarda saksı denemelerinde test edilmiştir (Şekil 4.11-4.17).



**Şekil 4.10.** Uygulamaların bitki büyütme kabini görüntüsü

İn vivo çalışmasında ET 4 fungal biyoajan uygulaması yapılan saksılarda 2. günden itibaren kontrol 3 uygulamasında bitkide hastalık görülmeye başlamış, diğer saksılarda herhangi bir hastalık simptomuna rastlanılmamıştır. Ayrıca sadece ET 4 uygulaması yapılan saksılardaki bitkilerin diğerlerine kıyasla daha fazla gelişmiş olduğu da gözlemsel olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.11).

FD-49 uygulamasının yapıldığı saksılarda 4. günden itibaren sadece kontrol 3'de hastalık görülürken, 5. günden itibaren ise FD-49 ve ET 66'nın birlikte uygulandığı saksılarda hastalık görülmeye başlanmıştır, diğer saksılarda herhangi bir hastalık simptomu görülmemiştir (Şekil 4.12).

TV-17C uygulamasında ise 3. günden itibaren sadece kontrol 3 uygulamasının yapıldığı fidelerde ve 6. günden itibaren ise TV-17C ve ET 66'nın birlikte uygulandığı saksılarda hastalık görülmüştür. Diğer saksılarda herhangi bir hastalık simptomuna rastlanılmamıştır (Şekil 4.13).

TV-6F uygulamasının yapıldığı saksılarda 3. günden itibaren sadece kontrol 3'de, 4. günden itibaren ise TV-6F ve ET 66'nın birlikte uygulandığı saksılarda hastalık görülmeye başlanmış, diğer saksılar sağlıklı olarak gözlenmiştir (Şekil 4.14).

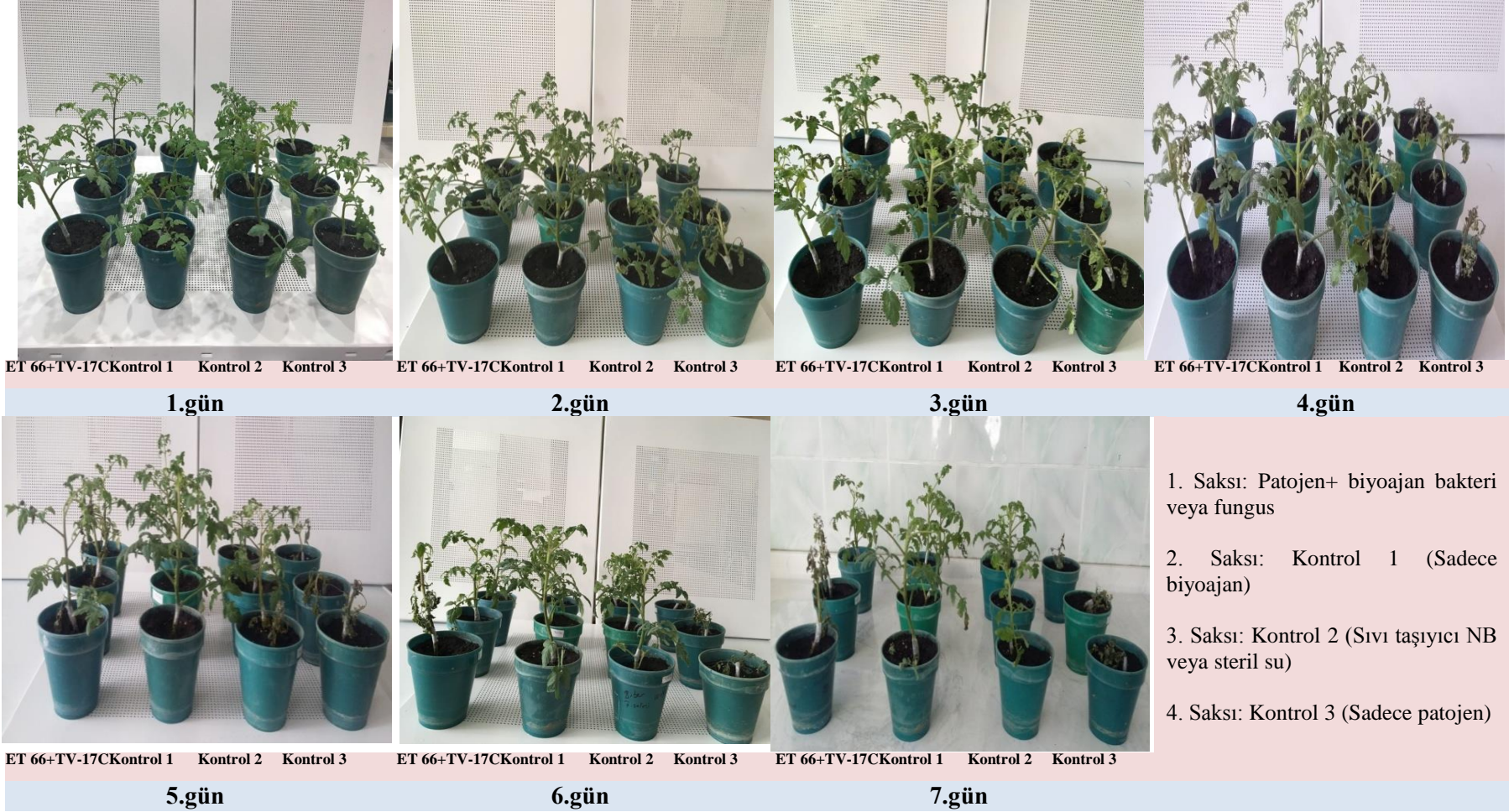
TV-12H uygulaması yapılan saksılarda 3. günden itibaren sadece kontrol 3'de, 6. günden itibaren ise TV-12H ve ET 66'nın birlikte uygulandığı saksılarda hastalık görülmeye başlamış, diğer saksılarda herhangi bir hastalık simptomuna rastlanılmamıştır (Şekil 4.15).

TV-87A uygulaması yapılan saksılarda TV-87A ve ET 66'nın birlikte uygulandığı ve sadece kontrol 3'ün uygulandığı saksılarda 4. günden itibaren hastalık görülmeye başlamış, diğer saksılarda herhangi bir hastalık simptomuna rastlanılmamıştır (Şekil 4.16).

TV-67C uygulaması yapılan saksılarda 3. günden itibaren sadece kontrol 3'ün, 4. günden itibaren ise TV-67C ve ET 66'nın birlikte uygulama yapıldığı saksılarda hastalık görülmeye başlamışken, uygulamanın yapıldığı diğer saksılar hastalıklı fidelere rastlanılmamıştır (Şekil 4.17).



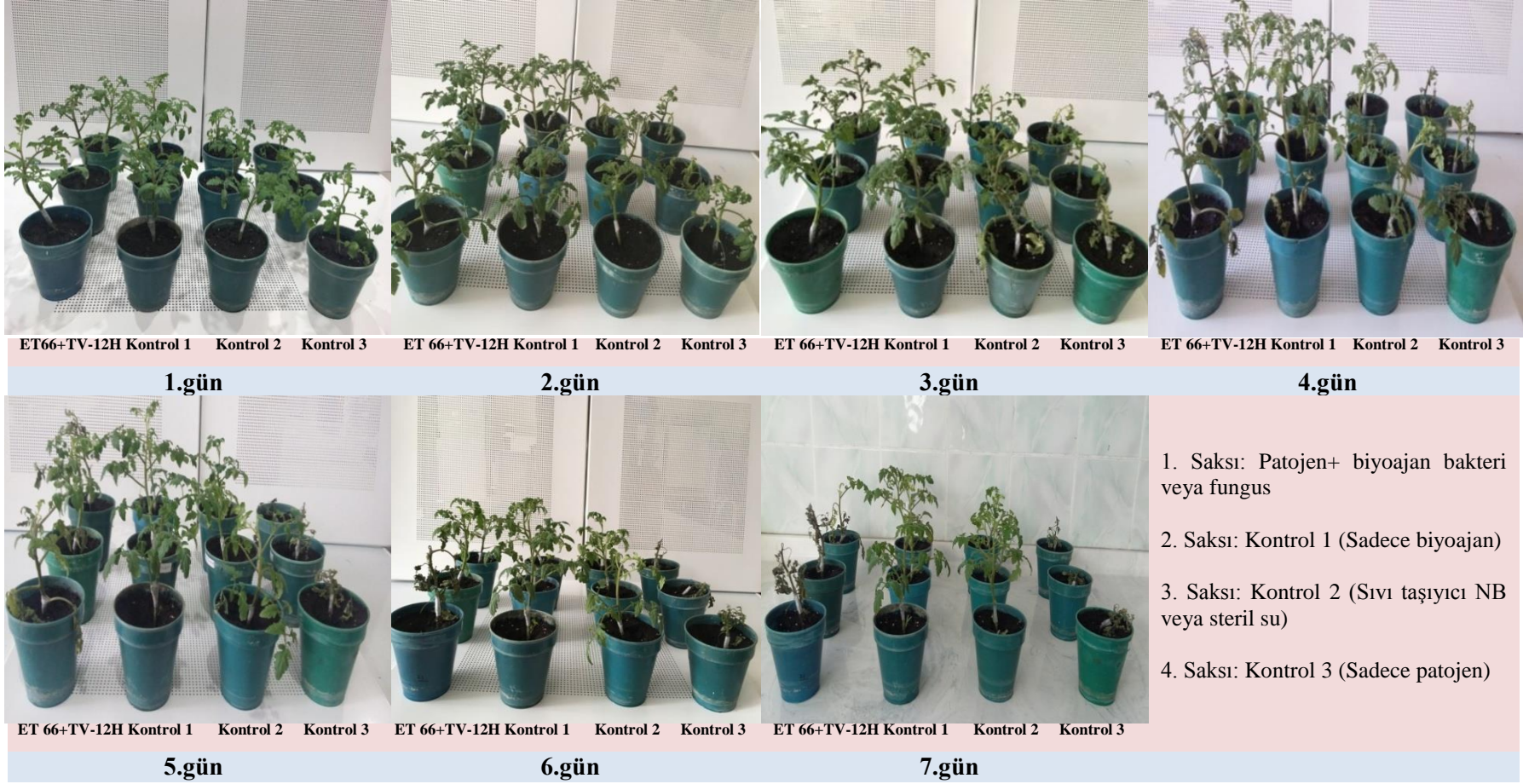




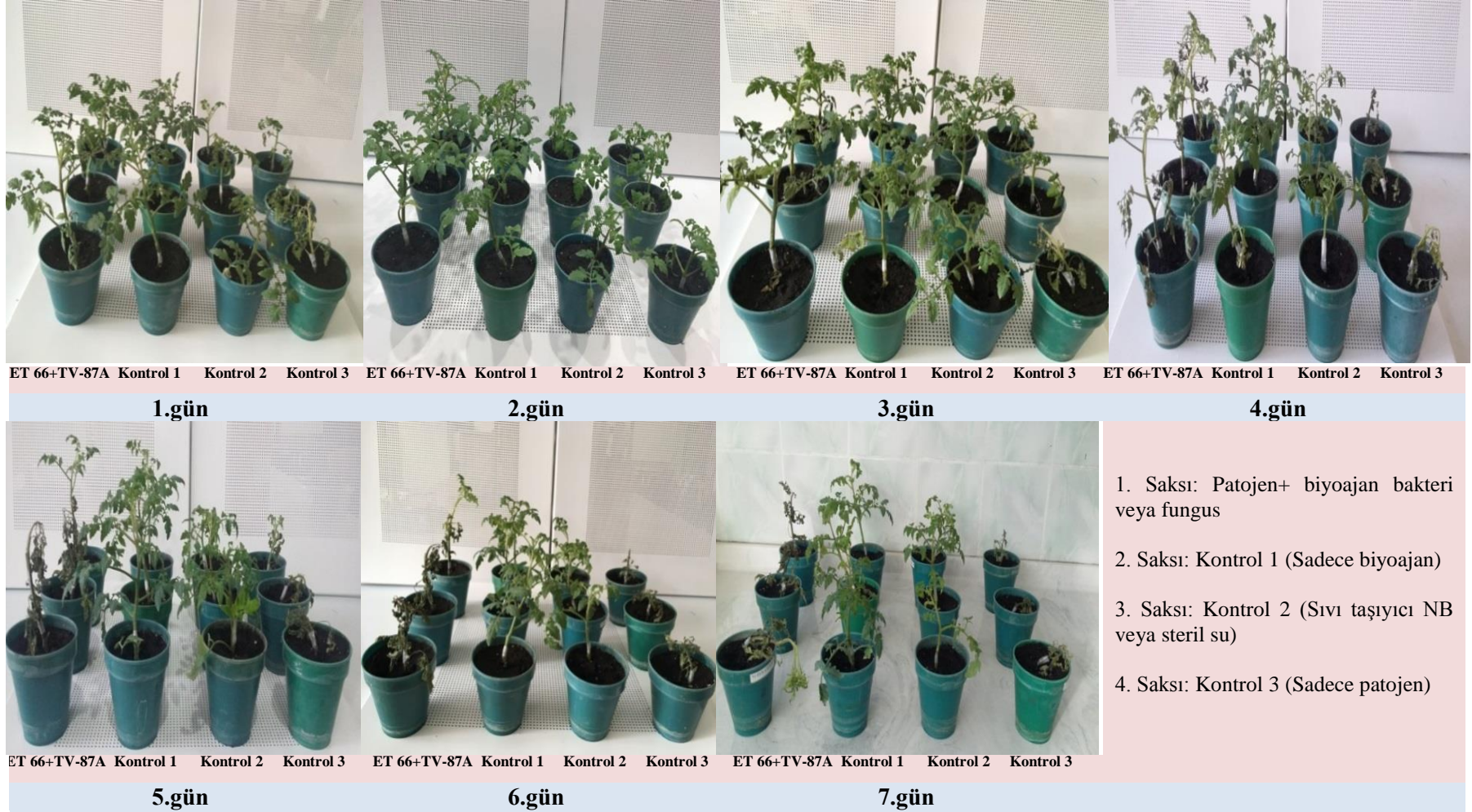
Şekil 4.13. TV-17C uygulamasının günlere göre görünümü



Şekil 4.14. TV-6F uygulamasının günlere göre görünümü



Şekil 4.15. TV-12H uygulamasının günlere göre görünümü



Şekil 4.16. TV-87A uygulamasının günlere göre görünümü



Şekil 4.17. TV-67C uygulamasının günlere göre görünümü

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan bu çalışmada; *A. solani* kolonilerinin 25°C’de 10 günde PDA’da 8 cm çapa ulaştığı, misellerinin sütlükahverengi ve pamuksu şekilde olduğu tespit edilmiştir. Hasenekoğlu (1991), *A. solani* konidileri genellikle tek, düz veya hafifçe dalgalı, oblong veya elipsoidal, gaga konidi boyu kadar bazen daha uzun, düz çeperli, bütün uzunluk 150-300 µm, en geniş kısımda 15-19 µm kalınlıkta, 9-11 enine ve 0 veya birkaç boyuna veya oblik bölmeli gaga dalgalı, soluk, bazen dallı 2.5-5 µm kalınlıkta ve uca doğru incelen yapıda olduğunu belirtmektedir.

Kültürel önlemlerin tek başına yetersizliği ve bilinçsiz pestisit kullanımının çevreye verdiği zarar nedeni ile dünyanın her yerinde farklı bitki patojenlerine karşı mücadelede biyolojik mücadele ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır. Günümüzde çevre ve insan sağlığı bilincinin artması, bitkisel ürünlerde kalıntı sorunu yapan bitki koruma ürünlerine alternatif ürün arayışı sayesinde, çevre dostu preparatların kullanımında artış görülmektedir (Turhan ve Hayat 1994; Varol 2008; Aşkın ve Katircioğlu 2009). Fungal biyoajan olarak en fazla kullanılan ve ümitvar görülen *T. harzianum* (Inbar *et al.* 1996; Grondona *et al.* 1997; Elad 2000; Sallam *et al.* 2008; Figueirêdo *et al.* 2010; Asran-Amal *et al.* 2010; Sharma 2011; Agarwal *et al.* 2011; Sundaramoorthy and Balabaskar 2013; Ali and Nadarajah 2014; Altınok ve Erdoğan 2015; Parmar *et al.* 2015; Valenzuela *et al.* 2015; Akrami 2015; Basumataray *et al.* 2015; Bae *et al.* 2016; Barari 2016; Saravanakumar *et al.* 2016) bu çalışmada da *A. solani*’ye karşı etkili olmuş, hem *in vitro* hem de *in vivo* şartlarda patojeni kontrol altına almıştır.

Li-hui *et al.*(2010) *A. solani*’ye karşı *Trichodema* T-115D izolatının etkisini incelemişler ve yapılan çalışma sonucunda biyoajanın patojeni baskıladığını tespit etmişlerdir. Yine, ülkemizde erken yanıklık hastalığına karşı *T. harzianum*’un T-22 Planter ve Trichodex isimli ruhsatlı biyolojik fungusitler test edilmiş ve başarılı sonuç alınmıştır (Harman 2000). Yapılan bu çalışmada da; *in vitro* şartlarda *A. solani*’ye karşı *T. harzianum*’un bir izolatının ümitvar biyolojik mücadele ajanı olarak etkili olduğu tespit edilmiş ve diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

*T. harzianum* in vitro şartlarda *A. solani*'ye karşı test edilmiş ve %67.78 oranında engelleme sağladığı belirtilmiştir (Chohan *et al.* 2015). Ngoc (2013) tarafından yapılan başka bir çalışmada da *T. harzianum*- BCRL, *T. harzianum*-IIHR 20, fungal izolatlarının *A. solani* etmeninin gelişimini tamamen engellediği belirtilmiştir. *T. harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının test edildiği bu çalışmada *A. solani* etmenini engelleme oranı sırasıyla %60 ve %48 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç da Chohan *et al.* (2015) sonuçları ile paralellik göstermiştir.

El Rafai *et al.* (2003) çalışmalarında; *T. harzianum*, *T. hamatum* ve *Pseudomonas fluorescens* fungal biyoajanları ve *Bacillus subtilis* bakteriyel biyoajanı in vitro şartlarda domates erken yanıklık hastalığına karşı test etmişler ve hastalığın kontrol altına alındığını saptamışlardır. Yapılan bu çalışmada test edilen *T. harzianum* (ET 4, ET 14), *P. fluorescens* (FDG-37) fungal biyoajanları ve *B. subtilis* (TV-12H, TV-17C, TV-6F) bakteriyel biyoajanları etkili olmuş ve bu sonuç El Rafai *et al.* (2003)'ün çalışması ile paralellik göstermiştir.

*T. harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının çilek ve hıyardan izole edilen *A. alternata*'nın iki izolatına karşı etkililiği in vitro şartlarda test edilmiş ve ET 4'ün % 83.33- 78.60, ET 14'ün ise %74.44-55.85 oranlarında patojen gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Tozlu *et al.* 2017b). Yine ET 4 ve ET 14'ün elma ve domatesten elde edilen *A. alternata* izolatlarına karşı test edildiği bir başka in vitro çalışmada ise sırasıyla %41.52 ve %65.51 oranında gelişmenin engellendiği belirlenmiştir (Tozlu *et al.* 2017a). Bu çalışmada da kullanılan *T. harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatları *A. solani*'nin gelişimini %60 ve % 48 oranında engellemişlerdir. Bu sonuçların farklılığının test edilen patojen izolatlarının farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Son yıllarda PGPR strainlerinin hem mikrobiyal gübre hem de biyolojik mücadele amacı ile kullanıldığı çalışmalara sıklıkla rastlanmaktadır (Ji *et al.* 2006).

Yapılan bir çalışmada; Latha *et al.* (2009) domates erken yanıklık hastalığı etmeninin misel artışını azaltmak için *P. fluorescens* (Pf1 ve Py15) ve *B. subtilis* (Bs16), ve bitki özütü Zimmu (*Allium cepa L. x Allium sativum L.*) test edilmiştir. Tohum işlemi ve yaprak uygulaması olarak test edilen çeşitli biyolojik formülasyonlar arasında, Pf1 + Py15 + Bs16 + Zimmu'nun talk esaslı formülasyonunun, diğer uygulamalara kıyasla hastalığı görülme sıklığını azaltmada etkili olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise *P. fluorescens* FDG-37 izolatı hastalığı in vitro şartlarda kontrol altına almış ancak hem in vitro hem de in vivo şartlarda *B. subtilis* TV-12H ve TV-17C izolatları daha etkili olmuştur.

*Bacillus* türleri biyolojik mücadele en yaygın kullanılan bakterilerdir. Yapılan bir çalışmada; *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. pumilus* ve *B. subtilis* izolatlarının domateste toprak orijinli fungal patojenlere karşı oldukça etkili oldukları bildirilmiştir. Bu çalışmadan da anlaşıldığı gibi *Bacillus* türleri biyolojik mücadelede yaygın olarak kullanılan bakteriler arasında yer almaktadır (Ajillogba *et al.* 2013). Yapılan bu çalışma da Ajillogba *et al.* (2013)'in belirttiği sonuca uyum göstermektedir.

Aşkın ve Katırcıoğlu (2008) tarafından yapılan bir çalışmada; *Pseudomonas* izolatlarının *A. solani* etmeninin oluşturduğu yaprak yanıklığı hastalığına karşı koruma sağladığı tespit edilmiştir. İn vitro şartlarda test edilen bakteriyel izolatlardan *B. megaterium*, *B. pumilis* ve *B. subtilis*; in vivo şartlarda ise *B. amyloliquefaciens* hastalık etmeninin gelişmesini baskılamıştır. Bu çalışmada da in vitro şartlarda araştırmacıların etkililiğini test ettiği bakteriler patojeni baskı altına almış, *B. megaterium*'un TV-87A, in vivo şartlarda ise; moleküler sonucuna göre *B. amyloliquefaciens* olarak tanımlanan TV-12H ve TV-17C izolatları en etkili sonuç vermiştir.

Tozlu *et al.*(2017b) TV-17C ve TV-12H izolatlarının etkililiğini in vitro şartlarda farklı konukçulardan elde ettikleri *A. alternata*'nın iki farklı izolatına karşı test etmişler ve %72.07 ile %60.77 arasında patojenin gelişimini engellediğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise aynı biyoajan izolatların *A. solani*'nin ET 66 izolatının gelişimini %69.00-68.20 oranında engellediği belirlenmiştir. Bu sonuçlar Tozlu *et al.* (2017b) ile

uyumluluk göstermiştir. Kırmızı lahanadan izole edilen *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı TV-12H ve TV-17C'nin etkililiğinin belirlendiği bir çalışmada ise bu iki izolatın patojene karşı yüksek oranda etkili olduğu belirlenmiştir (Tozlu *et al.* 2016). Bu izolatlar ile farklı patojenlere karşı yapılan çalışmalar da bu iki bakteri izolatının ümitvar biyoajan olabilecekleri görüşünü desteklemektedir.

Yapılan bir diğer çalışmada; *B.subtilis* izolatlarının (FZB24 ve Phytovit) erken yanıklık hastalığına karşı yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiş, etkili formülasyonlar içerisinde ağırlıklı olarak *Bacillus* türlerinin olmasının oluşturulabilecek ticari formülasyonunun raf ömrünün uzun olması ve uygulama alanında uzun süre aktivitelerinin devam edebilmesi açısından önemli olduğu bildirilmiştir (Sultan 2012). Bu çalışmada da *B. subtilis* izolatları in vitro ve in vivo denemelerde başarılı sonuçlar vermiştir.

Yazıcı *et al.* (2011), tarafından yapılan bir çalışmada *A. solani*'ye karşı in vitro şartlarda test edilmiş en etkili bakteri izolatının *Serratia plymuthica* Lehmann and Neumann 1896 (IK-139) (31.3 mm) olduğu, in vivo şartlarda ise *Paenibacillus macerans* GC alt grup A (1.82), *S. plymuthica* (1.78), *B. coagulans* [Hammer 1915] (1.75), *Serratia marcescens*-GC alt grup A (1.50), *B. pumilis* GC alt grup B (1.50) ve *Pantoea agglomerans* [Beijerinck 1988] (1.32) bakteri izolatlarının erken yanıklık hastalığını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada da test edilen *B. pumilis* (TV-67C) izolatı in vitro şartlarda etkili olmuş ancak in vivo şartlarda etkili olmamıştır.

Domateste erken yanıklığa neden olan *A. solani* patojenine karşı yürütülen bir biyolojik mücadele çalışmasında; *P. fluorescens* izolatı in vivo ve in vitro şartlarda *A. solani* yaprak yanıklığı etmenine karşı test edilmiş ve in vitro şartlarda *P. fluorescens* izolatının *A. solani*'nin gelişimini (%28-40) oranında engellediği tespit edilmiştir (Babu *et al.* 2000). Bu çalışmada da aynı tür *P. fluorescens* bakteri izolatı kullanılmış ve *A. solani* gelişimini %47 oranında engellediği tespit edilmiştir.

*P. aeruginosa* Schroeter (1872) JS29 izolatının domates erken yanıklık hastalığına karşı etkililiğini tespit etmek için yapılan in vitro çalışmada bu izolattan elde edilen biyosümfaktın 3.00 g l<sup>-1</sup> konsantrasyonunda *A. solani*'nin gelişimini %73 engellediği tespit edilmiştir. Ayrıca in vivo şartlarda ise 1.50 g l<sup>-1</sup> konsantrasyon biyosümfaktant *A. solani*'nin tam inhibisyon sağladığı belirtilmiştir (Lahkar *et al.* 2015). Bu çalışmada ise *Pseudomonas* cinsine ait kullanılan bakteri izolatının in vitro denemelerde yüzde engelleme oranı %47 olarak tespit edildi. Bu çalışmada canlı hücre etkinliğine bakılmıştır. Hücre metabolitlerinin etkinliği daha sonra yürütülecek çalışmalarda araştırılacaktır.

Roberto Lanna Filho *et al.* (2010) tarafından yapılan çalışmada; *P. macerans* ve *B. pumilis* epifitik bakterileri *A. solani* etmenine karşı in vitro ve in vivo şartlarda test edilmiş ve epifitik bakterilerin hastalık etmenlerini inhibe ettiği belirtilmiştir. Bu çalışmada da etkililiği test edilen *Paenibacillus* cinsi bakterinin hastalığı kontrol etmediği, *B. pumilis* (TV-67C) izolatının ise in vitro şartlarda hastalığı engelleme oranının %69 olduğu ancak in vivo şartlarda hastalığı kontrol etmediği tespit edilmiştir. Khan *et al.* (2012) yaptıkları çalışmada *Paenibacillus lentimorbus* Dutky (1940) 30488r-B (B-30488r) bakteriyel izolatının domateste *A. solani*'ye neden olan erken yanıklık hastalığını baskıladığını tespit etmişlerdir. Ancak bu çalışmada kullanılan *P. polymyxa* (TV-12E) bakteri izolatının in vitro şartlarda etkili olmadığı belirlenmiştir. Bu farklılığın ise tür farkından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çevreye hiçbir zararı olmayan biopestisit üretiminde, kitin içeren böcekler ve patojen mantarlarla mücadele amacıyla kitinazların kullanılması, mikrobiyal kitinazların önemini giderek artırmaktadır (Mauch *et al.* 1998; Suzuki *et al.* 2001; Guo *et al.* 2004; Changet *al.* 2007). Fungusların giriş yapabilmesi için enzimlere ihtiyaç duyduğu araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarla da ortaya konulmuştur (Hajek and Leger 1994; Paterson *et al.* 1994). Bu bağlamda toprak patojenlerinin kontrolünde de biyoajan bakterilerinin kitinaz enzimi üretmesinin önemli bir etken olduğu da bilinmektedir. Kuzu (2008) yaptığı çalışmada bitki patojeni olan funguslarla biyolojik savaşta kitinaz üreten mikroorganizmaların kitinaz geni bakımından önemli bankalar olarak

kullanılabileceğini belirtmiştir. Ancak in vitro'da üretilen enzimlerin, invivo şartlarda üretilmeyebileceği de bilinmektedir. Bu çalışmada da kitinaz üreten BAB-410 izolatı in vitro şartlarda yapılan çalışmalarda etkili olmamış dolayısıyla in vivo çalışmalara dahil edilmemiştir.

Biyokontrol organizmaların birçoğunda hastalık kontrol mekanizması işleyişinin esası patojenlere karşı antibiyotik üretimi yapmalarıdır. Gram bakteriler gram pozitif bakterilerde bulunmayan bir dış membrana sahiptir ve proteinler iç ve dış membran arasındaki periplazmik boşluk arasında kalmaktadır. Bu yüzden gram pozitif bakterilerde enzimler direkt besiyerine salgılanmaktadır. Çoğu değişken intraselüler enzimlerin aksine ekstraselüler enzimlerin stabilitesinin yüksek olduğu ve çevre koşullarında aktivitelerini uzun süre koruyabildikleri de bilinmektedir. Dolayısıyla gram pozitif sporlu bir bakteri olan *Bacillus* cinsi bakterilerin enzimlerinin ucuz, stabil, etkili bir şekilde formüle edilebilmeleri durumunda modern tarımda güvenle kullanılabileceği de yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Göğüsgeren 2009). Bu çalışmada da etkili bulunan iki bakteri izolatı da *Bacillus* cinsinde yer almaktadır ve gram pozitifdir. Bu nedenle bu izolatların hastalıkların kontrolünde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada bitki gelişimini teşvik etme ve biyolojik kontrol özelliği olan bakteriler ve funguslar kullanılarak hem dünyada hem de ülkemizde önemli bir hastalık olan erken yanıklık hastalığının biyolojik mücadelesi hedeflenmiştir.

Bu amaçla Erzurum'un Uzundere İlçesi'nde hastalık görülen domates bitkisinin gövde kısmından izole edilmiş fungal etmenin, klasik ve moleküler tanı yöntemleri kullanılarak *A. solani* olduğu ortaya konulmuştur. Çalışmada biyolojik kontrol amacıyla hastalık etmenine karşı kullanılan (3 adedi *B. subtilis*, 1 adedi *B. pumilus*, 1 adedi *P. fluorescens*, 2 adedi *P. agglomerans*, 2 adedi *B. megaterium*, 1 adedi *B. cereus*, 1 adedi *P. polymxa*, 1 adedi *B. sphaericus*, 1 adedi *B. thuringiensis*) türlerine ait 13 bitki gelişimini teşvik eden bakteri ve *T. harzianum* türüne ait toplam 2 potansiyel biyoajan fungus izolatı kullanılmıştır. Bakteri ve fungus izolatları petri denemelerinde patojene karşı antagonistik ve/veya hiperparazitik özelliklerinin belirlenmesi için test edilmiş ve

etkili bulunanların karakterizasyonu ve kesin tanısı yapılmıştır. Gövde uygulamaları için ise in vivo şartlarda etkili olan toplam 6 bakteri ve 1 fungus izolatu seçilmiş ve saksı denemelerinde domates erken yanıklık hastalığının kontrolü üzerine etkinlikleri bakımından test edilmiştir. Hastalık şiddeti açısından değerlendirildiğinde toprak üstü biyoajan uygulamalarından oluşan ET 4 fungal, TV-12H ve TV-17C bakteriyel izolatlarının en başarılı sonucu verdiği görülmüştür.

Çalışmada kullanılan ve etkili oldukları belirlenen fungus ve bakteri izolatlarının bitki beslemesi üzerine etkinliklerinin dolaylı olarak hastalığa karşı bir direnç sağladığı da düşünülmüştür. İn vivo şartlarda etkili olan *T. harzianum* ve *B. amyloliquifaciens* izolatlarının domates yetiştiriciliğinde, domates erken yanıklık hastalığının kontrolünde biyokontrol ajan olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

Elde edilen veriler ışığında, bundan sonra yapılacak çalışmalarda, *A. solani*'yi kontrol eden biyolojik mücadele ajanlarının arazi koşullarında uygulanılabilirliğinin incelenmesi ve bölgede yetiştirilen diğer kültür ve yabani bitkilerle olan ilişkilerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

**KAYNAKLAR**

- Agarwal, T., Malhotra, A., Biyani, M., Trivedi, P.C., 2011. In vitro interaction of *Trichoderma* isolates against *Aspergillus niger*, *Chaetomium* sp. and *Penicillium* sp. *Ind J Fundam Appl Life Sci* 1(3):125-128
- Agrios, G. N., 1988. *Plant pathology*, Academic Pres Limited 24-28 oval, London NW1, 7DX, 803 pp.
- Ajilogba, C.F., Babalola, O.O. and Ahmad, F., 2013. Antagonistic effects of *Bacillus* species in biocontrol of tomato *Fusarium* wilt. *Studies on Ethno-Medicine*, 7(3): 205-216.
- Akhtar, K.P., Saleem, M.Y., Asghar, M., Haq, M.A. 2004. New Report of *Alternaria alternata* Causing Leaf Blight of Tomato in Pakistan. Nuclear Institute for Agriculture and Biology, Jhang Road, PO Box 128, Faisalabad, Pakistan. *Plant*.
- Akrami, M. 2015. Effects of *Trichoderma* spp. in Bio-controlling *Fusarium solani* and *F. oxysporum* of Cucumber (*Cucumis sativus*). *J. Appl. Environ. Biol. Sci.*, 4(3)241-245.
- Akrami, M., Khiavi, H.K., Shikhlini, H. and Khoshvaghtei, H. 2012. Bio controlling two pathogens of chickpea *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* by different combinations of *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma virens* under field condition. *International Journal of Agricultural Science Research*, 1(3), 41-45.
- Aksoy, H. M., Ozman-Sullivan, S.K., Ocal, H., Celik, N. and Sullivan, G.T., 2008. The effects of *Pseudomonas putida* biotype B on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 46 (1-4): 223-230
- Aksoy, H.M., Mennan, S., 2004. Biological Control of *Heterodera Cruciferae* (Tylenchida: Heteroderidae) Franklin 1945 with Fluorescent *Pseudomonas* spp. *Journal of Phytopathology*, 152(8-9): 514-518.
- Aksoy, H.M., Yilmaz, N.D.K., 2008. Antagonistic effects of natural *Pseudomonas putida* biotypes on *Polymyxa betae*, the vector of Beet necrotic yellow vein virus in sugar beet. *Journal of Plant Diseases And Protection*, 115 (6): 241-246.
- Ali, H. and Nadarajah, K. 2014. Evaluating the efficacy of *Trichoderma* spp and *Bacillus substilis* as biocontrol agents against *Magnaporthe grisea* in rice. *Australian J. Crop. Sci.*,;8(9): 1324-1335
- Altınok H.H. and Erdoğan, O. 2015. Determination of the In vitro Effect of *Trichoderma harzianum* on Phytopathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Not Bot Horti Agrobo*, 43(2):494-500
- Altomare, C, Norvell, W.A., Bjrbrkman, T. and Harman, G.E. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plantgrowth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied Environ Microbiol* 65: 2926-2933.
- Anonim, 2016. Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı Domates Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele.s.34.<http://kilis.tarim.gov.tr/Belgeler/Yeti%C5%9Ftiricilik%20D%C3%B6k%C3%BCmanlar%C%B1/domates.pdf>. (Erişim Tarihi: 02.01.2015).
- Anonim, 2017a. Bitki sağlığı standart ilaç deneme metodları. <https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/Sitandard/Sebze%20Hastal%C4%B1klar%C4%B1%20>

- Standart%20%C4%B0la%C3%A7%20Deneme%20Metotlar%C4%B1.pdf. (Erişim Tarihi: 20.07.2016).
- Anonim, 2017b. <https://www.google.com.tr/search?q=alternaria+solani+&tbs=isch&tbs=ring#imgdii=SNyyesjNZcNWqM:&imgc=NiHqdl1Pvfo94M>: (Erişim Tarihi: 15.05.2016).
- Asran-Amal A., Moustafa-Mahmoud, S.M., Sabet, K.K. and El Banna, O.H. 2010. In vitro antagonism of cotton seedlings fungi and characterization of chitinase isozyme activities in *Trichoderma harzianum*. Saudi Journal of Biological Sciences, 17, 153–157.
- Aşkın, A. 2008. Ankara İli Ayaş, Beypazarı ve Nallıhan İlçelerindeki domates fidelerinde Çökerten Hastalığına neden olan bazı fungal patojenlere karşı patojen olmayan *Pseudomonas*' ların etkisinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Doktora Tezi. s.10-11 Ankara.
- Aşkın, A., Katırcıoğlu, Y.Z. 2008. Ankara ili Ayaş, Beypazarı ve Nallıhan ilçelerinde domates fideliklerindeki çökerten etmenlerinin tespiti ve patojenisite durumları Bitki Koruma Bülteni. 48(2), 49-59.
- Aşkın, A., Katırcıoğlu, Y.Z. 2009. Domates fideliklerinde çökerten hastalığına neden olan *Pythium deliense*'ye karşı florasın *pseudomonas*' ların etkisinin belirlenmesi Bitki Koruma Bülteni. 49(4), 169-182.
- Aysan, Y. ve Çınar, Ö. 2002. Tohum kökenli *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı antagonistlerin etkisi, Türkiye V. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri Kitabı. 4-7 Eylül 2002, Erzurum. S: 409-416.
- Aysan, Y., Karatas, A. ve Cinar, O. 2003. Biological control of bacterial stem rot caused by *Erwinia chrysanthemi* on tomato, Crop Protection, 22(6), 807-811.
- Aysan, Y., Tokgonul, S., Cinar, O. ve Kuden A. 1999. Biological, chemical, cultural control methods and determination resistant cultivars to fire blight in pear orchards in the eastern Mediterranean region of Turkey, Proceedings of the Eighth International Workshop On Fire Blight, ACTA Horticulturae, 489, 549-552.
- Babu, S., Seetharaman, K., Nandakumar, R., Johnson, I. 2000. Biocontrol efficacy of *Pseudomonas fluorescens* against *Alternaria solani* and tomato leaf blight disease. Department of Plant Pathology, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore 641 003, India. Annals of Plant Protection Sciences 2000 vol.8, no.2, p.252-254.
- Bae, S, J., Mohanta, T.K., Chung, J.Y., Ryu, M., Park, G., Shim, S., Hong, S.B., Seo, H., Bae, D.W., Bae, I., Kim, J.J. and Bae, H., 2016. *Trichoderma* metabolites as biological control agents against Phytophthora pathogens. Biological Control, 92: 128-138.
- Barari, H. 2016. Biocontrol of tomato *Fusarium* wilt by *Trichoderma* species under in vitro and in vivo conditions. Cercetări Agronomice în Moldova 49 (1), 91-98.
- Basım, H. ve Katırcıoğlu, Y.Z. 1990. Bazı izolatlarının önemli bazı bitki patojeni funguslara karşı in vitro koşullarda antagonistik etkilerinin araştırılması, Türkiye II. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri Kitabı. 26-29 Eylül 1990, Ankara. 109-118.
- Basumatary M., Dutta, B.K and Singha, D.M. 2015. Some in vitro Observations on the Biological Control of *Sclerotium rolfsii*, a Serious Pathogen of Various

- Agricultural Crop Plants. Journal of Agriculture and Veterinary Science, 8(2), 87-94.
- Baysal, O., Çalışkan, M. ve Yeşilova, O. 2008. An inhibitory effect of a new *subtilis* strain (EU07) against *Fusarium oxysporum* f. sp *radicis-lycopersici*, Physiological and Molecular Plant Pathology, 73(1-3), 25-32.
- Bora, T., 2002. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savasta Gelismeler ve Türkiye’de Durum. Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi Çağrılı Bildirisi, 4-7 Eylül 2002. Erzurum.
- Bora, T., Özaktan, H., Gore, E. ve Aslan, E. 2004. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp *melonis* by wettable powder formulations of the two strains of *Pseudomonas putida*, Journal of Phytopathology, 152 (8-9), 471-475.
- Bora, T., Özaktan, H., ve Yıldız, M. 1995. Tarla koşullarında kavun ve karpuz *Fusarium* solgunluklarının siderofor üreten *fluorescens pseudomonas*’ larla önlenmesi üzerine araştırmalar, VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 26-29 Eylül 1995, Adana, 216-219.
- Brame, C. ve Flood, J.,1983. Antagonism of *Aureobasidium pullulans* towards *Alternaria solani*. Tarns Br. Mycol. Soc. 81, 621-624.
- Chandler J.A., Lang J.M., Bhatnagar S., Eisen J.A., Kopp A., 2011. Bacterial communities of diverse *Drosophila* species: ecological context of a host-microbe model system. PLoS Genetics 7:e1002272
- Chang, C.T., Lo, H.F., Wu, C.J. and Sung, H.Y. 2007. Purification and properties of chitinase from cabbage. Biochem. Int. 28:707-715
- Chohan, S., Perveen, R., Mehmood, M.A., Naz, S., and Akram, N. 2015. Morpho-physiological studies, management and screening of tomato germplasm against *Alternaria solani*, the causal agent of tomato early blight. Int. J. Agric. Biol., 17: 111-118
- Cotxarrera, L., Trillas-Gay, M.I., Steinberg, C., Alabouvette, C., 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *fusarium* wilt of tomato, Soil Biol. Biochem., 34, 467-476.
- Çakmakçı, R. 2005. “Bitki gelişimini teşvik eden rizobakterilerin tarımda kullanımı”, Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi. Derg.36, 97-107.
- Çakmakçı, R., Erman, M., Kotan, R., Çığ, F., Karagöz, K., Sezen, M., 2010. Growth promotion and yield enhancement of sugar beet and wheat by application of plant growth promotion rhizobacteria. International Conference on Organic Agriculture in Scope of Environmental Problems., 03-07 February. Famagusta, Cyprus Island, 198-202.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Atasever, A., Kotan, R., Erat, M., Varmazyari, A., Türkyılmaz, K., Haznedar, A. ve Sekban, R. 2014. Development of plant growth
- Çığ, F., Sönmez, F., Karagöz, K., Erman, M., Çakmakçı, R., Kotan, R., Amak, Z., 2014. Investigation of the impacts of nitrogen fixing and phosphate dissolving bacteria isolated in Lake Van Basin on the development of Kirik Wheat within the context of sustainable agriculture. International Congress on Green Infrastructure and Sustainable Societies/Cities, 8-10 May 2014, Izmir, Turkey, p: 205.
- Çığışar, A.İ., Momol, M.T. 1995. UV ve IR katkılı polietilen örtülerin sera Domatesinde Fungal Hastalıkların Gelişimine Etkisi. Bitki Koruma Bülteni Cilt:35 No:3-4 s. 159

- Dadasoglu, F., Karagöz, K., Kotan, R., Sarihan, F., Yildirim, E., Saraç, S. and Harmantepe, F. B., 2013. Biolarvicidal Effects of Nine *Bacillus* Strains Against Larvae of *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae) and Nontarget Organisms. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 23 (1): 35-42.
- De-Matos, A.P. 1983. Chemical and microbiological factors influencing the infection of lemons by *Geotrichum candidum* and *Penicillium digitatum*. Ph. D. Thesis, University of California, Riverside, 106 p.
- Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M. ve Chauhan, S.M. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria, *Microbiological Research* 159, 371-394.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y. ve Vanderleyden, J. 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize, *Biol. Fert. Soils* 36, 284-297.
- Döken, M., T., Demirci, E., Zengin, H., 2005. Fitopatoloji (Besinci Baskı). Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ofset Tesisi, Erzurum.
- Eken, C. and Demirci, E. 1997. Using fungi in biological control. *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fak. Derg.*, 28(1), 138-152.(in Turkish).
- El- Rafai. İ.M., Asswah, S.M.W., and Awdalla, O.A. 2003. Biocontrol of Some Tomato Disease Using Some Antagonistic Microorganisms *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6: 399-406.
- Elad, Y. and Kapat, A. 2000. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *EurJ Plant Pathol* 105: 177-189.
- Erman, M., Kotan, R., Çakmakçı, R., Çığ, F., Karagöz, K. and Sezen, M., 2010. Effect of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing *Rhizobacteria* isolated from Van Lake Basin on the growth and quality properties in wheat and sugar beet. Turkey IV. Organic Farming Symposium, 28 June - 1 July 2010, Erzurum, Turkey. p:325-329
- Eşitken, A., Karlıdag, H., Erçisli, S. and Sahin, F., 2002. Effects of foliar application of *Bacillus* OSU-142 on the yield, growth and control of shot-hole disease (Coryneum blight) of Apricot. *Garten bauwissenschaft*, 67 (4): 139-142.
- Eşiyok, D. 2012. Kışlık ve Yazlık Sebze Yetiştiriciliği. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü.
- FAO, 2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations, ([www.faostat.fao.org/site/339/default.aspx](http://www.faostat.fao.org/site/339/default.aspx)).
- Feng, W., Zheng, X. 2007. Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo. Zhejiang University, Department of Food Science and Nutrition. 310029 Hangzhou, Zhejiang, People's Republic of China September 2007, Pages 1126-1130.
- Figueirêdo G.S., Figueirêdo, L.C., Cavalcanti, F.C.N., Santos, A.C., Costa, A.F. and Oliveira, N.T. 2010. Biological and Chemical Control of *Sclerotinia sclerotiorum* using *Trichoderma* spp. and *Ulocladium atrum* and Pathogenicity to Bean Plants. *Brazilian Archives Of Biology and Technology*, 53(1), 1-9.
- Flood, J. and Ress, J. *Physiological and Molekuler Plant Pathology*. Volume 28, Issue 1, January 1986, Pages 79-88

- Foolad, M.R., Ntahimpera, N., Christ, B.J. and Lin, G.Y., 2000. Comparison of field, greenhouse and detached-leaflet evaluations of tomato germ plasm for Early Blight resistance. *Plant Dis.* 84: 967-972
- Ghisalberti, E.L. and Sivasithamparam, K., 1991. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp, *Soil Biol. Biochem.*, 23, 1011-1020.
- Göğüşgeren, N. 2009. *Trichoderma* Spp.'E Etkili Antibiyotik Üreten *Bacillus* Spp. Suşlarının Saptanması ve Bunların *Ganoderma Lucidum* Misel Kültürlerinde İn Situ Kullanılma Olanaklarının Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 70 s.
- Göktürk, T., Tozlu, E and Kotan R 2017. Investigation of prospects of entomopathogenic bacteria and fungi for biological control of *Ricania similans* (Walker 1851) (Hemiptera: Ricaniidae), *Pakistan Journal of Zoology*, in press.
- Grondona, I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, M.D., Mateos, P.F., Bridge, P.D., Monte, E. and Garcia-Acha, I., 1997. Physiological and Biochemical Characterization of *Trichoderma harzianum*, a Biological Control Agent against Soilborne Fungal Plant Pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(8), 3189-3198.
- Grondona, I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, M.D., Mateos, P.F., Bridge, P.D., Monte, E. and Garcia-Acha, I. 1997. Physiological and Biochemical Characterization of *Trichoderma harzianum*, a Biological Control Agent against Soilborne Fungal Plant Pathogens. *Applied And Environmental Microbiology*, 63(8), 3189-3198.
- Guo, S.H., Chen, J.K. and Lee, W.C. 2004. Purification and characterization of extracellular chitinase from *Aeromonas schubertii*. *Enzyme and Microbial Technology*, 35: 550-556.
- Haggag, K.H.E. and El-Gamal, N.G., 2012. In vitro Study on *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* Isolates Causing the Damping Off and Root Rot Diseases in Tomatoes. *Nature and Science*, 10(11), 16-25.
- Hajek, A.E. and Leger, R.J., 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annu. Rev. Entomol.*, 39, 293-322.
- Harman G.E., 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathol.* 96: 190-194.
- Harman, G.E., 2000. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *T. harzianum* T-22. *Plant Diseases*, 84: 377-393.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Lorito, I.M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev* 2: 43-56.
- Hasenekoğlu, İ., 1991. Soil Microfungi (In Turkish). Erzurum/Turkey, Atatürk University Press. Yayınları, No, 689, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Yayınları 11: 1-7.
- Hjeljord, L.G., Stensvand, A., Tronsmo, A., 2000. Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial *Trichoderma* products to control *Botrytis cinerea* and *Mucor piriformis* in greenhouse strawberries, *Biol. Control*, 19, 149-160.
- Howel, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the of biological control disease the history and evolution current concepts. *Plant Dis.* 87, 4-10.

- Inbar, J., Menendez, A. and Chet, I. 1996. Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control. Soil Biol. Biochem, 28(6), 757-763.
- İmamoğlu, Ö. 2011. Biyokontrolde Doğal Ürünlerin Kullanılması; Kitosan. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 68(4). s. 218.
- Ji, H., Ramsey, M.R., Hayes, D.N., Fan, C., McNamara, K., Kozłowski, P., Torrice, C., Wu, M. , Shimamura, T., Perera, S.A., 2006. Structure, expression, and functional analysis of the hexokinase gene family in rice (*Oryza sativa* L.). PLANTA 224(3):598-611
- John, R.P., Tyagi, R.D., prevost, D., Brar, S.K., Pouler, S. and Surampalli, R.Y. 2010. Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* sp. *adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. Crop Protection 29 (2010) 1452e1459
- Kandemir, D., Kurtar, E.S., Demirsoy, M. 2016. Türkiye Örtüaltı Domates Yetiştiriciliğindeki Gelişmeler. ResearchGate. September 2016, p 22.
- Karagöz, K., 2009. Bazı PGPR Bakterilerin Marulun Gelişimi ve Marul Yaprak Leke Hastalığı Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, s 95.
- Karagöz, K., Kotan, R., Dadaşoğlu, F. and Dadaşoğlu, E., 2016. Identification and characterisation of potential biofertilizer bacterial strains. International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences. 020024: 114-118.
- Karahan, O. ve Maden, S., 1978. Domateslerde Erken Yanıklığı (*Alternaria solani* Sorau.) Yaprak Lekesi (*Stemphylium botryosum* Wallr.) hastalıklarına karşı ilaç denemesi. Ziraat Mücadele Araştırma Yıllığı. No. 12,123.
- Khan, N., Mishra, A., Nautiyal, C.S. 2012. *Paenibacillus lentimorbus* B-30488r controls early blight disease in tomato by inducing host resistance associated gene expression and inhibiting *Alternaria solani*. v.62. issue 2. p 65-74.
- Kleifeld, O. and Chet, I. 1992. *Trichoderma harzianum* interaction with plants on effect on growth response. Plant Soil 144, 267-272.
- Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D.C., 1990. Methods in Phytobacteriology Akademia Kiado, Budapest, p547.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D., 1964. Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Methods in Phytobacteriology, Phytopathology, 54: 474-477.
- Koike, S. T., Gladders, P., Paulus, A. O. 2010. Vegetable Diseases: A Color Handbook, 300p, Manson Publishing Ltd.
- Kotan R., Sahin, F. Demirci E., Ozbek A., Eken C. ve Miller, S.A. 1999. Evaluation of antagonistic bacteria for biological control of *Fusarium* dry rot of potato, Phytopathology 89, 41.
- Kotan, R. 1997. Biber ve domatesteki bakteriyel leke hastalığı (*Xanthomonas ampestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye.)'nın biyolojik ve kimyasal kontrolü, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Yüksek Lisans Tezi. 47.
- Kotan, R. 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen patojen ve saprofitik bakteriyel organizmaların klasik ve moleküler metotlar ile tanısı ve biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Doktora Tezi. s 217.

- Kotan, R. and Sahin, F. 2006. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and nutritional similarity in carbon source utilization of pathogen and its potential biocontrol agents, *Journal of Turkish Phytopathology*. 35 (1-3), 1-13.
- Kotan, R., 1998. Biological and chemical control of bacterial leaf spot (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye.) on pepper and tomato. Atatürk University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Plant Protection, Master Thesis, p. 45.
- Kotan, R., Dikbaş, N. and Bostan, H., 2009. Biological control of post harvest disease caused by *Aspergillus flavus* on stored lemon fruits. *African Journal of Biotechnology*, 8(2):209-214.
- Kotan, R., Sahin F. 2002. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bakteriyel organizmaların kullanılması. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 31(1): 111- 119.
- Kotan, R., Sahin, F. ve Ala, A. 2004. Nutritional similarity in carbon source utilization of *Erwinia amylovora* and its potential biocontrol agents, *Journal of Turkish Phytopathology*. 33 (1-3), 25-38.
- Kotan, R., Sahin, F., and Ala, A., 2005. Identification and pathogenicity of bacteria isolated from pomefruit trees in eastern Anatolia region of Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113 (1), 8-13.
- Kotan, R., Sahin, F., Demirci, E. and Eken, C., 2009. Biological control of the potato dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. *Biological Control*, 50:194-198
- Kotan, R., Sahin, F., Demirci, E. ve Eken, C. 2002. Patates (*Solanum tuberosum* L.)'te kuru çürüklüğe sebep olan fungal patojenlerden *Fusarium solani*'ye karşı potansiyel bakteriyel etmenler kullanılarak biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması, Türkiye V. Biyolojik Mücadel Kongresi. Eylül 2002. Erzurum. 381-390.
- Kuzu, S. 2008. Kitinaz Üreten *Bacillus* İzolasyonu, Enzimin Kısmi Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Adana, 82 s.
- Lahkar, J., Borah, S.N., Deka, S., Ahmed, G. 2015. Biosurfactant of *Pseudomonas aeruginosa* JS29 against *Alternaria solani*: the causal organism of early blight of tomato. *BioControl: Issue 3*.
- Latha, P. Anand, T. Ragupathi, N. Prakasam, V. Samiyyappan, R. 2009. Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against *Alternaria solani*. *Biological Control Volume 50, issue 2*. 85–93s.
- Lee, K.P., Kim, C.N., Yu, J.H. and Oh, D.H., 1990. The production and purification of chitinase from *Aeromonas salmonicida* YA7-625. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, 18: 599-606
- Lelliot, R.A. and Stead, D.E., 1987. *Methods For the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*. Black Well Scientific Publication, 157 p, Oxford, USA.
- Li-hui, G. Yu-hu, Z. Lian-mei, T. Shu-xia, L. 2010. Antagonism of *Trichoderma* T-115D against *Alternaria solani*. Institute of Agricultural Sciences, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2. Daqing Branch, Heilongjiang Academy of Sciences Daqing 163319, China.

- Mari M., Guizzardi M., Pratella G.C., 1996. Biological control of gray mould in pears by antagonistic bacteria. *Biological Control*, 7, 30–37.
- Mauch, F., Mauch-Mani, B. and Boller, T., 1998. Antifungal Hydrolases Pea Tissue. Inhibition of Fungal Growth by Combination of Chitinases and Glucanases. *Plant Physiology*, 88:325-333.
- Mc Millan, S. 2007. Promoting growth with PGPR. *The Canadian Organic Grower*. s. 32-34.
- Mohammadi, P., Tozlu, E., Kotan, R. and Kotan, M.Ş., 2017. Potential of some bacteria for biological control of post harvest citrus green mould caused by *Penicillium digitatum*. *Plant Protect. Sci.*, 53 (3): 134-143.
- Ngoc, N.K. 2013. Management Of Early Blight Of Tomato Caused By *Alternaria solani* (Ellis And Martin) Jones And Grout. Master Of Science (Agriculture). Department Of Plant Pathology University Of Agricultural Sciences Bengaluru.
- Oldaç, Ş., Ülke, G. ve Mirik, M. 2002. Domates bakteriyel leke hastalığına (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) karşı biyolojik mücadele çalışmaları, Türkiye V. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri Kitabı. 4-7 Eylül 2002, Erzurum. S: 391-398.
- Orhan, İ., Biçici, M. 2012. İki Ticari Biyofungusit ve Bir Mikorizal Preparatın Domateste *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis & Shoemaker Kök ve Kökboğazı Çürüklüğü Hastalığına Etkinliği Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi Cilt:27-2 s. 69
- Ozan, S., Maden, S. 2005. Ankara İli Domates Ekiliş Alanlarında Yapraklarda Hastalık Oluşturan Fungal Etmenler, Yaygınlıkları ve Çıkış Zamanları. *Bitki Koruma Bülteni* 45(1-4): 45-54
- Öktüren, F., Sönmez, S., Kocabaş, I. 2005. Tarımda Potasyumun Yeri ve Önemi Ege Üniversite 50. Yıl Kampüsü Dışı Etkinlikleri Çalıştay Eskişehir 3-4 Ekim. s. 98.
- Örtücü, S., 2012. İki Noktalı Kırmızı Örümcek [(*Tetranychus urticae* (Acari, Tetranychidae)] İle Biyolojik Mücadelede Kullanılabilecek Entomopatojen Fungusların İzolasyonu Ve Biyopestisit Olarak Kullanılabilecek Potansiyellerinin Belirlenmesi, Atatürk Üniversitesi, Doktora Tezi, 144 s.
- Özaktan, H. ve Bora, T. 2006. “Studies on biological control of fire blight with some antagonistic bacteria”, *Proceedings of the Xth International Workshop on Fire Blight, ACTA Horticulturea*, 704, 337-340.
- Özaktan, H. ve Gezen, M. 2002. “Kültür mantarında bakteriyel benek (*Pseudomonas tolaasii*) hastalığının biyolojik kontrolünde fluorescent *pseudomonas*' ların etkisi üzerine bir çalışma”, Türkiye V. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri Kitabı. 4-7 Eylül 2002, Erzurum. S: 371-380.
- Özaktan, H., Aysan, Y., Yıldız, F., Kınay, P. 2010. Fitopatolojide biyolojik mücadele *Türk. biyo. muc. derg.* 1 (1): 61-78
- Özaktan, H., Kıdoğlu, F., Gül, A., Tüzel, Y., Özel, N. ve Aslan, E. 2009. Kök bakterilerinin topraksız ortamda yetiştirilen domates bitkisinde verime ve bakteriyel benek hastalığına (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) etkisi, Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 15-18 Temmuz 2009, Van. s: 332.
- Parmar, H.J., Bodar, N.P., Lakhani, H.N., Patel, S.V., Umrana, V.V. and Hassan, M.M. 2015. Production of lytic enzymes by *Trichoderma* strains during in vitro antagonism with *Sclerotium rolfsii*, the causal agent of stem rot of groundnut. *African Journal of Microbiology Research*, 9(6), 365-372.

- Paterson, I.C., Charnley, A.K., Cooper, R.M. and Clarkson, J.M., 1994. Specific induction of a cuticle-degrading protease of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Microbiology*, 140, 185-189.
- Pearson, R. C. and Hall, H.D.1975. Factors affecting the occurrence and severity of black mold of ripe tomato fruit caused by *Alternaria alternata*. *Phytopathology*65: 1352-1359.
- promoting bacterial based bioformulations using solid and liquid carriers and evaluation of their influence on growth parameters of tea, 9. International Soil Science Congress on The Soul of Soil and Civilization, 14-16 October, 2014, Side, Antalya, Turkey, p: 800-808.
- Puluputuri, S.R. Dayapulae, J.R. Elangova, M. 2014. Antifungal activity of gliotoxin from *Trichoderma viride* against *Fusarium* sp. and *Alternaria* sp. *Asian Journal of Multidisciplinary Studies*. Volume 2, Issue 9. Department of Biotechnology, Reva Institute of Science and Management, Kattigenahalli, Yelahanka, Bangalore-560064, India.
- Rajo F.G., Reynoso, M.M., Ferez, M., Chulze, S.N., Torres, A.M. (2007). Biological control by *Trichoderma* species of *Fusarium solani* causing peanut brown root rot under field conditions. *Crop Protection*, 26, 549–555.
- Roberto Lanna Filho, R., Silva Romeiro, R., and Alves, E. 2010. Bacterial spot and early blight biocontrol by epiphytic bacteria in tomato plants. Universidade Federal de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras, MG, Brazil. vol.45, no.12, p.1381-1387.
- Roco A, Perez LM 2001. In vitro biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* on *Alternaria alternata* in the presence of growth regulators. *Electronic J. Biotechnol.* 4, Available from <http://www.ejbiotechnology.info/ntent/vol4/issue2/full/1/1.pdf>.
- Sallam, N.M.A., Abo-Elyousr, K.A.M. and Hassan, M.A.E., 2008. Evaluation of *Trichoderma* Species as Biocontrol Agents for Damping-Off and Wilt Diseases of *Phaseolus vulgaris* L. And Efficacy of Suggested Formula Egypt. *J. Phytopathol.*,36(1-2), 81-93.
- Sands, D. C., 1990. Physiological criteria-determinate tests. In: *Methods in Phytobacteriology*. (Edts. Klement, Z., Rhudolf, K., Sands, D.C.) Acedemia Kiado, Budapest, Hungary.
- Saravanakumar, K., Yu, C., Dou, K., Wang, M., Li, Y. and Chen, J. 2016. Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum*. *Biological Control* 94, 37–46.
- Sharma, N., ve Sharma, S., 2006. Control of Foliar Diseases of Mustard by *Bacillus* From Reclaimed Soil. (online) Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed&uid=16870414&cmd=showdetailview&indexed>
- Sharma, P., 2011. Complexity of *Trichoderma-Fusarium* interaction and manifestation of biological control. *Aust J Crop Sci* 5(8):1027-1038
- Skidmore, A. M. and Dickinson, C.M. 1976. Colony Interactions and Hyphal Interference Between *Sepatoria nodorum* and *Phylloplane* Fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 66: 57 -64.

- Soylu, S., Soylu, E. M., Bozkurt, İ. A. ve Yiğitbaş, H. 2002. "Farklı bölgelerde yetiştirilen biberlerin rhizosferlerinden izole edilen bakteri izolatlarının toprak kökenli fungal patojenlerin gelişimi üzerine olan etkinliklerinin in vitro koşullarda belirlenmesi", Türkiye V. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri Kitabı. 4-7 Eylül 2002, Erzurum. S: 399-408.
- Sultan, M. 2012. Biological control of leaf pathogens of tomato plants by *Bacillus subtilis* (strain FZB24): antagonistic effects and induced plant resistance. Rheinischen Friedrich Wilhelms-Universität. Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät. Doktor der Agrar wissen schaften. Damaskus, Syrien.
- Sundaramoorthy, S., Balabaskar, P. 2013. Biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. Against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* J Appl Biol Biotechnol 1(3):036-040.
- Suzuki, K., Suzuki, M., Tayıyoji, M., Mıkaidou, N. and Watanabe, T. 1998. Chitin-binding protein (CBP-21) in the culture supernatant *Serratia marsescens*. 2170. Bio. Sci. Biothecnol. Biochem. 62:128-135.
- Szekeres A. 2006. Echophysiological and molecular investigation of *Trichoderma* strains isolated from winter wheat rhizosphere. Acta Biological Szeged, s. 49: 61.
- Tozlu E., Mohammadi P., Senol Kotan M., Nadaroglu H. and Kotan, R., 2016. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, the causal agent of white mould disease in red cabbage, by some bacteria. Plant Protection Science, 52(3): 188-198.
- Tozlu, E, Tekiner, N and Kotan, R., 2017a. Screening of *Trichoderma harzianum* Rifai (1969) isolates of domestic plant origin against different fungal plant pathogens for use as biopesticide. ICANAS, 18-21 April, Antalya, Turkey, will be oral presentation.
- Tozlu, E., Tekiner, N., Kotan, R. and Örtücü, S., 2017b. The investigation of the biological control of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (1912). International Conference on Agriculture, Forest, Food, Sciences and Technologies (ICAFOT), 15-17 May 2017, Cappadocia, TURKEY, 514 p.
- TUIK, 2016, Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr>.
- Turhan, G., Hayat, T. 1994. Domateste *Alternaria solani* (Ell. and G.Martin) Sor. İle Biyolojik Savaşta Bazı Yeni Antagonistlerin Etkinliği Üzerine Araştırmalar Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü. İzmir s. 255.
- Uygun, N. Ulusoy, M.R., Satar, S. 2010. Biyolojik Mücadele Türk. biyo. müc. derg. 1 (1): 1-14
- Ünsal, B. 2010. Organik Domates Yetiştiriciliğinde *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler İle Mücadele Olanakları. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. s.12.
- Valenzuela, N. L., Angel, D.N., Ortiz, D. T., Rosas. R. A., Garcia Ortiz, C. F., Santos, M. O. 2015. Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on Maradol papaya fruit. Biological Control, San Diego, v. 91, n. 12, p. 88-93.
- Varol, A., F 2008. Domates Fide Kök Çürüklüğü Etmenlerine (*Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp.) Karşı Bazı Dezenfektanların Etkililiğinin

- Araştırılması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. s. 6-16 ve 71 Bornova-İZMİR
- Verma M., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y. and Val'ero, J.R. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37:1–20.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers, *Plant and Soil* 255;571-586.
- Vinale, F.R., Scala, F., Ghisalberti, E.L., Lorito, M., Sivasithamparam, K. 2006. Major secondary school metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different Phytopathogens *Lett Appl. Microbiol.* 43, 143-148.
- White T.J., Brauns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M.A. INNIS, D.H. GELFAND, J.J. SNINSKY, T.J. WHITE, eds. *PCR Protocols. A guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, 315-322.
- Yaman, M. ve Demirbağ, Z. 2000. Isolation, identification and determination of insecticidal activity of two insect-originated *Bacillus* spp, *Biologia*, 55 (3), 283-287 Bratislava.
- Yaman, M., Demirbağ, Z. ve Belduz, A, O. 2000. Isolation and insecticidal effects of some bacteria from *Euproctis chrysorrhoea* L. (Lepidoptera: *Lymanthriidae*) , *Acta Microbiol Pol* 49, 217–224.
- Yaman, M., Demirbağ, Z. ve Beldüz, A. O. 1999. Investigations on the bacterial flora as a potential biocontrol agent of chestnut weevil, *Curculio elaphas* L. (Coleoptera: *Curculionidae*) in Turkey, *Biologia* 54, 677–681.
- Yaman, M., Nalcacioglu, R. ve Demirbağ, Z. 2002. “Studies on bacterial flora in the population of the fall webworm, *Hyphantria cunea* Drury, (Lep., Arctiidae)”, *J. Appl. Entomol.*, 126, 470–474.
- Yazıcı, S., Yanar, Y. ve Karaman, İ., 2009. Domateste erken yanıklık hastalık etmeni *Alternaria solani* ile biyolojik mücadelede bazı mikroorganizmaların etkinliğinin araştırılması. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 15-18 Temmuz 2009, Van. s: 320.
- Yazıcı, S., Yanar, Y., Karaman, I. 2011. Evaluation of bacteria for biological control of early blight disease of tomato. *African Journal of Biotechnology* Vol 10, No 9.
- Yıldız, F., Yıldız, M. ve Erten, L. 2009. “Zeytinlerde *Verticillium solgunluğu* (*Verticillium dahliae* Kleb.) ile biyolojik savaşım çalışmaları”, Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 15-18 Temmuz 2009, Van. s: 317.
- Yiğit, F., 1993. Domateslerde Erken Yanıklık Hastalığına Karşı Biyolojik Savaşta *Verticillium psalliotae* Treschow'nin Etkinliği Üzerinde Araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi), Ege Üniversitesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı, İZMİR.
- Zhang Y, Bell A, Perlman PS and Leibowitz MJ 2000. Pentamidine inhibits mitochondrial intron splicing and translation in *Saccharomyces cerevisiae*. *RNA*, 6(7): 937-51

## ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2009 Yılında Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne girdi. 2013 yılında aynı fakültenin bitki koruma bölümünden mezun oldu. 2014 yılında Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitime başladı. Halen lisansüstü eğitimine devam etmektedir.

