

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**PATLICANDA KURŞUNİ KÜF (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.)
HASTALIĞINA KARŞI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ
RİZOBAKTERİLERİN TOHUM UYGULAMALARININ
ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Gülperi ÇİFÇİ**

**Danışman
Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK**

Yüksek Lisans Tezi

**Ağustos 2019
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**PATLICANDA KURŞUNİ KÜF (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.)
HASTALIĞINA KARŞI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ
RİZOBAKTERİLERİN TOHUM UYGULAMALARININ
ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Gülperi ÇİFÇİ**

**Danışman
Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK**

**Ağustos 2019
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Gülperi ÇİFÇİ



“Patlıcanda Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr) Hastalığına Karşı Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakterilerin Tohum Uygulamalarının Etkinliğinin Belirlenmesi ” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez  nerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Gülperi ÇİFÇİ

Danışman

Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK

Bitki Koruma ABD Bařkanı

Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL

Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK danışmanlığında GÜLPERİ ÇİFÇİ tarafından hazırlanan “Pathcanda Kurşuni Kuf (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr) Hastalığına Karşı Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakterilerin Tohum Uygulamalarının Etkinliğinin Belirlenmesi” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.


19/07/2019

JÜRİ:

Danışman : Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mustafa KÜSEK
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 06/08/2019 tarih ve 2019/47-29 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


06/08/2019

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla bana ve tüm öğrencilerine hiçbir desteğini esirgemeyen kıymetli hocam

Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK'a teşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel çalışmalarım sırasında karşılaştığım zorlukları aşmamda yardımlarını hiç eksik etmeyen Dr. Öğr. Üyesi Mahmut Alper ALTINOK'a, Arş. Gör. Ebubekir YÜKSEL, aynı laboratuvarı paylaştığım değerli arkadaşlarım Mehmet Fatih DERE, Gamze YÜKSEL, Kübra DELİSOY ve Abdul Khalil KARİMİ'ye teşekkür ederim.

Ayrıca; hayatımın her aşamasında sabır göstererek beni daima destekleyen aileme özellikle kıymetli anneme sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

Gülperi ÇİFÇİ

Ağustos 2019, KAYSERİ

**PATLICANDA KURŞUNİ KÜF (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) HASTALIĞINA
KARŞI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ RİZOBAKTERİLERİN TOHUM
UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Gülperi ÇİFÇİ

**Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2019
Danışman: Doç. Dr. H. Handan ALTINOK**

ÖZET

Ülkemiz açık alan ve örtü altı patlıcan (*Solanum melongena* L.) yetiştiriciliğinde sorun oluşturan ve polifag bir fungus olan *Botrytis cinerea* kurşuni küf hastalık etmeni, patlıcanın üretim alanlarında önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında bazı bitki gelişme düzenleyici rhizobakterilerin “*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (B379c), *B. cereus* (B10a), *B. amyloliquefaciens* (76A-1), *Pseudomonas aeruginosa* (P07-1, P07-4 ve 85A-2), *Pseudomonas putida* (P11-4)” patlıcanda kurşuni küf hastalığına karşı etkileri araştırılmıştır.

Değerlendirmeye alınan PGPR izolatlarının *B. cinerea* (Bc-TR07)’nın miseloyal gelişimini inhibe etmediği ya da çok sınırlı inhibe ettiği tespit edilmiştir (%21,11-33,33). *P. aeruginosa* (P07-1) izolatu %36,11 hastalık şiddeti (pozitif kontrole göre %58,07 etki) ile hem hastalığı engelleme hem de bitki gelişimini teşvik edebilme yeteneği ile en başarılı izolat olarak saptanmıştır. P07-1 izolatu, patojen inokulasyonundan 72 saat sonra toplam prolin içeriğini pozitif kontrole göre %27,00 oranında artırırken, savunma enzimlerinden katalaz (CAT) ve peroksidazı (POX) sırasıyla %22,80 ve %27,70 oranında artırmıştır. Bu izolatu CAT ve POX enzim aktiviteleri açısından sırasıyla *P. putida* (P11-4) ve *B. amyloliquefaciens* (76A-1) izolatları izlemiştir. Test edilen PGPR izolatlarının hastalık baskılama mekanizmalarının, bitki büyüme düzenleyici ve dayanıklılığı uyarıcı özellikleri olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Patlıcan, *Botrytis cinerea*, Kurşuni küf, PGPR

**DETERMINATION OF THE EFFECTIVENESS OF SEED APPLICATION OF
PLANT GROWTH REGULATING RHIZOBACTERIA AGAINST GRAY
MOLD DISEASE (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) IN EGGPLANT**

Gülperi ÇİFÇİ

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M. Sc. Thesis, August 2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. H. Handan ALTINOK

ABSTRACT

The gray mold disease, *Botrytis cinerea*, is a polyphagous fungus and causes significant yield losses both in field and greenhouse cultivation of eggplant (*Solanum melongena* L.) in Turkey. In this study, the inhibition potential of some Rhizobacteria isolates “*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (B379c), *B. cereus* (B10a), *B. amyloliquefaciens* (76A-1), *Pseudomonas aeruginosa* (P07-1, P07-4 and 85A-2), *Pseudomonas putida* (P11-4)” against the pathogen *B. cinerea* Pers.: Fr. (Bc-TR07) were investigated.

Obtained results showed that investigated PGPR isolates had very limited antagonistic efficacy on the mycelial growth of Bc-TR07 (21-33%). *P. aeruginosa* (P07-1) isolate with 36.11% disease severity (as compared to positive control with 58.07% disease severity) was the most efficient isolate both in prevention of the disease and promotion of plant growth. Following 72 hours pathogen inoculation, *P. aeruginosa* (P07-1) isolate increased proline content by 27.00% as compared to positive control and increased activity of defense enzymes (CAT and POX) respectively by 22.80 and 27.70%. for CAT and POX activity, this isolate was respectively followed by *P. putida* (P11-4) and *B. amyloliquefaciens* (76A-1) isolates. It was concluded that disease suppression mechanism of investigated PGPR isolates promoted plant growth and improved plant resistance against the diseases.

Keywords: Eggplant, *Botrytis cinerea*, Gray mold, Pgpr

İÇİNDEKİLER

PATLICANDA KURŞUNİ KÜF (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) HASTALIĞINA KARŞI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ RİZOBAKTERİLERİN TOHUM UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL ONAY	iv
ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
TABLolar LİSTESİ	xiii
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Patlıcanda Kurşuni Küf (<i>Botrytis cinerea</i>) Hastalık Etmeni	4
1.2. Bitkide Gelişme Düzenleyici Rizobakteriler	8
1.3. Literatür Çalışmaları	12
1.3.1. Kurşuni küf hastalık etmeninin biyolojik mücadelesi ile ilgili çalışmalar .	12
1.3.2. Kurşuni küf hastalık etmeninin mücadelesinde bitkide gelişme düzenleyici rizobakteriler ile ilgili çalışmalar	17

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal	22
2.1.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar	22

2.1.2. Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltilerin Hazırlanması	22
2.2. Metod.....	23
2.2.1. Rizobakteri İzolatlarının Antagonistik Etkilerinin Testlenmesi.....	23
2.2.2. PGPR Uygulamalarının Patlıcanda Kurşuni Küf Hastalığının Gelişimine Etkileri.....	24
2.2.3. Savunmada Rol Alan Enzimlerin Biyokimyasal Analizleri	25

3. BÖLÜM

BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Rizobakteri İzolatlarının Antagonistik Etkileri	27
3.2. PGPR Uygulamalarının Bitki ve Hastalık Gelişimine Etkileri.....	29
3.3. Savunma Enzimlerinin Biyokimyasal Analizleri	31

4. BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER.....	36
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ.....	52

KISALTMALAR VE SİMGELER

<u>Sembol</u>	<u>Anlamı</u>
°C	: Santigrad (Centigrade)
µg	: Mikrogram (1/1000 mg)
µl	: Mikrolitre
AUDPC	: Hastalık gelişim eğrisi altındaki alan (Area under disease progress curve)
BABA	: β-Amino Bütrik Asit
Bc-TR07	: <i>Botrytis cinerea</i>
BTH	: Benzo- (1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester
CAT	: Katalaz
cm	: Santimetre
dH ₂ O	: Distile su
ET	: Etilen
f. sp.	: Forma specialis
g	: Gram
GABA	: Gamma Aminobütrik Asit
ha	: Hektar
HCN	: Hidrojen siyanid
HR	: Hypersensitive reaction
IAA	: Indol Asetik Asit
INA	: Isonicotinik Asit
ISR	: Induced Systemic Resistance
JA	: Jasmonik Asit
kg	: Kilogram
L	: Litre
LAR	: Localized Acquired Resistance
M	: Molar

mg	: Miligram (1/100 g)
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mm	: Milimetre
NA	: Nutrient Agar
NaClO	: Sodyum Hipoklorit
nm	: Nanometre
PDA	: Patates Dekstroz Agar
PGPR	: Bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (Plant growth-promoting rhizobacteria)
POX	: Peroksidaz
PPO	: Polifenol Oksidaz
r	: Bakteri kolonisinin karşısındaki fungal koloninin çapı
R	: Fungal koloninin maksimum çapı
Rpm	: Dakikada devir sayısı
SA	: Salisilik Asit
sa	: Saat
SAR	: Systemic Acquired Resistance
spp.	: Türleri
subsp.	: Subspecies
UV	: Ultraviyole
WP	: Watable Powder (Islanabilir Toz Formülasyonlar)

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Dünya patlıcan üretiminin ülkelere göre dağılımı.....	1
Şekil 1.2.	<i>Botrytis cinerea</i> 'nın patlıcan bitkisinde oluşturduğu belirtiler.....	6
Şekil 1.3.	<i>Botrytis cinerea</i> hif gelişimi ve spor yapısı (Slide culture; lactophenol cotton blue).....	6
Şekil 1.4.	<i>Botrytis cinerea</i> 'nın yaşam çemberi.....	7
Şekil 1.5.	Induced systemic resistance (ISR) ve systemic acquired resistance (SAR) mekanizmaları.....	10
Şekil 3.1.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P07-1) izolatının <i>Botrytis cinerea</i> 'nın miselîyal gelişimine antagonistik etkisi.	28
Şekil 3.2.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P07-4) izolatının <i>Botrytis cinerea</i> 'nın miselîyal gelişimine antagonistik etkisi.	28
Şekil 3.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P07-1) izolatı uygulanan bitkilerin kurutulmamış hali (A), <i>P. aeruginosa</i> (P07-1) ve <i>P. aeruginosa</i> (P07-4) izolatı uygulanan bitkilerin kurutma işlemi yapılmış halleri (B).....	30
Şekil 3.4.	PGPR uygulaması yapılan kemer patlıcan fidelerinden genel görünüm (A), Nem çemberine alınmış patojen inokule edilmiş patlıcan bitkileri (B), PGPR'ların kurşuni küf hastalık gelişimine etkileri (C ve D).	30
Şekil 3.5.	Patojen (Bc-TR07) inokulasyonundan 24, 48, 72 sa, 7, 14 ve 21 gün sonra PGPR uygulamalarının patlıcanda prolin içeriğine etkisi.	32
Şekil 3.6.	Patojen (Bc-TR07) inokulasyonundan 24, 48, 72 sa, 7, 14 ve 21 gün sonra PGPR uygulamalarının patlıcanda katalaz (CAT) enzim aktivitelerine etkisi.	32
Şekil 3.7.	Patojen (Bc-TR07) inokulasyonundan 24, 48, 72 sa, 7, 14 ve 21 gün sonra PGPR uygulamalarının patlıcanda peroksidaz (POX) enzim aktivitelerine etkisi.	33

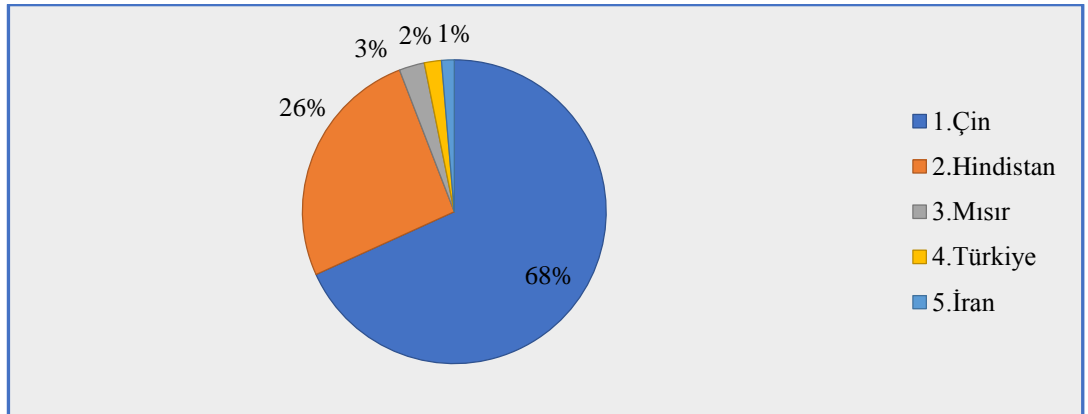
TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Rizobakteri izolatlarının <i>Botrytis cinerea</i> 'nın (Bc-TR07) miseliyal gelişimine etkisi.....	27
Tablo 3.2. PGPR ve bitki aktivatörlerinin patlıcanda kurşuni küf hastalığına etkileri.....	29



GİRİŞ

Patlıcan (*Solanum melongena* L.) geniş genotipik ve fenotipik çeşitliliğe sahip, 1000'den fazla türü içerisinde bulunduran *Solanaceae* familyasına ait yaygın olarak yetiştirilen bir sebze türüdür (Fukuoka *et al.*, 2010). Anavatanı Hindistan olup, Asya'da 1500 yıldır tarımının yapıldığı düşünülmektedir (Kashyap *et al.*, 2003). Hindistan'ın doğal bitkisi olan patlıcan, sıcak iklim kuşağında çok yıllık, ılıman bölgelerde ise tek yıllık olarak yetiştirilmektedir (Kalloo, 1993). Eski dünyanın endemik bitkisi olan patlıcan (*Solanum melongena* L.) (Daunay *et al.*, 2001), Türk ve Dünya mutfağında değişik şekillerde (konserve, pişirilerek, kurutulularak vb.) kullanılmasının yanında; geçmişte tıbbi bitki olarak, günümüzde ilaç sektöründe ve çevre düzenlemesinde süs bitkisi olarak kullanılmaktadır (Daunay ve Janick, 2007). Vitamin ve mineral içeriği bakımından diğer sebzeler kadar zengin ve güçlü bir antioksidandır. Bu nedenle insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Dünya Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) verilerine göre; Dünya toplam patlıcan üretimi yaklaşık 52,3 milyon ton olmuş ve bu üretimin %94'ü Asya'da, %3'ü Afrika'da ve yaklaşık %2'si Avrupa'da gerçekleşmiştir (Anonim, 2017a). Dünya üretiminde Çin 32,9 milyon ton ile ilk sırada yer alırken, Hindistan 12,5 milyon ton ile ikinci, Mısır 1,3 milyon ton ile üçüncü, Türkiye örtü altı ve açık alanda olmak üzere toplam 884 bin ton üretim ile dördüncü sıradadır (Anonim, 2017b). Şekil 1.1'de Dünya patlıcan üretim oranları verilmiştir.



Şekil 1.1. Dünya patlıcan üretiminin ülkelere göre dağılımı (Anonim, 2017b)

2018 TÜİK verilerine göre ülkemizde yörelere göre patlıcan üretiminde ilk sırayı 407,114 ton ile Akdeniz Bölgesi alırken, 101,583 ton ile Batı Karadeniz Bölgesi ikinci ve 101,527 ton ile Güneydoğu Anadolu Bölgesi üçüncü sıradadır. İller bazında 190,125 ton üretim ile Antalya ilk sırada gelmektedir. Mersin 170,376 ton üretimiyle ikinci, 51,550 ton üretimiyle Balıkesir üçüncü sıradadır. Bu illeri Hatay, Muğla, Adana ve Bursa izlemektedir (Anonim, 2018a). Patlıcan üretiminde ilk sırada yer alan Asya kıtası tüketiminde büyük pay sahibidir. Hindistan, Mısır, İran gibi üretimde üst sıralarda bulunan ülkeler ürettikleri patlıcanın çoğunu kendi iç pazarlarında tüketirler. Avrupa ise ürettiği patlıcanın çoğunu ihraç etmektedir. Ülkemizde üretilen patlıcanın büyük bir kısmı kendi iç pazarımızda tüketilmektedir. Patlıcan hem iç pazarda üreticiye kazandıran hem de ihracat değeri diğer sebzelerden yüksek olan bir sebzedir (Topçu ve Boyacı, 2008).

Patlıcan üretiminin hem açık alanda hem de örtü altında artarak devam etmesi günümüzde patlıcan üretimini; domates, biber ve hıyardan sonra dördüncü sıraya taşımıştır (Anonim, 2018b). Bitkisel üretimde verim ve kaliteyi olumsuz etkileyen faktörler; hastalık, zararlı ve yabancı otlardır. Hastalıkların oluşmasında farklı biyotik ve abiyotik (ışık noksanlığı, uygun olmayan atmosferik sıcaklıklar, düşük orantılı nem, yağış noksanlığı, şiddetli rüzgâr veya fırtına, dolu, kar, yıldırım vb.) etmenler rol oynamaktadır. Bu nedenle doğru yetiştirme teknikleri ile beraber doğru mücadele yöntemleri kullanılmalıdır. Biyotik faktörler arasında hastalık etmeni olarak bilinen; funguslar, bakteriler virüs ve viroidler, parazitik yüksek bitkilerin oluşturduğu hastalıklar büyük kayıplara yol açmaktadır.

Patlıcan üretimini sınırlayan başlıca hastalık etmenleri; domates bakteriyel benek hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*), *Fusarium* ve *Verticillium* solgunlukları, *Alternaria solani*, *Sclerotinia* çürüklüğü ileri dönemde külleme (*Leveillula taurica*), kurşuni küf (*Botrytis cinerea*)'dır. Bunların içerisinde kurşuni veya gri küf olarak bilinen *Botrytis cinerea*'nın meydana getirdiği hastalık açık alan ve örtü altı üretimde, hasat sonrasında (nakliye ve depolama) önemli ürün kayıplarına yol açmaktadır (Anonim, 2009).

Yukarıda bahsi geçen biyotik faktörlerle mücadelede çeşitli savaşım yöntemleri kullanılmakta, ancak en çok tercih edilen hem kolay uygulanabilirlik, hızlı sonuç verme

hem de zamandan tasarruf sağlattığı için kimyasal savaşımdır. Kimyasal savaşında toprak, çevre, yetiştirilen ürün, hatta insan zarar görmektedir.

Özellikle modern tarım uygulamalarında bitki hastalık ve zararlıları ile mücadelede kullanılan pestisit ve kimyasal gübre; doğal kaynakların insan sağlığını tehdit eder boyutlarda kirlenmesine, bu kimyasallara karşı dayanıklılığın oluşmasına, tarımsal üretim sistemlerinin sürdürülebilirliğinin olumsuz etkilenmesine sebep olmuştur. Bu sebeple tarımsal üretimde verimin artması, toprakların fiziksel ve kimyasal yapısının iyileştirilmesi, insan sağlığının korunması için çevre ile dost biyolojik ürünlerin (biopestisit, biopreparat ve mikrobiyal gübre) kullanımının yarar sağlayacağı bilinmektedir. Doğaya ve insana daha az zarar veren, tarım ilaçlarına bağımlılığı azaltan çevre ile dost yöntemlerin kullanılması ve sürdürülebilir tarım uygulamalarının yaygınlaştırılması önemlidir. Bu itibarla bitki hastalık ve zararlılarına karşı biyolojik mücadele etmenlerine olan ilgi her geçen gün artmaktadır (Szekeres, 2006).

Biyolojik mücadelede hastalık etmenleri ile çeşitli antagonistik organizmalar arasında etki mekanizmaları vardır. Bunlar; antibiyosis, yarışma, hiperparazitizm, hipovirülens, çapraz koruma ve uyarılmış dayanıklılıktır. Uyarılmış dayanıklılığın sistemik savunma sistemleri vardır. Bunlar; nekrotik patojenler veya bazı kimyasallar tarafından tetiklenen sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR), patojen olmayan rizobakteri izolatlarının köklerde kolonize olmasıyla aktive edilen dayanıklılık uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR)'dir.

Bu tez çalışmasında, ülkemiz örtü altı patlıcan tarımında önemli verim kayıplarına neden olan kurşuni küf hastalığına karşı Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Mikoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinsi kök bakterilerinin *B. cinerea*'ya karşı direkt antagonistik etkileri, bitki gelişim parametrelerine etkisi ve kurşuni küf hastalığını baskılamadaki rolleri araştırılmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Patlıcanda Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea*) Hastalık Etmeni

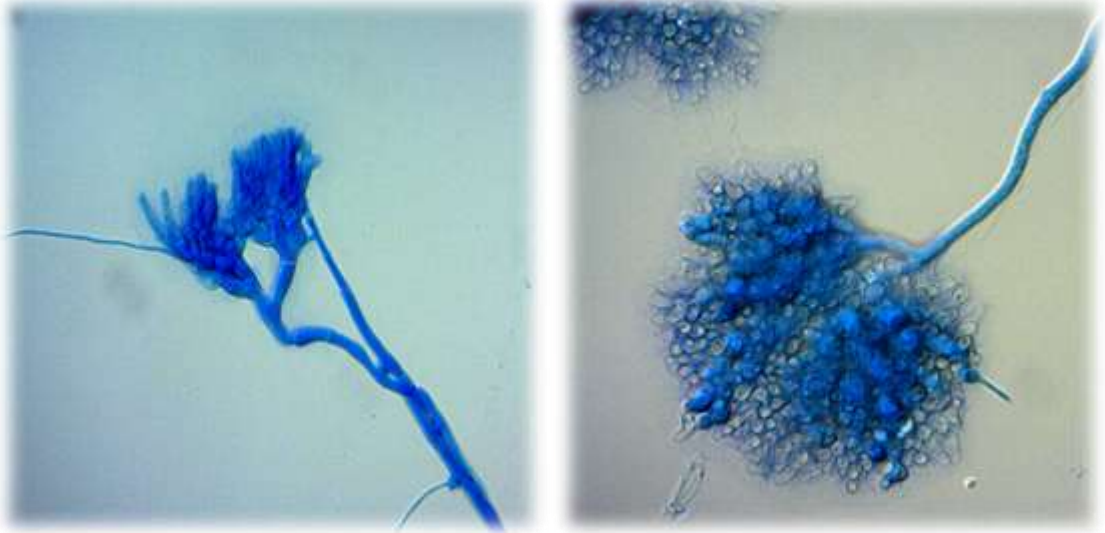
Ülkemiz örtü altı patlıcan yetiştiriciliğinde, solgunluk, kök çürüklüğü, beyaz çürüklük ve külleme fungal hastalıklarının yanı sıra kurşuni küf hastalığı da ekonomik olarak verim kayıplarına yol açmaktadır (Altınok, 2012). Ülkemiz açık alan ve örtü altı sebze tarımında, kurşuni küfün sorun oluşturduğu birçok araştırmacı tarafından gözlemlenmiştir (Yücel, 1994; Kaygısız, 2000; Ozan ve Aşkın 2006; Altınok, 2012). *Botrytis cinerea*; Ascomycota şubesi, Leotiomycetes sınıfı, Helotiales takımı, Sclerotiniaceae familyası, *Botryotinia* cinsine bağlı bir fungustur (Williamson *et al.*, 2007). *Botrytis cinerea* Fr. (teleomorph: *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel) 200'den fazla bitkide kurşuni küf hastalığına neden olan, her yerde ve çok yaygın olarak bulunan polifag bir fungustur. Patojen, bitkilere yaralardan, yarı ölü veya ölmüş çiçek yaprakları, yaprak sapının tamamı, koltuk sürgünleri gibi bitki dokularından giriş yapar. Konukçu bitkileri domates, marul, hıyar, biber, patlıcan, çilek gibi bitkilerdir. Konidi, miselyum ve sklerot gibi değişik formlarda bitki artıkları üzerinde ve toprakta yaşamını sürdürür. Olumsuz koşulları özellikle sklerotlar halinde geçirmektedir. Hava neminin %95 ve sıcaklığın 17-23°C olduğu havalar hastalığın gelişmesi için ideal koşullardır. Hastalanan organlar üzerinde fungusun oluşturduğu sporlar sulama suyu, rüzgâr, işleme aletleri ya da böcekler ile etrafa kolaylıkla yayılabilmektedir. *B. cinerea* kültür bitkilerinde hastalığa sebep olabildiği gibi birçok yabancı ot üzerinde de bulunabilir. Hastalık etmeninin sporları; su ve çiğ bulunduğu zaman çimlenerek, çim tüplerini meydana getirip yaralı dokulardan bitkilere giriş yapar. Çiçek yaprakları ya da yanmış uç yaprak gibi yaşlanmış bitki organları mevcut ise fungus bu ölen dokularda hızla gelişir ve sağlıklı dokulara doğru ilerler. Fungusun miselleri nemli koşullarda toprak üzerinde de gelişir ve birbirine yakın bitkileri infekte edebilir. Yaygın olarak görülen belirtileri; çiçek

yanıklığı, meyve, gövde, kök ve dal çürüklüğü, yaprak lekeleri ve yumuşak çürüklüktür. Şekil 1.2’de kurşuni küf hastalığının simptomları verilmiştir. *B. cinerea*’ya ek olarak geniş bir konukçu dizisinde hastalığa neden olan 20 *Botrytis* türünün olduğu bildirilmektedir. Patojen, ertesi yıla hastalıklı bitki dokusu üzerinde misel ve sklerot halinde geçer. *B. cinerea*, geniş bir konukçu dizisine sahip olduğundan hastalık, herhangi bir coğrafik alanda çok yıllık bitkilerde bulunabilir ve koşullar en uygun olduğunda, sporulasyon ortaya çıkabilir. Konidiler, rüzgâr aracılığı ile kolayca dağılarak üretim alanlarında yayılabilir. Buna ek olarak patojen, bitkilerin odunsu dokularında gelişen sklerot formunda bir mevsimden diğerine geçerek canlılığını koruyabilir. *B. cinerea*, çok etkili bir saprofit organizma olduğundan topraktaki organik madde, fungusun gelişmesine destek sağlayabilir.

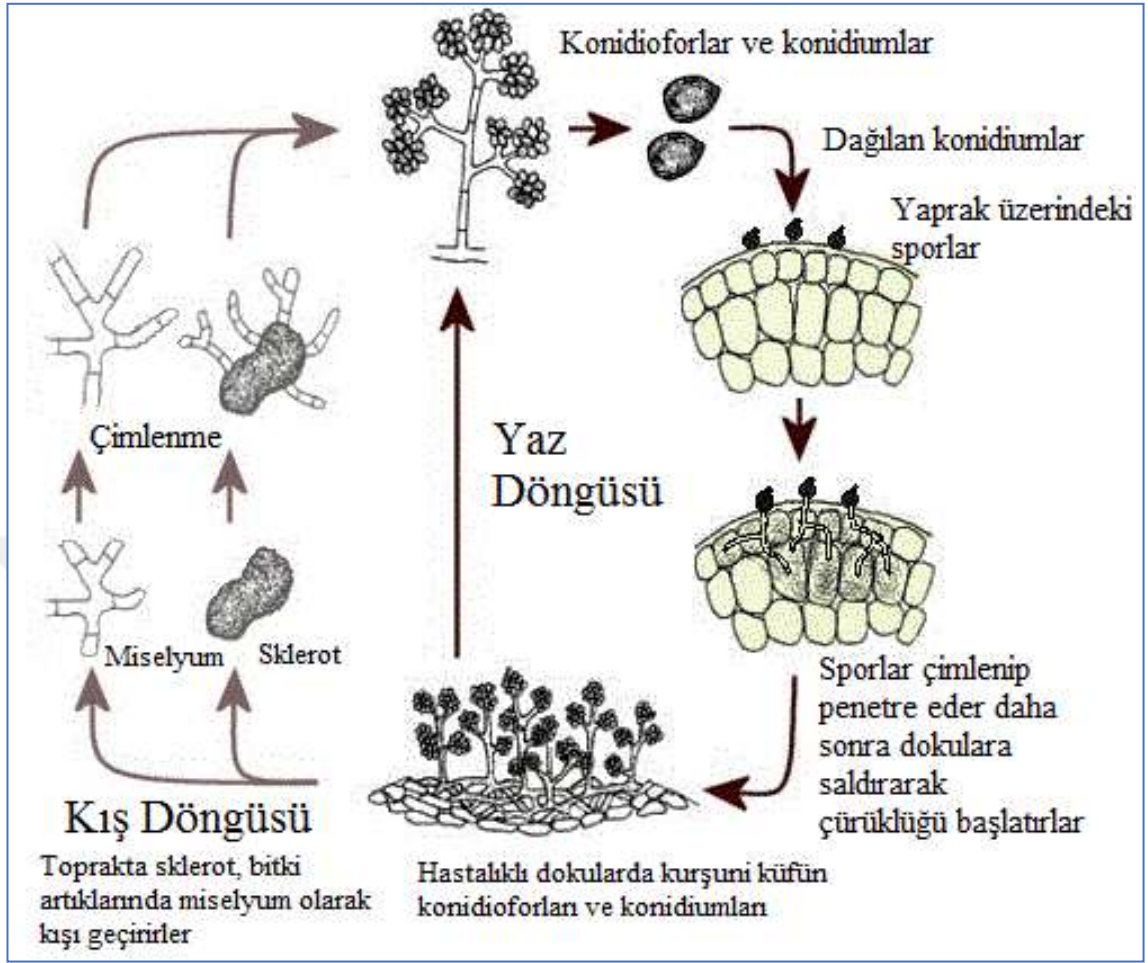
İlkbaharda sklerotlar, makrokonidi demeti oluşturmak için veya çok daha az görülen şekli ile apotesyum oluşturmak için gelişme gösterir. Bir veya birkaç saplı apotesyum, bir sklerottan oluşabilir. Apotesyum birkaç mm çapında apotesyal disk ve 1 cm veya daha fazla uzunlukta bir sapa sahiptir. *B. cinerea*, bipolar eşleşme sistemine sahip, heterotallik bir fungustur. Tek bir askospor kültüründe makrokonidi, mikrokonidi ve sklerotlar aynı agar ortamında geliştirilebilir ancak apotesyum geliştirilemez. Eğer, bir eşleşme tipine sahip mikrokonidiler zıt eşleşme tipinden sklerotlara uygulanırsa apotesyum oluşacaktır. Ascomyceteslerin çoğunda olduğu gibi *B. fuckeliana*, fizyolojik heterotallizm gösterir. *B. cinerea*’nın genellikle zayıflık paraziti olduğu düşünülür ancak fungus, bitki dokusunu apresoryum oluşumu ile doğrudan penetre edebilir. Bununla beraber yapraktaki hastalık belirtisi, bazı yara tipleri ve böcek zararı ile ilişkilidir. Hastalık, genellikle yaşlı yapraklarda başlar ve buradaki inokulumun artmasından sonra genç dokuya geçebilir. Hastalık başladığında enfeksiyon, miselyum gelişimi sayesinde dokularda yayılmaya devam eder. Kurşuni küf hastalığı, göreceli olarak serin havalarda başlar. Geceleyin bitkinin yetiştiği alandaki nem koşulları, genellikle hastalık gelişimi için uygundur. Yağışlı ve nemli havalar etmenin yayılması için oldukça elverişlidir. Hastalık, başladıktan sonra ılıman koşullarda düşük düzeyde de olsa gelişimini sürdürür (Kurt, 2013). Şekil 1.3’te etmenin morfolojisi ve Şekil 1.4’te *Botrytis cinerea*’nın yaşam çemberi verilmiştir.



Şekil 1.2. *Botrytis cinerea*'nın patlıcan bitkisinde oluşturduğu belirtiler (Mayıs 2011, Antalya-Gazipaşa).



Şekil 1.3. *Botrytis cinerea* hif gelişimi ve spor yapısı (Slide culture; lactophenol cotton blue), Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Mikoloji Laboratuvarı, Altınok, 2016).



Şekil 1.4. *Botrytis cinerea*'nın yaşam çemberi (Fugelsang ve Edwards, 1997).

Kültürel yöntem olarak, sık dikimden kaçınılmalı, iyi havalandırma yapılmalı, bitki artıkları serada bırakılmamalı, ölü çiçek yaprakları toplanmalıdır. Hastalık etmenine karşı özellikle serada ve belirli ürünlerde hasat sonrası depolarda biyolojik mücadele yöntemleri bazı üreticilerce uygulanmakla birlikte geniş tarımsal alanlarda mücadelede fungusit uygulamaları yaygındır (Leroux, 2004; Delen, 2006). *B. cinerea* yoğun spor verebilen, havayla taşınan ve hızlı yayılabilen bir patojendir. Patojenin genetik varyasyondaki yeteneğinin yüksek oluşu yapılan dayanıklılık ıslah çalışmalarında ilerlemeyi zorlaştırmaktadır (Altınok, 2013). Bununla beraber heterokaryotik oluşu bu fungusun fungusitlere dayanıklılık kazanabilmesini kolaylaştırmakta ve sonuçta da mücadelesi en zor patojenlerden biri olmasına neden olmaktadır (Dekker, 1982; Gullino, 1992; Courderchet, 2003; Delen, 2006; Topolovec- Pintarić, 2009).

Botrytis cinerea'a karşı biyolojik mücadele hususunda; fungal antagonistlerden bazı *Trichoderma* spp.'nin ve *Ulocladium* sp.'nin, bakteriyel antagonistlerden olan *Bacillus* cinsine ait *Bacillus subtilis*'in *in vitro* ve *Bacillus licheniformis* ile *Pseudomonas fluorescens*'in bazı ırklarının ise *in vivo* koşullarda patojenin gelişmesini engelledikleri bildirilmektedir (Gould *et al.*, 1996; Elad, 2000; Card *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2006). Etmen ile savaşmada her ne kadar kimyasal yöntemler etkili olsada, fungusitlerin doğaya, insana verdiği zarar açısından biyolojik mücadeleye duyulan ihtiyaç artmaktadır.

1.2. Bitkide Gelişme Düzenleyici Rizobakteriler

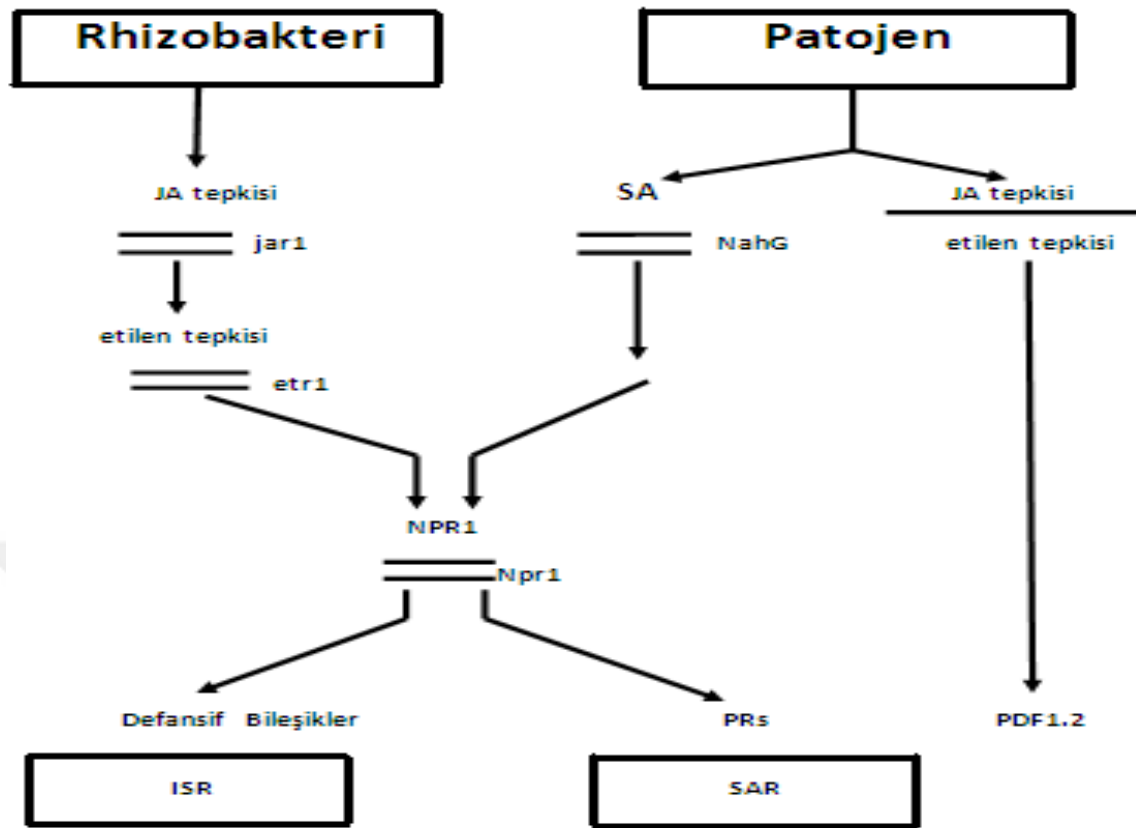
Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadele; bir antagonistin veya konukçu dayanıklılığının doğrudan, ya da çevre etkenlerinin mikrobiyal antagonizmi veya konukçu dayanıklılığını uyarıcı dolaylı etkisiyle, hastalık etmeninin inokulum niceliğinde ya da hastalandırma yeteneğinde ortaya çıkan düşüş olarak tanımlanmaktadır (Bora ve Özaktan, 1998). Biyolojik mücadelede hastalık etmenleri ile çeşitli antagonistik organizmalar arasında etki mekanizmaları vardır. Bunlar; antibiyosis, yarışma, hiperparazitizm, hipovirülens, çapraz koruma ve uyarılmış dayanıklılıktır. Bitkilerin çeşitli patojenlere karşı biyotik ve abiyotik elemanlarla uyarılması konusunda; “Kazanılmış Fizyolojik Bağışıklık” (Chester, 1933), “Kazanılmış Sistemik Dayanıklılık” (Ross, 1961), “Taşınan Dayanıklılık” (Hurbert ve Helton, 1967) ve “Bitki İmmunizasyonu” (Tuzun ve Kuc, 1991) gibi terimler kullanılmıştır. Bitkiler patojenlere karşı kendilerini hem pasif hem de aktif olarak savunmaktadırlar. Bitkilerde gözlenen bu dayanıklılık, önceden var olan (pasif) ve infeksiyonun teşvik ettiği dayanıklılık (aktif) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Dickinson ve Lucas, 1982).

Bitkilerde dayanıklılığın oluşmasında ilk aşama, patojenin hissedilmesi ve konukçu bitki ile patojen arasında bazı sinyalizasyon olaylarının başlamasıdır. İnfeksiyonun teşvik ettiği (active veya induced) dayanıklılıkta infeksiyona karşı bir reaksiyon olarak histolojik korunma yapıları etkinleşir (Hahlbrock ve Scheel, 1987). İnfeksiyonun teşvik ettiği dayanıklılıkta, lokalize hücre ölümü (HR; Hypersensitive Reaction), lignifikasyon ve papilla oluşumu, patogeneze bağlı proteinlerin (PR) sentezi ve fitoaleksinin sentez ve birikimi gibi biyokimyasal savunma reaksiyonları oluşarak savunma mekanizması harekete geçirilmektedir. Patojene karşı bir duyarlılık tepkimesi olan nekrotik korunma

reaksiyonu (HR, Hypersensitive Reaction), patojen infeksiyonu sonucu patojenin girdiği noktadan itibaren konukçu bitki hücrelerinin hızla ölerek nekrotik bir durum alması olarak açıklanmıştır (Dickinson ve Lucas, 1982; Hahlbrock ve Scheel, 1987; Isaac, 1992).

Konukçu bitkilerde bulunan dayanıklılık mekanizmasını harekete geçiren uyarıcılara elisitör denir. Abiyotik ve biyotik uyarıcılarla patojen ve konukçu bitkideki reseptör etkileşimi aktifleşerek, konukçuda bulunan ve dayanıklılığı yöneten genler harekete geçmektedir (Ebel, 1986; Hahlbrock ve Scheel, 1987; Isaac, 1992; Cosio, 1994). İlk olarak salisilik asit olmak üzere, isonicotinic asit (INA), hidrojen peroksit, jasmonik asit (JA), β -amino butirik asit (BABA) ve indol asetik asit (IAA) gibi elisitörler, bitki dayanıklılığında SAR'ı teşvik eden sinyal bileşiklerdir (Niki *et al.*, 1998; Staswick ve Lehman, 1999). Uyarılmış sistemik savunma sistemleri; Sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR); nekrotik patojenler veya bazı kimyasallar (SA analogu) tarafından tetiklenen dayanıklılık, Uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR); patojen olmayan rizobakteri izolatlarının köklerde kolonize olmasıyla aktifleşen dayanıklılık, Lokal Kazanılmış Dayanıklılık (LAR); sadece uyarılan dokularda ortaya çıkan dayanıklılıktır. Yara uyarımlı savunma ise böcek beslenmesine bağlı olarak ortaya çıkan doku hasarlarıyla uyarılan dayanıklılıktır (Aktaş ve Güven, 2005).

ISR ve SAR konukçuyu farklı yollardan uyarır. SAR, SA düzeyinde artışa ve PR proteinlerinin sentezini kodlayan genlerin aktifleşmesine sebep olur. ISR, Jasmonik Asit (JA) ve Etilen'e (ET) bağlı bir savunma reaksiyonunun aktivasyonudur. SAR'da SA düzeyinde artış olurken ISR'de JA ve ET düzeyinde bir artış belirlenmemiştir. Bu sonuçlara göre ISR'nin JA ve ET'e olan bağlılığı bu hormonların üretimindeki artıştan çok konukçu bitkinin bunlara duyarlılığının artışına bağlıdır (Bakker *et al.*, 2003). Şekil 1.5'de ISR ve SAR mekanizmalarında görevli sinyal molekülleri verilmiştir.



Şekil 1.5. Induced systemic resistance (ISR) ve systemic acquired resistance (SAR) mekanizmaları

Hem bitki gelişimini teşvik eden hem de biyokontrol ajanı olarak bitki hastalıkları ile mücadelede kullanılan kökbakterileri daha çok *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Phyllobacterium*, *Rhizobium*, *Serratia* ve *Xanthomonas* cinslerine aittir (Burdman *et al.*, 2000).

Uyarılmış sistemik dayanıklılığın kanıtı için uygulanan yöntemler, bakteriyel süspansiyonu otoklavlanmış toprak ile karıştırmak, şaşırtma sırasında kökleri bakteriyel süspansiyona daldırmak veya ekimden önce tohumları yüksek oranda bakteri ile muamele etmektir (Kloepper, 1996). Konukçu bitkide dayanıklılığın uyarıldığını ve bu uyarının sistemik olduğunu söyleyebilmek için uyarılmayı sağlayan kök bakterisinin patojenin baskılandığı bölgede bulunmaması ve deney süresince bakteri ile çekişmeye giren patojenin tamamen ayrı kalması gerekmektedir. ISR etkisi gösteren kök bakterilerinin *in vitro*'da antagonistik etki göstermesi beklenmemelidir. ISR'nin

moleküler düzeydeki kanıtı ise, NPR1 geninden (ISR'de rol oynayan gen) yoksun bitkilerde ISR'nin ortadan kalkmasıdır (Van Loon *et al.*, 1998).

Bazı rizobakteriler salisilik asite (SA) bağımlı ISR oluşumunda kök yüzeyinde SA üretimini teşvik eder, bazı rizobakterilerin teşvik edilmesinde ise SA gerektirmeden ISR oluşumu başlayabilmektedir. Jasmonik asit (JA) ve etilen de SAR benzeri durumu tetikler. ISR'nin bakteriyel belirleyicileri; lipopolisakaritler, sideroforlar, antibiyotikler, etilen, jasmonik Asit'tir. PGPR'ların neden olduğu SAR'da bitkide herhangi bir simptom oluşumu gözlenmez ancak bitki gelişiminde bir artış gözlenir (Kloepper *et al.*, 1992, Piertese *et al.*, 1996, Ryals *et al.*, 1996, Piertese *et al.*, 2001).

Son yıllarda PGPR'lar bitkisel üretimde biyogübre olarak uygulanmaktadır. Bu bakterilerin, azot fiksasyonu yoluyla bitkinin azot beslenmesini, fosforun çözünürlüğünü, su kullanım etkinliğini ve bitkisel hormon üretimini (oksin, stokinin ve giberallin) arttırdığı, besin elementlerinin bitki tarafından alınımı etkinleştirerek veya bitkide etilen seviyesini enzimatik yolla azaltarak bitki gelişimi üzerine olumlu etki yaptığı belirlenmiştir (Glick, 1995). Bunların yanı sıra PGPR'ların bitkilerin fitopatojenlere dayanıklılık göstermesine, kuraklığa, tuzluluğa ve oksidatif strese (Saleem *et al.*, 2007) tolerans sağlamasına yardımcı olduğu ve suda çözünebilen B vitamin kompleksleri üreterek bitki gelişimini etkilediği saptanmıştır (Revillas *et al.*, 2000).

PGPR'lar etki mekanizmalarına göre 4 gruba ayrılmıştır. Bunlar; besinlerden yararlanma, bitki hormonlarının üretimi, zararlı mikroorganizmaların engellenmesi, besin yarışması şeklindedir. PGPR'ların bitki büyümesini düzenlemede rol aldığı mekanizmalar tam olarak ortaya konulmamış ise de mevcut literatür bilgileri çerçevesinde doğrudan ve/veya dolaylı olmak üzere iki grupta açıklanmaktadır. Doğrudan mekanizmalar, biyolojik azot fiksasyonu, oksinler, sitokininler, giberalinler gibi bitkisel hormonların üretilmesi, ACC deaminaz enzim aktivitesi yoluyla etilen sentezinin engellenmesi, çevresel stresi azaltma, bitki-bakteri arasında uyum, inorganik fosforun çözünürlüğünün artırılması ve organik fosfor bileşiklerinin mineralizasyonu, siderofor üretimi yoluyla demir alımının artırılması ve diğer bazı iz elementlerin oranında artış sağlama, vitamin sentezi, kök geçirgenliğini artırma etkilerini içermektedir. Dolaylı olarak, antibiyotik üretimi ile hastalıkları azaltan biyokontrol ajanı

olarak rol oynamaları yanında, değişik organik bileşiklerle bulaşık olan topraklarda engelleyici ksenobiyotikleri parçalayarak bitkileri koruma özelliği gösterirler (Elsheikh ve Elzidany, 1997; Rodriguez ve Fraga, 1999; Eşitken vd., 2003; Çakmakçı, 2006).

Tarımsal üretim sırasında patojenik mikroorganizmalar ciddi ürün kayıplarına yol açmaktadırlar. Üreticilerin bu tür sorunların çözümünde kimyasallara bağımlılıkları gün geçtikçe artış göstermektedir. Kimyasal girdilerin tarımsal üretimde artan kullanımı neticesinde patojenin kullanılan kimyasala dayanıklılık kazanması, bakteriyel etmenlerin çoğunda olduğu üzere birtakım hastalık etmenlerin kontrol altına alınmasında kimyasalların kullanımının yetersiz kalması, çevresel kirlilik ve kalıntı problemlerine yol açarak çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır (Gerhardson, 2002). Tüm bunlara, giderek fakirleşen dünya ekonomisine pestisitlerin getirdiği ekstra maliyet de eklenince kimyasal mücadele gün geçtikçe cazibesini yitirmektedir. Bu sorunlardan dolayı araştırmacılar yeni arayışlara yönelerek tarımda biyolojik kontrolün kullanımını alternatif ve yeni bir yöntem olarak öne sürmüşlerdir (Çınar vd., 1986; Özaktan ve Bora, 2000; Gerhardson, 2002).

1.3. Literatür Çalışmaları

1.3.1. Kurşuni küf hastalık etmeninin biyolojik mücadelesi ile ilgili çalışmalar

Patlıcanda *Botrytis cinerea* ile biyolojik mücadeleye yönelik sınırlı sayıda araştırma bulunup etmenin diğer konukçularını içeren biyolojik mücadele çalışmalarına da yer verilmiştir.

Elmadan elde edilen 95 bakteri izolatından 3 tanesi *Botrytis cinerea*'nın sebep olduğu kurşuni küf kontrolünde etkili olmuştur. Bu üç izolattan ikisi kurşuni küf çürüklüklerini 5°C ve 10°C'de önemli oranda azaltmış ve diğer izolat ise 20°C'de etkili olmuştur. Biolog Microstation™ sistemi ile tanı testleri için seçilen otuz altı izolatin, gram-pozitif olduğu ve endospor içerdigi ve bunların 30'unun *Bacillus* spp. olarak tanılandığı rapor edilmiştir. Biyolojik kontrol ajanı olarak etkili olan 15 izolatin daha ileri testlerde; *Bacillus* cinsi için spesifik olan 15 mikrobiyolojik teste dayalı olarak, 7'sinin *Bacillus subtilis* olduğu ortaya konmuştur (Sholberg *et al.*, 1995).

Yapılan çalışmada fasulye yapraklarında *Botrytis cinerea*'nın konidi çimlenmesi ve çim tüpü uzunlukları *Trichoderma harzianum* T39 biyolojik kontrol ajanının azalttığı belirlenmiştir. İnokulasyondan 24 saat sonra çim tüpü biyokütlesinde %20'den %50'ye kadar azalma gözlemlenmiştir. *T. harzianum* T39 biokontrol ajanının uygulandığı yapraklarda nekrotik alanların, yaprak yüzeyinin sadece yaklaşık kontrole göre %50 kadarını kaplayabildiği bildirilmiştir (Zimand *et al.*, 1996).

Antalya Narenciye Araştırma Enstitüsü'nde 1985-1992 yıllarında yürütülen çalışmalarda, değişik sebze türlerinden elde edilen *Botryotinia fuckeliana* izolatları ile patlıcan, biber, domates, fasulye ve kabak bitkilerinde çapraz inokulasyon testleri yapılarak en patojen izolat (PF.10) belirlenmiştir. Sonra Adana, İçel ve Antalya illerinden toplanan 145 adet toprak örneğinden 30 adet fungistatik toprak elde edilerek bunlardan 48 adet bakteri, 13 aktinomiset, 31 adet fungus izolatı patojene karşı antagonist olarak tespit edilmiştir. Bu antagonistlerle yapılan *in vitro* ikili etkileşim testleri sonucunda AA.11/98 no'lu aktinomiset, AB.27/59 no'lu bakteri (*Bacillus subtilis*) ve AF.1 no'lu fungus (*Trichoderma viride*) patojene karşı en yüksek etkiyi göstermiştir. Bu antagonistler domates, biber, patlıcan ve hıyar bitkilerinin kök ve toprak üstü organlarına bulaştırıldıklarında hastalık meydana getirmemiştir (Ulukuş vd. 1997).

Bacillus pumilus NCIM B 13374 ve *Pseudomonas fluorescens* NCIM B 13373'in çileklerde kurşuni küf etmeni *Botrytis cinerea* gelişmesini engelledikleri belirlenmiş, her iki antagonist gelişme ortamının pH'sını 6'dan 8,5'a kadar yükseltmiş ve her ikisi de antifungal etki oluşturmuştur. *Bacillus pumilus*'un oluşturduğu bileşikler konidi çimlenmesi sırasında fungusit etkisi göstermiş, ancak *P. fluorescens*'in oluşturduğu bileşikler ise fungistatik etki göstermiştir. Buharlaştırıcı ve engelleyici bileşikler oluştuğuna dair herhangi bir kanıt ulaşılamamış olup her iki izolat aynı zamanda diğer çilek fungal patojenlerini engelleme yeteneği göstermiş ve bitki hastalıklarının daha geniş bir sınırdan önlenebileceği potansiyelini gösterdikleri tespit edilmiştir (Swadling ve Jeffries, 1998).

Ege Bölgesi'nde, bitki patojeni *Alternaria alternata*, *A. solani*, *Botrytis cinerea* ve *Drechslera sorokiniana*'ya karşı bazı tek ve çok yıllık bitkilerin *in vitro* antifungal etkilerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada *Hedera helix* yaprak özütü patojenlerin

spor çimlenmesini en yüksek oranda engellemiş, *Datura stramonium*'un da ikinci sırada engellediği tespit edilmiştir. Patojenlerin koloni gelişimini de yine en yüksek oranda *H. helix* engellemiş, *Ficus carica* ve *Avena sativa*'nın da engellendiği görülmüştür. *A. sativa*, *Xanthium strumarium*, *F. carica*, *Nicotiana tabacum* ve *D. stramonium* yaprak özütleri ise etmenlerin sporulasyon yoğunluğunu %12 ile %82 arasında engellemişlerdir. Bu çalışma sonucunda elde edilen yüksek engelleme etkilerine dayanılarak yaprak özütlerinin *in vivo* koşullarda *Alternaria solani*-domates, *Botrytis cinerea*-Fasulye, *Drechslera sorokiniana*-Arpa patojen-konukçu sistemlerinde denenmesinin yararlı sonuçlar verebileceği ortaya konulmuştur (Türküsoy ve Onoğur, 1998).

Marul, tütün, domates, fasulye ve biber bitkilerinde *T. harzianum* T39 ile *B. cinerea*'nın biyolojik kontrolünde dayanıklılığın teşvik edilmediği araştırılan çalışmada, T39'un 2 ml'lik 10^6 konidi ml^{-1} yoğunluğundaki konidial süspansiyonu, saksıda 8 hafta süre ile yetiştirilen her bir iceberg tipi marul bitkilerinin saksı toprağına enjekte edilmiştir. Bitkilere biyolojik ajan uygulamasından 1 hafta sonra, *B. cinerea* 5×10^5 konidi ml^{-1} yoğunluğunda konidi süspansiyonu yapraklara püskürtülmüş ve hastalık şiddeti tüm bitkilerde çürüyen bitki yüzdesi olarak değerlendirilmiştir. *T. harzianum*'un hastalığı, özellikle marulda, önemli derecede (~%75) baskıladığı belirlenmiştir (Meyer *et al.*, 1998).

Dik *et al.* (1999), tarafından yürütülen bir çalışmada domates gövde parçaları üzerinde on beş maya, fungus, bakteri izolatu ve bir ticari ürünün (Trichodex) *B. cinerea*'ya karşı biyolojik etkinlikleri araştırılmıştır. Bu izolatlar arasından *Trichoderma harzianum* T39, *Aureobasidium pullulans* ve *Cryptococcus albidus*'un biyolojik kontrolü araştırılmıştır. Antagonistlerden 3 adet *Trichoderma* izolatu ve 2 adet *Bacillus* izolatının her iki denemede de kontrollerden önemli farklılık göstermediği belirlenmiştir. Diğer yandan denemelerde kullanılan iki *Pseudomonas* izolatının *B. cinerea* hastalık oluşumunu ve sporulasyonunu önemli derecede azalttığı saptanmıştır. Diğer etkili antagonistlerin *Aureobasidium pullulans*, *Cryptococcus luteus*, *C. albidus*, *C. laurentii* var. *flavescens*, *Gliocladium catenulatum*, *G. roseum*, *Chaetomium globosum*, *Ulocladium atrum* olduğu bildirilmiştir.

Mercier *et al.* (2000), yaptıkları çalışmada, depolamadan önce UV uygulamasının havuç köklerinde, *Botrytis cinerea* infeksiyonuna etkisini araştırmışlardır. UV ışını uygulanan dokularda, antimikrobiyal bir bileşik olan 6-methoxymellein sentezinin arttığı ve havuç köklerinin *B. cinerea*'ya karşı direnç kazandığı tespit edilmiştir. Ancak bu uygulama sonucu ortaya çıkan dayanıklılığın sistemik olmadığı, yalnızca UV ışığına temas eden dokularda dayanıklılığın oluştuğu sonucuna varılmıştır.

Domates yapraklarından elde edilen 185 adet bakteri ve maya izolatının domates ve bakla bitkilerindeki *Botrytis cinerea*'nın biyolojik kontrolünde etkisi araştırılmış, bu 185 izolattan 4 maya ve 25 bakteri izolatu bakla bitkisinde *B. cinerea* gelişimini baskılamıştır. Beş adet *Pseudomonas fluorescens* izolatu; P.f. 144, P.f. 141, P.f.163, P.f. 118 ve P.f.150, domates bitkisinde *B. cinerea* ve antagonist organizma inokulasyonundan 20 gün sonra yapraklardaki hastalık seviyesini sırasıyla %77,56, %78,26, %80,51, %80,65 ve %92,00 oranında azalttığı belirlenmiştir (Yıldız, 2000).

Helbig (2001), tarafından yapılan çalışmada *Paenibacillus polymyxa* çilekte kurşuni küf hastalığı üzerinde biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmıştır. *Paenibacillus polymyxa* kullanılan çilek bitkilerinin kurşuni küf hastalığına yaklaşık olarak %15 daha az yakalandığı saptanmıştır.

Sera koşullarında yapılan çalışmada, saprofitik fungus olan *Cladosporium sphaerospermum* ile dondan zarar görmüş genç yaprakların kolonizasyonu ile kurşuni küf hastalığının biyolojik kontrolü araştırılmış, yapay olarak oluşturulmuş nekroze yaprak yoluyla tespit edilmiş olan biyolojik ajan don olayından bir gün sonra 10^8 spor/ml yoğunlukta uygulanmıştır. Uygulamadan 10 gün sonra *B. cinerea* ile enfekte edilmiş ve edilmemiş olan nekrozeli yapraklar sayılmış, kontrol ve uygulama yapılmış bitkilerden elde edilen veriler değerlendirilmiş ve *C. sphaerospermum*'un nekroze olmuş taze domates yapraklarının patojen tarafından kolonizasyonunu %50,52 oranında engellediği belirlenmiştir (Yiğit, 2005).

Akbudak vd. (2006), biber bitkilerine (*Capsicum annuum* L. var cvs. "Demre", "Yalova charleston" ve "sarı sivri") harpin proteinleri uygulamışlardır. Daha sonra bitkilere *Botrytis cinerea* inokülasyonu yapmışlardır. Vejetatif büyümenin ardından yapraklardaki toplam klorofil içeriği, yaprak rengi ve çürüyen meyveleri belirlemişlerdir. Yalnızca *B. cinerea* ile inoküle edilmiş "sarı sivri" çeşidinde bitki

boyunu kısa olarak belirlemişlerdir. Harpin protein+B. cinerea uygulaması yapılan bitkilerin vejetatif büyümesinin yalnızca B. cinerea uygulanan bitkilere göre daha fazla olduğunu ancak harpin protein+B. cinerea uygulaması yapılan bitkilerin klorofil içeriğinin düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Meyvelerde görülen bozulma ise harpin protein+B. cinerea uygulaması yapılan bitkilerde yalnızca B. cinerea uygulanan bitkilere göre daha az olduğunu belirtmişlerdir.

Yıldırım ve Şeker (2006), Artvin hurması olarak bilinen *Drosyros lotus*'un olgunlaşmamış meyve ekstraktlarının, *Botrytis cinerea*'nın spor çimlenmesi ve miseliyal gelişmesini engelleyici etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Sobolewski ve Wrzodak (2007), yaptıkları çalışmada fasulyede *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Lygus spp.* ve *Acanthoscelides obtectus*, bezelyede *B. cinerea*, *Peronospora pisi*, *Bruchus pisorum* ve *Laspeyresia nigricana*'ya karşı organik ürünlerin etkililiğini incelemişlerdir. Azoxystrobin ile dönüşümlü olarak uyguladıkları cypermehterin insektisitini tekil uygulamalara oranla daha etkili bulmuşlardır. Harpin uygulamasından sonra cypermehterin veya azoxystrobin uygulamasının etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Arjantin La Plata Bahçecilik bölümünde yetiştirilen Solanaceae familyasına ait bitkilerin yaprak, meyve ve çiçeklerinden elde edilen *Botrytis cinerea*'ya karşı biyolojik kontrol sağlamak amacıyla agar plaka ikili kültür tekniği kullanılarak *B. cinerea* inhibisyonu için incelenen 300 izolattan 12'sinin patojenin güçlü misel büyümesini engellediği tespit edilmiştir. Antagonist izolatlar arasında bir *Epicoccum nigrum* (126) izolatu, dört *Trichoderma harzianum* (110, 118, 248 ve 252) izolatu, dört *Fusarium* izolatu, *B. cinerea*'nın spor çimlenmesini %30 ile % 70 arasında azaltmıştır. Meyve lezyonu çaplarını %50 ile %90 oranında azaltmıştır. *E. nigrum*, *Trichoderma harzianum* ve *F. equiseti* izolatlarının domateste *B. cinerea*'yı kontrol etmek için fungusit kullanımına umut verici bir alternatif sunduğu belirtilmiştir (Mónaco et al., 2007).

Erzincan ilinde enfekteli çilek bitkilerinden izole edilen *B. cinerea* S-TR-20 izolatının farklı (103, 104 ve 105 konidi/ml) konsantrasyonlarına fungal antagonistlerin (*Clonostachys rosea* f. *catenulata* (syn. *Gliocladium catenulatum*), *C. rosea* f. *rosea* (syn. *G. roseum*) ve *Trichoderma asperellum* farklı (103, 104 ve 105 konidi/ml) konsantrasyonlarının etkilerinin araştırılması amacıyla *in vitro* da çalışma yürütülmüş

ve sonucunda, bu antagonistlerden *C. rosea* f. *catenulata* *in vitro* da *B. cinerea*'nın biyolojik mücadelesinde etkili olduğu saptanmıştır (Eken vd., 2013).

Marulda *B. cinerea* patojeni ile biyolojik mücadele kapsamında yapılan çalışmada bitki savunmasında aktivatör olarak bilinen harpin protein ve *Lactobacillus acidophilus* fermentasyon ürünü (LaFü-be-mm) kullanılarak saksı koşullarında deneme kurulmuştur. Denemede karşılaştırma yapabilmek amacıyla fenhexamide aktif maddeli bir fungusit ile beraber Chianti ve Yedikule marul çeşitleri kullanılmıştır. Harpin uygulamasının bahsi geçen marul çeşitlerinde patojeni engelleme oranı sırası ile %57,50 ve %68,75, LaFü-be-mm'nin engelleme oranı %30 ve %57,50 ve fenhexamid uygulamasının patojeni engellemedeki başarısı da %90 ve %92,50 olarak tespit edilmiştir (Eser ve Coşkuntuna, 2016).

Özçimen (2018), tarafından yapılan çalışmada mikroalg yağının farklı çözücülerde ve farklı oranlarda hazırlanmış ekstraktlarının *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger* patojenlerine karşı antifungal etki gösterdiği saptanmıştır.

Tellez *et al.* (2019), yaptıkları çalışmada domates bitkilerine *Botrytis cinerea* ve *Fusarium oxysporum*'a karşı *Trichoderma asperellum* ile ön muamele uygulamış hastalık belirtilerinin uygulama yapılmayanlara göre daha az solma ve bodurlaşma şeklinde görüldüğünü bildirmişlerdir.

1.3.2. Kurşuni küf hastalık etmeninin mücadelesinde bitkide gelişme düzenleyici rizobakteriler ile ilgili çalışmalar

Leifert *et al.* (1995); *Bacillus subtilis* CL27 ve *Bacillus pumilus* CL45 soylarının biyokontrol aktiviteleri ve antibiyotik üretimleriyle ilgili bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalar *in vitro* ve saksı denemeleri şeklinde yapılmıştır. Petri üzerinde yapılan deneylerde; *Bacillus subtilis* CL27 ve *Bacillus pumilus* CL45'in benzer etki göstererek *Botrytis cinerea* gelişimini engellediği gözlenmiştir. Ancak fide denemelerinde; fiderde çürümeye neden olan *Botrytis cinerea*'a karşı *Bacillus subtilis* CL27'nin önemli düzeyde ticari üretimi yapılan fungusitlere benzer etki gösterdiği, *Bacillus pumilus* CL45'in yetersiz kaldığı saptanmıştır. *Bacillus subtilis* CL27 ve *Bacillus pumilus* CL45'den üretilen antifungal antibiyotikler ince tabaka kromatografisi yardımıyla (thin layer chromatography; TLC) farklı ortamlardan izole edilmişlerdir.

CL27'den üç antibiyotik ve CL45'den bir antibiyotik izole edilmiştir ve bu antibiyotiklerin bitki hastalıklarının tedavisinde kullanılan pestisitlere benzer etki gösterdiği saptanmıştır.

Bitki gelişimini düzenleyici rizobakterilerden (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR), *Pseudomonas putida*'nın 89B-27 no'lu izolatu ve *Serratia marcescens*'in 90-166 no'lu izolatu hıyarda *Fusarium* solgunluk hastalığı etmeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*'a karşı dayanıklılık uyarıcı olarak kullanılmıştır. Bu bakterilerle hıyar bitkilerinin kökleri inokule edilmiş ve hemen sonrasında bu köklere patojen inokulumu verilmiştir. Denemenin sonucunda kontrol bitkilere oranla hastalığın çıkışında bir gecikme gözlenmiş ve kontrol bitkilerinde toplam lezyon alanı 132,7 mm² olarak saptanırken *P. putida* inokule edilen bitkilerde 62,1 mm² ve *S. marcescens* inokule edilen bitkilerde ise 57,1 mm² olarak saptanmıştır (Liu *et al*, 1995).

Barka *et al.* (2002), yaptıkları çalışmada soğan bitkisinden izole edilen endofit *Pseudomonas* izolatu PsJN'nin, asma bitkisine kolonize olduğunda *Botrytis cinerea*'yı önlediğini ve asma bitkisinin büyümesini desteklediğini saptamışlardır.

Botrytis hastalıklarının biyokontrolü 50 yıldan fazla bir zamandır yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. *Botrytis* hastalıklarının biyolojik kontrolünde en büyük potansiyeli gösteren mikrobiyal ajanlar *Trichoderma*, *Gliocladium* ve *Ulocladium* funguslarını, *Pseudomonas*, *Bacillus* bakterilerini ve *Pichia*, *Candida* mayalarını içermektedir. Bu preparatlarla ticari başarı, biyolojik aktivitenin hızlılığı ve biyokontrol ajanının uygulama kolaylığı ve çevresel koşulların stabilliği açısından en uygun koşullardaki, hasat sonrası çevrede ve seralarda elde edilmektedir (Elad ve Stewart, 2004).

Touré *et al.* (2004), tarafından elma meyvelerinde kurşuni küf hastalığına neden olan *Botrytis cinerea*'nın kontrolü ile ilgili denemelerde *Bacillus subtilis* GA1'in yetenekleri araştırılmıştır. Özellikle yara almış meyve dokularında etkili olan *Botrytis cinerea*'nın etkinliği GA1 endospor süspansiyonlarının meyvelere uygulanmasıyla azalmıştır. Patojen inokülasyonunu takip eden ilk 5 gün içinde GA1 hastalığın etki alanını başarılı bir şekilde en aza indirmiş ve sonraki 10 gün boyunca da etkisini sürdürerek %80 düzeyinde koruma oluşturmuştur. GA1 kültür süpernatant ekstraktının elma meyvelerine uygulanması sonucunda kurşuni küf hastalığının gelişimi önemli oranda baskı altına alınmıştır. Yapılan analizler sonucunda GA1'in üretmiş olduğu antifungal

lipopeptid izomerleri olan iturin, sürfaktin, fengisin bileşenleri ortaya çıkarılmış ve bu bileşenlerin hastalığın azalmasında çok etkili olduğu, bu bakterilerle kolonize olmuş meyve bölümlerinin *Botrytis cinerea*'dan korunduğu ortaya konmuştur. Sonuç olarak *Bacillus* endosporlarıyla aşılansmış elma meyvelerinde endosporlar etkili bir şekilde çimlenmiş ve lipopeptidlerin sentezlenmesiyle gri küf engellenmiştir.

Bacillus cereus 28-9 bakterisinin antifungal kitinaz aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmada, kullanılan chitinolytic bir bakteri olan *Bacillus cereus* 28-9 Taiwan'da zambak bitkilerinden izole edilmiştir. *Bacillus cereus* 28-9'un, zambak yaprağında hastalığa neden olan *Botrytis* patojeninin biyolojik savaşımında kullanılabileceği yapılan kültürel ve yaprak deneylerinde anlaşılmıştır. *Bacillus cereus*'tan 2 kitinaz (ChiCW ve ChiCH) ekstre edilmiştir. ChiCW geni klonlanmış ve *Escherichia coli* DH5 α 'a aktarılmıştır, ChiCW geni aktarılan *Escherichia coli* hücrelerinin periplasmik fraksiyonlarında homojen ChiCW geni gözlenmiştir. *In vitro* deneyler sonucunda; zambak yaprağının en önemli fungal hastalık etmeni olan *Botrytis elliptica* konidilerinin germinasyon aktivitesinin ChiCW geni ile etkisiz hale getirildiği rapor edilmiştir (Huang *et al.*, 2004).

Biyolojik kontrol ajanı olan *Bacillus licheniformis* N1, *Botrytis cinerea*'nın sebep olduğu domateste kurşuni küf kontrol etmek için plastik serada bitkilere spreyleme şeklinde uygulanmış, domates bitkisi ve çiçekler üzerinde hastalık şiddetini önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. *Bacillus licheniformis* N1 tarafından çiçek enfeksiyonunun önlenmesinin meyve sayısını da artırdığı ortaya konulmuştur (Lee *et al.*, 2006).

Çilekte kurşuni küfe karşı biyolojik savaşım ajanı olarak *B. licheniformis* N1E'in farklı formülasyonlarının kullanıldığı bir çalışmada, ıslanabilir toz (Wettable powder-WP) formülasyonunun saksıdaki çilek yaprak ve çiçeklerinde *B. cinerea*'yı engellediği gözlenmiştir. Serada formülasyonun 100 kat seyreltilmesi *B. cinerea* enfeksiyonunu engellemiştir. Yüz kat seyreltilmiş N1E formülasyonunun *B. cinerea* inokulasyonundan önce uygulanması ile kopmuş yapraklardaki enfeksiyonun engellendiği, ancak *B. cinerea*'nın önce uygulanması durumunda başarı sağlanamadığı tespit edilmiştir. Çilek yaprak ve çiçeklerinde *B. cinerea* enfeksiyonu yapay inokulasyonlarda ve doğal koşullarda N1E uygulamaları sonucunda önemli ölçüde engellenmiştir. Iprodione

uygulaması ile yapraklardaki enfeksiyon %61,5, N1E uygulamasında ise %81 oranında gerilemiştir (Hyun *et al.*, 2007).

Yıldız vd. (2007), tarafından yapılan araştırmada seralardan alınan domates bitkisi yapraklarından 163 adet bakteri izole edilmiş ve bu bakterilerin *B. cinerea* patojenine karşı baskılayıcı etkisi testlenmiştir. Antagonist bakterilerinden özellikle dört adedi hastalığı engellemede başarılı olmuş ve bunlar *Pseudomonas fluorescens* olarak tanımlanmıştır. Domates seralarında kullanılan fungusitlerin bu bakterileri etkilemedikleri testlerle saptanmıştır. Başarılı bu 4 bakterinin sera koşullarında, fenhexamidin düşük dozuyla, hastalığa etkisi araştırılmıştır. Bu bakterilerden Pf163 serada yapılan testlerde kurşuni küf hastalığını %78 oranında azaltmıştır. Diğer izolatlar fenhexamidin düşük dozu ile birlikte hastalığı sırasıyla %74,17, %70,52 ve %65,74 oranında hastalığı engellemiştir. Bakteriyel antagonistlerin serada yetiştirilen bitkilerdeki hastalığı engellemede ve fungusitlerle kullanımlarında potansiyel bir etkileri olduğu ortaya konmuştur.

Serada yetiştirilen hıyar bitkilerinin rizosferinden 4 adet antibiyotik etkili gaz üretme yeteneğine sahip olan *Bacillus* straini izole edilmiş, bu bakterilerin ürettiği uçucu bileşikler bazı patojenlere karşı denenmiş ve etkili oldukları tespit edilmiştir. Uçucu bileşiklerin fungus misellerinin morfolojik yapılarında anormalliklerin ortaya çıkmasına sebep olduğu bulunmuştur. Petri kabında yapılan denemelerde *S. sclerotiorum*'a ait sklerotların sayısında azalma görülmüş, *B. cinerea* sporlarında çatlaklara ve kahverengileşmelere sebep oldukları görülmüştür. Bitkinin rizosferinde bu mikrobiyal kaynaklı gazların yaygın olarak bulunduğu ve hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynadıkları belirtilmiştir. Bu 4 bakterinin 16SrDNA analizleri sonucu birinin *P. polymyxa* (BMP-11), diğerinin *B. subtilis* (BL02), diğer 2 türün ise *B. pumilus* (BSH-4 ve ZB13) oldukları tespit edilmiştir (Wei-wei *et al.*, 2008).

Sharifi ve Ryu (2016), yaptıkları çalışmada Arabidopsis'in *Botrytis cinerea* enfeksiyonuna karşı doğrudan ve dolaylı bakteriyel uçucu organik bileşiklerin (VOC) etki mekanizmasını araştırmış, *Bacillus subtilis* GB03'ten kaynaklanan uçucu emisyonların, Arabidopsis fidelerini *B. cinerea*'ya karşı başarıyla koruduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak, bakteriyel VOC'lerin savunma ile ilgili genler olan PR1 ve PDF1.2'nin ekspresyonunu güçlendirdiğini, ancak bitki ISR'sinde SA ve JA'ya

bağımlı sinyal yollarını stimüle eden ve bitkileri patojen kolonizasyonuna karşı koruyan ChiB'yi kuvvetlendirdiğini saptamışlardır.

Hernández *et al.* (2018), *Bacillus metilotrophicus* M4-96 rizobakterisinin çilek bitkisinde, PGPR etkisi yanında *B. cinerea* enfeksiyonunun etkisini azaltmak için yapraklarda kallos birikmesini sağlama yeteneğinin araştırıldığı çalışmada, yapraklarda kallos birikiminin beş kata kadar arttığı, bununda hücre çeperini güçlendirerek kurşuni küf oluşumunu engelleyen hızlı bir savunma reaksiyonunu desteklediği görülmüştür. Araştırmacılar *B. metilotrophicus* M4-96'nın çilek bitkisinde büyümeyi destekleyerek sistemik direnç oluşturduğunu saptamışlardır.



2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

2.1.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Tez araştırmalarında kullanılan cihaz, alet ve bazı sarf malzemeleri; Otoklav, etüv, inkübatör, Petri kabı, mikroskop, steril kabin, derin dondurucu (-20°C ve -80°C), çalkalayıcı, manyetik karıştırıcı, mikro pipet, pipet ucu, hassas terazi, buzdolabı, steril lam-lamel, saf su cihazı, deney tüpü, vortex, filtre kağıtları, aliminyum folyo, saksı, kemer patlıcan tohumu, steril toprak, pens, kurutma kağıdı, falkon tüpü, beher glass, erlenmayer, etil alkol (%70, %60'lık), watman filtre kağıdı, öze, eppendorf tüp şeklindedir.

2.1.2. Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltilerin Hazırlanması

Patates dekstroz agar (PDA; Patato Dextrose Agar; Merck, Darmstadt, Germany): 39 g PDA 1000 ml distile su (dH₂O) içerisinde ısıtarak çözdürülmüş ardından 121°C ve 1 atm basınç altında otoklavda 20 dakika sterilize edilmiş ve steril Petri kaplarına dökülmüştür.

Nutrient agar (NA, Merck): 20 g nutrient agar 1000 ml distile su içerisinde ısıtarak çözdürülmüş ve 121°C ve 1 atm basınç altında otoklavda 20 dakika sterilize edilmiş ve steril Petri kaplarına dökülmüştür.

Etil Alkol Çözeltisi: %96'lık etil alkolden %70'lik hazırlanmıştır.

NaClO (%2): 100 ml'lik çözelti 98 ml dH₂O ve %5'lik sodyum hipokloritten 2 ml sodyum hipoklorit kullanılarak hazırlanmıştır. Kemer patlıcanı tohumlarının yüzey dezenfeksiyonunda kullanılmıştır.

Patlıcanda kurşuni küf hastalık etmeni olan *Botrytis cinerea* Pers.: Fr (Bc-TR07) ve rizobakteriler “*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (B379c), *B. cereus* (B10a), *B. amyloliquefaciens* (76A-1), *Pseudomonas aeruginosa* (P07-1, P07-4 ve 85A-2), *Pseudomonas putida* (P11-4)” Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Mikoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Bitki gelişme düzenleyici rizobakteriler (PGPR), ERÜ-BAP FBA1065 kodlu proje kapsamında karakterize edilen bakteriyel izolatlar arasından seçilmiştir (Yıldız vd., 2012; Altınok vd., 2013). Saksı denemelerinde kurşuni küf hastalık etmenine duyarlı patlıcan çeşidinin (*Solanum melongena* L. cv. Kemer) tohumları kullanılmıştır.

2.2. Metod

2.2.1. Rizobakteri İzolatlarının Antagonistik Etkilerinin Testlenmesi

Kültür koleksiyonumuzda bulunan 17 adet PGPR izolatı arasında karakteristik özellikleri açısından başarılı bulunan 7 adet rizobakterinin *in vitro*'da antagonistik aktivitelerinin belirlenmesi çalışmalarında, patojen izolat (Bc-TR07) PDA ve PGPR izolatları NA besiyerlerinde geliştirilmişlerdir. Petri kaplarının (9 cm) kenarlarından ve merkezden eşit uzaklıktaki 4 noktadan PGPR izolatlarının 2 günlük taze kültürleri dH₂O ile hazırlanan 50 µl 10⁸ hücre ml⁻¹ yoğunlukta süspansiyonları inokule edilerek 25°C±1'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra *Botrytis cinerea*'nın (Bc-TR07) bir haftalık taze kültüründen alınan 4 mm'lik agar diski Petri kabının merkezine inokule edilerek, 25°C±1'de karanlık koşullarda 7 gün inkübe edilmiştir. Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre 10 tekerrürlü kurulan denemede (Her Petri kabı bir tekerrür) patojenin koloni çapı ölçülerek mm cinsinden kaydedilmiş ve yüzde inhibisyon aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Yıldız vd., 2012).

$[(R-r)/R*100]$ r: bakteri kolonisinin karşısındaki fungal koloninin çapı; R: Fungal koloninin maksimum çapı

Yürütülen çalışmada, kültür koleksiyonundaki PGPR izolatlarının seçiminde antibiyosis etki mekanizması ile birlikte, bu izolatların tamamlanan proje kapsamında belirlenmiş karakterizasyon özellikleri dikkate alınmıştır. Bu bakımdan araştırmada azot bağlayan, proteaz aktivite gösteren, fosfat çözebilen, siderofor ve HCN (hidrojen siyanid) üreten üç PGPR (*Pseudomonas aeruginosa*; P07-1, P07-4 ve 85A-2), sadece azot bağlayan

Bacillus subtilis subsp. *subtilis*; B379c, *B. cereus* (B10a), *B. amyloliquefaciens* (76A-1), *P. putida* (P11-4), *P. aeruginosa* rizobakterileri kullanılmıştır (Yıldız vd., 2012). Ayrıca çalışma kapsamında, *Pseudomonas-Bacillus* kombine uygulamalarına da yer verilmiştir.

2.2.2. PGPR Uygulamalarının Patlıcanda Kurşuni Küf Hastalığının Gelişimine Etkileri

Yüzey dezenfeksiyonu yapılan kemer patlıcan tohumları (NaOCl %2) iki kez steril distile suda 1 dakika durulanmış ve ardından bir saat süreyle oda sıcaklığında steril koşullarda kurutulmuştur. Kurutulan tohumlar 50'li gruplara ayrılmış ve tohumlara NA besiyerinde gelişen bakterilerin 10^8 hücre/ml yoğunlukta süspansiyonları püskürtme yöntemi ile inokule edilmiştir. PGPR uygulanan tohumlar bir saat oda sıcaklığında steril koşullarda kurutulmuş ve steril kum-toprak-torf (1:2:1) içeren plastik küvetlere (28x38 cm) ekilmiştir. Fideler kotiledon yapraklı dönemde steril kum-toprak-torf (1:2:1) içeren 13 cm çaplı plastik saksılara (her saksıda iki fide) şaşırtılmıştır. Fideler 5-6 gerçek yapraklı döneme geldiklerinde yeşil aksama patojen (10^6 konidi ml^{-1}) spreyleme yöntemi ile inoküle edilmiş ve fideler poşetle kapatılmıştır. Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve 16 saat aydınlık (11000 lüks), 8 saat karanlık fotoperiyota ayarlı, %80 nisbi nem, gündüz $27\pm 2^\circ C$ ve gece $24\pm 2^\circ C$ sıcaklık içeren Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi iklim kontrollü kabinlerinde yürütülmüştür. İnokulasyondan sonra fideler, ilk belirtilerin gözlemlendiği günden itibaren bitkilerde ölüm görünümlerinin başladığı zamana kadar (28 gün) periyodik olarak (0-4) skalasına göre değerlendirmeye alınmıştır. Kurşuni küf hastalığı için, domateste kullanılan skala uyarlanmıştır.

“0= hastalık yok,

1≤ %25 yanıklık ve/veya yaprak dökümü,

2= %25-%50 yanıklık ve/veya yaprak dökümü,

3= %50-%75 yanıklık ve/veya yaprak dökümü,

4= %75-%100 yanıklık ve/veya yaprak dökümü” (Ziogas *et al.*, 2005; Altınok, 2012).

Denemenin sonlandırıldığı 28. güne ait skala değerleri üzerinden Townsend-Heuberger formülüne göre hastalık şiddeti (%) hesaplanmış ve Abbott formülüne göre

uygulamaların yüzde etkileri bulunmuştur (Karman, 1971). Verilere tek yönlü Varyans analizi (oneway ANOVA) yapılmış ve Tukey's HSD testi ($P < 0.01$) ile uygulamalar arasındaki fark karşılaştırılmıştır (JMP v9.0 software, SAS Institute Inc., Carry, NC, USA). Ayrıca, hastalık gelişim eğrisi altında kalan alan (AUDPC; The area under disease progress curve) hesabı da yapılmıştır (Campbell ve Madden, 1990; Altınok ve Can, 2010).

Hastalık Şiddeti (%): $(n.V) / (Z.N) \times 100$; n: Her bir skala değerine giren bitki sayısı, V: Skala değeri, Z: En yüksek skala değeri, N: Gözlem yapılan toplam bitki sayısı

Abbott Formülü (Etkililik) (%): $X - Y / X \times 100$; X: Kontrol, Y: Uygulama

AUDPC = $\sum [(x_i + x_{i+1}) / 2] (t_{i+1} - t_i)$; x_i , i günündeki değerlendirmede kaydedilen hastalık şiddeti, $(t_{i+1} - t_i)$ ardışık iki ölçüm arasındaki zaman

2.2.3. Savunmada Rol Alan Enzimlerin Biyokimyasal Analizleri

Kök bakterilerinin bitkilerde dayanıklılık mekanizması üzerindeki etkilerini saptamak amacıyla savunmada rol alan enzimler araştırılmıştır. Biyokimyasal analizler için, saksı denemelerinde patojen inokulasyonundan 24, 48, 72 saat, 7, 14 ve 21 gün sonra bitkilerden yaprak örnekleri (1 g) alınarak distile suda yıkanmış, sıvı azotta dondurulmuş ve analiz yapılana kadar -80°C 'de saklanmıştır. Prolin ekstraksiyonu ve belirlenmesi; Bates *et al.* (1973)'a göre yapılmıştır. Renk maddesi olarak asit-ninhidrin karışımı kullanılmıştır. Ninhidrin (1,25 g), glasiyal asetik asit (30 ml) ve 6 M fosforik asit (20 ml) içerisinde çözülmüştür. Yaprak örnekleri (1 g) 10 ml %3'lük sülfosalisilik asit içinde homojenize edilmiştir. Homojenizasyon Whatman No: 2 filtre kâğıdından geçirildikten sonra 2 ml'lik karışım 100°C 'de 1 saat kaynatılmış ve reaksiyon buz içerisinde sonlandırılmıştır. Absorbans 515 nm tolüen kontrolüne karşı okunmuş ve standart olarak önceden hazırlanmış olan L-Prolin solüsyonu kullanılmıştır.

Katalaz (CAT) enziminin ölçümünde; Milosevic ve Slusarenko (1996)'nın yönteminden faydalanılmıştır. Bu amaca yönelik olarak 50 μl of protein ekstraktı, 2,95 ml (10 mM H_2O_2 , 50 mM potasyum fosfat buffer (pH 7,0) ve (4 mM Na_2 EDTA) reaksiyon karışımına eklenerek, 240 nm'de 25°C 'de 30 saniye süre ile ölçülmüştür.

Tepkimenin ilk kinetiğini gösterdiği durum $\Delta A_{240} \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ olarak kaydedilmiştir.

Peroksidaz (POX) ölçümü; Cvikorová *et al.* (1994)'nin yöntemine göre yapılmıştır. Bu amaca yönelik olarak 1 g yaprak örneği homojenize edilmiş, 100 μl yaprak ekstraktı 3 ml reaksiyon karışımına (13 mM gayacol, 5 mM H_2O_2 ve 50 mM Na-fosfat; pH 6,5) eklenmiştir. Peroksidaz aktivitesi 470 nm'de 25°C'de 1 dakikalık sürede ölçülmüştür. Reaksiyon kinetiği, $\Delta A_{240} \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ olarak kaydedilmiştir (Altınok vd., 2013; Altınok ve Dikilitaş, 2014).



3. BÖLÜM

BULGULAR ve TARTIŞMA

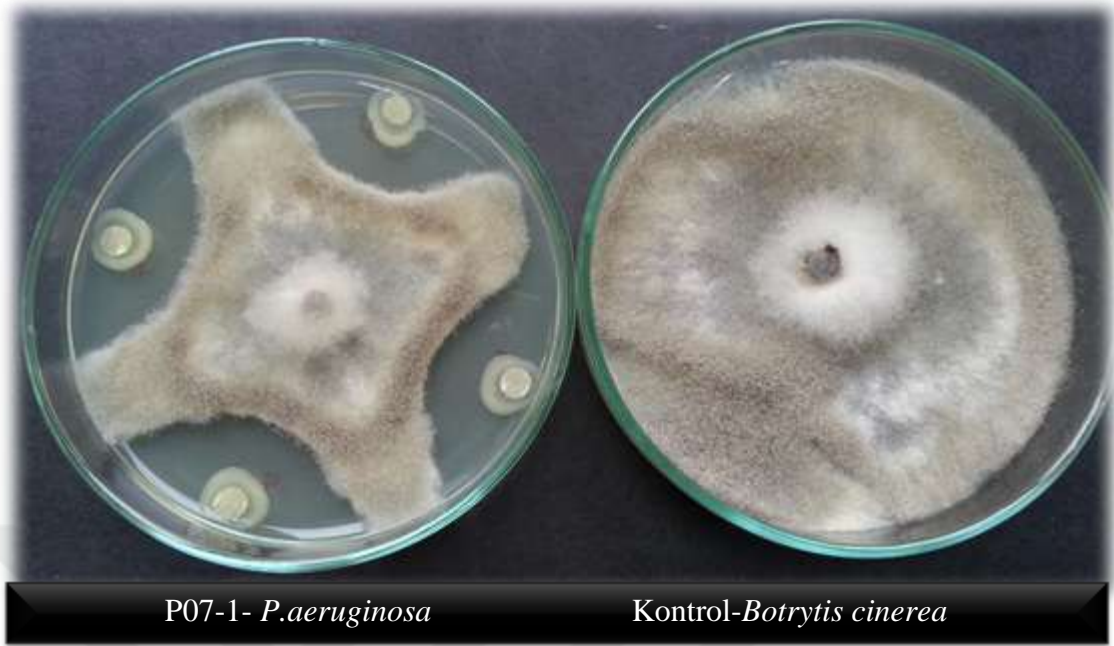
3.1. Rizobakteri İzolatlarının Antagonistik Etkileri

Rizobakteri ve patojen (Bc-TR07) arasındaki antagonistik ilişkinin belirlenmesi çalışmaları kapsamında, kültür koleksiyonundan 17 adet PGPR izolatı arasından karakteristik özellikleri açısından başarılı bulunan 7 adet rizobakteri ile tez çalışmaları yürütülmüştür. İstatistiksel analizlerde uygulamalar arasındaki fark önemli bulunarak ($F=82,0436$; $P<0,0001$) rizobakteri izolatlarının, Bc-TR07'nin miseliyal gelişimini engellemediği ya da çok sınırlı engellediği saptanmıştır (Şekil 3.1-3.2). Bu rizobakteriler arasında B379c, B10a, 76A-1, P07-1, P07-4, 85A-2 ve P11-4 izolatlarının Bc-TR07 patojen izolatın koloni gelişimini ortalama %21-33 oranında engellediği saptanmıştır (Tablo 3.1).

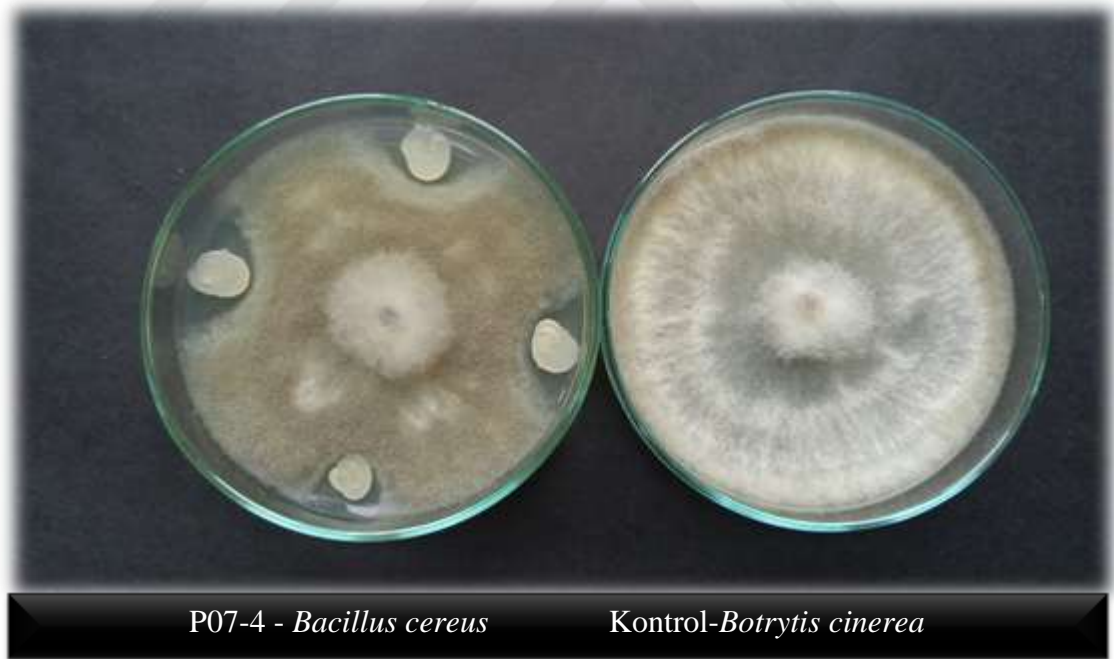
Tablo 3.1. Rizobakteri izolatlarının *Botrytis cinerea*'nın (Bc-TR07) miseliyal gelişimine etkisi

Rizobakteriler	İzolat Kodu	Koloni Çapı (mm)	Yüzde Etki
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	B379c	71,00 ^{b*}	21,11
<i>Bacillus cereus</i>	B10a	60,00 ^d	33,33
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	76A-1	65,00 ^c	27,78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P07-1	62,00 ^{cd}	31,11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P07-4	73,00 ^b	18,89
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	85A-2	63,00 ^{cd}	30,00
<i>Pseudomonas putida</i>	P11-4	65,00 ^c	27,78
Kontrol		90,00 ^a	

*Farklı harfle gösterilen sütunlar içindeki rakamlar Tukey's HSD testine $P<0,01$ düzeyinde önemli



Şekil 3.1. *Pseudomonas aeruginosa* (P07-1) izolatının *Botrytis cinerea*'nin miseliyal gelişimine antagonistik etkisi.



Şekil 3.2. *Pseudomonas aeruginosa* (P07-4) izolatının *Botrytis cinerea*'nin miseliyal gelişimine antagonistik etkisi.

3.2. PGPR Uygulamalarının Bitki ve Hastalık Gelişimine Etkileri

Bc-TR07 patojen izolatının inokulasyonundan 12 gün sonra fidelerde ilk belirtiler gözlenmeye başlamıştır. Hastalık şiddeti değerleri ve AUDPC değerleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ($r=0,81$). PGPR izolatları arasında *P. aeruginosa* (P07-1) %36,11 hastalık şiddeti (pozitif kontrole göre %58,07 etki) ile en başarılı izolat olarak saptanmıştır (%AUDPC 52,29) (Tablo 3.2). Bu izolatı, *P. putida* (P11-4) ve *B. amyloliquefaciens* (76A-1) izolatları sırasıyla %37,50-38,88 hastalık şiddeti %AUDPC 49,05-55,39 değerleri izlemiştir. *P. aeruginosa* (85A-2), *B. cereus* (B10a), *B. subtilis* subsp. *subtilis* (B379c) ve *P. aeruginosa* (P07-4) ise, kontrole göre kurşuni küf hastalığının gelişimi üzerine sırasıyla %53,23, %48,39, %46,78 ve %43,55 etki göstermiştir. *Pseudomonas-Bacillus* kombine uygulamaları ise, %38,77 hastalık şiddeti (pozitif kontrole göre %54,98 etki) ve %AUDPC 55,59 değerleri ile hastalığı inhibe etmede başarılı olmuştur.

Araştırma kapsamında, bu rizobakterilerin bitki gelişimini düzenlemede ki rollerine de yer verilmiştir. *P. aeruginosa* (P07-1) hastalığı engelleme yeteneğine paralel olarak bitki gelişiminide teşvik edebilen en başarılı izolat olarak belirlenmiştir. Negatif kontrolde bitki boyu 24,42 mm ve kök-yeşil aksam kuru ağırlığı 2,21 g iken, bu oran P07-1 inokulasyonu sonucunda sırasıyla 32,83 mm ve 2,31 g olarak ölçülmüştür. Bu izolatı sırasıyla ve bitki boyu- kuru ağırlık değerleri ile P11-4 (29,41 mm-1,78 g), 76A-1 (28,61 mm-1,51 g) ve B379c (26,31 mm-1,47 g) rizobakterileri izlemiştir (Tablo 3.2). Şekil 3.3 ve 3.4'te saksı denemelerinden genel görünüm verilmiştir.

Tablo 3.2. PGPR ve bitki aktivatörlerinin patlıcanda kurşuni küf hastalığına etkileri

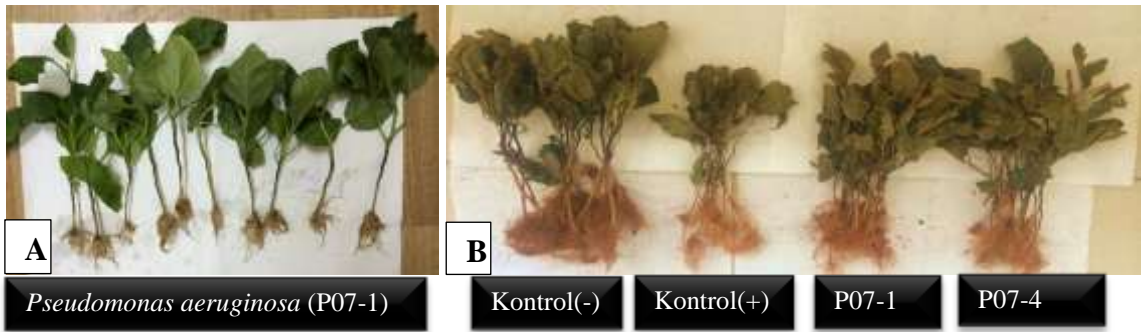
Uygulamalar	Bitki Boyu (mm)	Kuru Ağırlık (g)	Hastalık Şiddeti (%) ¹	Etki (%)	AUDPC (%) ²
P07-1	32,83 ± 4,13* a**	2,31 ± 1,27 a	36,11 ± 2,29 f	58,06	52,29
P07-4	24,25 ± 3,05 d	0,94 ± 0,82 d	48,61 ± 4,18 b	43,55	44,78
B379c	26,31 ± 2,80 bcd	1,47 ± 0,99 c	45,83 ± 2,33 c	46,78	40,85
B10a	25,58 ± 3,19 cd	1,12 ± 0,19 d	44,44 ± 2,61 c	48,39	50,58
76A-1	28,61 ± 3,56 bc	1,51 ± 0,82 bc	38,88 ± 2,00 de	54,85	55,39
P11-4	29,41 ± 4,38 b	1,78 ± 0,18 b	37,50 ± 2,22 ef	56,45	49,05
85A-2	27,63 ± 3,95 bc	1,60 ± 0,61 bc	40,27 ± 2,55 d	53,23	45,58
Kombine	24,47 ± 2,53 d	2,19 ± 1,28 a	38,77 ± 2,35 def	54,98	55,59
Kontrol (+)	15,57 ± 2,65 e	1,16 ± 0,69 d	86,11 ± 1,61 a		10,00
Kontrol (-)	24,42 ± 3,22 d	2,21 ± 0,28 a			

*Standart sapma

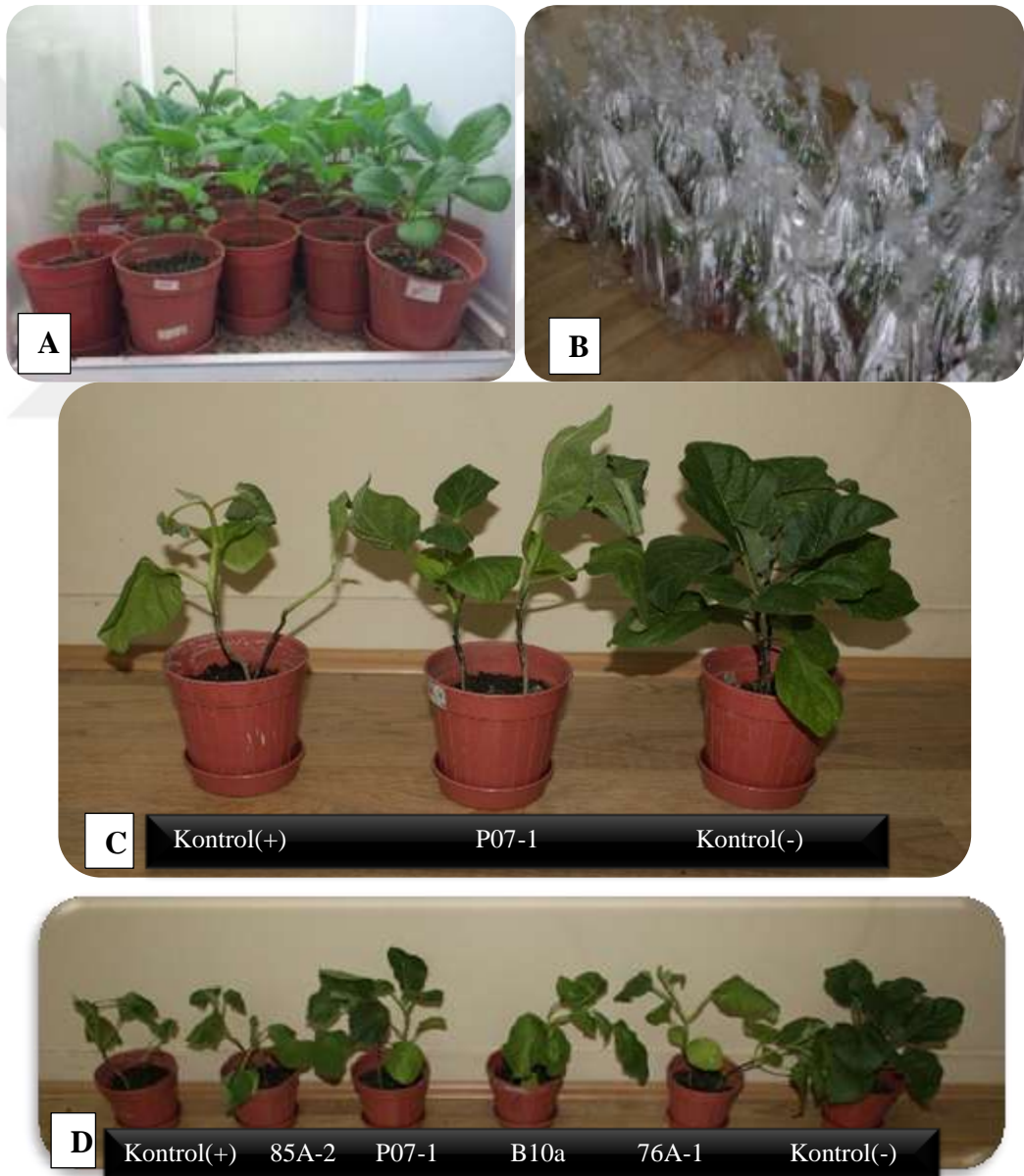
**Farklı harfle gösterilen sütunlar içindeki rakamlar Tukey's HSD testine $P<0,01$ düzeyinde önemli

¹Yüzde hastalık şiddeti (28. gün skala verileri üzerinden hesaplanmıştır)

²Hastalık gelişim eğrisi altında kalan alan (AUDPC)



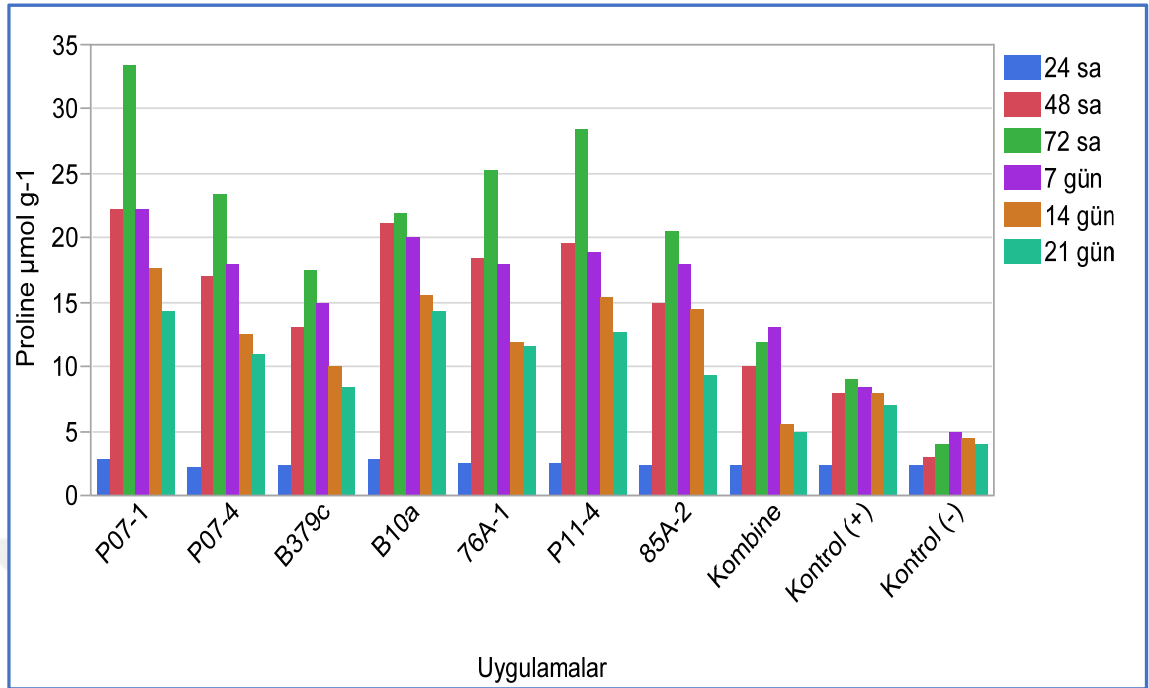
Şekil 3.3. *Pseudomonas aeruginosa* (P07-1) izolatu uygulanan bitkilerin kurutulmamış hali (A), *P. aeruginosa* (P07-1) ve *P. aeruginosa* (P07-4) izolatu uygulanan bitkilerin kurutma işlemi yapılmış halleri (B).



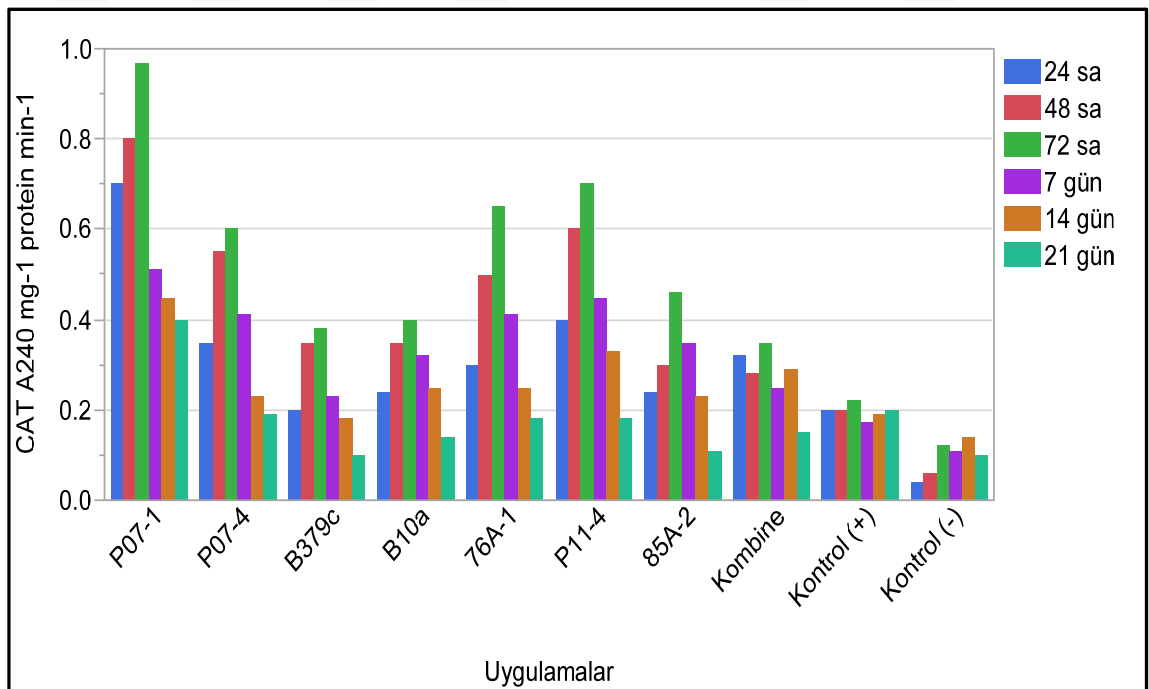
Şekil 3.4. PGPR uygulaması yapılan kemer patlıcan fidelerinden genel görünüm (A), Nem çemberine alınmış patojen inokule edilmiş patlıcan bitkileri (B), PGPR'ların kurşuni küf hastalığı gelişimine etkileri (C ve D).

3.3. Savunma Enzimlerinin Biyokimyasal Analizleri

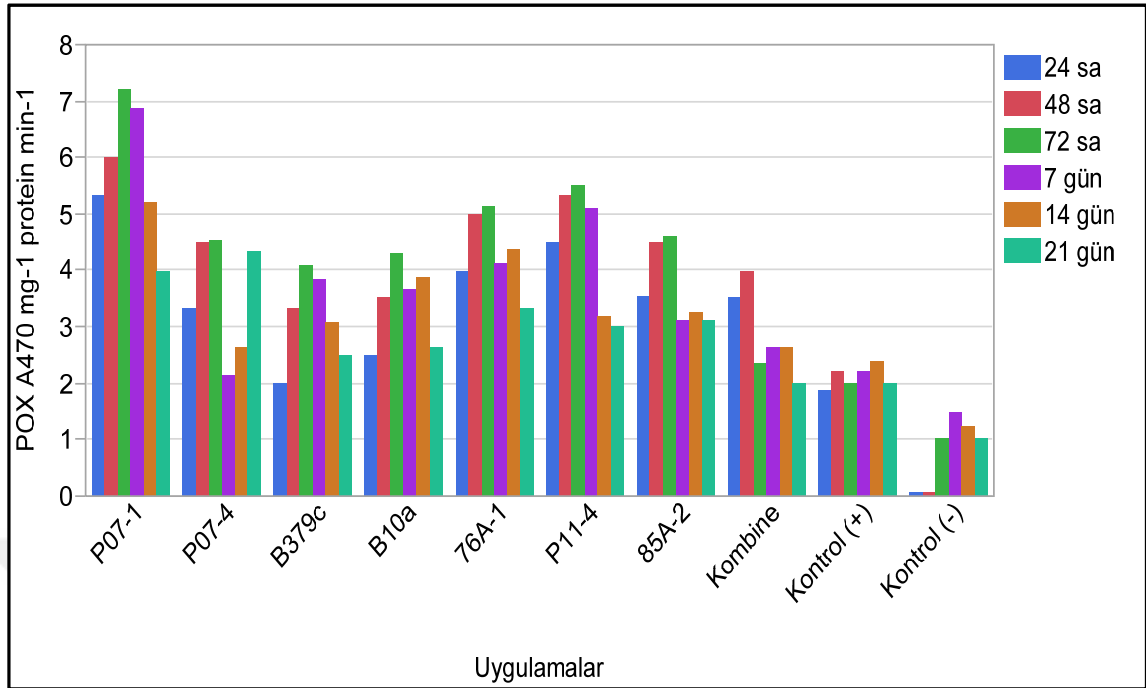
Kemer patlıcan fidelerine (Bc-TR07) patojen inokulasyonundan sonra 24, 48, 72 saat ve 7, 14 ve 21. günlerde periyodik olarak alınan yaprak örneklerinde prolin, CAT ve POX enzimlerinin analizi yapılmıştır. Bu enzimlerin sentez oranları (+) kontrol ve (-) kontrol bitkileri ile birlikte Şekil 3.5, 3.6 ve 3.7’de gösterilmiştir. Patlıcan fidelerine PGPR uygulamalarının hepsinde prolin, CAT, POX değerlerinde kontrol gruplarına göre artış olduğu gözlenmiştir. Bc-TR07 patojen inokulasyonundan 72 saat sonra alınan yaprak örneklerinde prolin enzimi oranının en yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 3.5). CAT ve POX enzim oranlarında da proline benzer bir durum görülmüştür (Şekil 3.6 ve 3.7). *P. aeruginosa* (P07-1) en yüksek prolin üreten ($33,33 \mu\text{mol g}^{-1}$) izolat olarak saptanmıştır. Bu izolatu, $28,50 \mu\text{mol g}^{-1}$ değeriyle *P. putida* (P11-4) izolatu takip etmiştir. Yine 72 saat sonra alınan yaprak örneklerinde yapılan ölçümlerde proline benzer şekilde CAT ($0,97 \text{mg}^{-1} \text{protein min}^{-1}$) ve POX ($7,21 \text{mg}^{-1} \text{protein min}^{-1}$) enzimleri de en yüksek oranda P07-1 izolatından elde edilmiştir ve bu izolatu P11-4 izolatu izlemiştir. Prolin, CAT ve POX enzim aktivitelerinde Şekil 3.5-3.6-3.7’de görüldüğü gibi bu iki izolatu, *B. amyloliquefaciens* (76A-1) ve *P. aeruginosa* (P07-4) takip etmiştir. PGPR uygulamaları patojene karşı bitkide savunma mekanizmasını maksimum oranda patojen inokulasyonundan 72 saat sonra tetiklemiş, daha sonra savunma enzimlerinin sentez oranlarında haftaya bağlı olarak göreceli bir düşüş olduğu gözlemlenmiştir. *Pseudomonas-Bacillus* kombine uygulamalarında da prolin, CAT ve POX enzim aktiviteleri artış göstermiş ancak, bu oranlar P11-4, 76A-1 ve P07-4 izolatlarının tek başına uygulamalarından düşük bulunmuştur. B379c, B10a ve 85A-2 izolatlarının 72 sa ölçümlerinde, kombine uygulamalarından yüksek oranda prolin, CAT ve POX enzim aktivitesi gösterdiği saptanmıştır.



Şekil 3.5. Patojen (Bc-TR07) inokulasyonundan 24, 48, 72 sa, 7, 14 ve 21 gün sonra PGPR uygulamalarının patlıcanda prolin içeriğine etkisi.



Şekil 3.6. Patojen (Bc-TR07) inokulasyonundan 24, 48, 72 sa, 7, 14 ve 21 gün sonra PGPR uygulamalarının patlıcanda katalaz (CAT) enzim aktivitelerine etkisi.



Şekil 3.7. Patojen (Bc-TR07) inokulasyonundan 24, 48, 72 sa, 7, 14 ve 21 gün sonra PGPR uygulamalarının patlıcanda peroksidaz (POX) enzim aktivitelerine etkisi.

PGPR bakteriler bitki gelişimini teşvik edici hormonların sentezlenmesi, biyolojik azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğünün artırılması ve siderofor üretimi gibi farklı mekanizmalarla bitki gelişimini teşvik ederek dolaylı olarak hastalık gelişimini azalttığı gibi (Vessey, 2003); antibiyosis, yer veya besin için rekabet ve sistemik dayanıklılığın uyarılması gibi mekanizmalarla ise doğrudan patojen gelişimini engelleyerek veya hastalık şiddetini önemli ölçüde azaltarak etkili oldukları bildirilmektedir (Bora ve Özaktan, 1998). Çalışmamızda, patlıcanda PGPR'ların kurşuni küf hastalığını önleme mekanizması; PGPR ve patojen (Bc-TR07) arasındaki kısmi antagonizmin yanı sıra konukçu-patojen savunma mekanizmalarının başlatılmasının bir sonucu olarak görülmüştür.

Yıldız vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, *Pseudomonas fluorescens* izolatının domateste *Botrytis cinerea*'nın neden olduğu kurşuni küf hastalığını %78 oranında azalttığını saptamışlardır. *B. licheniformis* ve *B. subtilis* türlerinin *B. sorokiniana*'ya karşı en etkili türler olduğu ve test edilen bu bakteriyel biyoajanların fungus hiflerinde nekrozlara sebep oldukları, konidi oluşumunu engelledikleri, klamidospore

formasyonunda ve sitoplazmada düzensizliklere neden oldukları görülmüştür (Alippi *et al.*, 2000). Bu çalışmamızda rizobakteri izolatlarının, Bc-TR07 patojen izolatının miseliyal gelişimini inhibe etmediği ya da çok sınırlı inhibe ettiği saptanmış olup testlenen rizobakteriler arasında B379c, B10a, 76A-1, P07-1, P07-4, 85A-2 ve P11-4 izolatlarının Bc-TR07 patojen izolatının koloni gelişimini ortalama %21-33 oranında inhibe ettikleri saptanmıştır.

PGPR bakterileri; havanın serbest azotunu bağlama (Çakmakçı vd., 2007a), inorganik fosfat kaynaklarını çözme (Aslantaş vd., 2007; Güneş vd., 2013), bitki patojenlerini engelleme (Kotan ve Şahin 2002; Karagöz, 2009), enzim üretme (Şahin *et al.*, 2004; Çakmakçı vd., 2007b), büyüme hormonları sentezleme (Aslantaş vd., 2007) ve çeşitli kompleks karbon kaynaklarını mineralize etme (Kotan ve Şahin, 2006) gibi farklı mekanizmaları yerine getirmektedirler.

Whipps (2001), yaptığı çalışmada *Bacillus* ve iki adet *Pseudomonas* türüne ait bakterilerin hızlı gelişebildiklerini, kolay kültüre alınabildiklerini, laboratuvarında kolay genetik manipulasyonların yapılabildiğini ve kolay metabolize olabilen organik bileşikleri kullanabildiklerini bildirmektedir. Höfte *et al.* (1992), ise özellikle floresant *Pseudomonas*'ların farklı antifungal metabolitleri üretme yetenekleri gibi özelliklere sahip olmalarından dolayı biyolojik savaş çalışmalarında tercih edildiklerini belirtmektedirler.

PGPR grubu bakterilerin genelde bitki gelişimini uyarmak ve biyokontrol sağlamak gibi önemli temel işlevleri olduğu bildirilmektedir (Kloepper, 1993). Çalışmamızda, PGPR izolatları arasında *P. aeruginosa* (P07-1) %36,11 hastalık şiddeti (pozitif kontrole göre %58,07 etki) ile en başarılı izolat olarak saptanmıştır (%AUDPC 52,29).

Yapılan çalışmada, bitkilerin oksidatif zararın yol açtığı yıkıcı etkilerden korunmak veya bu zararlı reaksiyonların etkilerini en aza indirebilecek şekilde CAT, POD ve SOD gibi antioksidan enzimlerin miktarını artırarak dayanım mekanizmasını artırdığı saptanmıştır (Asada ve Takahashi, 1987; Scandalios, 1997; Moussa ve Abdel-Aziz, 2008). Bitkilerde oksidatif streslere tolerans sağlamada, bu antioksidan enzimlerin hücresel seviyelerinin artırılmasında oldukça önemli olduğu (Gechev *et al.*, 2002; Minibaeva ve Gordon, 2003), farklı stres koşulları altında yetiştirilen farklı bitkilerde (buğday, pirinç, salatalık) katalaz enzimi aktivitesinin düştüğü (Keleş ve Öncel 2002;

Shim *et al.*, 2003), stres koşullarına toleransları farklı çeşitlerle yapılan çalışmalarda ise stres koşullarına dayanıklı çeşitlerin katalaz ve peroksidaz aktivitelerinin daha yüksek olduğu (Sudhakar *et al.*, 2001) saptanmıştır.

Yapılan bir diğer çalışmada; *B. megaterium* M3, *B. subtilis* OSU142, *Azospirillum brasilense* Sp245 ve *Raoultella terrigena* bakteri uygulamaları buğday ve arpanın gelişimini pozitif yönde etkilemiş bununla beraber don zararı ve bitkilerde sistemik dayanıklılık mekanizmasında görev alan bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine de pozitif etki gösterdiği saptanmıştır (Turan *et al.*, 2013). Bu çalışmamızda PGPR'ların tek başına ve *Bacillus-Pseudomonas* kombine uygulamalarında prolin, CAT ve POX enzimlerinin değerlerinde pozitif kontrol gruplarında artış gözlenmiştir. Siderofor üretebilen ve fosforu çözebilen *P. aeruginosa* izolatının hem antibiyosis etkisi gösterdiği hem de patlıcanda *Fusarium* solgunluğu hastalık gelişimini %80'in üzerinde baskıladığı ve CAT, POX ve PPO savunma enzimlerini tetiklediği bildirilmiştir (Altınok vd., 2013).

PGPR'ların bitkilerde çimlenmeyi, bitki boyunu, toplam ağırlığı, çiçeklenmeyi ve verimi arttırıcı etkide buldukları belirtilmektedir (Chen *et al.*, 1996; Almonacit *et al.*, 2000; Pal *et al.*, 2000; Romeiro, 2000). Çalışmamızda denemesini yaptığımız PGPR'lardan *P. aeruginosa* (P07-1) bitki gelişimini teşvik eden en başarılı izolat olarak belirlenmiş ve bitki gelişimini teşvik ederek, pozitif kontrol bitkilerinin boy ve kuru ağırlığı 32,83 mm-2,31 g iken negatif kontrolde bitki boyu ve kuru ağırlığı 24,42 mm-2,21 g olarak ölçülmüştür.

4. BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER

Rizobakterilerin toprak ve bitkinin sağlığını destekleyici özellikleri bilinmektedir (Glick, 1995; Hallman *et al.*, 1997). PGPR'lar ile yapılan çalışmalarda genellikle bu bakterilerin *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinslerine ait oldukları ortaya konulmuştur (Klopper, 1991). PGPR'lar bitkilere, patojenlere karşı dayanıklılık geliştirmesinde rol oynayarak patojenlerin pek çoğunun kontrolünde direkt antagonistik etki göstererek yarar sağlamaktadır (Bloemberg ve Lutenberg, 2001; Sturz *et al.*, 2000). Bugün bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede, bilinen en genel biyolojik kontrol mekanizmaları antagonizm ve hiperparazitizm olsa da, antibiyotik, siderofor ve litik enzim üretimleri de patojeni engellemede önemlidir (Bora vd., 1994; Nagarajkumar *et al.*, 2004). *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerden bir bölümünün kültüre alındıklarında kitinaz ve glukanaaz gibi antifungal metabolitler ürettikleri bildirilmektedir (Neilsen *et al.*, 1998). Bu metabolitlerin saflaştırılmış hallerinin ve litik enzim aktivitelerinin bazı fungusların miseloyal gelişimini inhibe edici etki gösterdikleri saptanmıştır (Radhajealakshmi *et al.*, 2000).

Bu tez çalışması kapsamında, patlıcanda *Botrytis cinerea* hastalık etmenine karşı PGPR uygulamalarının etkinli araştırılmıştır. PGPR ların tek başına ve *Pseudomonas-Bacillus* kombine uygulamalarının *Botrytis cinerea*'ya karşı bitkide enzimatik savunma sisteminde rol alan antioksidanlardan prolin içeriği, katalaz ve peroksidaz enzimlerin sentezinde artışa sebep olduğu görülmüştür. Ayrıca PGPR'ların, bitki biyomasını artırdığı ve kısmen antibiyosis etkisi gösterdiği gözlemlenmiştir.

Sonuçlanmış ve sürmekte olan çok sayıda çalışmayla ulaşılan bilgilerin ışığında, konukçu bitkide dayanıklılığı uyaran ve bitkide gelişimi uyarma (PGPR) etkileri de olan kök bakterilerinin hastalıklara karşı kullanımının pratiğe aktarılmasına yönelik çalışmalara daha fazla yer verilmelidir. PGPR'ların bitkide savunma mekanizmasını

tetiklemesinin savunma genleri yönünden de araştırılması yarar sağlayacaktır. Hem biyoajan olarak hem de bitki gelişimini destekleyici biyolojik gübre olarak PGPR'ların tarımda kullanılması büyük katkılar sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

- Akbudak, N., Tezcan, H., Akbudak, B., Şeniz, V., 2006. The effect of harpin protein on plant growth parameters, leaf chlorophyll, leaf colour and percentage rotten fruit of pepper plants inoculated with *Botrytis cinerea*. **Scientia Horticulturae**, **109**: 107-112.
- Aktaş, L.Y., Güven, A., 2005. Bitki savunma sistemlerinde hormonal sinyal moleküller ve çapraz-iletişimleri. Çankaya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, **Journal of Arts and Sciences**, 3 s.
- Alippi, A. M., Perelló, A. E., Sisterna, M. N., Greco, N. M. and Cordo, C. A., 2000. Remove from marked records potential of spore-forming bacteria as biocontrol agents of wheat foliar diseases under laboratory and greenhouse conditions. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, **107** (2): 155-169.
- Almonacit, C., Quintero, N., Martinez, M., Vela, M., 2000. Determination of quality parameters of bacterium inocula based on liquid formulation elaborated with strains producing indole acetic acid (iaa). Proc. 5th Int. Conf. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Brasil.
- Hernández, A. V., Garciglia, R. S., Eduardo, V. C., Arturo, R. O., Alejandra, H.-G., Perla, G. J., Lourdes, M. R., 2018. *Bacillus methylotrophicus* M4-96 stimulates the growth of strawberry (*fragaria* × *ananassa* ‘aromas’) plants *in vitro* and slows *Botrytis cinerea* infection by two different methods of interaction. **Journal of Plant Growth Regulation**, 1-13.
- Altınok, H. H., Can, C., 2010. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* isolates from eggplant in Turkey by pathogenicity, VCG and RAPD analysis. **Phytoparasitica**, **38** (2): 149-157.
- Altınok H. H., Dikilitaş, M., 2014. Antioxyd antresponsetobiotic and abioticinducers for the resistance against *Fusarium* wilt disease in eggplant (*Solanum melongena* L.). **Acta Botanica Croatica**, **73** (1): 79-92.
- Altınok, H. H., 2012. Antalya ve Mersin ili örtü altı patlıcan ekimalanlarında kurşuni küf ve beyaz çürüklük hastalıklarının yaygınlık oranlarının belirlenmesi. **Bitki Koruma Bülteni**, **52** (2): 163-173.

- Altınok, H. H., 2013. Patlıcanda kurşuni küf (*Botrytis cinerea* pers). **Hasad Aylık Tarım Dergisi**, 335:52
- Altınok, H. H., Dikilitaş., M, Yıldız, H. N., 2013. Potential of *Pseudomonas* and *Bacillus* isolates as biocontrolagents against *Fusarium* wilt of eggplant. **Biotechnology&Biotechnological Equipment**, 27 (4): 3952-3958.
- Anonim, 2009. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Patlıcan Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele El Kitabı.
- Anonim, 2017a. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, (Erişim tarihi: Nisan 2019).
- Anonim, 2017b. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, (Erişim tarihi: Nisan 2019).
- Anonim, 2018a. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>, (Erişim tarihi: Nisan 2019).
- Anonim, 2018b. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>, (Erişim tarihi: Nisan 2019).
- Asada, K., Takahashi, M., 1987. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: Kyle DJ, Osmond CB, Arntzen CJ (eds) Photo inhibition. Elsevier, Amsterdam, 227-287.
- Aslantaş, R., Çakmakçı, R., Şahin, F., 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth ann fruit yield under orchard conditions. **Scientia Horticulturae**, 111: 371-377.
- Bakker, P. A. H. M., Ran, L. X., Pieterse, C. M. J., Van Loon, L. C., 2003. Understanding the involvement of rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases. **Canadian Journal of Plant pathology**, 25: 5-6.
- Barka, E. A., Gognies, S., Nowak, J., Audran, J. C., Belarbi, A., 2002. Inhibitory effect of endophytic bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. **Biological Control**, 24: 135-142
- Bates, L. S., Waldren, R. P., Teare, I. D., 1973. Rapid determination of freeproline for water-stress studies. **Plant and Soil**, 39: 205-207.
- Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J.J., 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion in Plant Biology**, 4: 343-350.

- Bora, T., Özaktan, H., 1998. Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaş. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı, Prizma Matbaası, İzmir, 205 s.
- Bora, T., Yıldız M., Özaktan, H., 1994. Effect of fluorescent *Pseudomonas* an *Fusarium* wilt on watermelon. **Journal of Turkish Phytopathology**, **23** (1):19-25.
- Borden, S., Higgins, V. J., 2002. Hydrogen peroxide plays acritical role in the defense response of tomatoto *Cladosporium fulvum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, **61**: 227-236.
- Burdman, S., Jurkevitch, E., Okon, Y., 2000. Recent advances the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in agriculture. In Microbiol Interactions in Agriculture and Forestry. Subba, R.N., Dommergues, Y.R.(eds)., **2** (10): 29-250. Pub. Inc. UK. **Yazımını sor**
- Campbell, C. L., Madden, L. V., 1990. Introduction to plant disease epidemiology. New York: John Wiley and Sons Inc.; 1990. Temporal analysis of epidemics. I: description and comparison of disease progress curves, 161-202.
- Card, S., Jaspers, M. V., Walter, M., Stewart, A., 2002. Evaluation of micro-organisms forbio control of grey mould on lettuce. **New Zealand Plant Protection**, **55**: 197-201.
- Chen, Y., Mei, R., Lu, S., Liu, L., Kloepper, J. W., 1996. The use of yield increasing bacteria as plant growth promoting rhizobacteria in chinese agriculture. In: management of soil borne diseases, R.S. Uthkede and W.K., Gupta (Eds), Ludhiana: Kalyani Publishers: 164-184.
- Chester, K. 1933. Tje problem of acquired physiological immunity in plants. **Quarterly Review of Biology**, **8**: 129-327.
- Corné, M. J. P., Saskia C. M. W., Johan, A. P., Marga, K., Ramon, L., Han, G., Peter, J. W., Leendert, C. L.,Published September 1998. A Novel Signaling Pathway Controlling Induced Systemic Resistance in Arabidopsis. **The Plant Cell**, **10**: 1571–1580.
- Cosio, E. G., 1994. Elicitors of plant defense responses. **International Review of Cytology**, **148**: 1-36.
- Courderchet, M., 2003. Benefits and problems of fungicide control of *Botrytis cinerea* in vineyards of champagne. **Vitis**, **42**: 165-171.

- Cvikorová, M., Hrubcová, M., Vágner, M., Machácková, I., Eder, J., 1994. Phenolic acids and peroxidase activity in alfalfa (*Medicago sativa*) embryogenic cultures after ethephon treatment. **Physiologia Plantarum**, **91**: 226-233.
- Çakmakçı, R., 2006. Bitki gelişme promotörü rizobakteri kullanımındaki son gelişmeler. Organik Tarım Perspektif ve Uygulamaları. Organik Tarım Kongresi, Yalova.
- Çakmakçı, R., Dönmez, M. F., Erdoğan, Ü., 2007a. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley, seedling growth, nutrient uptake, some soil properties and bacterial counts. **Turk Journal of Agriculture and Forestry**, **31**: 189-199.
- Çakmakçı, R., Erat, M., Erdoğan Ü., Dönmez, M. F., 2007b. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, **170**, 288-295.
- Çınar, A., Biçici, M., Erkılıç, E., 1986. Patateste siyah kabukluk ve gövde kanseri etmeni *Rhizoctonia solani* Kühn'nin inokulum potansiyelinin azalmasında antagonistlerden yararlanma. *Türkiye I. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri*, 57-68.
- Daunay, M. C., Janick, J., 2007. History and iconography of eggplant. **Chemical horticulturae**, **47** (3): 16-22.
- Daunay, M. C., Lester, N. R., Gebhardt, C., Hennart, W., Jahn, M., 2001. Genetic resources of eggplant (*Solanum melongena* L.) and allied species. A new challenge for molecular genetics and eggplant breeders, 251-274 in *Solanaceae V*, edited by R.G. Van Den Berg, G. W. Barendse and C.Mariani. Nijmegen University, Press Nijmegen, The Netherlands.
- Dekker, J., 1982. Counter measures for avoiding fungicide resistance. In: Fungicide resistance in crop protection (eds. J. Dekker, S.G. Georgopoulos) Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, The Netherlands. 177-186 pp.
- Delen, N. 2006. Kurşuni küf hastalığı etmeni *Botrytis cinerea*'nın bağdaki epidemiyolojisi ve savaşımları. **Başak Tarım Dergisi**, **4**: 68-72.

- Dickinson, N., C. H., Lucas, J. A., 1982. Plant Pathology and Plant Pathogens. (Basic Microbiology; 2nd, V.6, J.F. Wilkinson ed.) Blackwell Scientific Publications, London, 229.
- Dik, A., Goning, G., Kohl, J., 1999. Evaluation of microbial antagonists for biological control of *B. cinerea* stem infection in cucumber and tomato. **European Journal of Plant Pathology**, **105**:115-122.
- Ebel, J., 1986. Phytoalexin Synthesis. The biochemical analysis of the induction process. **Annual Review Phytopathology**, **24**: 235-264.
- Eken, C., Genç, S., Tuncer, S., Kadioğlu, Z., 2013. Çilekte kurşuni küf hastalığı etmeni *Botrytis cinerea*'ya *in vitro* da fungal antagonistlerin etkisi. [the effect of fungal antagonists on the strawberry grey mould (*Botrytis cinerea*) *in vitro*] Paper at: *Türkiye V. Organik Tarım Sempozyumu*, 25-27 Eylül, Samsun, 2013.
- Elad, Y., 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. **Crop Protection**, **19**: 709-714.
- Elad, Y., Stewart, A., 2004. Microbial control of *Botrytis* spp. Y Elad *et al.* (eds.), *Botrytis: Biology, pathology and control*, Kluwer Academic Publishers, Printed in the Netherlands, 223-236 pp.
- Elsheikh, E. A. E., Elzidany, A. A., 1997. Effects of *Rhizobium* inoculation, organic and chemical fertilizers on yield and physical properties of faba bean seeds. **Plant Foods for Human Nutrition**, **51**: 137-144.
- Eser, Ü., Coşkuntuna, A., 2016. Bazı bitki aktivatörlerinin salata-marulda kurşuni küf hastalığına (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) karşı etkilerinin araştırılması. **Bitki Koruma Bülteni**, **56** (4): 359-368.
- Eşitken, A., Karlıdağ, H., Ercişli, S., Turan, M., Şahin., F., 2003. The effects of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus armeniaca* L.cv. Hacıhaliloglu). **Australian Journal of Agricultural Research**, **54**: 377-380.
- Fugelsang, K. C., Edwards, C. G., 1997. Wine microbiology, practical applications and procedures. <https://books.google.com.tr/books?id=PdowAKF3qIC&printsec=frontcover&dq=Wine+Microbiology,+By+Kenneth+C.+Fugelsang+Published+1997+Springer>

- Fukuoka, H., Yamaguchi, H., Nunome, T., Negoro, S., Miyatake, K., Ohyama, A., 2010. Accumulation, functional annotation, and comparative analysis of expressed sequence tags in eggplant (*Solanum melongena* L.), the third pole of the genus *Solanum* species after tomato and potato. **Gene**, **450** (1-2): 76-84.
- Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem, F., Inze, D., Dukiandjiev, S., Taneve, V., Minkov, I., 2002. Hydrogen peroxide protect tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. **Cellular and Molecular Life Science**, **59**: 708-714.
- Gerhardson, B., 2002. Biological substitutes for pesticides. **Trends Biotechnology**, **20**: 338-343.
- Glick, B. R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, **41**: 109-117.
- Gould, A. B., Kobayashi, D. Y., Bergen, M. S., 1996. Identification of bacteria for biological control of *Botrytis cinerea* on petunia using a petal disk assay. **Plant Disease**, **80**: 1029-1033.
- Gullino, M. L., 1992. Chemical control of *Botrytis* spp. In: Recent advances in *Botrytis* Research (eds. By K. Verhoeff, N.E. Malathrakis and B. Williamson) Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, The Netherlands. pp. 217- 222.
- Güneş, A., Turan, M., Güllüce, M., Sahin, F. ve Karaman, M. R., 2013. Farklı bakteri uygulamalarının kaya fosfatının çözünürlüğü üzerine etkileri. **Toprak Su Dergisi**, **2** (1): 53-61.
- Hahlbrock, K., Scheel, D., 1987. Biochemical responses of plant to pathogens. (I. Chet, ed.) Innovative Approaches to Plant Disease Control. John Wiley & Sons. Inc., Canada, 229-254.
- Hallman, J., Quadt-Hallman, A., Marfee, W. F., Kloepper, J. M., 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, **43**: 895-914.
- Helbig, J., 2001. Biological control of *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. in strawberry by *Paenibacillus polymyxa* (Isolate 18191). **Journal of Phytopathology**, **149**: 265-273.

- Höfte, M., Boelens, J., Verstraete, W., 1992. Survival and root colonization of mutants of plant growth-promoting *Pseudomonas* affected in siderophore biosynthesis or regulation of siderophore production. **Journal of Plant Nutrition**, **15**: 2253-2262.
- Huang, C. J., Wang, T. K., Chung, S. C., Chen, C.Y., 2005. Identification of an antifungal chitinase from a potential biocontrol agent, *Bacillus cereus* 28-9. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, **38** (1): 82-88.
- Hurbert, J. J., Helton, A. W., 1967. A translocated resistance phenomenon in *Prunus domestica* induced by initial infection with *Cytospora cineta*. **Phytopathology** **57**: 1094-1098.
- Hyun, J. K., Lee, S. H., Kim, C. S., Lim, E. K., Choi, K. H., Kong, H. G., Kim, D. W., Lee, S. W., Moon, B. J. 2007. Biological control of strawberry gray mold caused by *Botrytis cinerea* using *Bacillus licheniformis* N1 Formulation. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, **17** (3):438-444.
- Isaac, S., 1992. Fungal-Plant Interactions. Chapman & Hall, London, 418.
- Kaloo, G., 1993. Genetic improvement of vegetable crops (Edited by: G. Kaloo and B. O. Bergh). Printed in Great Britain by B.P.C.C wheatons Ltd, **Exeter**, **5**: 587-604.
- Karagöz, K., 2009. Bazı PGPR Bakterilerin Marulun Gelişimi ve Marul Yaprak Leke Hastalığı Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri 95 s.
- Karman, M., 1971. Bitki koruma araştırmalarında genel bilgiler, Denemelerin kuruluşu ve Değerlendirme esasları. T.C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları. Bornova, İzmir, 279 s.
- Kashyap, V., Kumar, S. V., Collonnier, C., Fusari, F., Haicour, R., Rotino, G. L., Sihachakr, D., Rajam, R. M., 2003. Review Biotechnology of Eggplant, **Scientia Horticulturae**, 1-25.
- Kaygısız, H., 2000. Bitkisel üretimde hastalıklar. Hasat Yayınları, Hasat Yayımcılık Ltd. Şti, İstanbul.
- Keleş, Y., Öncel, I., 2002. Response of antioxidative defence system to temperature and water stress combinations in wheat seedling. **Plant Science**, **163**: 783-790.

- Kloepper, J. W. 1996. Host specificity in microbe-microbe interactions. **Bioscience**, **46**: 406-9.
- Kloepper, J. W., Tüzün, S., Kuc, J. A., 1992. Proposed definitions related to induced disease resistance. **Biocontrol Science and Technology**, **2**: 349-351.
- Kloepper, J. W., 1991. Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents of Soilborne Diseases. The Biological Control of Plant Diseases. J. Bay-Peterson, ed. Food and Fertilizer Technology Center, Taiwan, 142-152 pp.
- Kloepper, J. W., 1993. Plant growth promoting rhizobacteria as biological control agents, soil microbial ecology. F. Blaine Metting, J. ed. Marcel Dekker, Inc. New York, 255-274 pp.
- Kotan, R., Şahin, F., 2002. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bakteriyel organizmaların kullanılması. **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, **33** (1): 111-119.
- Kotan, R., Şahin, 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.
- Kurt, Ş., 2013. Bitki Fungal Hastalıkları. Akademisyen Kitabevi, Ankara, 207 s.
- Lee, J. P., Lee, S-W, Kim, C. S., Son, J. H., Song, J. H., Lee, K. Y., Kim, H. J., Jung, S. J., Moon, B. J., 2006. Evaluation of formulations of *Bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*, **Biological control**, **37** (3): 329-337.
- Leifert, C., Chidburee, H. L. S., Hampson, S., Workman, S., Sıgee, D., Epton, H. A. S., Harbour, A., 1995. Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45. **Journal of Applied Bacteriology**, **70**: 97-108.
- Leroux, P., 2004. Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. *Botrytis: Biology and control* (Editörler: Elad, Y., Williamson, P., Tudzynski, P., Delen, N.). Kluwer Academic Publishers London, 195-222 pp.

- Liu, L., Kleopfer, J. W., Tüzün, S., 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant-promoting-rhizobacteria. **Phytopathology**, **85**: 695-698.
- Mercier, J., Roussel, D., Charles, M. T., Arul, J., 2000. Systemic and local responses associated with uv and pathogen induced resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrot. **Phytopathology**, **90**: 981-986.
- Meyer, G. D., Bigirimana, J., Elad, Y., Höfte, M., 1998. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. **European Journal of Plant Pathology**, **104**: 279-286.
- Milosevic N, Slusarenko A. J., 1996. Active oxygen metabolism and lignification in the hypersensitive response in bean. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, **49**: 143-158.
- Minibaeva, F. V., Gordon, L. K., 2003. Superoxide production and the activity of extracellular peroxidase in plant tissues under stress conditions. **Russian Journal of Plant Physiology**, **50** (3): 411-416.
- Mónaco, C., Dal Bello, G., Rollán, M. C., Ronco, L., Lampugnani, G., Arteta, N., Abramoff, C., Aprea, A., Larran, S., Stocco, M., 2009. Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato using naturally occurring fungal antagonists. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, **42** (8): 729-737.
- Moussa, R., Abdel-Aziz, S. M., 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. **Australian Journal of Crop Sciences**, **1** (1): 31-36.
- Nagarajkumar, M., Bhaskaran, R., Velazhahan, R., 2004. Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by *P.florescens* in inhibition of *R. solani*, the rice sheath blight pathogen. **Microbiol Research**, **159** (1):73-81.
- Niki, T., Mitsuhashi, I., Seo, S., Ohtsubo, N., Ohashi, Y., 1998. Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. **Plant Cell Physiology**, **39**: 500-507.
- Ozan, S., Aşkın, A., 2006. Orta Anadolu bölgesi örtü altı sebze alanlarında görülen fungal hastalıklar üzerine çalışmalar. **Bitki Koruma Bülteni**, **46** (1-4): 65-74.

- Özaktan H., Bora T., 2000. Biological control of *Fusarium oxysporium* f.sp. *melonis* by the formulations of florescent *Pseudomonas*. **Journal of Turkish Phtopathology**, **29** (2-3): 133-149.
- Özçimen, D., 2018. *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger* küflerine karşı antifungal etkisinin incelenmesi. **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi**, **15** (02).
- Pal, K. K., Dey, R., Bhatt, D. M., Chauhan, S. M., 2000. Plant growth promoting fluorescent *Pseudomonas* enhanced peanut growth, yield and nutrient uptake. 5th Int. Pgpr Workshop, Argentina.
- Piertese, C. M. J., Van Pelt, J. A., Van Wees, S. C. M. and *et al.* 2001. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signaling and expression. **European Journal of Plant Pathology**, **107**: 51-61.
- Piertese, C. M. J., Van Wees, S. C. M., Hoffland, E., Van Pelt, J. A., M., Van Loon, L. C., 1996. Systemic resistance in Arabidopsis induced by biocontrol bacteria is independent of salisilic asit accumulation and pathogenesis-related gene expression. **Plant Cell**, **8**: 1225-1237.
- Radhajeyalakshmi R., Meena B., Thangauelu R., Deborah S. D., Vidhyasekeran P., Velazhahan R., 2000. A45 KDA chitinase purified from pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.) shows antifungal activity. **Journal of Plant Diseases and Protection**, **107**: 605-616.
- Revillas, J. J., Rodelas, B., Pozo, C., Martinez-Toledo, M. V., Gonzalez, L. J., 2000. Production of B-group vitamins by two *Azotobacter* strains with phenolic compounds as sole carbon source under diazotrophic and adiazotrophic conditions. **Journal of Applied Microbiology**, **89**: 486-493.
- Rodriguez, H., Fraga, R., 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advantages**, **17**: 319-339.
- Romeiro, R. S., 2000. Preliminary results of PGPR research at the Universidade Federal De Viçosa, Brasel, Proc.In: 5th Int. Conf. Plant Path. Bact.
- Ross, A. F. 1961. Systemic acquired resistance by localized virus infection in plants. **Virology**, **14**: 340-358.
- Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Willits, W. G., Molina, A., Steiner, H.Y., Hunt, M. D., 1996. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, **8**: 1809-1819.

- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., Bhatti, A. S., 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. **Journal of Industrial Microbiology Biotechnology**, **34**: 635-648.
- Scandalios, G., Guan, L., Polidoros, A. N., 1997. Catalases in plants: gene structure, properties, regulation and expression in oxidative stress and the molecular biology of antioxidants defenses. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, 343-406.
- Sharifi, R., Ryu, C. M., 2016. Are bacterial volatile compounds poisonous odors to a fungal pathogen *Botrytis cinerea*, alarm signals to Arabidopsis seedlings for eliciting induced resistance, or both?. **Frontiers in Microbiology**, **23** (7):196.
- Shim, I. S., Momose, Y., Yamamoto, A., Kim, D. W., Usui, K., 2003. Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, **39**: 285-292.
- Sholberg, P. L., Marchi, A., Bechard, J. 1995. Biocontrol of apple using *Bacillus* spp. isolated from stored apples. **Canadian Journal of Microbiology**, **41** (3): 247-252.
- Sobolewski, J., Wrzodak, R., 2007. A complex protection of bean and pea against diseases and pests with chemical and organic products. **Progress in Plant Protection**, **47** (1427-4337): 306.
- Staswick, P. E., Lehman, C. C., 1999. Jasmonic Acid Signaled Responses in Plants. (A. A. Agrawal, S. Tüzün and E. Bent, eds.) Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores. Biochemistry, Ecology and Agriculture. APS Press St. Paul, Minn., p: 117-136.
- Sturz, A. V., Christie, B. R., Nowak, J., 2000. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. **Critical Reviews in Plant Science**, **19**:1-30.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., Giridarakumar, 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulber (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. **Plant Science**, **161**: 613-619.

- Swadling, I. R., Jeffries, P. 1998. Antagonistic properties of two bacterial biocontrol agents of grey mould disease. **Biocontrol Science and Technology**, **8**: 439-448.
- Szekeres, A., 2006. Echophysiological and molecular investigation of *Trichoderma* strains isolated from winter wheat rhizosphere. **Acta Biologica Szeged**, **49**: 61.
- Şahin, F., Çakmakçı, R., Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. **Plant Soil**, **265**: 123-129.
- Topçu, V., Boyacı, H. F., 2008. Patlıcan yetiştiriciliğinin Dünya ve Türkiye'deki durumu. **Tarımın Sesi**, **20**: 18-21.
- Topolovec-Pintarić, S., 2009. Resistance risk to new botryticides in *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. in wine growing areas in Croatia. **Journal of Plant Diseases and Protection**, **116** (2): 73-77.
- Toure', Y., Ongena, M., Jacques, P., Guiro, A., Thonart, P., 2004. Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. **Journal of Applied Microbiology**, **96**: 1151-1160.
- Turan, M., Güllüce, N., Çakmakçı, R., Şahin, F., 2013. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria strain on freezing injury and antioxidant enzyme activity of wheat and barley. **Journal of Plant Nutrition**, **36** (5): 731-748.
- Tuzun, S., Kuc, J., 1991. Plant immunization: an alternative to pesticides for control of plant plant diseases in gren house and field. In: Bay-Peterson, J. (Ed.), The Biological Control of Plant Diseases. Food and Fertilizer Technology Centre, Taiwan, 30-40 pp.
- Türküsoy, H., Onoğur, E., 1998. Bazı bitki ekstraktlarının *in vitro* antifungal etkileri üzerine araştırmalar. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **22** (1998): 267-271.
- Ulukuş, İ., Akteke, Ş. A., Damdere, H., Develier, O., 1997. Akdeniz bölgesi seralarında sebzelelerde zarar yapan kurşuni küf (*Botryotinia fuckeliana* 'De Bary' Whetzel) hastalığına karşı biyolojik mücadele olanakları üzerinde araştırmalar. **Bitki Koruma Bülteni**, **37** (1-2): 21-34.

- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., Pieterse, C. M. J., 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathology*, **36**: 453-483.
- Verónica, I. H. T. , Ana, K. C.O., Javier, P., Marina, G. R., Oscar, A. C., Sergio, H. L., Mariana, S. G., 1998. The protective effect of *Trichoderma asperellum* on tomato plants against *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea* diseases. Involves Inhibition of Reactive Oxygen Species Production. **International Journal of Molecular Sciences**, **20** (8).
- Vessey, J. K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, **255**: 571-586.
- Wei-Wei, L., Wei, M., Bing-Yu, Z., You-Chen, D. ve Feng L. 2008. Antagonistic activities of volatiles from four strains of *Bacillus* spp. and *Paenibacillus* spp. against soil-borne plant pathogens. **Agricultural Sciences in China**, **7** (9): 1104-1114.
- WHIPPS, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, **52**: 487-511.
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., Kan, J. A. L. V., 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology**, **8** (5): 561–580.
- Yıldırım., I., Şeker, M., 2006. A study on efficacy of immature fruit extrats of *Diospyrous lotus* L. on gray mold (*Botrytis cinerea*) development, pp. 100. 1st International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits. 16-19 October, 2006, Adana.
- Yıldız, F., 2000. Studies on the biological control of gray mold disease of the green house grown tomatoes. **The Journal of Turkish Phytopathology**, **29** (2- 3): 95-103.
- Yıldız, F., Yıldız, M., Delen, N., Coşkuntuna, A., Kınay, P., Türküsay, H., 2007. the effects of biological and chemical treatment on gray mold disease in tomatoes grown under greenhouse conditions. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **31**: 319-325.
- Yıldız, H. N., Altınok, H. H., Dikilitaş, M., 2012. Screening of rhizobacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*, the causal agent of wilt disease of eggplant. **African Journal of Microbiology Research**, **6** (15): 3700-3706.

- Yiğit, F., 2005. Domateslerde don zararı sonucu oluşmuş nekrotik yaprak dokularının *Botrytis cinerea*'ya karşı *Cladosporium sphaerospermum* penz. ile korunması. **Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi**, **6** (1):51-54
- Yücel, S., 1994. Akdeniz Bölgesi örtü altı sebze alanlarında görülen fungal hastalıklar. **Bitki Koruma Bülteni**, **34** (1-2), 23-34.
- Zimand, G., Elad, Y., Chet, I., 1996. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. **Phytopathology**, **86**: 1255-1260.
- Ziogas, B. N., Markoglou, A. N., Spyropoulou, V., 2005. Effect of phenylpyrrole-resistance mutations on ecological fitness of *Botrytis cinerea* and their genetical basis in *Ustilago maydis*. **European Journal of Plant Pathology**, **113**: 83-100.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Gülperi ÇİFÇİ
 Uyuğu : Türkiye Cumhuriyeti (T.C.)
 Doğum Tarihi ve Yeri : 10 Ağustos 1988, Kayseri
 Medeni Durumu : Bekâr
 Tel : +90 534 957 08 18
 E-mail : gcifci@tarimkredi.org.tr
 Yazışma Adresi : Yıldırım Beyazıt Mah. Şehit Üsteğmen Mustafa Şimşek Bulv.
 Kardelen Apt. 153/9 Melikgazi/ KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ERÜ Fen Bilimleri Enstitüsü	2019
Lisans	ÇÜ Ziraat Fakültesi (Bitki Koruma Bölümü)	2012

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2017- Halen	Bünyan Tarım Kredi Kooperatifi	Ziraat Mühendisi

YABANCI DİL

İngilizce